

联合分子标志物检测在预测子宫内膜癌淋巴结转移中的应用

陈红敏, 高玲, 罗艳林, 荣方方, 王莉

(郑州大学附属肿瘤医院/河南省肿瘤医院, 河南 郑州 450008)

摘要: [目的] 探讨 HER-2、PI3K、CDH4 分子标志物在子宫内膜癌淋巴结转移中的表达及相关性。[方法] 选取 2013 年 1 月至 2014 年 1 月河南省肿瘤医院收治子宫内膜癌患者 53 例, 根据是否发生淋巴结转移分为淋巴结转移组 ($n=14$) 和淋巴结未转移组 ($n=39$)。采用免疫组化 SP 方法检测 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白的表达; 采用 Logistic 回归分析以上检测指标表达量与淋巴结转移之间的关系。[结果] 淋巴结转移组 HER-2 蛋白、PI3K 蛋白和 CDH4 蛋白阳性率均高于淋巴结未转移组 ($P<0.05$)。Logistic 回归分析结果显示: PI3K、CDH4 蛋白表达量与子宫内膜癌淋巴结转移相关 ($P<0.05$); HER-2 蛋白表达量与子宫内膜癌淋巴结转移无明显相关 ($P>0.05$)。[结论] 子宫内膜癌患者联合 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白测定能为临床制定个体化治疗方案提供依据。

关键词: HER-2; PI3K; CDH4; 子宫内膜癌; 淋巴结转移

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2017)11-1000-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.11.B012

Expression of HER-2, PI3K and CDH4 in Detection of Lymph Node Metastasis in Patients with Endometrial Carcinoma

CHEN Hong-min, GAO ling, LUO Yan-lin, et al.

(The Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University/Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression of HER-2, PI3K and CDH4 in endometrial carcinoma patients with lymph node metastasis. [Methods] Fifty three patients with endometrial cancer treated in Henan Cancer Hospital from January 2013 to January 2014 were enrolled in the study, including 14 cases with lymph node metastasis and 39 cases without lymph node metastasis. The expression of HER-2, PI3K and CDH4 protein was detected by immunohistochemistry SP method and the relationship between protein expression and lymph node metastasis was analyzed with Logistic regression. [Results] The positive rate of HER-2, PI3K and CDH4 proteins in lymph metastasis group was higher than that in negative metastasis group ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that the expression of PI3K and CDH4 protein was correlated with lymph node metastasis in endometrial carcinoma ($P<0.05$), but the expression of HER-2 protein had no significant correlation ($P>0.05$). [Conclusion] The expression of PI3K and CDH4 proteins may indicate lymph node metastasis in patients with endometrial cancer.

Subject words: HER-2; PI3K; CDH4; endometrial carcinoma; lymph node metastasis

子宫内膜癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤, 近 20 年以来其发生率呈现上升及年轻化趋势^[1]。患者发病后多以不规则阴道出血为首发症状, 并且 75%~80% 患者诊断时肿瘤范围集中在子宫内。流行

病学调查结果显示^[2]: 子宫内膜癌近 20 年发病率相对稳定, 但是死亡率却呈现上升趋势, 严重影响女性健康。子宫内膜癌多以手术治疗为主, 但是目前临床上对于腹膜后淋巴结的清扫价值存在较大的争议。文献报道显示^[3]: 淋巴结清扫有助于明确疾病的严重程度, 了解患者术后是否需要辅助治疗。现有研究显示: 子宫内膜癌患者淋巴结转移率仅为 10.0% 左右, 但是淋巴结清扫相关手术并发症发生率达到

基金项目: 河南省科技厅重点科技攻关项目 (152102310157)

通讯作者: 陈红敏, 副主任医师, 硕士; 郑州大学附属肿瘤医院/河南省肿瘤医院, 河南省郑州市东明路 127 号 (450008); E-mail: 15010398660@163.com

收稿日期: 2017-02-23; **修回日期:** 2017-03-27

5%~10.0%。因此,加强患者术后淋巴结转移情况判断对制定个体化治疗方案具有重要的意义^[4]。

子宫内膜癌淋巴结转移受到的影响因素较多^[5],包括病理类型、组织学分级、肌层浸润深度等,但是这些影响因素更多的需要通过全面的分期手术获得,难以实现子宫内膜癌淋巴结转移的预测价值。文献报道显示^[6]:将分子标志物,如 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白等联合测定效果理想,能预测患者预后及淋巴结转移情况,为制定个性化手术方案提供依据。我们选取 2013 年 1 月至 2014 年 1 月河南省肿瘤医院收治子宫内膜癌患者 53 例,探讨 HER2、PI3K、CDH4 分子标志物检测在子宫内膜癌淋巴结转移中的表达及相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2013 年 1 月至 2014 年 1 月医院收治子宫内膜癌患者 53 例,根据是否发生淋巴结转移分为淋巴结转移组和淋巴结未转移组。淋巴结转移组 14 例,年龄 29~71 岁,平均年龄 45.32±4.73 岁。患者中,子宫内膜样腺癌 10 例,3 例子宫内膜浆液性乳头状腺癌,1 例腺鳞癌。淋巴结未转移组 39 例,年龄 30~73 岁,平均年龄 47.09±4.85 岁。子宫内膜样腺癌 34 例,子宫内膜浆液性乳头状腺癌 2 例,腺鳞癌 1 例,神经内分泌癌 1 例,透明细胞癌 1 例。

