

Advances in Research on GP73 and Its Diagnosis for Liver Cancer

Yuanrong Zhu, Jianhua Lu

Qidong Liver Cancer Institute, Qidong

Email: zhyr6347@sina.com

Received: Sep. 30th, 2011; revised: Nov. 5th, 2011; accepted: Nov. 8th, 2011.

Abstract: Golgi protein 73 (GP73) is a novel serum marker for the detection of liver cancer. This paper reviews the advances related in structure, functions, expression and clinical application of GP73, and evaluates the values in the diagnosis for liver cancer. Prospective comments for the key points of development and the direction—in-the-future are also addressed.

Keywords: Golgi Protein 73; Liver Cancer; Diagnosis

GP73 及其与肝癌诊断的研究进展

朱源荣, 陆建华

启东肝癌防治研究所, 启东

Email: zhyr6347@sina.com

收稿日期: 2011年9月30日; 修回日期: 2011年11月5日; 录用日期: 2011年11月8日

摘要: 高尔基体蛋白 73(GP73)是一种新近发现的肝癌血清标志物。本文对 GP73 的结构、功能、表达及临床应用相关的研究进展作一综述, 对其诊断肝癌的价值作出初步评价, 并展望今后的发展重点和方向。

关键词: 高尔基体糖蛋白 73; 肝癌; 诊断

1. 引言

特异性生物标志物的探寻、发现和应用是实现肝细胞癌(HCC)准确诊断的重要手段。上世纪七十年代甲胎蛋白(AFP)被广泛应用于大规模人群筛检后, 肝癌早期诊断取得了突破性进展, 治疗效果也因此获得了大幅度提高。但在数十年的临床实践中, 人们发现肝癌患者的 AFP 阳性率有逐步下降的趋势^[1-3], 因此继续寻找新的肝癌诊断标志物仍处于热点状态。

近年来, 随着基因组学、蛋白质组学和代谢组学技术的发展和运用, 使肝癌标志物的研究取得了新的进展^[4]。许多新的血清标志物被相继发现, 并在临床应用中显现出较好的效果, 高尔基体跨膜糖蛋白 73(golgi Glycoprotein 73, GP73)便是其中颇具潜力的一种^[5-8]。

2. GP73 的结构和生物学特性

2.1. GP73 的结构

GP73, 又称 II 型高尔基体膜蛋白(GOLPH2)或高尔基体膜蛋白 I (GOLM1)。2000 年, Kladney RD 在研究成人巨大肝细胞肝炎(gigant cell hepatitis, GCH)病原学时首次发现^[9], 到 2004 年, GP73 的结构已基本搞清^[10,11]。应用 5'cDNA 快速扩增技术和自动双脱氧链终止法双向测序, 发现 GP73 乃编码相对分子质量为 7.3×10^4 的糖蛋白基因。该基因位于第 9 号染色体的长臂上, 全长 3042^bP, 内含惟一开放读码框(1200~1430^bP), 两个真核细胞转录起始位点—甲硫氨酸密码子(^bP151 和 178), 分别转录 400 或 391 个氨基酸产物。3'非翻译区包含一个终止密码子(^bP1351)和 3 个多聚腺苷酸位点(^bP1448、2950 和 3003)。该基因的

编码的蛋白质富含酸性氨基酸, PI = 4.72, N-末端疏水。C-末端编码的氨基酸位于细胞外区域, 内含十四(烷)酰化连续序列和 5 个糖基化位点, 还包含一些卷曲螺旋区。简言之, GP73 定位于高尔基体的顺面, 主要由细胞内、跨膜区和细胞外三部分构成。目前, Gen Bank 已公布人类 GP73 序列共 9 条, 其长度和核苷酸序列都有不同, 类似的 GP73 的共同特点是位于 N-端或 C-端都有一个卷曲螺旋区域。

