

血清 AFP、GP73 及 PIVKA-Ⅱ 检测对原发性肝癌的诊断效能

杨 璨,田江红,李俊燕,熊小慧,郭 航

(西安国际医学中心医院医学检验科,陕西 西安 710000)

摘要:目的 研究血清甲胎蛋白(AFP)、高尔基体 73(GP73)及异常凝血酶原(PIVKA-Ⅱ)单独及联合检测对原发性肝癌的诊断效能。方法 选取 2021 年 1 月-12 月我院检验中心确诊的原发性肝癌患者 132 例作为原发性肝癌组,将肝炎、肝纤维化、肝硬化患者 92 例作为良性对照组,99 名体检健康者作为健康对照组。采用磁微粒化学免疫发光法分析三组受试者血清 AFP、GP73 及 PIVKA-Ⅱ 水平,并比较各组差异。用受试者 ROC 工作曲线分析 AFP、GP73 及 PIVKA-Ⅱ 对原发性肝癌的诊断价值。结果 原发性肝癌组血清 AFP、GP73、PIVKA-Ⅱ 水平均高于良性对照组和健康对照组($P<0.05$);血清 AFP、GP73、PIVKA-Ⅱ 对原发性肝癌检测特异性分别为 96.93%、70.72%、93.22%,敏感性分别为 51.90%、81.51%、75.91%,AUC 分别为 0.77、0.80、0.88,血清 PIVKA-Ⅱ 具有高敏感性、特异性及 AUC;三者联合诊断原发性肝癌的特异性为 88.89%,敏感性为 83.24%,AUC 为 0.90,均高于单一检测($P<0.05$)。结论 AFP、GP73、PIVKA-Ⅱ 三者联合检测可提高原发性肝癌的检出率,降低漏诊率。

关键词:甲胎蛋白;高尔基体 73;异常凝血酶原;原发性肝癌

中图分类号:R446.1

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.06.021

文章编号:1006-1959(2024)06-0125-05

Diagnostic Efficacy of Serum AFP, GP73 and PIVKA-Ⅱ in Primary Liver Cancer

YANG Can,TIAN Jiang-hong,LI Jun-yan,XIONG Xiao-hui,GUO Hang

(Department of Medical Laboratory,Xi'an International Medical Center Hospital,Xi'an 710000,Shaanxi,China)

Abstract: Objective To study the diagnostic efficacy of single and combined detection of serum alpha-fetoprotein (AFP), Golgi 73 (GP73) and abnormal prothrombin (PIVKA-Ⅱ) in primary liver cancer. **Methods** A total of 132 patients with primary liver cancer diagnosed in our hospital from January to December 2021 were selected as the primary liver cancer group, 92 patients with hepatitis, liver fibrosis and cirrhosis were selected as the benign control group, and 99 healthy subjects were selected as the healthy control group. The levels of serum AFP, GP73 and PIVKA-Ⅱ in the three groups were analyzed by magnetic particle chemical immunoluminescence method, and the differences between the groups were compared. The diagnostic value of AFP, GP73 and PIVKA-Ⅱ in primary liver cancer was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The levels of serum AFP, GP73 and PIVKA-Ⅱ in primary liver cancer group were higher than those in benign control group and healthy control group ($P<0.05$). The specificity of serum AFP, GP73 and PIVKA-Ⅱ in the detection of primary liver cancer was 96.93%, 70.72% and 93.22%, respectively; the sensitivity was 51.90%, 81.51% and 75.91%, respectively; the AUC was 0.77, 0.80 and 0.88, respectively, thus serum PIVKA-Ⅱ had high sensitivity, specificity and AUC. The specificity, sensitivity and AUC of the combined diagnosis of primary liver cancer were 88.89%, 83.24% and 0.90, respectively, which were higher than those of single detection ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of AFP, GP73 and PIVKA-Ⅱ can improve the detection rate of primary liver cancer and reduce the rate of missed diagnosis.

