

## • 临床检验研究论著 •

# AFP、AFP-L3、DKK1 联合检测对原发性肝癌的诊断价值

薄维波, 秦继宝<sup>△</sup>

(连云港市东方医院检验科, 江苏连云港 222042)

**摘要:**目的 分析 3 种肿瘤标志物甲胎蛋白(AFP)、甲胎蛋白异质体(AFP-L3)、分泌型蛋白 Dickkopf-1(DKK1)单独或联合检测原发性肝癌(PHC)的临床意义。方法 采用电化学发光法检测 PHC 组、良性肝病组和健康对照组血清 AFP 水平;采用亲和吸附层析法检测 AFP-L3 水平,计算 AFP-L3 在 AFP 中比例;采用 ELISA 试剂盒检测血清标本中 DKK1 水平。结果 单独检测 PHC 患者的 3 种肿瘤标志物,AFP、AFP-L3、DKK1 敏感度分别为 60.9%、76.8%、69.6%,特异度分别为 88.7%、91.5%、95.8%。3 项指标联合检测的灵敏度是 91.3%,特异度是 87.3%,与单项指标检测相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 AFP、AFP-L3、DKK1 的联合检测能提高 PHC 血清学检测的灵敏度和特异度,在 PHC 诊断方面比目前大多数传统的组合方法更准确。

**关键词:**原发性肝癌; 甲胎蛋白; 甲胎蛋白异质体; DKK1

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.20.019

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)20-2765-03

## Diagnosis value of combined detection of AFP, AFP-L3, DKK1 in primary hepatic carcinoma

Bo Weibo, Qin Jibao<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, Lianyungang Municipal East Hospital, Lianyungang, Jiangsu 222042, China)

**Abstract: Objective** To analyze the clinical significance of the single detection or the combination detection of 3 kinds of tumor marker alpha-fetoprotein(AFP),alpha-fetoprotein-L3(AFP-L3) and DKK1 for the diagnosis of primary hepatic carcinoma(PHC).

**Methods** AFP, AFP-L3 and DKK1 in the PHC group, benign hepatic diseases group and control group were detected by adopting the ECLIA, affinity adsorption chromatography and ELISA methods respectively. The ratio of AFP-L3 in AFP was calculated. **Results** In the single detection, the sensitivity of AFP, AFP-L3 and DKK1 was 60.9%, 76.8% and 69.6% respectively and the specificity was 88.7%, 91.5% and 95.8% respectively. In the combination detection, the sensitivity and specificity were 91.3% and 87.3% respectively, the differences between the single detection and the combination detection had statistical significance ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The combined examination of serum AFP, AFP-L3 and DKK1 can elevate the sensitivity and specificity, which is much better and more accurate for diagnosing PHC than most of traditional combination detection at present.

**Key words:** primary hepatic carcinoma; AFP; AFP-L3; DKK1

原发性肝癌(PHC)是一种临幊上常见的消化道恶性肿瘤,其恶性程度高、进展快、预后差、病死率高,且发病率近年来呈上升趋势<sup>[1]</sup>。早期患者大多无症状,一经确诊,多数均为中晚期。因此早期发现、及时治疗是提高生存率的关键。甲胎蛋白(AFP)是一种临幊上常用的 PHC 筛查和诊断的指标,但临幊上仍有 20%~40% 的 PHC 患者 AFP 呈阴性或低浓度,严重影响了其临幊诊断率<sup>[2]</sup>。单指标检测因受其灵敏度和特异度的限制,容易造成漏诊和误诊。多种标志物的联合检测,可克服单指标灵敏度低和漏检率高的缺点,有望提高 PHC 的诊断率<sup>[3]</sup>。本文通过联合检测 69 例原发性肝癌患者血清中 AFP、甲胎蛋白异质体(AFP-L3)、分泌型蛋白 Dickkopf-1(DKK1)水平,探讨它们在原发性肝癌早期诊断中的价值,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2013 年 1 月至 2014 年 1 月间本院门诊、住院及健康体检者共 140 例,其中男性 83 例,女性 57 例,年龄 28~87 岁,平均 57.5 岁。PHC 组 69 例,良性肝病组 38

