

血清AFP、GPC3、VEGF、IGF-II 单独及联合检测对原发性肝细胞癌的诊断价值

李鹏, 翟云, 刘晖, 吕福东, 李宁, 丁惠国

■背景资料

HCC是常见的恶性肿瘤之一, 目前仍缺乏理想的肝癌血清筛查指标, 甲胎蛋白作为目前最常用的肝癌血清标志物, 敏感性低, 且在良性肝病中有假阳性, 寻找新的HCC血清标志物仍是临床亟待解决的重要课题。

李鹏, 翟云, 李宁, 丁惠国, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化中心 北京市 100069

刘晖, 吕福东, 首都医科大学附属北京佑安医院病理中心 北京市 100069

国家十一五重大专项基金资助项目, No. 2008ZX10002-015
中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室开放基金资助课题, No. 2009CASPMI-004

作者贡献分布: 李鹏与翟云负责临床病例随访、测定及统计学分析; 刘晖与吕福东负责病理分析; 李鹏与丁惠国完成论文; 李宁与丁惠国为项目负责人并对全文负责。

通讯作者: 丁惠国, 教授, 100069, 北京市, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化中心. dinghuiguo@medmail.com.cn

电话: 010-83997155 传真: 010-63295525

收稿日期: 2010-06-25 修回日期: 2010-07-28

接受日期: 2010-08-03 在线出版日期: 2010-09-08

Diagnostic value of serum AFP alone or in combination with glypican 3, VEGF or IGF-II for patients with primary hepatocellular carcinoma

Peng Li, Yun Zhai, Hui Liu, Fu-Dong Lv, Ning Li, Hui-Guo Ding

Peng Li, Yun Zhai, Ning Li, Hui-Guo Ding, Department of Hepatology and Gastroenterology, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China
Hui Liu, Fu-Dong Lv, Department of Pathology, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: the State Key Project Specialized for Infectious Diseases, No. 2008ZX10002-015; the Open Fund of CAS Key Laboratory of Pathogenic Microbiology and Immunology, No. 2009CASPMI-004

Correspondence to: Professor Hui-Guo Ding, Department of Hepatology and Gastroenterology, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China. dinghuiguo@medmail.com.cn

Received: 2010-06-25 Revised: 2010-07-28

Accepted: 2010-08-03 Published online: 2010-09-08

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of serum alpha-fetoprotein (AFP) alone or in combination with glypican 3 (GPC3), vascular endothelial growth factor (VEGF) or insulin-like growth factor-II (IGF-II) for patients with primary hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Serum AFP, GPC3, VEGF and IGF-II

were measured by enzyme-linked immunosorbent assay in 66 patients with histopathologically proven HCC and 16 cirrhotic patients. The cut-off level of AFP for diagnosis of HCC was 400 µg/L, while those of GPC3, VEGF and IGF-II were determined using ROC curve analysis.

RESULTS: The sensitivity of serum GPC3 for diagnosis of HCC was highest, followed by serum IGF-II, AFP and VEGF. The specificity of serum AFP for diagnosis of HCC was highest, followed by serum GPC3, VEGF and IGF-II. AFP in combination with GPC3 was most useful for diagnosis of HCC, especially early HCC. In AFP-negative HCC patients, the positive rate of GPC3 was 51.1%. In patients with early HCC (BCLC stage A), the positive rate of GPC3 was 50.0%.

CONCLUSION: Detection of serum AFP (≥400 µg/L) alone has its imitations in the diagnosis of HCC. AFP in combination with GPC3 is most useful for diagnosis of HCC, especially early HCC.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; ROC curve; Tumor biomarker; Diagnosis

Li P, Zhai Y, Liu H, Lv FD, Li N, Ding HG. Diagnostic value of serum AFP alone or in combination with glypican 3, VEGF or IGF-II for patients with primary hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(25): 2702-2706

摘要

目的: 分析血清AFP、GPC3、VEGF、IGF-II 单独及联合检测对原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的诊断价值。

