

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2020. 07. 020

乙型肝炎肝硬化与肝癌患者 HBV DNA、AFP-L3、GP73 的差异及 HBV DNA 与 AFP-L3、GP73 相关性分析

高 莹

武汉市中医医院检验科,湖北武汉 430000

摘 要:目的 探讨乙型肝炎肝硬化与肝癌患者乙型肝炎病毒 DNA (HBV DNA)、血清甲胎蛋白异质体 L3(AFP-L3)、高尔基蛋白 73(GP73)的差异及 HBV DNA 与 AFP-L3、GP73 相关性。方法 回顾该院 2015 年 10 月至 2017 年 10 月收治的乙型肝炎肝硬化患者和肝癌患者的临床资料,其中 80 例乙型肝炎肝硬化患者设为对照组,68 例肝癌患者设为观察组。所有患者均采用 PCR 法检测血清 HBV DNA,采用酶联免疫吸附法检测血清 AFP-L3、GP73 水平。比较两组患者血清 HBV DNA、AFP-L3、GP73 表达水平及阳性率的差异,采用 Pearson 相关对 HBV DNA、AFP-L3、GP73 相关性进行分析,并采用 ROC 曲线分析 HBV DNA 与 AFP-L3、GP73 在肝癌诊断中的价值。结果 观察组患者 HBV DNA、GP73 表达阳性率高于对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$);观察组患者 AFP-L3 表达阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=55.01, P<0.001$)。观察组患者血清 HBV DNA、AFP-L3、GP73 水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。分别将患者 HBV DNA 水平与 AFP-L3、GP73 水平作 Pearson 相关性分析,结果显示,HBV DNA 与 AFP-L3 无相关性($r=0.214, P=0.079$);HBV DNA 与 GP73 表达无相关性($r=0.155, P=0.208$)。采用 ROC 曲线对两组患者 3 种指标的鉴别诊断价值进行分析,3 种指标均有一定的临床诊断价值($AUC>0.5$),且 AFP-L3 在鉴别诊断中的应用价值最高($AUC=0.971, 95\%CI: 0.943\sim0.999$)。结论 乙型肝炎肝硬化与肝癌患者 HBV DNA、AFP-L3、GP73 的水平存在明显差异,且肝癌患者血清 HBV DNA 与 AFP-L3、GP73 水平无明显相关性,AFP-L3 在乙型肝炎肝硬化与肝癌的鉴别诊断中价值最高,值得在临床推广应用。

关键词:肝癌; 乙型肝炎肝硬化; 甲胎蛋白异质体 L3; 高尔基蛋白 73

中图法分类号:R446.1 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2020)07-0939-03

Correlations of HBV DNA, AFP-L3 and GP73 and their differences between patients with hepatitis B liver cirrhosis and liver cancer

GAO Ying

Department of Clinical Laboratory, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430000, China

Abstract: Objective To explore the differences of hepatitis B DNA (HBV DNA), serum alpha fetoprotein heterogeneity L3 (AFP-L3), and Golgi protein 73 (GP73) in hepatitis B cirrhosis and liver cancer patients, and as well as the correlation between HBV DNA and AFP-L3 and GP73. **Methods** The clinical data of hepatitis B patients with liver cirrhosis and patients with liver cancer treated in our hospital from October 2015 to October 2017 were reviewed. A total of 80 cases of patients with hepatitis B cirrhosis were selected as control group, and 68 cases of liver cancer patients were selected as observation group. Serum HBV DNA was detected by PCR in all patients. Serum AFP-L3 and GP73 levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The differences of serum HBV DNA, AFP-L3 and GP73 expression levels and positive rates were compared between the two groups. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between HBV DNA, AFP-L3 and GP73, and ROC curves were used to analyze HBV DNA, AFP-L3 and GP73 in diagnosis of liver cancer. **Results** The positive rates of HBV DNA and GP73 in the observation group were higher than those in the control group, but there was no significant difference between the two groups ($P>0.05$). The positive rate of AFP-L3 expression in the observation group was significantly higher than that in the control group ($\chi^2=55.01, P<0.001$). The serum levels of HBV DNA and AFP-L3 and GP73 in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the difference was statistically significant