2.2. GP73 的功能

高尔基体是一个非常重要的细胞器, 不但参与蛋白加工, 还参与细胞分化及细胞间信号传导, 并在细胞凋亡中扮演重要角色, 其功能障碍可能与肿瘤的发生、发展密切相关^[12,13]。但 GP73 的分泌、运输及生化功能至今仍不明确。研究显示, GP73 是高尔基体顺面膜囊上的一种整合膜蛋白, 疾病状态时 GP73 可从顺面膜囊上循环出来并到达胞内体以及细胞表面^[10], Bachest 等认为, GP73 是一种位于高尔基体内的整合型糖蛋白, 并非由细胞直接分泌产生^[14]。Hu 等的研究表明, GP73 的 mRNA 与 β 肌动蛋白的 mRNA 特性相似^[15]。GP73 在内涵体运输过程中, 由细胞中的包括弗林蛋白酶在内的前蛋白转化酶在其第 55 位氨基酸处, 酶切后释放到胞外进入血液中, 成为 sGP73^[16]。GP73 蛋白通过其细胞外的卷曲螺旋区与其他蛋白质发生作用。有学者认为, GP73 对维持机体的正常生存是不可或缺的, 是维持肝、肾等内脏器官生长发育的重要物质^[17]。GP73 分布于人体大部分的组织中, 推测该蛋白质具有管家基因功能。其 mRNA 和蛋白在不同组织中表达水平的明显差异说明该蛋白可能具有有效的调控能力和多种功能。

2.3. GP73 的表达

GP73 存在于人体的多个器官组织中, 在多种脏器, 多种细胞, 多种癌症中均有表达, 但表达水平相差很大, 最高相差 20 倍。GP73 在小肠、结肠和胃中呈高表达, 在心脏中表达最少。在肝、肾、脾、肺、子宫及睾丸中表达很低或无表达。GP73 的表达主要见于上皮细胞, 免疫组化结果显示, GP73 在结肠肠腺表面高分化结肠细胞中表达最为强烈。在肾脏、远曲小管和集合管呈高表达, 但肾小球几无表达。在肺部,

支气管纤毛柱状上皮细胞呈高表达。在前列腺中, 表达局限于前列腺体上皮细胞。在正常肝组织上, GP73 主要表达于胆管上皮细胞, 而肝细胞则无表达或表达很少, 但在乙肝病毒(HBV)或腺病毒感染后, 胆管细胞的表达无明显变化, 而肝细胞呈高表达^[9,16-18]。有意思的是, 在老龄动物正常肝细胞内其表达也明显上调。在不同组织学亚型的肾癌中, 乳头状癌(93.7%)和嫌色细胞癌(100%)为高表达, 而在不透明细胞癌(69.9%)中低表达甚至下调^[19]。对于前列腺癌, 仅是沉积尿中的 GP73 对前列腺癌的诊断具有较高的敏感性和特异性(分别为 75%和 72%), 甚至优于前列腺特异性抗原的诊断价值^[16]。但在前列腺癌患者的血清中, 不一定能检测到 GP73。Song 等^[20]研究发现, Hsp90(heat shock protein in 90)抑制剂 IP1-504 可以下调胰腺癌组织中的 GP73 的表达。Fritzsche FR 等还发现 GP73 在精原细胞癌中呈高表达, 有望成为精原细胞瘤的诊断标志物^[21]。Riener Mo 等的研究结果提示, 85%的胆管癌组织中 GP73 呈高表达, 其血清中的 GP73 的中位数也明显高于正常人^[22]。Zhang F.等应用免疫组化技术检测 178 例肺癌组织, 发现所有腺癌组织(116 例)中 GP73 均为高表达, 且患者血清中的 GP73 也较正常人高 30%^[23]。

3. GP73 应用于肝癌诊断的研究

3.1. GP73 与肝病的关系

Kladney RD 在发现 GP73 后, 进一步研究发现, 乙型肝炎、丙型肝炎、酒精性肝硬化和自身免疫性肝炎患者肝组织中, GP73 水平都高于正常肝脏 70 倍以上, 而各病理组之间无显著差异。因此认为, 无论是病毒感染引起, 还是非病毒感染引起的肝病者 GP73 表达水平均显著上调^[24]。分析表明, 正常肝组织中仅有个别细胞有表达, 而各种原因引发的肝脏疾病中, 几乎所有肝细胞均有表达, 在肝硬化结节部位尤其强烈。研究还表明, 在人类肝癌细胞的 Hep3B 细胞中, GP73 能通过 Ad5 和 Ad2 型 T 细胞在 RNA 水平进行诱导, 并证实 GP73 表达水平与腺病毒中 EIA 和 DBP 蛋白质的出现呈正相关^[25]。