方法: 66例经病理确诊的HCC患者和16例肝炎肝硬化患者, 采用微粒子酶联免疫法测定血清AFP, ELISA检测GPC3、VEGF及IGF-II。AFP≥400 µg/L作为诊断HCC临界值, 根据ROC曲线确定GPC3、VEGF及IGF-II的最佳临界值。

结果: 单独分析4个指标对HCC诊断价值: 其

■同行评议者

孙殿兴, 主任医师, 白求恩国际和平医院肝病科

敏感度依次为GPC3>IGF-II>AFP>VEGF, 特异度依次为AFP>GPC3>VEGF>IGF-II. AFP联合其他指标, 以AFP+GPC3诊断效能最高. 其中, AFP<20 μg/L HCC患者, GPC3的阳性率最高达51.1%, 早期HCC(BCLC, Stage A)患者, GPC3阳性率高达50.0%.

结论: 血清AFP≥400 μg/L对HCC患者诊断有较大局限性, AFP联合GPC3明显提高HCC的诊断效能, 值得扩大病例数进一步研究.

关键词: 原发性肝细胞癌; ROC曲线; 血清肿瘤标志物; 诊断

李鹏, 翟云, 刘晖, 吕福东, 李宁, 丁惠国. 血清AFP、GPC3、VEGF、IGF-II单独及联合检测对原发性肝细胞癌的诊断价值. 世界华人消化杂志 2010; 18(25): 2702-2706
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/2702.asp>

0 引言

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是常见的恶性肿瘤之一, 特别是在慢性肝炎肝硬化的基础上发展为肝癌, 较高的发病率和病死率^[1-3]. 在中国, 慢性乙型病毒性肝炎、肝硬化是肝癌的高危人群, 尽管有规范的监测方案和指标, 但是目前仍缺乏理想的肝癌血清筛查指标, 特别是早期肝癌的血清标志物^[4]. 因此, HCC临床确诊时大多数患者为于中、晚期, 缺乏有效治疗手段, 预后差. 尽管甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)作为HCC筛查、诊断的血清学标志物应用于临床已有40余年^[4,5], 但是, 近年国内外不断有报道, 30%-40%早期、可切除性HCC患者血清AFP<20 μg/L^[6], 其他血清肿瘤标志物在HCC诊断上都有其优势和局限性^[4]. 因此, 联合多种血清肿瘤标志物监测和诊断HCC是近年来肝癌实验室诊断的发展趋势^[7,8]. 本研究分析了AFP、磷脂酰乙醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor-II, IGF-II)单独及联合检测对HCC诊断的价值.

1 材料和方法

1.1 材料 首都医科大学附属北京佑安医院2006-01/2008-12住院的经手术或肝脏穿刺病理诊断的原发性肝癌患者66例, 男48例, 女18例, 年龄28-78岁. 全部HCC患者行B-超(LOGIQ9, GE公司, 美国)及64排CT检查(GE HISPEED DXI, GE公司, 美国). 其中, 早期肝癌(Stage A)14例, 符合巴塞罗那HCC分期标准^[9]. 同期肝硬化患者16

例, 男12例, 女4例, 年龄22-71岁. 肝硬化符合以下诊断标准: (1)有明确慢性肝病史或体征, (2)门静脉高压症表现, (3)B-超或CT检查符合肝硬化表现.

1.2 方法

1.2.1 检测: 空腹采集外周血2 mL, 无溶血、脂血, 2 000 r/min离心8 min, 分离血清, -20 °C保存. 采用微粒子酶联免疫法测定血清AFP, (AB-BOTT AXSYM全自动免疫分析仪, 试剂盒购自美国雅培公司). 采用酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清GPC3(美国BioMosaics公司)、VEGF(美国ADL公司)及IGF-II(美国BECKMAN COULTER公司), 酶联斑点分析仪(EliSpot 04 SR, 德国AID公司)测定A值, 严格按试剂盒说明操作.

