

血清 AFP-L3 和 GP-73 联合检测 对原发性肝癌诊断的 Meta 分析*

王 蓉¹, 蔡高涛¹, 钟小青¹, 崔剑锋¹, 刘春永², 杜利军¹, 黄宪章²

(1. 广州花都区人民医院检验科, 广州 510800; 2. 广东省中医院检验科, 广州 510120)

摘要:目的 通过 Meta 分析及系统评价评估甲胎蛋白异质体 L3(AFP-L3)和高尔基体糖蛋白 73(GP73)联合检测诊断原发性肝癌的诊断价值。方法 通过计算机检索和手工查询获得 AFP-L3 和 GP73 联合检测诊断原发性肝癌的文献, 通过纳入和排除标准筛选文献并提取数据。采用 Meta Disc1.4 软件检验研究间异质性, 并对诊断准确度指标进行 Meta 分析, 绘制综合受试者工作特性曲线(SROC)。结果 AFP-L3 和 GP73 联合检测诊断原发性肝癌的汇总灵敏度、特异度和诊断优势比分别为 0.86(95% CI:0.82~0.89), 0.95(95% CI:0.93~0.96) 和 155.20(95% CI:57.47~419.1)。SROC 曲线下面积(AUC)为 0.981 2, Q 指数为 0.939 4。结论 AFP-L3 和 GP73 联合检测在原发性肝癌的诊断中具有较高的灵敏度及准确性, 可作为诊断原发性肝癌的重要指标。

关键词:肝癌; 甲胎蛋白异质体 L3; 高尔基体糖蛋白 73; Meta 分析; 诊断

中图分类号: R735.7; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)02-072-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.02.019

Meta Analysis of Combined Detection of Serum AFP-L3 and GP-73 in Diagnosis of Primary Liver Cancer

WANG Rong¹, CAI Gao-tao¹, ZHONG Xiao-qing¹, CUI Jian-feng¹, LIU Chun-yong², DU Li-jun¹, HUANG Xian-zhang² (1. Department of Clinical Laboratory, Huadu District People's Hospital of Guangzhou, Guangzhou 510800, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial Hospital Inspection Division of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical value of combined detection of serum Golgi protein73(GP73) and AFP-L3 in the diagnosis of primary liver cancer. **Methods** Comprehensive electronic and manual searches were performed to retrieve relevant studies on the combined detection of serum AFP-L3 and GP-73 in diagnosis of primary liver cancer. After screening of the studies according to inclusion criteria and extraction of the data, meta-analysis was performed in Meta-disc 1.4 and Stata 14.0. **Results** Six studies that met the inclusion criteria were selected from the total 168 references with potential relevance. The threshold effect was found in the combined detection of serum AFP-L3 and GP-73 in diagnosis of primary liver cancer. However, heterogeneity was found in this meta-analysis. The pooled sensitivity and specificity of AFP-L3 combined with GP-73 was 0.86(95% CI:0.82~0.89), 0.95(95% CI:0.93~0.96) and 155.20(95% CI:57.47~419.1), respectively. The area under summary receiver operating characteristics curve was 0.981 2, and the Q index was 0.939 4. **Conclusion** AFP-L3 combined with GP73 can significantly improve the diagnostic sensitivity and specificity to a high level, and can improve the diagnosis rate of Primary liver cancer.

Keywords: primary liver cancer; alpha fetoprotein variant 3; golgi protein73; meta-analysis

肝细胞肝癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,尤其在亚洲、非洲和欧洲南部。我国是全球肝癌发病率较高地区,其发病率和死亡率均较高,肝癌患者的5年生存率不到5%。据20世纪90年代统计,我国肝癌的年死亡率为20.37/10万,在恶性肿瘤死亡顺位中占第二位^[1]。大多数患者就诊时已经属于中晚期,又由于肿瘤细胞的侵袭转移、凋亡逃避、血管生成以及肿瘤耐药等复杂的生物学行为也为肝癌的根治带来一定的困难,预后极差^[2,3]。因此早期诊断、早期治疗对肝癌患者的预后至关重要,也是提高患者生存率最根本的办法。