($P<0.05$). The Pearson correlation analysis showed that there was no significant correlation between HBV DNA and AFP-L3 ($r=0.214, P=0.079$). There was no significant correlation between HBV DNA and GP73 expression ($r=0.155, P=0.208$). The ROC curve showed that the three groups of indicators had clinical diagnostic value ($AUC>0.5$), and the AFP-L3 had the highest application value in differential diagnosis ($AUC=0.971, 95\%CI: 0.943-0.999$). **Conclusion** The levels of HBV DNA, AFP-L3 and GP73 are different between hepatitis B liver cirrhosis and liver cancer patients, and there is no significant correlation between serum HBV DNA, AFP-L3 and GP73 in liver cancer patients. AFP-L3 has the highest value in the differential diagnosis of hepatitis B liver cirrhosis and liver cancer, which is worth of promotion.

Key words: liver cancer; hepatitis B cirrhosis; alpha-fetoprotein heterologous L3; Golgi protein 73

乙型肝炎(以下简称“乙肝”)为乙肝病毒(HBV)感染引起的肝脏炎性病变,是肝炎中最常见的类型,除肝脏以外的全身多器官、系统亦可受到损害^[1-2]。乙肝多为慢性发病,发病早期症状不明显,病毒的复制对肝脏组织损伤具有重要影响,严重的患者可能并发肝硬化,患者的临床症状主要表现为黄疸、肝区疼痛、肝脾大、肝纤维化以及肝功能受损导致的乏力和下肢水肿等症状,晚期可出现肝癌。乙肝肝硬化和肝癌是乙肝患者的两种严重结局^[3-4]。近年来,关于通过肝癌血清标记物检测以鉴别诊断乙肝肝硬化和肝癌的相关报道较多,其中血清 HBV DNA、甲胎蛋白异质体 L3(AFP-L3)、高尔基蛋白 73(GP73)是研究较多的 3 种指标。但既往报道多通过对乙肝肝硬化和肝癌患者 3 种指标水平差异判断其诊断价值,具有一定的局限性^[5-6]。本研究通过设立对照试验,在比较肝硬化患者与肝癌患者血清 HBV DNA、AFP-L3、GP73 水平差异的同时,通过受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析了这 3 种指标在乙肝肝硬化和肝癌鉴别中的临床价值,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2015 年 10 月至 2017 年 10 月收治的乙肝肝硬化患者 80 例(对照组)和肝癌患者 68 例(观察组)为研究对象。纳入标准:(1)肝癌患者根据《原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)》^[7]进行诊断,经 CT 及肿瘤标记物等检查确诊为肝癌;(2)乙肝肝硬化的患者根据《乙肝肝硬化诊疗规范专家共识(2014)》^[8]确诊为乙肝肝硬化;(3)患者无合并其他血液系统、泌尿系统等严重系统性疾病;(4)对本研究内容知情,自愿参加本研究并签署知情同意书。排除标准^[9-10]:(1)存在其他器官恶性肿瘤,并转移至肝脏的肝癌患者;(2)伴有肺结核、艾滋病等传染性疾病的患者;(3)临床资料缺失或检查不完善的患者。两组患者性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。且本研究经本院伦理委员会批准实施。

1.2 方法 所有患者入院时均完善相关检查,取患

者清晨空腹静脉血 4 mL,采用促凝管凝集 2 h 后采用 Sorvall™ Legend™ XT/XF 离心机离心,转速设置为 4 000 r/min,离心 15 min,离心完成后取血清标本于一 80 ℃ 冰箱保存待检。HBV-DNA 测定:取血清标本 50 μL,100 ℃ 金属浴 10 min,12 000 r/min 离心 10 min,留取上清液,提取核酸,进行 qRT-PCR 测定,PCR 仪采用 Thermal FishQuantStudio™ 7 Flex 实时荧光定量 PCR 系统,收集 FAM、HEX 通道荧光信号并记录检测结果,检测结果 HBV DNA>500 copy/mL 为阳性。

AFP-L3 测定:取患者血清 400 μL 加入 600 μL 清洗液中混匀,以 3 000 r/min 离心 20 s 去除保护液,吸取稀释后的血清 600 μL 加入上部离心管中,室温下放置 10 min;清洗、洗脱后,以 3 000 r/min 离心 20 s,收集离心柱外管中的液体,采用电化学发光法检测 AFP-L3 水平,检测结果 AFP-L3/AFP>10% 为阳性。

