

Nghiên cứu giá trị dấu ấn DKK1 huyết tương trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan ở bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan B

Serological DKK1 acquires no diagnostic value in identification of hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma

Phạm Quang Trung, Nguyễn Thị Tuấn,
Đặng Chiếu Dương, Phan Quốc Hoàn
Lê Hữu Song, Ngô Tất Trung

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định ý nghĩa của DKK1 trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan ở bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan B. **Đối tượng và phương pháp:** Định lượng nồng độ DKK1 huyết tương ở 43 bệnh nhân viêm gan mạn tính do vi rút viêm gan B, 35 bệnh nhân xơ gan và 112 bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan bằng phương pháp ELISA. **Kết quả:** Nồng độ DKK1 huyết tương không khác biệt ở nhóm ung thư biểu mô tế bào gan so với các nhóm còn lại ($p > 0,05$). Giá trị chẩn đoán của DKK1 không cao ($AUC = 0,553$ giữa nhóm ung thư biểu mô tế bào gan và xơ gan, $AUC = 0,374$ giữa nhóm ung thư biểu mô tế bào gan và viêm gan mạn tính). DKK1 không làm tăng giá trị của AFP ($AUC (DKK1 + AFP) = 0,691$ so với $AUC (AFP) = 0,664$ giữa nhóm ung thư biểu mô tế bào gan và xơ gan, $AUC (DKK1 + AFP) = 0,295$ so với $AUC (AFP) = 0,704$ giữa nhóm ung thư biểu mô tế bào gan và viêm gan mạn tính). **Kết luận:** DKK1 huyết tương không có giá trị trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan trên bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan B tại Việt Nam.

Từ khóa: Ung thư biểu mô tế bào gan, vi rút viêm gan B, DKK1.

Summary

Objective: To investigate the clinical significance of serological DKK1 level in the diagnosis of hepatitis B virus (HBV) related hepatocellular carcinoma (HCC). **Subject and method:** Plasma DKK1 concentrations from 43 HBV carriers, 35 liver cirrhosis related HBV and 112 HCC related HBV were measured by ELISA, whereas receiver operating characteristics (ROC) was used to calculate diagnostic accuracy. **Result:** The DKK1 levels were not different between HCC and other groups ($p > 0.05$). The value diagnosis of DKK1 was quite low (HCC vs liver cirrhosis, $AUC = 0.553$, HCC vs chronic hepatitis B, $AUC = 0.374$). AFP was not supported by DKK1 in the diagnostic performance of HCC (HCC vs liver cirrhosis, $AUC (DKK1 + AFP) = 0.691$ compared with $AUC (AFP) = 0.664$, HCC vs chronic hepatitis B, $AUC (DKK1 + AFP) = 0.295$ compared with $AUC (AFP) = 0.704$). **Conclusion:** Serum DKK1 cannot be used for detection of liver cancer in Vietnam.

Keywords: Hepatocellular carcinoma, hepatitis B virus, DKK1.

Ngày nhận bài: 15/2/2019, ngày chấp nhận đăng: 21/2/2019

Người phản hồi: Ngô Tất Trung, Email: tattrungngo@gmail.com - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

1. Đặt vấn đề

Ung thư gan (UTG) là một trong những bệnh lý ác tính đứng thứ 6 về tỷ lệ mắc phải và đứng thứ 2 về tỷ lệ tử vong trên thế giới. Theo thống kê, mỗi năm có thêm 800.000 trường hợp được chẩn đoán ung thư gan, trong đó tỷ lệ nam giới chiếm 2/3, ngoài ra có hơn 700.000 người chết vì căn bệnh này [1]. Tổng kết của WHO năm 2018 chỉ ra tại Việt Nam, ung thư gan có tỷ lệ mắc phải cũng như tỷ lệ tử vong đứng thứ nhất, trong đó ung thư biểu mô tế bào gan là dạng chủ yếu. UTG thường tiến triển rất nhanh, triệu chứng thường xuất hiện khi bệnh đã trở nên nghiêm trọng, vì vậy bệnh nhân (BN) thường nhập viện ở các giai đoạn muộn. Trong khi đó, khả năng BN sống sau điều trị 5 năm giảm 10 - 20% qua từng giai đoạn của bệnh và chỉ có dưới 10% BN sống được sau khi điều trị ở giai đoạn cuối của bệnh [2].

