

·临床研究 Clinical research·

高尔基体膜蛋白 73 在原发性肝癌患者血清中的表达及其早期诊断价值

陈海波, 顾玉明, 王 洵

【摘要】 目的 探讨原发性肝癌患者血清中高尔基体膜蛋白-73(Golgi protein-73, GP73)的表达水平及其早期诊断价值。方法 收集人外周血血清 490 例,应用酶联免疫定量测定法和电化学发光法分别检测血清中 GP73 表达和 AFP 水平。结果 肝细胞肝癌、胆管细胞癌及布加综合征合并肝细胞肝癌患者血清 GP73 的表达水平均高于其他各组($P < 0.05$);GP73、AFP 诊断肝细胞肝癌(包括布加综合征合并肝细胞肝癌)的受试者工作特征曲线下面积、灵敏度、特异度、正确率及最佳临界值分别为 0.868、90.8%、75.5%、77.6%、43.40 ng/ml;0.739、60%、83.2%、80.2%、20 ng/ml。GP73 诊断肝细胞肝癌的受试者工作特征曲线下面积及灵敏度显著高于 AFP($P < 0.05$);特异度及正确率差别无统计学意义($P > 0.05$)。GP73 诊断胆管细胞癌的受试者工作特征曲线下面积为 0.774, 灵敏度、特异度及正确率分别为 88.6%、72.7%及 73.9%,最佳临界值为 45.40 ng/ml。结论 血清 GP73 对原发性肝癌的诊断价值优于 AFP,有望成为原发性肝癌早期诊断的血清标记物。

【关键词】 原发性肝癌;高尔基体膜蛋白-73;甲胎蛋白;诊断价值

中图分类号:R735.7 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2014)-06-0528-04

The expression level of serum Golgi protein - 73 in primary hepatocellular carcinoma and its clinical value in making early diagnosis CHEN Hai - bo, GU Yu - ming, WANG Xun. Department of Interventional Radiology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu Province 221006, China

Corresponding author: GU Yu-ming, E-mail: guyuming_2006@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression level of serum Golgi protein - 73 (GP73) in patients with primary hepatocellular carcinoma (HCC), or accompanied with Budd-Chiari syndrome (BCS), and to discuss its clinical value in making early diagnosis. **Methods** The peripheral serum samples were collected in 490 individuals, including patients with HCC ($n = 65$), cholangiocarcinoma (CC, $n = 35$), Budd-Chiari syndrome accompanied with HCC ($n = 40$), type B virus hepatitis ($n = 60$), cirrhosis after B hepatitis ($n = 60$), Budd-Chiari syndrome complicated by cirrhosis ($n = 60$), other malignant lesions ($n = 50$), benign hepatic lesions ($n = 60$) and healthy volunteers ($n = 60$). The expression levels of serum GP73 and AFP were determined by using Elisa and electrochemiluminescence methods separately. **Results** The expression level of serum GP73 in the patients with HCC, CC or BCS plus HCC were significantly higher than that in the other individuals ($P < 0.05$). The area under the receiver operating characteristic curve (ROC), the sensitivity, the specificity and the diagnostic accuracy of GP73 and AFP for HCC were 0.868, 90.8%, 75.5%, 77.6% and 0.739, 60%, 83.2%, 80.2% respectively. The cut-off values of GP73 and AFP were 43.40 ng/ml and 20ng/ml respectively. The area under ROC and the sensitivity of GP73 for the diagnosis of HCC were strikingly higher than those of AFP ($P < 0.05$), while no significant differences in the specificity and diagnostic accuracy existed between GP73 and AFP ($P > 0.05$). The area under ROC, sensitivity, specificity and the accuracy of GP73 for the diagnosis of CC were 0.774, 88.6%, 72.7% and 73.9% respectively, and the optimal cut-off value was 45.40 ng/ml. **Conclusion** In diagnosing HCC, the expression level of serum GP73 is superior to AFP. It is hopeful that serum GP73 may be proved to be an early serum tumor marker for HCC. (J Intervent Radiol, 2014, 23: 528-531)

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2014.06.018

作者单位: 221006 徐州医学院附属医院介入放射科

通信作者: 顾玉明 E-mail: guyuming_2006@163.com

【Key words】 primary hepatocellular carcinoma; Golgi protein-73; alpha-fetal protein; diagnosis value