GP73 测定:采用酶联免疫吸附法(ELISA)进行检测,试剂盒由上海康朗生物科技有限公司提供,当 GP73≥150 μg/L 判定为肝癌,所有操作严格按照说明书进行。

表 1 两组患者一般资料对比					
组别	<i>n</i>	男 [<i>n</i> (%)]	女 [<i>n</i> (%)]	年龄 (岁, $\bar{x}\pm s$)	病程 (年, $\bar{x}\pm s$)
对照组	80	49(61.25)	31(38.75)	56.29±11.34	8.87±3.15
观察组	68	39(57.35)	29(42.65)	57.10±10.67	9.12±2.97
χ^2/t		0.23		0.45	0.50
<i>P</i>		0.63		0.66	0.62

1.3 观察指标 (1)两组患者血清 HBV DNA 与 AFP-L3、GP73 表达阳性率及表达水平;(2)观察组患者 HBV DNA 与 AFP-L3、GP73 进行相关性分析;(3)HBV DNA、AFP-L3、GP73 对肝癌的诊断价值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计学软件进行分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本

t 检验, 组内比较采用配对样本 *t* 检验; 两变量间相关性评价采用 Pearson 相关分析; 各指标的诊断效能采用 ROC 曲线分析; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者血清 HBV DNA、AFP-L3、GP73 表达阳性率及表达水平的比较 观察组患者 HBV DNA、GP73 表达阳性率高于对照组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 观察组患者 AFP-L3 表达阳性率明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 55.01, P < 0.001$)。观察组患者血清 HBV DNA、AFP-L3、GP73 表达水平均明显高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 见表 2、表 3。

表 2 两组患者血清 HBV DNA、AFP-L3、GP73 表达阳性情况比较[n(%)]				
组别	<i>n</i>	HBV DNA	AFP-L3	GP73
对照组	80	64(80.00)	8(10.00)	56(70.00)
观察组	68	59(86.76)	47(69.12)	53(77.94)
χ^2		1.20	55.01	1.19
<i>P</i>		0.27	<0.001	0.27

表 3 两组患者血清 HBV DNA、AFP-L3、GP73 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	HBV DNA (log copy/mL)	AFP-L3 (μg/L)	GP73 (μg/L)
对照组	80	4.18±0.59	92.73±13.91	115.49±17.63
观察组	68	5.22±0.64	367.59±25.85	186.30±19.86
<i>t</i>		10.21	78.55	22.75
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 肝癌患者 HBV DNA 水平与 AFP-L3、GP73 的相关性分析 分别将患者 HBV DNA 水平与 AFP-L3、GP73 水平进行相关性分析, HBV DNA 与 AFP-L3 无相关性 ($r = 0.214, P = 0.079$); HBV DNA 与 GP73 表达无相关性 ($r = 0.155, P = 0.208$)。

2.3 HBV DNA 与 AFP-L3、GP73 诊断肝癌的 ROC 曲线分析 采用 ROC 曲线分析 3 种指标对肝癌的鉴别诊断价值, 结果显示, HBV DNA、AFP-L3、GP73 鉴别诊断肝癌的 AUC 分别为 0.674 (95% CI: 0.587~0.761)、0.800 (95% CI: 0.720~0.870)、0.971 (95% CI: 0.943~0.999)。

3 讨 论

慢性乙肝是我国最常见的肝脏疾病, 有文献报道, 我国 HBV 携带者已经高达 1.2 亿, 是世界乙型肝炎高发的国家之一^[11-12]。慢性乙肝的早期症状不明显, 因此不易诊断, 多数患者多因出现明显症状入院

治疗, 在确诊时疾病多已处于晚期, 乙肝肝硬化和肝癌是其最为严重的两种结局。肝脏活检是目前临床鉴别诊断肝癌和与乙肝肝硬化的“金标准”, 但肝脏活检为有创检查, 不能反复进行, 且获取组织的代表性有限。慢性乙肝患者发生肝脏损害为 HBV 复制导致, 因此 HBV DNA 对于诊断该病具有一定的诊断价值^[13]。由于乙肝肝硬化和早期肝癌的肝脏损害均较严重, 两种疾病患者血清 HBV DNA 水平与健康者差异较大, 但在两种疾病间的差异往往不够显著, 因此, 依靠 HBV DNA 进行乙肝肝硬化和肝癌的鉴别诊断存在一定难度。

