

# 人附睾蛋白 4 在子宫内膜癌患者血清及组织中的表达及临床意义

周 哲<sup>1\*</sup>, 蒋 欣<sup>2</sup>, 宋继成<sup>3</sup>, 贾洪燕<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 连云港市妇幼保健院妇科, <sup>2</sup> 病理科, <sup>3</sup> 检验科, 江苏 连云港 222000)

**[摘要]** 目的:探讨人附睾蛋白 4(human epididymis protein 4, HE4)在子宫内膜癌患者血清及组织中的表达及临床意义。方法:ELISA 法检测子宫内膜癌组 40 例、子宫良性疾病组 42 例及正常对照组 40 例血清 HE4 水平,免疫组织化学检测上述子宫内膜癌、配对的癌旁组织及子宫良性疾病组组织中 HE4 的表达。结果:子宫内膜癌组血清 HE4 水平较子宫良性疾病组及正常对照组明显升高( $P<0.01$ ),子宫内膜癌组术后血清 HE4 水平较术前明显下降( $P<0.01$ ),子宫内膜癌组织 HE4 表达分别高于配对的癌旁组织及子宫良性疾病内膜组织( $P<0.01$ ),子宫内膜癌患者血清及组织 HE4 表达阳性率在不同的临床分期、肿瘤的分化程度、病灶范围、肌层浸润深度及淋巴结转移与否比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:子宫内膜癌患者血清及组织中 HE4 表达水平升高,而且其表达水平与肿瘤临床分期、分化程度、病灶大小、浸润程度及有无淋巴结转移有关,HE4 可能作为子宫内膜癌辅助诊断、病情评估及预后判断的生化指标之一。

**[关键词]** 子宫内膜癌;人附睾蛋白 4;免疫组织化学

**[中图分类号]** R737.33

**[文献标志码]** B

**[文章编号]** 1007-4368(2017)04-478-04

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20170421

近年来随着人们生活环境、生活习惯的变化以及不正规激素的治疗和滥用,国内外子宫内膜癌的发病率及病死率有逐渐升高趋势。子宫内膜癌的主要临床表现是阴道不规则出血,所以大部分患者可以在早期得到诊断,但是仍然有 30% 的患者发现时已为晚期<sup>[1]</sup>,且病情程度不同的患者其治疗决策及预后也不尽相同。寻找新的生化指标,用于子宫内膜癌的辅助诊断、病情评估、干预措施制定及改善预后是摆在我们面前的新课题。人附睾蛋白 4(human epididymis protein 4, HE4) 是一种新型的分子标记物,在子宫内膜癌的研究中逐渐受到重视<sup>[2]</sup>。本研究通过检测子宫内膜癌患者血清及组织中 HE4 水平,探讨血清 HE4 检测在子宫内膜癌诊治中的临床应用价值。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

随机选择 2013 年 10 月—2015 年 12 月连云港市妇幼保健院妇科收治的子宫内膜癌患者 40 例为子宫内膜癌组,年龄 28~72 岁[(54.6±7.3)岁],所有患者均经手术治疗,术前均未进行放疗或内分泌治疗,术后病理组织学证实为子宫内膜癌,且排除其

他器官肿瘤病史。按照 FIGO2009 年国际妇产科联盟大会临床分期标准(手术病理分期)进行分期,其中 I~II 期 26 例,III~IV 期 14 例,内膜样腺癌 30 例、腺鳞癌 5 例、浆液性癌 2 例、透明细胞癌 2 例和黏液样腺癌 1 例。癌旁组织组:配对的 40 例癌旁组织距癌组织大于 2.0 cm,且经病理组织学证实不存在癌细胞,其余暴露因素同子宫内膜癌组。随机选择同期因子宫肌瘤、功能性子宫出血、子宫腺肌瘤等良性疾病保守治疗失败需子宫切除的患者 42 例为子宫良性疾病组,年龄 35~75 岁[(53.6±7.8)岁],所有患者均经手术治疗,且排除其他器官肿瘤病史。随机选择同期健康体检者 40 例为正常对照组,肝肾功能正常,胸部 X 线检查正常,子宫附件 B 超检查正常,年龄 32~74 岁[(55.8±7.5)岁],无其他疾病史。