Iftikhar R 等的研究表明, 肝脏的损伤反应可激发 GP73 的异常表达。激活的肝星状细胞可能是 GP73 潜在来源。肝细胞中 GP73 水平可随急性肝炎和肝硬化

病情的进展上调,并随着病情的好转而逐渐降低^[26]。GP73 水平与疾病的发展阶段相关,与评分无关。

2005 年,Block TM 等用 HBV 感染土拨鼠建立 HCC 模型,应用糖蛋白组学手段分析 HCC 组和正常血清中的蛋白表达差异,结果发现 HCC 组血清中出现一个明显增强的 FcA2G2 组分,进一步分析发现其代表了 GP73 组分,从而推测其可能是 HCC 的重要肿瘤标志物,并在人 HCC 患者中得到证实^[27]。此后,GP73 应用于肝癌诊断的临床报道逐渐多见报道。

3.2. GP73 诊断肝癌的初步应用

Marrero 等于 2005 年发表了首篇将 GP73 应用于 HCC 诊断的研究报告^[28]。通过 western blot 法检测 352 名受试者,其中, HCC144 例,肝硬化患者 152 例,健康对照 56 例;若取 10 个相对单位(Ru)为临界值,GP73 诊断肝癌的敏感性为 69%,特异性为 75%。在早期肝癌中(T1: 单个结节,直径 < 2 cm; T2: 单个结节,直径 2~5 cm; 或少于 3 个结节,每个结节直径 < 3 cm),GP73 的敏感性为 62%,显著优于 AFP 的 25%。在 AFP < 20 ug/L 的 HCC 中,57%(32/56)GP73 水平显著升高,从而提示诊断早期 HCCGP73 可能优于 AFP。同年,Schwegler 等应用表面增强激光吸收/电离飞行质谱技术研究 GP73 在肝脏疾病诊断中的价值,结果显示,其诊断特异性和敏感度分别达 74%和 95%,优于 AFP 和异常凝血酶原^[29]。2007 年,又有多篇关于 GP73 的学术论文发表^[30-33],评论认为,GP73 是可靠的肿瘤标志物。需要说明的是,至此发表的论文均出自美国,欧亚各国均未见动静。且受试对象大多为 HCV 感染的患者,与中国国情有所差异。2007 年起,我国学者开始关注 GP73 与人类肝脏疾病的关系^[6]。

3.3. 我国应用 GP73 于肝癌诊断的研究

我国对 GP73 的临床研究报道始见于 2008 年^[34,35],最先由毛一雷等对 173 例血清:其中 HCC37 例,HBV 携带者 25 例,非肝病患者 12 例,健康人 99 例,采用 western blot 印迹法检测 GP73 的表达并定量,用电化学发光法检测 AFP。结果显示,健康人与非肝病患者的 GP73 水平相当($P = 0.2925$);肝癌病人和 HBV 携带者分别与对照组相比,GP73 相对值显著增高($P = 0.0015$ 和 $P = 0.0058$)。GP73 诊断 HCC 的敏

感性达 76.9%,特异性达 92.8%,而 AFP 的敏感性仅为 48.6%。GP73 在肝脏其他良性疾病中不增高,在胆管细胞型肝癌中部分(4/6)增高。GP73 水平与肝肿瘤大小和分级没有明显关联。Hu 等^[15]。检测亚洲人血清中 GP73 的表达,发现与 HBV 相关的肝癌组的检测数值和乙肝、肝硬化组相比是最高的。血清 GP73 中位水平在健康人组为 1.13 个单位,乙肝患者组为 3.01 个单位,肝硬化组为 5.68 个单位,HBV 感染的肝癌组为 17.15 个单位。检测结果以 ROC 曲线反应,GP73 诊断 HCC 的敏感性为 77.4%,特异性为 83.9%,而 AFP 则分别为 48.4%和 96.8%,因此认为 GP73 比 AFP 具有更高的敏感性,但特异性低于 AFP。作者比较了 western blot 法与 RT-PCR 法,发现肝癌病人 GP73 mRNA 水平在各人群组是最高的。该试验中 49.1%的肝癌病人 AFP 是阴性的,据此作者认为 ROC 曲线能反应出 GP73 比 AFP 在肝癌诊断方面有更强的优越性。进一步的蛋白组学研究发现细胞内存在一种与 GP73 结构相似的新型蛋白质,称其为 GP73 异质体。

