

甲胎蛋白、Dickkopf1糖蛋白和 α -L-岩藻糖苷酶在肝癌早期诊断中的应用

童华波, 庭永君, 段 航, 罗利梅

■背景资料

原发性肝癌在中老年男性中高发, 其致病因素较为复杂, 病毒性肝炎、黄曲霉素等化学致癌物质均与原发性肝癌的发病相关, 在临床原发性肝癌以进展快、侵袭性强、恶性程度高而著称, 因临床诊疗技术的局限性, 患者一经诊断多处于中晚期, 预后极差, 即使获得根治性切除, 5年内的复发率仍高达60%-70%, 早期诊断于肝癌治疗疗效提高及患者生存时间的延长意义均有重要的临床意义, 肿瘤标志物在临床广泛应用也让肝癌早期诊断成为可能。

■同行评议者

宣世英, 教授, 青岛市市立医院肝病内科

童华波, 庭永君, 罗利梅, 遵义市第一人民医院检验科 贵州省遵义市 563002

段航, 遵义医学院附属医院检验科 贵州省遵义市 563003

童华波, 副主任技师, 主要从事血液病实验诊断的研究。

作者贡献分布: 本研究设计由童华波完成; 庭永君、段航及罗利梅共同参与; 论文撰写由童华波完成。

通讯作者: 童华波, 副主任技师, 563002, 贵州省遵义市汇川区凤凰路98号, 遵义市第一人民医院检验科. thbo650205@126.com

收稿日期: 2014-06-02 修回日期: 2014-07-10

接受日期: 2014-07-24 在线出版日期: 2014-08-28

Value of alpha fetoprotein, Dickkopf1 glycoprotein and α -L-fucosidase in early diagnosis of liver cancer

Hua-Bo Tong, Yong-Jun Ting, Keng Duan, Li-Mei Luo

Hua-Bo Tong, Yong-Jun Ting, Li-Mei Luo, Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Zunyi, Zunyi 563002, Guizhou Province, China

Keng Duan, Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Hua-Bo Tong, Associate Chief Physician, Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Zunyi, 98 Fenghuang Road, Huichuan District, Zunyi 563002, Guizhou Province, China. thbo650205@126.com

Received: 2014-06-02 Revised: 2014-07-10

Accepted: 2014-07-24 Published online: 2014-08-28

Abstract

AIM: To investigate the value of alpha fetoprotein (AFP), Dickkopf1 (DKK1) glycoprotein and α -L-fucosidase (AFU) in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: One hundred and three patients with primary HCC, 60 patients with liver cirrhosis, 127 patients with chronic hepatitis B, and 236 healthy people were included in the study. AFP, DKK1 and AFU were detected and compared among the four groups. The value of these markers in the diagnosis of primary HCC was evaluated.

RESULTS: Serum levels and abnormal rates of AFP, DKK1 and AFU were significantly higher

in the HCC group than in the other groups ($P < 0.05$), and in the liver cirrhosis group than in the chronic hepatitis B group and control group ($P < 0.05$). Combined detection of AFP, DKK1 and AFU in the diagnosis of HCC had a sensitivity of 89.3%, a Youden index of 0.789, and a negative predictive value of 97.2%. The diagnostic accuracy of combined detection was significantly improved compared to the detection of any single index.

CONCLUSION: Combined detection of AFP, AFU and DKK1 has a high sensitivity in the diagnosis of primary HCC and can reduce the rate of missed diagnosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Primary liver cancer; Alpha fetoprotein; Dickkopf1 glycoprotein; α -L-fucosidase

Tong HB, Ting YJ, Duan K, Luo LM. Value of alpha fetoprotein, Dickkopf1 glycoprotein and α -L-fucosidase in early diagnosis of liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(24): 3670-3674 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3670.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i24.3670>

摘要

目的: 探讨甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、DKK1(Dickkopf1)糖蛋白及 α -L-岩藻糖苷酶(α -L-fucosidase, AFU)在肝癌早期诊断的临床应用价值。

方法: 103例原发性肝癌(primary carcinoma of the liver, PCL)设为肝癌组, 60例肝硬化设为肝硬化组, 127例慢性乙型肝炎设为肝炎组, 236例健康体检人员设为对照组。比较4组研究对象AFP、DKK1及AFU检测情况, 并对3种标志物在PCL早期诊断的临床应用价值进行方法学评价。

