

血清中磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3及高尔基体蛋白-73异常表达对肝癌的诊断价值

曹风华¹,汪顺才²,马洁³,朱梦琪⁴,马久明²,周华²,虞腊青²,陈明泉^{4*},经继生^{2*}

(¹江苏省镇江市第二人民医院检验科,江苏 镇江 212002;²江苏省句容市人民医院感染科,江苏 句容 212400;³江苏大学医学院,江苏 镇江 212013;⁴复旦大学附属华山医院传染科,上海 200040)

[摘要] 目的:探究肝组织及外周血磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(phosphatidylinositol proteinglycan 3, GPC3)及高尔基体糖蛋白-73(Golgi protein 73, GP73)高表达对肝癌的诊断价值。方法:用ELISA法检测39例肝癌患者及31例肝硬化患者外周血GPC3及GP73浓度,RT-PCR法检测两组患者肝组织中GPC3 mRNA及GP73 mRNA表达水平,比较研究肝癌及肝硬化患者外周血、肝组织中GPC3及GP73的表达差异,分层分析此两种蛋白表达与肝癌不同临床分期、病理分级的相关性。结果:肝癌组外周血GPC3、GP73浓度分别为(16.81 ± 0.56) μg/L、(115.92 ± 7.01) ng/ml,肝硬化组外周血GPC3、GP73浓度分别为(7.41 ± 0.25) μg/L、(64.63 ± 3.07) ng/ml,肝癌组外周血GPC3、GP73浓度均显著高于肝硬化组(P < 0.001)。GPC3值为9.3 μg/L时诊断肝癌的灵敏度和特异度分别为89.74%和96.77%,阳性预测值97.20%,阴性预测值88.20%;GP73截断值为77.68 ng/ml时,其诊断肝癌的灵敏度92.31%,特异度83.87%,阳性预测值87.80%,阴性预测值89.70%。肝癌组GPC3 mRNA和GP73 mRNA相对表达量分别为8.91 ± 3.70、68.41 ± 32.86,肝硬化组GPC3 mRNA和GP73 mRNA相对表达量分别为3.04 ± 0.58、2.32 ± 0.25,肝癌组GPC3 mRNA、GP73 mRNA表达均高于肝硬化组(P均 < 0.05)。上述结果可知肝癌患者癌组织GPC3、GP73 mRNA表达水平与外周血相应蛋白浓度一致。肝癌患者中外周血GP73、GPC3蛋白浓度及组织mRNA表达水平与年龄、性别、肿瘤大小及肝癌临床分期期间无统计学意义;而肝癌患者GPC3表达与病理分级间存在统计学差异,病理分级为3级的肝癌患者GPC3表达水平低于1~2级患者。结论:GP73、GPC3在肝癌患者中表达明显增高,且灵敏度高于AFP,而特异度与其相当,有望成为一种新的、较好早期诊断HCC的血清标志物;另外,GPC3表达对肝癌细胞的分化程度有一定的指示作用。

[关键词] 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3);高尔基体糖蛋白-73(GP73);肿瘤标志物;肝癌

[中图分类号] R735.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)03-393-05

doi:10.7655/NYDXBNS20150319

The diagnostic value of serum phosphatidylinositol proteinglycan 3 and Golgi protein 73 in hepatocellular carcinoma

Cao Fenghua¹, Wang Shunca², Ma Jie³, Zhu Mengqi⁴, Ma Jiuming², Zhou Hua², Yu Laqing², Chen Mingquan^{4*}, Jing Jisheng^{2*}

(¹Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Zhenjiang, Zhenjiang 212004; ²Department of Infectious Diseases, Jurong People's Hospital, Jurong 212400; ³School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013; ⁴Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China)

