

AFP、AFP-L3 和 DKK1 联合检测对原发性肝癌的诊断价值

曾繁利¹, 王东和¹, 苏锐², 杨贺庆¹

(1. 秦皇岛市第二医院, 河北 秦皇岛 063000; 2. 承德医学院附属医院, 河北 承德 067000)

【摘要】目的: 探讨甲胎蛋白(AFP)、甲胎蛋白异质体3(AFP-L3)和分泌型蛋白 Dickkopf-1(DKK1)联合检测对原发性肝癌的诊断价值。**方法:** 50例原发性肝癌患者设为肝癌组, 50例良性肝病组, 50例健康体检者设为对照组。检测3组对象血清AFP、AFP-L3和DKK1水平, 并比较组间差异; 比较肝癌组术后1个月与术前血清AFP、AFP-L3和DKK1水平差异。**结果:** (1)肝癌组血清AFP、AFP-L3和DKK1水平高于良性肝病组和对照组; 良性肝病组血清AFP、AFP-L3水平高于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。(2)肝癌组血清AFP、AFP-L3和DKK1阳性率高于良性肝病组和对照组($P < 0.05$)。(3)血清AFP、AFP-L3和DKK1联合检测原发性肝癌的灵敏度(90%)和准确性(88.6%)均高于单一检测, 而特异度低于单一检测($P < 0.05$)。(4)腹腔镜肝切除术后1个月, 肝癌组的血清AFP、AFP-L3和DKK1水平均降低, 与术前比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** 血清AFP、AFP-L3和DKK1联合检测在诊断原发性肝癌中的应用价值较高。

【关键词】 甲胎蛋白; 甲胎蛋白异质体3; 分泌型蛋白 Dickkopf-1; 联合检测; 原发性肝癌; 诊断价值

【中图分类号】 R735.7 **【文献标志码】** A

Combined detection of AFP, AFP-L3 and DKK1 in the diagnosis of primary liver cancer

ZENG Fan-li¹, WANG Dong-he¹, SU Rui², YANG He-qing¹

(1. Qinhuangdao Second Hospital, Qinhuangdao 063000; 2. Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei, China)

【Abstract】Objective: To evaluate the value of combined detection of AFP, AFP-L3 and DKK1 in the diagnosis of primary liver cancer. **Methods:** 50 patients with primary liver cancer were set as liver cancer group, 50 patients with benign liver disease as benign liver disease group, and 50 healthy people as control group. The levels of AFP, AFP-L3 and DKK1 in serum of the three groups were measured, and the differences between the three groups were compared. One month after operation, the levels of AFP, AFP-L3 and DKK1 in the liver cancer group were compared with those before operation. **Results:** (1) AFP, AFP-L3 and DKK1 in liver cancer group were higher than those in benign liver disease group and control group, and AFP and AFP-L3 in benign liver disease group were higher than those in control group, with statistical difference ($P < 0.05$). (2) The positive rates of AFP, AFP-L3 and DKK1 in liver cancer group were higher than those in benign liver disease group and control group ($P < 0.05$). (3) The sensitivity (90%) and accuracy (88.6%) of combined detection of AFP, AFP-L3 and DKK1 were higher than that of single detection, but the specificity was lower than that of single detection ($P < 0.05$). (4) One month after laparoscopic hepatectomy, the levels of AFP, AFP-L3 and DKK1 in the liver cancer group were all lower than those before operation, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** The combined detection of serum AFP, AFP-L3 and DKK1 has a high value in the diagnosis of primary liver cancer.