Hiện nay, các dấu ấn sinh học dùng trong chẩn đoán UTG chưa nhiều đặc biệt là các dấu ấn cho phép phát hiện UTG giai đoạn sớm. Điện hình như alpha fetoprotein (AFP) là dấu ấn sinh học hiện đang được sử dụng phổ biến nhất để chẩn đoán UTG có độ nhạy không quá cao chỉ ở khoảng 39 - 65%, độ đặc hiệu 76 - 94% và giá trị tiên lượng chỉ ở mức 9% - 50% tại ngưỡng khuyến nghị là 20ng/mL [3]. Ngoài ra, chỉ số AFP còn có thể tăng ở các BN viêm gan hoặc xơ gan. Vì vậy, việc tìm kiếm các dấu ấn sinh học không can thiệp mới để thay thế hoặc bổ trợ các phương pháp tiên lượng UTG hiện nay là rất cấp thiết.

DKK1 là một loại glycoprotein có khả năng ức chế con đường tín hiệu Wnt/ β - catenin [4]. Cho đến nay, hầu như các nghiên cứu về DKK1 mới chỉ dừng lại ở việc xác định mức độ biểu hiện DKK1 trên mô bệnh học, cỡ mẫu nhỏ, đơn trung tâm. Mới chỉ có vài báo cáo thực hiện trên mẫu huyết tương với quy mô lớn, trong đó có nghiên cứu cắt ngang đa trung tâm của Shen và cộng sự (2012) thực hiện trên 831 đối tượng gồm 424 bệnh nhân UTG và 407 đối tượng không phải ung thư (213 người khỏe mạnh, 98 bệnh nhân viêm gan B mạn (VGM), 96 bệnh nhân xơ gan (XG)). Kết quả nghiên cứu này cho thấy, nồng độ

DKK1 trong huyết thanh BN UTG cao hơn rõ so với tất cả các đối tượng khác không phải UTG, có thể giúp phân biệt UTG với nhóm XG và VGM do vi rút viêm gan B (VRVGB). Hơn nữa, DKK1 có tiềm năng rất lớn trong việc chẩn đoán UTG khi xét nghiệm riêng rẽ hay kết hợp với AFP, đặc biệt trong phát hiện UTG ở giai đoạn sớm [5].

Nghiên cứu trên được thực hiện tại Trung Quốc, vì vậy chúng tôi tin rằng tại Việt Nam khả năng chẩn đoán cũng như tiên lượng UTG của DKK1 sẽ đạt được kết quả tốt. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: *Xác định ý nghĩa của DKK1 trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan ở bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan B.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Đối tượng gồm 190 bệnh nhân (BN) nhiễm vi rút viêm gan B, trong đó có 43 bệnh nhân viêm gan mạn, 35 bệnh nhân xơ gan và 112 bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan đã được chẩn đoán theo các tiêu chí chẩn đoán của Hội Gan mật Việt Nam và được điều trị tại Khoa Tiêu hoá và Khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Mẫu được thu thập từ tháng 1 năm 2014 đến tháng 12 năm 2017. Mẫu máu thu thập được lưu vào trong các ống máu chống đông, sau đó ly tâm tách riêng huyết tương và bảo quản trong tủ -80°C. Để xác định nồng độ DKK1 trong huyết tương, chúng tôi sử dụng Human DKK1 Quantikine ELISA kit (mã DKK100, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) và thực hiện theo quy trình của nhà sản xuất. Các số liệu lâm sàng, cận lâm sàng khác được thu thập thông qua các xét nghiệm tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

2.2. Xử lý số liệu

Số liệu thu thập được lưu trong Excel và xử lý bằng SPSS 20.0. Các kết quả được biểu diễn bởi tỷ lệ phần trăm, trung bình cộng và phương sai. Phương pháp hồi quy nhị phân được áp dụng để kết hợp hai yếu tố AFP và DKK1 trong chẩn đoán UTG. Để xác định khả năng chẩn đoán chính xác của AFP, DKK1,

AFP kết hợp DKK1 trong việc phát hiện UTG, chúng tôi sử dụng đồ thị đường cong ROC và xác định diện tích dưới đường cong AUC. Kết quả có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