Key words: Alpha-fetoprotein; Golgi apparatus 73; Abnormal prothrombin; Primary liver cancer

原发性肝癌(primary liver cancer)是消化系统发病率最高、致死率高的恶性肿瘤,发病率居全国第 4 位,致死率居全国第 3 位^[1,2]。原发性肝癌主要包括肝细胞癌(HCC)、肝内胆管癌(ICC)和混合型肝细胞癌(CHCC-CCA)3 种不同病理学类型。HCC 发病隐匿,大多数患者病情发展到中晚期才会出现肝区疼

痛、乏力、食欲缺乏、消瘦等症状,5 年生存率<16%。早期诊断 HCC 在疾病的治疗、改善和生存方面至关重要,早发现、早干预,HCC 的 5 年生存率可达到 70%^[3]。甲胎蛋白(AFP)是一种广泛经典的生物标志物,可用于 HCC 诊断,但其诊断准确性有限,检测小肿瘤和早期肿瘤的假阴性率高,并且其在慢性肝炎和肝硬化中也可能升高^[7]。显然,单独应用 AFP 早期筛查 HCC 容易漏诊^[8]。高尔基体 73(GP73)被认为是 HCC 潜在的肿瘤标志物,是一种分布于高尔基体Ⅱ型跨膜蛋白。正常情况下,在胆管上皮细胞内表达(健康人群肝细胞内不表达),当肝细胞急性坏死时,体内 GP73 高表达,在肝实质肿瘤患者中明显增多。

作者简介:杨璨(1986.5-),女,陕西西安人,本科,主管技师,主要从事传染病、肿瘤的诊断研究

通讯作者:田江红(1984.4-),女,陕西西安人,硕士,主管技师,主要从事肿瘤、宏基因的诊断研究

GP73 是一种敏感的、对肝癌有价值的血清肿瘤标志物^[9]。Liebman HA 等^[10]于 1984 年发现 HCC 患者血清中因维生素 K 缺乏或拮抗剂 II 引起的异常凝血酶原显著升高,可作为 HCC 新的血清标志物。大量文献证明,在 HCC 诊断中,异常凝血酶原(PIVKA-II)具有较高的敏感性和特异性,总体表现优于其他肿瘤标志物。我国各种肝病人群基数庞大,高效筛查手段是提高肝癌早期诊断率和生存率的关键。尽管超声、核磁共振成像(MRI)和肝脏活检技术大大提高了 HCC 诊断的准确性,但这些技术存在一定的不足,如高成本、侵入性、以及对<2 cm 的小肿瘤不能及时发现,使这些技术的应用受到了很大限制^[4]。因此,经济、微创和依从性好的血清生物标志物在 HCC 诊断中发挥着非常重要作用^[5,6]。而通过早期筛查,1/3 的早期肝癌患者可以得到根治,且肝癌患者的 5 年生存率可提高 90%,不仅能减轻患者的痛苦,还能降低医疗负担。为此,本研究通过分析血清 AFP、GP73、PIVKA-II 单独及联合检测对原发性肝癌的诊断价值,以期原发性肝癌的早期诊断提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2021 年 1 月 1 日-12 月 31 日在西安国际医学中心医院确诊的 132 例原发性肝癌患者作为原发性肝癌组,其中男 98 例,女 34 例,年龄 35~73 岁,平均年龄(59.82±9.71)岁;确诊的 92 例肝炎、肝纤维化、肝硬化患者作为良性对照组,其中男 67 例,女 25 例,年龄 37~70 岁,平均年龄(55.44±11.21)岁;体检的 92 例健康者作为健康对照组,其中男 58 例,女 34 例,年龄 32~69 岁,平均年龄(47.68±12.50)岁。三组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。所有研究对象均自愿参与本研究且已签署知情同意书。

1.2 纳入与排除标准 原发性肝癌组与良性肝病对照组纳入标准:①依据《原发性肝癌诊断规范

(2019 版)》^[11]明确诊断;②手术、化疗等治疗干预前采集血样化验;③在我院进行手术治疗;④首次确诊病例。健康对照组纳入标准:①年龄等一般资料与原发性肝癌组和良性对照组匹配;②无恶性肿瘤病史;③近期未使用影响凝血作用的药物等。排除标准:①心脑血管疾病,重症感染,恶性疾病等;②孕期或哺乳期;③丧失自主意识,依从性差者。

