

• 论 著 •

CA199、CA242、DKK1 联合检测在胰腺癌中的诊断价值

陈守庆, 薄维波[△]

(江苏省连云港市东方医院检验科 222042)

摘要:目的 探讨糖类抗原 199(CA199)、糖类抗原 CA242(CA242)、分泌型蛋白 Dickkopf-1(DKK1)对胰腺癌的诊断价值。方法 应用电化学发光免疫分析法和酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测 112 例胰腺癌和 58 例胰腺良性疾病组及 62 例体检健康者血清 CA199、CA242 和 DKK1 水平,采用 Kruskal-Wallis 单因素方差分析与 Mann-Whitney 秩和检验进行统计学比较,Logistic 回归模型绘制 ROC 曲线并计算曲线下面积(AUC^{ROC})以评价各指标的诊断价值。结果 胰腺癌患者血清 CA199、CA242 和 DKK1 水平明显高于胰腺良性疾病组及健康对照组,差异有统计学意义(H 值分别为 76.30、61.2、47.60, $P<0.05$);CA199、CA242 和 DKK1 对胰腺癌诊断的敏感度分别为 76.7%、69.6%、85.7%,特异度分别为 95.0%、96.7%、92.5%,准确度分别为 86.2%、83.6%、89.2%,3 项指标运用回归方程 $P=1/[1+e^{-(-4.163+0.21X_1+0.156X_2+0.342X_3)}]$ 综合分析诊断胰腺癌,敏感度、特异度和准确度分别为 94.4%、90.8%、92.2%;CA199、CA242、DKK1 及 pre-1 的 ROC 曲线下面积分别为 0.736、0.862、0.886、0.949。结论 检测血清 CA199、CA242 和 DKK1 水平对胰腺癌的诊断具有重要的价值,3 种标志物联合检测能明显提高胰腺癌诊断的敏感度和准确度。

关键词:胰腺癌; 糖类抗原; 分泌型蛋白; 受试者工作曲线
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.04.025 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)04-0496-04

Diagnosis value of combined detection of CA199,CA242 and DKK1 in pancreatic cancer

Chen Shouqing, Bo Weibo[△]

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

Abstract:Objective To investigate the clinical values of CA199,CA242 and DKK1 in diagnosing pancreatic cancer (PCA). **Methods** The serum levels of CA199,CA242 and DKK1 were measured with ECLIA and ELISA method in 112 patients with PCA,58 patients with benign pancreatic disease and 62 individuals undergoing physical examination. The Kruskal-Wallis single factor analysis of variance (ANOVA) and Mann-Whitney rank-sum test were adopted to conduct the statistical comparison. The ROC curve was drawn by using the Logistic regression model and the area under curve(AUC^{ROC}) was calculated. **Results** The levels of serum CA199,CA242 and DKK1 in the patients with pancreatic cancer were significantly higher than those in the benign pancreatic disease group and healthy normal control group,the difference was statistically significant($H=76.30,61.2,47.60, P<0.05$);the sensitivities of CA199,CA242 and DKK1 for diagnosing pancreatic cancer were 76.7%,69.6% and 85.7% respectively;the specificities were 95.0%,96.7% and 92.5% respectively;the accuracies were 86.2%,83.6% and 89.2% respectively. The sensitivity, specificity and accuracy of combined detection of CA199,CA242 and DKK1 by the Logistic regression equation $P=1/[1+e^{-(-4.163+0.21X_1+0.156X_2+0.342X_3)}]$ were 94.4%,90.8% and 92.2% respectively;AUC of CA199,CA242,DKK1 and pre-1 were 0.736, 0.862,0.886 and 0.949,respectively. **Conclusion** Serum CA199,CA242 and DKK1 levels have an important value in the diagnosis of pancreatic cancer,and their combined detection could significantly improve the sensitivity and accuracy of pancreatic cancer diagnosis.

