

血清 4 项指标联合检测对原发性肝癌的诊断价值

郝建军, 陈 云, 袁付平 (江苏省高邮市中医医院检验科 225600)

【摘要】 目的 评价甲胎蛋白 (AFP)、 α -L-岩藻糖苷酶 (AFU)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 (GPC3) 及高尔基体蛋白 73 (GP73) 联合检测在原发性肝癌 (PHC) 中的诊断意义。**方法** 分别检测 65 例 PHC 患者、61 例肝硬化患者和 60 例健康对照者血清 AFP、AFU、GPC3 和 GP73 水平, 并对结果进行统计学分析。**结果** PHC 组 AFP、AFU、GPC3、GP73 水平显著高于肝硬化组和健康对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 肝硬化组各项指标水平较健康对照组明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。AFP、AFU、GPC3、GP73 诊断 PHC 的敏感性为 69.23%~78.46%, 准确性为 81.72%~84.95%, 4 项标志物联合检测的敏感性和准确性达 95.38% 和 87.63%, 明显高于单项检测。**结论** AFP、AFU、GPC3、GP73 联合检测可提高 PHC 的诊断率, 尤其可提高 AFP 低水平 PHC 的早期诊断率。

【关键词】 甲胎蛋白; α -L-岩藻糖苷酶; 磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3; 高尔基体蛋白 73; 原发性肝癌

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.24.030 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)24-3689-03

Diagnostic value of combined detection of four serum markers in primary hepatic carcinoma HAO Jian-jun, CHEN Yun, YUAN Fu-ping (Department of Clinical Laboratory, Gaoyou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Gaoyou, Jiangsu 225600, China)

【Abstract】 Objective To investigate the clinical values of combined detection of serum α -fetoprotein (AFP), α -L-fucosidase (AFU), glypican-3 (GPC3) and Golgi protein 73 (GP73) for the diagnosis of primary hepatic carcinoma (PHC). **Methods** The serum levels of AFP, AFU, GPC3 and GP73 of PHC patients ($n=65$, PHC group), liver cirrhosis (LC) patients ($n=61$, LC group), and healthy control ($n=60$, normal control group) were respectively detected, and the results were analyzed. **Results** Serum levels of AFP, AFU, GPC3 and GP73 in PHC group were significantly higher than those in the LC group and normal control group ($P < 0.05$). Comparing with normal control group, the levels of AFP, AFU, GPC3 and GP73 significantly increased in LC group ($P < 0.05$). Furthermore, the sensitivities of AFP, AFU, GPC3 and GP73 in the diagnosis of PHC were 69.23%—78.46%, and the accuracies were 81.72%—84.95%. The sensitivity and accuracy of combined detection of four markers were up to 95.38% and 87.63% respectively, which were higher than those of single detection. **Conclusion** Combined detection of serum AFP, AFU, GPC3 and GP73 could improve the diagnostic rate of PHC, especially contribute to the diagnosis of low-AFP PHC.

【Key words】 α -fetoprotein; α -L-fucosidase; glypican-3; Golgi protein 73; primary hepatic carcinoma

原发性肝癌 (PHC) 是临床上常见的恶性肿瘤之一, 发病率仅次于肺癌^[1-2]。由于其恶性程度高, 进展快, 所以早期诊断对于提高 PHC 患者的疗效, 增加存活率有重要意义。目前, 临床上最常用的肝癌标志物是甲胎蛋白 (AFP), 但 AFP 存在一定的假阴性或低浓度, 还不能完全满足临床需要, 因此迫切需要寻找高敏感性、高特异性肿瘤标志物来提高 PHC 的诊断水平^[2-3]。近年来国内外研究发现, α -L-岩藻糖苷酶 (AFU)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 (GPC3) 及高尔基体蛋白 73 (GP73) 在肝癌患者血清中过度表达, 甚至在 AFP 阴性的肝癌患者中其水平也有明显增高, 可作为 PHC 早期血清学诊断指标^[4-7]。本研究通过对 PHC 患者 (PHC 组)、肝硬化患者 (LC 组) 及健康对照者 (NC 组) 血清 AFP、AFU、GPC3 和 GP73 水平进行检测分析, 评估 4 种血清标志物单独及联合检测对 PHC 的诊断价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 5 月至 2014 年 9 月在本院住院, 临床初诊为肝占位性质待查, 后经本院确诊为 PHC 的 65 例患者, 男 49 例, 女 16 例, 年龄 29~78 岁, 平均 51.4 岁; LC 组 61 例, 为同期本院住院患者, 男 43 例, 女 18 例, 年龄 21~80

