

• 论 著 •

血清 KLF5、DKK1 联合对原发性肝癌的诊断价值*

董立军, 邹腾跃, 柴豆豆, 牟洪超[△]

山东大学附属威海市立医院肝胆外科, 山东威海 264200

摘 要:目的 探讨 Kruppel 样因子 5(KLF5)和 Dickkopf 相关蛋白 1(DKK1)在原发性肝癌患者血清中的水平,分析其诊断价值。方法 选取 2021 年 3 月至 2024 年 3 月在该院确诊的 98 例原发性肝癌患者为实验组,根据病情严重程度分为早期组(40 例)和晚期组(58 例),以该院同期入院治疗的 101 例良性肝病患者的对照组,以 100 例同期入院体检的健康者为健康组,分别获得各组血清并收集整理一般临床资料。采用酶联免疫吸附试验检测 KLF5 和 DKK1 水平,分析各组血清 KLF5 和 DKK1 水平的差异和变化;采用多因素 Logistic 回归分析原发性肝癌发生的影响因素;采用受试者工作特征曲线分析血清 KLF5 和 DKK1 水平诊断原发性肝癌的效能。结果 实验组甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、KLF5 和 DKK1 水平较对照组和健康组均明显升高($P<0.05$);不同淋巴结转移状态的原发性肝癌患者血清 KLF5 和 DKK1 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$);晚期组血清 KLF5 和 DKK1 水平高于早期组($P<0.05$);AFP、CEA、KLF5 和 DKK1 水平均为原发性肝癌发生的独立危险因素($P<0.05$);血清 KLF5、DKK1 联合诊断原发性肝癌的曲线下面积为 0.928,特异度为 93.10%,优于各自单独诊断($Z_{二者联合-DKK1}=2.186, Z_{二者联合-KLF5}=3.386, P=0.029, 0.001$)。结论 原发性肝癌患者血清 KLF5 和 DKK1 水平明显升高,且随着病情变化而发生改变, KLF5 和 DKK1 联合检测对诊断原发性肝癌具有重要的意义。

关键词:原发性肝癌; Kruppel 样因子 5; Dickkopf 相关蛋白 1; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.08.011

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2025)08-0955-05

文献标志码:A

Diagnostic value of serum KLF5 combined DKK1 for primary liver cancer*

DONG Lijun, ZOU Tengyue, CHAI Doudou, MOU Hongchao[△]

Department of Hepatobiliary Surgery, Weihai Municipal Hospital Affiliated to Shandong University, Weihai, Shandong 264200, China

Abstract: Objective To explore the levels of Kruppel like factor 5 (KLF5) and Dickkopf related protein 1 (DKK1) in the serum of patients with primary liver cancer and analyze their diagnostic value. **Methods** A total of 98 patients with primary liver cancer diagnosed in the hospital from March 2021 to March 2024 were included as the experimental group, and they were divided into early group (40 cases) and late group (58 cases) according to the severity of the disease. Meantime, 101 patients with benign liver disease admitted to the hospital during the same period time were selected as the control group, and 100 healthy individuals who underwent the physical examination during the same period were selected as the healthy group. Serum samples were obtained from the groups and general clinical data were collected and organized. Enzyme linked immunosorbent assay was applied to detect the levels of KLF5 and DKK1, and the differences and changes in serum KLF5 and DKK1 levels among the groups were analyzed. Multivariate Logistic regression was applied to analyze the influencing factors of occurrence of primary liver cancer. Receiver operating characteristic curve was used to analyze the efficacy of serum KLF5 and DKK1 levels in the diagnosis of primary liver cancer. **Results** The levels of alpha fetoprotein (AFP), carcinoembryonic antigen (CEA), KLF5 and DKK1 in the experimental group were significantly higher than those in control group and healthy group ($P<0.05$). The levels of serum KLF5 and DKK1 were obviously different in patients with primary liver cancer with or without lymph node metastasis ($P<0.05$). The levels of serum KLF5 and DKK1 in late group were higher than those