原发性肝癌(PHC)早期诊断率低。寻找特异性更高、更灵敏的肿瘤标志物和实验室诊断方法是研究 PHC 的重要方向^[1]。GP73(Golgi protein-73), 主要表达于人类多种组织的上皮细胞,肝细胞不表达或很少表达,而后大量研究表明:血清中 GP73 水平高低与PHC 关系密切,在 PHC 检测的灵敏度和特异度上均远高于 AFP,有望成为原发性肝癌早期诊断的肿瘤标志物^[2-3]。

临床中,布加综合征(BCS)合并肝细胞癌(HCC)并不少见^[4-5],二者合并发生的具体机制尚不清楚。

本研究以肝脏疾病、BCS 合并 HCC 患者及健康志愿者为研究对象,应用电化学发光法和 ELISA 方法检测各组血清中 AFP 值和 GP73 的表达水平,分别计算诊断的曲线下面积、灵敏度、特异度及正确率,探讨 GP73 对原发性肝癌的早期诊断价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集 2013 年 3 月—2014 年 1 月在徐州医学院附属医院就诊的患者及健康志愿者 490 例。其中:① HCC 65 例,男 55 例、女 10 例,年龄 41 ~ 78 岁,平均 52 岁。通过穿刺活检、手术后病理学、DSA、B 型超声、CT 中的 1 种或多种手段证实^[6]。② 胆管细胞肝癌 35 例,男 25 例,女 10 例,年龄 40 ~ 75 岁,平均 53 岁。符合参考文献^[7]的诊断标准。③ BCS 合并 HCC 40 例,男 36 例,女 4 例,年龄 35 ~ 58 岁,平均 43 岁。根据临床表现、肝功能、肿瘤标志物、超声、肝静脉及下腔静脉 MRV、DSA 造影及肝脏穿刺活检等综合确诊。④ 乙型病毒性肝炎(乙肝)60 例,男 40 例、女 20 例,年龄 20 ~ 69 岁,平均 39 岁。符合乙肝诊断标准(2010 年版)^[8]。⑤ 乙肝肝硬化 60 例,男 39 例、女 21 例,年龄 20 ~ 70 岁,平均 51 岁。在排除肝占位性病变后,根据临床表现、肝功能指标检测和 B 型超声检查等确诊。⑥ BCS 合并肝硬化 60 例,男 45 例、女 15 例。年龄 20 ~ 70 岁,平均 47 岁。根据临床表现、肝功能、B 型超声、肝静脉及下腔静脉 MRV、DSA 造影等综合确诊。⑦ 其他恶性肿瘤 50 例(胃癌 20 例、胰腺癌 8 例、食管癌 10 例、结肠癌 2 例、胆囊癌 3 例、直肠癌 3 例、十二指肠癌 3 例、肺癌 1 例),男 35 例、女 15 例,年龄 21 ~ 85

岁,平均 63 岁。均获得活检或者手术病理学检测证实。⑧ 肝良性病变 60 例(肝血管瘤 40 例、肝囊肿 10 例、肝脓肿 3 例、脂肪肝 3 例、酒精性肝病 4 例),男 25 例、女 35 例,年龄 24 ~ 87 岁,平均 62 岁。均经 B 型超声、CT、DSA 和穿刺活检中的一种或多种手段证实。⑨ 收集在我院进行体检的健康志愿者 60 例,男 30 例、女 30 例,年龄 20 ~ 68 岁,平均 35 岁。肝功能指标检测正常并 B 型超声检查排除实质性占位。

1.2 方法

1.2.1 标本采集方法 抽取待检者清晨空腹静脉血 3 ml,室温下自然凝集 30 min,36 000 × g 离心 15 min,分离血清,将获得的血清-80℃冰箱中保存,血清标本的采集均获得受检者的知情同意。

1.2.2 检测方法

1.2.2.1 ELISA 法检测血清 GP73 表达:取每例待检者血清 10 μl 加入 96 孔板中,严格按照试剂盒(德国 IBL 进口分装)说明书的要求操作,用酶联免疫检测仪检测各孔在 450 nm 波长处的吸光度(A)值,每个待测血清重复 2 个孔。同时试剂盒中的标准品以 5 个浓度(0、5、10、20、40、80 ng/ml)为标准点,以标准品 5 个浓度为横坐标,相应各点的 A 值为纵坐标绘制标准曲线,求得标准曲线公式及相关系数,后根据公式通过 A 值计算每例待检者血清样品的 GP73 表达水平。

