

HE4 和 CA125 在卵巢肿瘤患者血清中的表达

苏汉文 向梅先

摘要 **目的** 分析人附睾分泌蛋白 4(HE4)和 CA125 在卵巢肿瘤中的表达。**方法** 选择 2011 年 9 月~2013 年 1 月因盆腔包块手术治疗的患者 308 例。其中卵巢癌 178 例(浆液性癌 101 例、子宫内膜样癌 34 例、黏液性癌 28 例、透明细胞癌 15 例),盆腔良性包块 130 例,卵巢癌组临床 I~II 期 55 例、III~IV 期 123 例。同期体检健康人群 40 例为对照组。应用 Roche Cobas e601 及其配套试剂和 Siemens ADVIA Centaur XP 及其配套试剂分别检测血清 HE4 和 CA125 的含量。**结果** 浆液性癌和子宫内膜样癌血清 HE4 表达明显高于黏液性癌与透明细胞癌($P<0.001$),血清 CA125 表达浆液性癌明显高于其他 3 型($P<0.05$)。卵巢癌临床各期血清 HE4 表达差异无统计学意义($P>0.05$),而血清 CA125 表达临床 III~IV 期高于临床 I~II 期($P<0.05$)。对卵巢癌诊断的敏感度和特异性 HE4 均高于 CA125 ($P<0.05$),联合检测 HE4 和 CA125 比单独检测二者敏感度均有提高($P<0.05$)。**结论** HE4 和 CA125 在卵巢癌中表达差异有统计学意义,CA125 在卵巢癌临床 III~IV 期高表达,HE4 表达与卵巢癌临床分期无相关性。

关键词 卵巢癌 HE4 CA125

[中图分类号] R737 [文献标识码] A

Expression of Serum HE4 and CA125 in Ovarian Tumors. Su Hanwen, Xiang Meixian. Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430060, China

Abstract **Objective** To analyze the expression of human epididymis secretory protein 4 (HE4) and CA125 in patients with ovarian tumors. **Methods** Totally 308 patients underwent surgical treatment were chosen in this study, including 178 cases of ovarian cancer and 130 cases of pelvic cavity. For clinical classification, we chose 55 patients who were in clinical stage I - II and 123 patients who were in stage III - IV. And 40 healthy people were recruited as controls. The level of serum HE4 was detected by Roche Cobas e601 electrochemical luminescence immunity analyzer, meanwhile, the level of serum CA125 was detected by Siemens ADVIA Centaur XP chemiluminescence immune analyzer. **Results** The level of serum HE4 in serous carcinoma group and endometrial carcinoma group were significantly higher than mucous carcinoma group and transparent cell carcinoma group. However, the level of CA125 in serous carcinoma group was significantly higher than other groups ($P<0.05$). Compared with ovarian cancer clinical stage I - II group, the serum level of HE4 had no significant difference in clinical stage III - IV group ($P>0.05$), however the level of CA125 was significantly higher in clinical stage III - IV group ($P<0.05$). In diagnosis of ovarian cancer, HE4 was more sensitive and specific than CA125 ($P<0.05$), furthermore the combined detection of HE4 and CA125 was more valuable than HE4 or CA125 alone ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of HE4 and CA125 in ovarian cancer was organized diversity. The level of CA125 was significant increase in ovarian cancer clinical stage III - IV, however, the level of HE4 has no relevance with ovarian cancer clinical stage.

Key words Ovarian cancer; CA125; HE4

卵巢癌是最常见女性生殖器官恶性肿瘤之一,据统计 2010 我国卵巢癌发生率为 10.13/10 万,且呈逐年升高趋势。卵巢癌早期患者 5 年生存率约为 95%,而晚期仅 20%~25%,目前临床上仅约 25%的患者能被早期发现^[1]。因此早发现、早诊断对于卵巢癌患者意义重大。目前,血清糖类抗原 125(carbo-

hydrate antigen 125, CA125)是临床上广泛应用的卵巢癌相关肿瘤标志物,其临床价值已得到认可。但是 CA125 在卵巢癌早期诊断敏感度较低(仅为 40%~50%),同时在一些非恶性疾病如子宫内膜异位症、盆腔炎症中也会有不同程度的升高,对卵巢癌诊断特异性偏低^[2]。因此,为提高卵巢癌早期诊断的敏感度和特异性,寻找其他肿瘤标志物或与 CA125 联合应用可能是不错的选择。血清人附睾蛋白 4(human epididymis protein 4, HE4)是 1999 年发现的新的卵巢癌肿瘤标志物,基础研究发现其在正常卵巢组织和良