结果: 肝癌组患者血清AFP、DKK1、AFU

水平及异常率均高于其他各组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 肝硬化组患者血清AFP、DKK1及AFU水平及异常率均高于肝炎组及对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), AFP、DKK1及AFU 3种肿瘤标志物联合检测其方法学评价灵敏度为89.3%, Youden指数为0.789, 阴性预测值为97.2%, 相对于单独检测均有大幅提高。

结论: AFP、AFU及DKK1 3种肿瘤标志物联合检测方法学灵敏度有较大的提升, 减少了漏诊率, 在PCL的防治有较高的临床应用价值, 值得推广应用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 原发性肝癌; 甲胎蛋白; Dickkopf1糖蛋白; α -L-岩藻糖苷酶

核心提示: 甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、DKK1(Dickkopf1)糖蛋白及 α -L-岩藻糖苷酶(α -L-fucosidase, AFU)血清水平及异常率在肝癌组均出现大幅升高, 与其他各组比较差异均有统计学意义, 数据说明: 3种肿瘤标志物对原发性肝癌具有提示作用。

童华波, 庭永君, 段妍, 罗利梅. 甲胎蛋白、Dickkopf1糖蛋白和 α -L-岩藻糖苷酶在肝癌早期诊断中的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(24): 3670-3674 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3670.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i24.3670>

0 引言

原发性肝癌(primary carcinoma of the liver, PCL)为临床常见恶性肿瘤. 世界卫生组织(World Health Organization, WHO)资料显示^[1]: 肝癌在世界范围内每年的新发病例将近75万例, 死亡人数约为70万例. 其中, 在我国肝癌每年新发病例及死亡病例均占全世界的半数以上. 肝癌在消化系恶性肿瘤中的死亡率居第3位, 仅次于胃癌及食道癌. 多数肝癌病例诊断时均处于中晚期而贻误治疗时机, 预后极差. 肿瘤标志物于20世纪90年代应用于临床, 甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)为PCL早期诊断较为经典的肿瘤标志物, 但临床报道仍有将近30%肝癌漏诊^[2]. 本研究着重于多项肿瘤标志物: AFP、DKK1(Dickkopf1)糖蛋白及 α -L-岩藻糖苷酶(α -L-fucosidase, AFU)对PCL的变化情况, 旨在探讨3种肿瘤标志物联合检测相对PCL早期诊断的临床应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-04/2014-01于遵义市第一人民医院和遵义医学院附属医院住院的患者, 其中103例临床确诊的PCL患者设为肝癌组, 男72例, 女31例, 年龄62-79岁, 平均年龄68.4岁 \pm 4.2岁, I期34例、II期49例、III期20例. 60例确诊肝硬化患者设为肝硬化组, 男41例, 女19例, 年龄61-77岁, 平均年龄66.9岁 \pm 4.7岁. 127例慢性乙型肝炎设为肝炎组, 男86例, 女41例, 年龄62-79岁, 平均年龄68.0岁 \pm 4.7岁. 236例健康体检人员设为对照组, 年龄60-75岁, 平均年龄68.2岁 \pm 4.2岁. 所有研究对象均遵循自愿原则, 签署知情同意书. 4组研究对象年龄、性别构成无统计学差异($P > 0.05$), 具有可比性. 诊断及纳入标准: PCL、肝硬化均有CT、MR影像学及病理学诊断支持, 慢性乙型肝炎均有实验室检查支持, 所有研究对象均排除继发性肝癌及其他系统肿瘤患者, 对照组要求无严重内科疾患, 肝、肾、心功能正常, 排除各型肝炎病毒感染患者。

1.2 方法

1.2.1 实验设计: 比较4组研究对象AFP、AFU及DKK1血清水平及异常率, 运用方法学评价3种肿瘤标志物单独及联合对PCL的灵敏度、特异度、Youden指数、诊断符合率、阴(阳)性预测值。