1.2.2.2 血清 AFP 测定:采用电化学发光按照全自动 Cobas601 分析仪(瑞士 Roche 公司)的操作步骤检测每例待检者血清 AFP 水平,血清 AFP 水平的临界参考值为 20 ng/ml,待检者血清 AFP 水平超出临界值时,即判定为阳性。

1.3 统计学方法

应用 SPSS16.0 统计软件对数据进行统计分析。由于各组样本方差不齐,GP73 和 AFP 水平以中位数表示,组间比较采用非参数秩和检验。应用 SPSS16.0 软件描绘受试者工作特征(ROC)曲线,分析 GP73 和 AFP 检测效能并确定其临界值,根据临界值计算 GP73 和 AFP 诊断的阳性率,以 HCC 患者出现 AFP > 20 ng/ml 或 GP73 > 43.40 ng/ml 为真阳性,胆管细胞癌患者出现 GP73 > 45.40 ng/ml 为真阳性,良性肝病阳性为假阳性;以 HCC 患者 AFP ≤ 20 ng/ml 或 GP73 ≤ 43.40 ng/ml 为假阴性,

胆管细胞癌患者 GP73 ≤ 45.40 ng/ml 为假阴性, 良性肝病阴性为真阴性, 判断 GP73、AFP 单独诊断 HCC、胆管细胞癌的灵敏度、特异度和准确率; 各组中血清 GP73 和 AFP 值间的关系采用 Spearman 相关分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组待检血清 GP73 和 AFP 的表达水平

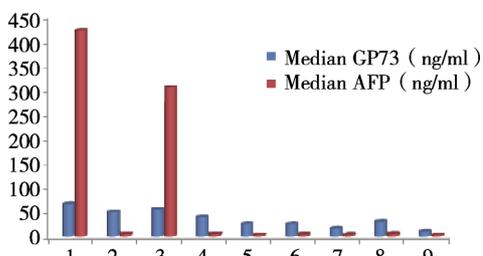
表 1 各组血清 GP73 和 AFP 的表达水平

组别	例数	GP73 (ng/ml)		AFP (ng/ml)	
		中位置 (范围)	p 值	中位置 (范围)	p 值 ^a
HCC	65	66.76(456.15)	-	423.43(42 387.7)	-
胆管细胞癌	35	50.45(65.20)	0.100	5.42(65.50)	0.003
BCS 合并 HCC	40	55.49(191.98)	0.932	306.58(35 122)	0.754
乙型肝炎肝硬化	60	40.12(102.50)	0.003	5.22(1 382.20)	0.001
乙型肝炎	60	26.02(66.85)	0.000	3.55(1 006.25)	0.001
其他恶性肿瘤	60	25.72(68.30)	0.000	4.60(30.43)	0.001
肝良性病变	50	16.77(43.01)	0.000	3.24(187.55)	0.001
BCS 合并肝硬化	60	30.50(462.95)	0.000	5.50(74.40)	0.001
健康对照	60	9.93(97.20)	0.000	3.50(9.79)	0.001

注:^a 各组与 HCC 比较

表 2 各组血清 GP73 和 AFP 的表达水平

组别	GP73	AFP
	p 值	p 值
乙型病毒性肝炎肝硬化与乙型病毒性肝炎	0.032	0.972
BCS 合并肝硬化与乙型病毒性肝炎肝硬化	0.998	0.954
BCS 合并肝硬化与 BCS 合并肝细胞肝癌	0.030	0.001



注: 1~9 分别为 HCC、胆管细胞癌、BCS 合并 HCC、乙型肝炎肝硬化、乙型肝炎、其他恶性肿瘤、肝良性病变、BCS 肝硬化、健康对照

图 1 各组 GP73 及 AFP 表达水平

2.2 血清 GP73 和 AFP 表达水平在 HCC 及胆管细胞癌中的诊断价值

分别绘制 GP73 和 AFP 的 ROC 曲线, 当 GP73 取临界值为 43.40 ng/ml 时, 诊断 HCC 的灵敏度、特异度及正确率达到最佳, 分别为 90.8%、75.5% 及 77.6%, ROC 曲线下面积 (area under curve, AUC) 为 0.868; AFP 取临界值为 20 ng/ml 时, 诊断 HCC 的灵敏度、特异度及正确率分别为 60.0%、83.2% 及 80.2%, AUC 为 0.739。GP73 诊断 HCC 的灵敏度及 AUC 明显高于 AFP, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 特异度及诊断正确率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。当 GP73 取临界值为 45.40 ng/ml 时, 诊断