基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(BZY11018)

作者单位:430060 武汉大学人民医院检验科(苏汉文);430074 武汉,中南民族大学(向梅先)

性肿瘤中表达极低,而在卵巢癌中高表达,提示其对卵巢癌诊断可能存在一定的价值,目前关于 HE4 的临床研究较少,其临床意义还需要进一步验证^[3]。本研究对 HE4 和 CA125 进行回顾性比较,探讨其在不同组织类型及不同临床分期卵巢癌中的表达。

材料与方法

1. 材料:选择 2011 年 9 月~2013 年 1 月因盆腔包块在武汉大学人民医院手术治疗的患者 308 例。根据术后病理报告将患者分为卵巢癌组(178 例)和盆腔良性包块组(卵巢良性肿瘤组,130 例),卵巢癌组又分为浆液性癌组(101 例)、子宫内膜样癌组(34 例)、黏液性癌组(28 例)和透明细胞癌组(15 例)。卵巢癌组临床 I~II 期 55 例、III~IV 期 123 例。同期笔者医院体检健康人群 40 例为对照组。

2. 方法:应用 ROACH Cobas e601 电化学发光免疫分析仪及其配套 HE4 试剂检测血清 HE4 的含量,血清 HE4 > 150 pmol/L 判断为阳性。SIEMENS ADVIA CENTAUR XP 化学发光免疫分析仪及其配套 CA125 试剂检测血清 CA125 含量,CA125 > 35 U/ml 判断为阳性。

3. 统计学方法:数据分析采用统计学软件 SPSS 17.0,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间均数比较用独立样本 *t* 检验,各组间均数的比较用单因素方差分析(*one-way*

ANOVA),阳性率比较采用 χ^2 检验;诊断指标的综合评价应用 ROC 曲线分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. HE4 和 CA125 在卵巢良、恶性肿瘤和对照组中的表达:卵巢癌组内和卵巢良性肿瘤组 HE4 与 CA125 阳性率的比较差异均有统计学意义($\chi^2 = 4.389, P < 0.05; \chi^2 = 2.756, P < 0.05$),详见表 1。

表 1 HE4 和 CA125 在卵巢良、恶性肿瘤和对照组中的水平及阳性率的比较

组别	卵巢癌组 (<i>n</i> = 178)	卵巢良性 肿瘤组(<i>n</i> = 130)	对照组 (<i>n</i> = 40)
HE4 浓度(pmol/L)	425.6 ± 205.42	125.38 ± 16.55 [#]	96.3 ± 10.37 [*]
阳性率[<i>n</i> (%)]	131(73.6)	5(3.9) [#]	0(0) [*]
CA125 浓度(U/ml)	698.5 ± 312.54	50.6 ± 21.28 [*]	20.6 ± 7.78 [*]
阳性率[<i>n</i> (%)]	90(50.6)	39(30.1) [#]	0(0) [*]

^{*} 与对照组比较, $P < 0.05$,[#] $P > 0.05$

2. HE4 和 CA125 在不同组织学类型卵巢癌中的表达:血清 HE4 和 CA125 不同组织学类型卵巢癌中的表达存在差异,结果见表 2。

表 2 HE4 和 CA125 在卵巢恶性肿瘤不同组织学类型中的水平及阳性率的比较

组别	浆液性癌组(<i>n</i> = 101)	子宫内膜样癌组(<i>n</i> = 34)	黏液性癌组(<i>n</i> = 28)	透明细胞癌组(<i>n</i> = 15)
HE4 浓度(pmol/L)	465.8 ± 210.48	435.8 ± 208.45 [*]	79.6 ± 65.38	148.27 ± 88.46
阳性率[<i>n</i> (%)]	92(91.1)	28(82.3) [*]	7(25.0)	4(26.7)
CA125 浓度(U/ml)	675.8 ± 305.36	52.6 ± 11.28 [#]	30.6 ± 5.36 [#]	31.2 ± 6.02 [#]
阳性率[<i>n</i> (%)]	70(69.3)	12(35.3) [#]	6(21.4) [#]	2(13.3) [#]

^{*} HE4 在浆液性癌组和子宫内膜样癌组表达与黏液性癌组和透明细胞癌组表达差异有统计学意义($P < 0.001$);与浆液性癌组相比,[#] $P < 0.05$