岁, 平均 59.6 岁, 经病理学和影像学检查证实排除 PHC; NC 组 60 例, 为同期本院体检中心健康体检者, 男 37 例, 女 23 例, 年龄 20~68 岁, 平均 58.3 岁。经检查均无肝、肾、脑等脏器疾病, 无消化道和血液系统疾病史。PHC 诊断符合中国抗癌协会肝癌专业委员会修订的《原发性肝癌诊断规范 (2011 年版)》原发性肝癌诊断标准; 肝硬化诊断标准符合 2000 年全国传染病学和寄生虫学会、肝病学会联合修订的诊断标准。各组年龄、性别差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 仪器与试剂 AFP 用电化学发光法检测, 仪器为 cobas e 601, 试剂由 Roche 公司提供; AFU 用速率法检测, 采用 Olympus AU640 全自动生化分析仪, 试剂购自浙江伊利康生物技术公司; GPC3、GP73 采用 ELISA 检测, 仪器为 Thermo 公司的 MK3 酶标仪, 试剂购自北京热景生物技术有限公司。

1.3 方法 研究对象均于清晨空腹抽静脉血 3~5 mL, 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清并于当天检测。严格按照仪器和试剂说明书操作并做配套质控。阳性值判定标准为: AFP > 20 ng/mL, AFU > 40 U/L, GPC3 > 200 ng/L, GP73 > 150 ng/mL。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析; 阳性

率比较采用 χ^2 检验及 Fisher 精确概率法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组血清 AFP、AFU、GPC3、GP73 检测结果比较 见表 1。PHC 组血清 AFP、AFU、GPC3、GP73 水平最高,明显高于 LC 组和 NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$),LC 组 4 项指标高于 NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 各组血清 AFP、AFU、GPC3、GP73 单项和联合检测阳性结果比较 见表 2。PHC 组血清 AFP、AFU、GPC3、GP73 检测阳性率分别为 73.85%、76.92%、69.23%和 78.46%,均高于 LC 组和 NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。LC 组也较

NC 组升高,差异也有统计学意义($P<0.05$)。由表 2 可见,4 项联合检测阳性率为 95.38%,显著高于各指标单项检测阳性率。

2.3 各指标单项及联合检测对 PHC 的诊断价值 见表 3。由表 3 可见,AFP、AFU、GPC3、GP73 单项肿瘤标志物诊断 PHC 的敏感性分别为 73.85%、76.92%、69.23%、78.46%;特异性分别为 87.60%、84.29%、90.91%、88.43%。4 项肿瘤标志物联合检测 PHC 诊断的敏感性提高到 95.38%,高于任一单项指标的敏感性,差异有统计学意义($P<0.05$);特异性下降不明显,但阴性预测值显著增加至 97.12%,准确性提高到 87.63%,高于单独任一项检测值。

表 1 各组血清 AFP、AFU、GPC3、GP73 检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	AFP(ng/mL)	AFU(U/L)	GPC3(ng/L)	GP73(ng/mL)
PHC 组	65	473.46±163.91	195.93±86.29	439.25±103.53	321.56±32.27
LC 组	61	48.13±19.22*#	57.28±29.54*#	83.41±16.74*#	116.35±16.80*#
NC 组	60	4.95±2.36*	18.13±8.57*	23.65±11.82*	9.46±7.29*

注:与 PHC 组比较,* $P<0.05$;与 NC 组比较,# $P<0.05$ 。

表 2 各组血清 AFP、AFU、GPC3、GP73 单项及联合检测阳性结果比较[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	AFP	AFU	GPC3	GP73	4 项联合检测
PHC 组	65	48(73.85)	50(76.92)	45(69.23)	51(78.46)	62(95.38)
LC 组	61	15(24.59)*#	17(27.87)*#	11(18.03)*#	14(22.95)*#	18(29.51)
NC 组	60	0(0.00)*	2(3.33)*	0(0.00)*	0(0.00)*	2(3.33)

注:与 PHC 组比较,* $P<0.05$;与 NC 组比较,# $P<0.05$ 。

表 3 各指标单项及联合检测对 PHC 的诊断价值[%(*n*/*n*)]

检测指标	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值	准确性
AFP	73.85(48/65)	87.60(106/121)	76.19(48/63)	86.18(106/123)	82.80(154/186)
AFU	76.92(50/65)	84.29(102/121)	72.46(50/69)	87.18(102/117)	81.72(152/186)
GPC3	69.23(45/65)	90.91(110/121)	80.36(45/56)	84.62(110/130)	83.33(155/186)
GP73	78.46(51/65)	88.43(107/121)	78.46(51/65)	88.43(107/121)	84.95(158/186)
AFP+AFU+GPC3+GP73	95.38(62/65)*	83.47(101/121)	75.61(62/82)	97.12(101/104)	87.63(163/186)