### 1.2 方法

血样标本采集于患者入院次日或体检当天空腹时,子宫内膜癌组于术后 1 周再次采集标本,所有患者在清晨空腹时于肘静脉采全血 4 mL,室温静置 1 h 后离心取上清(3 000 r/min),冻存于-70℃冰箱待用。检测方法为酶联免疫吸附试验(ELISA 双抗体夹心法),所用实验操作严格按照试剂说明书进行,以血清 HE4>150 pmol/L 为阳性(正常参考值为 0~150 pmol/L)。组织标本以 10% 中性福尔马林固定,石蜡包埋 4~5 μm 厚切片待检。所用一抗 HE4 为兔抗人多克隆抗体(北京中杉金桥公司),二抗即用型

**[基金项目]** 连云港市卫生局课题(1402)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: zzhou@163.com

MaxVision 试剂及 DAB 显色剂均为福州迈新生物公司产品。采用 MaxVision™ 快捷免疫组化法, 柠檬酸盐 (pH6.0) 抗原修复, DAB 显色, 苏木精对比染色, 配有阳性对照 (已知阳性的附睾组织) 和阴性对照 (PBS 代替一抗) 切片。免疫组化结果判定采用半定量积分法 (结合染色强度与染色百分率综合评分): ①染色强度: 无着色为 0 分, 浅黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分; ②染色百分率: 染色细胞百分率 < 25% 为 1 分, 25%~50% 为 2 分, 51%~75% 为 3 分, > 75% 为 4 分, 最后以 ①② 项评分两者的乘积作为总积分: ≤ 2 分为阴性 (-); > 2 分为阳性 (+)。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析, 符合正态分布的计量资料采用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 血清 HE4 水平呈非正态分布, 采用中位数 (四分位区间) 表示, 经自然对数转换后 (lnHE4) 符合正态分布。两组间均数比较采用 *t* 检验, 两组间构成比采用  $\chi^2$  检验。 *P* ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HE4 在血清中的表达

子宫内膜癌组血清 HE4 水平较子宫良性疾病组及正常对照组均有显著上升, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.01, 表 1)。子宫内膜癌组术后血清 HE4 水平较术前显著下降, 差异有统计学意义 (lnHE4: 3.51 ± 0.73 vs. 5.41 ± 0.87, *t* = 10.59, *P* < 0.01)。

表 1 3 组血清 HE4 水平比较

组别	例数	HE4 (pmol/L)	lnHE4
子宫内膜癌组	40	273.30(103.25, 469.70)	5.41 ± 0.87 <sup>#</sup>
子宫良性疾病组	42	71.16(43.22, 102.95)	4.13 ± 0.68
正常对照组	40	29.32(18.18, 69.88)	3.48 ± 0.89

与子宫良性疾病组比较, *P* < 0.01; 与正常对照组比较, <sup>#</sup>*P* < 0.01。

### 2.2 子宫内膜癌组血清 HE4 水平与临床病理特征的关系

子宫内膜癌组血清 HE4 水平在不同临床分期、细胞分化程度、病灶大小、浸润子宫肌层的深度及盆腔淋巴结转移的患者间比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 在不同年龄、组织学类型的患者间差异无统计学意义 (*P* > 0.05, 表 2)。

### 2.3 HE4 在各组组织中的表达

子宫内膜癌组织 HE4 表达与配对的癌旁组织及子宫良性疾病内膜组织比较, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.01), 配对的癌旁组织 HE4 表达与子宫良性

表 2 子宫内膜癌患者术前血清 HE4 水平与临床病理特征的关系

分组	例数	血清 HE4	
		阳性 [n(%)]	<i>P</i> 值
年龄			0.577
≥ 60 岁	21	15(71.4)	
< 60 岁	19	12(63.2)	
临床分期			0.031
I ~ II 期	26	14(53.8)	
III ~ IV 期	14	13(92.9)	
组织学类型			0.845
内膜样腺癌	30	20(66.7)	
其他	10	7(70.0)	
分化程度			0.016
高分化	23	12(52.2)	
中低分化	17	15(88.2)	
病灶范围			0.027
局限型	24	13(54.1)	
弥漫型	16	14(87.5)	
肌层浸润			0.016
< 1/2	22	11(50.0)	
≥ 1/2	18	16(88.9)	
淋巴结转移			0.010
无	34	4(11.8)	
有	6	4(66.7)	