3. HE4 和 CA125 在卵巢癌不同临床分期中的表达:血清 HE4 在卵巢癌的临床各期表达无统计学差异($P > 0.05$),而血清 CA125 在卵巢癌中的表达临床 III~IV 期显著高于临床 I~II 期。在卵巢恶性肿瘤的临床 I~II 期 HE4 的阳性率高于 CA125,差异有显著性($P < 0.05$),在临床 III~IV 期 HE4 阳性率高于 CA125,但二者差异无统计学意义($P > 0.05$),结果见表 3。

表 3 HE4 和 CA125 在卵巢恶性肿瘤不同临床分期中的水平及阳性率的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	临床 I~II 期 (<i>n</i> = 55)	临床 III~IV 期 (<i>n</i> = 123)	<i>P</i> ₁	<i>P</i> ₂
HE4 浓度(pmol/L)	308.6 ± 148.25	475.3 ± 216.41	>0.05	
阳性率[<i>n</i> (%)]	39(70.9)	92(74.8)	>0.05	<0.05
CA125 浓度(U/ml)	58.6 ± 12.63	738.5 ± 308.46	<0.05	
阳性率[<i>n</i> (%)]	18(32.7)	72(58.5)	<0.05	>0.05

*P*₁ 表示 HE4 和 CA125 在两组间的比较;*P*₂ 表示组内 HE4 和 CA125 阳性率的比较

4. HE4 和 CA125 单独及联合检测对卵巢癌诊断的敏感度和特异性比较:用于卵巢癌诊断 HE4 的诊断敏感度和特异性均高于 CA125,差异有统计学意义($P < 0.05$),联合检测 HE4 和 CA125 比单独检测二者敏感度均有提高,差异有统计学意义($P < 0.05$),同时特异性也得以保证,没有明显降低。血清 CA125 用于卵巢癌诊断的受试者操作特征曲线下面积(area under curve, AUC)为 0.802。血清 HE4 用于卵巢癌诊断的 AUC 为 0.889,HE4 和 CA125 联合用于卵巢癌诊断的 AUC 为 0.949,结果见表 4,图 1。

表 4 HE4 和 CA125 联合检测对卵巢癌诊断的敏感度和特异性比较(%)