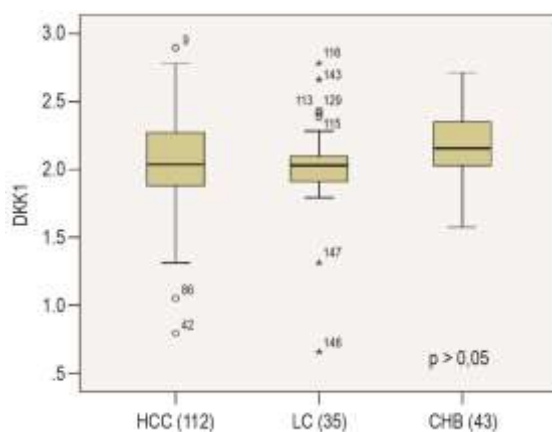
3. Kết quả

Bảng 1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Ung thư gan n = 112	Xơ gan n = 35	Viêm gan mạn n = 43
Tuổi	55,62 (23 - 92)	58,61 (27 - 87)	42,62 (19 - 85)
Giới: Nam (%)	93,1	95,7	76,7
AST*	92,22 (20 - 563)	128,94 (24 - 1038)	376,08 (26 - 6206)
ALT*	61,26 (11 - 391)	86,35 (6 - 1000)	406,95 (9 - 3390)
Bilirubin TP (micromole/l)	19,03 (4,8 - 86,3)	70,38 (6,2 - 514,5)	55,12 (8,4 - 551,0)
AFP (ng/ml)*	565,14 (0,84 - 16660)	26,58 (0,87 - 154,2)	43,94 (0,87 - 917,0)
HBV-DNA (log)*	5,01 ± 1,52	6,63 ± 1,97	8,23 ± 2,97
Số lượng khối u (Một khối/ ≥ 2 khối)	76/36	NA	NA
Kích thước khối u (cm)	7,78 ± 3,41	NA	NA
Huyết khối tĩnh mạch cửa (%)	25,3	NA	NA
Độ biệt hóa tế bào (Cao/vừa/thấp)	25/46/10	NA	NA
Phân loại BCLC (A/B/C/D)	16/50/34/1	NA	NA

(*) $p < 0,05$ khi so sánh giá trị trung bình giữa UTG, XG và VGM.

Nhận xét: Tuổi trung bình BN UTG 55,62 tuổi, chủ yếu là nam (93,1%). Hoạt độ AST, ALT, và nồng độ bilirubin TP của BN UTG thấp hơn có ý nghĩa so với XG và VGM ($p < 0,05$). Nồng độ AFP ở nhóm UTG cao hơn có ý nghĩa so với nhóm XG và VGM. HBV-DNA ở nhóm UTG thấp hơn so với XG và VGM ($p < 0,05$). Hầu hết, BN UTG có 1 khối u, kích thước trung bình khối u gan 7,78cm, số BN UTG có huyết khối tĩnh mạch chủ (25,3%).



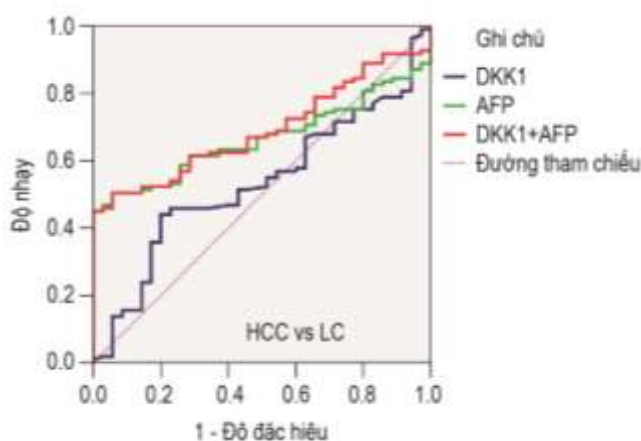
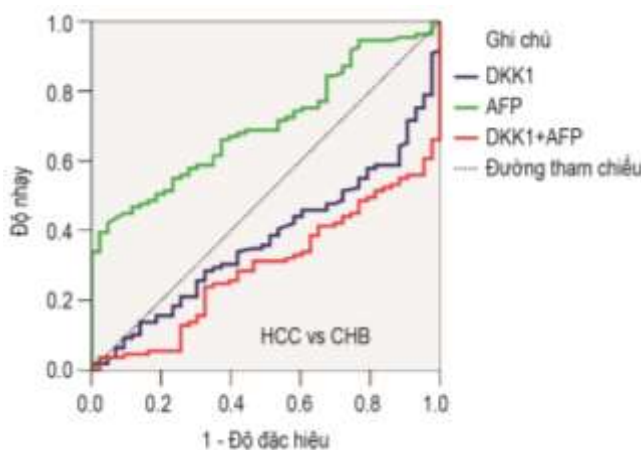
Hình 1. Nồng độ DKK1 ở các nhóm UTG, XG, VGM

Nhận xét: Nồng độ DKK1 trong huyết tương không khác biệt ở nhóm UTG so với XG và VGM ($p > 0,05$).

Bảng 2. Giá trị của DKK1, AFP, DKK1 + AFP trong chẩn đoán UTG

Chỉ số	Diện tích dưới đường cong (AUC)	
	UTG so với XG	UTG so với VGM
AFP	0,664	0,704
DKK1	0,533	0,374
DKK1 + AFP	0,691	0,295

Nhận xét: AFP có giá trị cao hơn DKK1 trong chẩn đoán UTG ở BN nhiễm VRVGB. Khi phối hợp DKK1 với AFP không làm tăng hiệu quả chẩn đoán UTG.