注:与各单项指标比较,* $P<0.05$ 。

3 讨 论

肿瘤标志物是一类由癌细胞产生,或是机体在患癌过程中产生的物质,它在癌细胞产生和增殖时出现,确切反映体内肿瘤的存在和生长。肿瘤标志物一般包含六大类:胚胎-胎儿期抗原、糖蛋白、激素、酶或同工酶、特殊蛋白、癌基因的产物。肿瘤标志物检测可成为早期诊断恶性肿瘤的一个有效方法。

AFP 是胎儿发育早期由肝脏实质细胞和卵黄囊细胞合成的一种糖蛋白,胎儿出生后其表达减少,1 年内降至正常水平。从 1964 年首次在 PHC 患者血清中发现 AFP 以来,AFP 作为敏感的肿瘤标志物一直用于 PHC 的普查、诊断及疗效观察。本研究中 65 例 PHC 患者 AFP 阳性率为 73.85%,与徐素仿^[8]和陈建国等^[9]的报道一致。但在肝癌早期(尤其是一些直径小于 3 cm 的肝癌),AFP 的敏感性很低,单纯使用 AFP 诊断极易漏诊^[10]。另外,有文献报道,20%~30%的肝炎、肝硬化等良性肝病患者中 AFP 升高^[11]。本研究结果发现,LC 组 AFP 阳性率为 24.59%,与 NC 组差异有统计学意义($P<0.05$),故单独检测 AFP 易造成误诊。为了提高 PHC 的诊断率,本研究考虑多指标联合诊断,用以弥补单独检测 AFP 的不足。

AFU 是一种溶酶体酸性水解酶,参与含岩藻糖基生物大分子的分解代谢,广泛分布于机体组织、血清和体液中,在肝肾组织中活性最高。一般情况下,血清 AFU 水平在一个低水平范围保持稳定。但近来研究发现,PHC 患者血清 AFU 水平明显升高,其机制可能与肝癌细胞酶蛋白合成增加、降解减慢及含岩藻糖苷酶的代谢紊乱有关^[12-13]。目前,AFU 已经成为诊断肝癌的一项常用指标,有报道指出,AFU 诊断 PHC 的敏感性达到 75%左右,且对直径小于 3 cm 的肿瘤敏感性较高,尤其是 AFP 阴性的肝癌阳性率达 70.10%^[14]。本研究结果显示,PHC 组血清 AFU 水平显著高于 LC 组和 NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$),诊断 PHC 的敏感性达 76.92%,高于 AFP 的敏感性,说明 AFU 是诊断 PHC 的一项有效指标。

GPC3 是一种细胞膜表面的硫酸乙酰肝素糖蛋白,其羟基末端连接在细胞膜上,羧基末端游离在细胞质中。有研究显示,肝细胞发生癌变时,GPC3 可异常表达,激活的 GPC3 可通过多种信号传导通路促进肝细胞恶性转化,增强其侵袭转移能力^[15]。本研究结果显示,GPC3 诊断 PHC 的敏感性为 69.23%,特异性为 90.91%,与文献^[16]报道 GPC3 在 PHC 患者血清中阳性率为 41%~53%,特异性为 90%~100%不太

一致,这可能与本研究所收集的病例数相对较少有关。虽然单独检测 GPC3 敏感性不如 AFP,但特异性较高,所以 GPC3 对 PHC 的诊断有一定意义。

GP73 是存在于高尔基体上的一种 II 型跨膜糖基化修饰蛋白。一般情况下,GP73 主要由胆管上皮细胞表达,而在肝细胞中很少甚至不表达。后续研究发现,GP73 在肝癌患者中明显升高,且其敏感性高于 AFP,暗示其可作为肝癌的一项新的肿瘤标志物^[17]。GP73 在肝癌组织中的表达上调可能与肝细胞损伤引发的应激反应,以及肝脏组织的慢性重构和纤维化有关^[18]。这一结论在 Sun 等^[19]的研究中也得到了证实。本研究中 GP73 在 PHC 患者血清中显著升高,与 LC 组和 NC 组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。且在 17 例 AFP 阴性的 PHC 患者中有 3 例 GP73 水平显著升高,提示 GP73 与 AFP 联合检测对 PHC 患者的早期诊断有很大帮助。

本研究 PHC 组血清 AFP、AFU、GPC3、GP73 水平均高于 LC 组和 NC 组,说明 4 项指标对于诊断 PHC 均有较大价值。但上述 4 项指标在 LC 组中也有升高,提示临床上要注意鉴别诊断。单项检测中 GP73 敏感性最高,GPC3 特异性最高,单用 GP73 可以最大范围筛选出可能患 PHC 的患者;GPC3 特异性最高,优于传统检测项目 AFP。

