

血清高尔基蛋白 73、甲胎蛋白异质体 3、甲胎蛋白和 α -L-岩藻糖苷酶水平诊断原发性肝癌的效能分析*

王翠晓,高 静

【摘要】目的 探讨应用血清高尔基蛋白 73(GP73)、甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)、AFP 和 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)水平诊断原发性肝癌(PLC)患者的效能。方法 2015年1月~2017年3月我院诊治的 PLC 患者 261 例,乙型肝炎肝硬化患者 201 例,慢性乙型肝炎患者 238 例和体检健康人 200 例,采用酶联免疫吸附试验法检测血清 GP73 水平,采用亲和吸附离心管法检测血清 AFP-L3,采用全自动化学发光仪检测血清 AFP,采用商用试剂盒检测血清 AFU 水平。绘制血清 GP73、AFP-L3、AFP 和 AFU 诊断 PLC 的 ROC 曲线,确定截断点(cut-off-value),计算 ROC 曲线下面积(AUC),判断它们的诊断效能。结果 肝癌组血清 GP73 水平显著低于慢性肝炎组和肝硬化组,差异有统计学意义($P<0.05$),血清 AFP-L3 显著高于其他 3 组,差异有统计学意义($P<0.05$),血清 AFU 水平显著高于健康人和肝硬化组,但低于慢性肝炎组,差异有统计学意义($P<0.05$);以非肝癌人群为对照,血清 GP73、AFP-L3、AFP 和 AFU 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积分别为 0.564 (95% CI 0.485~0.636)、0.724 (95% CI : 0.555~0.786)、0.745(95%CI 0.654~0.806)和 0.571(95%CI 0.385~0.536),血清 AFP-L3 联合 AFP 诊断肝癌的截断点分别为 8.25%和 49.25 ng/ml,其灵敏度(Se)为 55.5% 特异度(Sp)为 85.0% 正确性(Ac)为 80.1% 显著高于血清 AFP-L3 诊断的 55.5%、85.0%和 76.4%或 AFP 诊断的 57.1%、82.7%和 75.2%($P<0.05$);在 261 例肝癌患者中,血清 AFP<9.6 ng/ml 者 71 例(27.2%),其中 GP73>106.5 ng/ml 者 30 例(42.3%) 提示 GP73 对 AFP 阴性肝癌有一定的诊断价值;在 201 例肝硬化患者中,血清 AFP<9.6 ng/ml 者 98 例 (48.8%),其中 GP73>106.5 ng/ml 者 52 例 (53.1%) 提示血清 GP73 水平容易受到肝硬化的影响。结论 应用血清 AFP 联合 AFP-L3 检测能够提高诊断肝癌的效能,但它们的灵敏度都还不够高,影响因素较多。临床医生需结合病史、影像学检查和动态血清学检测才能做出更为科学的结论。

【关键词】 原发性肝癌,高尔基蛋白 73(GP73),甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3), α -L-岩藻糖苷酶,诊断

DOI :10.3969/j.issn.1672-5069.2019.01.030

Serum Golgi protein 73, lentil lectin-reactive alpha-fetoprotein-L3, AFP and α -L-fucosidase levels in patients with primary liver cancer Wang Cuixiao, Gao Jing. Clinical Laboratory Sida Heart Disease Hospital, Qingdao 266071 Shandong Province China

【Abstract】 Objective To investigate the clinical implications of serum Golgi protein 73 (GP73), lentil lectin-reactive alpha-fetoprotein-L3 (AFP-L3), AFP and α -L-fucosidase (AFU) in patients with primary liver cancer (PLC). Methods 261 patients with PLC, 201 patients with hepatitis B liver cirrhosis (LC), 238 patients with chronic hepatitis B (CHB) and 200 healthy individuals were recruited in this study between January 2015 and March 2017, and serum levels of GP73, AFP-L3, AFP and AFU were detected. The efficacy of diagnosis was performed by Logistic fitting and the ROC curve were drawn to calculate their diagnostic efficacy. Results Serum GP73 level in patients with PLC was significantly lower than in patients with CHB or in patients with LC ($P<0.05$), serum AFP-L3 level was much higher than those in patients with CHB, with LC or healthy persons ($P<0.05$), and serum AFU level was much higher than in healthy persons or in patients with LC, but much lower

than in patients with CHB ($P<0.05$), the AUC of serum GP73, AFP-L3, AFP and AFU in diagnosing PLC based on comparison with non-PLC individuals were 0.564 (95% CI 0.485-0.636), 0.724 (95% CI : 0.555-0.786), 0.745 (95%CI 0.654-0.806) and 0.571 (95%CI 0.385-0.536), and the cut-off-value of serum AFP-L3 and serum AFP combination were 8.25% and