* 基金项目:山东省中医药科技项目(M-2023345);山东省医药卫生科技发展计划项目(202104030779)。

作者简介:董立军,男,副主任医师,主要从事肝胆胰外科综合治疗方向的研究。 [△] 通信作者, E-mail: a54pui@163.com。

in early group ($P<0.05$). AFP, CEA, KLF5 and DKK1 levels were independent risk factors for primary liver cancer ($P<0.05$). The area under the curve of the combined diagnosis of serum KLF5 and serum DKK1 was 0.928, with specificity of 93.10%, which was better than that of the individual diagnosis ($Z_{\text{combination-DKK1}}=2.186, Z_{\text{combination-KLF5}}=3.386, P=0.029, P=0.001$). **Conclusion** The levels of KLF5 and DKK1 in the serum of patients with primary liver cancer are obviously elevated and change with changes in the condition of disease. The combined detection of KLF5 and DKK1 is of great significance for the diagnosis of primary liver cancer.

Key words: primary liver cancer; Kruppel like factor 5; Dickkopf related protein 1; diagnosis

原发性肝癌是全球范围内常见的恶性肿瘤之一，其发病率和死亡率均居高位^[1]。早期诊断和及时治疗是提高肝癌患者生存率的关键。近年来，随着分子生物学技术的不断发展，越来越多的肿瘤标志物被发现并被应用于肝癌的诊断^[2]。Kruppel 样因子 5 (KLF5)，也被称为 KLF 转录因子 5，可作为肝细胞癌（一种高死亡率的原发性肝癌）诊断和预后的标志物^[3]。此外，KLF5 通过促进肝癌细胞的生长和转移进而参与肝癌发展进程^[4]。Dickkopf 相关蛋白 1 (DKK1) 在肝癌细胞中呈高表达^[5]。有研究显示，DKK1 还可作为肝癌与良慢性肝病的鉴别诊断标志物^[6]。DKK1 和 KLF5 作为新的肝癌血清标志物，其临床应用前景广阔，联合检测不仅可以在常规筛查和诊断中发挥作用，还可在术后疗效监测和预后判断中提供重要信息，这对于提高肝癌的整体治疗水平和患者生存率具有重要意义。因此，本研究旨在探讨原发性肝癌患者血清 KLF5 和 DKK1 水平，以及二者联合检测在原发性肝癌诊断中的价值，以期更好地服务于临床，助力实现肝癌的早发现、早诊断、早治疗及个性化治疗方案的制订，最终达到改善患者预后、延长生存期的目的。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 3 月至 2024 年 3 月在本院确诊的 98 例原发性肝癌患者为实验组，根据病情严重程度分为早期组（40 例）和晚期组（58 例）。早期组中，男 26 例，女 14 例；年龄 45~71 岁，平均（57.65±9.21）岁。晚期组中，男 35 例，女 23 例；年龄 41~69 岁，平均（55.48±8.49）岁。以同期入院治疗的 101 例良性肝病患者的健康者为对照组，男 66 例，女 35 例；年龄 42~69 岁，平均（56.19±8.73）岁。以 100 例同期入院体检的健康者为健康组，男 65 例，女 35 例；年龄 41~70 岁，平均（56.51±8.06）岁。分别获得各组血清并收集整理一般临床资料，3 组一般资料比较差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ），具有可比性。纳入标准：（1）实验组符合原发性肝癌诊断标准^[7]；（2）入院前患者均未接受过化疗等任何治疗；（3）临床资料完整。排除标准：（1）严重肾损伤；（2）合并其他