1.2.2 Cut-off值确定: AFP按2001年中国抗癌协会肝癌专业委员会制定的标准, AFP≥400 μg/L为阳性^[4]. 应用SPSS16.0绘制受试者工作曲线(receiver operator characteristic curve, ROC), 以曲线下面积最大确定GPC3、VEGF及IGF-II最佳临界值, GPC3≥300 ng/L为阳性, VEGF≥30.5 ng/L为阳性, IGF-II≥1 250 ng/L为阳性.

1.2.3 HBV-M、HCV检测: 电化学发光法测定HBV-M(Roche, 170电化学发光仪, 德国); 采用ELISA检测抗HCV(MK3型酶标仪[芬兰], 试剂盒购自意大利DiaSorin公司).

1.2.4 肝脏生化及凝血指标测定: ALT、AST、总胆红素(TBIL)、白蛋白(ALB)测定采用全自动生化分析仪(AU5400, 奥林巴斯公司, 日本)测定. 凝血酶原时间(PT)测定采用比浊法(AcL Top, 库尔特公司, 美国). 凝血酶原活动度(PTA%)=(对照PT-对照PT×0.6)/(病患者PT-对照PT×0.6)×100%.

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行统计分析, 计量资料以mean±SD表示, 均数比较采用方差分析, 计数资料及率的比较采用χ²检验. 应用敏感度[a/(a+c)], 特异度[(d/(b+d))], 诊断优势比(a×d/b×c)及准确度[(a+d)/(a+b+c+d)], 评价上述指标单独及联合诊断HCC的效能. 联合检测的判断标准: 组合中只要有一项超过临界值, 即判断为阳性; 组合中所有值均低于临界值, 即判断为阴性. (a为真阳性病例数; b为假阳性病例数; c为假阴性病例数; d为真阴病例数).

2 结果

两组患者基本临床特征见表1.

■研发前沿

联合多种血清肿瘤标志物监测和诊断HCC, 是近年来肝癌实验室诊断的发展趋势. HCC患者血清GPC3增高与AFP无相关性, 在早期HCC诊断中具有一定价值.

■相关报道

文献报道血清AFP联合AFP-L3、CEA、CA19-9、GGT及DCP等较单独AFP, 其诊断敏感性不同程度的提高. 但未涉及本文的几种标志物的联合诊断研究.

■创新盘点

血清AFP ≥ 400 $\mu\text{g/L}$ 对HCC患者诊断有较大局限性, 敏感性28.8%; AFP联合GPC3明显提高HCC, 特别是早期HCC的诊断效能。

表 1 各组患者基本临床特征 (mean \pm SD)

指标	HCC	肝硬化	P值
年龄	57.1 \pm 9.3	52.8 \pm 9.8	>0.05
性别(男/女)	48/18	12/4	>0.05
ALT ¹	47.5	25.0	<0.01
ALT/AST ¹	0.67	0.63	>0.05
Child			
A	18	2	>0.05
B	26	7	>0.05
C	22	7	>0.05
HBeAg(+)	18	6	>0.05
HCV(+)	5	3	>0.05

¹ALT及ALT/AST数据非正态分布, 以中位数表示采用秩和检验。

2.1 血清AFP、GPC3、VEGF及IGF-Ⅱ单独测定对HCC的诊断价值 其敏感度依次为GPC3>IGF-Ⅱ>AFP>VEGF, 特异度: AFP>GPC3>VEGF>IGF-Ⅱ, 准确度: GPC3>IGF-Ⅱ>AFP>VEGF. 敏感度及准确度GPC3最高, 特异度AFP虽高于GPC3, 但两者差异无统计学意义($P>0.05$), 故单独诊断GPC3效能最高(表2)。

2.2 四种指标联合检测HCC的结果 AFP联合GPC3、VEGF及IGF-Ⅱ, 其敏感度依次为AFP+GPC3>AFP+IGF-Ⅱ>AFP+VEGF, 特异度及敏感度AFP+GPC3最高. 且AFP+GPC3优于任一单独指标. 三项及四项指标联合检测敏感性及准确度虽有所升高, 但幅度小, 且特异度下降明显; 与AFP+GPC3比较, 其敏感度及特异性无明显差异($P>0.05$)。

