

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.26.035

血清 GP73 联合 Dickkopf-1、AFP 对肝细胞癌的诊断价值

姚 珏 路 亮 张立翱 郑可佳 金 水

(安徽医科大学附属巢湖医院消化内科 安徽 巢湖 238000)

摘要 目的:探讨血清高尔基体蛋白(GP73)联合 Dickkopf-1、甲胎蛋白(AFP)对肝细胞癌的诊断价值。**方法:**收集 2014 年 9 月至 2016 年 9 月我院收治的 117 例肝细胞癌患者(肝细胞癌组)、80 例乙型病毒性肝炎患者(肝炎组),以及随机选取的 80 例健康体检者(对照组)为研究对象,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定各组对象的血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平,并分析其与临床病理特征之间的关系,分析 GP73、Dickkopf-1、AFP 联合对肝细胞癌的诊断价值。**结果:**肝细胞癌组血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平高于肝炎组、对照组,且肝炎组血清 AFP 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Child Pugh 分级中 B~C 级肝细胞癌患者 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平高于 A 级,差异有统计学意义($P<0.05$),不同分化程度、肿瘤直径、肿瘤数目患者的 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。GP73+Dickkopf-1+AFP 对肝细胞癌诊断的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值、准确率均高于 GP73、Dickkopf-1、AFP 的诊断结果,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 在肝细胞癌中呈高表达水平,三者联合可明显提高对肝细胞癌的诊断价值,临床有重要的参考价值。

关键词: GP73; Dickkopf-1; 肝细胞癌; 诊断价值

中图分类号: R735.7 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2017)26-5153-04

Diagnostic Value of Serum GP73 Combined with Dickkopf-1 and AFP in Hepatocellular Carcinoma

YAO Fan, LU Liang, ZHANG Li-ao, ZHENG Ke-jia, JIN Shui

(Department of Gastroenterology, The Affiliated Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Chaohu, Anhui, 238000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the diagnostic value of serum GP73 combined with Dickkopf-1 and AFP in hepatocellular carcinoma. **Methods:** 117 cases of hepatocellular carcinoma in our hospital were collected as hepatocellular carcinoma group, 80 patients with hepatitis B virus as the hepatitis group, and randomly selected 80 healthy subjects as the control group from September 2014 to September 2016. The serums GP73, Dickkopf-1, AFP level of every group were detected by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the relationship between the GP73, Dickkopf-1, AFP between clinicopathological features were analyzed, the diagnostic value of GP73, Dickkopf-1 and AFP in hepatocellular carcinoma were analyzed. **Results:** The serums GP73, Dickkopf-1, AFP level of hepatocellular carcinoma group were higher than those of hepatitis group, control group, and the serum AFP level of hepatitis group was higher than that of control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The GP73, Dickkopf-1, AFP in patients with classification B~C were higher than those in classification A among the Child Pugh classification, the difference was statistically significant ($P<0.05$). No statistical significance on difference of GP73, Dickkopf-1, AFP between different differentiation, tumor size, number of tumors was found ($P>0.05$). The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, and accuracy of GP73+Dickkopf-1+AFP in the diagnosis of hepatocellular carcinoma were higher than those of GP73, Dickkopf-1, AFP respectively, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** Serums GP73, Dickkopf-1, AFP in patients with hepatocellular carcinoma have high expression levels, combined with the three indicators can obviously improve the diagnostic value of hepatocellular carcinoma, which has clinically important reference value.

Key words: Golgi protein 73; Dickkopf-1; Hepatocellular carcinoma; Diagnostic value

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)26-5153-04

前言

肝细胞癌约占原发性肝癌的 80%,具有恶性程度高、侵袭性强、进展迅速、预后差等特点^[1]。早期因为缺乏特异性的临床症状和体征,多数肝细胞癌患者被确诊时已处于中晚期,延误

了最佳的治疗时机^[2]。为提高治疗效果,改善预后,提高患者的生命质量,早发现、早诊断、早治疗是关键。甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是用于临床诊断肝细胞癌的常见血清学指标,但有报道表明^[3],AFP 在慢性活动性肝炎、急性病毒性肝炎等疾病中有不同程度的表达,而在肝细胞癌患者中,约有 30%的患者血清 AFP 呈阴性^[4],可见,AFP 诊断肝细胞癌缺乏特异性。寻找灵敏度高、特异性好的肿瘤指标物辅助 AFP 诊断肝细胞癌成为研究的热点。高尔基体蛋白(Golgi protein-73, GP73)是与肝