恶性肿瘤疾病；（3）有其他感染性或免疫性疾病。所有参与者知情同意，本研究获得本院伦理委员会审核批准。

1.2 方法 血清标本采集：所有患者均于入院后次日，健康组在体检当天清晨采集空腹静脉血 5 mL 于真空采血管内，采集前至少 8~12 h 不进食。静置 30 min，用离心机 4 000 r/min 进行 10 min 离心，分离血清，保存于-80℃冰箱中备用。采用酶联免疫吸附试验检测血清甲胎蛋白（AFP）、癌胚抗原（CEA）、KLF5 和 DKK1 水平，采用上海信裕生物科技有限公司提供的试剂盒检测 KLF5 水平（货号：XYEB712Hu），上海钰博生物科技有限公司提供的试剂盒检测 DKK1 水平（货号：YB72143），生工生物工程（上海）股份有限公司提供的试剂盒检测 AFP 水平（货号：D711034），生工生物工程（上海）股份有限公司提供的试剂盒检测 CEA 水平（生工生物，货号：D711374）。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较采用 t 检验；计数资料以 $n(\%)$ 表示，组间比较采用 χ^2 检验；采用多因素 Logistic 回归分析原发性肝癌发生的影响因素；采用受试者工作特征（ROC）曲线分析 KLF5 和 DKK1 诊断原发性肝癌的价值，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组临床资料比较 3 组体重、年龄、乙型肝炎病毒（HBV）感染、吸烟史和饮酒史比较，差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ），实验组 AFP、CEA 水平较对照组和健康组均明显升高（ $P<0.05$ ）。见表 1。

2.2 3 组血清 KLF5 和 DKK1 水平比较 实验组血清 KLF5 和 DKK1 水平均高于对照组和健康组（ $P<0.05$ ），对照组血清 KLF5 和 DKK1 水平均高于健康组（ $P<0.05$ ）。见表 2。

2.3 原发性肝癌患者血清 KLF5 和 DKK1 水平与临床参数分析 不同性别、年龄、肿瘤最大径的原发性肝癌患者血清 KLF5 和 DKK1 水平比较差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ）；不同淋巴结转移状态的原发性肝癌患者血清 KLF5 和 DKK1 水平比较差异有统计

学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 1 3 组临床资料比较[$\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$]

项目	实验组($n=98$)	对照组($n=101$)	健康组($n=100$)	F/χ^2	P
体重(kg)	63.32±5.48	64.38±6.47	63.26±5.87	1.122	0.327
年龄(岁)	56.38±8.79	56.19±8.73	56.51±8.06	0.036	0.965
HBV 感染	75(76.53)	68(67.33)	66(66.00)	3.089	0.213
吸烟史	34(34.69)	27(26.73)	25(25.00)	2.577	0.276
饮酒史	61(62.24)	56(55.45)	57(57.00)	1.072	0.585
AFP($\mu\text{g/L}$)	107.61±10.35* [#]	15.64±1.26*	10.45±1.01	8 203.070	<0.001
CEA($\mu\text{g/L}$)	12.32±1.45* [#]	3.27±0.42*	2.12±0.35	3 904.673	<0.001

注:与健康组比较,* $P<0.05$;与对照组比较,[#] $P<0.05$ 。

表 2 3 组血清 KLF5 和 DKK1 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/mL)

组别	n	KLF5	DKK1
实验组	98	8.99±2.59* [#]	7.55±2.49* [#]
对照组	101	5.84±1.80*	4.61±1.47*
健康组	100	5.21±1.22	4.06±1.03
F		106.867	111.589
P		<0.001	<0.001

注:与健康组比较,* $P<0.05$;与对照组比较,[#] $P<0.05$ 。

2.4 不同病情严重程度患者血清 KLF5 和 DKK1 水

平比较 晚期组血清 KLF5 和 DKK1 水平高于早期组($P<0.05$)。见表 4。

2.5 多因素 Logistic 回归分析原发性肝癌发生的影响因素 采用多因素 Logistic 回归分析原发性肝癌发生的影响因素,以研究对象是否发生原发性肝癌为因变量(发生=1,未发生=0),KLF5(连续变量)、DKK1(连续变量)、AFP(连续变量)、CEA(连续变量)为自变量。结果显示,AFP、CEA、KLF5 和 DKK1 水平均为原发性肝癌发生的独立危险因素($P<0.05$)。见表 5。

表 3 KLF5 和 DKK1 水平与临床参数分析($\bar{x}\pm s$,ng/mL)

