

# 血清 Glypican-3 联合 AFP 对肝癌患者的诊断效果

李志阳<sup>1</sup>, 李 歆<sup>1</sup>, 杨素冰<sup>1</sup>, 丘熙廉<sup>2</sup> (1. 广州医科大学附属肿瘤医院输血科, 广州 510095; 2. 中山大学附属第一医院检验医学部, 广州 510080)

**【摘要】目的** 探讨血清磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(Glypican-3)和甲胎蛋白(AFP)对肝癌患者的诊断效果。**方法** 收集 2012 年 1 月至 2013 年 12 月就诊的 110 例肝病患者的血清分为 3 组,其中肝癌患者 42 例,肝硬化患者 24 例,肝炎患者 44 例。同时收集健康体检者血清 40 例作为健康对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)与电化学发光法分别检测血清 Glypican-3 及 AFP 的表达水平。**结果** Glypican-3 在肝细胞癌患者血清中的表达水平明显高于其余 3 组;AFP 在肝细胞癌组及肝硬化组患者血清中的表达水平平均高于其余两组患者。Glypican-3 与 AFP 联合检测对肝癌患者诊断的特异性及敏感性明显高于 Glypican-3 或 AFP 单项检测。**结论** 血清中 Glypican-3 的表达水平对诊断肝细胞癌具有很高的价值,血清 Glypican-3 联合 AFP 检测可很大程度地提高肝细胞癌的诊断率。

**【关键词】** 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3; 甲胎蛋白; 肝细胞癌; 诊断效果

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.24.014 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)24-3424-02

## Performance of combined detection of serum Glypican-3 and AFP for the diagnostic of hepatocellular carcinoma LI

Zhi-yang<sup>1</sup>, LI Xin<sup>1</sup>, YANG Su-bing<sup>1</sup>, QIU Xi-lian<sup>2</sup> (1. Department of Blood Transfusion, Cancer Center of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510095, China; 2. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

**【Abstract】Objective** To explore the diagnostic value of combined detection of serum Glypican-3 and  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) in the patients with hepatocellular carcinoma. **Methods** During Jan. 2012 and Dec. 2013, a total of 110 cases with hepatic diseases were enrolled, including 42 cases with hepatocellular carcinoma, 24 cases with liver cirrhosis and 44 cases with hepatitis. Another 40 healthy subjects were enrolled as control group. Serum levels of Glypican-3 and AFP were detected by using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and electrochemiluminescence respectively. **Results** Serum level of Glypican-3 in patients with hepatocellular carcinoma was significantly higher than the other three groups. Serum levels of AFP in patients with hepatocellular carcinoma and cirrhosis were significantly higher than the other two groups. The specificity and sensitivity of joint detection of Glypican-3 and AFP were higher than single detection of Glypican-3 or AFP for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. **Conclusion** Serum Glypican-3 might be with important value for the diagnosis of hepatocellular carcinoma, and combined detection of Glypican-3 and AFP could significantly improve the diagnostic rate of hepatocellular carcinoma.

**【Key words】** Glypican-3;  $\alpha$ -fetoprotein; hepatocellular carcinoma; diagnostic performance

2008 年世界卫生组织资料显示肝癌发病率在所有肿瘤中位于第 5 位,其病死率为第 3 位,并且两者均有逐年上升的趋势<sup>[1]</sup>。目前切除术仍是外科治疗肝癌最常用的方法,但由于大多数肝癌患者就诊时已经是中期或晚期,最佳手术切除的时机已经错过,因此影响肝癌治疗及预后的关键就是早发现<sup>[2]</sup>。目前甲胎蛋白(AFP)是肝癌诊断中应用最广泛的一种肿瘤标记物,但 AFP 在肝癌患者中敏感度很低,其特异性也不高,特别是在早期肝癌患者中阳性率更低,因此 AFP 作为肝癌的早期确诊方法并不是很理想,当前寻找新的肿瘤标记物已迫在眉睫。磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(Glypican-3)已成为国内外医学研究的热点,Glypican-3 是细胞膜表面的一种蛋白聚糖,在正常人体的肝脏及肝炎患者中均不表达,但是在肝癌患者的肝细胞中呈高表达<sup>[3]</sup>。本研究以 110 例就诊的肝病患者及 40 例健康体检者的血清为研究对象,探讨 Glypican-3 和 AFP 对肝癌患者的诊断效果,现将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2012 年 1 月至 2013 年 12 月广州医科大学附属肿瘤医院和中山大学附属第一医院收治的 110 例肝病患者,其中肝癌患者 42 例(均为初发,且均没有经过任何抗