1.2.2 实验室操作: 所有受试者空腹12 h以上取血5 mL送检, 3000 r/min离心10 min分离血清, AFP检测采用化学发光法, 仪器为Beckman Coulter公司DXI800 Access免疫分析系统, 使用厂家配套试剂; AFU采用连续监测法, 仪器为Beckman Coulter公司DXC800临床化学系统, 试剂采用浙江伊利康生物技术有限公司生产产品; DKK1采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测, 试剂采用美国R&D公司生产产品, 均严格按试剂说明书进行操作及设置, 正常范围: AFP 0-20 μ g/mL; AFU 0-30 U/L; DKK1 0-2.2 ng/mL。

统计学处理 使用统计学软件SPSS19.0进行数据分析, 阳性率、构成比比较采用 χ^2 检验分析比较, 多组间均值比较采用方差分析, 组间两两比较采用SNK法, 对AFP、AFU及DKK1单独及联合对PCL的早期诊断进行方法学评价, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4组研究对象AFP、AFU及DKK1血清水平比较 4组研究对象AFP、AFU及DKK1经方差

■研究前沿
肿瘤标志物于20世纪90年代应用于临床, 甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)为原发性肝癌早期诊断较为经典的肿瘤标志物, 但临床报道仍有将近30%肝癌漏诊。

■ 相关报道

Tung 等认为, DKK1 升高程度与肿瘤血管浸润及肿瘤恶性程度相关, 高水平 DKK1 肿瘤患者预后较差.

表 1 4组AFP、AFU及DKK1血清水平比较 (mean ± SD)

分组	n	AFP($\mu\text{g/mL}$)	AFU(U/L)	DDK1(ng/mL)
对照组	236	4.8 ± 2.6	13.6 ± 5.2	0.9 ± 0.2
肝炎组	127	5.2 ± 2.5	14.9 ± 6.4	1.0 ± 0.3
肝硬化组	60	14.2 ± 6.3 ^{ac}	21.8 ± 6.2 ^{ac}	1.5 ± 0.6 ^{ac}
肝癌组	103	159.4 ± 45.3 ^{ace}	113.7 ± 38.7 ^{ace}	5.3 ± 1.7 ^{ace}
F值		1582.95	843.77	794.69
P值		0.000	0.000	0.000

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs 肝炎组; ^e $P < 0.05$ vs 肝硬化组. AFP: 甲胎蛋白; DKK1: Dickkopf1糖蛋白; AFU: α -L-岩藻糖苷酶.

表 2 4组AFP、AFU及DKK1异常率比较 n(%)

分组	n	AFP	AFU	DDK1
对照组	236	12(5.1)	8(3.4)	10(4.2)
肝炎组	127	8(6.3)	6(4.7)	6(4.7)
肝硬化组	60	10(16.6) ^{ac}	9(15.0) ^{ac}	11(18.3) ^{ac}
肝癌组	103	78(75.7) ^{ace}	68(66.0) ^{ace}	74(71.8) ^{ace}
χ^2 值		243.15	217.1	235.2
P值		0.000	0.000	0.000

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs 肝炎组; ^e $P < 0.05$ vs 肝硬化组. AFP: 甲胎蛋白; DKK1: Dickkopf1糖蛋白; AFU: α -L-岩藻糖苷酶.

分析均有统计学意义($P < 0.05$), SNK法两两比较, AFP、AFU及DKK1对照组、肝炎组均无统计学差异($P > 0.05$), 肝硬化组、肝癌组血清水平依次升高与其他各组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)(表1).

2.2 4组研究对象AFP、AFU及DKK1异常率比较 4组研究对象AFP、AFU及DKK1经卡方检验分析均有统计学意义($P < 0.05$), 两两比较, AFP、AFU及DKK1对照组、肝炎组均无统计学差异($P > 0.05$), 肝硬化组、肝癌组异常率依次升高与其他各组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)(表2).

2.3 3种肿瘤标志物对PCL诊断方法学评估 3种肿瘤标志物单独检测方法学评价结果如表3, 联合检测以各种肿瘤标志物任意阳性为联合检测阳性, 全阴性为联合检测阴性, 肝癌组103例, 研究对象3种肿瘤标志物阳性例数为92例(真阳性), 阴性11例(假阴性), 对照组、肝炎组及肝硬化组阳性例数为44例(假阳性), 阴性379例(真阴性), 3种肿瘤标志物联合检测其方法学评价灵敏度为89.3%, Youden指数为0.789, 阴性预测值为97.2%, 相对于单独检测均有大幅提高, 相对任

意2种肿瘤标志物联合检测也均有提高.