2.3 各标志物阳性率 以曲线下面积最大确定GPC3、VEGF及IGF-Ⅱ最佳临界值, GPC3 ≥ 300 ng/L为阳性, VEGF ≥ 30.5 ng/L为阳性, IGF-Ⅱ ≥ 1250 ng/L为阳性(图1). 在早期肝癌患者中, GPC3阳性率为50.0%(7/14)>VEGF: 14.3%(2/14)>IGF-Ⅱ: 7.1%(1/14)>AFP: 0(0/14), 高于其他三个指标($P<0.01$, 图2). 在AFP <400 $\mu\text{g/L}$ 的47例患者, GPC3阳性率为51.1%(24/47)> IGF-Ⅱ: 36.2%(17/47)>VEGF: 21.3%(10/47)。

3 讨论

原发性肝癌是我国常见肝脏肿瘤, 其中HCC占90%左右, 我国每年约有11万人死于原发性肝癌, 占世界肝癌死亡人数45%^[2]. 在高危人群中, 早期监测和诊断可显著提高肝癌的远期生存率^[6,10]. 理想的肿瘤标志物应是特异性强、敏感度高、表达量或血清中水平与肿瘤组织发展或

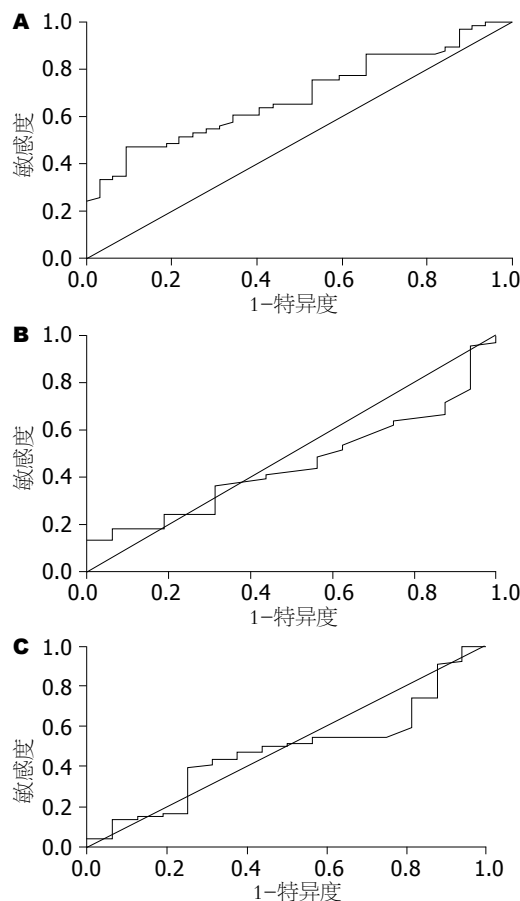


图 1 ROC曲线确定GPC3、VEGF、IGF-Ⅱ的Cut-off值. A: GPC3的ROC曲线; 曲线下最大面积0.684, 95%CI: 0.579-0.789; B: VEGF的ROC曲线; 曲线下最大面积0.453, 95%CI: 0.314-0.593; C: IGF-Ⅱ的ROC曲线; 曲线下最大面积0.481, 95%CI: 0.331-0.632.

大小呈正相关. 目前临床上尚无单一标志物能够明确诊断. 迄今, AFP作为HCC筛查、诊断的血清学标志物应用于临床已有40余年^[11,12]. 中国抗癌协会肝癌专业委员会AFP对HCC的诊断临界值定为400 $\mu\text{g/L}$ ^[13]. 但是, 近年国内外不断有报道, 以此为临界值诊断HCC的敏感性低于50%, 30%-40%早期、可切除性HCC患者血清AFP <20 $\mu\text{g/L}$ ^[4,5]. 近年来也有研究报道, HCC患者血清AFP水平与地区、种族、ALT及病毒感染等因素有关, AFP不同诊断临界值其敏感性和特异性差别很大, 并且认为对于肝硬化患者发生HCC, AFP的诊断及筛查价值很差^[11,14,15]. 目前国内研究显示: AFP以20 $\mu\text{g/L}$ 为阳性界值, 诊断HCC的敏感度为40%-65%, 特异度为76%-96%不等^[12]. 当AFP ≥ 400 $\mu\text{g/L}$ 时, 敏感度约30%-40%, 特异度可达99%以上^[4,14], 但往往肿瘤体积较大, 多为巨块型或弥漫型, 并更易侵犯门静脉, 中位生存率低, 预后差. 而且在良性肝病中AFP也有增高, 故单独应用AFP诊断HCC有一