甲胎蛋白(AFP)是目前全世界应用最广泛的肝脏肿瘤标志物,其敏感度40%~65%不等,特异度76%~96%不等,因此AFP的检测不能满足临床的需要,容易造成漏诊误诊^[4]。AFP由于糖链结构上的差别,其分子存在异质性,目前认为至少有三种异质体(AFP-L1, AFP-L2, AFP-L3),其中AFP-L3为肝癌细胞特异度表达,尤其是肝动脉供血的癌组织,对肝癌的敏感度和特异度分别为36%~96%和89%~94%^[5]。更重要的是在10%~30% AFP阴性的肝癌中,AFP-L3的敏感度为41.5%、特异度为85.1%,很好地弥补了检测AFP

* 作者简介:王 蓉(1979-),女,项士学位,主管技师,研究方向:早期诊断肝癌的标志物研究,E-mail:8813210@qq.com。

的不足^[4]。作为临床预测原发性肝癌(PHA)疾病发生的重要实验室指标,AFP-L3已得到美国FDA的认可逐渐应用于肝癌疾病的早期筛查方面,而国内尚未大范围推广。

高尔基体糖蛋白(GP-73)是一种存在于高尔基体的跨膜蛋白,也是与病毒性肝炎感染及肝癌发生关系密切的糖蛋白,在肝癌患者组织及血中明显升高,在急慢性肝炎、肝硬化患者有不同程度表达。有研究表明 GP-73 在作为原发性肝癌早期诊断的血清标记物时,其敏感度高于 AFP,但特异度低于 AFP。

因此 AFP-L3 和 GP-73 联合检测有望提高对肝细胞肝癌的早期诊断。国内相关报道多为小中心、小样本的研究,且研究结果之间存在一定差异,因此我们对已发表的文献进行了 Meta 分析。

1 材料与方法

1.1 文献纳入标准 ①研究对象为中国人,病理诊断(金标准)确诊的肝癌患者为试验组;病理诊断(金标准)确诊的非肝癌患者为对照组。②研究类型:国内发表的关于 GP-73 联合 AFP-L3 检测原发性肝癌的诊断试验。③必须从文献中完整提取四格表数据。

1.2 排除标准 ①研究对象同时并发其他肿瘤,无法获取单独的肝脏肿瘤数据。②研究对象不完整。③无法提取完整四格表数据。④动物、体外试验。⑤综述、病例报告、信件、会议文章。

1.3 文献检索 选取国内发表的以 AFP-L3 和 GP-73 联合检测诊断原发性肝癌的文献。以“AFP-L3,GP-73,甲胎蛋白异质体 L3,高尔基体糖蛋白 73,肝癌、血清、诊断”为中文主题词检索中国知网、中国生物医学文献数据库、维普及万方数据库。并通过阅读参考文献以扩大检索范围。

1.4 测量指标 灵敏度、特异度、诊断优势比

(DOR)、阳性似然比、阴性似然比、综合受试者特征曲线(SROC)及曲线下面积(AUC)和 Q 指数等。

1.5 质量评价及数据提取 两名研究者分别独立根据 QUADAS-2 的条目对入选文献进行质量评价^[13],提取数据,并交叉核对资料,对于重复发表的文献,选择报道较新和较全面的研究,对有分歧而难以确定是否提取的数据,通过协商解决或向专家咨询解决。提取资料包括作者、发表年限、年龄、性别比、研究对象、实验人数、灵敏度、特异度、真阳性、假阳性、真阴性、假阴性等。