【Key words】 AFP; AFP-L3; DKK1; Combined detection; Primary liver cancer; Diagnostic value

原发性肝癌是一种常见恶性肿瘤, 发病率较高, 以40~50岁男性居多^[1]。原发性肝癌的恶性程度高, 进展速度快, 预后欠佳, 病死率高, 且发病率呈逐年升高趋势^[2]。早期, 大多数病患并无明显症状, 出现症状确诊时, 多发展至中晚期。因此, 早期诊断发现原发性肝癌至关重要, 是改善预后的关键所在^[3]。甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)是临床筛

查原发性肝癌的常用指标, 但临床20%~40%原发性肝癌患者AFP呈阴性, 或者是低浓度, 不利于临床诊断。多种标志物联合检测, 可解决单一指标灵敏度低、漏检率高等问题, 有望提高原发性肝癌诊断效率^[4]。本研究探讨AFP、甲胎蛋白异质体3(AFP-L3)和分泌型蛋白 Dickkopf-1(Dkk1)联合检测对原发性肝癌的诊断价值。现报告如下。

1 资料及方法

1.1 一般资料

选择秦皇岛市第二医院 2018 年 7 月至 2019 年 7 月收治的 50 例原发性肝癌患者设为肝癌组,50 例良性肝病组患者设为良性肝病组,另选择 50 例健康体检者设为对照组。对照组中,男性 29 例,女性 21 例;年龄 25 ~ 72 岁,平均(45.62 ± 4.81)岁。良性肝病组中,男性 31 例,女性 19 例;年龄 29 ~ 71 岁,平均(46.79 ± 5.12)岁;11 例肝炎,19 例肝血管瘤,13 例肝硬化,7 例脂肪肝。肝癌组中,男性 30 例,女性 20 例;年龄 31 ~ 75 岁,平均(46.24 ± 3.12)岁。3 组对象基本资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。研究已经获得本院伦理委员会审批和患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 检测 抽取空腹 4 mL 静脉血,按照 4 000 r/min 离心 10 min,分离血清, -25 °C 冰箱中保存待查。检测试剂购自上海罗氏诊断产品有限公司。AFP 检测,采取贝克曼 DX 1 800 Access 化学发光免疫分析系统;采用亲和吸附层析法检测 AFP-L3,计算 AFP-L3 在 AFP 中的百分比;ELISA 试剂盒检测血清标本中 DKK1 水平。术后 1 个月,肝癌组(化疗前)再次检测该 3 项指标。正常参考值:AFP < 20 μg/L;AFP-L3 < 10%;DKK1 < 2.0 μg/L,大于正常参考值上限则判定为阳性。联合检测中,血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 任意一项为阳性则判定为阳性。诊断依据:《病毒性肝炎防治方案》与《新编常见恶性肿瘤诊治规范》^[5]。

1.2.2 手术方案 本研究中 50 例原发性肝癌患者均符合手术指征,且均实施腹腔镜肝切除术。利用腹腔镜,探查肝脏病变严重程度,观察肝脏总体与腹腔内总体状况;通过超声检查,确认肿瘤位置,标记预切线。根据肿瘤位置、手术方式、肝脏病变程度,选择合适的肝血流阻断方法,采取合适的切除手段。切除标本后,装入标本袋中,经由腹上区操作孔,扩大切口,或者是耻骨联合上横切口,完整取出并送病理检查。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件进行数据整理和统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料以 [$n(\%)$]表示,行 χ^2 比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组研究对象血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 水平比较

肝癌组血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 水平高于良

性肝病组和对照组;良性肝病组血清 AFP、AFP-L3 水平高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组研究对象血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	AFP(μg/L)	AFP-L3(%)	DKK1(μg/L)
肝癌组($n=50$)	318.83 ± 91.37	43.48 ± 9.24	3.47 ± 1.34
良性肝病组($n=50$)	60.45 ± 11.48*	7.21 ± 2.13*	1.63 ± 0.72*
对照组($n=50$)	6.72 ± 1.08*#	4.23 ± 2.07*#	1.45 ± 0.51*

* $P < 0.05$,与肝癌组比较;# $P < 0.05$,与良性肝病组比较。

2.2 3 组研究对象血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 阳性率比较

肝癌组血清 AFP、AFP-L3、DKK1 阳性率高于良性肝病组和对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 3 组研究对象血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 阳性率比较 [$n(\%)$]