疾病组内膜组织 HE4 表达差异无统计学意义 (*P* > 0.05, 表 3)。

表 3 HE4 在 3 组病理组织中表达的比较

组别	例数	组织 HE4		
		阳性	阴性	阳性率 (%)
子宫内膜癌组	40	32	8	80 <sup>#</sup>
癌旁组织组	40	2	38	5
子宫良性疾病组	42	0	42	0

与癌旁组织组比较, <sup>#</sup>*P* < 0.01; 与子宫良性疾病组比较, <sup>#</sup>*P* < 0.01。

### 2.4 子宫内膜癌组织 HE4 表达与病理特征的关系

子宫内膜癌组织 HE4 水平在不同临床分期、细胞分化程度、病灶大小、浸润子宫肌层的深度及盆腔淋巴结转移的患者间比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 在不同组织学类型的患者间差异无统计学意义 (*P* > 0.05, 表 4)。

## 3 讨论

子宫内膜癌是最常见的女性生殖系统恶性肿瘤之一, 老年女性为多发人群, 但是近来有逐渐年轻化的趋势, 及时发现早期干预能改善其预后, 提高 5 年

表4 子宫内膜癌组织 HE4 表达与病理特征的关系

分组	例数	组织 HE4	
		阳性[n(%)]	P 值
临床分期			0.047
I~II 期	26	18(69.2)	
III~IV 期	14	14(100.0)	
组织学类型			0.405
内膜样腺癌	30	24(80.0)	
其他	10	8(80.0)	
分化程度			0.044
高分化	23	16(69.6)	
中低分化	17	16(94.1)	
病灶范围			0.044
局限型	24	16(66.7)	
弥漫型	16	16(100.0)	
肌层浸润			0.032
<1/2	22	15(68.2)	
≥1/2	18	17(94.4)	
淋巴结转移			0.001
无	34	4(11.8)	
有	6	5(83.3)	

生存率。传统的子宫内膜癌的早期诊断依赖于临床上不规则的阴道出血,但是由于子宫内膜癌的发病年龄多处于绝经期前后,而绝经期前后功能失调性子宫出血的发生率高,况且部分患者心理上不接受诊断性刮宫,所以很多子宫内膜癌患者不能得到早期的及时诊断<sup>[3]</sup>。

目前子宫内膜癌尚无敏感性和特异性均高的肿瘤标记物。CA125 作为传统的子宫内膜癌检测的生化指标,其敏感性特异性都不理想,文献报道在子宫内膜癌的初始阶段,HE4 相对于 CA125 更容易产生并进入周围血液,所以血清 HE4 敏感性较 CA125 为高,从而表明 HE4 可以作为子宫内膜癌早期筛查指标<sup>[4]</sup>。虽然早在 1991 年就有 HE4 基因的报道,但是初期未见跟踪的临床报道,近年来人们才逐渐关注血清 HE4 测定对子宫内膜癌诊断的价值,并发现其对于子宫内膜癌患者的病情评估、疗效评价以及手术范围制定等方面具有临床意义<sup>[5-7]</sup>。有文献报道子宫内膜癌患者各个时期血清 HE4 水平均上升,血清 HE4 敏感性在子宫内膜癌早期比 CA125 高<sup>[8]</sup>。CA125 对子宫内膜癌诊断的敏感度,仅为 27.50%,而 HE4 对子宫内膜癌诊断的敏感度为 41.25%<sup>[9]</sup>。而且对于 I 期患者 HE4 的敏感度较 CA125 增高 17.1%,子宫内膜癌各期不同阶段的患者中,当 ROC 曲线下面积最大时,HE4 比其他所有指标的单一标

