

肝细胞肝癌患者血清糖蛋白 Dickkopf-1 检测的临床价值研究*

褚飞虎¹, 曹亚丽², 邵建国², 陈琳^{2△} (1. 江苏省南通市第六人民医院普外科 226011; 2. 江苏省南通市第三人民医院检验科 226006)

【摘要】 目的 分析肝细胞肝癌(HCC)患者血清糖蛋白 Dickkopf-1(DKK1)检测的临床应用价值。**方法** 采用化学发光法及酶联免疫吸附试验定量检测 HCC 患者血清 DKK1 及甲胎蛋白(AFP)水平,以良性肝病及健康体检者作为对照。受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 DKK1 与 AFP 对 HCC 的诊断价值;等级相关分析 2 项指标间的相关性;并分析血清 DKK1 水平与 HCC 患者临床病理参数间的关系。**结果** 血清 DKK1 诊断 HCC 的 ROC 曲线下面积为 0.901,95%CI 为 0.842~0.943,Youden 指数为 0.717 7,其诊断灵敏度为 79.61%,特异性为 92.16%。HCC 患者组血清 DKK1 水平(12.58 ± 3.61) $\mu\text{g/L}$,显著高于良性肝病组的(7.62 ± 2.43) $\mu\text{g/L}$ 及健康对照组的(4.05 ± 1.27) $\mu\text{g/L}$,差异有统计学意义($P < 0.05$);HCC 患者血清 DKK1 与血清 AFP 具有一定相关性($r = 0.603 3, P < 0.05$)。血清 DKK1 水平与肿瘤累及大小($P = 0.028 7$)及 TNM 分期($P = 0.008 6$)密切相关,与性别、年龄、HBV 感染状态、是否伴有肝硬化及肿瘤分化程度等病理参数无关($P > 0.05$)。**结论** 血清 DKK1 可作为 HCC 诊断标志物,并且在 HCC 患者病情分析及恶性程度判断等方面具有一定临床价值。

【关键词】 肝细胞肝癌; 糖蛋白 Dickkopf-1; 甲胎蛋白; 临床价值

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.23.038 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)23-3544-03

肝细胞肝癌(HCC)是临床常见的消化系恶性肿瘤之一,其发病率占我国恶性肿瘤的第 3 位,病死率位居恶性肿瘤的第 2 位。目前临床诊断 HCC 多采用影像学结合病理学和血清肿瘤标志物检测,但由于 HCC 起病隐匿、早期症状多不明显,易误诊、漏诊;且发现时大多已是晚期并伴有转移,临床又缺乏有效的疗效评估及预后判断指标,患者预后极差^[1-2]。因而提高 HCC 早期诊断率对改善患者预后及降低病死率尤为重要。糖蛋白 Dickkopf-1(DKK1)是近年来发现的在 Wnt 信号通路中起抑制作用的分子;由于 Wnt 信号通路可促进肿瘤细胞增殖、侵袭、转移及血管形成,在多种肿瘤的发生和发展中起重要作用,因此 DKK1 在肿瘤中表达情况及其扮演的角色也引起了各国学者的极大关注^[3-4]。本研究通过检测 HCC 患者血清 DKK1 水平,分析其与血清甲胎蛋白(AFP)及临床病理参数之间的相关性,探讨 DKK1 作为 HCC 血清标志物的临床应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2009 年 1 月至 2011 年 12 月住院、门诊及健康体检者共 154 例,HCC 组为 72 例,其中男 65 例,女 7 例,平均年龄(51.2 ± 8.3)岁。经临床、影像学及病理确诊,诊断和分期符合我国 2001 年制定的《原发性肝癌的临床诊断与分期标准》。良性肝病组 42 例,包括肝硬化患者 18 例,慢性乙型肝炎患者 16 例,脂肪肝 5 例,肝血管瘤 3 例;其中男 31 例,女 11 例;平均年龄(48.7 ± 7.3)岁。健康对照组 40 例,其中男 27 例,女 13 例;平均年龄(45.6 ± 5.9)岁,均已排除良、恶性肝脏疾病。

