

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2014.16.0935

·论著·

高尔基体蛋白 73 与甲胎蛋白对肝癌诊断价值的研究

邹同会, 汪永强, 邹军

(内江市第二人民医院 泸州医学院附属内江医院检验科, 四川 内江 641100)

【摘要】目的 探讨甲胎蛋白(AFP)与高尔基体蛋白 73 (GP73)对肝癌早期诊断的价值。**方法** 采用酶联免疫法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)对肝癌患者 80 例、肝硬化患者 30 例血清中 AFP、GP73 进行检测, 30 例健康体检者作为对照。**结果** ①肝癌组、肝硬化组、正常对照组 AFP 平均浓度为 64.5 μg/L、50.1 μg/L、21.9 μg/L(肝癌组 vs 对照组 $P < 0.01$, 肝硬化组 vs 对照组 $P < 0.01$, 肝硬化组 vs 肝癌组 $P < 0.01$), 肝癌组、肝硬化组、正常对照组 GP73 平均浓度为 268.4 μg/L、192.3 μg/L、49.8 μg/L($P < 0.01$)。② AFP 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.729, $P = 0.000$, GP73 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.892, $P = 0.000$ 。AFP 联合 GP73 对肝癌诊断的 ROC 曲线下面积为 0.902。**结论** GP73 诊断肝癌的价值高于 AFP, AFP+GP73 联合检测不能提高诊断效率。

【关键词】 肝细胞癌; 甲胎蛋白; 高尔基体蛋白 73; ROC 曲线**【中图分类号】** R735.7 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2014)16—2398—03

Diagnostic value of Golgi protein 73 and AFP protein in patients with hepatocellular carcinoma. ZOU Tong-hui, WANG Yong-qiang, ZOU Jun. Department of Laboratory Medicine, the Second Hospital of Neijiang City, the Affiliated Neijiang Hospital of Luzhou Medical University, Neijiang 631001, Sichuan, CHINA

【Abstract】 Objective To explore the value of alpha-fetoprotein (AFP) and Golgi protein 73 (GP73) in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. **Methods** AFP and GP73 were detected with enzyme-linked immunosorbent assay (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) in 80 patients with hepatocellular carcinoma and 30 patients with hepatocirrhosis. 30 healthy subjects were selected as controls. **Results** ① The mean concentrations of AFP in hepatocellular carcinoma group, hepatocirrhosis group and control group was 64.5, 50.1, and 21.9 respectively, among which there were significantly differences ($P < 0.01$). The concentrations of GP73 in hepatocellular carcinoma group, hepatocirrhosis group and control group was 268.4, 192.3 and 49.8 respectively, among which there were significantly differences ($P < 0.01$). ② The areas under ROC curves of AFP and GP73 were 0.729 and 0.892 respectively in diagnosis of hepatocellular carcinoma. The area under ROC curve of AFP combined GP73 was 0.902 for diagnosis of hepatocellular carcinoma. **Conclusion** Compared with AFP, GP73 is more sensitive and accurate in diagnosis of liver cancer, and it is not necessary to test GP73 combined with AFP.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Alpha-fetoprotein; Golgi protein 73; ROC curve

基金项目: 吴阶平医学基金会肝病实验诊断研究基金(编号: LDWMF-SY—2011C007)

通讯作者: 邹同会。E-mail: 709578724@qq.com

-
- [7] Smith JS, Herrero R, Bosetti C, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2002, 94(21): 1604-1613.
- [8] 宋述梅, 李久香, 张明和. 移植性小鼠宫颈癌和增生组织中 HSV II 抗原的检测[J]. 肿瘤防治研究, 1995, 22(3): 144-147.
- [9] 刘治坤. 宫颈癌病因学新进展[J]. 青岛医药卫生, 2009, 41(4): 296-298.
- [10] Jones C. Cervical Cancer: Is herpes simplex virus type II a cofactor? [J] Clin Microbiol Rev, 1995, 8(4): 549-556.
- [11] 李玲, 罗慧琴, 苗晋华. 人乳头瘤病毒、沙眼衣原体和单纯疱疹病毒 II 型感染与宫颈疾病的相关性研究[J]. 国际病毒学杂志,
- 2012, 19(6): 257-260.
- [12] Southern SA, Herrington CS. Molecular events in uterine cervical cancer [J]. Sex Transm Inf, 1998, 74(2): 101-109.
- [13] 汪世平, 贾政军, 何卓, 等. 实时荧光定量 PCR 法检测人乳头状瘤病毒的实验研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2008, 28(6): 560-564.
- [14] Matovina M, Sabol I, Grubisić G, et al. Identification of human papillomavirus type 16 integration sites in high grade precancerous cervical lesions [J]. Gynecol Oncol, 2009, 113(1): 120-127.