甲胎蛋白(AFP)是一种肿瘤相关的糖蛋白, 根据其对小扁豆凝集素(LCA)亲和电泳的反应性可将其分为 L1、L2 及 L3 共 3 种异质体^[14-15]。有研究表明, AFP 的 3 种异质体中 AFP-L3 与 LCA 的亲合力最高, 是一种异常糖基化的 AFP, 且 AFP-L3 仅由肿瘤细胞产生。因此, 在 AFP 的 3 种异质体中 AFP-L3 在乙肝肝硬化与肝癌的鉴别诊断中应用价值最高。亦有文献报道, AFP-L3 具有较高的特异性, 对于 AFP 阴性的早期肝癌患者的诊断价值较高, 且对于肝癌患者预后具有一定的预测价值, 肝癌患者术后 AFP-L3 不能转阴提示其预后不良^[16]。AFP-L3 已获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准, 可用于原发性肝癌的临床辅助诊断。GP73 是近年来发现的一种新型肿瘤标记物, 为细胞内高尔基体膜的跨膜蛋白, 其表达于人类多种正常上皮细胞中。GP73 在正常肝组织中亦存在, 但其主要由胆管上皮细胞表达, 而肝细胞的表达极少。有文献报道, 肝癌患者细胞中 GP73 的表达上调, 检测血清中 GP73 水平对于肝癌的诊断具有一定的价值^[17-20]。

本研究结果显示, 肝癌患者 HBV DNA、GP73 表达阳性率高于乙肝肝硬化患者, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而肝癌患者 HBV DNA、AFP-L3、GP73 表达水平却明显高于乙肝肝硬化患者; 提示, 肝癌和乙肝肝硬化作为慢性乙肝的恶性进展结局其均会高表达 HBV DNA、AFP-L3、GP73, 而肝癌的恶性程度更高, 其相关指标的表达水平显著增加。同时, 本研究对肝癌患者 HBV DNA 水平与 AFP-L3、GP73 水平进行相关性分析, 结果显示, HBV DNA 与 AFP-L3、GP73 无相关性, 与既往研究报道的情况相符^[19]。ROC 曲线分析显示, 3 种指标对于肝癌的鉴别诊断均有一定的临床价值, 且 AFP-L3 在肝癌鉴别诊断中 AUC 为 0.971, 提示 AFP-L3 是最有价值的鉴别诊断指标。

综上所述, 肝癌患者 HBV DNA、AFP-L3、GP73 水平高于乙肝肝硬化患者, 且肝癌患者血清 HBV

DNA 与 AFP-L3、GP73 水平无相关性,AFP-L3 在乙型肝炎肝硬化与肝癌的鉴别诊断中价值最高,值得在临床推广应用。

参考文献

- [1] 谭朝霞,唐玉兰,高燕,等. 自身抗体在乙型病毒性肝炎和自身免疫性肝炎中的特点分析[J]. 第三军医大学学报, 2016,38(15):1762-1766.
- [2] LEVRERO M,ZUCMAN-ROSSI J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2016, 64(1): S84-S101.
- [3] 魏卓,杨广民,陈晶. 慢性乙型病毒性肝炎及其相关肝硬化、肝癌患者肝组织中 TLR4、TGF- β 1 及 CCL20 的表达及意义[J]. 广东医学, 2016,37(5):684-688.
- [4] MASON W S,GILL U S,LITWIN S, et al. HBV DNA integration and clonal hepatocyte expansion in chronic hepatitis B patients considered immune tolerant[J]. Gastroenterology, 2016,151(5):986-998.
- [5] EL-MOWAFY M,ELGAML A,EL-MESERY M A. Molecular analysis of Hepatitis B virus sub-genotypes and incidence of preS1/preS2 region mutations in HBV-infected Egyptian patients from Mansoura[J]. J Med Virol, 2017, 89(9):1559-1566.
- [6] 王瑜,王志军. 联合监测血清 AFP-L3 与 HBV DNA 在诊断肝硬化癌变中的价值[J]. 中国现代医学杂志, 2018,23(7):51-54.
- [7] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)[J]. 中华消化外科杂志, 2017,16(7):635-647.
- [8] 中华消化杂志. 乙型肝炎肝硬化诊疗规范专家共识 2014[J]. 药学与临床研究, 2014(2):99.
- [9] 赵伟,李文政,易小平,等. LI-RADS 分级标准对原发性肝癌诊断价值的初步探讨[J]. 临床放射学杂志, 2016,35(3):384-388.
- [10] 黄文成,黄浩,梁艺华,等. 血清 AFP、CEA、CA125、CA199 在原发性肝癌诊断中的应用价值[J]. 海南医学院学报, 2009,15(11):1395-1397.
- [11] 李亚威,赵小洁,穆立芹,等. 乙型肝炎肝硬化患者 HBV