表 2 AFP、GPC3、VEGF、IGF-Ⅱ单独及联合诊断HCC的效果 % (n/n)

指标	敏感度	特异度	准确度
AFP	28.8(19/66)	100.0(16/16)	43.9(35/82)
GPC3	47.0(31/66)	93.8(15/16)	56.1(46/82)
VEGF	24.2(16/66)	81.3(13/16)	35.4(29/82)
IGF-Ⅱ	39.4(26/66)	75.0(12/16)	46.3(38/82)
AFP+GPC3	65.2(43/66)	93.8(15/16)	70.7(58/82)
AFP+VEGF	44.0(29/66)	81.3(13/16)	51.2(42/82)
AFP+IGF-Ⅱ	54.6(36/66)	75.0(12/16)	58.5(48/82)
GPC3+VEGF	59.1(39/66)	81.3(13/16)	63.4(52/82)
GPC3+IGF-Ⅱ	66.7(44/66)	68.8(11/16)	67.1(55/82)
VEGF+IGF-Ⅱ	50.0(33/66)	62.5(10/16)	52.4(43/82)
AFP+GPC3+VEGF	69.7(46/66)	81.3(13/16)	72.0(59/82)
AFP+GPC3+IGF-Ⅱ	75.8(50/66)	68.8(11/16)	74.4(61/82)
AFP+VEGF+IGF-Ⅱ	62.1(41/66)	62.5(10/16)	62.2(51/82)
GPC3+VEGF+IGF-Ⅱ	71.2(47/66)	62.5(10/16)	69.5(57/82)
AFP+GPC3+VEGF+IGF-Ⅱ	78.8(52/66)	62.5(10/16)	75.6(62/82)

■应用要点

GPC3是AFP最重要互补指标, AFP联合GPC3可显著提高HCC诊断的灵敏度和特异性, 在HCC及高危人群中的监测, 血清学诊断值得应用。

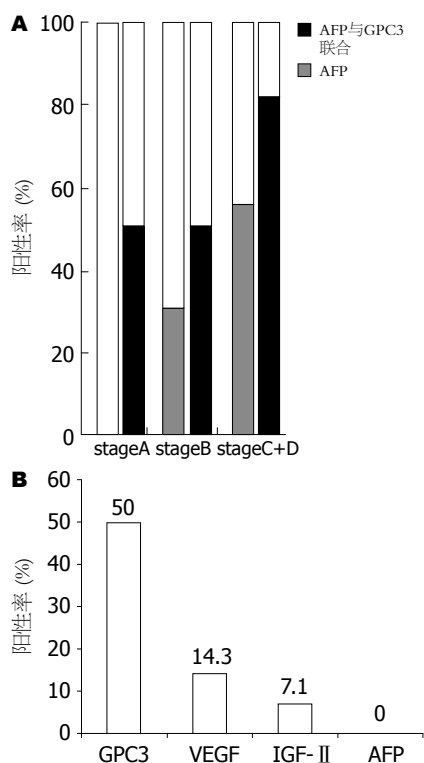


图 2 早期肝癌患者各标志物阳性率. A: 各期HCC患者GPC3联合AFP诊断敏感性明显增加; B: 各标志物阳性率依次为GPC3: 50%, VEGF: 14.3%, IGF-Ⅱ: 7.1%, AFP: 0.