3 讨论

PCL在中老年男性中高发, 其致病因素较为复杂, 病毒性肝炎、黄曲霉素等化学致癌物质均与PCL的发病相关^[3,4]. 临床PCL以进展快、侵袭性强、恶性程度高而著称, 因临床诊疗技术的局限性, 患者一经诊断多处于中晚期, 预后极差, 即使获得根治性切除, 5年内的复发率仍高达60%-70%^[5]. 早期诊断于肝癌治疗疗效提高及患者生存时间的延长意义均有重要的临床意义. 肿瘤标志物在临床广泛应用也让肝癌早期诊断成为可能.

肿瘤标志物为一类其存在及量变可提示肿瘤的发生及性质的物质, 对肿瘤的诊断、分类、治疗及预后评估均有重要的临床价值^[6]. 本组研究资料显示: AFP、AFU及DKK1血清水平及异常率在肝癌组均出现大幅升高, 与其他各组比较差异均有统计学意义, 数据说明: 3种肿瘤标志物对PCL具有提示作用. AFP属于 α 球蛋白, 产生于胎儿肝脏及卵黄囊, 电泳处于白蛋白及球蛋白之间, 正常成人含量甚微, 在PCL中未

表 3 3种肿瘤标志物对原发性肝癌诊断方法学评估

项目	灵敏度(%)	特异度(%)	Youden指数	符合率(%)	阴性预测值(%)	阳性预测值(%)
AFP	75.7	92.9	0.686	89.5	94.0	72.2
AFU	66.0	94.6	0.606	89.0	91.9	74.7
DKK1	71.8	93.6	0.654	89.4	93.2	73.2
AFP+AFU	81.5	89.8	0.711	88.2	95.2	66.1
AFP+DKK1	84.5	90.5	0.750	89.4	95.3	68.5
AFU+DKK1	82.5	90.1	0.726	88.6	93.5	66.9
三项联检	89.3	89.6	0.789	89.5	97.2	67.6

AFP: 甲胎蛋白; DKK1: Dickkopf1糖蛋白; AFU: α -L-岩藻糖苷酶.

分化的癌细胞可分泌大量AFP, 血清浓度可成万倍上升, AFP为PCL的首选肿瘤标志物^[7]. 也有研究资料报道, 在小肝癌(单个<2 cm)中AFP的阳性率较低, 仅为35.7%^[8], 漏诊现象较为常见. AFU为溶酶体酸性水解酶, 在细胞新陈代谢过程中参与岩藻糖基中糖蛋白等物质的分解, 可被正常肝组织星形细胞清除^[9]. 肝组织癌变时, AFU分泌增多, 清除受阻, 造成血清水平升高. DKK1为分泌型蛋白在Wnt信号通路(介导细胞增殖、分化、凋亡等)起重要调节作用^[10,11]. 本研究发现在PCL中DKK1呈现过度表达. Tung等^[12]认为, DKK1升高程度与肿瘤血管浸润及肿瘤恶性程度相关. 高水平DKK1肿瘤患者预后较差, 3种肿瘤标志物在肝硬化组的血清水平及异常率也高于肝炎组及对照组, 值得引起临床的重视. 肝硬化易进展为肝癌, 部分肝硬化患者肿瘤标志物也出现较大幅度的升高, 肿瘤标志物升高的肝硬化患者是否更容易进展为肝癌仍需进一步研究.

肿瘤标志物的组织特异性也高于其器官特异性^[13]. 不同性质肿瘤, 肿瘤标志物具有不同的表现^[14]. 在PCL 3种肿瘤标志物具有不同的灵敏度及特异度. 本组资料显示, AFP灵敏度(75.7%)最高, 特异度以AFU(94.6%)较好, 3种肿瘤标志物均存在不同程度的漏诊现象, 联合检测能较好的减少漏诊. 有研究报道: DKK1在AFP阴性肝癌的阳性率为70.4%, 在早期肝癌及小肝癌有较好的灵敏度, 与AFP有良好的互补性^[15]. 本研究数据支持上述观点, 在AFP及DKK1两项肿瘤标志物联合检测, 灵敏度为84.5%, 高于其他肿瘤标志物的组合形式. 本研究中3例小肝癌AFP均为阴性, DKK1则为阳性, DKK1较好的弥补AFP对小肝癌的漏诊现象. 3种肿瘤标志物联检灵敏度(89.3%)则有较大幅度的提升, Youden指数综合考虑诊断

方法的灵敏度、特异度为评价诊断方法优劣性的良好指标, 3种肿瘤标志物Youden指数为0.789, 均高于3种肿瘤标志物单独检测值.