[Abstract] Objective: To investigate the diagnostic value of serum and hepatic tissue Golgi protein 73 (GP73) and phosphatidylinositol proteinglycan 3 (GPC3) in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** The peripheral serum and tissue samples from 70 individuals were collected, including 39 HCC patients and 31 cirrhotic patients. The expression levels of serum GP73 and GPC3 were detected by ELISA; the expression levels of tissue GPC3 mRNA and GP73 mRNA were measured by RT-PCR. The differences of GP73 and GPC3 expression between liver cancer group and cirrhosis group were observed. The correlation between GP73 and GPC3 expression and clinical stage of HCC was analyzed, and the correlation between GP73 and GPC3 expression and pathological grade of HCC was also analyzed. **Results:** The expression level of serum GP73 and GPC3 from the HCC patients was significantly higher than

[基金项目] 江苏省卫生厅自然科学基金项目(YG201311);江苏大学临床科技发展基金项目(JLY20120103)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jrjjs2008@sina.com; mingquanchen@fudan.edu.cn

those from the cirrhotic group ($P < 0.001$). The GPC3 value for the cutting off was 9.3 $\mu\text{g/L}$, the sensitivity was 89.74%, the specificity was 96.77%, the positive predictive value was 97.20%, and the negative predictive value was 88.20%. The GP73 value for the cutting off was 77.68 ng/ml, the sensitivity was 92.31%, the specificity was 83.87%, the positive predictive value was 87.80%, and the negative predictive value was 89.70%. The expression levels of GP73 and GPC3 in HCC patients show no statistic difference between age, gender, tumor size and clinical stage; nevertheless, the expression level of GPC3 in HCC patients seemed to be correlated with tumor pathological grade. **Conclusion:** Over expression of liver GPC3 and GP73 were associated with HCC, and quantitative detection of serum GPC3 and GP73, which were more sensitive than AFP, should be a useful marker for diagnosis of HCC.

[Key words] phosphatidylinositol proteinglycan 3; Golgi protein 73; cancer biomarker; hepatocellular carcinoma

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(03): 393-397]

原发性肝癌 (primary hepatocellular carcinoma, HCC) 是世界上最常见的肿瘤之一, 在我国每年约有 11 万人死于肝细胞癌, 占全球肝癌死亡数的 45%^[1-2]。由于 HCC 肝内血行转移发生最早, 也最常见, 故早期诊断和治疗 HCC 血行转移是提高 HCC 治疗率、改善患者预后的有效途径。虽然甲胎蛋白 (α -feto-protein, AFP) 是诊断 HCC 的重要指标之一, 但其仍有一定的局限性: 30%~40% 的 HCC 患者 AFP 呈阴性或弱阳性, 且急性病毒性肝炎、慢性活动性肝炎、肝硬化活动期以及睾丸癌或卵巢癌等疾病也会出现 AFP 升高^[3]。因此, 寻找更特异、更灵敏的肿瘤标志物是当前 HCC 研究的热点之一。近年研究发现磷脂酰肌醇聚糖-3 (phosphatidylinositol proteinglycan 3, GPC3) 及高尔基体蛋白-73 (Golgi protein 73, GP73) 与 HCC 关系密切, 尤其是肝癌患者外周血 GPC3 与 GP73 明显升高^[4-5], 故本研究旨在探讨血清中 GPC3 及 GP73 高表达在肝癌诊断方面的价值。

1 对象和方法

1.1 对象

选取 2012 年 12 月 30 日~2013 年 12 月 30 日在句容市人民医院与南京市第二医院就诊的 39 例 HCC 和 31 例肝硬化患者; 70 例患者中, 男 45 例, 女 25 例; 年龄: HCC 组 (46.2 ± 10.1) 岁, 肝硬化组 (49.2 ± 10.3) 岁; 肝硬化诊断参照 2000 年病毒性肝炎防治方案^[6], HCC 的诊断参照 2011 年 HCC 诊断规范^[7]。