记物为好,当特异度为 95%时,HE4 的敏感度为 45.5%,优于其他任何单一肿瘤标记物。本研究结果显示子宫内膜癌患者血清 HE4 水平显著高于子宫良性疾病组及正常对照组,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。免疫组化结果表明子宫内膜癌组织中 HE4 蛋白表达明显高于癌旁组织和子宫良性疾病组的子宫内膜组织,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),子宫内膜癌患者术后血清 HE4 水平显著低于术前,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),与上述文献结果一致,说明血清 HE4 检测可能在子宫内膜癌患者的辅助诊断、疗效评价方面有一定的应用价值。

本研究显示,子宫内膜癌患者血清及组织 HE4 的表达分别在不同临床分期、肿瘤的分化程度、病灶范围大小、肌层浸润程度及淋巴结是否转移方面进行比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Bignotti 等<sup>[10]</sup>采用酶联免疫吸附法测定血清 HE4 蛋白的水平,显示子宫内膜癌患者中血清 HE4 水平与年龄、临床分期、绝经与否、病理别级、肌层浸润程度、腹水有否、淋巴结是否转移等呈正相关,并且可以根据 HE4 检测水平进行高危患者的评估与筛选,为高危患者的优化治疗提供证据。Moore 等<sup>[11]</sup>研究结果显示,血清 HE4 水平在有无肌层浸润、肌层浸润的深度与范围不同的患者间比较,有显著性差异。Kalogera 等<sup>[12]</sup>的研究结果也表明,血清组织 HE4 的表达水平与子宫肌层的浸润范围有关,子宫肌层浸润深度  $\geq 1/2$  与  $< 1/2$  患者比较,HE4 水平明显上升。提示子宫内膜癌患者血清及组织 HE4 表达高低都能反映病情严重程度、病变范围等,为临床制定治疗决策、评估其预后提供帮助。临床分期是影响子宫内膜癌患者预后的重要因素,本研究结果显示子宫内膜癌 III~IV 期比 I~II 期患者血清及组织 HE4 的表达明显增高( $P<0.05$ ),提示 HE4 可能作为子宫内膜癌患者预后的一个指标,与文献报道一致<sup>[13]</sup>。

综上所述,子宫内膜癌患者血清及组织 HE4 表达水平显著升高,随着手术治疗病情控制,血清 HE4 水平下降。而且不论血清还是组织 HE4 表达水平与病情严重程度病变范围均有密切关系,提示 HE4 在子宫内膜癌的发生发展中起到重要作用,血清 HE4 的测定有助于子宫内膜癌的辅助诊断、病情评估、治疗决策及预后判断。

## [参考文献]

- [1] Li J, Dowdy S, Tipton T, et al. HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management[J]. Expert Rev

- Mol Diagn,2009,9(6):555-566
- [2] Mutz-Dehbalai M,Egle D,Fessler S,et al. HE4 is an independent prognostic marker in endometrial cancer patients[J]. *Gynecol Oncol*,2012,126(2):186-191
- [3] 马 荣,耿晓星,唐丽萍,等. 人附睾分泌蛋白 4 检测对子宫内膜癌的诊断及预后的意义 [J]. *临床肿瘤学杂志*,2011,16(9):790-793
- [4] 丁 巍,李 璞,朱颖军. 人附睾分泌蛋白 4 在子宫内膜非典型增生患者中筛查子宫内膜癌的临床价值[J]. *国际妇产科学杂志*,2016,2(43):165-168
- [5] Minúr L,Klabenesová I,Jandáková E. The importance of HE4 in differential diagnosis of endometrial cancer [J]. *Ceska Gynekol*,2015,80(4):256-263
- [6] Deng L,Gao Y,Li X,et al. Expression and clinical significance of annexin A2 and human epididymis protein 4 in endometrial carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2015,34:96
- [7] Li X,Gao Y,Tan M,et al. Expression of HE4 in endometrial cancer and its clinical significance[J]. *Biomed Res Int*,2015,2015:437468
- [8] Moore RG,Brown AK,Miller MC,et al. Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus[J]. *Gynecol Oncol*,2008,110(2):196-201
- [9] 高 丹. 血清人附睾分泌蛋白 E4 与癌抗原 125 联合检测对子宫内膜癌的診断的临床价值[J]. *医药论坛杂志*,2016,37(1):49-52
- [10] Bignotti E,Ragnoli M,Zanotti L,et al. Diagnostic and prognostic impact of serum HE4 detection in endometrial carcinoma patients [J]. *Br J Cancer*,2011,104(9):1418-1425
- [11] Moore RG,Miller CM,Brown AK,et al. Utility of tumor marker HE4 to predict depth of myometrial invasion in endometrioid adenocarcinoma of the uterus[J]. *Int J Gynecol Cancer*,2011,21(7):1185-1190
- [12] Kalogera E,Scholler N,Powless CA,et al. Correlation of serum HE4 with tumor size and myometrial invasion in endometrial cancer[J]. *Gynecol Oncol*,2012,124(2):270-275
- [13] Angioli R,Miranda A,Aloisi A,et al. A critical review on HE4 performance in endometrial cancer:where are we now[J]. *Tumour Biol*,2014,35(2):881-887
- [收稿日期] 2016-12-17