癌治疗),男 29 例,女 13 例,年龄 35~69 岁,平均 49.9 岁。肝硬化患者 24 例,男 14 例,女 10 例,年龄 36~58 岁,平均 32.8 岁。肝炎患者 44 例,男 28 例,女 16 例,年龄 29~62 岁,平均 45.5 岁。所有患者均经影像学、病理学和实验室明确诊断。另收集健康体检者的血清 40 例,年龄 26~45 岁,为同期健康体检的肝功能生化指标检测均正常者。

**1.2 方法** 所有研究对象均抽取 5 mL 清晨空腹外周静脉血;4 000 r/min,离心 10 min 后,分离出血清,然后放置于-80℃保存,集中检测。检测前将血清标本拿出解冻并混匀。血清 Glypican-3 检测:按美国 BioMosaics 公司提供的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒的说明书进行操作,并在瑞士 TECAN F50 多功能酶标仪上进行分析<sup>[4]</sup>。每例待测血清重复 3 个孔,取平均值。采用试剂盒提供标准品实验,分 6 个浓度梯度,即 0、50、150、450、1 350 和 4 050 pg/mL。以标准品为自变量,以其对应的吸光值为应变量作标准曲线,计算出每例血清样品中 Glypican-3 浓度。正常参考值为:1.56~6.08 pg/mL。血清 AFP 检测:每例受试者取 250  $\mu$ L 的血清样品,应用美国 ARCHITECT i2000 全自动免疫发光仪、相应的检测 AFP 试剂盒及其说明书来检测血清中 AFP 水平。正常参考

值为 3.09~5.21 ng/mL。

**1.3 统计学处理** 所有数据均采用 SPSS19.0 统计软件进行处理,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  来表示,组内均数间比较使用 *t* 检验,阳性率比较采用  $\chi^2$  检验,组间均数比较使用单因素的方差分析(One-way ANOVA),双变量计量资料的相关性分析采用 Pearson 相关检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1** 4 组研究对象血清 Glypican-3 及 AFP 的表达水平 Glypican-3 在肝癌患者血清中的表达水平明显高于肝硬化组、肝炎组及健康对照组的患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );AFP 在肝癌组及肝硬化组患者血清中的表达水平均高于肝炎组及健康对照组患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

**表 1 4 组研究对象血清中的 Glypican-3 及 AFP 的表达水平( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	<i>n</i>	Glypican-3(pg/mL)	AFP(ng/mL)
肝癌组	42	681.25±23.14	79.08±14.57
肝硬化组	24	35.21±2.45 <sup>a</sup>	15.24±0.50 <sup>a</sup>
肝炎组	44	36.87±2.08 <sup>a</sup>	4.98±0.15 <sup>ab</sup>
健康对照组	40	4.07±0.74 <sup>a</sup>	3.95±0.15 <sup>ab</sup>

注:与肝癌组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与肝硬化组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

**2.2** Glypican-3、AFP 及 Glypican-3 和 AFP 的特异性与敏感性 Glypican-3 和 AFP 的值大于试剂盒规定的正常值(AFP>20 ng/mL,Glypican-3>60 pg/mL)均为阳性。42 例肝癌患者血清 Glypican-3 和 AFP 两者联合检测敏感性(85.71%)明显高于 Glypican-3(76.19%)或 AFP 单项检测的敏感性(61.90%),差异具有统计学意义。40 例健康患者血清 Glypican-3 与 AFP 联合检测的特异性(95.00%)明显高于 Glypican-3(85.00%)或 AFP 单项检测的特异性(82.50%),差异具有统计学意义,见表 2。

**表 2 Glypican-3、AFP 及二者联合检测的特异性与敏感性**

项目	敏感性	<i>P</i>	特异性	<i>P</i>
	[%( <i>n/n</i> )]		[%( <i>n/n</i> )]	
Glypican-3	76.19(32/42)	0.021 <sup>a</sup>	85.00(34/40)	0.034 <sup>a</sup>
AFP	61.90(26/42)	0.014 <sup>a</sup>	82.50(33/40)	0.031 <sup>a</sup>
联合检测	85.71(36/42)		95.00(38/40)	

