

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.09.022

血清 DKK1、CA125 及 CA199 联合检测对子宫内膜癌的临床意义*

孙艺歌 石舟红[△] 杨田如 戴建荣 邵 丽

(南京医科大学附属苏州医院妇科 江苏 苏州 215000)

摘要目的:探讨血清 Dickkopf 相关蛋白 1(DKK1)、糖类癌症抗原 125(CA125)及糖类癌症抗原 199(CA199)联合检测对子宫内膜癌(EC)的临床意义。**方法:**选取 2014 年 1 月至 2018 年 12 月本院收治的 162 例 EC 患者(EC 组),同时选取同期来我院体检的健康妇女 50 例作为对照组。采用酶联免疫检测法(ELISA)检测受试者血清中 DKK1、CA125 及 CA199 的水平,绘制受试者工作特征(ROC)曲线,比较各指标及联合检测对于 EC 的诊断效能。**结果:**EC 组患者血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平均高于对照组(P 均 <0.05)。EC 组患者血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平与患者年龄、组织分化程度、病理类型、淋巴结转移、脉管侵袭等无关(P 均 >0.05);FIGO 分期 III 期患者的血清 DKK1 及 CA199 水平高于 I 期、II 期患者(P 均 <0.05),血清 CA125 水平高于 I 期患者($P<0.05$)。联合检测血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平,诊断 EC 的敏感度为 76.5%, 特异性为 90.0%, 曲线下面积(AUC)为 0.888, 三者联合检测的 AUC 值高于单独检测 DKK1、CA125、CA199 以及两两联合检测。**结论:**EC 患者血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平异常升高,且与部分临床病理特征有关,三者联合检测可能对 EC 具有一定的参考价值。

关键词:子宫内膜癌;Dickkopf 相关蛋白 1;糖类癌症抗原 125;糖类癌症抗原 199;临床意义

中图分类号:R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)09-1707-04

Clinical Significance of Combined Detection of Serum DK1, CA125 and CA199 in Endometrial Cancer*

SUN Yi-ge, SHI Zhou-hong[△], YANG Tian-ru, DAI Jian-rong, SHAO Li

(Department of Gynaecology, The Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou, Jiangsu, 215000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the clinical significance of combined detection of serum Dickkopf-related protein 1 (DKK1), carbohydrate cancer antigen 125 (CA125) and carbohydrate cancer antigen 199 (CA199) in endometrial cancer (EC). **Methods:** 162 EC patients (EC group) who were admitted to our hospital from January 2014 to December 2018 were selected. At the same time, 50 healthy women who had physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. Detection of serum levels of DKK1, CA125 and CA199 by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the ROC Curve of subjects were drawn, and the diagnostic efficacy of each index and combined detection for EC were compared. **Results:** Serum levels of DKK1, CA125 and CA199 in EC group were significantly higher than those in control group (all $P<0.05$). In EC group, the serum levels of DKK1, CA125 and CA199 were not related with ages, tissue differentiation degree, pathological types, lymphatic metastasis and vascular invasion (all $P>0.05$). The serum levels of DKK1 and CA199 in FIGO stage III patients were significantly higher than those in patients with stage I and stage II (all $P<0.05$), while serum level of CA125 in patients with stage III was significantly higher than that in patients with stage I ($P<0.05$). The sensitivity of combined detection of serum DKK1, CA125 and CA199 for EC diagnosis was 76.5%, the specificity was 90.0%, the area under the curve (AUC) was 0.888. The AUC values of the three combined detection were higher than those of DKK1, CA125, CA199 and two combined detection. **Conclusion:** The serum levels of DKK1, CA125 and CA199 are abnormally elevated in EC patients, and they are correlated with some clinicopathological features. The combined detection of DKK1, CA125 and CA199 may have some reference value for EC.