(上接第 470 页)

- 病情况调查[J]. *山东大学学报(医学版)*,2010,48(8):5-7,12
- [7] Lal G,Groff M,Howe JR,et al. Risk of subsequent primary thyroid cancer after another malignancy: latency trends in a population-based study[J]. *Ann Surg Oncol*,2012,19(6):1887-1896
- [8] Giuliano M,Trivedi MV,Schiff R. Bidirectional crosstalk between the estrogen receptor and human epidermal growth factor receptor 2 signaling pathways in breast cancer: molecular basis and clinical implications[J]. *Breast Care (Basel)*,2013,8(4):256-262
- [9] Shi XZ,Jin X,Xu P,et al. Relationship between breast cancer and levels of serum thyroid hormones and antibodies: a meta-analysis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*,2014,15(16):6643-6647
- [10] 李建周,金勇君,刘 欣,等. 血清促甲状腺激素水平与甲状腺癌发病的相关性[J]. *中华肿瘤杂志*,2011,12(33): 921-924
- [11] 陈 兴,郭智华,罗辉遇,等. 甲状腺激素与甲状腺结节良恶性的关系[J]. *天津医药*,2014,42(7):687-689
- [12] Kang HW,No JH,Chung JH,et al. Prevalence,clinical and ultrasonographic characteristics of thyroid incidentalomas[J]. *Thyroid*,2004,14(1):29-33
- [13] 刘红刚. 加强对甲状腺微小乳头状癌的深入探讨[J]. *中华病理学杂志*,2016,45(6):361-363
- [14] Park JS,Oh KK,Kim EK,et al. Sonographic detection of thyroid cancer in breast cancer patients[J]. *Yonsei Med J*,2007,48(1):63-68
- [15] 张晓清,卞卫和,姚 昶,等. 乳腺癌与甲状腺疾病关系的临床研究[J]. *山西医药杂志*,2016,45(8):940-942
- [16] Cho JY,Léveillé R,Kao R,et al. Hormonal regulation of radioiodide uptake activity and Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter expression in mammary glands [J]. *J Clin Endocrinol Metab*,2000,85(8):2936-2943
- [17] Nogueira CR,Brentani MM. Triiodothyronine mimics the effects of estrogen in breast cancer cell lines[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*,1996,59(3/4):271-279
- [18] 王深明,李梓伦. 重视甲状腺结节的正确评估和随访 [J]. *中国实用外科杂志*,2010,30(10):824-827
- [19] 田 文,姚 京. 重视甲状腺结节规范化诊治[J]. *中国实用外科杂志*,2015,35(6):579-583
- [20] 马泓智,房居高. 喉甲状腺同期重复癌 1 例[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*,2006,13(6):364
- [21] Davies L,Welch HG. Current thyroid cancer trends in the United States[J]. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*,2014,140(4): 317-322
- [22] Pusztaszeri MP,Faquin WC. Cytologic evaluation of cervical lymph node metastases from cancers of unknown primary origin[J]. *Semin Diagn Pathol*,2015,32(1):32-41
- [23] 陈 杰,魏 威,黄文孝,等. 119 例颈部转移癌误诊原因分析[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*,2014,17(3): 31-32
- [收稿日期] 2016-11-04