1.6 统计学分析 首先进行异质性的探讨,采用 Spearman 相关分析检测有无阈值效应引起的异质性。对其他因素所致异质性:灵敏度和特异度采用 Q 检验(卡方检验),如果存在异质性,则采用随机效应模型合并效应量(灵敏度、特异度、DOR)。反之则采用固定效应模型合并效应量,计算合并效应指标时各效应量均以 95%CI 表示。同时根据 Moses,线性模型绘制综合受试者工作特征曲线(SROC),并计算曲线下面积(AUC)及 Q 指数。发表偏倚采用倒漏斗图分析。采用 Meta-Disc 1.4 软件和 Stata14.0 软件进行分析。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 文献检索结果及数据提取 见表 1。根据检索策略共检索到文献 168 篇,根据纳入和排除标准,排除不符合纳入标准、综述、会议文章、重复发表、非诊断试验研究文献 162 篇,最终得到符合条件的文献 6 篇,共 1 230 例研究对象,其中病例组 402 例,对照组 828 例^[6-11]。所有的试验均以病理检查,临床诊断以及影像学检查为诊断标准。血清 AFP-L3 和 GP73 为检测指标。

表 1 文献基本特征

作者	发表时间	年龄	性别比(男/女)	病例组	对照组	灵敏度(%)	特异度(%)	TP	FP	FN	TN
程巍 ^[6]	2013	50.2±8.2	25/9	34	76	91.17(31/34)	89.47(68/76)	31	8	3	68
沈莉英 ^[11]	2014	51.7±2.9	无	54	80	89(48/54)	95(76/80)	48	4	6	76
徐万菊 ^[7]	2012	36~75	41/9	50	145	94.0(47/50)	93.1(135/145)	47	10	3	135
罗文明 ^[9]	2013	50.4	48/20	68	82	88.2(60/68)	95.1(78/82)	60	4	8	78
徐伟红 ^[10]	2016	46~75	56/28	84	270	57.14(48/84)	96.3(260/270)	48	10	36	260
郭晓红 ^[8]	2013	无	无	112	175	98.2(110/112)	95.40(167/175)	110	7	2	148

注:表中性别比表示男/女;年龄用 $\bar{x} \pm s$ 表示; TP 表示真阳性;FP 表示假阳性;FN 表示假阴性;TN 表示真阴性;“无”表示文献中没有相关项目的交代。

2.2 纳入文献质量评价 纳入研究的偏倚风险采用 QUADAS-2 工具进行评价,QUADAS-2 工具由偏倚评价和适用性两部分组成。偏倚评价包括

四个领域,分别为病例的选择、待评价试验、金标准、病例流程和进展情况;适用性包括三个领域,分别为病例的选择、待评价试验、金标准,所有领域的

评价分为高风险、低风险和不清楚。偏倚风险评价由两名研究人员独立完成并交叉核对,如遇到分歧由两者讨论解决。按照标准评价文献质量,对每个条目进行评分,6篇文献都为高质量文献。

2.3 异质性分析 由于研究者设定临界值不同会导致灵敏度、特异度、诊断优势比(DOR)等的差异而产生阈值效应。6篇文献对肝癌患者 GP73 联合检测 AFP-L3 的阳性率都进行了报道,我们运用相关软件发现 Spearman 相关系数为 0.371, $P=0.468$,提示不存在阈值效应。通过 Q 检验提示入选文献间存在除阈值效应的其他异质性来源。考虑检测手段、试剂盒来源、病例谱及病例组等研

究规模为可能异质性来源,进行 Meta 回归分析,发现病例规模是导致异质性的来源。

2.4 统计结果 Meta 分析合并效应量时采用随机效应模型。AFP-L3 联合检测 GP73 汇总灵敏度、特异度、诊断优势比、阳性似然比、阴性似然比分别为 0.86(95%CI:0.82~0.89),0.95(95%CI:0.93~0.96),155.20(95%CI:57.47~419.1),14.63(95%CI:10.91~19.63),0.10(95%CI:0.03~0.31)。根据 Moses'模型,本研究 AFP-L3 联合检测 GP73 的 SROC 曲线为对称性,AUC 为 0.9812,Q 指数为 0.9394。见图 1~3。