组别	AFP 阳性	AFP-L3 阳性	DKK1 阳性	联合检测阳性
肝癌组($n=50$)	30(60)*	38(76)*	35(70)*	45(90)*#
良性肝病组($n=50$)	11(22)	7(14)	4(8)	12(24)
对照组($n=50$)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

* $P < 0.05$,与良性肝病组比较;# $P < 0.05$,与单一检测结果比较。

2.3 血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 单独检测与联合检测分析

表 3 显示,联合检测的灵敏度和准确性均比单一检测高,特异度比单一检测低,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 观察分析 AFP、AFP-L3、DKK1 单独检测及联合检测的灵敏度和特异度(%)

检测项目	灵敏度	特异度	准确性
AFP	60	89	79.3
AFP-L3	76	93	87.3
DKK1	70	96	87.3
AFP + AFP-L3 + DKK1	90*	88*	88.6*

* $P < 0.05$,与各项单一检测比较。

2.4 术后 1 个月原发性肝癌患者血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 变化

经腹腔镜肝切除术治疗 1 个月后,原发性肝癌患者的血清 AFP、AFP-L3 和 DKK1 水平均降低,与治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 原发性肝癌患者术前与术后 1 个月的 AFP、AFP-L3、DKK1 比较($\bar{x} \pm s$)

时间	AFP(μg/L)	AFP-L3(%)	DKK1(μg/L)
术前	318.83 ± 91.37	43.48 ± 9.24	3.47 ± 1.34
术后	151.39 ± 47.93	24.81 ± 11.68	2.43 ± 0.89
t 值	15.961	10.954	7.232
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

目前,原发性肝癌的病因尚不明确,学者们普遍认为其可能与病毒性肝炎、肝硬化、黄曲霉素等化学致癌物质、环境等因素有关^[6]。临床上,患者多表现出肝区疼痛,部分患者伴有腹胀、消瘦、乏力及食欲减退等全身症状。随着病情发展,晚期可能出现贫血、腹水、黄疸、下肢水肿以及皮下出血和恶病质等表现^[7]。早期诊断和治疗原发性肝癌,可明显提高患者生存质量,并延长存活时间。

目前,早期诊断原发性肝癌主要根据CT、B超等影像学技术,定位虽然准确,但定性难度大,血清肿瘤标志物被认为是一种无创性辅助诊断方法。原发性肝癌诊断中,AFP是常用血清学标志物,但早期诊断准确率并不高。至今,尚无一种特异性检测指标可准确诊断原发性肝癌^[8],因此,临床上考虑采取联合检测方式,旨在提高诊断效率。

AFP是一种人体在胚胎时期血液中含有的糖蛋白,胎儿出生后其浓度降低,数月后,降低到正常水平。正常成人的肝细胞因丧失合成AFP的能力,故血清中AFP水平处于极低状态^[9]。有报道^[10]显示,15%~20%原发性肝癌晚期患者体内AFP处于正常状态,而50%~60%原发性肝癌患者AFP呈阳性;同时,慢性肝炎、妊娠女性以及肝硬化等部分良性疾病患者AFP也会呈现出不同程度升高。本研究中AFP单项检测阳性率为60%,说明仅仅依靠AFP诊断原发性肝癌,容易漏诊、误诊。

研究显示,肝病常伴随多种蛋白异常糖基化,基于不同的生理病理状态下,产生不同糖链结构,具有肿瘤特异性。AFP糖蛋白根据和小扁豆凝集素(LCA)的亲合力可分成3种:AFP-L1、AFP-L2和AFP-L3,其中AFP-L3和LCA之间有结合活性,多由肿瘤细胞产生^[11]。本研究中,原发性肝癌患者AFP-L3水平显著高于良性肝病和对照组,AFP-L3诊断原发性肝癌的灵敏度为76%,特异度93%。