DNA 和肿瘤标志物相关性分析[J]. 广东医学, 2016,37(23):3535-3537.

- [12] INABA Y,YAMAURA H,SATO Y, et al. Side-Hole catheter placement with fixation and embolization in common hepatic artery for hepatic arterial infusion chemotherapy(modified CHA-Coil method) for patients with celiac artery stenosis or occlusion[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2015,38(6):1621-1626.
- [13] 徐伟红,姚怡婷,曹华,等. 血清 GP73、AFP-L3、AFP 及 AFU 检测在原发性肝癌诊断中的应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2016,39(4):262-266.
- [14] SHI L,ZHAO J,LU Q, et al. Initial hepatic artery infusion and systemic chemotherapy for asymptomatic colorectal cancer with un-resectable liver metastasis[J]. Int J Clin Exp Med, 2015,8(1):1000-1008.
- [15] 朱波,肖亚雄,彭宇生,等. GP73、GPC3 和 AFP 联合检测在原发性肝癌诊断中的探讨[J]. 重庆医学, 2016, 45(10):1367-1369.
- [16] 陆兴热,骆葱,陈凤羽,等. AFP、GP73、SOD 联合检测在原发性肝癌患者诊断中应用价值[J]. 中国普通外科杂志, 2016,25(7):1076-1080.
- [17] WU Y,MA J,WANG Y P, et al. Development of an alpha-fetoprotein and Golgi protein 73 multiplex detection assay using xMAP technology[J]. Clinica Chimica Acta, 2018,482(6):209-214.
- [18] 罗晓云,胡仁静,武标,等. 高尔基体蛋白 73 在早期肝癌中诊断价值[J]. 中国现代医学杂志, 2016,26(21):100-103.
- [19] CAO Z J,LI Z Q,WANG H, et al. Algorithm of golgi protein 73 and liver stiffness accurately diagnoses significant fibrosis in chronic HBV infection[J]. Liver International, 2017,37(11):1612-1621.
- [20] LI H,YING H,HU A, et al. Therapeutic effect of gypenosides on nonalcoholic steatohepatitis via regulating hepatic lipogenesis and fatty acid oxidation[J]. Biol Pharm Bull, 2017,40(5):650-654.

(收稿日期:2019-10-15 修回日期:2020-01-06)

(上接第 937 页)

- [15] BAKAN E,OZTURK N,BAYGUTALP N K, et al. Comparison of Cobas 6500 and Iris IQ200 fully-automated urine analyzers to manual urine microscopy[J]. Biochem Med, 2016,26(3):365-375.
- [16] FOU DRAINE D E,BAUER M P,RUSSCHER A, et al. Use of Automated Urine Microscopy Analysis in Clinical Diagnosis of Urinary Tract Infection: Defining an Optimal Diagnostic Score in an Academic Medical Center Population[J]. J Clin Microbiol, 2018,56(6):e02030-17.

- [17] LINKO S,KOURI T T,TOIVONEN E, et al. Analytical performance of the Iris IQ200 automated urine microscopy analyzer[J]. Clin Chim Acta, 2006,372(1/2):54-64.
- [18] INCE F D,ELLIDAG H Y,KOSEOGLU M, et al. The comparison of automated urine analyzers with manual microscopic examination for urinalysis automated urine analyzers and manual urinalysis[J]. Pract Lab Med, 2016,5:14-20.

(收稿日期:2019-11-10 修回日期:2019-12-30)