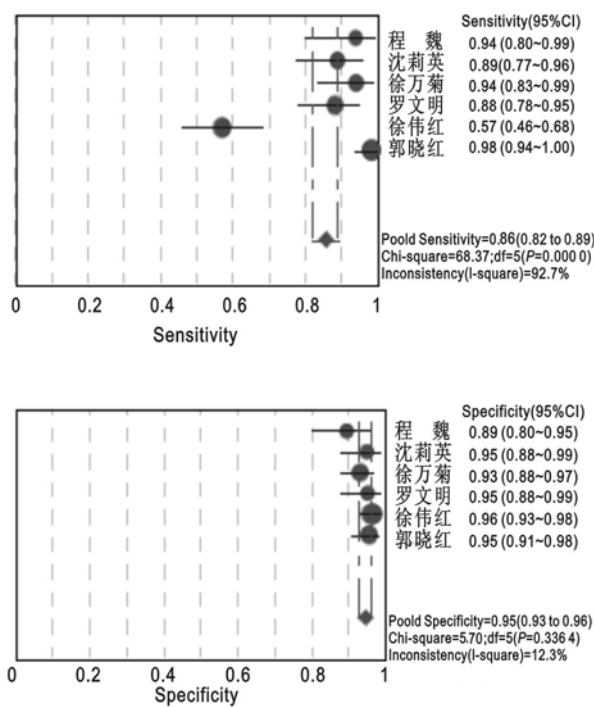


图 1 AFP-L3 和 GP-73 联合检测诊断原发性肝癌的灵敏度与特异度

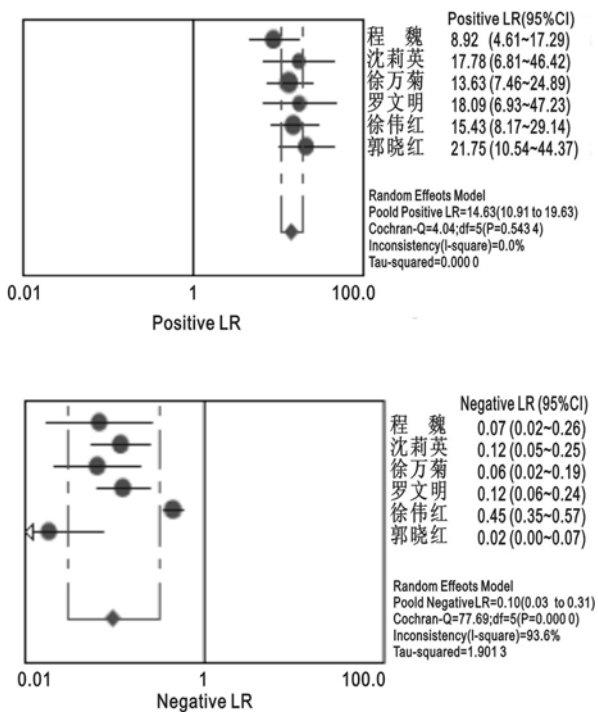


图 2 AFP-L3 和 GP-73 联合诊断原发性肝癌的阳性似然比和阴性似然比

2.5 发表偏倚 对纳入的文献采用 stata12.0 检验是否存在发表偏倚。结果显示 $P=0.73$,按照 α

$=0.05$ 标准,说明不存在发表偏倚。发表偏倚回归分析图见图 4。

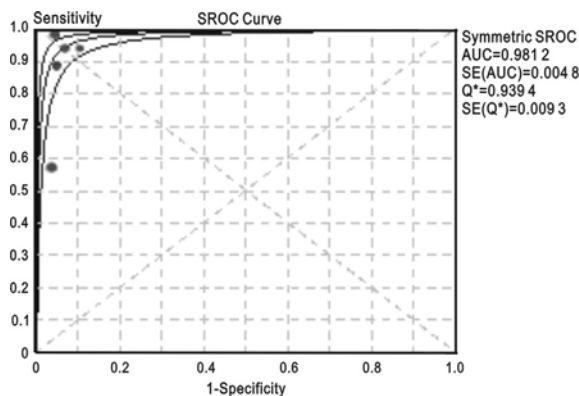


图 3 AFP-L3 和 GP-73 联合诊断原发性肝癌的 SROC 曲线

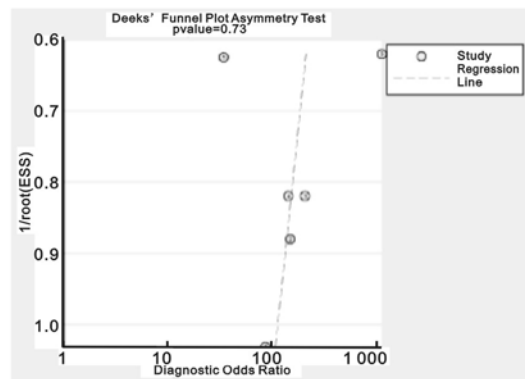


图 4 发表偏倚回归分析

3 讨论 肝细胞肝癌是我国常见的恶性肿瘤之

一,其发生的重要因素与病毒(HBV 和 HCV)等的

慢性持续感染有关,还具有恶性程度高、早期诊断率低、预后差、病死率高等特点。因此,早期发现、早期诊断,并对其进行有效的干预治疗对于提高肝癌患者的预后、降低死亡率非常重要。检测肝细胞肝癌患者血清中肿瘤标记物是目前早期诊断的主要手段之一。目前,AFP是研究肝癌最早的肿瘤标记物,但其敏感度和特异度都较差。AFP-L3是AFP家族(AFP-L1, AFP-L2, AFP-L3)成员之一,是一种糖蛋白,为肝癌细胞特异度表达,尤其是肝动脉供血的癌组织。研究发现 AFP-L3 对肝癌的敏感度和特异度分别为 36%~96% 和 89%~94%^[5]。更重要的是在 10%~30% AFP 阴性的肝癌患者中,AFP-L3 的敏感度和特异度分别为 41.5%、特异度为 85.1%,很好地弥补了检测 AFP 的不足^[4]。GP73 是一种 2 型高尔基体跨膜糖蛋白,在正常肝脏细胞,GP73 主要表达于胆管上皮细胞,在肝细胞中表达量极低或者不表达,在乙型肝炎病毒(HBV)或腺病毒感染的肝细胞中高表达。对肝癌患者研究发现,与 HBV 病毒感染相关肝癌患者 GP73 含量明显升高,其诊断的灵敏度 77.4%,特异度 83.9%。但由于 GP73 在疾病进展过程中都有表达,其作为 HCC 诊断的特异度会有所下降。因此,临床上常与 AFP, AFP-L3 等肝癌血清标记物结合分析。

