

子宫内膜癌患者外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 水平分析

王亚玲

【摘要】 目的 检测子宫内膜癌(EC)患者外周血高迁移率蛋白 A1(HMGA1)、细胞角蛋白 19(CK19)和细胞角蛋白 20(CK20)表达水平,并探讨其临床意义。**方法** 回顾性分析 2014 年 1 月—2017 年 6 月本院收治的 76 例 EC 患者的临床资料,76 例 EC 患者作为观察组,选择同期 50 例健康女性体检者作为健康组。采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)法检测并对比两组外周血中 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平,对比各病理参数、随访 1 年内复发和死亡患者 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平差异。**结果** 观察组外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平均明显高于健康组($P < 0.05$);观察组不同年龄、病理类型、组织分化程度、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)阳性患者外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平比较,差异均无统计学意义,临床分期Ⅱ~Ⅳ期、肌层浸润深度 $\geq 1/2$ 、有淋巴结转移患者外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平明显高于临床分期Ⅰ期、肌层浸润深度 $< 1/2$ 、无淋巴结转移患者(P 均 < 0.05);术后 1 年内复发及死亡患者中 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平明显高于未复发及存活患者(P 均 < 0.05)。**结论** 外周血中 HMGA1、CK19 和 CK20 的高表达与 EC 多种病理学特征有关,且在复发与未复发、死亡与存活患者外周血中存在差异,可能成为临床中评估 EC 患者预后的重要指标之一。

【关键词】 子宫内膜癌; 外周血; 高迁移率蛋白 A1; 细胞角蛋白 19(CK19); 细胞角蛋白 20(CK20)

子宫内膜癌(endometrial cancer, EC)手术及放化疗效果不佳,研究认为与肿瘤细胞在发病早期即可进入外周血有关^[1-3]。故寻找特异、敏感的外周血肿瘤细胞标志物有重要意义。研究发现^[4-5],高迁移率蛋白 A1 (high mobility group protein A1, HMGA1)、细胞角蛋白 19 (cytokeratin 19, CK19) 和细胞角蛋白 20 (cytokeratin 20, CK20) 在正常细胞中不表达或少量表达,而在多种肿瘤细胞中均高表达,但目前关于三者在 EC 中的表达及其对预后的影响报道尚少,本研究回顾性分析本院收治的 EC 患者及健康者的临床资料,报道如下。

资料与方法

1. 对象:回顾性分析 2014 年 1 月—2017 年 6 月本院收治的 76 例 EC 患者的临床资料,设为观察组,其中年龄 41~72 岁,平均 (53.2 ± 6.2) 岁,体重指数(body mass index, BMI)为 (21.3 ± 2.2) kg/m²;病理类型包括子宫内膜样腺癌者 68 例、浆液性癌 8 例;分化程度低者 6 例,分化程度中或高者 70 例;临床分期为Ⅰ期 52 例、Ⅱ期 12 例、Ⅲ期 11 例、Ⅳ期 1 例;基层浸润深度 $< 1/2$ 者 47 例,浸润深度 $\geq 1/2$ 者 29 例;雌激素受体(estrogen receptor, ER)阳性者 33 例,孕激素受体(progesterone receptor, PR)阳性者

46 例,存在淋巴结转移者 12 例。另外,选择同期健康女性体检者 50 例作为健康组,年龄 40~72 岁,平均 (52.1 ± 6.5) 岁, BMI 为 (22.1 ± 2.7) kg/m²。两组年龄、BMI 差异无统计学意义,具有可比性。纳入标准为(1)所有患者均经组织病理学证实为 EC; (2)既往未接受过放化疗、激素等治疗者; (3)临床资料完整者。排除标准为(1)合并其他恶性肿瘤者; (2)合并严重造血功能障碍者; (3)其他严重生殖系统疾病者。本研究经本院伦理委员会审批。

2. 资料收集:统计患者年龄、身高、体重、手术病理类型、临床分期、组织分化程度、浸润程度、是否存在淋巴结转移、ER、PR 测定结果、手术情况等基本资料,并统计患者术后 1 年内复发或死亡情况。临床分期、病理类型及组织分化程度采用国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)分期标准^[6];复发诊断依据(1)妇科或影像学检查发现腹盆腔或盆腔外肝、肺等远端发现转移病灶;(2)腹水或胸水中检测到癌细胞^[7]。手术方式根据不同病理分期,进行筋膜外全子宫+双附件切除术、次广泛、广泛子宫切除术、盆腔淋巴结切除+腹主动脉旁淋巴结取样术、大网膜+阑尾切除术。

3. 外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 表达检测:收集观察组和健康组受试者空腹静脉 5 ml 血样,应用乙二胺四乙酸进行抗凝,采用 QiaAmp 试剂盒(北京