李利军等^[36]采用免疫组化染色 SP 法和 IPP (Image-Pro Plus)图像分析软件检测分析 45 例原发性肝癌(PHC)组织、癌旁组织及 14 例正常肝组织中 GP73、AFP 及血管内皮生长因子(VEGF)的表达。结果表明,这三种标志物在肝癌组织中表达均明显高于癌旁组织和正常肝组织。GP73 水平与肿瘤大结节数目、临床分期及 AFP 水平无明显相关,而与病理分级与合并肝硬化相关。GP73 与 VEGF 在肿瘤中表达均高于 AFP(均 $P < 0.05$)。

毛一雷等^[37]进一步的研究发现,GP73 和 AFP 对肝癌的敏感性分别为 74.6%和 58.2%,特异性分别为 97.4%和 85.3%,提出 GP73 优于 AFP。将 GP73 和 AFP 联合检测后,敏感性和特异性则提高到 89.2%和 85.2%。研究结果确立了 GP73 的正常值为 1.2(0.9~1.7)相对单位(RU),肝癌组平均值为 14.7(8.9~29.4)RU,HBV 携带者、肝硬化患者的 GP73 值均有一定程度的升高,但均小于 5RU。肝癌患者 GP73 水平随着肿瘤切除而下降,术后 14 天降到谷底,当肿瘤复发后,GP73 水平开始反弹。该研究收集的 4217 例血样涵盖了黄种人、白人和黑人,包括了正常人 1690 名,HBV 携带者 337 例,肝硬化 512 例,肝癌 789 例,其他肝脏恶性占位 61 例,肝脏良性占位 206 例以及其癌患患

者 622 例, 是迄今国际上关于 GP73 应用研究最大样本量的调研报告。

去年以来, 又有一批显示应用 GP73 于肝癌诊断具有积极意义的学术论文发表^[38-48], 大都采用了双抗体夹心 ELISA 法测定血清 GP73, 不仅操作简便, 且以 ng/ml 为单位作 GP73 准确定量。付超等^[38]设定 GP73 浓度 85.5 ng/ml 作为 HCC 诊断的临界值, 此时敏感性和特异性可达到 69.7% 和 75.3%。在 PHC 组, GP73 敏感性高于 AFP 但没有统计学差异(70.0% vs 52.5%, $P = 0.143$), 而在肝转移癌组其敏感性显著高于 AFP(63.9% vs 5.6%, $P < 0.01$)。GP73 和 AFP 联合检测可使 HCC 组和肝转移癌组敏感性分别提高到 82.5 和 63.9%。赵秀英等^[39]以 GP73 100 ng/ml 为临界值, 诊断 HCC 的敏感性为 76.7%, 特异性为 73.2%。正常对照组的 GP73 浓度为(22.1 ± 8.5) ng/ml, 慢性肝炎组和肝硬化组为(81.4 ± 57.2) ng/ml, HCC 组为(271.5 ± 202.3) ng/ml。HCC 患者的 GP73 浓度与治疗效果及预后有一定的相关性。张祖平等^[40]和张亚松等^[41]研究结果认为, GP73 对 PHC 的早期诊断具有良好的应用价值, GP73 与 AFP 联合检测可提高诊断肝癌的敏感性, 特别有助于 AFP 阴性肝癌患者的诊断。梁冠林等^[42]的研究表明, 血清 GP73 浓度与 HBV-DNA 复制情况有相关性, 具有统计学意义。但是不受 HCC 的病理因素(癌栓、大小、包膜等)的影响。李淑群等^[43]采用免疫组化 SP 法检测 80 例 HCC、10 例肝胆管细胞癌、10 例正常肝组织中的 GP73, 同时测定 HCC 组织中 AFP。结果: GP73 在 HCC、肝胆管细胞癌、正常肝组织中的阳性率分别为 85%、60% 和 37%, HCC 组与其他各组比较, P 均 < 0.05 。GP73 表达与 HCC 是否合并有肝硬化、腹水、淋巴结转移及门静脉分支侵犯等有关(P 均 < 0.05)。