肿瘤标志物	敏感度	特异性
HE4	73.6	96.1
CA125	50.6	69.9
HE4 + CA125	88.9	88.8

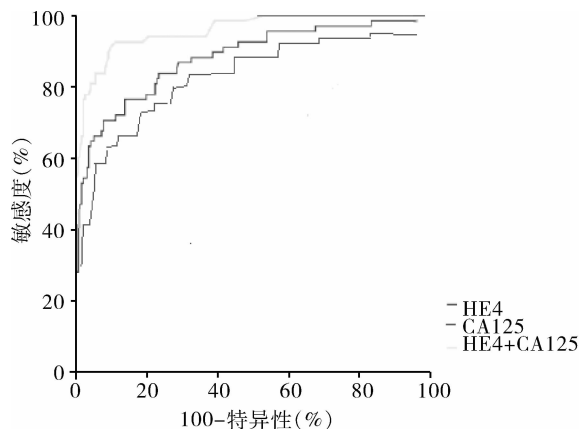


图1 HE4 和 CA125 单独及联合检测对卵巢癌诊断的 ROC 曲线

讨 论

肿瘤标志物 CA125 检测已被广泛应用于卵巢癌的筛查、疗效评估及复发的诊断,但 CA125 在多种组织中均可表达,既往的研究表明 CA125 在子宫内膜异位,腹膜炎性以及卵巢良性肿瘤中均有明显升高,来自间皮细胞及苗勒管衍生物发生的恶性肿瘤如肺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌、输卵管癌等患者血清 CA125 均有不同程度的升高^[4]。本研究结果表明在 130 例卵巢良性肿瘤中,血清 CA125 水平达 $50.6 \pm 21.28 \text{ U/L}$,39 例血清 CA125 阳性,阳性率达 30.1%,表明血清 CA125 在卵巢肿瘤诊断方面存在特异性不高的缺陷。同步检测血清 HE4,统计分析结果表明,血清 HE4 水平及阳性率卵巢癌组均高于卵巢良性肿瘤组及对照组,差异有统计学意义($P < 0.001$),卵巢良性肿瘤组 HE4 水平略高于对照组,差异无统计学意义($P > 0.05$)。应用免疫组化和基因芯片技术发现 HE4 基因在正常人组织中仅限于上皮细胞中表达,女性生殖道和乳腺中也有较高表达,在正常卵巢组织中几乎不表达,而在卵巢癌组织中高表达,并且在早期卵巢癌组织中呈不同程度的表达上调,是与卵巢癌的发生有密切相关的基因^[5]。而在大多数卵巢良性肿瘤、其他组织转移的卵巢癌、卵巢癌旁组织中不表达或低表达。本研究的临床资料分析结论与上述基础研究成果相一致。本研究表明在卵巢癌组,血清 HE4 的阳性率达到 73.6%,高于血清 CA25 在卵巢癌组的阳性率(50.6%),差异有统计学意义($P < 0.05$),在 130 例良性卵巢肿瘤中,仅 5 例血清 HE4 水平呈现阳性,表明在诊断卵巢肿瘤方面,血清 HE4 具备良好的特异性,因此在卵巢肿瘤的良性鉴别中,血清 HE4 比 CA125 显示出明显的优势。

进一步分析卵巢恶性肿瘤不同组织学类型中的血清 HE4 和 CA125 水平,发现血清 HE4 在浆液性癌和子宫内膜样癌组中水平($465.8 \pm 210.48 \text{ pmol/L}$ 和 $435.8 \pm 208.45 \text{ pmol/L}$)明显高于黏液性癌组及透明细胞癌组($79.6 \pm 65.38 \text{ pmol/L}$ 及 $148.27 \pm 88.46 \text{ pmol/L}$),差异具有统计学意义($P < 0.001$),而血清 CA125 仅在浆液性癌组中明显升高($675.8 \pm 305.36 \text{ U/L}$),其水平与在子宫内膜样癌组、黏液性癌组及透明细胞癌组中水平(52.6 ± 11.28 、 30.6 ± 5.36 和 $31.2 \pm 6.02 \text{ U/L}$)比较差异有统计学意义($P < 0.001$),阳性率比较亦有统计学差异($P < 0.05$),说明 HE4 和 CA125 在卵巢恶性肿瘤不同组织学类型中存在表达的差异。国外基础研究显示,血清 HE4 和 CA125 水平与卵巢癌的组织分型密切相关,在浆液性卵巢癌和子宫内膜样癌组织中出现极高表达,在透明细胞癌组织中仅部分表达,在黏液性癌组织中几乎不表达^[6]。临床与基础研究均提示,在卵巢癌的表达谱中 HE4 和 CA125 存在互补性,为二者联合检测提高卵巢癌诊断敏感度和特异性提供了理论和实验基础。

比较 HE4 和 CA125 在卵巢癌不同临床分期中的水平及阳性率,发现血清 HE4 水平及阳性率在卵巢癌临床 I ~ II 期和临床 III ~ IV 期均无统计学差异($P > 0.05$),而血清 CA125 水平及阳性率在卵巢癌临床 III ~ IV 期均显著高于临床 I ~ II 期($P < 0.05$)。在卵巢癌临床 I ~ II 期 HE4 的阳性率高于 CA125,差异有统计学意义($P < 0.05$),在晚期 HE4 阳性率高于 CA125,但二者差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论与 HE4 和 CA125 在卵巢癌组织中表达特异性不一致,可能的原因为卵巢癌细胞内合成 CA125 后分泌进入体腔、肿瘤囊液中储存,所以大部分卵巢癌临床 I ~ II 期血液循环中 CA125 浓度低,卵巢癌临床 III ~ IV 期由于肿瘤细胞浸润破坏了上皮基膜的完整性,CA125 可以进入血液循环而异常升高。卵巢癌细胞分泌的 HE4 是 N-糖基化的分泌型蛋白,其相对分子质量为 25kDa,远小于相对分子质量为(200 ~ 1000)kDa 的 CA125,这可能导致卵巢癌早期 HE4 比 CA125 更容易分泌进入外周血^[7,8]。本研究比较 HE4、CA125 单独和联合检测对卵巢癌诊断的敏感度和特异性发现,HE4 的诊断敏感度(73.6%)和特异性(96.1%)均高于 CA125(50.6% 和 69.9%),差异有统计学意义($P < 0.05$),联合检测 HE4 和 CA125 对卵巢癌诊断的敏感度达 88.9%,同时特异性保持在 88.8%,血清 CA125 用于卵巢癌诊断的 AUC 为