例(肝硬化 13 例,肝炎 11 例,脂肪肝 8 例,肝血管瘤 6 例),健康对照组 33 例。

**1.2 仪器与试剂** AFP 采用贝克曼 Dxl800 Access 化学发光免疫分析系统,试剂盒由罗氏诊断产品(上海)有限公司提供; AFP-L3 检测试剂盒由上海抚养实业有限公司提供; DKK1 检测试剂盒由上海抚养实业有限公司提供。以上均严格按照操作说明书进行操作。

**1.3 方法** 采用亲和离心管法,以  $\text{AFP-L3} \geq 10\%$  作为阳性判断标准,抽取所有入选研究对象空腹 12 h 静脉血 4 mL,4 000 r/min 离心 10 min,立即分离出血清,置于 -25 ℃ 冰箱中保存待检。正常参考值:  $\text{AFP} < 20 \mu\text{g/L}$ ,  $\text{AFP-L3} < 10\%$ ,  $\text{DKK1} < 2.0 \mu\text{g/L}$ , 大于正常参考值上限即判定为阳性。诊断标准符合 2000 年中华医学会传染病学与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》及《新编常见恶性肿瘤诊治规范》。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验,计数资料采用  $\chi^2$

检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 各组血清 AFP、AFP-L3、DKK1 的水平比较** 结果见表 1。

**2.2 各组 AFP、AFP-L3、DKK1 阳性结果比较** 联合检测 AFP、AFP-L3、DKK1 时, 其中一项为阳性时, 结果即为阳性, 结果见表 2。

**2.3 血清 AFP、AFP-L3、DKK1 三项指标单独及联合检测的**

结果 见表 3。

表 1 各组血清 AFP、AFP-L3、DKK1 水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	AFP(μg/L)	AFP-L3(%)	DKK1(μg/L)
PHC 组	69	322.36 ± 97.65 <sup>a</sup>	45.31 ± 9.89 <sup>a</sup>	3.88 ± 1.45 <sup>a</sup>
良性肝病组	39	61.25 ± 9.22 <sup>b</sup>	7.23 ± 3.24	1.68 ± 0.42
健康对照组	33	6.48 ± 1.75	4.85 ± 2.21	1.34 ± 0.12

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与良性肝病组、健康对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与健康对照组比较。

表 2 各组血清 AFP、AFP-L3、DKK1 阳性结果比较[% (n/n)]

组别	n	AFP 阳性	AFP-L3 阳性	DKK1 阳性	三项联合检测阳性
PHC 组	69	60.9(42/69) <sup>a</sup>	76.8(53/69) <sup>a</sup>	69.6(48/69) <sup>a</sup>	91.3(63/69) <sup>a</sup>
良性肝病组	38	21.1(8/38)	15.8(6/38)	7.9(3/38)	23.7(9/38)
健康对照组	33	0(0/33)	0(0/33)	0(0/33)	0(0/33)

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与健康对照组和良性肝病组比较。

表 3 血清 AFP、AFP-L3、DKK1 三项指标单独及联合检测的结果[% (n/n)]

检测项目	灵敏度	特异度	阳性预期值	阴性预期值	准确性
AFP	60.9(42/69)	88.7(63/71)	84.0(42/50)	78.8(63/80)	75.0(105/140)
AFP-L3	76.8(53/69)	91.5(65/71)	89.8(53/59)	80.2(65/81)	84.3(118/140)
DKK1	69.6(48/69)	95.8(68/71)	94.1(48/51)	76.4(68/89)	82.9(116/140)
AFP+AFP-L3+DKK1	91.3(63/69) <sup>a</sup>	87.3(62/71) <sup>a</sup>	87.5(63/72) <sup>a</sup>	91.2(62/68) <sup>a</sup>	89.3(125/140) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与各单项检测比较。