1.2 方法

1.2.1 ELISA 法测外周血 GPC3 及 GP73

取每例待检者血清 20 μl 加入反应孔中, 按 GP73、GPC3 蛋白双抗体夹心 ELISA 试剂盒 (上海博研生物科技有限公司) 说明书提供的方法操作, 用酶联免疫检测仪 (Thermo 公司, 美国) 检测各孔在 450、630 nm 双波长处的吸光度值, 每例待测者血清

重复 3 个孔, 实验重复 3 次。同时用试剂盒中的标准品浓度为标准点, 采用 log-log 双对数曲线拟合, 以标准品浓度的对数值为横坐标, 相应各点的吸光度值的对数值为纵坐标制作标准曲线, 求得标准曲线公式及相关系数, 根据公式计算每例待检者血清样品的 GP73、GPC3 浓度。

1.2.2 AFP 测定

采用 Centaur XP 化学发光分析仪及其配套试剂 (SIEMENS 公司, 德国) 检测患者血清 AFP 浓度, 操作严格按照仪器和试剂使用说明书进行。

1.2.3 实时定量 PCR 法测组织 GPC3 mRNA 及 GP73 mRNA 水平

组织总 RNA 和基因组 DNA 的提取按照 TRIzol 试剂的说明操作。浓度用 NanoDrop1000 (Nanodrop 公司, 美国) 检测。随后根据高容量 cDNA 逆转录试剂盒 (Applied Biosystems 公司, 美国) 说明将提取的 RNA 逆转录成 cDNA。

PCR 反应体系: SYBR Premix Ex TaqTM 10.0 μl 、上、下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 1.6 μl 、模板 2.0 μl 、ddH₂O 4.8 μl 。反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 64 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min, 40 个循环, 退火时采集荧光。GP73: 上游引物 5'-CAGCGCTGATTTTGAGATGA-3', 下游引物 5'-ATGATCCGTGTCTGGAGGTC-3'; GPC3: 上游引物 5'-TGGACATCAATGAGTGCCTCC-3', 下游引物 5'-CCA-CATTCTGGTGAGCATTCCG-3'; β -actin: 上游引物 5'-CGTACACTGGCATCGTGAT-3', 下游引物 5'-GTGTTGGCGTACAGGTCTTTG-3'。GP73 及 GPC3 mRNA 表达水平通过 ABI 7500 Real-time PCR System (Applied Biosystems 公司, 美国) 进行检测。

1.3 统计学方法

使用 SPSS16.0 统计软件, 计量资料用均数 \pm 标准误 ($\bar{x} \pm s_x$) 表示, 行 t 检验; 以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义; ROC 曲线分析用 MedCalc 10.2 版计算。

2 结果

2.1 外周血 GPC3、GP73 浓度及组织 mRNA 表达结果

HCC 组: 外周血 GPC3(16.81 ± 0.56)μg/L、GP73(115.92 ± 7.01)ng/ml;组织中 GPC3 mRNA 和 GP73 mRNA 相对表达量分别为 8.91 ± 3.70、68.41 ± 32.86。肝硬化组:外周血 GPC3 (7.41 ± 0.25)μg/L、

GP73(64.63 ± 3.07)ng/ml;组织中 GPC3 mRNA 和 GP73 mRNA 相对表达量分别为 3.04 ± 0.58、2.32 ± 0.25。外周血中 HCC 组 GPC3、GP73 的测量值显著高于肝硬化组($P < 0.001$);组织中 HCC 组 GPC3 mRNA、GP73 mRNA 的表达水平高于肝硬化组(表1)。另外,由表1可知70例入选本研究的HCC与肝硬化患者在性别、年龄上无显著性差异,两组病例的临床特征具有可比性。

表1 HCC组及肝硬化组外周血 GPC3、GP73 蛋白浓度及组织中 mRNA 表达值

Table 1 The protein and mRNA expression of GPC3 and GP73 in HCC and cirrhotic patients