定的局限性。

GPC3是一种由磷脂酰糖基固定在细胞膜上的硫酸乙酰肝素聚糖蛋白, 他在细胞增殖与分化的发展、调节过程中发挥重要作用^[16]. 研究发现: 血清GPC3的水平与患者性别、年龄、HBV感染、门静脉癌栓、肝内转移无相关, 而与肿瘤大小与分化程度有关, 且其血清浓度与AFP

的浓度无相关性, 在AFP阴性的HCC, 尤其是早期HCC的诊断中有重要作用^[17,18]. VEGF是肿瘤组织中最重要血管生成因子, 通过与其受体结合, 直接刺激内皮细胞的增殖, 并增加血管的通透性, 为肿瘤细胞的增殖、脱落和扩散创造条件. 有研究显示: HCC患者血清中VEGF的浓度与HCC的分期、分化, 肿瘤的进展和预后有关^[19], 故也可作为HCC的血清学诊断标志物. IGF-Ⅱ是胰岛素密切相关的促有丝分裂多肽. 他能促进细胞分裂、分化和增殖, 肝脏是合成和分泌IGF-Ⅱ的主要器官. 肝癌细胞能分泌大量的IGF-Ⅱ, 通过自分泌或旁分泌生长刺激机制, 促进癌前期肝细胞的异常增殖和分化, 增加癌前肝细胞的突变机率, 并在一定条件下加速其恶性转化. 有研究发现^[4,20]: IGF-Ⅱ在AFP阴性的HCC中有35%呈现阳性, 且与肿瘤大小无关. 故有望作为AFP阴性病例的补充诊断指标。

随着HCC的早期诊断技术和方法的发展, AFP呈阴性或低浓度的肝癌病例不断增多, 其原因尚不清楚. 为了提高肝癌患者的诊断率, 很多学者尝试应用AFP联合其他肿瘤标志物对HCC进行诊断, 均取得一定效果^[6,8,14,21]. 本研究显示, 应用单个指标诊断时, 当AFP ≥ 400 $\mu\text{g/L}$, 诊断的特异度能达到100.0%, 但敏感度只有28.8%, GPC3的特异度为93.8%, 与AFP比较差异无统计学意义, 而敏感度及准确度GPC3在上述指标中最高, 故单一指标中GPC3的诊断效能最高. 当联合多项指标进行诊断时发现, AFP联合GPC3诊断时, 特异度为93.8%, 准确度为70.7%. 当四

■同行评价

本研究内容新颖且重要, 提供了许多有意义的信息, 对肝癌的早期诊断具有重要的意义。

项指标联合应用时, 敏感度虽达到78.8%, 但特异性下降至62.5%。因此, AFP联合GPC3的诊断效能最高。此外, 在AFP阴性的肝癌, 尤其是早期肝癌中, GPC3的阳性率均达到50%左右, 高于VEGF、IGF-II。

因此, 在HCC的血清学诊断中, 特别早期HCC, 血清GPC3是AFP最重要互补指标, AFP联合GPC3可显著提高HCC诊断的灵敏度和特异性, 值得扩大病例数进一步研究。

4 参考文献

- 1 Benzon E, Lorenzin D, Favero A, Adani G, Bacarani U, Molaro R, Zompicchiatti A, Saccomano E, Avellini C, Bresadola F, Uzzau A. Liver resection for hepatocellular carcinoma: a multivariate analysis of factors associated with improved prognosis. The role of clinical, pathological and surgical related factors. *Tumori* 2007; 93: 264-268
- 2 陈万青, 邹小农, 张思维. 中国肝癌死亡率地理分布分析. *实用肿瘤学杂志* 2008; 22: 201-203
- 3 Pang RW, Joh JW, Johnson PJ, Monden M, Pawlik TM, Poon RT. Biology of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 962-971
- 4 Stefaniuk P, Cianciara J, Wiercinska-Drapalo A. Present and future possibilities for early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 418-424
- 5 Gupta S, Bent S, Kohlwes J. Test characteristics of alpha-fetoprotein for detecting hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C. A systematic review and critical analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139: 46-50
- 6 Marrero JA, Feng Z, Wang Y, Nguyen MH, Befeler AS, Roberts LR, Reddy KR, Harnois D, Llovet JM, Normolle D, Dalhgren J, Chia D, Lok AS, Wagner PD, Srivastava S, Schwartz M. Alpha-fetoprotein, des-gamma carboxyprothrombin, and lectin-bound alpha-fetoprotein in early hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2009; 137: 110-118
- 7 Schacherer D, Schoelmerich J, Zuber-Jerger I. [The diagnostic approach to hepatocellular carcinoma] *Z Gastroenterol* 2007; 45: 1067-1074
- 8 盛家和, 曹伟娟, 焦扬. AFP、铁蛋白、CEA、CA199的联合检测对原发性肝癌的诊断. *中国卫生检验杂志* 2009; 19: 2339-2341
- 9 Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 329-338
- 10 徐海峰, 杨华渝, 张宏冰, 毛一雷. 改变肝癌早期诊断和治疗现状的新肝癌血清标志物. *基础医学与临床*