## 3 讨 论

目前, PHC 的早期诊断依靠 B 超、CT 影像学检查, 定位虽然准确, 但定性困难。PHC 常用的血清学标志物主要是 AFP, 但早期诊断率不高。血清标志物目前被认为是一种无创伤性的辅助诊断手段, 肝癌的发病机制是一个复杂的多因素、多步骤的过程, 所以目前仍无一种特异性检测指标可在临幊上准确地预测或诊断肝癌及转移、复发<sup>[4]</sup>。因此, 多指标联合检测诊断可以克服单指标灵敏度低和漏检率高的缺点, 提高诊断的准确率。

AFP 是临幊上最常用的肝癌标志物。AFP 是人体在胚胎时期血液中含有的一种糖蛋白, 在胎儿出生后浓度下降, 几个月后或一年内降至正常水平, 正常成人口细胞由于失去合成 AFP 的能力, 因此血清中水平极微, 但是有报道显示, 15%~20% 的 PHC 晚期患者 AFP 水平仍保持正常, 而 50%~60% 的 PHC 患者 AFP 阳性, 且 AFP 在一些良性疾病如慢性肝炎、肝硬化患者和妊娠女性中也有不同程度的升高<sup>[5]</sup>。本文 PHC 组患者 AFP 单项检测的阳性率为 60.9%, 说明仅凭 AFP 诊断 PHC 易造成漏诊和误诊。因此, AFP 单项指标诊断 PHC 阳性率不太理想。

研究发现肝病伴随多种蛋白异常糖基化<sup>[6]</sup>, 在不同生理病理状态下产生不同的糖链结构, 且具有肿瘤特异性。其中 AFP 糖蛋白依据与小扁豆凝集素(LCA)的亲和力分为 3 种类型: 甲胎蛋白异质体 1(AFP-L1)不与 LCA 结合, 主要出现在良性肝脏疾病中。甲胎蛋白异质体 2(AFP-L2)与 LCA 有一定的亲和力, 多由卵黄囊瘤产生, 孕妇血清中也能检测到。AFP-L3 与 LCA 有结合活性, 主要由肿瘤细胞产生<sup>[7]</sup>。本研究发现在 PHC 患者的血清中 AFP-L3 水平明显增加, 显著高于良性肝病组和健康对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。AFP-L3 诊断 PHC 的灵敏度为 76.8%, 特异度为 91.5%, 优

于 AFP 诊断 PHC 的灵敏度(60.9%)和特异度(88.7%), 说明 AFP-L3 水平可以作为一个较敏感和特异的判断早期 PHC 患者的指标。

DKK1 是分泌型蛋白 Dickkopf-1 家族中的一员, 它通过与其相应的受体结合来调控细胞内的信号传导, 进而来决定细胞的分化、增殖、生存、凋亡和迁移等特性, 在肿瘤发生方面发挥重要作用。DKK1 是重要的分泌型蛋白, 含有 1 个信号肽序列, 2 段富含半胱氨酸的保守结构域, 其羧基端能通过与低密度脂蛋白受体蛋白 6 的互相作用而抑制 Wnt 信号通路<sup>[8~9]</sup>。DKK1 的生物学功能尚未完全明确, 在不同的肿瘤中表达水平不一, 在胃肠道肿瘤、神经胶质瘤和乳腺癌中的表达降低或缺失, 而在肝癌、肺癌、黑色素瘤等肿瘤中的表达明显升高, 这种差异性的表达在肿瘤中的意义尚不完全清楚, 有待进一步探讨<sup>[10~11]</sup>。本研究结果显示, 与健康对照组、良性肝病组比较, PHC 组 DKK1 水平及阳性检出率显著升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 而良性肝病组和健康对照组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。DKK1 对 PHC 诊断的灵敏度为 69.6%, 特异度为 95.8%, 这与 Shen 等<sup>[12]</sup>的研究相一致。