作者简介:姚珏(1985-),男,硕士,主治医师,从事消化内科方面的研究, E-mail: lulianwei66666@163.com

(收稿日期:2016-12-03 接受日期:2016-12-30)

细胞癌相关的糖蛋白,将其作为潜在的肿瘤标志物早期诊断肝细胞癌具有重要意义^[9]。Dickkopf-1 属于 Dickkopf-1 家族成员,主要位于胞浆中的分泌型糖蛋白,在肝细胞癌中呈高表达水平,用于肝细胞癌的诊断具有较高价值^[6]。本研究检测肝细胞癌患者血清中 GP-73、Dickkopf-1 和 AFP 水平,旨在探讨三种指标联合检测对肝细胞癌的诊断价值。现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2014 年 9 月至 2016 年 9 月我院收治的 117 例肝细胞癌患者为肝细胞癌组,纳入标准:① 符合中国抗癌协会肝癌专业委员会制定的《原发性肝癌的临床诊断与分期标准》中肝细胞癌的诊断标准^[7],并经术后病理学检查证实;② 术前未接受任何放、化疗治疗;③ 排除肝占位性病变;④ 不合并有急、慢性感染性疾病;⑤ 不合并有其它可能影响本研究结果的恶性肿瘤;⑥ 妊娠期、哺乳期的妇女;⑦ 心功能不全者;⑧ 肾功能障碍者。其中男 81 例,女 36 例;年龄 37~80 岁,平均(55.9±8.2)岁;高分化者 36 例,中、低度分化者 81 例;肿瘤直径≤5 cm 者 73 例,肿瘤直径>5 cm 者 44 例;Child Pugh 分级^[8]:A 级 72 例,B~C 级 45 例;肿瘤数目:单个肿瘤 29 例,多个肿瘤 88 例。于同期选取 80 例符合乙型病毒性肝炎诊断标准(2010 版)^[9]的乙型病毒性肝炎患者为肝炎组,其中男 50 例,女 30 例;年龄 35~76 岁,平均(52.0±7.9)岁。同时随机选取 80 例健康体检者为对照组,其中男 49 例,女 31 例;年龄 33~79 岁,平均(53.8±9.5)岁。肝细胞癌组、肝炎组、对照组之间的性别构成比、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。研究对象均在知情同意书上签字,该研究获得医院医学伦理委员会的通过。

1.2 方法

于清晨空腹收集各研究对象的肘静脉血 5 mL,在室温环境下自然凝集 30 min 后以 3000 r/min 的速度离心 10 min,将分离得到的上清液置于 -80℃ 的环境下保留,留待检测。GP-73、Dickkopf-1、AFP 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定,GP-73 试剂盒购于北京热景生物技术有限公司,Dickkopf-1、AFP 试剂盒购于美国 eBioscience 公司,酶标仪由美国 Thermo 公司提供,严格按照试剂盒上的说明书进行相关操作。

1.3 评价指标

① 测定各组的血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平,并分析其与患者临床病理特征之间的关系;② 以病理诊断结果为“金标准”,肝细胞癌组病例为阳性病例,肝炎组病例为阴性病例,评价 GP73、Dickkopf-1 联合 AFP 对肝细胞癌的诊断价值,包括灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值、准确率。肝细胞癌阳性诊断标准^[10,11]:GP-73>64ng/mL 或者 Dickkopf-1>2.153 μg/L 或者 AFP>20 ng/mL。

1.4 统计学处理

所有数据均采用 SPSS16.0 软件数据并统计分析,定量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,多组独立样本的比较采用方差分析,两两比较采用 Dunnett-t 检验,定性资料采用率(%)描述,比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组的血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平比较

三组的血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$),两两比较,肝细胞癌组的血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平高于肝炎组、对照组,且肝炎组的血清 AFP 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组的血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平比较

Table 1 Comparison of serum levels of GP73, Dickkopf-1 and AFP in each group

Groups	n	GP73(ng/mL)	Dickkopf-1(μg/L)	AFP(μg/L)
Hepatocellular carcinoma group	117	142.57±9.26*	4.09±1.13*	369.37±8.96*
Hepatitis group	80	41.86±9.58	1.26±1.01	27.53±7.81 [#]
Control group	80	36.27±8.63	0.98±0.99	8.29±7.69
F	-	15.792	12.785	16.006
P	-	<0.001	0.006	<0.001

Note: Compared with hepatitis group and control group, * $P<0.05$, Compared with control group, [#] $P<0.05$.