DKK1属于分泌型蛋白Dickkopf-1家族,可通过和相应受体结合,调控细胞中信号传导,决定细胞分化、增殖以及生存、凋亡、迁移等多种特性,在肿瘤发生中占据着重要地位。DKK1是一种重要的分泌型蛋白,其含有1个信号肽序列,2段富含半胱氨酸的保守结构域,羧基端可和低密度脂蛋白受体蛋白6相互作用,对Wnt信号通路产生抑制^[12]。至今,关于DKK1的生物学功能,尚不完全了解,不同肿瘤中,其表达水平存在差异。其中,胃肠道肿瘤、乳腺癌以及神经胶质瘤等肿瘤表达中较低或者缺失,而黑色素瘤、肺癌和肝癌等疾病中表达较高,关于这种差异在肿瘤中有何意义尚不明确,需进一步研

究^[13]。本次研究,原发性肝癌患者DKK1水平高于良性肝病及健康体检者。AFP+AFP-L3+DKK1联合检测的灵敏度为90%,特异度为88%,准确性88.6%。单项肿瘤标志物检测,有一定作用,但在原发性肝癌早期诊断及鉴别诊断中效果欠佳,且难以满足对疗效和预后的评估要求。因此,在临床诊断中联合多种肿瘤标志物进行检测,可提高检测准确性。薄维波等^[14]研究发现,AFP、AFP-L3和DKK1联合检测显著优于其中单一指标的检测,与本研究结果一致。术后1个月,原发性肝癌患者的血清AFP、AFP-L3和DKK1水平显著低于术前($P < 0.05$),说明原发性肝癌患者通过腹腔镜肝切除术治疗,可缓解病情,改善预后。

综上所述,AFP、AFP-L3和DKK1在肝癌患者血清中可能显著升高,该3项指标联合检测诊断原发性肝癌,具有灵敏度和准确性均高的特点,比单一检测具有显著优势。

参考文献

- [1] 冯茜. Logistic回归和ROC曲线综合评价四种指标对原发性肝癌的诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2016, 23(6): 641-644.
- [2] 秦继宝, 薄维波. 血清AFP、TK1、DKK1联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(7): 545-547.
- [3] 李祚品, 张平安. 血清AFP、TK1、DKK1联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(1): 94-95.
- [4] 谢荣章, 陈树华. 联合血清AFP、TK1及DKK1水平检测对原发性肝癌诊断价值研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(8): 939-941, 946.
- [5] 李军. 血清AFP、TK1、DKK1联合检测在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(9): 59-64.
- [6] 韩悦, 魏殿军. miR-202、AFP及DKK1在原发性肝癌患者血清中的表达及其意义[J]. 天津医科大学学报, 2018, 24(6): 55-58.
- [7] 谭顺顺, 国娇, 何雨, 等. 血清Dickkopf1蛋白水平对原发性肝癌的诊断价值[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(13): 2422-2425.
- [8] 刘敏姬, 陈维顺, 肖鹏程, 等. AFP与DKK1联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 中国现代医药杂志, 2017, 19(10): 1-3.
- [9] 彭蕾. Dickkopf-1(DKK1)在原发性肝癌中的诊断价值[D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
- [10] 宗迎迎, 徐浩, 许伟, 等. Logistic回归和ROC曲线分析血清DKK1、GP73和AFP在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 检验医学, 2015, 30(6): 559-563.
- [11] 奚黎婷, 张慧娴, 吴爱荣, 等. 血清甲胎蛋白、Dickkopf相关蛋白1、细胞骨架蛋白4联合检测对肝细胞癌的诊断价值[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(6): 1276-1279.
- [12] 童华波, 庭永君, 段娟, 等. 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[J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(24): 3670-3674.
- [13] 边立忠, 高松. DKK1基因干扰对原发性肝细胞癌细胞增殖的影响及其机制探讨[J]. 山东医药, 2014, 54(28): 31-33.
- [14] 薄维波, 秦继宝. AFP、AFP-L3、DKK1联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(20): 2765-2768.

(收稿日期: 2019-10-04)

学术编辑: 杜小波)