相关指标	肝癌组	肝硬化组	t 值/χ ² 值	P 值
年龄(岁)	54.18 ± 2.57	42.31 ± 1.61	t=1.224	>0.05 ^a
ALT(IU/L)	105.21 ± 15.23	104.22 ± 13.16	t=0.290	>0.05 ^a
AST(IU/L)	128.25 ± 23.87	116.28 ± 30.16	t=1.863	>0.05 ^a
性别(男/女)	30/9	18/13	χ ² =3.144	0.091 ^c
血 GPC3(μg/L)	16.81 ± 0.56	7.41 ± 0.25	t=16.502	<0.000 1 ^a
血 GP73(ng/ml)	115.92 ± 7.01	64.63 ± 3.07	t=7.204	<0.000 1 ^a
组织 GPC3 mRNA	8.91 ± 3.70	3.04 ± 0.58	-	0.028 ^b
组织 GP73 mRNA	68.41 ± 32.86	2.32 ± 0.25	-	0.011 ^b

a:通过两独立样本的 t 检验获得;b:通过 Mann-Whitney 法获得;c:2x2χ² 检验获得。

2.2 GPC3、GP73 与 AFP 的灵敏度及特异度比较

GPC3、GP73 及 AFP 诊断 HCC 的结果见表 2。GPC3 灵敏度 89.74%(95%CI:75.80%~97.70%),特异度 96.77%(95%CI:83.30%~99.90%),GP73 灵敏度 92.31%(95%CI:79.10%~98.40%),特异度 83.87%(95%CI:66.30%~94.50%)。另外通过查阅文献,将 AFP 的截断值定为 20 ng/ml^[3],灵敏度为 61.00%(95%CI:40.00%~65.00%),特异度 83.50%(95%CI:76.00%~91.00%),阳性预测值 21.10%(95%CI:9.00%~32.00%)。GPC3 及 GP73 诊断 HCC 的灵敏度显著高于 AFP($P < 0.05$),特异度相近。

表2 肝癌组及肝硬化组 GPC3、GP73 及 AFP 血清学诊断结果

Table 2 The detection results of GPC3,GP73 and AFP in HCC and cirrhotic patients (n)

组别	GPC3		GP73		AFP		总数
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	
HCC 组	30	9	31	8	24	15	39
肝硬化组	1	30	4	27	5	24	31
总数	31	39	35	35	29	39	70

通过计算约登指数(YI,也称为正确诊断指数),找出 Youden 指数最大的观察值作为截断值。经计算后 GPC3 截断值取 9.3 μg/L,大于 9.3 μg/L 为阳性,小于该值则为阴性;GP73 截断值为 77.68 ng/ml,大于 77.68 ng/ml 为阳性,小于该值则为阴性。

2.3 GPC3、GP73 与 AFP 诊断 HCC 的评价

HCC 患者血 GPC3、GP73 和 AFP 均呈异常表达

状态,对 HCC 诊断的综合评价见表 3。GPC3 阳性预测值 97.20%,阴性预测值 88.20%;GP73 阳性预测值 87.80%,阴性预测值 89.70%,综合 2.2 数据,GPC3、GP73 诊断 HCC 的灵敏度及阳性预测值明显大于 AFP,GPC3、GP73 诊断 HCC 的特异度及阴性预测值与 AFP 相比均无统计学差异($P > 0.05$)。

表3 外周血 GPC3、GP73 及 AFP 诊断肝癌的评价

Table 3 The evaluation of HCC diagnosis by GPC3, GP73 and AFP in serum (%)

检测项目	GPC3>	AFP>	GP73>	P ₁ 值	P ₂ 值
	9.3 μg/L	20 ng/mL	77.68 ng/mL		
灵敏度	89.74	61.00	92.31	0.044	0.016
特异度	96.77	83.50	83.87	0.085	0.266
阳性预测值	97.20	21.10	87.80	0.048	0.040
阴性预测值	88.20	72.73	89.70	0.071	0.057