* 基金项目: 青岛市科技局科研项目 / 青岛市民生科技计划项目(编号:14-2-3-26-nsh)

作者单位: 266071 山东省青岛市思达心脏医院检验科(王翠晓), 青岛大学附属中心医院检验科(高静)

第一作者: 王翠晓, 女, 41 岁, 大学本科, 主管技师。E-mail: 346451287@qq.com

49.25 ng/mL ,with the sensitivity(Se) of 55.5% specificity(Sp) of 85.0% and accuracy (Ac) of 80.1% significantly higher than 55.5% ,85.0% and 76.4% by serum AFP-L3 or 57.1% ,82.7% and 75.2% ($P<0.05$) by serum AFP alone .out of 261 patients with PLC ,71 patients (27.2%) had serum AFP<9.6 ng/ml and 30(42.3%) of them had serum GP73>106.5 ng/ml ,suggesting the latter might be useful in diagnosing PLC patients with lower or negative serum AFP .out of 201 patients with LC ,serum AFP levels were less than 9.6 ng/ml in 98 (48.8%) ,and 53.1% of them(52/98) had serum GP73 level being greater than 106.5 ng/ml ,hinting that liver cirrhosis might impact serum GP73 level. Conclusion Serum GP73 level is associated with liver injury and fibrosis and serum AFU level is of little significance for the diagnosis of patients with PLC. The application serum AFP combined with AFP-L3 might improve the efficacy in diagnosing patients with PLC ,while the Se and Sp are still not high. The clinicians should take this into consideration and make a relatively accurate diagnosis by detailed illness history , comprehensive physical examination and necessary imaging.

【Key words】 Hepatoma ;Golgi protein 73 ;Lentil lectin -reactive alpha -fetoprotein -L3 ; α -L- fucosidase ; Diagnosis

目前 ,临床上诊断肝癌的实验室指标有高尔基蛋白体 73(Golgi protein 73 ,GP73)、甲胎蛋白异质体 3 (lentil lectin- reactive alpha- fetoprotein- L3 , AFP- L3)、AFP 和 α -L- 岩藻糖苷酶 (α -L- fuCosidase ,AFU) ,然而在临床实际工作中 ,肝炎或肝硬化患者也会出现这些指标的异常^[1-4]。本研究分析了慢性肝炎、肝硬化和肝癌患者血清 GP73、AFP- L3、AFP 和 AFU 水平的差异 ,并探讨了这 4 个指标单一或联合检测在肝癌鉴别诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料 2015 年 1 月~2017 年 3 月在我院诊治的原发性肝癌(PLC)患者 261 例 ,男性 200 例 ,女性 61 例 ,年龄 31~77 岁 ,平均年龄(48.0± 10.2) 岁 ;乙型肝炎肝硬化患者 201 例 ,男性 121 例 ,女性 80 例 ,年龄 22~75 岁 ,平均年龄(40.0± 6.8)岁 ;慢性乙型肝炎患者 238 例 ,男性 199 例 ,女性 39 例 ,年龄 18~65 岁 ,平均年龄(35.0± 6.8)岁。诊断参照相关诊疗指南^[5]。另选择在我院健康体检的正常人 200 例 ,男性 138 例 ,女性 62 例 ,年龄 19~60 岁 ,平均年龄(42.0± 4.1)岁。本研究经我院医学伦理委员会批准 ,受试者签署知情同意书。