市,北京诺博莱德科技有限公司)提取外周血核糖核酸(ribonucleic acid,RNA),应用逆转录试剂盒(日本Takara公司)获得互补连脱氧核糖核酸(complementary deoxyribonucleic acid,cDNA),产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定后,采用实时荧光定量聚合酶链反应法(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction,RT-PCR)检测HMGA1、CK19和CK20 mRNA表达情况。设定反应体系:聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR) buffer 6.5 μL,上下游引物各 2 μl,荧光探针 1 μl,Taq 9.5 μl,cDNA 5 μl;反应条件:94 ℃预变性 5 min;94 ℃变性 10 s,64 ℃退火 25 s,72 ℃延伸 45 s,重复 40 个循环。所用引物及探针均由南京金斯瑞生物科技有限公司设计和合成。采用 PE7700 荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems instruments 公司)进行检测,并根据绘制标准曲线计算各组样品浓度(copies/μl)。

4. 观察指标:(1)观察组和健康组外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平对比;(2)观察组外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平与病理参数的关系;(3)观察组术后 1 年内复发与未复发患者 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平差异;(4)观察组术后 1 年内死亡与存活患者 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平差异。

5. 统计学处理:应用 SPSS22.0 统计软件对数据进行分析处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,分析采用 *t* 检验。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

结果

1. 观察组和健康组外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平对比:观察组外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平均明显高于健康组,差异有统计学意义。见表 1。

表 1 外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平对比($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGA1 (ng · mL ⁻¹)	CK19 (pg · mL ⁻¹)	CK20 (pg · mL ⁻¹)
观察组	76	21.36 ± 2.55 *	8.31 ± 1.15 *	14.67 ± 2.03 *
健康组	50	0.68 ± 0.57	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.03

注:与健康组比较,**P* < 0.05

2. 观察组外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平与病理参数的关系:观察组不同年龄、病理类型、组织分化程度、ER、PR 阳性患者外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平比较,差

异均无统计学意义,临床分期Ⅱ~Ⅳ期、肌层浸润深度 ≥ 1/2、有淋巴结转移患者外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平明显高于临床分期Ⅰ期、肌层浸润深度 < 1/2 和无淋巴结转移患者,差异均有统计学意义。见表 2。

表 2 观察组外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平与病理参数的关系($\bar{x} \pm s$)

病理参数	例数	HMGA1 (ng · mL ⁻¹)	CK19 (pg · mL ⁻¹)	CK20 (pg · mL ⁻¹)
年龄(岁)				
<60	32	21.10 ± 3.57	8.02 ± 1.22	14.51 ± 2.03
≥60	44	20.82 ± 2.90	8.52 ± 1.04	14.79 ± 2.06
病理类型				
子宫内膜样腺癌	68	21.22 ± 3.61	8.36 ± 0.97	14.72 ± 1.65
浆液性腺癌	8	22.55 ± 3.50	7.89 ± 0.81	14.25 ± 2.37
分化程度				
低	6	20.95 ± 2.94	8.63 ± 0.95	14.70 ± 1.63
中、高	70	21.40 ± 3.08	8.28 ± 1.00	14.67 ± 1.98
临床分期				
Ⅰ期	52	20.11 ± 2.57	6.92 ± 0.84	12.10 ± 1.62
Ⅱ~Ⅳ期	24	24.06 ± 3.69 *	11.32 ± 1.41 *	20.23 ± 2.14 *
肌层浸润				
<1/2	47	18.64 ± 2.16	7.05 ± 0.82	13.28 ± 1.80
≥1/2	29	25.77 ± 3.42 *	10.35 ± 1.44 *	16.92 ± 1.53 *
ER				
(-)	43	21.49 ± 2.47	8.50 ± 1.15	14.65 ± 1.76
(+)	33	21.26 ± 3.59	8.16 ± 1.14	14.69 ± 1.82
PR				
(-)	30	21.98 ± 3.98	8.47 ± 1.16	14.58 ± 1.80
(+)	46	20.96 ± 3.74	8.21 ± 1.09	14.73 ± 1.66
淋巴结转移				
无	64	19.46 ± 2.08	7.52 ± 0.83	13.50 ± 1.51
有	12	31.51 ± 4.02 *	12.50 ± 1.42 *	20.92 ± 2.37 *

注:同一指标内比较,**P* < 0.05

3. 观察组复发与未复发患者 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平差异:术后 1 年内复发患者中 HMGA1、CK19 和 CK20mRNA 表达水平明显高于未复发患者,差异有统计学意义。见表 3。

表 3 复发与未复发患者 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平差异($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGA1 (ng · mL ⁻¹)	CK19 (pg · mL ⁻¹)	CK20 (pg · mL ⁻¹)
复发	6	38.40 ± 4.47 *	15.37 ± 1.98 *	28.46 ± 3.05 *
未复发	70	19.90 ± 2.16	7.70 ± 1.05	13.49 ± 1.42

注:与未复发患者比较,**P* < 0.05

4. 观察组死亡与存活患者 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平差异:术后 1 年内死亡患者中 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平明显高于存活患者,差异有统计学意义。见表 4。