2.2 肝细胞癌患者血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 与临床病理特征的关系

Child Pugh 分级中 B~C 级肝细胞癌患者的 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平高于 A 级,差异有统计学意义($P<0.05$),不同分化程度、肿瘤直径、肿瘤数目患者的 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 GP73、Dickkopf-1、AFP 联合对肝细胞癌的诊断价值

GP73、Dickkopf-1、AFP、GP73+Dickkopf-1+AFP 对肝细胞癌的诊断价值比较,差异有统计学意义($P<0.05$),两两比较,GP73+Dickkopf-1+AFP 对肝细胞癌诊断的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值、准确率均高于 GP73、Dickkopf-1、AFP

的诊断结果,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

3 讨论

每年我国死于原发性肝癌的患者约占世界肝癌死亡人数的 45%,而其中将近 90%为肝细胞癌,可见,肝细胞癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤^[12]。肝细胞癌早期无特异性的临床症状和体征,很多患者被确诊时已属于中晚期,手术切除率低,预后差,患者远期生存率低。因此,在高危人群中早期发现并诊断肝细胞癌可有效改善预后,提高患者远期生存率。选择灵敏度高、特异性好,且血清水平或者表达量与肿瘤大小或者组织的发展密切相关的肿瘤标志物成为研究的热点。AFP 是目前常用于临

表 2 肝细胞癌患者血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 与临床病理特征的关系

Table 2 The relationship between serum GP73, Dickkopf-1, AFP and clinicopathological features in patients with hepatocellular carcinoma

Indexes	Clinicopathological characteristics	n	GP73(ng/mL)	T	P	Dickkopf-1 (μg/L)	T	P	AFP(μg/L)	T	P
Degree of differentiation	Well-differentiation	36	143.87± 8.76	1.069	0.293	4.25± 1.20	1.548	0.127	432.57± 26.86	1.483	0.141
	Middle and low differentiation	81	140.93± 9.35			3.92± 1.01			339.22± 32.60		
Tumor diameter	≤ 5 cm	73	141.02± 9.25	-1.637	0.104	3.96± 1.08	-1.765	0.081	360.71± 29.85	-1.643	0.103
	>5 cm	44	143.56± 9.91			4.29± 1.23			372.60± 36.38		
Child Pugh grade	A grade	72	98.75± 8.89	-37.326	0.000	3.23± 1.54	-5.672	0.000	329.51± 29.87	-22.935	0.000
	B-C grade	45	157.62± 7.25			4.72± 1.08			465.43± 33.22		
Tumor number	One	29	139.38± 8.17	-1.627	0.108	3.92± 1.16	-1.273	0.207	362.67± 28.15	-1.716	0.089
	Multipile	88	143.50± 9.26			4.25± 1.23			375.85± 31.24		

表 3 GP73、Dickkopf-1、AFP 联合对肝细胞癌的诊断价值

Table 3 The diagnostic value of combined of GP73, Dickkopf-1, AFP on hepatocellular carcinoma

Projects	Sensibility	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value	Accuracy rate
GP73	82.05(96/117)	81.25(65/80)	86.49(96/111)	75.58(65/86)	81.73(161/197)
Dickkopf-1	76.07(89/117)	78.75(63/80)	83.96(89/106)	69.23(63/91)	77.16(152/197)
AFP	75.21(88/117)	83.75(67/80)	87.12(88/101)	69.79(67/96)	78.68(155/197)
GP73+Dickkopf-1+AFP	95.73(112/117)*	95.00(76/80)*	96.55(112/116)*	93.83(76/81)*	95.43(188/197)*
χ^2	21.602	9.512	10.308	18.675	29.485
P	<0.001	0.023	0.016	0.001	<0.001

Note: compared with with other projects,*P<0.05.