1.2 检测方法 采用酶联免疫吸附试验法检测血清 GP73 水平(上海茁彩生物科技有限公司 ,酶标仪为美国博腾有限公司生产 ,检测波长设置为 450 nm) ;采用亲和吸附离心管法检测血清 AFP- L3(北京热景生物技术有限公司) ;采用全自动化学发光仪检测血清 AFP(上海哈灵生物科技有限公司) ;检测血清 AFU 水平的试剂盒购于四川迈克生物科技股份有限公司 (阳性结果判定 :GP73 >106.5

ng/mL ,AFP- L3 >9.2% ,AFP >9.6 ng/mL ,AFU > 23.5 U/mL)^[6,7]。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 19.0 软件分析数据。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示 ,组间比较采用单因素方差分析 ,两两比较采用 LSD 法。计数资料的比较采用卡方检验 ,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。以健康人和非肝癌 (慢性肝炎和肝硬化) 组为对照 ,绘制 GP73、AFP- L3、AFP 和 AFU 诊断肝癌的 ROC 曲线 ,读取截断点 (cut- off- value) ,首先对联合指标行 Logistic 拟合 ,再计算 ROC 曲线下面积(AUC) ,以评判诊断效能。

2 结果

2.1 各组血清 GP73、AFP- L3、AFP 和 AFU 水平比较 肝癌组血清 GP73 水平显著低于慢性肝炎组和肝硬化组 ,差异有统计学意义($P<0.05$) ;肝癌组血清 AFP- L3 显著高于其他 3 组 ,差异有统计学意义 ($P<0.05$) ;肝癌组血清 AFU 水平显著高于健康人和肝硬化组 ,但低于慢性肝炎组 ,差异有统计学意义($P<0.05$ 表 1)。

2.2 各指标诊断肝癌的效能分析 以健康人为对照 ,血清 GP73、AFP-L3、AFP 和 AFU 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积分别为 0.824 (95% CI 0.675 ~ 0.786)、0.814(95% CI 0.700~0.801)、0.903(95% CI : 0.792~0.887)和 0.652(95%CI 0.601~0.675) ,其截断点分别为 105.4 ng/ml【灵敏度(Se)为 65.5% ,特异度(Sp)为 83.7%】、9.2%(Se 为 52.5% ,Sp 为 100%)、9.6 ng/ml(Se 为 70.2% ,Sp 为 100%)和 23.0 U/L(Se 为 40.5% ,Sp 为 92.8%) ,结果表明血清 GP73、AFP- L3 和 AFP 比 AFU 诊断肝癌的效能更高(图 1A)。以

非肝癌人群为对照，血清 GP73、AFP-L3、AFP 和 AFU 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积分别为 0.564 (95%CI :0.485~0.636)、0.724(95%CI :0.555~0.786)、0.745 (95%CI :0.654~0.806) 和 0.571(95%

CI :0.385~0.536)。血清 AFP-L3 联合 AFP 诊断肝癌的截断点分别为 8.25%和 49.25 ng/ml，其 Se 为 55.5% Sp 为 85.0%(图 1B 和表 2)。

表 1 四组血清指标水平($\bar{x}\pm s$)比较

	例数	GP73(ng/ml)	AFP-L3(%)	AFP(ng/ml)	AFU(U/L)
健康人	200	62.0± 6.6	2.5± 0.5	2.3± 0.1	10.3± 2.8
慢性肝炎	238	141.2± 10.2	5.2± 1.0	44.1± 5.1	29.9± 6.7
肝硬化	201	178.2± 23.9	9.0± 1.3	67.4± 2.3	17.1± 3.5
肝癌	261	122.0± 31.8 ^{①②}	12.5± 3.4 ^{①②}	70.0± 3.5 ^②	25.4± 6.3 ^①
F		32.456	13.870	17.763	10.987
P		<0.001	0.002	<0.001	0.014

与其他组比 ①P<0.05 ;与慢性肝炎组比 ②P<0.05

表 2 血清 AFP-L3 和 AFP 单独或联合诊断肝癌的效能(%)

	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确性
AFP-L3	55.5(145/261)	85.0(543/639)	58.5(145/248)	83.3(543/652)	76.4(688/900)
AFP	57.1(149/261)	82.7(528/639)	53.6(149/278)	84.9(528/622)	75.2(677/900)
AFP-L3/AFP	65.9(172/261)	85.9(549/639)	61.6(172/279)	88.4(549/621)	80.1(721/900)

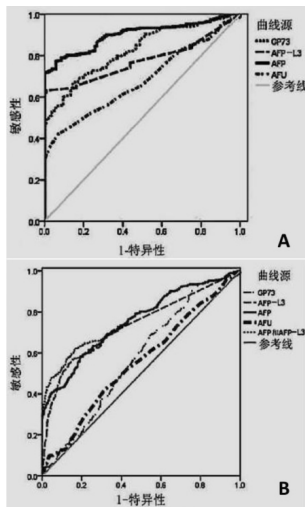


图 1 ROC 曲线

A: 以健康人为对照,各指标单独诊断肝癌的效能;