Key words:pancreatic cancer; carbohydrate antigen; secreted protein; receiver operating characteristic curve

胰腺癌是消化道常见恶性肿瘤之一,其发病率在逐年上升,病死率已跃居恶性肿瘤的第 4 位^[1]。但是胰腺癌早期缺乏典型的临床表现,早期诊断较困难。因此,寻找胰腺癌早期诊断的血清肿瘤标志物已受到国内外学者的普遍重视。笔者通过联合检测胰腺癌患者、良性胰腺疾病患者、健康体检者的糖类抗原 199(CA199)、糖类抗原 CA242(CA242)、分泌型蛋白 Dickkopf-1(DKK1)3 种血清肿瘤标志物水平,探讨上述肿瘤标志物在胰腺癌早期诊断中的价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 3 月至 2014 年 3 月本院门诊或住院胰腺癌患者 112 例(胰腺癌组),男性 72 例,女性 40 例,年龄 25~84 岁,平均(58.8±9.8)岁,所有病例经 B 超、CT、手术

或病理证实;收集同期就诊的胰腺良性疾病患者 58 例作为胰腺良性疾病组,男性 38 例,女性 20 例,年龄 22~81 岁,平均(62.6±12.6)岁;收集于同期体检健康者 62 例作为健康对照组,男性 39 例,女性 23 例,年龄 24~85 岁,平均(56.2±11.4)岁。本研究经医院医学伦理学委员会批准,患者知情同意,并签署知情同意书。

1.2 方法 用带有惰性分离胶的真空采血管分别抽取各研究对象的空腹静脉血 4 mL,静置 30 min,4 000 r/min 离心 10 min,分离血清,置-25℃保存。其中胰腺癌患者采血前未经任何抗肿瘤治疗。采用 Dxl800 Access 化学发光免疫分析系统(贝克曼公司)及 CA199 和 CA242 检测试剂盒(Roche 公司)检测各组血清 CA199 和 CA242 的表达水平;采用 DNM-

9602G 酶联分析仪(北京普朗公司)及人 DKK1 ELISA 试剂盒(上海抚生公司)检测血清 DKK1 表达水平。以上均严格按照操作仪器及试剂盒说明书操作。参考范围:CA199<35 U/mL, CA242<20 U/mL, DKK1<2.0 ng/mL。

1.3 统计学处理 应用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布计量资料采用中位数、四分位数($P_{25} \sim P_{75}$)表示,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验,多组独立样本的中位数比较采用完全随机化设计资料的 Kruskal-Wallis 检验,率的比较用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。采用受试者工作特征曲线(ROC)和 Logistic 回归分析 CA199、CA242、DKK1 单项与联合检测效能并确定其临界值,以曲线下面积

(AUC)>0.5 为有诊断意义。

2 结 果

2.1 CA199、CA242 和 DKK1 与胰腺癌临床病理参数的关系 肿瘤位于胰腺体/尾部时 CA199 水平明显高于肿瘤位于头部或全胰腺,差异有统计学意义($P<0.05$);肿瘤 TNM 分期中 IV 期 CA199 水平明显高于 I 或 II/III 期者,差异有统计学意义($P<0.05$);CA199 水平与肿瘤大小无关($P>0.05$)。CA242 水平与肿瘤分期有关,IV 期中的 CA242 水平明显高于 I 或 II/III 期者,差异有统计学意义($P<0.05$);与肿瘤部位和肿瘤大小无关($P>0.05$)。DKK1 水平与肿瘤部位、肿瘤分期及肿瘤大小均无关($P>0.05$)。见表 1。

表 1 CA199、CA242 和 DKK1 与胰腺癌临床病理参数的关系(中位数, $P_{25} \sim P_{75}$)