1.2 方法 采集受试者清晨空腹静脉血 4 mL,静置 4 h,

3 000 r/min 离心分离血清,-80 ℃ 保存待检。采用酶联免疫吸附试验定量检测血清 DKK1,试剂盒购自 R&D 公司,操作严格按说明书进行,每次试验制作标准曲线;采用美国雅培 i2000 化学发光免疫分析仪及其配套试剂检测血清 AFP 水平,严格室内质控,待检标本与质控品同时上机检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验与单因素方差分析,率的比较采用 χ^2 检验;受试者工作特征曲线(ROC)评价血清 DKK1 与 AFP 对 HCC 的诊断价值;Spearman 等级相关分析二者相关性;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组之间血清 DKK1 水平比较 见图 1。HCC 患者组血清 DKK1 水平为(12.58 ± 3.61) $\mu\text{g/L}$,明显高于良性肝病组的(7.62 ± 2.43) $\mu\text{g/L}$ 及健康对照组的(4.05 ± 1.27) $\mu\text{g/L}$,差异有统计学意义($P < 0.05$);良性肝病组血清 DKK1 水平也明显高于健康对照组,差异也有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 ROC 曲线分析血清 DKK1 与 AFP 对 HCC 的诊断价值 见图 2。血清 DKK1 诊断 HCC 的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.901,95%置信区间(CI)为 0.842~0.943;Youden 指数为 0.717 7;其诊断灵敏度为 79.61%,95%CI 为 70.5%~86.9%;特异性为 92.16%,95%CI 为 81.1%~97.8%。血清 AFP 用于诊断 HCC 的 AUC 为 0.870,95%CI 为 0.807~0.919;Youden 指数为 0.718 1;其诊断灵敏度为 75.73%,95%CI 为 66.3%~83.6%;特异性为 96.08%,95%CI 为 86.5%~99.5%。二者各自灵敏度与特异性之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$),由此提示 DKK1 与 AFP 一样,可作为 HCC 血

* 基金项目:江苏省卫计委科技资助项目(H201453);江苏省南通市科技局资助项目(HS2014061、HS2011058);江苏省南通市卫生和计划生育委员会资助项目(WQ2014065)。

△ 通讯作者,E-mail:xiaobei227@sina.com。

清学诊断的标志物。

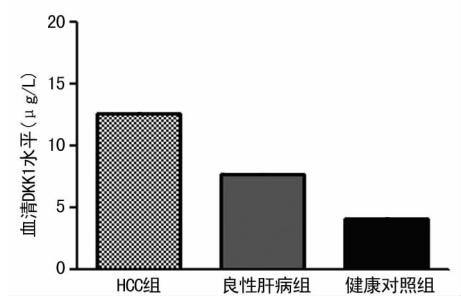


图 1 3 组血清 DKK1 水平比较

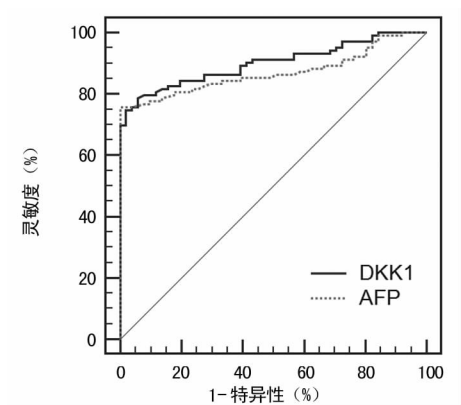


图 2 血清 DKK1 与 AFP 诊断 HCC 的 ROC 曲线

2.3 血清 DKK1 与 AFP 相关性分析 Spearman 等级相关性分析 72 例 HCC 患者血清 DKK1 及 AFP 2 项指标有一定相关性 ($r=0.603\ 3, P<0.05$), 由此提示二者具有一定相关性, 说明在 HCC 患者中, 血清 DKK1 与 AFP 的变化趋势基本相似; 但在 15 例血清 AFP 阴性的 HCC 患者中, 有 10 例血清 DKK1 明显增高, 提示血清 DKK1 检测可作为 AFP 的补充, 如二者联合检测可提高 HCC 的诊断价值。

2.4 血清 DKK1 水平与 HCC 患者临床病理参数之间的关系 见表 1。根据血清 DKK1 检测结果的中位数进行分组, 将 72 例 HCC 患者分为高表达组 ($n=36$) 及低表达组 ($n=36$)。血清 DKK1 水平与肿瘤累及大小 ($P=0.028\ 7$) 及 TNM 分期 ($P=0.008\ 6$) 密切相关, 而与其他参数, 如性别、年龄、HBV 感染状态、是否伴有肝硬化及肿瘤分化程度等无关 ($P>0.05$), 提示血清 DKK1 水平与 HCC 患者病情及恶性进展相关。

表 1 HCC 患者临床病理参数与血清 DKK1 水平之间的关系 (n)

临床参数		<i>n</i>	血清 DKK1 水平		<i>P</i>
			高表达组 (<i>n</i> =36)	低表达组 (<i>n</i> =36)	
性别	男	65	34	31	0.429 0
	女	7	2	5	
年龄(岁)	≥50	38	21	17	0.479 1
	<50	34	15	19	
HBV 感染	阳性	59	32	27	0.219 6
	阴性	13	4	9	
伴有肝硬化	有	54	30	24	0.172 7