由于单项肿瘤标志物检测的灵敏度及特异度均难满足临幊对 PHC 早期诊断、鉴别诊断、疗效及预后评估的要求, 故在实际工作中多采用多项联合检测的方法以弥补单项检测的不足。AFP、AFP-L3、DKK1 3 项联合检测, 可以使 PHC 诊断灵敏度提高到 91.3%, 特异度提高到 87.3%, 显著高于 AFP、AFP-L3、DKK1 单独检测, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。因此, 可以认为 AFP、AFP-L3、DKK1 3 者联合检测在 PHC 诊断方面比目前大多数传统的组合方法更优胜、更准确, 值得在临幊上推广应用。

## 参考文献

- [1] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 7 版. 北京: 人民(下转第 2768 页)

TSH 高于或低于参考值范围,异常率为 33.7%,其中 9 例高于参考值上限,20 例低于参考值下限。按疾病种类分类,有 11 例甲亢患者,6 例亚甲亢患者,4 例甲状腺功能减退患者,3 例亚临床甲状腺功能减退患者。而 61 例对照组中 TSH 异常人数为 9 例,异常率为 14.8%,其中 5 例高于参考值上限,4 例低于参考值下限。经  $\chi^2$  检验,糖尿病组和对照组的 TSH 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。就性别而言,糖尿病组中 29 例男性患者,有 5 例 TSH 异常,异常率为 17.2%;57 例女性糖尿病患者中有 24 例 TSH 异常,异常率为 42.1%。经  $\chi^2$  检验,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

### 3 讨 论

2 型糖尿病是一种由于胰岛  $\beta$  细胞胰岛素分泌缺陷或周围组织对胰岛素的敏感度降低所引起的血糖水平升高的一组代谢综合征,同时可伴有脂肪、蛋白质代谢紊乱。近年来,随着人们生活水平的提高、生活方式的改变,糖尿病的患病率在世界范围内呈上升趋势。就致死、致残率而言,糖尿病成为继肿瘤和心脑血管疾病后排在第 3 位,严重威胁人类的生命健康,并给患者家属带来沉重的经济负担。糖尿病起病隐匿,早期症状不明显,不易被发现。据中华医学会糖尿病学分会组织的流行病学调查,中国 20 岁以上的成年人人群中,糖尿病的患病率约 10%,其中以 2 型糖尿病居多,占总数的 90% 以上<sup>[1]</sup>。甲状腺是人体最大的内分泌腺体,产生甲状腺素和三碘甲腺原氨酸,甲状腺激素在糖代谢、蛋白质代谢、脂肪代谢、水和盐代谢方面具有重要作用,此外还能促进生长和发育。约 99.98% 的 T4 和 99.7% 的 T3 是以蛋白结合方式存在,而真正具有生物活性的是游离甲状腺激素(FT4)。

据资料显示<sup>[2-5]</sup>,糖尿病患者可有除胰岛素外的其他激素的分泌异常,甲状腺激素就是其中之一。本文 86 例 2 型糖尿病患者中,TSH 异常者为 29 例,异常率为 33.7%,与 Palma 等<sup>[6]</sup>及唐建东等<sup>[7]</sup>报道的数据较接近。就性别而言,57 例 2 型糖尿病女性患者与 29 例男性患者的 TSH 异常率经  $\chi^2$  检验,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),可认为 2 型糖尿病患者中女性的 TSH 异常率比男性高,这与张妮娅等<sup>[8]</sup>报道的较一致。甲状腺激素通过多种机制调节葡萄糖代谢,甲状腺功能亢进时可能增加肝糖原输出、糖异生、胃肠道对葡萄糖的吸收及胰岛素抵抗、胰岛  $\beta$  细胞功能缺陷等。同时,甲状腺功能亢进

时,机体可伴有生长激素、胰高血糖素及儿茶酚胺水平的增高,同样也会引起血糖升高。甲状腺功能减退同样会对糖代谢产生影响,机制包括有甲状腺功能减退患者的胃肠道对葡萄糖的吸收降低,肝脏生成的葡萄糖减少及外周组织对葡萄糖的利用减少,但机体分泌的胰岛素有所增加,促进了胰岛素抵抗的形成。