临床病理特征	<i>n</i>	CA199 (U/mL)	CA242 (U/mL)	DKK1 (ng/mL)
性别				
男	49	345.13(331.45~566.36)	243.19(231.45~346.23)	5.13(1.45~16.36)
女	20	334.89(255.62~514.31)	236.13(246.50~349.23)	4.89(1.62~14.31)
年龄(岁)				
≤55	23	293.43(291.75~415.63)	139.23(231.45~392.36)	3.43(1.75~15.63)
>55	46	233.95(271.62~417.25)	135.13(131.45~365.25)	3.95(1.62~17.25)
肿瘤部位				
头	45	222.63(261.48~314.36)	201.06(254.39~488.23)	2.63(1.48~14.36)
体/尾	10	654.59(562.36~919.23)*	489.27(436.21~984.25)	3.59(2.36~19.23)
全胰腺	4	197.63(213.12~423.42)	236.32(242.36~465.23)	3.63(3.12~15.42)
肿瘤大小				
≤5 cm	9	103.23(82.20~314.60)	105.13(131.45~328.62)	3.23(2.20~14.60)
>5 cm	60	99.41(72.36~331.36)	126.21(128.41~289.63)	3.41(2.36~21.36)
TNM 分期				
I 期	22	88.16(81.85~123.36)	79.45(81.32~124.28)	2.16(1.85~23.36)
II/III 期		263.45(246.36~489.21)	145.13(162.12~266.94)	2.79(2.16~15.32)
IV 期	47	694.23(489.24~987.94) [△]	488.16(481.36~687.12)	3.01(2.14~18.62)

注:与胰腺头部、全胰腺癌比较,* $P<0.05$;与 I 期、II/III 期比较,[△] $P<0.05$ 。

2.2 各组血清 CA199、CA242 和 DKK1 检测水平比较 总体比较 Kruskal-Wallis 检验结果显示,血清 CA199、CA242 和 DKK1 组间差异有统计学意义(H 值分别为 76.30、61.20、47.60, $P<0.05$),组间多重比较 Mann-Whitney 检验结果显示,胰腺癌组血清 CA199 水平与胰腺良性疾病组及健康对照

组比较,差异均有统计学意义(U 值分别为 136.20、169.70, $P<0.05$),胰腺癌组血清 CA242 水平与其他两组比较差异有统计学意义(U 值分别为 246.60、790.42, $P<0.05$);胰腺癌组血清 DKK1 水平与其他两组比较差异亦均有统计学意义(U 值分别为 76.60、40.38, $P<0.05$),见表 2。

表 2 各组血清 CA199、CA242 和 DKK1 检测水平比较(中位数, $P_{25} \sim P_{75}$)

组别	<i>n</i>	CA199(U/mL)	CA242(U/mL)	DKK1(ng/mL)
胰腺癌组	112	322.60(4.45~2362.36)*	222.63(4.45~962.36)*	4.23(1.15~26.36)*
胰腺良性疾病组	58	9.89(9.26~639.27)	8.63(8.47~483.62)	2.11(0.97~24.31)
健康对照组	62	6.73(1.62~114.31)	4.52(1.62~114.31)	1.08(0.63~13.26)

注:与其他两组比较,* $P<0.05$ 。

2.3 血清 CA199、CA242 和 DKK1 Logistic 回归分析结果及 ROC 曲线评价 用 Binary Logistic 进行 Logistic 回归逐步分析,筛选出有价值的肿瘤标志物。据表 1 结果,3 项指标都对

胰腺癌的诊断密切相关($P<0.05$);3 项指标全部作为因变量进入回归方程,方程经 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=68.793$, $P<0.05$)。设 $X_1=CA199$ 、 $X_2=CA242$ 、 $X_3=DKK1$ 、

得到胰腺癌预测概率值 Logistic 回归方程： $P = 1/[1 + e^{-(-4.163 + 0.21X_1 + 0.156X_2 + 0.342X_3)}]$ ，运用 SPSS17.0 统计软件产生各个体预测值的一组新变量 pre-1，见表 3。以 CA199、CA242、DKK1 及预测概率 pre-1 为检验变量，以诊断结果为状态变量作 ROC 曲线分析，见图 1。对曲线下面积（ AUC^{ROC} ）进行评价。由表 4 可知单项检测时 DKK1（ $AUC^{ROC} = 0.833$ ， $P = 0.000$ ）的诊断价值最大，CA199（ $AUC^{ROC} = 0.746$ ， $P = 0.001$ ），诊断价值较小，但 Logistic 回归模型建立的预测概率 pre-1（ $AUC^{ROC} = 0.935$ ， $P = 0.000$ ），高于各单指标单独检测。选择图中曲线上最靠左上方的点，根据统计结果中各可能切点的敏感度和特异度计算敏感度+特异度，最高值为临界值，由此，得出各指标的具体临界值 CA199=35.27 U/mL，CA242=18.63 U/mL，DKK1=2.06 ng/mL。