1.3 方法 采集红头促凝管空腹静脉血 3 ml,自然凝固 10 min,分离血清样本后 3000 r/min 离心处理 10 min。采用北京热景生物有限公司 HotgenC2000 全自动化学发光仪器检测血清 AFP、GP73、PIVKA-II 水平(北京热景生物有限公司配套试剂、定标液、质控)。检测结果超出参考值时,判定为阳性。AFP>7 ng/ml,GP73>150 ng/ml,PIVKA-II>40 mAu/ml。所有检测均严格按照标准操作规程、有专业检验人员完成。

1.4 观察指标 原发性肝癌组和良性对照组术前均采集静脉血样,健康对照组早空腹采集静脉血标本,比较三组受试者血清 AFP、GP73 和 PIVKA-II 水平。通过受试者工作(ROC)曲线分析 AFP、GP73、PIVKA-II 对原发性肝癌的诊断价值。

1.5 统计学方法 数据分析采用 SPSS 26.0 软件,不符合正态分布的计量数据以 $[M(Q_1\sim Q_3)]$ 表示,采用非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验进行多组分级数据比较,采用独立检验进行两组之间的比较。诊断价值分析通过 ROC 曲线评估,得到敏感度和特异度,计算出约登指数,确定最佳截断值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清 AFP、GP73、PIVKA-II 水平比较 原发性肝癌组血清 AFP、GP73 和 PIVKA-II 水平均高于良性对照组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);良性对照组和健康对照组血清 GP73 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 三组血清 AFP、GP73、PIVKA-II 水平比较 $[M(Q_1\sim Q_3)]$

组别	n	AFP(ng/ml)	GP73(ng/ml)	PIVKA II(mAu/ml)
健康对照组	99	3.20(2.40~4.45)	49.23(39.13~65.34)	27.10(21.65~31.43)
良性对照组	92	3.01(2.00~4.91)	108.18(76.21~158.84)	26.30(20.73~35.41)
原发性肝癌组	132	7.78(3.23~880.50)	158.74(52.00~287.00)	310.66(39.54~3855.11)
Z1		-0.203	-6.523	-0.362
P1		0.834	0.001	0.713

注:Z1/P1 为健康对照组与良性对照组比较;Z2/P2 为良性对照组和原发性肝癌组比较;Z3/P3 为健康对照组和原发性肝癌组比较

表 1(续)

组别	AFP(ng/ml)	GP73(ng/ml)	PIVKA II (mAu/ml)
Z2	-6.542	-9.943	-9.541
P2	0.000	0.000	0.000
Z3	-6.284	-3.341	-8.642
P3	0.000	0.000	0.000

注: Z1/P1 为健康对照组与良性对照组比较; Z2/P2 为良性对照组和原发性肝癌组比较; Z3/P3 为健康对照组和原发性肝癌组比较

2.2 血清 AFP、PIVKA-Ⅱ、GP73 单独及联合检测诊断原发性肝癌的效能比较 ROC 曲线显示, 血清 PIVKA-Ⅱ 诊断原发性肝癌具有高敏感性、特异性及

AUC, 且三者联合诊断原发性肝癌的特异性、敏感性 及 AUC 均高于单一检测 ($P<0.05$), 见表 2、图 1。

表 2 血清 AFP、PIVKA-Ⅱ、GP73 单独及联合检测诊断原发性肝癌的效能比较

血清指标	AUC	敏感度(%)	特异性(%)	约登指数	最佳截断值	标准误	95% CI	P
AFP	0.77	51.90	96.93	0.49	12.90 ng/ml	0.03	0.71~0.83	0.000
GP73	0.80	81.51	70.72	0.52	158.19 ng/ml	0.03	0.74~0.85	0.000
PIVKA-Ⅱ	0.88	75.91	93.22	0.69	50.11 mAu/ml	0.02	0.83~0.93	0.000
AFP+GP73+PIVKA-Ⅱ	0.90	83.24	88.89	0.71	0.18	0.02	0.85~0.94	0.000