P₁:GPC3 与 AFP 比较;P₂:GP73 与 AFP 比较;P₁、P₂ 均为通过 2x2 卡方检验所得。

2.4 GPC3、GP73 诊断 HCC 的 ROC 曲线分析

GPC3 AUC=0.956,GP73 AUC=0.937。GPC3 与 GP73 的 AUC 差异无统计学意义($P > 0.05$,图1),说明两组指标在早期肝癌的预测方面是一致的。

2.5 GP73、GPC3 表达及其病理学特征

肝癌患者中外周血 GP73、GPC3 蛋白浓度及组织 mRNA 表达水平与年龄、性别、肿瘤大小及肝癌临床分期均无统计学意义(P 均 > 0.05);而肝癌患者 GPC3 表达与病理分级间存在统计学差异($P <$

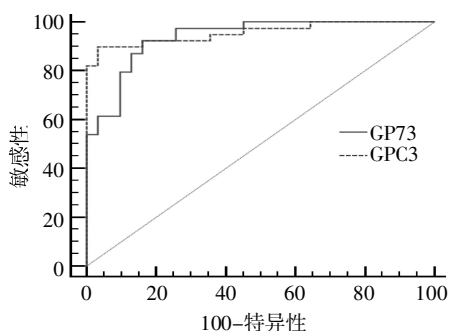


图1 GPC3与GP73筛检HCC的ROC曲线比较
Figure 1 The ROC of GPC3 and GP73 in diagnosis of HCC

0.05),病理分级为3级的肝癌患者 GPC3 表达水平低于1~2级患者(表4)。

3 讨论

GPC3 是一种于1995年发现的细胞外糖蛋白,属于硫酸乙酰肝素糖蛋白(HSPG)家族的一员,是一种肿瘤抑制物,可以调节细胞增殖^[8]。正常人组织中表达极少,在正常肝组织中不表达,可能在肝脏功能中发挥着重要作用^[9]。GPC3基因定位在X染色体上,编码产物为580个氨基酸、66 000左右的硫酸乙酰

表4 HCC患者血清GPC3、GP73及肝组织相应mRNA表达水平的临床病理学特征分析

Table 4 The clinical pathological analysis on protein and mRNA of GPC3 and GP73 in HCC patients

临床病理特征	例数	GP73		GPC3		P ₁ 值	P ₂ 值	P ₃ 值	P ₄ 值
		蛋白(ng/ml)	mRNA	蛋白(μg/L)	mRNA				
性别						0.923	0.171*	0.123	0.961*
男	30	115.65 ± 8.06	78.06 ± 37.41	17.29 ± 0.51	18.49 ± 4.14				
女	9	117.74 ± 4.25	4.01 ± 3.13	13.64 ± 1.90	9.14 ± 8.61				
年龄						0.469*	0.108*	0.990	0.850*
≤50岁	15	111.29 ± 8.12	130.48 ± 75.81	16.81 ± 0.44	5.42 ± 3.11				
>50岁	24	118.90 ± 10.42	28.50 ± 20.37	16.82 ± 0.88	11.15 ± 5.77				
肿瘤大小						0.854	0.121*	0.214	0.264*
≥5.0 cm	13	114.75 ± 11.51	40.83 ± 22.24	17.43 ± 0.77	11.18 ± 5.28				
<5.0 cm	26	117.45 ± 6.77	104.26 ± 70.42	16.02 ± 0.77	5.95 ± 5.21				
肝癌病理分级						0.386	0.074*	0.035	0.012*
1~2级	31	119.21 ± 8.70	86.45 ± 41.19	17.42 ± 0.57	9.77 ± 4.63				
3级	8	104.09 ± 6.23	3.44 ± 1.34	14.63 ± 1.13	5.80 ± 3.92				
肝癌分期						0.424	0.121*	0.285	0.457*
I~II期	30	110.87 ± 5.81	94.97 ± 53.83	16.28 ± 0.59	7.87 ± 4.34				
III~IV期	9	122.49 ± 14.46	33.87 ± 28.51	17.51 ± 1.02	10.26 ± 6.65				