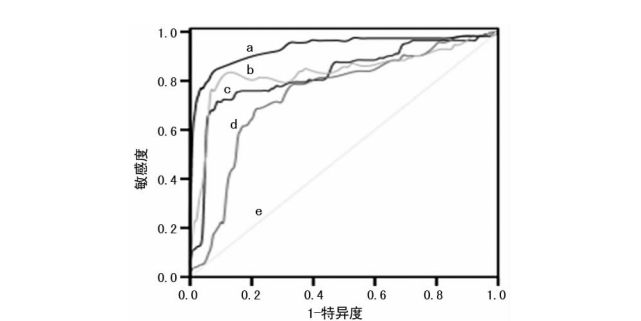
表 3 CA199、CA242 和 DKK1 Logistic 回归分析结果						
指标变量	回归系数	标准误	Wald χ^2	自由度	P	相对危险度
CA199	0.021	0.003	31.265	1	0.000	1.021
CA242	0.156	0.028	7.952	1	0.000	1.263
DKK1	0.342	0.142	14.667	1	0.001	1.548

2.4 CA199、CA242 和 DKK1 单独及联合检测的结果 在单项肿瘤标志物对胰腺癌诊断中 DKK1 的敏感度最高（85.7%），CA242 的特异度最高（96.7%）；3 项指标联合检测时能将敏感度提高到 94.4%，准确度提高到 92.2%，但特异度

略有下降。见表 5。

表 4 CA199、CA242、DKK1 和预测概率 pre-1 的统计参数结果					
检测项目	AUC^{ROC}	标准误	P	临界值	95%置信区间
CA199	0.736	0.026	0.001	35.27 U/mL	0.642~0.816
CA242	0.862	0.032	0.000	18.63 U/mL	0.723~0.864
DKK1	0.886	0.031	0.000	2.06 ng/mL	0.776~0.835
pre-1	0.949	0.018	0.000	—	0.906~0.982

注：—表示无数据。



注：a 表示 pre-1，b 表示 DKK1，c 表示 CA242，d 表示 CA199，e 表示参考线。

图 1 CA199、CA242、DKK1 和预测概率 pre-1 的 ROC 曲线

表 5 CA199、CA242 和 DKK1 三项指标单独及联合检测的结果[%(n/n)]				
检测指标	CA199	CA242	DKK1	三项联合检测
敏感度	76.7(86/112)	69.6(78/112)	85.7(96/112)	94.4(105/112) *
特异度	95.0(114/120)	96.7(116/120)	92.5(111/120)	90.8(109/120)
阳性预测值	93.5(86/92)	95.1(78/82)	91.4(96/105)	90.3(105/116)
阴性预测值	81.4(114/140)	77.3(116/150)	87.4(111/127)	93.2(109/116) *
准确度	86.2(200/232)	83.6(194/232)	89.2(207/232)	92.2(214/232) *

注：与各单项指标检测结果比较，* $P < 0.05$ 。

3 讨论

胰腺癌是一种临床发病率高、预后极差的严重危害人类健康的恶性肿瘤。近年来，随着手术切除率的提高、治疗方式的多样化以及术后并发症的降低，胰腺癌的病死率已有明显下降，但是由于胰腺癌的临床表现隐匿，发现时候已到了中晚期，无法手术切除，放化疗效果亦不理想^[2]，所以早期诊治是目前提高胰腺癌疗效的关键。肿瘤标志物(TM)是指在恶性肿瘤发生和增殖过程中，由肿瘤细胞的基因表达而合成分泌的或是由机体对肿瘤反应而异常产生和(或)升高的，反映肿瘤存在和生长的一类物质，且对肿瘤的鉴别诊断及预后评价具有一定的价值^[3]。由于单项肿瘤标志物检测其敏感度和特异度都存在一定的局限^[4-5]，故临床上通常选择几种肿瘤标志物的联合检测来提高肿瘤早期诊断^[6-7]。