Key words: Endometrial cancer; Dickkopf-related protein 1; Carbohydrate cancer antigen 125; Carbohydrate cancer antigen 199; Clinical significance

Chinese Library Classification(CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)09-1707-04

前言

子宫内膜癌(Endometrial Cancer, EC)是常见的女性肿瘤

之一,近年来,我国 EC 发病率与死亡率均呈逐年上升趋势,严重威胁我国女性身心健康^[1]。早期筛查并采取合理治疗的 EC 患者,其预后良好,因此寻找能够早期筛查、明确诊断的方法对

* 基金项目:江苏省卫生和计划生育委员会面上项目(H20160132)

作者简介:孙艺歌(1984-),女,硕士,主治医师,研究方向:微创妇科,E-mail:shizh007@163.com

[△] 通讯作者:石舟红(1972-),女,本科,主任医师,研究方向:妇科肿瘤,E-mail:13776106410@163.com

(收稿日期:2019-10-26 接受日期:2019-11-21)

于改善 EC 的临床治疗结果至关重要。相较于影像学、病理学等辅助筛查手段,检测血清特异性标志物水平,具有创伤程度低、操作简便等优势,近年来,寻找血清特异性标志物成为肿瘤研究领域的热点之一。Dickkopf 相关蛋白 1(DKK1)是近来发现的血清肿瘤标志物,已有研究表明,检测血清 DKK1 水平在胃癌^[2]、肝细胞癌^[3]、肺癌^[4]等恶性肿瘤的临床诊疗方案中具有参考价值。本研究利用酶联免疫检测法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)对比检测 EC 患者和健康妇女血清中 DKK1、经典恶性肿瘤血清指标糖类癌症抗原 125(Cancer Antigen 125, CA125)与糖类癌症抗原 199(Cancer Antigen 199, CA199)^[5]的水平,以探讨联合检测血清 DKK1、CA125 及 CA199 对 EC 的临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择本院 2014 年 1 月至 2018 年 12 月收治的 EC 患者 162 例,年龄 37~75 岁,平均(56.34±7.21)岁;组织高度分化者 49 例,组织中度分化者 92 例,组织低度分化者 21 例;病理类型: I 型癌 124 例, II 型癌 38 例;FIGO 分期: I 期 36 例, II 期 97 例, III 期 29 例;无淋巴结转移 92 例,有淋巴结转移 70 例;无脉管侵袭 78 例,有脉管侵袭 84 例。本研究经医学伦理委员会批准,患者及家属知情同意,签署知情同意书。纳入标准:(1)经手术切除肿瘤组织,并送病理科活检确诊为 EC;(2)患者临床资料及血清样本保存完整;(3)所有患者均为初发患者,且术前未经其他抗肿瘤手段治疗。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤者;(2)发现远处转移及其他严重系统性疾病者;(3)患者采血时处于月经期。同时选取同期来我院体检的健康妇女 50 例作为对照组,年龄 41~73 岁,平均(58.34±7.85)岁。两组年龄比较

无统计学差异($P>0.05$),均衡可比。

1.2 ELISA 检测受试者血清中 DKK1、CA125 及 CA199 的水平

1.2.1 主要试剂及仪器 人 DKK1-ELISA 试剂盒、人 CA125-ELISA 试剂盒、人 CA199-ELISA 试剂盒,均购自上海信裕生物科技有限公司, Multiskan Sky 全波长酶标仪(购自赛默飞, 中国)为实验室自有。

1.2.2 样本采集 治疗前,抽取受试者的晨起空腹外周静脉血 5 mL,室温静置凝固 1h, 3000 r/min, 4℃低温离心 10 min, 收集上清液,于 -80℃冰箱内保存备用。

1.2.3 检测方法 采用 ELISA 检测受试者血清中 DKK1、CA125 及 CA199 的水平,严格参照 ELISA 试剂盒说明书,稀释标准品与血清样品,加入酶标试剂, 37℃孵育 30 min, 弃去液体并洗涤,分别加入 ELISA 试剂盒显色剂 A 与显色剂 B, 震荡 30 s, 37℃避光显色 15 min; 加入终止液后,酶标仪检测,读取结果并记录。其中血清 DKK1 的报警值为 119.56 pg/L, CA125 的报警值为 38.30 U/mL, CA199 的报警值为 55.66 U/mL。