床诊断肝癌的肿瘤标志物,但研究显示,约 11%~47%的肝硬化患者以及 15~58%的慢性乙型肝炎患者的血清 AFP 水平也可升高,而有 30%的肝细胞癌患者因癌肿细胞变性坏死程度严重,或者分化程度接近正常,以致癌组织中结缔组织成分过多,血清 AFP 合成量明显降低,因此患者体内 AFP 水平未明显升高^[13]。可见,AFP 对肝细胞癌的的诊断价值较低,有研究显示^[14],以 20 μg/L 作为 AFP 的截断值,诊断肝细胞癌的灵敏度为 40%~65%,特异性为 76%~96%。

GP73 是一种编码基因处于第 9 号染色体上,存在于高尔基体的跨膜蛋白,相对分子量为 7.3×10^5 ,主要在胆管上皮细胞中表达,但是在正常肝脏组织中,较少甚至不能检测到其表达,而在病变的肝细胞中呈高水平表达。动物实验结果表明^[15],在肝细胞癌的土拨鼠模型中,血清 GP73 的表达水平明显高于非健康对照组。Zhao 等^[16]人的研究显示,GP73 在人体肝细胞癌患者血清中的表达水平显著高于肝硬化患者,提示其可作为肝细胞癌诊断的重要标志物。Dickkopf-1 是新发现的分泌型蛋白,通过对 Wnt 信号通路的激活形成抑制,可以抑制细胞的增殖以及诱导细胞的凋亡,同时促进肿瘤血管的形成^[17]。Shen 等^[18-20]人的研究中,Dickkopf-1 对肝细胞癌诊断的灵敏度、特异性分别为 69.1%、90.6%,将其与 AFP 联合诊断肝细胞癌,其准确

率可高达 88.0%。说明 Dickkopf-1 作为肝细胞癌的肿瘤标志物具有重要的价值。

本研究旨在探讨 GP73、联合 Dickkopf-1、AFP 对肝细胞癌的诊断价值,从而为临床早期诊断肝细胞癌,并提高诊断准确率提供指导。结果显示,肝细胞癌组的血清 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平高于肝炎组、对照组,并且肝炎组的血清 AFP 水平高于对照组,提示 GP73、Dickkopf-1 在肝细胞癌中呈高表达水平,作为诊断肝细胞癌具有重要价值,而 AFP 不仅在肝细胞癌中呈高表达水平,在乙肝患者体内也表达水平也升高。结果还显示,Child Pugh 分级中 B-C 级肝细胞癌患者的 GP73、Dickkopf-1、AFP 水平高于 A 级,随着肝细胞癌病情的加重,GP73、Dickkopf-1、AFP 呈逐渐升高,提示三指标可作为评估肝细胞癌病情进展情况的重要指标,临床有重要价值。此外,本研究结果显示,GP73+Dickkopf-1+AFP 对肝细胞癌诊断的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值、准确率均高于 GP73、Dickkopf-1、AFP 单独对肝细胞癌的诊断结果,说明 GP73、Dickkopf-1、AFP 三指标联合能明显提高对肝细胞癌的诊断价值,有重要的临床参考价值。

综上所述,GP73、Dickkopf-1 可作为临床诊断肝细胞癌的重要肿瘤标志物,GP73 联合 Dickkopf-1、AFP 诊断肝细胞癌能

明显提高诊断准确率,临床有重要的参考价值。

参考文献(References)