续表 1 HCC 患者临床病理参数与血清 DKK1 水平之间的关系 (n)

临床参数	<i>n</i>	血清 DKK1 水平		<i>P</i>
		高表达组 (<i>n</i> =36)	低表达组 (<i>n</i> =36)	
	无	18	12	
肿瘤累及大小	≥4 cm	27	17	0.028 7
	<4 cm	9	19	
分化程度	高+中分化	18	25	0.148 8
	低分化	18	11	
TNM 分期	I + II	10	22	0.008 6
	III + IV	26	14	

3 讨 论

HCC 恶性程度高, 多数患者临床确诊时已失去有效治疗的机会, 其 5 年生存率一般不超过 15%。目前, 临床上 HCC 主要诊断手段仍是血清肿瘤标志物结合影像学的方法, 虽然血清 AFP 检测已得到广泛应用, 但其有效诊断价值仍不甚令人满意^[5-6]。DKK1 是近年来被发现的与肿瘤发生、发展密切相关的标志物之一, 其在肝癌的作用也受到各国学者的广泛关注。DKK1 属于分泌型糖蛋白 Dickkopf 家族成员之一, 其基因位于人类染色体 10q11.2, 编码 1 段长约为 266 个氨基酸、相对分子质量为 28.7×10^3 的糖蛋白。DKK1 结构中含有 1 段信号肽序列及 2 段富含半胱氨酸的保守性结构域; 其羧基端可与低密度脂蛋白受体蛋白 6 作用, 进而抑制 Wnt 通路信号转导。另外, DKK1 通过与其相应受体结合来调节细胞内的生长信号, 参与细胞增殖、分化、凋亡及迁移等多种生物学进程; 并在肿瘤发生和发展过程中发挥重要作用^[7-9]。有研究表明, 血清 DKK1 水平在包括肝癌在内的多种肿瘤中升高, 提示其可作为一项新的肿瘤血清学诊断标志物, 然而仍需对其在肿瘤发生和发展中所扮演的角色及详细信号机制进行深入探讨^[10]。

本研究结果显示, HCC 患者组血清 DKK1 水平 ($12.58\pm3.61\mu\text{g/L}$), 明显高于良性肝病组的 ($7.62\pm2.43\mu\text{g/L}$) 及健康对照组的 ($4.05\pm1.27\mu\text{g/L}$), 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。血清 DKK1 诊断 HCC 的 AUC 为 0.901, 95%CI 为 0.842~0.943; Youden 指数为 0.717 7; 其诊断灵敏度为 79.61%; 特异性为 92.16%。血清 AFP 诊断 HCC 的 AUC 为 0.870, 95%CI 为 0.807~0.919; Youden 指数为 0.718 1; 其诊断灵敏度为 75.73%; 特异性为 96.08%。二者各自灵敏度与特异性之间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 提示 DKK1 与 AFP 一样, 可作为 HCC 血清学诊断的标志物。进一步等级相关分析显示, 血清 DKK1 及 AFP 2 项指标间具有一定的相关性 ($r=0.603\ 3, P<0.05$), 提示在 HCC 患者中, 血清 DKK1 与 AFP 的变化趋势基本相似。在 15 例血清 AFP 阴性的 HCC 患者中, 有 10 例血清 DKK1 明显增高, 提示血清 DKK1 检测可作为 AFP 的补充, 如二者联合检测可提高 HCC 的诊断价值。

本研究还探讨了血清 DKK1 水平与 HCC 患者临床病理参数之间的关系, 血清 DKK1 水平与肿瘤累及大小 ($P=0.028\ 7$) 及 TNM 分期 ($P=0.008\ 6$) 密切相关, 而与其他参数, 如性别、年龄、HBV 感染状态、是否伴有肝硬化及肿瘤分化

程度等无关($P>0.05$),提示血清 DKK1 水平对于 HCC 患者病情观察、恶性程度判断乃至预后评估等方面都具有潜在的重要临床应用价值。

综上所述,作为新的 HCC 诊断标志物,血清 DKK1 在 HCC 诊断、病情分析及恶性程度判断等方面已显示出一定的临床价值,如在实际工作中采用多项指标联合检测可以弥补单项检测的不足,提高诊断效率。另一方面,DKK1 有望成为新的肿瘤治疗靶点,在 HCC 治疗效果评估及预后判断中发挥重要作用,也可为 HCC 的诊疗与防治开辟新的思路。但是,仍需要更深入的研究及临床试验来确立其在 HCC 中所能扮演的角色,需要长期大规模随访研究对其在 HCC 进展及预后方面的价值进行深入评估。