1.3 统计学方法

采用 SPSS20.0 软件进行结果统计分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)形式表示,组间比较采用 t 检验及单因素方差分析,采用受试者工作特征(Receiver operating characteristics, ROC)曲线比较各个指标及联合检测对于 EC 患者的诊断效能,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 EC 组与对照组血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平比较

由表 1 可知, EC 组患者血清中 DKK1、CA125 及 CA199 水平与对照组比较,经 t 检验结果显示,差异具有统计学意义(P 均 <0.05), EC 组 DKK1、CA125 及 CA199 水平低于对照组。

表 1 EC 组与对照组血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of serum levels of DKK1, CA125 and CA199 between EC group and control group($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	DKK1 (pg/L)	CA125 (U/mL)	CA199 (U/mL)
EC group	162	117.22±39.57	33.19±10.31	62.42±22.78
Control group	50	85.97±26.74	24.52±9.44	40.22±13.15
t	-	1.652	5.299	7.146
P	-	0.000	0.000	0.000

2.2 EC 组血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平与临床病理特征的关系

由表 2 可知, EC 组血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平与患者年龄、组织分化程度、病理类型、淋巴结转移、脉管侵袭无关(P 均 >0.05); FIGO 分期 III 期患者血清 DKK1 及 CA199 水平高于 I 期、II 期患者(P 均 <0.05), I 期、III 期患者血清 CA125 水平, t 检验结果显示差异具有统计学意义($P<0.05$), II 期患者血清 CA125 水平与 I 期、III 期患者的差异均不具有统计学意义(P 均 >0.05)。

2.3 血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平对 EC 的诊断效能

联合检测 EC 患者血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平,对诊断 EC 的敏感度为 76.5%, 特异性为 90.0%, 曲线下面积(Area Under the Curve, AUC)为 0.888, 其中三者联合检测的

AUC 高于单独检测 DKK1、CA125、CA199 以及两两联合检测,见图 1、表 3。

3 讨论

随着医疗技术的发展, EC 的早期筛查得到了一定的普及,目前我国以子宫内膜脱落以细胞学、病理检查为主,但尚未找到临床满意的筛查方法,而作为辅助手段的超声也存在一定的误诊率^[6,7]。EC 的早期症状之一为阴道不规则出血,与其他子宫疾病相似^[8,9],因此本研究旨在探讨联合检测对于 EC 的早期筛查、鉴别诊断的临床应用价值。

Wnt 信号通路参与机体的多种生理、病理过程^[10-12],包括生长发育、动态平衡以及恶性肿瘤的发生发展。DKK1 蛋白是一种新发现的分泌蛋白,能够通过与其细胞表面的低密度脂蛋白受

表 2 EC 组血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平与临床病理特征的关系($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Relationship between serum levels of DKK1, CA125 and CA199 and clinicopathological features in EC group($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	DKK1(pg/L)	t/F	P	CA125(U/mL)	t/F	P	CA199(U/mL)	t/F	P	
Age (years)	≤60	83	118.27±31.62	0.422	0.673	34.12±8.64	1.256	0.211	63.38±19.49	0.664	0.508
	>60	79	116.12±33.20			32.21±10.65			61.41±18.22		
Tissue differentiation	Highly	49	115.89±34.62	0.072	0.931	32.34±7.97	0.609	0.545	62.65±18.90	0.014	0.986
	Moderately	92	118.13±37.37			33.25±9.76			62.19±22.61		
	Poorly	21	116.34±26.59			34.91±7.26			62.89±13.56		
Pathological types	Type I carcinoma	124	115.51±39.41	1.057	0.292	32.51±9.04	1.772	0.078	61.01±21.43	1.621	0.107
	Type II carcinoma	38	122.79±27.43			35.42±7.49			67.02±14.23		
FIGO stage	I stage	36	114.76±22.62	3.517	0.035	32.16±8.71	3.127	0.043	59.22±19.78	3.004	0.048
	II stage	97	114.37±37.86			32.52±9.76			61.23±21.03		
	III stage	29	129.81±27.68*#			36.71±7.55*			70.37±14.32*#		
Lymphatic metastasis	No	92	117.34±36.71	0.053	0.958	33.15±10.29	0.058	0.954	61.85±20.25	0.418	0.676
	Yes	70	117.06±28.89			33.24±9.16			63.17±19.44		
Vascular invasion	No	78	118.20±33.82	0.363	0.717	32.87±9.13	0.434	0.665	61.89±17.18	0.349	0.728
	Yes	84	116.31±32.47			33.49±9.05			62.91±19.83		