注:与联合检测相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

**3 讨 论**

早期诊断和早治疗是诊治肝细胞癌的关键,AFP 广泛应用于肝细胞癌的普查、诊断及判断预后<sup>[5]</sup>。Glypican-3 作为 Glypican 家族中的一员,其氨基端的可溶性片段可被分泌到细胞外并且能被检测到,因此 Glypican-3 在临床肝细胞癌患者的血清中的水平是否存在一定的价值值得研究<sup>[6]</sup>。熊波<sup>[7]</sup>报道,在区分肝癌与肝良性疾病方面,Glypican-3 显示了良好的诊断价值。本研究通过分析 110 例就诊的肝病患者和 40 例健康对照者的血清中 Glypican-3 和 AFP 的表达情况,探讨 Glypican-3 联合 AFP 对肝癌患者的诊断价值。

本研究结果显示,肝细胞癌患者血清中 Glypican-3 的表达水平明显增高,显著高于肝硬化组、肝炎组及健康对照组,这与江枫等<sup>[8]</sup>的研究结果一致,这一结果提示 Glypican-3 蛋白作为一个肝癌的特异性的标记物,在肝细胞发生癌变时在恶性

癌细胞内有稳定的表达。本研究中 AFP 在肝癌组及肝硬化组血清中的表达水平均高于肝炎组及健康对照组,但是在肝硬化患者的血清中 AFP 的表达水平明显低于肝癌患者,这结果与文献<sup>[9]</sup>的结果有些出入,分析原因可能是由于试验中所规定的界限值不同有关,也可能与本研究所选的对象所处阶段及病例数有关。这一结果也提示在肝癌诊断方面,Glypican-3 蛋白的特异性高于 AFP。本研究结果还显示,Glypican-3 联合 AFP 检测肝细胞癌的敏感性明显高于 Glypican-3 或 AFP 单项检测的敏感性;在特异性方面,Glypican-3 联合 AFP 明显高于 Glypican-3 或 AFP 单项检测。这一结果与 Ozkan 等<sup>[10]</sup>的研究结果一致,分析其原因可能是由于在诊断肝细胞癌中 Glypican-3 联合 AFP 检测两者可以进行互相补充,弥补 Glypican-3 或 AFP 单项检测的局限性;同时还为肝癌患者筛选出了个体化的敏感肿瘤标志物,并可以对其进行动态监测,最终在判断疗效及提示复发等方面提供了重要的提示作用。

综上所述,Glypican-3 为一种新型的、敏感性和特异性均很好的肝癌的肿瘤标志物,联合 AFP 检测可有效提高肝癌患者的诊断效率。Glypican-3 联合 AFP 检测在临床工作肝癌的诊断中应该大力推广应用。

**参考文献**

- [1] 宋孟琦,杨永飞,王冬冬,等. 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 和甲胎蛋白联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(4):391-399.
- [2] 杨永飞. Glypican-3、AFP、CD133 联合检测在原发性肝癌诊断中的价值[D]. 华中科技大学,2010:299.
- [3] Matsuda M, Asakawa M, Amemiya H, et al. Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of AFP is a useful prognostic biomarker for survival after repeat hepatic resection for HCC[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(8): 731-738.
- [4] 马庆庆,黄建廷,童华波,等. 血清标志 Glypican-3 对肝细胞癌诊断价值初步评价[J]. 中华肿瘤预防杂志,2014,21(2):127-130.
- [5] 王丽丽,王立群,高歌. 原发性肝癌患者血清中 Glypican-3 检测及与 AFP 联合试验的诊断价值[J]. 中国实验诊断学,2011,15(6):1055-1056.
- [6] 郭大伟,侯学忠,魏云涛,等. GPC3 基因转染的树突状细胞对人肝癌 HepG2 细胞杀伤作用的观察[J]. 中华肿瘤防治杂志,2009,16(12):906-909.
- [7] 熊波. 血清肿瘤标记物 GPC3 对原发性肝癌诊断价值的系统评价[D]. 重庆医科大学,2012:30.
- [8] 江枫,肖明兵,倪润洲,等. 血清 glypican3 ELISA 检测法的建立及初步应用[J]. 临床检验杂志,2011,29(6):244-246.
- [9] 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.
- [10] Ozkan H, Erdal H, Kocak E, et al. Diagnostic and prognostic role of serum glypican 3 in patients with hepatocellular carcinoma [J]. J Clin Lab Anal, 2011, 25(5): 350-353.