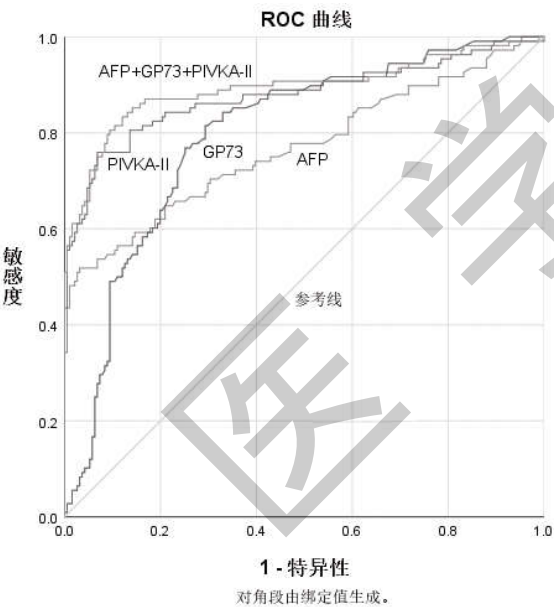


图 1 血清 AFP、PIVKA-Ⅱ、GP73 单独及联合检测诊断原发性肝癌的 ROC 曲线

3 讨论

原发性肝癌是发生于肝脏上皮的恶性肿瘤, 如何早发现、早诊断、早治疗, 提高肝癌患者的 5 年生存率, 是我国在诊疗原发性肝癌的一大难题。而 HCC 的筛查与诊断, 过去以病理检查与影像学为主, 但两者都容易造成漏诊。血清学检测能够比影像学提前

3~28 个月预警原发性肝癌发生^[12]。另有研究证实^[13], 癌症患者体内相关血清标志物及代谢物的差别表达与疾病发生、发展及预后密切相关。

AFP 是一种分子量为 70 kDa 的糖基化白蛋白, 由胚胎期卵黄囊、未分化肝细胞和胎儿胃肠道组成, 是最原始的原发性肝癌血清标志物。1964 年首次在肝细胞癌患者的血清中被发现, 目前仍然是肝细胞癌的常用诊断生物标志物^[14,15]。AFP 可与原发性肝癌细胞膜上的受体结合, 再通过提升 C-FOS、SRC、C-JUN、RAS 等癌基因的表达, 激活 Ca^{2+} 、PI3/AKT 等信号通路, 参与原发性肝癌细胞的增殖和分化。AFP 还可通过抑制 Caspase-3 的活性诱导原发性肝癌细胞产生凋亡^[16-18]。70%~80% 以上的原发性肝细胞癌患者报告出现血清 AFP 水平升高, 本研究数据也得到了很好验证。因此, AFP 异常增高主要指示肿瘤进展、肝脏切除、接受治疗后复发。20%~30% 的原发性肝细胞癌患者 AFP 检测结果不增高, 可能存在漏诊, 会导致许多患者错过早期诊断和治疗时机。

GP73 最早是由 Kladney 等人在巨细胞型肝炎的研究中发现, 源于顺式高尔基体上的一种 II 型高尔基体跨膜蛋白^[19,20]。正常情况下, GP73 在正常肝脏的胆管上皮细胞表达, 而在肝细胞内几乎没有。在疾病状态下, GP73 在被蛋白酶切过的同时, 可以通过

内涵体将 GP73 从高尔基体的顺面膜囊释放到细胞外,从而进入血液。大量研究证明^[21,22],除酒精性肝炎和肝硬化外,GP73 中 AUC 仅为 0.673,而慢性乙肝、慢性丙肝、非酒精性脂肪肝、自身免疫性肝炎以及由此引起的肝硬化中 AUC 的含量更是高达 0.89。因此,血清 GP73 对不同病因导致的肝炎和肝硬化的诊断价值较好。研究表明^[23],GP73 诊断肝细胞癌的敏感性为 74.6%,特异性为 97.4%,阳性预测值为 82.7%,其血清表达高于对照组和癌旁组织。付超等^[24]研究指出,GP73 与肝癌转移之间存在一定的关联。GP73 与肝细胞癌中的转化性生长因子 B(TGFB)SMAD 和 PIK3-AKT 信号通、细胞因子、TNF、JAK-STAT 等相关,并可用于 HCC 患者的病情监测,显示出较 AFP 更高的灵敏度和特异性。GP73 曾被认为是 HCC 的一种很有前途的生物标记^[25,26]。GP73 对肿瘤的增殖、凋亡、侵袭和迁移都有多种机制的促进作用。因此,GP73 不仅是一种良好的肝纤维化和肝硬化血清标志物,而且可用于区分健康人、良性肝脏病变和肝癌。本研究显示,原发性肝癌组血清 GP73 高于良性对照组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);且良性对照组和健康对照组血清 GP73 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。因此,GP73 是一种新型的肝细胞癌肿瘤标志物。原发性肝癌患者血清 GP73 异常升高,可能与内皮细胞的异常增殖,导致中小胆管上皮细胞异常增殖有关。随着肝脏受损程度的增加,GP73 的水平明显增加,这对于 HCC 早期的诊断和预后判断都是非常有价值的。