- 2008; 28: 104-108
- 11 Cedrone A, Covino M, Caturelli E, Pompili M, Lorenzelli G, Villani MR, Valle D, Sperandeo M, Rapaccini GL, Gasbarrini G. Utility of alpha-fetoprotein (AFP) in the screening of patients with virus-related chronic liver disease: does different viral etiology influence AFP levels in HCC? A study in 350 western patients. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1654-1658
- 12 Kim KA, Lee JS, Jung ES, Kim JY, Bae WK, Kim NH, Moon YS. [Usefulness of serum alpha-fetoprotein (AFP) as a marker for hepatocellular carcinoma (HCC) in hepatitis C virus related cirrhosis: analysis of the factors influencing AFP elevation without HCC development] *Korean J Gastroenterol* 2006; 48: 321-326
- 13 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. *中华肝脏病杂志* 2001; 9: 324
- 14 Durazo FA, Blatt LM, Corey WG, Lin JH, Han S, Saab S, Busuttill RW, Tong MJ. Des-gamma-carboxyprothrombin, alpha-fetoprotein and AFP-L3 in patients with chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1541-1548
- 15 Sanai FM, Sobki S, Bzeizi KI, Shaikh SA, Alswat K, Al-Hamoudi W, Almadi M, Al Saif F, Abdo AA. Assessment of Alpha-Fetoprotein in the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma in Middle Eastern Patients. *Dig Dis Sci* 2010 Apr 16. [Epub ahead of print]
- 16 Kwack MH, Choi BY, Sung YK. Cellular changes resulting from forced expression of glypican-3 in hepatocellular carcinoma cells. *Mol Cells* 2006; 21: 224-228
- 17 汪得胜, 丁惠国, 李卓, 辛咏梅, 张斌, 李宁, 陈德喜, 殷继明. 血清GPC3联合AFP对原发性肝癌的诊断价值探讨. *中华医学检验杂志* 2007; 10: 1169-1171
- 18 王鹏, 刘鲁明, 孟志强, 陈震, 林钧华, 周振华, 陈颖, 王琨, 平波, 王龙富, 王柏华, 黄雅芳. 2528例原发性肝癌细针穿刺细胞学检查及其并发症. *中华肝脏病杂志* 2007; 15: 758
- 19 Tseng PL, Tai MH, Huang CC, Wang CC, Lin JW, Hung CH, Chen CH, Wang JH, Lu SN, Lee CM, Changchien CS, Hu TH. Overexpression of VEGF is associated with positive p53 immunostaining in hepatocellular carcinoma (HCC) and adverse outcome of HCC patients. *J Surg Oncol* 2008; 98: 349-357
- 20 Qiu LW, Yao DF, Zong L, Lu YY, Huang H, Wu W, Wu XH. Abnormal expression of insulin-like growth factor-II and its dynamic quantitative analysis at different stages of hepatocellular carcinoma development. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2008; 7: 406-411
- 21 代维, 李志清, 姜红峰, 叶俊. 血清AFP、CA19-9、CA125、CEA、 γ -GT联合检测对原发性肝癌的诊断价值. *华中医杂志* 2007; 31: 143-144

编辑 曹丽鸥 电编 何基才