P₁:为计算 GP73 蛋白统计学差异;P₂:计算 GP73 mRNA 统计学差异;P₃:计算 GPC3 蛋白统计学差异;P₄:计算 GPC3 mRNA 统计学差异。标有*的数值用 Mann-Whitney 法,其余 P 值由 t 检验获得。

肝素糖蛋白。通常 GPC3 通过 C 端的糖磷脂酰肌醇连接在细胞膜表面,A358 和 5359 之间的位点被切开可获得分泌型的可溶性蛋白形式^[4]。Lee 等^[10-11]发现在常规肿瘤标记物未达到诊断水平的肝癌以及比较小的肝脏肿瘤的诊断中,GPC3 可以起到很好的互补作用,同时 GPC3 的表达异常也用于 HCC 转移的监测。

GP73 是 Kladney 等^[12]发现的一个高尔基体二型跨膜蛋白(GOLPH2),该蛋白定位于细胞高尔基体,且主要位于高尔基体膜顺面;但同时研究也发现,其可以通过内膜系统转运到细胞外,并剪切分泌到细胞外基质;而且有可能存在内化,即从细胞表面再次回到细胞高尔基体的过程^[13-14]。体外转译研究表明它是一个完整的膜蛋白分子,该基因在体内正常翻译的蛋白在 SDS-PAGE 电泳上表现的分子量为 73 000,免疫定位研究表明该蛋白定位在高尔基

体上,所以 GOLPH2 最初定名为 GP73。患者从肝硬化发展成肝癌时 GP73 表达达到高峰,肝癌患者 GP73 表达与 AFP 无明显相关性(能够筛选出 AFP 假阴性的肝癌)。

本研究检测肝癌、肝硬化组织及外周血中 GP73 mRNA、GPC3 mRNA 的表达水平,结果表明 GP73、GPC3 mRNA 在肝癌组织中的表达显著高于肝硬化组织,肝癌患者外周血 GP73、GPC3 蛋白浓度也显著高于肝硬化患者(P < 0.001)。因 GPC3 为分泌型可溶性蛋白,故本研究结果示癌组织 GPC3 表达与外周血相一致不难理解;但 GP73 属于高尔基体的固有蛋白,研究结果却显示 GP73 癌组织表达与外周血也存在一致性,该蛋白为何能在循环系统中出现的机制仍不明了。以上结果提示 GP73、GPC3 过表达可能在肝癌的发生发展过程中起重要

作用。然而 GP73、GPC3 的具体功能及在肝癌中的调节机制还需进一步研究。

通过计算约登指数得出 GPC3、GP73 检测 HCC 的最佳临界值分别为 9.3 $\mu\text{g/L}$ 、77.68 ng/ml , 此时两种蛋白灵敏度均高于 AFP, 而特异度则与 AFP 间无统计学差异 ($P > 0.05$), 且 GPC3 与 GP73 的 AUC 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。以上结果均提示, GPC3、GP73 分别作为独立指标在 HCC 的诊断中可能具有较高的临床应用价值。HCC 发生与乙型肝炎病毒感染密切相关, 发展为 HCC 的过程一般为乙型肝炎—肝硬化—肝癌, 本研究发现, HCC 组 GPC3、GP73 水平显著高于肝硬化组 ($P < 0.05$), 提示 GPC3、GP73 水平在肝硬化向 HCC 演化过程中也随之逐渐升高; 血清 GPC3、GP73 水平检测是否可用于 HCC 高危人群监测, 作为 HCC 发生的预警标志物, 还有待继续随访观察、动态监测 HCC 高危人群血清的 GPC3、GP73 水平。