参数	n	KLF5	t	P	DKK1	t	P
性别			1.014	0.313		1.129	0.262
男	61	8.75±2.90			7.33±2.43		
女	37	9.38±3.11			7.92±2.63		
年龄(岁)			1.175	0.243		1.397	0.166
≥50	35	9.46±3.14			7.09±2.32		
<50	63	8.73±2.90			7.81±2.51		
肿瘤最大径(cm)			1.218	0.226		1.168	0.246
≥3	80	9.16±3.01			7.69±2.51		
<3	18	8.22±2.70			6.94±2.22		
淋巴结转移			3.096	0.003		2.228	0.028
有	38	10.16±3.33			8.24±2.53		
无	60	8.25±2.73			7.13±2.32		

表 4 不同病情严重程度患者血清 KLF5 和 DKK1 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/mL)

组别	n	KLF5	DKK1
早期组	40	7.61±2.04	5.56±1.05
晚期组	58	9.94±2.31	8.92±2.17
t		5.143	9.077
P		<0.001	<0.001

表 5 多因素 Logistic 回归分析原发性肝癌发生的影响因素

因素	β	SE	$Wald\chi^2$	P	OR	95%CI
KLF5	0.268	0.081	10.925	0.001	1.307	1.115~1.532
DKK1	0.484	0.151	10.260	0.001	1.622	1.206~2.181
AFP	1.139	0.294	15.004	<0.001	3.123	1.755~5.557
CEA	0.764	0.212	12.974	<0.001	2.146	1.416~3.252

2.6 KLF5、DKK1 水平对原发性肝癌的诊断效能分析 血清 KLF5 诊断原发性肝癌的曲线下面积 (AUC) 为 0.870, 灵敏度、特异度分别为 83.70%、77.20%; 血清 DKK1 诊断原发性肝癌的 AUC 为 0.855, 灵敏度、特异度分别为 90.82%、69.31%; 二者

联合诊断的 AUC 为 0.928, 灵敏度、特异度分别为 81.60%、93.10%, 联合检测的 AUC 大于各自单独检测 ($Z_{\text{二者联合-DKK1}} = 2.186$ 、 $Z_{\text{二者联合-KLF5}} = 3.386$, $P = 0.029$ 、 0.001)。见表 6。

表 6 血清 KLF5、DKK1 水平单项及联合诊断原发性肝癌的效能分析

指标	AUC	95%CI	最佳截断值	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数
KLF5	0.870	0.816~0.914	7.37 ng/mL	83.70	77.20	0.609
DKK1	0.855	0.798~0.901	5.01 ng/mL	90.82	69.31	0.601
二者联合	0.928	0.883~0.960	—	81.60	93.10	0.747

注:—表示无数据。

3 讨 论

原发性肝癌是指原发于肝脏的恶性肿瘤,它主要起源于肝脏的上皮组织或间叶组织^[8]。我国肝癌的发病率在恶性肿瘤中排名第 4 位,死亡率排名第 2 位,全球 55%肝癌病例发生在我国,发病率在全球领先^[9]。肝癌患者预后差,5 年生存率约为 15%,这主要是因为我国大多数患者在确诊肝癌时已经处于中晚期阶段,早期根治治疗生存率可超 50%,中晚期患者预后不佳^[10]。因此,对于原发性肝癌的预防和早期发现至关重要,探究肝癌的诊断指标对肝癌的尽早发现、及时治疗和提高患者预后有重要意义。

KLF 家族在肿瘤的发生发展中发挥极其重要的作用,同时 KLF 家族被证实影响肝癌细胞的增殖、分化和迁移,并有望成为肝癌的生物学治疗靶点^[11]。有研究显示,通过调控 KLF12 可降低细胞增殖能力,增强细胞放射灵敏度和细胞凋亡^[12]。据报道,KLF5 在肝母细胞瘤细胞中具有促进肿瘤增殖的作用,其机制可能与调控细胞周期、凋亡等相关基因的表达有关^[13]。有研究表明,KLF5 在肝细胞癌和组织中呈高表达,可通过多个微小 RNA 的靶基因参与调控肿瘤细胞的恶性进展^[14-15]。目前 KLF5 已被广泛研究并被确定为潜在的预后标志物。本研究中,KLF5 在存在淋巴结转移的原发性肝癌患者血清中呈高表达,晚期原发性肝癌患者血清 KLF5 水平高于早期原发性肝癌患者,并且 KLF5 水平是原发性肝癌发生的独立危险因素,此外进一步分析表明,血清 KLF5 诊断原发性肝癌患者的 AUC 为 0.870,灵敏度、特异度分别为 83.70%、77.20%,以上数据证实 KLF5 有望成为临床诊断原发性肝癌的指标之一。