用于检测血清 GP73 浓度的标准曲线, 线性关系良好。各实验组的 GP73 及 AFP 表达水平见表 1, 表 2 及图 1。统计分析结果显示, HCC 组、胆管细胞癌组及 BCS 合并 HCC 组患者血清 GP73 的表达水平显著高于其他组 ($P < 0.05$); HCC 组、BCS 合并 HCC 组患者血清 AFP 的表达水平显著高于其他组 ($P < 0.05$), 胆管细胞癌组 AFP 的表达水平与健康体检组差别无统计学意义 ($P > 0.05$)。

HCC 的灵敏度、特异度及正确率达到最佳, 分别为 88.6%、72.7% 及 73.9%, AUC 为 0.774。结果见表 3、图 2、图 3。

表 3 血清 GP73 和 AFP 的表达水平对诊断 HCC、胆管细胞癌的灵敏度和特异度及正确率 [% (n/n)]

指标	灵敏度	特异度	正确率
GP73 ^a	90.8(59/65)	75.5(321/425)	77.6(380/490)
GP73 ^b	88.6(31/35)	72.7(331/455)	73.9(362/490)
AFP ^a	60.0(39/65)	83.2(354/425)	80.2(393/490)

注:^a 代表诊断 HCC; ^b 代表诊断胆管细胞癌

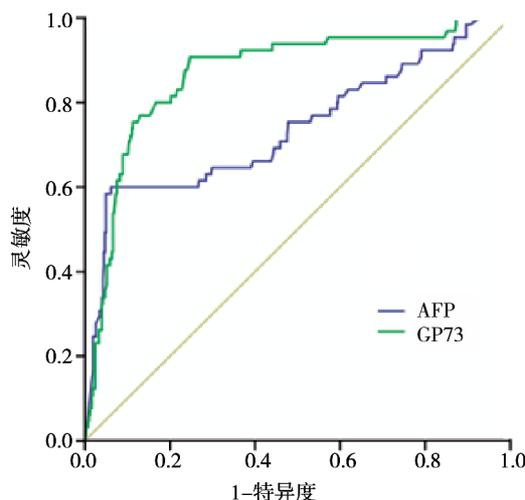


图 2 血清 GP73 及 AFP 诊断 HCC 的 ROC 曲线

2.3 各组待检者血清 GP73 和 AFP 表达水平之间的关系

相关性分析结果显示, 各组待检血清 GP73 和 AFP 表达水平之间均无相关性, HCC 组 $r = 0.018$,

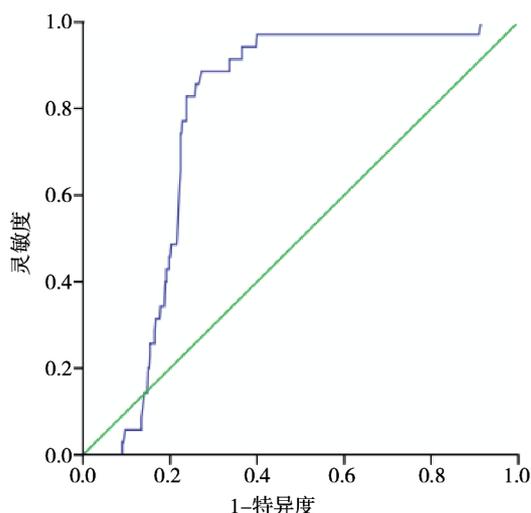


图3 血清 GP73 诊断胆管细胞癌的 ROC 曲线

$P = 0.887$;胆管细胞癌组 $r = -0.091$, $P = 0.605$;BCS 合并 HCC 组 $r = 0.061$, $P = 0.708$;乙型肝炎肝硬化组 $r = -0.110$, $P = 0.402$;乙型肝炎组 $r = -0.110$, $P = 0.401$;其他恶性肿瘤组 $r = -0.117$, $P = 0.373$;BCS 合并肝硬化组 $r = -0.047$, $P = 0.747$;肝良性肿瘤组 $r = -0.037$, $P = 0.776$;健康志愿者组 $r = -0.101$, $P = 0.443$ 。