纳入标准:(1)符合子宫内膜癌临床诊断标准;(2)均行手术治疗,行全子宫/广泛子宫切除+双附件切除+盆腔淋巴结及腹主动脉旁淋巴结清扫术。并经手术病理检查确诊;(3)均经过医院伦理委员会批准同意,自愿签署知情同意书。

排除标准:(1)排除不符合子宫内膜癌临床诊断标准者;(2)排除资料不全或难以配合治疗者;(3)排除合并心、肝、肾功能异常者。两组年龄及癌症类型比较差异无统计学意义。

1.2 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白测定方法与判断标准

采用免疫组化 SP 方法检测 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白的表达:所有手术切除标本均经过浓度 10.0%福尔马林进行固定,常规石蜡包埋,制备 4μm 连续切片,采用

免疫组化 SP 方法检测 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白的表达,将切片放置在烘烤箱(60℃)下进行 1h 烘烤,常规脱蜡至水,采用 pH7.2~7.4 的 PBS 缓冲液下进行 3 次清洗,每次 3min,采用浓度为 3%H₂O₂ 溶液放在室温下进行 20min 孵育,将组织中内源性过氧化物酶消除,采用 PBS 进行 3 次冲洗,每次 3min,加入 1:10 普通山羊血清进行 15min 下孵育。去除组织切片上的血清,滴加 1 抗(HER2、PI3K、CDH4 单克隆抗体),4℃下过夜,室温下放置 1h,采用 PBS 进行 3 次清洗,每次 3min,加入生物素标记的二抗,孵育 30min,温度为 37℃。加入辣根过氧化物酶,孵育 30min,温度为 37℃,采用 PBS 进行 3 次清洗,每次 3min, DAB 显色,苏木精复染 8~10s,中性树胶封片^[7,8]。

PI3K 蛋白:切片染色下棕黄色颗粒出现在细胞浆中阳性表达;HER-2 蛋白以棕黄色颗粒处于细胞膜中为阳性表达^[9];CDH4 蛋白以棕黄色颗粒处于细胞膜中为阳性表达。采用 0~3 分评分法进行评分,0 分细胞不着色;1 分浅黄色;2 分棕黄色;3 分为褐色。以阳性细胞占有所有细胞百分比与染色强度作为最终得分,得分>3 分为阳性,反之为阴性^[10-11]。

1.3 统计学处理

采用 SPSS18.0 软件处理,计数资料行 χ^2 检验,计量资料行 *t* 检验,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 Logistic 回归分析 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白表达量与淋巴结转移之间的关系。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 淋巴结转移组与淋巴结未转移组 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白表达比较

淋巴结转移组 HER-2 蛋白、PI3K 蛋白和 CDH4 蛋白阳性率均高于淋巴结未转移组(*P*<0.05)(Table 1)。

2.2 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白表达量与淋巴结转移相关性

Logistic 回归分析结果显示:PI3K、CDH4 蛋白

Table 1 HER-2、PI3K、CDH4 protein expression in lymph node metastasis and without lymph node metastasis

Group	N	HER-2	PI3K	CDH4
Positive lymph metastasis	14	6(42.86)	5(35.71)	11(78.57)
Negative lymph node metastasis	39	13(33.33)	12(30.77)	17(43.59)
χ^2		6.937	5.192	7.391
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

表达量与子宫内膜癌淋巴结转移相关 ($P<0.05$); HER2 蛋白表达量与子宫内膜癌淋巴结转移无明显相关 ($P>0.05$)(Table 2)。

Table 2 Correlation of HER-2,PI3K,CDH4 protein expression and lymph node metastasis

Factor	β	S.E	Wald	P	OR	95%CI
PI3K	1.362	0.381	18.305	0.000	4.317	1.15~3.01
CDH4	2.593	0.603	22.256	0.000	12.813	1.49~3.02
HER2	0.775	0.302	8.479	0.006	2.226	1.21~2.86
Constant	0.891	0.518	3.850	0.046	2.634	5.03~16.54