近年来学者们提倡采用联合检测来弥补单项检测的不足,提高检出率,增加检测的敏感性和准确性。本研究结果发现,AFP、AFU、GPC3、GP73 4 项联合检测满足了提高敏感性的需要,特别是与一般联合检测会极大降低特异性和准确性相比,其特异性和准确性无明显差别,甚至准确性还有所提高。本研究中,4 项联合检测敏感性可以增加至 95.38%,准确性提高至 87.63%。所以本文认为,联合检测血清 AFP、AFU、GPC3、GP73 有利于提高 PHC 的诊断效率,各指标优势互补、互为印证,尤其在提高敏感性的同时未显著影响诊断的特异性和准确性,并且能帮助无临床症状或体征及 AFP 阴性的 PHC 患者作出早期诊断,减少漏诊和误诊。

因此,AFP、AFU、GPC3、GP73 联合检测经济有效,并且能减少患者其他检查不必要的经济负担,在临床有较好的应用价值,建议推广^[20-21]。

参考文献

- [1] Meguro M, Mizuguchi T, Kawamoto M, et al. The molecular pathogenesis and clinical implications of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Hepatol, 2011, 20(1): 18672-18679.
- [2] Perkins GL, Slater ED, Sanders GK, et al. Serum tumor markers[J]. Am Fam Physician, 2003, 68(6): 1075-1082.
- [3] Leoni S, Piscaglia F, Righini R, et al. Management of small hepatocellular carcinoma[J]. Acta Gastroenterol Belg, 2006, 69(2): 230-235.
- [4] Zhang SY, Lin BD, Li BR. Evaluation of the diagnostic value of alpha-L-fucosidase, alpha-fetoprotein and thymidine kinase 1 with ROC and logistic regression for hepatocellular carcinoma[J]. FEBS Open Bio, 2015, 5(1): 240-244.
- [5] Jia X, Liu J, Gao Y, et al. Diagnosis accuracy of serum glypican-3 in patients with hepatocellular carcinoma: a systematic review with meta-analysis[J]. Arch Med Res, 2014, 45(7): 580-588.

- [6] Yang J, Li J, Dai W, et al. Golgi protein 73 as a biomarker for hepatocellular carcinoma: A diagnostic meta-analysis[J]. Exp Ther Med, 2015, 9(4): 1413-1420.
- [7] Houseini ME, Mohammed MS, Elshemey WM, et al. Enhanced detection of hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Control, 2005, 12(4): 248-253.
- [8] 徐素仿. 甲胎蛋白等 3 项指标联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(6): 737-738.
- [9] 陈建国, 高晓阳, 吴白平. 3 项指标在原发性肝癌诊断治疗中的应用[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(8): 902-903.
- [10] Xie C, Huang L, Xie S, et al. LARP1 predict the prognosis for early-stage and AFP-normal hepatocellular carcinoma[J]. J Transl Med, 2013, 11(1): 272-278.
- [11] 聂荣慧, 刘元元. 肿瘤标志物 AFP、CA125、CA199 和 CEA 检测在肝炎、肝硬化患者诊断和治疗中的应用[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2012, 38(1): 119-122.
- [12] 黄鑫刚, 史小波, 郭新荣. a-L-岩藻糖苷酶联合甲胎蛋白检测在原发性肝癌诊断中的临床评价[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(7): 779-780.
- [13] Mossad NA, Mahmoud EH, Osman EA, et al. Evaluation of squamous cell carcinoma antigen-immunoglobulin M complex (SCCA-IGM) and alpha-L-fucosidase (AFU) as novel diagnostic biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. Tumour Biol, 2014, 35(11): 11559-11564.
- [14] 张辉, 任宁, 叶青海, 等. 联合检测血浆骨桥蛋白和细胞间黏附分子对预测肝细胞癌患者术后预后的价值[J]. 中华外科杂志, 2005, 43(15): 985-988.
- [15] Liu S, Li Y, Chen W, et al. Silencing glypican-3 expression induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 419(4): 656-661.
- [16] Yao M, Yao DF, Bian YZ, et al. Oncofetal antigen glypican-3 as a promising early diagnostic marker for hepatocellular carcinoma[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2011, 10(3): 289-294.
- [17] Hann HW, Wang M, Hafner J, et al. Analysis of GP73 in patients with HCC as a function of anti-cancer treatment[J]. Cancer Biomark, 2010, 7(6): 269-273.
- [18] 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(2): 339-345.
- [19] Sun Y, Yang H, Mao Y, et al. Increased Golgi protein 73 expression in hepatocellular carcinoma tissue correlates with tumor aggression but not survival[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(7): 1207-1212.
- [20] 李雪峰. 血清 5 项指标联合检测对原发性肝癌的诊断探讨[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(5): 569-570.
- [21] 沈剑平. AFP、AFU、GGT、ALP 及 CA19-9 联合检测对肝癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(10): 1179-1180.