DKK1 是一种分泌型蛋白,能参与调控多条信号通路,促进肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭,在肝癌的发生发展中具有重要作用^[16]。有研究表明,DKK1 水平可以通过在体外环境中激活的 Wnt 信号来进行调节,

DKK1 参与免疫抑制肿瘤微环境的过程^[17]。DKK1 还可以帮助维持肿瘤周围具有免疫抑制效果的肿瘤微环境,这可能会影响免疫系统对肿瘤细胞的识别和清除^[18]。由于 DKK1 在不同癌症中广泛表达,但不在正常组织中表达的特点,它已成为人类一些癌症肿瘤免疫治疗的潜在良好靶点^[19]。血清 DKK1 作为一种新的肝细胞癌检测标志物,在诊疗中发挥越来越重要的作用,尤其与传统肝癌血清学检测指标 AFP 比较,DKK1 在早期肝癌和良性肝病的鉴别诊断中优势显著^[20]。本研究中,DKK1 在原发性肝癌患者血清中呈高表达,且其水平与淋巴结转移有关,晚期原发性肝癌患者血清 DKK1 水平更高,该指标是原发性肝癌发生的独立危险因素。血清 DKK1 诊断原发性肝癌的 AUC 为 0.855,灵敏度、特异度分别为 90.82%、69.31%,其高灵敏度使其成为潜在的重要诊断标志物之一,有望在肝癌早期筛查、病情监测及疗效评估中广泛应用,提升诊断准确率。

本研究中,实验组 AFP、CEA 水平较对照组与健康组均明显升高,且 AFP、CEA 均为原发性肝癌发生的独立危险因素,与以往研究结果一致^[21]。结合既往研究提示,AFP 是一种白蛋白的变异体,CEA 是一种糖蛋白,当 AFP 和 CEA 水平升高时,可能指示原发性肝癌发生风险增加。AFP 和 CEA 水平的升高可能与肝癌的发生发展有一定的相关性,但应结合其他临床信息和检查结果进行综合评估,多种指标共同参考,如本研究探讨的生物标志物 KLF5 和 DKK1。在本研究进一步探讨中发现,KLF5 和 DKK1 二者联合检测时,诊断效果更佳,提示 KLF5 和 DKK1 可共同作为原发性肝癌的辅助诊断指标。KLF5 和 DKK1 对原发性肝癌的作用机制涉及多个方面,这些机制共同作用于肝癌的发生和发展过程,为肝癌的干预和治疗提供了新的靶点和思路。然而,本研究仍存在一定的局限性。本研究样本量相对较小,可能存在一定的

误差和偏倚,未来的研究需要进一步扩大样本量,包括统一标本采集与处理规范、优化检测方法以减少技术误差,并开展大规模、多中心、跨种族的临床试验,以确立更为精准、普遍适用的界定值,探索 KLF5 与 DKK1 在肝癌发生发展机制中的具体作用,将其临床应用提供更加坚实的理论基础。

综上所述,原发性肝癌患者血清 KLF5 和 DKK1 水平上升,且其水平与病情进展紧密相关,可作为临床重要的监测指标。KLF5 与 DKK1 联合检测能够提高原发性肝癌诊断的特异度,在原发性肝癌的临床诊断中展现出重要价值。