(收稿日期: 2014-02-22)

原发性肝癌(Primary hepatic cancer, PHC)是我国常见恶性肿瘤之一,其中约95%为肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC),死亡率高,在消化系统恶性肿瘤中仅次于胃癌、食道癌而居第三位。多数肝癌早期患者缺乏典型的临床症状和体征,因而导致病情的延误。目前肝癌的早期诊断主要依靠联合 AFP 等多种肿瘤标志物的联合免疫诊断,然而当前实验室开展的绝大多数常用肿瘤标志物的敏感度和特异性各异,并不适合于早期筛查和普查。本实验研究的特异性强的新型肝癌标志物将为肝癌的早期诊断提供可靠的依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象 本研究纳入研究的为我院2012年3月至2013年1月收治的肝癌患者(HCC)80例、肝硬化30例,正常对照组30例,HCC诊断标准按照2010年NCCN指南,以上各组研究对象在性别、年龄方面差异无统计学意义($P>0.05$)

1.2 研究方法

1.2.1 标本的采集与保存 患者及查体者均清晨空腹采集静脉采集3 ml,采血管为一次性真空促凝采血管,以3 000 r/min 离心10 min,分离血清置入EP管并尽快放入-70℃冰箱待检。

1.2.2 高尔基体蛋白73(GP73)检测 采用酶联免疫吸附法(ELISA),试剂盒购自热景生物有限公司,采用双抗体夹心法定量检测血清或血浆中GP73含量,酶标板上预包被抗GP73单抗,可与样品中GP73反应结合,配合加入HRP标记GP73多抗,然后用TMB底物作用显色,显色强度与样品中GP73的浓度呈正比。通过酶标仪检测吸光度(OD)值,按照GP73校准品制定浓度曲线,计算样品中GP73的含量。

1.2.3 甲胎蛋白(AFP)检测 采用酶联免疫吸附

法(ELISA),应用双抗体夹心法测定标本中AFP的水平,检测严格按照说明书操作。

1.3 统计学方法 所有数据采用PASW17.0统计学软件处理,计量资料用方差分析,组间比较用LSD均值统计,单项诊断价值采用ROC曲线分析,AFP与GP73联合的诊断价值采用SPSS17.0的Binary Logistic回归,并产生各个体预测概率的新变量。

2 结 果

2.1 肝癌组、肝硬化组与正常对照组 AFP 浓度 肝癌组、肝硬化组、正常对照组 AFP 平均浓度为 64.5 μg/L、50.1 μg/L、21.9 μg/L,三组总体 $P=0.000$,两两比较检验水准取 $\alpha=0.017$,肝癌组 vs 对照组 $P<0.017$,肝硬化组 vs 对照组 $P<0.017$,肝硬化组 vs 肝癌组 $P<0.017$ 。

2.2 肝癌组,肝硬化组与正常对照组 GP73 浓度 GP73 在肝癌组、肝硬化组、正常对照浓度为 268.4 μg/L、192.3 μg/L、49.8 μg/L,三组经单因素方差分析 $P=0.000$,两两比较用 LSD 法均值统计表明:肝癌组 vs 对照组 $P=0.000$,肝硬化组 vs 对照组 $P=0.000$,肝癌组 vs 肝硬化组 $P=0.001$ 。

2.3 AFP 与 GP73 在诊断肝癌的价值 经 ROC 曲线分析显示,AFP 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.729, $P=0.000$,GP73 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.892, $P=0.000$,GP73 诊断肝癌价值高于 AFP。取 GP73 为 127.02 为最佳诊断分界点,正确诊断(Youden 指数)最大,为 0.80。AFP 与 GP73 联合的诊断价值采用 PASW 的 Binary Logistic 回归,并产生各个体预测概率的新变量,ROC 曲线显示 AFP+GP73 联合检测的 AUC 为 0.902,较 GP73 单一指标 AUC 为 0.892 比较,差异无统计学意义($P>0.01$),见图1。