表 4 死亡与存活患者 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平差异($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGA1 (ng · mL ⁻¹)	CK19 (pg · mL ⁻¹)	CK20 (pg · mL ⁻¹)
死亡	3	57.34 ± 6.35 *	18.07 ± 2.15 *	38.54 ± 4.21 *
存活	73	19.88 ± 2.28	7.91 ± 1.10	13.69 ± 2.93

注:与存活患者比较, * $P < 0.05$

讨论

EC 属于子宫内膜上皮性恶性肿瘤,其发病机制至今尚未阐述清楚,有学者认为可能由于无孕酮拮抗的雌激素对子宫内膜上皮长期作用,进而导致上皮细胞增生性改变,最终引起细胞癌化^[8]。调查发现^[9],围绝经期女性 EC 发病率较高,且部分患者可能忽略此时期不规则阴道流血症状,贻误诊断及治疗最佳时期,导致术后或综合治疗后仍有复发和转移风险,这不仅对患者生活和治疗造成严重影响,且威胁患者生命。因此,亟需寻找早期诊断或预测 EC 复发和转移的肿瘤细胞标志物,及时制定并实施有效干预措施,对减少复发、延长生存期有重要意义。

本研究发现,观察组外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平均明显高于健康组,提示 EC 患者外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 异常高表达。HMGA1 是高迁移率蛋白超家族重要成员之一,存在于真核细胞内,属于非组蛋白染色体的结合蛋白,定位于多种癌细胞染色体断裂点的簇集区,在妇科肿瘤中表达存在一定特异性^[10]。赵丽娟等研究发现^[11],乳腺癌患者病灶组织及血清中 HMGA1 表达水平与乳腺良性肿瘤患者相比显著较高,与本研究结果相似。CK19 和 CK20 均属于小分子量角蛋白,是构成细胞骨架的重要蛋白之一,在多种上皮来源恶性肿瘤细胞中均有表达,而健康人外周血中不表达^[12]。因此,若循环血中检测到 CK19 和 CK20,可提示上皮性癌细胞存在于血液循环系统,具备肿瘤转移的基础。陈国飞等^[13]采用 RT-PCR 法检测胃癌患者外周血中 CK19 mRNA 表达情况,并应用受试者工作曲线(receiver operative characteristic curve, ROC)分析发现,CK19 mRNA 高表达,且是胃癌早期诊断的有效分子指标。本研究应用 RT-PCR 法检测并对比健康受试者与 EC 患者外周血中 HMGA1、

CK19 和 CK20 mRNA 表达水平,发现三者均异常高表达,检测三者表达水平可能对 EC 的病理特征和预后具有重要临床价值。

本研究发现临床分期越晚、肌层浸润 $\geq 1/2$ 和存在淋巴结转移的子宫内膜癌患者外周血的 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平明显升高,存在较好的灵敏度和特异性,最佳评价阈值尚需进一步采用 ROC 曲线分析。术后 1 年内复发及死亡患者中 HMGA1、CK19 和 CK20 表达水平明显高于未复发及存活患者,提示该指标对预后有一定的预测价值,这可能与 HMGA1 基因参与染色质变异^[14],通过调控癌细胞转移、侵袭相关基因的转录和翻译,进而参与肿瘤恶性进展有关^[15];另外,外周血中检测到 CK19 和 CK20,常提示肿瘤细胞已存在转移的风险,相关机制尚不明确。HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 与临床分期越晚、肌层浸润深度和淋巴结转移是否成正相关,尚需下一步相关性研究。谭文福等研究发现^[16],复发宫颈癌患者外周血 HMGA1、CK19 蛋白表达水平显著高于未复发者,与本研究结果相似。由此,外周血 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 表达水平与 EC 患者临床分期、是否伴淋巴结转移和肌层浸润等病理特征有关,且影响预后。

综上所述,外周血中 HMGA1、CK19 和 CK20 的高表达与 EC 多种病理学特征有关,且在复发与未复发、死亡与存活患者外周血中存在差异,可能成为临床中评估 EC 患者预后的重要指标之一,提示临床中可通过检测此三种基因在外周血中表达评估患者病情及预后,且可通过积极控制 HMGA1、CK19 和 CK20 mRNA 的表达,干扰 EC 进程,进而减少复发及死亡情况。

参 考 文 献

- 1 Perez-Lopez FR, Pasupuleti V, Gianuzzi X, et al. Systematic review and meta-analysis of the effect of metformin treatment on overall mortality rates in women with endometrial cancer and type 2 diabetes mellitus. *Maturitas*, 2017, 101: 6-11.
- 2 张静,杜善平,刘晓英,等. 绝经前子宫内膜癌临床特征及诊断. *现代肿瘤医学*, 2017, 25: 934-936.
- 3 祁晓莉,马秀华,周蓉,等. 微量子宫内膜活检在子宫内膜癌及癌前病变筛查中的应用价值. *中国妇产科临床杂志*, 2017, 18: 401-403.
- 4 梁铮,鲍永霞,苏冬菊,等. 细胞角蛋白 19 片段的临床应用. *现代医学*, 2016, 44: 755-758.