**Hình 2.** Đường cong ROC của DKK1, AFP, DKK1 + AFP trong chẩn đoán UTG khi lấy XG làm nhóm chứng**Hình 3.** Đường cong ROC của DKK1, AFP, DKK1 + AFP trong chẩn đoán UTG khi lấy VGM làm nhóm chứng

4. Bàn luận

Trong những năm gần đây, độ tuổi BN UTG ngày càng có xu hướng trẻ hóa. Độ tuổi trung bình nhóm UTG trong nghiên cứu của chúng tôi là 56 tuổi, chủ yếu là nam giới (93,1%). Nguyên nhân có thể là do tình trạng lạm dụng rượu bia hiện nay tại Việt Nam, đối tượng sử dụng rượu bia thường là

nam và không chỉ xảy ra ở lứa tuổi người trưởng thành mà còn xuất hiện ở lứa tuổi trẻ. Tình trạng lạm dụng rượu bia kết hợp với các yếu tố khác như vi rút viêm gan B, vi rút viêm gan C, các yếu tố di truyền dẫn tới tỷ lệ bệnh nhân UTG ngày một tăng cao. Với tỷ lệ BN có nguy cơ mắc UTG gia tăng cao như hiện nay cùng với các hậu quả nghiêm trọng đi kèm của

căn bệnh này, việc tìm ra các dấu ấn sinh học có khả năng cải thiện các phương pháp chẩn đoán UTG ở giai đoạn sớm là vô cùng cần thiết. Việc phát hiện ra dấu ấn sinh học DKK1 và hiểu thêm về các con đường tín hiệu của cơ thể mở ra cơ hội mới trong tiên lượng UTG [6], [7]. Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm xác định nồng độ DKK1 trong huyết tương ở các nhóm VGM, XG và UTG bằng phương pháp ELISA, từ đó đánh giá khả năng chẩn đoán chính xác UTG của DKK1.

Tuy vậy, khác với kết quả nghiên cứu của Shen và cộng sự tại Trung Quốc [5], kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sự khác biệt về mức độ biểu hiện DKK1 giữa UTG và các nhóm khác không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$, Hình 1). Khả năng chẩn đoán chính xác của AFP cũng cao hơn đáng kể so với DKK1 khi phân biệt UTG với XG (AUC (AFP) = 0,664, AUC (DKK1) = 0,553), phân biệt UTG và VGM (AUC (AFP) = 0,704, AUC (DKK1) = 0,374). Tiếp theo đó, chúng tôi phân tích kết hợp AFP và DKK1 với nhau, tuy vậy khả năng chẩn đoán không tăng so với AFP khi đứng độc lập, giá trị AUC không cao khi phân biệt UTG với XG (AUC (AFP + DKK1) = 0,691), ở mức thấp khi chẩn đoán UTG và VGM (AUC (AFP + DKK1) = 0,295, Bảng 2, Hình 2, Hình 3). Có thể thấy rằng, độ nhạy và độ đặc hiệu của DKK1 hay khi kết hợp phương pháp DKK1 với AFP đều thấp hơn AFP khi đứng riêng rẽ. Vì vậy, mà dấu ấn sinh học DKK1 trong huyết tương không có tiềm năng thay thế cũng như bổ trợ trong việc chẩn đoán UTG.

5. Kết luận

Với kết quả thu được, DKK1 không đủ tiêu chuẩn để trở thành dấu ấn sinh học có thể ứng dụng trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan tại Việt Nam.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106-YS.02-2016.20

Tài liệu tham khảo

1. Mohammadian M, Mohammadian-Hafshejani A, Salehiniya H (2018) *Liver cancer in the world: Epidemiology, incidence, mortality and risk factors*. WCRJ 5(2): 1082.
2. Pons F, Varela M, and Llovet JM (2005) *Staging systems in hepatocellular carcinoma*. HPB (Oxford) 7(1): 35-41.
3. Daniele B et al (2004) *α -fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma*. Gastroenterology 127(5): 108-112.
4. Krupnik VE, Sharp JD, Jiang C, Robison K, Chickering TW, Amaravadi L, Brown DE, Guyot D, Mays G, Leiby K, Chang B, Duong T, Goodearl AD, Gearing DP, Sokol SY, McCarthy SA (1999) *Functional and structural diversity of the human Dickkopf gene family*. Gene 238(2): 301-313.
5. Shen Q et al (2012) *Serum DKK1 as a protein biomarker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: A large-scale, multicentre study*. The Lancet Oncology 13(8): 817-826.
6. Glinka A, Wu W, Delius H, Monaghan AP, Blumenstock C, Niehrs C (1998) *Dickkopf-1 is a member of a new family of secreted proteins and functions in head induction*. Nature 391: 357-362.
7. Takigawa Y, Brown AM (2008) *Wnt signaling in liver cancer*. Curr Drug Targets 9(11): 1013-1024.