4. 结语与展望

为建立一个形式化的框架用于指导癌症生物标志物的评估和开发过程, 美国国家癌症研究所(NCI)的早期诊断研究网络曾制订一个 5 期计划^[49]。针对 GP73 的开发应用目标是(a)确定能否在肝病或非肝病患者血清中检测到 GP73, (b)确定肝细胞癌(HCC)患者血清中 GP73 浓度是否比肝硬化患者的更高, (c)比较 GP73 和 AFP 在区分 HCC 与非肿瘤慢性肝病时所表现的性

能特征。这些年来, 众多科学家通过各自的实践, 证实了 GP73 是有价值的肝癌血清标志物。

随着蛋白组学技术的进一步发展, 岩藻糖基化的 GP73-即 GP73 异质体被发现, 在一项包括 80 名患者的研究中, GP73 诊断肝癌的敏感性和特异性为 65% 和 90%, 而 GP73 异质体的敏感性和特异性则高达 90% 和 100%^[50]。提示了 GP73 异质体是更好的肝癌标志物。但有待进一步证实。

GP73 的临床应用尚不超过十年时间, 国内外文献报道都表明其对肝癌有诊断价值, 与 AFP 联合检测可优势互补, 提高诊断的敏感性和特异性, 这些已基本达成共识, 推广应用将成趋势。但其对肝癌的早期诊断价值, 对 AFP 阴性 HCC 的诊断作用以及对 HCC 复发转移的预警作用等尚待研究肯定。此外, 检测试剂、方法的标准化等也有待完善和统一, 以提高准确性和可比性。更重要的是, 尽管 GP73 在健康人的血清中不会出现高表达, 但在肝癌、肝硬化进展期、急性肝炎等肝细胞损伤的情况下都会出现高表达, 三者虽然在群体统计学上能比较出差异, 而在临床面对个体患者作出判断时, 还须慎重。GP73 的高表达涉及到它的来源、功能和特异性问题, 对于相关疾病的鉴别诊断, 尚需资料的积累和实验研究的进展。

参考文献 (References)

- [1] 朱源荣, 陆建华, 王金兵等. 肝癌高发区不同人群乙肝及丙肝病毒标志物阳性率的变化[J]. 中国肿瘤, 2011, 20(6): 409-412.
- [2] 张涛, 单利. 高尔基体蛋白 73 与恶性肿瘤关系的研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(22): 3421-3423.
- [3] 高松, 崔书, 巴明臣. GP73 在肝癌诊断中的研究现状及前景[J]. 中华肝胆外科杂志, 2010, 16(12): 961-963.
- [4] 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.
- [5] 肖莉. GP73 和肝脏疾病关系的研究进展[J]. 医学信息, 2010, 23(11): 331.
- [6] 谭龙益. II 型高尔基体膜蛋白与人类肝脏疾病的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2007, 15(2): 958-959.
- [7] 李淑群, 陈谦. GP73 与肝脏疾病关系的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(20): 2117-2120.
- [8] 杨盛力, 潘晓莉. GP73 的研究进展[J]. 肝胆外科杂志, 2011, 19(1): 70-72.
- [9] R. D. Kladney, G. A. Bulla, L. Guo, et al. GP73, a novel Golgi-localized protein upregulated by viral infection. *Gene*, 2000, 249(1-2): 53-65.
- [10] S. Puri, C. Bachert, C. J. Fimmel, et al. Cycling of early Golgi proteins via the cell surface and endosomes upon luminal pH disruption. *Traffic*, 2002, 3(9): 641-653.
- [11] R. Natarajan, A. D. Linstedt. A Cyclin Cis-Golgi Protein mediates endosome-to-Golgi traffic. *Molecular Biology Cell*, 2004,