3 讨 论

子宫内膜癌是女性生殖道常见的恶性肿瘤,该疾病发生率近年来呈现上升及年轻化趋势。欧美每年子宫内膜癌发病率为 10/10 万~20/10 万^[12]。目前,临床上对于子宫内膜癌发病机制尚不完全明确,临床上多以手术治疗为主,手术治疗能切除病灶组织,延缓病情的进一步发展,但是患者围手术期是否需要行淋巴结清扫尚存在较大的争议。淋巴结清扫作为子宫内膜癌手术病理分期的依据之一,能辅助治疗的选择和预测患者预后情况。相关学者研究显示^[13]:淋巴结清扫在提高 II~IV 期子宫内膜癌生存率上存在一定的优势,但是部分学者持有相反的观念,认为盆腔淋巴结清扫并不能提高子宫内膜癌患者生存率。因此,临床上如何采取有效的方法预测淋巴结转移情况,制定个体化治疗方案具有重要的意义。

近年来,HER-2、PI3K、CDH4 蛋白联合测定在子宫内膜癌患者中得到应用。本研究中,淋巴结转移组 HER-2 蛋白、PI3K 蛋白和 CDH4 蛋白阳性率高于无淋巴结转移组 ($P<0.05$)。由此看出:不同蛋白联合测定能预测子宫内膜癌患者淋巴结的转移情况,指导临床治疗。HER-2 基因又称为 C-erbB-2 基因,该基因在人体中主要位于 17 号染色体上,并且编码一与 EGFR 蛋白具有十分类似的磷酸化蛋白结构,并且该基因由于跨膜区的氨基酸序列变异而具备转化活性。HER-2 具有三个区域:细胞外区域、跨膜区域和细胞质内酪氨酸激酶区域,该基因在子宫内膜癌淋巴结转移预测中效果理想。文献报道对于子宫内膜癌无淋巴结转移者,如果存在 HER-2 基因扩增

或 HER-2 基因过表达,则患者的抗肿瘤治疗效果较差。通过 HER-2 基因能预测是否存在淋巴结转移,指导临床治疗相应的手术治疗方案。PI3K 也是子宫内膜癌患者中常见蛋白,该蛋白家族主要有三类,PI3K 最为广泛^[14]。PI3K 蛋白的活化主要包括具有磷酸化酪氨酸的生长因子受体或连接蛋白结合而活化一级通过 RAS 与 p110 直接结合而活化两种方式。当子宫内膜癌患者体内 PI3K 蛋白高表达,表示 PI3K/AKT 信号通路被进一步激活,从而能预测淋巴结是否发生转移。文献报道子宫内膜癌患者 PI3K 蛋白高表达,容易导致药物治疗的失败。CDH4 蛋白属于是钙黏蛋白家族成员,均为单链跨膜糖蛋白,能有效地调节细胞粘附、细胞形态,参与介导特定组织或器官的细胞粘附。本研究中,Logistic 回归分析结果显示 PI3K、CDH4 蛋白表达量与子宫内膜癌淋巴结转移相关 ($P<0.05$);HER-2 蛋白表达量与子宫内膜癌淋巴结转移无明显相关 ($P>0.05$)。由此看出:子宫内膜癌患者中不同分子标志物联合测定能预测淋巴结是否发生转移,从而制定针对性的手术治疗方案,使患者的治疗更具针对性,促进患者早期恢复^[15]。同时,患者手术后可以动态监测 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白水平,指导患者预后,对于 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白高表达者,术后则需要结合放疗、化疗等辅助治疗,改善患者生存期。

综上所述,子宫内膜癌患者联合 HER-2、PI3K、CDH4 蛋白测定、能为临床个体化治疗方案治疗提供参考依据。

参考文献:

- [1] Li SM, Wu SH. Expression and clinical significance of epidermal growth factor receptor, HER2, PI3Kp110 and PI3Kp110 in gastric carcinoma[J]. Chin J Pathology, 2016, 45(6):407-408. [李尚明, 吴淑华. 表皮生长因子受体、HER2、PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 在胃癌中的表达及其临床意义[J]. 中华病理学杂志, 2016, 45(6):407-408.]
- [2] Woo J, Cohen SA, Grim JE. Targeted therapy in gastroesophageal cancers: past, present and future[J]. Gastroenterology Report, 2015, 3(4):316-329.
- [3] Zhi XF, Xu H, Xu ZK. HMUC4 by HER2 mediated drug resistance and mechanism of gastric cancer clinical and pathological study of [J]. Journal of International Pathology and Clinical Medicine, 2015, 35(s1):49. [支小飞, 徐皓, 徐