参考文献

- [1] 曹梦迪,陈万青. 2022 全球癌症统计数据解读[J]. 中国医学前沿杂志,2024,7(6):1-5.
- [2] 雷婷,严俊,袁建涛. 血清 GGT、GGT/ALT、甲胎蛋白、异常凝血酶原时间水平在早期原发性肝癌患者中的变化及意义[J]. 中国卫生工程学,2024,23(3):354-356.
- [3] 杨君伶,方蓉菲,谢群,等. 乙型肝炎病毒相关肝癌癌丛蛋白和 KLF-5 过表达及其临床病理特征[J]. 中华肝脏病杂志,2024,32(2):148-154.
- [4] AN T,DONG T,ZHOU H,et al. The transcription factor Krüppel-like factor 5 promotes cell growth and metastasis via activating PI3K/AKT/Snail signaling in hepatocellular carcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun,2019,508(1):159-168.
- [5] 梁芳,张昊,郝辉,等. 外周血 NLR 联合血清 AFP、GP73、DKK1 检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 现代肿瘤医学,2021,29(6):989-993.
- [6] PARK M,CHO J H,MOON B,et al. CDK9 inhibitors downregulate DKK1 expression to suppress the metastatic potential of HCC cells[J]. Genes Genomics,2023,45(3):285-293.
- [7] BETELLA I,TURBITT W J,SZUL T,et al. Wnt signaling modulator DKK1 as an immunotherapeutic target in ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol,2020,157(3):765-774.
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政司. 原发性肝癌诊疗指南(2024 年版)[J]. 中国实用外科杂志,2024,44(4):361-386.
- [9] 李小钰,黄青,吴雨濛,等. 2022 年全球癌症统计报告的窄谱总结和展望[J]. 肿瘤防治研究,2024,51(5):307-312.
- [10] 高磊磊,秦帅鑫,陈威,等. TACE 联合 RFA 治疗中期原

发性肝癌的疗效及对患者血清 GP73、AFP 和 AFP-L3 水平的影响[J]. 临床和实验医学杂志,2021,20(13):1388-1391.

- [11] 赵传喜,朱婷婷,刘明国,等. Krüppel 样因子在肝癌中的研究进展[J]. 国际肿瘤学杂志,2020,47(2):119-122.
- [12] 徐毅,黄远东. miR-216a-5p 靶向 KLF12 对肝癌细胞放射敏感性的影响[J]. 中华放射肿瘤学杂志,2024,33(1):56-61.
- [13] 韩蕊. KLF5 基因在人肝母细胞瘤中的作用及机制研究[D]. 苏州:苏州大学,2021.
- [14] GAO W,LU Y X,WANG F,et al. miRNA-217 inhibits proliferation of hepatocellular carcinoma cells by regulating KLF5 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(18):7874-7883.
- [15] PANG J,LI Z,WANG G,et al. miR-214-5p targets KLF5 and suppresses proliferation of human hepatocellular carcinoma cells [J]. J Cell Biochem,2019,120(2):1850-1859.
- [16] FEZZA M,MOUSSA M,AOUN R,et al. DKK1 promotes hepatocellular carcinoma inflammation, migration and invasion; implication of TGF- β 1 [J]. PLoS One,2019,14(9):e0223252.
- [17] WISE D R,SCHNEIDER J A,ARMENIA J,et al. Dickkopf-1 can lead to immune evasion in metastatic castration-resistant prostate cancer [J]. JCO Precis Oncol,2020,157(4):1167-1179.
- [18] HAAS M S,KAGEY M H,HEATH H,et al. mDKN-01, a novel anti-DKK1 mAb, enhances innate immune responses in the tumor microenvironment[J]. Mol Cancer Res,2021,19(4):717-725.
- [19] QIAN J,WANG Q,XIAO L,et al. Development of therapeutic monoclonal antibodies against DKK1 peptide-HLA-A2 complex to treat human cancers[J]. J Immunother Cancer,2024,12(1):e008145.
- [20] 宗绍其,郭冰洁,殷子斐. 血清 DKK1 在肝细胞癌诊疗中的应用研究进展[J]. 黑龙江医学,2024,48(10):1272-1274.
- [21] 刘悦芹,李坚,毕汇文. AFP、AFU、CEA、CA199 联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 慢性病学杂志,2023,24(11):1674-1676.

(收稿日期:2024-08-15 修回日期:2024-11-18)