0.802,血清 HE4 用于卵巢癌诊断的 AUC 为 0.889, HE4 和 CA125 联合用于卵巢癌诊断的 AUC 为 0.949。说明联合检测 HE4 和 CA125 对卵巢肿瘤实验室诊断有一定的临床价值,可以作为卵巢癌的肿瘤标志物应用于临床。

参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E. Cancer statistics 2010 [J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60(5): 277-300
- 2 Kang WD, Choi HS, Kim SM. Value of serum CA125 levels in patients with high-risk, early stage epithelial ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2010, 116(1): 57-60
- 3 Ruggeri G, Bandiera E, Zanotti L, et al. HE4 and epithelial ovarian cancer: comparison and clinical evaluation of two immunoassays and a combination algorithm[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(15-16): 1447-1453
- 4 Cramer DW, Bast RC Jr, Berg CD, et al. Ovarian cancer biomarker per-

formance in prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial specimens[J]. Cancer Prev Res, 2011, 4(3): 365-374

- 5 Nicole U, Thorpe JD, Bergan LA, et al. Potential role of HE4 in multimodal screening for epithelial ovarian cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2011, 103: 1630-1634
- 6 Andersen MR, Goff BA, Lowe KA, et al. Use of a symptom index, CA125, and HE4 to predict ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2010, 116(3): 378-383
- 7 Urban N, Thorpe J, Karlan BY, et al. Interpretation of single and serial measures of HE4 and CA125 in asymptomatic women at high risk for ovarian cancer[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2012, 21(11): 2087-2094
- 8 Kalapotharakos G, Ascitto C, Henic E, et al. High preoperative blood levels of HE4 predicts poor prognosis in patients with ovarian cancer[J]. J Ovarian Res, 2012, 5(1): 20

(收稿日期: 2014-01-25)

(修回日期: 2014-03-05)

全外显子组测序技术检出 Kallmann syndrome 患者 KAL1 基因新突变

李 斌 徐洪丽 段 婧 陈蓉蓉 聂 敏 张宏冰 伍学焱

摘 要 **目的** 分析 Kallmann syndrome 家系患者的分子遗传机制。**方法** 利用全外显子组测序技术对先证者进行测序分析,按照 ACMG 解读规则筛选致病性突变, Sanger 测序对所有家系成员验证突变结果。**结果** 捕获且比对到目标区的碱基量为 3418.98Mb,平均测序深度为 77.66X,覆盖度为 99.23%,共检出 5056 个变异,3174 为罕见变异(RSV), KAL1 基因 c.1735_1736insT 突变为疑似致病性突变,且满足家系共分离。**结论** KAL1 基因 c.1735_1736insT 框移突变为新的疑似致病性突变。

关键词 Kallmann syndrome KAL1 全外显子组测序

[中图分类号] R3 [文献标识码] A

Whole-exome Sequencing Identified a Novel KAL1 Mutation in a Pedigree with Kallmann Syndrome. Li Bin, Xu Hongli, Duan Jing, et al. Department of Physiology, Institute of Basic Medical Sciences CAMS, School of Basic Medicine PUMC, Beijing 100005, China

Abstract Objective To examine the molecular genetic pathogenesis in a pedigree with Kallmann Syndrome. **Methods** Whole-exome sequencing was performed on the proband, and the interpretations of variations were finished according the ACMG recommendation. Identified mutations were validated in all family members available by Sanger sequencing. **Results** A total of 3418.98Mb bases were captured and mapped to targeted region. The mean depth of targeted region was 77.66X with 99.23% coverage. 5056 sequencing variations were detected, including 3174 rare sequencing variations. A novel mutation c.1735_1736insT in KAL1 gene were identified as likely pathogenic, which is co-separated in the pedigree. **Conclusion** c.1735_1736insT in KAL1 gene was likely a novel pathogenesis in Kallmann Syndrome.

Key words Kallmann syndrome; KAL1; Whole-exome sequencing

作者单位: 100005 中国医学科学院基础医学研究所/北京协和医学院基础学院生理系、医学分子生物学国家重点实验室(李斌、段婧、陈蓉蓉、张宏冰); 中国医学科学院/北京协和医学院北京协和医院内分泌科(徐洪丽、聂敏、伍学焱)

通讯作者: 伍学焱, 电子信箱: wsheyan@vip.sina.com