本研究通过 Meta 分析及系统评价探讨 AFP-L3 联合检测 GP73 对原发性肝癌的诊断价值。通过文献检索,根据纳入及排除标准 6 篇文献入选,所有文献里都先使用微量离心纯化柱处理血清,再使用化学发光法检测 AFP-L3;运用 ELISA 的方法制定标准曲线,检测 GP73。通过数据分析,汇总灵敏度和特异度分别为 0.86 和 0.95,均保持在较高水平,提示 AFP-L3 联合检测 GP73 对原发性肝癌的诊断有一定价值,能显著提高原发性肝癌的检出率。AFP-L3 联合检测 GP73 的 SROC 曲线下面积(AUC)为 0.981 2, Q 指数为 0.939 4,提示这两个项目联合检测对原发性肝癌具有很好的诊断价值,可以减少原发性肝癌患者诊断的误诊和漏诊。施明明等^[12]通过 Meta 分析发现,GP73 联合 AFP-L3 检测诊断原发性肝癌的灵敏度、特异度为 0.853, 0.960, SROC 曲线下面积(AUC)为 0.948, Q 指数为 0.888。我们的统计结果与以上报道非常接近,并且联合诊断价值更高,可能与检测技术水平的提高、研究对象严格筛选等有一定的关系。

本研究异质性检验显示入选文献研究存在显著异质性,可能与病例组研究规模有关,通常大样本研究个体间差异显著,如基础疾病、肝癌分期等

有关,而入选文献里面研究人群的基础疾病如慢性肝炎、肝硬化、酒精性肝脏疾病及肝癌临床分期情况均未报道,因此需要更细致的研究和分析。通过进一步检阅发现此 6 篇文献对非原发性肝癌的诊断价值并没有明确阐述。本次 Meta 分析纳入的文献均为中文文献,语言仅限于中文,经统计分析不存在发表偏倚。总之,本次研究结果显示检测肝癌患者血清 AFP-L3 和 GP73,对于诊断原发性肝癌有较高的灵敏度和特异度,可以提高早期原发性肝癌的诊断率。