本研究通过对 GPC3、GP73 表达水平与 HCC 临床病理特征关系进行的统计学分析显示: GPC3、GP73 表达水平与患者年龄、性别、肿瘤大小及肝癌临床分期期间的差异无统计学意义; 而肝癌患者 GPC3 表达与病理分级间存在统计学差异 ($P < 0.05$), 低分化肝癌患者 GPC3 表达反而低于高分化患者。表明 GPC3、GP73 用于肝癌诊断时, 年龄、性别因素不会对结果造成干扰, 另外此两种蛋白对肝癌早晚期无提示作用; 而 GPC3 表达对肝癌细胞的分化程度有一定的指示作用, 并且 GPC3 低表达可能促使癌组织向低分化转变, 但具体如何影响细胞分化的确切机制仍有待进一步研究。

此外, 我们将肝硬化组作为非癌对照组计算灵敏度及特异度可能与用正常患者作为对照的结果有所差异, 因为少部分肝硬化患者已有癌变可能, 临床上病理标本仅取部分肝脏组织存在漏诊及误诊; 本研究样本量较少 (HCC 患者仅 39 例, 肝硬化患者 31 例), 可能与总体间存在抽样误差; 最后我们未进行 GPC3、GP73 mRNA 及蛋白表达水平与临床随访资料的对比研究, 故 GP73、GPC3 是否可作为判断 HCC 预后的指标, 尚不明确。总之, GP73、GPC3 在肝癌患者中表达明显增高, 且灵敏度高于 AFP, 而特异度与其相当, 因此有望成为一种新的、较好早期诊断 HCC 的血清标志物。

[参考文献]

[1] Shariff MI, Cox IJ, Goma AI, et al. Hepatocellular carci-

noma: current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diagnosis and therapeutics[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2009, 3(4): 353-367

- [2] 王攀, 郑志保, 李招云, 等. 荧光定量 RT-PCR 检测肝细胞癌患者 GPC3mRNA 和 AFPmRNA 的诊断价值[J]. *中国卫生检验杂志*, 2011, 21(6): 1448-1450
- [3] 王维林, 白鑫, 屠红. 肝癌血清标志物研究的新进展[J]. *肿瘤*, 2009, 29(4): 389-393
- [4] Xu WJ, Guo BL, Han YG, et al. Diagnostic value of alpha-fetoprotein-L3 and Golgi protein 73 in hepatocellular carcinomas with low AFP levels[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(12): 12069-12074
- [5] Hou SC, Xiao MB, Ni RZ, et al. Serum GP73 is complementary to AFP and GGT- II for the diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(4): 1152-1158
- [6] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. *中华传染病杂志*, 2005, 23: 421-431
- [7] 中华人民共和国卫生部(卫办医政发[2011]121号). 原发性肝癌诊疗规范 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2011, 16(10): 929-946
- [8] Gonzalez AD, Kaya M, Shi W, et al. OCI-5/GPC3, a glypican encoded by a gene that is mutated in the Simpson-Golabi-Behmel overgrowth syndrome, induces apoptosis in a cell line-specific manner [J]. *J Cell Biol*, 1998, 141(6): 1407-1414
- [9] Stadlmann S, Gueth U, Baumhoer D, et al. Glypican-3 expression in primary and recurrent ovarian carcinomas [J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2007, 26(3): 341-344
- [10] Lee HJ, Yeon JE, Suh SJ, et al. Clinical utility of plasma glypican-3 and osteopontin as biomarkers of hepatocellular carcinoma [J]. *Gut Liver*, 2014, 8(2): 177-85
- [11] Yao M, Yao DF, Bian YZ, et al. Values of circulating GPC-3 mRNA and alpha-fetoprotein in detecting patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2013, 12(2): 171-79
- [12] 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
- [13] Bachert C, Fimmel C, Linstedt AD. Endosomal trafficking and proprotein convertase cleavage of cis Golgi protein GP73 produces marker for hepatocellular carcinoma [J]. *Traffic*, 2007, 8(10): 1415-1423
- [14] Puri S, Bachert C, Fimmel C J, et al. Cycling of early Golgi proteins via the cell surface and endosomes upon luminal pH disruption [J]. *Traffic*, 2002, 3(9): 641-653

[收稿日期] 2014-12-09