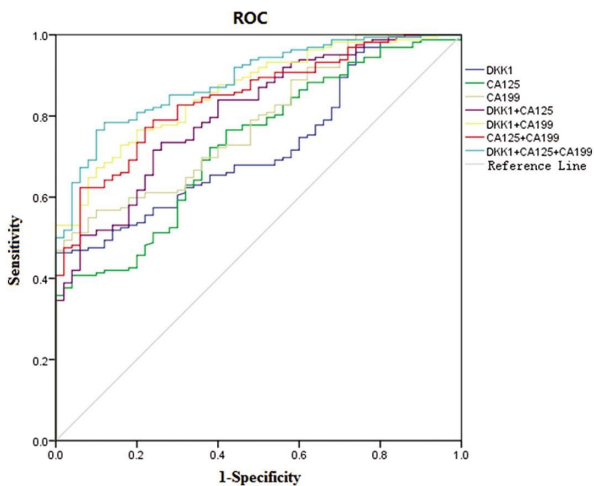


图 1 血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平对诊断 EC 的 ROC 曲线图

Fig. 1 ROC curve of serum levels of DKK1, CA125 and CA199 for diagnosis of EC

体相关蛋白结合,抑制 Wnt 信号通路,从而形成对 Wnt 信号通路的负性调节作用^[13-15]。近年来,多项研究表明,DKK1 的异常表达与机体多种疾病的发生密切相关,且在患者血清中检测的 DKK1 具有相关诊断价值,因此成为一种具有潜力的肿瘤标志物^[16-18]。DKK1 的异常表达是骨骼发育、骨代谢异常的原因之一^[19,20],沉默 DKK1 蛋白的表达可升高钙离子浓度,恢复骨骼细胞的活性^[21],而在口腔癌与咽癌中,DKK1 以及其他 Wnt 信号通路抑制基因呈异常甲基化状态,且甲基化程度可作为患者预后的参考标记物^[22-24]。Xu H 等^[4]则发现患者血清的 DKK1 水平具有为肺癌的诊断与治疗评估标记物的潜力,对于机体的血糖调节、炎症反应以及血糖异常相关的微血管病变,DKK1 同样能够通过 Wnt 信号通路的调控参与^[25]。EC 的产生是一种多因素的复杂进程,一般认为高危因素包括年龄、血糖、血脂等。本研究结果中,EC 患者血清中 DKK1 水平高于健康妇女,因此血清 DKK1 也可作为 EC 的筛查标记物之一,而结合临床病理参数的统计结果显示,虽然 FIGO 分期 I 期、II 期的患者

表 3 血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平对 EC 的诊断效能

Table 3 Diagnostic efficacy of serum levels of DKK1, CA125 and CA199 for EC

Indexes	Sensitivity(%)	Specificity(%)	AUC
DKK1	46.3	98.0	0.725
CA125	40.7	96.0	0.731
CA199	56.8	90.0	0.783
DKK1+CA125	71.6	76.0	0.807
DKK1+CA199	72.8	84.0	0.861
CA125+CA199	77.2	78.0	0.844
DKK1+ CA125+ CA199	76.5	90.0	0.888

Note: Compared with I stage, *P<0.05; compared with II stage, #P<0.05.