- [1] Joo SM, Kim YP, Yum TJ, et al. Optimized performance of flightPlan during chemoembolization for hepatocellular carcinoma: importance of the proportion of segmented tumor area[J]. Korean J Radiol, 2016, 17(5): 771-778
- [2] 王珏,张婷婷,毛志远,等.肝细胞癌根治性切除术后预后因素分析[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(4): 691-695, 784
Wang Jue, Zhang Ting-ting, Mao Zhi-yuan, et al. Prognostic Factor Analysis of Curative Resection in Patients with Hepatocellular Carcinoma[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(4): 691-695, 784
- [3] Zhao J, Guo LY, Yang JM, et al. Sublingual vein parameters, AFP, AFP-L3, and GP73 in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2): 7062-7067
- [4] Hatanaka T, Kakizaki S, Shimada Y, et al. Early decreases in α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin predict the antitumor effects of hepatic transarterial infusion chemotherapy with cisplatin (CDDP) powder in patients with advanced hepatocellular carcinoma [J]. Intern Med, 2016, 55(16): 2163-2171
- [5] Zhang X, Meng S, Zhang R, et al. GP73-regulated oncolytic adenoviruses possess potent killing effect on human liver cancer stem-like cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(20): 29346-29358
- [6] Fouad YM, Mohamed HI, Kamal EM, et al. Clinical significance and diagnostic value of serum dickkopf-1 in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Scand J Gastroenterol, 2016, 51(9): 1133-1137
- [7] Jakhete N, Saberi B, Jonassaint NL, et al. Microvascular Invasion in Hepatocellular Carcinoma and Liver Transplant [J]. Exp Clin Transplant, 2016, 14(suppl 3): 14-18
- [8] Bhutiani N, Philips P, Scoggins CR, et al. Evaluation of tolerability and efficacy of irreversible electroporation (IRE) in treatment of Child-Pugh B(7/8) hepatocellular carcinoma(HCC)[J]. HPB(Oxford), 18(7): 593-599
- [9] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2015年更新版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(12): 1941-1960
Society of Hepatology of Chinese Medical Asso, Society of Infectious Diseases of Chinese Medical Asso. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B: a 2015 update [J]. Journal of Clinical Hepatology, 2015, 31(12): 1941-1960
- [10] Kotiya D, Jaiswal B, Ghose S, et al. Serum Dickkopf-1 as a Biomarker for the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma [J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0164087
- [11] Zhang X, Wang T, Dai X, et al. Golgi protein 73 facilitates the interaction of hepatitis C virus NS5A with apolipoprotein E to promote viral particle secretion [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 479(4): 683-689
- [12] Choi JY, Jung SW, Kim HY, et al. Diagnostic value of AFP-L3 and PIVKA-II in hepatocellular carcinoma according to total-AFP [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(3): 339-346
- [13] Tsugawa D, Fukumoto T, Kido M, et al. The Predictive Power of Serum α -Fetoprotein and Des- γ -Carboxy Prothrombin for Survival Varies by Tumor Size in Hepatocellular Carcinoma [J]. Kobe J Med Sci, 2016, 61(5): E124-131
- [14] Bird TG, Dimitropoulou P, Turner RM, et al. Alpha-fetoprotein detection of hepatocellular carcinoma leads to a standardized analysis of dynamic AFP to improve screening based detection [J]. PLoS One, 2016, 11(6): e0156801
- [15] Block TM, Comunale MA, Lowman M, et al. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(3): 779-784
- [16] Zhao J, Guo LY, Yang JM, et al. Sublingual vein parameters, AFP, AFP-L3, and GP73 in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2): 7062-7067
- [17] Giakoustidis A, Giakoustidis D, Mudan S, et al. Molecular signalling in hepatocellular carcinoma: Role of and crosstalk among WNT/-catenin, Sonic Hedgehog, Notch and Dickkopf-1 [J]. Can J Gastroenterol Hepatol, 2015, 29(4): 209-217
- [18] Shen Q, Fan J, Yang XR, et al. Serum DKK1 as a protein bio-marker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a large scale, multicentre study[J]. Lancet Oncol, 2012, 13(8): 817-826
- [19] Dai M, Chen X, Liu X, et al. Diagnostic Value of the Combination of Golgi Protein 73 and Alpha-Fetoprotein in Hepatocellular Carcinoma: A Meta-Analysis[J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0140067
- [20] Waidely E, Al-Yuobi AR, Bashammakh AS. Serum protein biomarkers relevant to hepatocellular carcinoma and their detection [J]. Analyst, 2016, 141(1): 36-44

(上接第 5148 页)

- [21] Luo L, Huang Y. Observation on the efficacy of lyophilized recombinant human brain natriuretic peptide for the treatment of patients with acute heart failure[J]. J Clin Res, 2014, 31(1): 146-148
- [22] Hao Y M, Hua J F, Wang Y T, et al. Influence of rhBNP on plasma Gal-3, ET-1, CysC levels and cardiac function in patients with acute heart failure[J]. J Clin Emergen, 2016, 17(6): 462-465
- [23] Beltrami M, Ruocco G, Dastidar A G, et al. Additional value of Galectin-3 to BNP in acute heart failure patients with preserved ejection fraction[J]. Clin Chim Acta, 2016, 457: 99-105
- [24] Kim T H, Kim H, Kim I C. The potential of cystatin-C to evaluate the prognosis of acute heart failure: A comparative study [J]. Acute Card Care, 2015, 17(4): 72-76
- [25] Perez A L, Grodin J L, Wu Y, et al. Increased mortality with elevated plasma endothelin 1 in acute heart failure: an ASCEND HF biomarker substudy[J]. Eur J Heart Fail, 2016, 18(3): 290-297