总之, PCL的早期诊断与肝癌治疗方案选择、临床预后评估均有重要的临床意义. AFP、AFU及DKK1 3种肿瘤标志物联检对方法学灵敏度有较大的提升, 减少了漏诊率, 在PCL的防治有较高的临床应用价值, 值得推广应用.

4 参考文献

- 1 骆敏, 谢裕安. 肝癌早期诊断研究新进展. 内科 2012; 7: 299-300
- 2 宋婕. 肝癌相关肿瘤标志物研究新进展. 国际病理科学与临床杂志 2011; 31: 54-58
- 3 艾祖然木·苏皮, 古丽斯坦·艾买提, 玉素甫. AFU与AFP联合检测在肝脏疾病中的应用价值. 吉林医学 2014; 35: 1430-1431
- 4 汪文, 黄卫. 肝癌表观遗传学研究的进展. 国际消化病杂志 2013; 33: 75-77
- 5 陈建军, 陈建国, 高晓阳, 吴白平. 应用ROC曲线评价AFP、AFU、5'-NT在原发性肝癌诊断中的意义. 实用预防医学 2012; 19: 1402-1404
- 6 宁珠, 殷芳, 刘海, 尤丽英, 杨晋辉, 郑盛. 血清AFP、CEA、AFU、GGT-II联合检测诊断原发性肝癌的临床价值. 中国医药导报 2013; 10: 73-75
- 7 董飞波, 高国生, 徐晓珍, 祝成亮, 颜卫华. 血清GP73和AFP等十项肿瘤标志物联合诊断HBsAg阳性肝癌的研究. 浙江医学 2014; 36: 166-169
- 8 Gomceli I, Bostanci EB, Ozer I, Kemik AS, Turhan N, Tez M, Kilic S, Demiriz B, Akoglu M. A novel screening biomarker in gastric cancer: serum Dickkopf-1. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1661-1664 [PMID: 22155860]
- 9 沈秋瑾, 覃文新. DKK1可作为肝癌早查早诊的血清蛋白标志物. 药品评价 2012; 9: 4-5
- 10 余艳军, 万晓帆, 于彬, 游海燕, 舒惠群, 姚根富, 覃文新. Dickkopf(DKK1)在肝癌组织及多种人肿瘤细胞系中的表达分析. 肿瘤 2006; 26: 1109-1111
- 11 庞一琳, 张斌, 陈虎. 间充质干细胞与肿瘤细胞相互作用: 促进还是抑制. 中华细胞与干细胞杂志 2013; 3: 31-34
- 12 Tung EK, Mak CK, Fatima S, Lo RC, Zhao H, Zhang C, Dai H, Poon RT, Yuen MF, Lai CL, Li JJ, Luk JM, Ng IO. Clinicopathological and prognostic significance of serum and tissue Dickkopf-1 levels

应用要点
肿瘤标志物为一类其存在及量变可提示肿瘤的发生及性质的物质, 对肿瘤的诊断、分类、治疗及预后评估均有重要的临床价值.

■同行评价

本研究设计实用, 结果有一定的参考价值.

- 13 in human hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2011; 31: 1494-1504 [PMID: 21955977 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02597.x]
- 14 华实验外科杂志 2013; 30: 834-835
- 15 黄奕, 于彬, 覃文新. Dickkopf1在肝癌组织中的表达. *药品评价* 2009; 35: 541-543
- 13 梁卫明, 陈义雄, 戴维, 蔡良真. 肝癌患者手术前后、介入治疗前后血清糖蛋白Dickkopf-1水平的变化. *中*
- 15 柳家荣. Dickkopf-1基因与肿瘤. *国际肿瘤学杂志* 2010; 37: 86-89

编辑 田滢 电编 都珍珍





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