血清 DKK1 水平差异无统计学意义,但III期患者血清中 DKK1 的水平高于 I 期、II 期,因此血清 DKK1 水平可作为 EC 肿瘤高恶性的指示指标,为合理制定临床治疗方案提供一定的参考。

CA125 是一种经典的血清肿瘤标记物,但 CA125 检测对于早期 EC 敏感度不高,且在一些良性病变中也会呈现异常,因此存在一定程度的假阳性率^[26]。检索发现单独检测 CA125 对于 EC 的敏感度与特异性均在 60%左右^[27-29],不能满足临床的诊疗要求,因此当前的研究方向是与其他指标结合。CA199 是广泛研究的另一种肿瘤标记物,通常与 CA125 联合应用于 EC 的早期筛查中^[30]。本研究的 ROC 曲线显示,联合 CA125、CA199 检测的敏感度高于单独检测,当加入 DKK1 时,可进一步提高临床诊断效能,对 EC 的初步筛查具有一定的辅助作用,且不同于子宫内膜脱落细胞学、病理学检查及影像学检查,联合检测血清 DKK1、CA125、CA199 几乎无创,设备简单,花费较少,作为 EC 早期筛查手段具有一定的优势。

综上所述,EC 患者血清 DKK1、CA125、CA199 水平均异常升高,联合检测血清 DKK1、CA125 及 CA199 水平对于 EC 诊断效能较高,可能对 EC 早期筛查具有一定的辅助价值。

参考文献(References)