PIVKA-II 又称异常脱羧基凝血酶原(DCP),是一种作为补充肝细胞癌中 α 胎蛋白(AFP)的潜在生物标志物,是由维生素 K 缺乏或拮抗剂-II 诱导的凝血酶原^[27]。近年来,PIVKA-II 的诊断作用受到广泛关注,正常情况下,维生素是合成凝血因子 II、VII、IX、和 X 的必需物质。肝脏在缺乏维生素 K 或存在拮抗剂的情况下,抑制了维生素 K 依赖性碳水化合物氧化酶的活性,导致凝血因子 N-末端谷氨酸残基的羧基化。这种不正常的凝血因子不能执行凝血功能,被称为异常凝血酶原,是由缺乏维生素 K 或维生素 II 拮抗剂引起的^[28]。此前的研究表明,PIVKA-II 是一种潜在的高灵敏度、高特异性肝癌诊断标志物^[29]。本研究数据显示,肝细胞癌患者血清 PIVKA-II 水平高于良性肝病对照组和健康对照组,其诊断肝细胞癌的灵敏度高达 75.91%,特异度高达

93.22%,AUC 为 0.88,这一结果与之前报告相符。作为一个独立的生物标志物,PIVKA-II 对 HCC 的诊断具有重要意义。但应注意与维生素 K 缺乏的生理及病理状态区分,如饮酒、新生儿、胆管梗阻、黄疸、肾脏疾病、头孢类抗生素的应用、华法林及苯丙香豆素治疗患者等,避免误诊。

综上所述,血清 AFP、GP73、PIVKA-II 联合测定可提高原发性肝癌的诊断价值。异常升高的原发性肝癌血清指标再结合患者体格检查、影像学、组织学检查有助于明确诊断,及早干预、治疗,进而提高患者的生存率。

参考文献:

- [1]Mohammadian M,Allah Bakeshei K,Mohammadian-Hafshejani A.International epidemiology of liver cancer: geographical distribution,secular trends and predicting the future [J].Prev Med Hyg,2020,61:e259-e289.
- [2]Xie DY,Ren ZG,Zhou J,et al.2019 Chinese clinical guidelines for the management of hepatocellular carcinoma: updates and insights[J].Hepatobiliary Surg Nutr,2020,9(4):452-463.
- [3]Sarbarzeh PA,Karimi S,Jalilian M,et al.Depression,Anxiety, Stress and Social Isolation in Hepatitis Patients [J].SciMedicine J, 2020,2(4):225-233.
- [4]Caviglia GP,Ribaldone DG,Abate ML,et al.Performance of protein induced by vitamin K absence or antagonist-II assessed by chemiluminescence enzyme immunoassay for hepatocellular carcinoma detection: a meta-analysis [J].Scand J Gastroenterol, 2018,53(6):734-740.
- [5]Sartorius K,Sartorius B,Winkler C,et al.The biological and diagnostic role of miRNA's in hepatocellular carcinoma [J].Front Biosci (Landmark Ed),2018,23(9):1701-1720.
- [6]Li C,Li R,Zhang W.Progress in non-invasive detection of liver fibrosis[J].Cancer Biol Med,2018,15(2):124-136.
- [7]关贵文,姚明解,钱相君,等.AFP 和 AFP-L3%联合检测在肝细胞癌诊断中的应用价值 [J].临床肝胆病杂志,2019,35(7): 1514-1518.
- [8]谢荣章,陈树华.联合血清 AFP、TK1 及 DKK1 水平检测对原发性肝癌诊断价值研究[J].国际检验医学杂志,2018,39(8): 939-941,946.
- [9]Sai WL,Yao M,Shen SJ,et al.Dynamic expression of hepatic GP73 mRNA and protein and circulating GP73 during hepatocytes malignant transformation [J].Hepatobiliary Pancreat Dis Int,2020,19(5):449-454.
- [10]Liebman HA,Furie BC,Tong MJ,et al.Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma[J].N Engl J Med,1984,310(22):1427-1431.