- 泽宽. hMUC4 通过 HER2 介导的胃癌耐药及机制研究[J]. 临床与病理杂志, 2015, 35(s1):49.]
- [4] Tolaney S, Burris H, Gartner E, et al. Phase I/II study of pirlalisib (SAR245408) in combination with trastuzumab or trastuzumab plus paclitaxel in trastuzumab-refractory HER2-positive metastatic breast cancer[J]. Breast Cancer Research and Treatment, 2015, 149(1):151-161.
- [5] Monteiro IP, Madureira P, De VA, et al. Targeting HER family in HER2-positive metastatic breast cancer: potential biomarkers and novel targeted therapies[J]. Pharmacogenomics, 2015, 16(3):257-271.
- [6] Zhang N, Zheng H. The role of molecular markers of endometrial carcinoma in early diagnosis[J]. Journal of Practical Obstetrics and Gynecology, 2015, 31(7):493-495.[张楠, 郑虹. 子宫内膜癌分子标志物在早期诊断中的作用[J]. 实用妇产科杂志, 2015, 31(7):493-495.]
- [7] Chen Y, Hu XM. The clinical value of molecular markers in endometrial carcinoma and preoperative serum [J]. Journal of Taishan Medical University, 2016, 37 (4):365-368.[陈钰, 胡雪梅. 子宫内膜癌分子标志物检测及术前血清 CA125 的临床价值 [J]. 泰山医学院学报, 2016, 37 (4):365-368.]
- [8] Zhou Y, Liao YM. The combination of multiple molecular markers and clinical significance of CA125 in serum of endometrial cancer [J]. China Maternal and Child Health, 2014, 12(12):1936-1940.[周颖, 廖予妹. 联合检测多种分子标志物及血清 CA125 对子宫内膜癌的临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2014, 12(12):1936-1940.]
- [9] Gao XP, Zhao LJ, Shen DH, et al. Study on the relationship between serum and pathological markers of endometrial carcinoma and its pathological characteristics [J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2014, 15 (6):519-522.[高新萍, 赵丽君, 沈丹华, 等. 子宫内膜癌患者血清及病理分子标志物与其病理特征关系的研究[J]. 中国妇产科临床杂志, 2014, 15(6):519-522.]
- [10] Zhou HL, He YY, Fan LS, et al. Study on the expression of gene and molecular marker in endometrial carcinoma and its correlation with prognosis[J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2015, 31(10):947-950.
- [周惠玲, 何莹莹, 范良生, 等. 子宫内膜癌组织中基因及分子标志物表达及其与预后相关性研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2015, 31(10):947-950.]
- [11] Lou XL, Zhou ML, Zhang ZX, et al. The expression of estrogen receptor, progesterone receptor, CerbB-2 and Ki-67 in endometrial carcinoma and its clinical pathological correlation China [J]. Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2014, 30(7):557-560.[娄雪玲, 周梅玲, 张占薪, 等. 雌激素受体、孕激素受体、CerbB-2 和 Ki-67 在子宫内膜癌中的表达及其与临床病理相关性[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2014, 30(7):557-560.]
- [12] Xiao CJ, Zhao J, Guo P, et al. Systematic review of laparoscopic surgery in the treatment of endometrial carcinoma [J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2014, 30(8):608-614.[肖长纪, 赵静, 郭朋, 等. 腹腔镜手术治疗子宫内膜癌的系统评价[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2014, 30(8):608-614.]
- [13] Cai FM, Wang HF, Liu H, et al. Expression of ER, PR, Ki-67 and CA125 in endometrial carcinoma and its clinical significance[J]. Shaanxi Medical Journal, 2015, 44(2):159-161.[蔡凤梅, 王卉芳, 刘辉, 等. ER、PR、Ki-67、CA125 在子宫内膜癌中的表达及临床意义 [J]. 陕西医学杂志, 2015, 44(2):159-161.]
- [14] Gao X, Li LQ, Han DH, et al. The expression of HIWI in endometrial carcinoma and its clinical significance [J]. Practical Journal of Cancer, 2016, 31(5):437-441.[高鑫, 李艳琴, 韩代花, 等. HIWI 在子宫内膜癌组织中的表达及临床意义[J]. 实用肿瘤杂志, 2016, 31(5):437-441.]
- [15] Dai YF, Man XX, Li JJ, et al. The expression of ER, PR, p53 and Ki-67 in endometrial carcinoma and its clinical significance [J]. Chinese Journal of Maternal and Child Health, 2016, 31(8):1606-1608.[代艳芬, 满霞霞, 李佳佳, 等. ER、PR、p53、Ki-67 在子宫内膜癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(8):1606-1608.]

启 事

每期杂志出版后, 本刊都将给作者/通讯作者通过邮局, 以印刷品挂号形式寄赠当期杂志 2 册。如未能及时收到杂志, 请登录 <http://www.chinaoncology.cn>

➡ 点击肿瘤学杂志

再点击

信息公告

MORE

查找 2017 年第 X 期《肿瘤学杂志》

杂志作者邮寄名单, 按“挂刷号”可在当地邮局查询。