- [1] 陈慧,周思园,孙振球. 常见妇科三大恶性肿瘤的流行及疾病负担研究现状[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(6): 108-112
- [2] Jia X, Li N, Peng C, et al. miR-493 mediated DKK1 down-regulation confers proliferation, invasion and chemo-resistance in gastric cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(6): 7044-7054
- [3] Sakabe T, Azumi J, Umekita Y, et al. Expression of Cancer Stem Cell-associated DKK1 mRNA Serves as Prognostic Marker for Hepatocellular Carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(9): 4881-4888
- [4] Xu H, Wu J, Chen B, et al. Serum Dickkopf-1 (DKK1) is significantly lower in patients with lung cancer but is rapidly normalized after treatment[J]. *Am J Transl Res*, 2014, 6(6): 850-856
- [5] 余剑英,杨喜春. 化学发光免疫法检测血清 CEA, CA199 和 CA125 水平在恶性肿瘤诊断中的意义 [J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14(16): 21-23, 26
- [6] 王建六. 客观评价子宫内膜癌筛查方法[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2016, 1(5): 402-405
- [7] 沈严严,李春艳,刘瑛. B 超对子宫内膜癌的诊断价值及误诊原因分析[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(2): 251-253
- [8] Jeppesen MM, Mogensen O, Hansen DG, et al. How Do We Follow Up Patients With Endometrial Cancer[J]. *Curr Oncol Rep*, 2019, 21(7): 57
- [9] 罗茜,尹国武,朱晓明. 子宫内膜癌手术治疗的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(11): 2197-2200
- [10] Zhan T, Ambrosi G, Wandmacher AM, et al. MEK inhibitors activate Wnt signalling and induce stem cell plasticity in colorectal cancer[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2197
- [11] Betten R, Scharner B, Probst S, et al. Tonicity inversely modulates lipocalin-2 (Lcn2/24p3/NGAL) receptor (SLC22A17) and Lcn2 expression via Wnt/ β -catenin signaling in renal inner medullary collecting duct cells: implications for cell fate and bacterial infection [J]. *Cell Commun Signal*, 2018, 16(1): 74
- [12] 汪明振,邱成志,余外市,等. GPP34 激活结肠癌细胞 Wnt 信号通路促进癌细胞增殖的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(12): 15-20
- [13] Elhaj Mahmoud D, Sassi N, Drissi G, et al. sFRP3 and DKK1 Regulate Fibroblast-Like Synoviocytes Markers and Wnt Elements Expression Depending on Cellular Context[J]. *Immunol Invest*, 2017, 46(3): 314-328
- [14] Yang J, Liu Y, Mai X, et al. STAT1-induced upregulation of LINC00467 promotes the proliferation migration of lung adenocarcinoma cells by epigenetically silencing DKK1 to activate Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 514(1): 118-126
- [15] Lyros O, Lamprecht AK, Nie L, et al. Dickkopf-1 (DKK1) promotes tumor growth via Akt-phosphorylation and independently of Wnt-axis in Barrett's associated esophageal adenocarcinoma [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(2): 330-346
- [16] Zhuang X, Zhang H, Li X, et al. Differential effects on lung and bone metastasis of breast cancer by Wnt signalling inhibitor DKK1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(10): 1274-1285
- [17] Zhang J, Zhang X, Zhao X, et al. DKK1 promotes migration and invasion of non-small cell lung cancer via β -catenin signaling pathway[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 1010428317703820
- [18] Jia Y, Chen L, Guo S, et al. Baicalin induced colon cancer cells apoptosis through miR-217/DKK1-mediated inhibition of Wnt signaling pathway[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(2): 1693-1700
- [19] Martínez-Gil N, Roca-Ayats N, Monistrol-Mula A, et al. Common and rare variants of WNT16, DKK1 and SOST and their relationship with bone mineral density[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 10951
- [20] Ruaro B, Casabella A, Paolino S, et al. Dickkopf-1 (Dkk-1) serum levels in systemic sclerosis and rheumatoid arthritis patients: correlation with the Trabecular Bone Score (TBS)[J]. *Clin Rheumatol*, 2018, 37(11): 3057-3062
- [21] 万雷,黄宏兴,黄红,等. 沉默 DKK1、Sost 重组腺病毒载体的构建及其对 MG63 细胞增殖、ALP 活性和钙离子浓度影响研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(11): 1361-1369
- [22] Paluszczak J, Sarbak J, Kostrzevska-Poczekaj M, et al. The negative regulators of Wnt pathway-DACH1, DKK1, and WIF1 are methylated in oral and oropharyngeal cancer and WIF1 methylation predicts shorter survival[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(4): 2855-2861
- [23] Wang Z, Wang J, Chen Z, et al. MicroRNA-1-3p inhibits the proliferation and migration of oral squamous cell carcinoma cells by targeting DKK1[J]. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96(3): 355-364
- [24] Zhou J, Zhao L, Li B, et al. Nanorod diameter modulated osteogenic activity of hierarchical micropore/nanorod-patterned coatings via a Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Nanomedicine*, 2018, 14(5): 1719-1731
- [25] 张艳萍,刘昊凌. DKK1 在糖尿病血管病变中的研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(15): 3068-3071, 3081
- [26] 王岚,徐文生. 血清 CA125 检测对子宫内膜癌的临床价值 [J]. 中国医药导报, 2010, 7(26): 20-22, 25
- [27] Abdalla N, Piorowski R, Slomka A, et al. Analysis of serum level of HE4 and CA125 considering selected risk factors among patients with endometrioid endometrial cancer[J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2016, 20(6): 463-467
- [28] Ni T, Liu Y, Huang Y, et al. Hysteroscopy combined dilatation and curettage, serum CA125 and CA19-9 play an important role in preserving fertility or endocrine function for early-stage endometrial cancer patients[J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2017, 38(1): 49-53
- [29] Bian J, Sun X, Li B, et al. Clinical Significance of Serum HE4, CA125, CA724, and CA19-9 in Patients With Endometrial Cancer[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2017, 16(4): 435-439
- [30] 刘晓良,任健康. 血清 CA125 与 CA199 联合检测在子宫内膜癌辅助诊断中的价值[J]. 西南国防医药, 2016, 26(9): 1011-1013