CA199 是一种与胰腺癌、胆囊癌、结肠癌等相关的黏蛋白型的糖类蛋白肿瘤标志物，是目前文献报道的对胰腺癌敏感度最高且临床应用最多和最有价值的肿瘤标志物^[8]。虽然在其他肿瘤中也可出现 CA199 水平升高，但其水平远低于胰腺癌^[9-10]。

CA242 是 1983 年通过用人结直肠癌细胞 COLD205 免疫小鼠而得到的一种唾液酸化的鞘脂类抗原，主要存在于胰腺癌和结肠癌细胞中，在胰腺癌细胞中呈高表达，是诊断胰腺癌的一项较为特异的指标。有研究^[11]报道，CA242 在胰头癌的诊断中，其特异度好于 CA199；Verheul 等^[12]研究发现，胰腺不同部位的肿瘤其 CA242 的表达程度水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。

DKK1 是重要的分泌性糖蛋白，在不同的肿瘤中表达水平不一，在胃肠道肿瘤、神经胶质瘤、乳腺癌中 DKK1 的表达降低或缺失，而在肝癌、肺癌、黑色素瘤等肿瘤中 DKK1 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，有待与进一步探讨^[13-15]。

本研究结果显示胰腺癌患者血清 CA199、CA242 和 DKK1 水平明显高于胰腺良性疾病组及健康对照组，差异有统计学意义(H 值分别为 76.30、61.20、47.60， $P < 0.05$)，胰腺癌组血清 CA199 水平与胰腺良性疾病及健康对照组比较，差异均有统计学意义(U 值分别为 136.20、169.70， $P < 0.05$)，血清 CA242 水平比较，差异有统计学意义(U 值分别为 246.60、

790.42, $P < 0.05$), 血清 DKK1 水平比较, 差异有统计学意义 (U 值分别为 76.60、40.38, $P < 0.05$)。

本文以 CA199、CA242 和 DKK1 为检测变量, 以胰腺癌组和胰腺良性疾病组为状态变量绘制 ROC 曲线。AUC 即曲线下面积表示该指标检测胰腺癌的准确度, CA199、CA242 和 DKK1 对胰腺癌诊断的敏感度分别为 76.7%、69.6%、85.7%, 特异度分别为 95.0%、96.7%、92.5%, 准确度分别为 86.2%、83.6%、89.2%, 单独检测时 DKK1 敏感度和准确度最高, 分别为 85.7% 和 89.2%, CA242 特异度最高 (96.7%)。此外, 本研究结果显示, CA199 和 CA242 的水平在肿瘤 TNM 分期中差异有统计学意义 ($P < 0.05$), IV 期明显高于 I、II/III 期, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 另外, 本研究还发现血清中 CA199、CA242 和 DKK1 水平与肿瘤大小均无关, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

本研究着重分析 3 种指标联合检测时对胰腺癌的诊断性能, 用 Binary Logistic 过程进行 Logistic 回归逐步分析 (选入标准: $\alpha = 0.05$, 剔除标准 = 0.1), 筛选出有价值的肿瘤标志物, 建立回归方程 $P = 1/[1 + e^{-(-4.163 + 0.21X_1 + 0.156X_2 + 0.342X_3)}]$, 通过方程中的概率值来拟合 ROC 曲线, 其敏感度和准确度最高, 为 94.4% 和 92.2%; 曲线下面积 ($AUC^{ROC} = 0.949$, $P = 0.001$), 高于各项指标单独检测, 但特异度略有下降。此外, 根据统计结果中各可能切点的敏感度和特异度计算敏感度 + 特异度, 最高值为临界值 CA199 35.27 U/mL, CA242 18.63 U/mL, DKK1 2.06 ng/mL。以上研究均表明联合检测血清肿瘤标志物的敏感度、准确度均高于单独检测, 有些是以牺牲特异度为代价的, 但可以降低胰腺癌诊断的漏诊率。