参考文献

- [1] Bosetti C, Turati F, La Vecchia C. Hepatocellular carcinoma epidemiology[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2014, 28(5):753-770.
- [2] Schutte K, Schulz C, Link A, et al. Current biomarkers for hepatocellular carcinoma; Surveillance, diagnosis and prediction of prognosis[J]. World J Hepatol, 2015, 7(2):139-149.
- [3] Zhang J, Zhao Y, Yang Q. Sensitivity and specificity of Dickkopf-1 protein in serum for diagnosing hepatocellular carcinoma; a meta-analysis[J]. Int J Biol Markers, 2014, 29(4):e403-410.
- [4] 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.

- [5] Rich N, Singal AG. Hepatocellular carcinoma tumour markers; current role and expectations[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2014, 28(5):843-853.
- [6] Tabrizian P, Roayaie S, Schwartz ME. Current management of hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(30):10223-10237.
- [7] Fatima S, Lee NP, Luk JM. Dickkopf-1 and Wnt/ β -catenin signalling in liver cancer[J]. World J Clin Oncol, 2011, 2(8):311-325.
- [8] Yu B, Yang X, Xu Y, et al. Elevated expression of DKK1 is associated with cytoplasmic/nuclear β -catenin accumulation and poor prognosis in hepatocellular carcinomas[J]. J Hepatol, 2009, 50(5):948-957.
- [9] Chen L, Li M, Li Q, et al. DKK1 promotes hepatocellular carcinoma cell migration and invasion through β -catenin/MMP7 signaling pathway[J]. Mol Cancer, 2013, 12(10):157-167.
- [10] Liu Y, Tang W, Xie L, et al. Prognostic significance of dickkopf-1 overexpression in solid tumors; a meta-analysis[J]. Tumour Biol, 2014, 35(4):3145-3154.

(收稿日期:2015-03-21 修回日期:2015-06-26)

• 临床探讨 •

邯郸地区冷沉淀凝血因子临床应用趋势分析*

孙国栋¹, 陈 慧¹, 李俊霞¹, 杜桂萍², 王 洪^{1△} (1. 河北省邯郸市中心血站 056001; 2. 河北省邯郸市第四医院 056200)

【摘要】 目的 对邯郸地区冷沉淀凝血因子临床用量进行分析并预测,据此指导血液采集、制备计划。**方法** 对 2008 年 1 月至 2013 年 12 月每月向邯郸地区临床供应冷沉淀凝血因子单位数量建立数学模型。用 Epidata3.0 录入数据,导入 IBM SPSS Statistics 21,利用时间序列模型中专家建模器建立数学模型;用模型预测 2014 年 1~12 月临床用量,将预测值与实际用量比较,对模型进行验证。**结果** 专家建模器给出的最佳模型为 Winters 加法模型,说明残差均为白噪声序列,模型提取了原序列中所有数据信息,模型诊断均得以通过。将预测结果与实际值进行比较,实际值均落入预测值的 95% 可信区间内,且相对误差较小,所得模型为最优模型。**结论** 通过建立数学模型的方式,血液机构能够预测冷沉淀凝血因子的用血趋势,在满足临床需求的前提下,达到库存合理的目的。

【关键词】 冷沉淀凝血因子; 数学模型; 预测

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.23.039 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)23-3546-02

冷沉淀凝血因子(下简称冷沉淀)是功能性血液成分,富含纤维蛋白原、纤维结合蛋白、FⅧ因子、血管性血友病因子,应用价值很高。近年来,随着成分输血技术的不断深入,冷沉淀不再局限于血液病患者的治疗,而是越来越多地应用于各种手术、创伤引起的凝血机制障碍等出血性疾病,效果显著,其临床应用已经成为医学界研究的热点^[1]。用于制备冷沉淀之血液

的采集、制备过程及其储存等,国家标准有严格的规定,GB18469-2012《全血成分血质量要求》^[2]中规定制备冷沉淀的起始血液为新鲜冰冻血浆,而新鲜冰冻血浆为采集后储存于冷藏环境中的全血,最好在 6 h(保养液为 ACD)或 8 h(保养液为 CPD 或 CPDA-1)内,最长不超过 18 h 将血浆分离出并速冻呈固态的成分血。冷沉淀是采用特定的方法将保存期内的新鲜

* 基金项目:河北省卫生和计划生育委员会医学科学研究重点课题资助项目(ZD20140390)。

△ 通讯作者, E-mail:957620354@qq.com。