B: 以非肝癌患者为对照,各指标诊断肝癌的效能

2.3 不同血清 AFP 水平患者血清 GP73 诊断价值 在 261 例肝癌患者中，血清 AFP<9.6 ng/ml 者 71 例 (27.2%)，其中 PG73>106.5 ng/ml 者 30 例(42.3%)，提示 GP73 对 AFP 阴性肝癌有一定的诊断价值；在 201 例肝硬化患者中，血清 AFP<9.6 ng/ml 者 98 例 (48.8%)，其中 PG73>106.5 ng/ml 者 52 例(53.1%)，提示血清 GP73 水平容易受到肝硬化的影响。

3 讨论

既往研究表明，血清 GP73、AFP-L3、AFP 和

AFU 水平检测对肝癌的诊断具有指导意义^[8-10]。然而，在实际临床工作中，肝炎或肝硬化患者也会出现这些指标的异常变化^[3,4]。GP73 是一种跨膜蛋白。既往研究发现，肝癌细胞 GP73 表达水平较正常肝细胞高，并且也比肝硬化患者高^[11]。本研究却发现，肝癌患者血清 GP73 水平显著低于肝硬化患者，与国外作者的研究结果^[12]一致。

血清 AFP 水平是临床上使用最多的肝癌筛查指标。但是，部分早期肝癌患者血清 AFP 水平并无异常升高，因此其假阴性率较高^[13]。AFP-L3 也是肝癌特异性蛋白，但是其血清水平常与 AFP 不一致。当血清 AFP-L3>1 ng/ml 时，才能计算其与血清 AFP 的比值。当血清 AFP<10 ng/ml 或>50 000 ng/ml 时，其比值诊断的准确性下降^[14]。本研究发现，原发性肝癌患者血清 AFP-L3 与 AFP 比值最高，与既往报道的结果一致^[15]。血清 AFP 水平在肝癌的诊断和鉴别诊断方面意义很大，尤其对于原发性肝癌，既往研究表明，AFP 在 49.88 ng/ml 时，与非肝癌的鉴别价值较高^[16]。但是，一般实验室通常将其参考值设置为 10 ng/ml，虽然增加了诊断的灵敏度，但是却大大降低了其特异度，并且降低了其与中重度活动性肝炎的鉴别诊断价值^[17]。在临床上，大多数中重度活动性肝炎患者和肝硬化患者血清 AFP 水平会升高至 400 ng/ml 或以上，从而提高了其诊断

原发性肝癌的阈值。

AFU是溶酶体酸性水解酶,在肝脏组织中表达量较高。既往研究证实,原发性肝癌患者血清AFU水平显著升高,并且其水平与肿瘤生长周期有关^[18,19]。本研究以非肝癌人群为对照,应用血清AFU水平诊断原发性肝癌的ROC曲线下面积仅为0.571,说明其诊断价值较差,但是有研究发现应用血清AFU对原发性肝癌的诊断和鉴别诊断价值较高,其灵敏度和特异度分别达到71.2%和91.5%^[20]。结果的差异可能与样本量和患者的病情严重程度等有关。血清AFP联合AFP-L3诊断原发性肝癌的ROC曲线下面积为0.712,其灵敏度和特异度分别为65.9%和85.9%。联合检测诊断的曲线下面积较单独应用血清AFP-L3或血清AFP时高,值得进一步研究^[13]。

综上所述,本研究通过对较大样本量的慢性肝炎肝硬化到肝癌人群的研究,结果发现血清AFP-L3水平对肝癌的诊断价值与AFP相似。肝硬化患者血清GP73水平较高,提示后者容易受到长期肝纤维化和硬化的影响,动态检测可能有助于对肝癌的诊断。检测血清AFU对肝脏疾病的诊断意义不大,其对慢性肝炎和肝硬化患者与肝癌的鉴别诊断价值还需进一步探讨。应用血清AFP联合AFP-L3水平检测能够提高诊断肝癌的效能,减少漏诊。尽管如此,我们认为它们诊断的灵敏度还不够高,因此需要临床医生结合病史、体检和必要的影像学检查,动态观测和必要时行组织病理学检查,以获得尽可能准确的诊断。

【参考文献】

[1] Zheng M, Sun H, Tian Z. Natural killer cells in liver diseases. *Front Med* 2018, 19(4):1-8.