(下转第 138 页)

(上接第 128 页)

- [11]王姗,吴庆旺,李小科,等.《原发性肝癌诊疗规范(2019 年版)》解读[J].临床肝胆病杂志,2020,36(5):996-999.
- [12]卢智略,李晓辉,王锦祥.围术期 D-二聚体、抗凝血酶Ⅲ水平与肝癌肝部分切除术患者预后的相关性分析[J].中西医结合肝病杂志,2022,32(3):235-237
- [13]谭妮,郑海平,欧超.肝癌根治术治疗原发性肝癌患者的术后生存率及预后影响因素分析[J].现代肿瘤医学,2019,29(5):826-829.
- [14]Force M, Park G, Chalikonda D, et al. Alpha -Fetoprotein (AFP) and AFP-L3 Is Most Useful in Detection of Recurrence of Hepatocellular Carcinoma in Patients after Tumor Ablation and with Low AFP Level[J]. Viruses, 2022, 14(4):775.
- [15]Galle PR, Foerster F, Kudo M, et al. Biology and significance of alpha -fetoprotein in hepatocellular carcinoma [J]. Liver Int, 2019, 39(12):2214-2229.
- [16]Meng W, Bai B, Bai Z, et al. The immunosuppression role of alpha -fetoprotein in human hepatocellular carcinoma [J]. Discov Med, 2016, 21(118):489-494.
- [17]Sauzay C, Petit A, Bourgeois AM, et al. Alpha -fetoprotein (AFP): A multi-purpose marker in hepatocellular carcinoma [J]. Clin Chim Acta, 2016, 463:39-44.
- [18]Kladney RD, Bulla GA, Guo L, et al. GP73, a novel Golgi-localized protein upregulated by viral infection [J]. Gene, 2000, 249(1-2):53-65.
- [19]刘智. AFP-L3、DCP 及 GP73 在肝细胞肝癌临床应用中的价值[D]. 长春:吉林大学, 2021.
- [20]孙景武, 刘志春, 张雷, 等. 原发性肝细胞癌与胆管细胞癌中高尔基体蛋白 73 及甲胎蛋白表达的临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(5):737-742.
- [21]王晓燕. 联合检测血清 GP73、AFP 及 AFP-L3 在原发性肝癌中的诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(1):64-66.
- [22]闫圆, 李小全. 血清高尔基体蛋白 73 联合 AFP、AFU 对诊断 AFP 低水平原发性肝癌的价值分析 [J]. 医学理论与实践, 2022, 35(17):2888-2890.
- [23]Mao Y, Yang H, Xu H, et al. Golgi protein 73 (GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma [J]. Gut, 2010, 59(12):1687-1693.
- [24]付超, 齐军, 李学祥, 等. 高尔基体蛋白 73 (GP73) 检测在肝细胞癌中的应用价值[J]. 中国肿瘤, 2010, 19(8):553-556.
- [25]Liang R, Liu Z, Piao X, et al. Research progress on GP73 in malignant tumors [J]. Onco Targets Ther, 2018, 11:7417-7421.
- [26]孙景武, 刘志春, 张雷, 等. 原发性肝细胞癌与胆管细胞癌中高尔基体蛋白 73 及甲胎蛋白表达的临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(5):737-742.
- [27]张珈玮. 血清异常凝血酶原在肝细胞肝癌临床应用中的价值[D]. 长春:吉林大学, 2019.
- [28]Kim MN, Kim BK, Kim SU, et al. Longitudinal assessment of alpha-fetoprotein for early detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis [J]. Scand J Gastroenterol, 2019, 54(10):1283-1290.

收稿日期:2023-03-15;修回日期:2023-04-24

编辑/成森