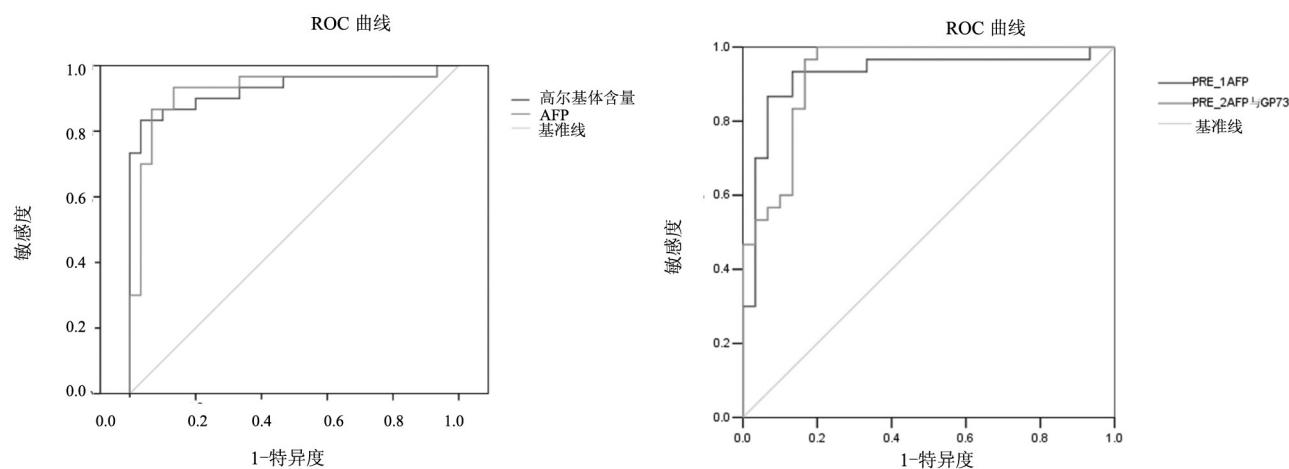


图1 AFP与GP73单项与联合对肝癌的ROC曲线

3 讨 论

原发性肝癌是成年人最常见的恶性肿瘤之一,其术后复发率高,转移率高,且预后差。对肝癌肿瘤相关标志物研究,合理地进行外周血肿瘤标志物的检测,有助于肝癌的早期诊断、早期治疗、干预以及预测转归,提高肝癌患者的生存率。

除传统的肿瘤标志物外,目前从基因层面寻找新的肿瘤标志物一直是研究的热点。近年来随着研究的不断深入,发现 DNA 序列以为的调控机制异常在肿瘤发生发展中的作用相当普遍,DNA 甲基化是真核细胞基因组最常见的一种表观遗传学修饰,在细胞增殖、分化、发育等方面起着重要作用,肿瘤相关基因 DNA 甲基化研究取得了大量的研究成果,提示 DNA 甲基化研究对于肿瘤诊断、治疗具有巨大的应用潜力,作为肿瘤诊断的分子标志物,各种抑癌基因启动子区甲基化检测研究的最多,研究方法也未成熟^[1]。在基因转录层面,miRNA 和长链非编码 lncRNA 对肝癌诊断的分子标志物研究颇多^[2-3],但从经济与实用方面来讲,直接检测外周血蛋白质是最简便的方法。

甲胎蛋白(AFP)的检测在临床应用最广泛,AFP 是目前肝癌诊断和预后的首选标志物,它是胚胎专一性的甲种球蛋白,由胚肝实质细胞和卵黄囊细胞合成,在胚胎第 12 周合成达高峰随即下降,Tangkijvanich 等^[4]发现,当肝癌患者血清 AFP 浓度>400 ng/ml 时,其肿瘤体积、肝叶受累、浸润生长及门静脉血栓形成情况均较低血清 AFP 浓度组更严重,但 AFP 也受病毒性肝炎的影响,现在更趋向于检测特异性 AFP 的检测^[5],可提高诊断的敏感性与特异性。本研究显示:肝硬化与肝癌患者血清中 AFP 都比对照组高,但肝硬化患者 AFP 水平明显低于肝癌患者,经 ROC 曲线分析显示,AFP 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.729,诊断价值偏低。

GP73 是定位于高尔基体的一种跨膜蛋白,该蛋白主要表达于人类多种组织上皮细胞,在正常肝脏细

胞中低表达,文献报道 GP73 蛋白能正确区分正常肝细胞、肝硬化与肝癌细胞,GP73 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.824^[6],另有报道 GP73 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.900^[7],与本研究 GP73 单项诊断肝癌的 ROC 曲线面积为 0.892,但 AFP 与 GP73 联合的诊断价值采用 SPSS 的 Binary Logistic 回归,用产生各个体预测概率的新变量做联合检测时的 ROC 曲线下面积为 0.902,与 GP73 单项的 0.892 相比,并没有提高多少,因此联合检测并没有提高诊断价值,当然还需加大样本量进行确认。

综上所述,GP73 诊断对肝癌具有较高的诊断价值,联合 AFP 检测并没有提高肝癌的诊断价值,

参 考 文 献

- [1] Games G, Herman MD, Stephenen B. Gene silencing cancer in association with promoter hypermethylation [J]. N Engl J Med, 2003, 349: 2042-2054.
- [2] Wu XJ, Li Y, Liu D, et al. miR-27a as an oncogenic microRNA of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(2): 885-889.
- [3] Pan YF, Qin T, Feng L, et al. Expression profile of altered long non-coding RNAs in patients with HBV-associated hepatocellular carcinoma [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2013, 33 (1): 96-101.
- [4] Tangkijvanich P, Anukulkamkul N, Suwangoor P, et al. Clinical characteristics and prognosis of hepatocellular carcinoma: analysis based on serum alpha-fetoprotein levels [J]. J Clin Gastroenterol, 2000, 31(4): 302-308.
- [5] Wu W, Yao DF, Yuan YM, et al. Combined serum hepatomaspecific alpha-fetoprotein and circulating alpha-fetoprotein mRNA in diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2006, 5(4): 538-554.
- [6] 赵运胜,张丽娜,李洪成,等.血清 GP73 联合 AFP 与 CA199 检测在肝癌诊断中的临床意义[J].中国肿瘤临床,2013,40(1): 29-31.
- [7] 姚建华.高尔基体蛋白 GP73 和甲胎蛋白联检在原发性肝癌诊断中的临床意义[J].放射免疫学杂志,2012,25(6): 673-675.

(收稿日期:2014-03-09)