3 讨论

本实验采用 ELISA 方法检测 490 例待检者的血清 GP73 水平,其血清中均能检测到 GP73 的表达,且 HCC、胆管细胞癌、BCS 合并 HCC 组中 GP73 表达水平明显高于其他各组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。同时,与乙肝组相比,乙肝肝硬化组 GP73 表达水平较高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),但 AFP 水平差异并无统计学意义 ($P > 0.05$);BCS 并肝硬化组与 BCS 并 HCC 组相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),与乙肝肝硬化组相比,GP73 及 AFP 水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);Spearman 相关分析发现,血清 GP73 与 AFP 的表达水平之间没有相关性 ($P > 0.05$)。与 AFP 相比,GP73 诊断肝细胞肝癌的 AUC 及灵敏度显著高于 AFP ($P < 0.05$),GP73 诊断胆管细胞癌的受试者工作特征曲线下面积为 0.774,灵敏度、特异度及正确率分别为 88.6%、72.7%及 73.9%,而胆管细胞癌组中,AFP 表达水平与健康志愿者相比无明显升高,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),故没有诊断价值。

本研究发现,肝硬化组 GP73 水平高于乙型肝炎组,HCC 组 GP73 水平显著高于肝硬化组和乙型

肝炎组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);显示 GP73 表达水平在由乙肝向乙肝肝硬化、HCC 演化过程中逐渐升高,而 AFP 无此趋势变化,提示对于有乙肝、乙肝肝硬化的患者,若其血清 GP73 > 43.35 ng/ml,可给予其定期上腹部超声及 CT 检查,或将有助于 HCC 的早期诊断与治疗。

BCS 合并 HCC 组的 GP73 表达水平明显高于 BCS 合并肝硬化组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),提示 GP73 表达水平与 BCS 的发生、发展所导致的淤血性肝硬化,乃至 HCC 过程中造成的肝细胞损害严重程度较重有关,符合 Iftikhar 等^[9]提出两个关于 GP73 表达上调的机制:①是在由急性肝细胞损伤引发;②是慢性肝脏疾病的进展。提示对于 BCS 的患者,若其血清 GP73 较高 (> 43.35 ng/ml),同样可给予其定期上腹部超声及 CT 检查,或将有助于 BCS 合并 HCC 的早期诊断与治疗。

[参考文献]

- [1] 徐海峰,杨华瑜,张宏冰,等.改变肝癌早期诊断和治疗现状的新肝癌血清标志物[J].基础医学与临床,2008,28:104-108.
- [2] Hu JS, Wu DW, Liang S, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is sensibility and specificity for hepatocellular carcinoma of diagnosis in a hepatitis B - endemic Asian population[J]. Med Oncol, 2010, 27: 339 - 345.
- [3] Marrero JA, Romano PR, Nikolaeva O, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2005, 43: 1007 - 1012.
- [4] 韩新强,祖茂衡,顾玉明,等.布-加综合征合并肝癌 36 例临床分析[J].介入放射学杂志,2011,20:207-209.
- [5] 魏宁,祖茂衡,徐浩,等.下腔静脉膜型布加综合征合并原发性肝癌的影像学诊断和临床分析(附 14 例病例)[C].第六届国际布加综合征学术大会暨汪忠镐血管论坛,2010:710-711.
- [6] 程永德,程英升,颜志平,等.常见恶性肿瘤介入治疗指南[M].北京:科学出版社,2013:69-73.
- [7] 中华人民共和国卫生部.原发性肝癌诊疗规范(2011版)[J].临床肿瘤学杂志,2011,16:929-946.
- [8] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J].中西医结合肝病杂志,2010,21:121-122.
- [9] Iftikhar R, Kladney RD, Havlioglu N, et al. Disease- and cell-specific expression of GP73 in human liver disease [J]. Am J Gastroenterol, 2004, 99: 1087 - 1095.

(收稿日期:2013-11-20)

(本文编辑:俞瑞纲)