- 15 (11): 4798-4806.
- [12] C. Rabouille, E. Jokitalo. Golgi apparatus partition in during cell division. *Molecular Membrane Biology*, 2003, 20(2): 117-127.
- [13] S. Mukherjee, R. Chiu, S. M. Leung, et al. Fragmentation of the Golgi apparatus an early apoptotic event in dependent of the Cytoskeleton. *Traffic*, 2007, 8(4): 369-378.
- [14] C. Bachert, C. Fimmel and A. D. Linsted. Endosomal trafficking and Proprotein Convertase cleavage of Cis golgi protein GP73 produces marker for hepatocellular carcinoma. *Traffic*, 2007, 8: 1415-1423.
- [15] J. S. Hu, D. W. Wu, S. Liang, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is Sensibility and specificity for hepatocellular carcinoma of diagnosis in a hepatitis B-endemic Asian population. *Medical Oncology*, 2009, 27(2): 339-345.
- [16] S. Varambally, B. Laxman, R. Mehra, et al. Golgi protein in GOLMI is a tissue and urine biomarker of prostate cancer. *Neoplasia*, 2008, 10(11): 1285-1294.
- [17] L. M. Wright, S. Yong, M. M. Picken, et al. Decreased survival and hepato-renal pathology in mice C-terminally truncated GP73 (GOLPH2). *International Journal of Clinical Experimental Pathology*, 2009, 2(1): 34-47.
- [18] A. Maitra, P. J. Thuluvath. GP73 and liver disease: A (golgi) complex enigma. *American Journal of Gastroenterology*, 2004, 99: 1096-1098.
- [19] F. R. Fritzsche, M. O. Riener, M. Dietel, et al. GOLPH2 expression in renal cell cancer. *BMC Urology*, 2008, 8: 15.
- [20] D. Song, R. Chaerkdy, A. C. Tan, et al. Antitumor activity and molecular effects of the novel heat shock protein 90 inhibitor IP1-504 in Pancreatic Cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2008, 7(10): 3275-3284.
- [21] F. R. Fritzsche, G. Kristiansen, M. O. Riener, et al. GOLPH2 expression may serve as diagnostic marker in seminomas. *BMC Urology*, 2010, 10: 4.
- [22] M. O. Riener, F. Stenner, H. Liewen, et al. Golgi phosphoprotein 2(GOLPH2) expression in liver tumors and its value as a serum marker in hepatocellular carcinomas. *Hepatology*, 2009, 49(5): 1602-1609.
- [23] F. Zhang, et al. Upregulated Golgi phosphoprotein 2(GOLPH2) expression in lung a denocarcinoma tissue. *Clinical Biochemistry*, 2010, 43(12): 983-991.
- [24] R. D. Kladney, X. Gui, G. A. Bulla, et al. Expression of GP73, a resident golgi membrane protein, *in viral* and nonviral liver disease. *Hepatology*, 2002, 35(6): 1431-1440.
- [25] R. D. Kladney, A. E. Tollefson, W. S. Wold, et al. Upregulation of the golgi protein GP73 by adenovirus infection requires the E1A CtBp interaction domain. *Virology*, 2002, 301: 236-246.
- [26] R. Iftikhar, R. D. Kladney, N. Havlioglu, et al. Disease-and cell-specific expression of GP73 in human liver disease. *American Journal of Gastroenterology*, 2004, 99(6): 1087-1095.