本研究观察病例数偏少, 仅主要从血清学方面进行研究, 并未从患者的流行病学、临床表现、影像、病理等进行研究。因此, 在以后的研究中, 应当纳入更多的样本, 综合考察分析多方面资料。

参考文献

[1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008 [J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(4): 225-249.

[2] 赵平, 王成锋. 重视胰腺癌的预防和早期诊断[J]. 国际外科学杂志, 2007, 34(9): 584-587.

[3] 李宁, 沈世强, 刘建超. 血清 CA199, CA242, CEA 及 CA125 在胰腺癌诊断和预后中的价值[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2011, 18(3): 300-304.

[4] Jiang XT, Tao HQ, Zou SC. Detection of serum tumor

markers in the diagnosis and treatment of patients with pan-creatic cancer [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2004, 3(3): 464-468.

[5] 王春友, 赵刚. 胰腺癌发生机制研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2009, 26(7): 825-826.

[6] Ni XG, Bai XF, Mao YL, et al. The clinical value of serum CEA, CA19-9, and CA242 in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer [J]. Eur J Surg Oncol, 2005, 31(2): 164-169.

[7] 瞿彩平. 肿瘤标志物联合检测在晚期恶性肿瘤诊疗中的价值 (附 112 例临床分析) [J]. 中国肿瘤临床与康复, 2002, 9(3): 97-98.

[8] 沈刘虹, 陆品相. 血清 CA199 检测对消化道恶性肿瘤的临床意义 [J]. 中国现代医学杂志, 2008, 32(20): 3056-3057.

[9] 尹莉莉, 杜叶平, 武春梅. 血清 CA50 与 CA199 联合检测在胰腺癌诊断中的意义 [J]. 解放军医药杂志, 2013, 20(1): 31-32.

[10] Duraker N, Hot S, Polar Y, et al. CEA, CA 199 and CA 125 in the differential diagnosis of benign and malignant pancreatic diseases with or without jaundice [J]. J Surg Oncol, 2007, 95(2): 142-147.

[11] 张乐之, 龚燕芳, 屠振兴. 胰腺癌患者血清 CA242 定量测定及其意义 [J]. 胰腺病学, 2002, 20(1): 20-21.

[12] Verheul HM, Voest EE, Schlingemann RO. Are tumors angiogenesis-dependent [J]. J Pathol, 2004, 202(1): 5-13.

[13] 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, 2010, 55(9): 1012-1015.

[14] 陆奎英, 崔素芬, 徐亮, 等. 重组 DKK1 及 pCMV-HA2/DKK1 重组质粒对宫颈癌细胞体外增殖作用的影响 [J]. 临床检验杂志, 2012, 30(11): 898-901.

[15] Shen QJ, 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: 2016-07-30 修回日期: 2016-10-20)

(上接第 495 页)

Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis [J]. Clin Microbiol Rev, 1995, 8(1): 1-21.

[12] Saryan JA, Garrett PE, Kurtz SR. Failure to detect extremely high levels of serum IgE with an immunoradiometric assay [J]. Ann Allergy, 1989, 63(4): 322-324.

[13] Haslett P, Laverty M. The prozone phenomenon in syphilis associated with HIV infection [J]. Arch Intern Med, 1994, 154(14): 1643-1644.

[14] Romanowski B, Sutherland R, Fick GH, et al. Serologic response to treatment of infectious syphilis [J]. Ann In-

tern Med, 1991, 114(12): 1005-1009.

[15] Loeffelholz MJ, Binnicker MJ. It is time to use treponema-specific antibody screening tests for diagnosis of syphilis [J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(1): 2-6.

(收稿日期: 2016-07-28 修回日期: 2016-10-18)