[2] Desantis CE, Lin CC, Mariotto AB et al. Cancer treatment and survivorship statistics 2014. *CA Cancer J Clin* 2012, 62(4):220-226.

[3] Hiraoka A, Ishimaru Y, Kawasaki H et al. Tumor markers AFP, AFP-L3 and DCP in hepatocellular carcinoma refractory to transcatheter arterial Chemoembolization. *Oncology* 2015, 89(3):1-8.

[4] Li B, Li B, Guo T et al. Artificial neural network models for early diagnosis of hepatocellular carcinoma using serum levels of α -fetoprotein α -fetoprotein-L3 des- γ -carboxy prothrombin and Golgi protein 73. *Oncotarget* 2017, 8(46):80521-80530.

[5] Zeng MD, Li YM, Chen CW et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of alcoholic liver disease. *J Dig Dis*, 2008, 9(2):113-116.

[6] 孔颖, 蔺淑梅, 王维娟, 等. 血清高尔基体蛋白73诊断原发性

肝癌价值探讨. *实用肝脏病杂志* 2013, 16(4):341-343.

- [7] 肖潇, 何羽童, 房萌, 等. 甲胎蛋白异质体在原发性肝癌临床诊断中的应用. *实用肝脏病杂志* 2017, 20(5):567-570.
- [8] Ghouri YA, Mian I, Rowe JH. Review of hepatocellular carcinoma: Epidemiology, etiology and carcinogenesis. *J Carcinog*, 2017, 16(1):1-12.
- [9] Wang NY, Wang C, Li W et al. Prognostic value of serum AFP, AFP-L3 and GP73 in monitoring short-term treatment response and recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014, 15(4):1539-1544.
- [10] Zhao J, Guo LY, Yang JM et al. Sublingual vein parameters, AFP, AFP-L3 and GP73 in patients with hepatocellular carcinoma. *Genet Mol Res* 2015, 14(2):7062-7067.
- [11] Marrero JA, Romano PR, Nikolaeva O et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2005, 43(6):1007-1012.
- [12] Iftikhar R, Kladney RD, Havlioglu N et al. Disease- and cell-specific expression of GP73 in human liver disease. *Am J Gastroenterol* 2004, 99(6):1087-1096.
- [13] Park SJ, Jang JY, Jeong SW et al. Usefulness of AFP, AFP-L3 and PIVKA-II and their combinations in diagnosing hepatocellular carcinoma. *Medicine* 2017, 96(11):e5811.
- [14] Durazo FA, Blatt LM, Corey WG et al. Des-gamma-carboxyprothrombin, alpha-fetoprotein and AFP-L3 in patients with chronic hepatitis cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2008, 23(10):1541-1548.
- [15] Setsu T, Tsuchiya A, Watanabe T et al. Early detection of hepatocellular carcinoma recurrence using the highly sensitive fucosylated fraction of alpha-fetoprotein. *Case Rep Gastroenterol* 2017, 11(1):142-147.
- [16] Zuo D, Chen L, Liu X et al. Combination of miR-125b and miR-27a enhances sensitivity and specificity of AFP-based diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Tumour Biol* 2016, 37(5):6539-6549.
- [17] Zhang N, Gu J, Yin L et al. Incorporation of alpha-fetoprotein (AFP) into subclassification of BCLC C stage hepatocellular carcinoma according to a 5-year survival analysis based on the SEER database. *Oncotarget* 2016, 7(49):81389-81401.
- [18] Junna Z, Gongde C, Jinying X et al. Serum AFU, 5'-NT and AFP as biomarkers for primary hepatocellular carcinoma diagnosis. *Open Med* 2017, 12(1):354-358.
- [19] 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. *Tumour Biol*, 2014, 35(11):11559-11564.
- [20] Choi JY, Jung SW, Kim HY et al. Diagnostic value of AFP-L3 and PIVKA-II in hepatocellular carcinoma according to total-AFP. *World J Gastroenterol* 2013, 19(3):339-346.

(收稿 2018-04-26)

(本文编辑 陈从新)