- [27] T. M. Block, M. A. Comanale, M. Lowman, et al. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans. *National Proceeding Academy Sciences USA*, 2005, 102(3): 779-784.
- [28] J. A. Marrero, P. R. Romano, O. Nikolaeva, et al. GP73, a resident golgi glycoprotein is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology*, 2005, 43(6): 1007-1012.
- [29] E. E. Schwegler, L. Cazares, L. F. Steel, et al. SELDI-TOF MS profiling of serum for detection of the progression of chronic hepatitis C to hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2005, 41: 634-642.
- [30] S. Srivastava. Cancer biomarker discovery and development in gastrointestinal cancers: Early detection research network—A collaborative approach. *Gastrointest Cancer Research*, 2007, 1 (Suppl. 2): S60-3.
- [31] C. Willyard. Researchers look for “sweet” method to diagnosis Cancer. *Nature Medicine*, 2007, 13(11): 1267-1269.
- [32] S. Benowitz. Liver cancer biomarkers struggling to succeed. *Journal of National Cancer Institute*, 2007, 99(8): 590-591.
- [33] W. Cassandra. Researchers look for “sweet” method to diagnose Cancer. *Nature Medicine*, 2007, 13: 1267.
- [34] 毛一雷, 杨华瑜, 徐海峰等. 新的肝癌血清标记物 GP73 在肝癌诊断中的初步研究[J]. *中华医学杂志*, 2008, 88(14): 948-951.
- [35] 徐海峰, 杨华瑜, 张宏冰等. 改变肝癌早期诊断和治疗现状的新肝癌血清标志物[J]. *基础医学与临床*, 2008, 28(1): 104-108.
- [36] 李利军, 李新丰, 王高雄. GP73 联合 AFP、VEGF 检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(29): 3056-3060.
- [37] Y. Mao, H. Yang, H. Xu, et al. Golgi protein 73(GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma. *Gut*, 2010, 59(12): 1687-1693.
- [38] 付超, 齐军, 李学禅等. 高尔基体蛋白(GP73)检测在肝细胞癌中的应用价值[J]. *中国肿瘤*, 2010, 19(8): 553-556.
- [39] 赵秀英, 李英, 丁惠国等. 血清高尔基体糖蛋白 73 在肝细胞癌诊断中的作用[J]. *中华肿瘤杂志*, 2010, 32(12): 943-946.
- [40] 张祖平, 张德忠, 吴耀震. 血清 GP73 联合 AFP 对 PHC 的早期诊断价值探讨[J]. *放射免疫学杂志*, 2010 23(2): 205-206.
- [41] 张亚松, 石玉玲 张喜欽. GP73 在肝癌早期诊断中的应用价值 [J]. *医学临床研究*, 2011, 28(4): 651-653.
- [42] 梁冠林, 廖志学, 冉顺等. 血清 GP73 在肝脏肿瘤中的表达及意义[J]. *中华普通外科杂志*, 2010, 25(4): 339-340.
- [43] 李淑群, 陈谦, 喻亚群等. 肝细胞肝癌组织中 GP73 的表达变化[J]. *山东医药*, 2011, 51(2): 60-61.
- [44] 刘树业, 杜智, 邵新华等. 高尔基体蛋白 73 在肝癌诊断中的意义[J]. *广东医学*, 2010, 31(3): 309-311.
- [45] 石玉玲, 曾兰兰, 李林海等. 高尔基体蛋白 73 及其基因检测对原发性肝癌诊断的价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2010, 33(6): 507-512.
- [46] 朱国民, 周晓庆, 林长青等. 新肝癌标志物高尔基体蛋白 GP73 在肝癌血清诊断中的应用[J]. *中华医院感染学杂志*, 2010, 20(15): 2350-2352.
- [47] 陈文莉, 彭涛, 陈小苹等. 血清 GP73 检测在肝脏疾病诊断中的临床意义[J]. *中华检验医学杂志*, 2010, 33(4): 333-336.
- [48] 谭龙益, 陈洁, 王皓. 血清 II 型高尔基体膜蛋白与人类肝细胞癌的关系[J]. *中华肝脏病杂志*, 2009, 17: 288-291.
- [49] M. S. Pepe, R. Etzioni, Z. Feng, et al. Phases of biomarker development for early detection of cancer. *Journal of National Cancer Institute*, 2001, 93(14): 1054-1061.
- [50] R. R. Darke, E. E. Schwegler, G. Malik, et al. Lectin capture strategies combined with mass spectrometry for the discovery of serum glycoprotein biomarkers. *Molecular Cell Proteomics*, 2006, 5(10): 1957-1967.