总之,甲状腺功能异常与糖尿病之间存在着密切的关系。2 型糖尿病患者并发甲状腺激素水平的异常率较高,当甲状腺激素水平发生异常后,又可对机体内的糖、蛋白质、水和电解质等的代谢产生影响,从而加速糖尿病及其并发症的发生、发展。因此,临幊上应重视对糖尿病患者进行甲状腺功能的筛查,以期早发现、早治疗,同时对糖尿病的病情控制和并发症的防治也具有重要意义。

### 参考文献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 [M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2011: 3-5.
- [2] Perros P, McCrimmon RJ, Shaw G. Frequency of thyroid dysfunction in diabetic patients: value of annual screening [J]. Diabetic Medicine, 1995, 12(7): 622-627.
- [3] Papazafiroglou A. Prevalence of thyroid dysfunction among greek type 2 diabetic patients attending an outpatient clinic [J]. J Clin Med Res, 2010, 2(2): 75-78.
- [4] Akbar DH, Ahmed MM, Al-Mughales J. Thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity in Saudi type 2 diabetics [J]. Acta Diabetologica, 2006, 43(1): 14-18.
- [5] 董婧, 向光大. 糖尿病与甲状腺疾病 [J]. 临床内科杂志, 2012, 29(9): 645-647.
- [6] Palma CC, Pavese M, Nogueira VG. Prevalence of thyroid dysfunction in patients with diabetes mellitus [J]. Diabetol Metab Synd, 2013, 5: 58-61.
- [7] 唐建东, 雷龙涛, 康志强. 2 型糖尿病患者甲状腺功能异常的临床特征分析 [J]. 中国现代医药杂志, 2012, 14(2): 56-58.
- [8] 张妮娅, 刘超, 陆卫平, 等. 糖尿病住院患者 434 例甲状腺疾病患病率分析 [J]. 中国实用内科杂志, 2008, 28(12): 1034-1036.

(收稿日期: 2014-05-18)

(上接第 2766 页)

- 卫生出版社, 2008: 457-462.
- [2] Debrugne EJ. Diagnosing and monitoring hepatocellular carcinoma with alpha-fetoprotein: new aspects and application [J]. Clin Acta, 2008, 395(2): 19-26.
  - [3] Paczesny S, Krijanovski OI, Braun TM, et al. A biomarker panel for acute graft-versus-host disease [J]. Blood, 2009, 113(2): 273-278.
  - [4] 田福洲. 肝癌肿瘤标记物 [J]. 世界华人消化杂志, 2010, 8(4): 440-441.
  - [5] Kanke F, Kumada T, Toyoda H, et al. Reference change values for lens culinaris agglutinin-reactive  $\alpha$ -fetoprotein and des- $\gamma$ -carboxy prothrombin in patients with chronic hepatitis C [J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(5): 957-960.
  - [6] 赵云鹏, 高春芳. 糖组学研究在肝病中的应用进展 [J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(5): 538-541.
  - [7] Malaguarnera G, Giordano M, Paladina I, et al. Serum markers of hepatocellular carcinoma [J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(10): 2744-

2755.

- [8] Licchesi JD, Van Neste L, Tiwari VK, et al. Transcriptional regulation of Wnt inhibitory factor-1 by Miz-1/c-Myc [J]. Oncogene, 2010, 29(44): 5923-5934.
- [9] von-Marschall Z, Fisher LW. Secreted frizzled-related protein-2 (sFRP2) augments canonical Wnt3a-induced signaling [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 400(3): 299-304.
- [10] Hirata H, Hinoda Y, Nakajima K, et al. Wnt antagonist DKK1 acts as a tumor suppressor gene that induces apoptosis and inhibits proliferation in human renal cell carcinoma [J]. Int J Cancer, 2011, 128(8): 1793-1803.
- [11] 于彬, 余艳军, 游海燕, 等. 肝癌 DKK1 基因的表达及突变分析 [J]. 肿瘤, 2006, 26(7): 662-665.
- [12] Shen Q, Fan J, Yang XR, et al. Serum DKK1 as a protein biomarker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a large-scale, multicentre study [J]. Lancet Oncol, 2012, 13(8): 817-826.

(收稿日期: 2014-04-18)