参考文献:

- [1] FORNER A, LLOVET J M. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2012, 379(9822): 1245-1255.
- [2] SALGIA R, SINGAL A G. Hepatocellular carcinoma and other liver lesions[J]. The Med Clin North Am, 2014, 98(1): 103-118.
- [3] ZHU Kai, DAI Zhi, ZHOU Jian. Biomarkers for hepatocellular carcinoma: progression in early diagnosis, progress, and personalized therapy[J]. Biomark Res, 2013, 1(1): 10.
- [4] 王婷, 张焜和. AFP 阴性肝癌的肿瘤标志物诊断的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(33): 3420-3425.
WANG Ting, ZHANG Kunhe. Progress in research of tumor markers for diagnosis of hepatocellular carcinoma in AFP-negative patients[J]. World Chinese Journal of Digestion, 2011, 19(33): 3420-3425.
- [5] DANIELE B, BENCIVENGA A, MEGNA A S, et al. Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2004, 127(5 suppl 1): 108-112.
- [6] 程魏. AFP-L3 和 GP73 联合检测在原发性肝癌诊断及疗效评估中的应用[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
CHENG Wei. Application of AFP-L3 and GP73 combined detection in hepatocellular carcinoma diagnosis and curative effect evaluation[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2013.
- [7] 徐万菊, 韩玉刚, 张芊, 等. 甲胎蛋白异质体与高尔基体蛋白 73 在甲胎蛋白低浓度肝细胞癌诊断中的意义[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(2): 174-176.
XU Wanju, HAN Yugang, ZHANG Qian, et al. Significance of alpha-fetoprotein heterogene and Golgi protein 73 in the diagnosis of low-level hepatocellular carcinoma of alpha fetoprotein[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2012, 35(2): 174-176.
- [8] 郭晓红. 血清 AFP-L3 与 GP73 联合检测对 AFP 低浓度肝癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(18): 2379-2380, 2382.

- GUO Xiaohong. Diagnostic value of combined detection of serum AFP-L3 and GP73 in primary liver cancer with low level of AFP[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2013, 34(18): 2379-2380, 2382.
- [9] 罗文明, 陈琳, 曹亚丽, 等. 血清 GP73 及 AFP-L3 检测在原发性肝癌诊断中的意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2013, 12(13): 1005-1006, 1009.
- LUO Wenming, CHEN Lin, CAO Yali, et al. Diagnostic significance of combined application of serum GP73 and AFP-L3 in patients with PHC[J]. Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2013, 12(13): 1005-1006, 1009.
- [10] 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.
- XU Weihong, YAO Yiting, CAO Hua, et al. Assessment of serum GP73, AFP-L3, AFP and AFU detecting in the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2016, 39(4): 262-266.
- [11] 沈莉英, 熊彩萍, 高艳. 高尔基体蛋白 73 与甲胎蛋白异质体在原发性肝癌诊断中的临床应用[J]. 实用医技杂志, 2014, 21(12): 1321-1323.
- SHEN Liying, XIONG Caiping, GAO Yan. Clinical application of Golgi protein 73 and alpha-fetoprotein heterogene in the diagnosis of primary liver cancer[J]. Journal of Practical Medical Techniques, 2014, 21(12): 1321-1323.
- [12] 施明明, 黄桢翔, 杨月, 等. 高尔基体糖蛋白 73 联合甲胎蛋白 L3 诊断原发性肝癌的荟萃分析[J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(3): 189-193.
- SHI Mingming, HUANG Zhenxiang, YANG Yue, et al. Diagnostic value of serum Golgi protein-73 (GP73) combined with AFP-L3% in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2015, 23(3): 189-193.
- [13] WHITING P F, RUTJES A W, WESTWOOD M E, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies[J]. Annals of Internal Medicine, 2011, 155(8): 529-536.

收稿日期: 2019-02-05

修回日期: 2019-02-23