

血浆硫氧还蛋白还原酶水平检测 对宫颈癌早期诊断的价值研究*

顾益凤,朱自力,史跃燕,刘红利 (南通市肿瘤医院检验科,江苏南通 226361)

摘要:目的 检测和分析血浆硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase, TrxR)在宫颈癌和宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)患者中的水平变化,探讨其在宫颈癌早期辅助诊断中的价值。方法 选取2018年1~9月在南通市肿瘤医院确诊的78例宫颈癌和18例CIN患者及同期20例健康对照者的血浆,记录患者临床资料。运用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血浆TrxR浓度;同时对以上实验者的血浆用电化学发光法(electrochemical luminescence immunoassay, ECL)检测鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCCA)。统计分析二者对宫颈癌早期诊断的价值以及血浆TrxR与宫颈癌临床病理参数间的关系。结果 健康对照组、CIN组和宫颈癌组TrxR水平分别为 $2.46(0.98, 4.21)\mu\text{g/L}$ 、 $4.38(1.26, 6.37)\mu\text{g/L}$ 和 $5.98(4.02, 15.01)\mu\text{g/L}$, CIN组TrxR水平较健康对照组显著升高($U=33.5$),宫颈癌组TrxR水平较健康对照组也显著升高($U=17.0$),差异均有统计学意义($P<0.001$)。健康对照组、CIN组和宫颈癌组SCCA水平分别为 $1.34(0.52, 2.06)\mu\text{g/L}$ 、 $1.61(0.72, 2.34)\mu\text{g/L}$ 和 $7.12(2.76, 20.53)\mu\text{g/L}$, CIN组较健康对照组SCCA水平升高,差异有统计学意义($U=48.1, P<0.01$),宫颈癌组SCCA水平较健康对照组显著升高,差异有统计学意义($U=27.2, P<0.001$)。受试者工作曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)显示血浆TrxR诊断宫颈癌的曲线下面积(area under curve, AUC)是 $0.840(95\% \text{CI}: 0.761 \sim 0.902)$,敏感度和特异度分别为 92.3% 和 68.4% ,约登指数为 60.7% 。而血浆SCCA诊断宫颈癌的AUC是 $0.822(95\% \text{CI}: 0.740 \sim 0.886)$,敏感度和特异度分别为 65.4% 和 86.8% ,约登指数为 52.2% 。病理分期I/II期与III/IV期相比,TrxR水平差异无统计学意义($U=662.0, P=0.5004$),SCCA水平两组间差异有统计学意义($U=452.0, P=0.0048$)。宫颈癌患者TrxR水平与年龄、病理类型和FIGO分型无关(均 $P>0.05$),而与细胞分化程度相关($U=496.0, P=0.034$)。结论 TrxR水平的检测有助于宫颈癌及宫颈上皮内瘤变的早期诊断,对于宫颈癌的早期预警和及早干预有着积极的意义。

关键词:宫颈癌;宫颈上皮内瘤变;硫氧还蛋白还原酶;鳞状细胞癌抗原

中图分类号:R737.33;R730.43 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2019)02-040-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2019.02.011

Study on the Value of Plasma Thioredoxin Reductase Level in the Early Diagnosis of Cervical Cancer

GU Yi-feng, ZHU Zi-li, SHI Yue-yan, LIU Hong-li

(Department of Clinical Laboratory, Nantong Tumor Hospital, Jiangsu Nantong 226361, China)

Abstract: **Objective** To discuss the clinical significance of plasma TrxR in the early diagnosis of cervical cancer by testing and analyzing its level in cervical intraepithelial neoplasia(CIN) and cervical cancer. **Methods** Plasma samples were collected from 78 patients with cervical cancer and 18 patients with cervical cancer in Nantong Tumor Hospital from January 2018 and September 2018, at the same time plasma from 20 healthy controls were collected. The clinical data of patients were recorded. The level of plasma TrxR was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), while SCCA was measured by electrochemical luminescence immunoassay (ECL) method. Their diagnostic significance was evaluated. The relationship between TrxR and clinical parameters of cervical cancer was analyzed. **Results** The levels of TrxR in healthy control group, CIN group and cervical cancer group were $2.46(0.98, 4.21)\mu\text{g/L}$, $4.38(1.26, 6.37)\mu\text{g/L}$ and $5.98(4.02, 15.01)\mu\text{g/L}$, respectively. The level of TrxR in CIN group were significantly higher than those in healthy control group ($U=33.5$), and TrxR levels in cervical cancer group were also significantly higher than those in healthy control group ($U=17.0$), both the difference was statistically significant ($P<0.001$). The SCCA levels in healthy control group, CIN group and cervical cancer group were $1.34(0.52, 2.06)\mu\text{g/L}$, $1.61(0.72, 2.34)\mu\text{g/L}$ and $7.12(2.76, 20.53)\mu\text{g/L}$, respectively, the level of SCCA in CIN group was higher than those in healthy control group ($U=48.1$), and the difference was statistically significant ($P<0.01$). The level of SCCA in cervical cancer group was significantly higher than those in healthy control group ($U=27.2$), and the difference was statistically significant ($P<0.001$). Receiver operating characteristic (ROC) curve showed that the area under curve (AUC) of plasma TrxR was $0.840(95\% \text{CI}: 0.761 \sim 0.902)$, the sensitivity and specificity was 92.3% and

* 作者简介:顾益凤(1974—),女,硕士,副主任技师,从事肿瘤分子诊断方面的研究,E-mail:gyfkry@163.com。

通讯作者:刘红利(1975—),男,硕士,副主任技师,从事免疫学方面的研究,E-mail:1275930371@qq.com。

68.4%, and the Youden index was 60.7%. The AUC of plasma SCCA was 0.822 (95% CI: 0.740~0.886), the sensitivity and specificity was 65.4% and 86.8%, and the Youden index was 52.2%. Plasma TrxR in patients with cervical cancer was no difference between I/II stages and III/IV stages ($U=662.0, P=0.5004$), while plasma SCCA had significance difference between I/II stages and III/IV stages ($U=452.0, P=0.0048$). The level of plasma TrxR was no correlated with ages, histological type and FIGO stages ($P>0.05$); while there was significant association with cell differentiation ($U=496.0, P=0.034$). **Conclusion** Detection of plasma TrxR level contributes to the early diagnosis of cervical cancer and CIN, what's more, it has positive significance for early warning and early intervention of cervical cancer.

Keywords: cervical cancer; cervical intraepithelial neoplasia; TrxR; SCCA

宫颈癌是当今女性最为常见的恶性肿瘤之一,近年来呈现出低龄化、高发病率的趋势^[1]。定期安排健康人群体外检测肿瘤标记物是发现早期宫颈癌的一种有效手段,同时肿瘤标记物也可用于病情监测、预后评估。鳞状细胞癌抗原(SCCA)是我国现阶段许多医院辅助诊断宫颈癌的主要肿瘤标记物,但诊断效能存在一定的局限性。硫氧还蛋白还原酶(TrxR)是吡啶核苷酸二硫化物还原酶家族的一员,研究发现其与肿瘤的发生、发展及化疗耐药关联,已成为诊断、治疗肝癌、前列腺癌、肺癌、甲状腺癌等^[2-5]的新靶点。但它在宫颈上皮内瘤变(CIN)及宫颈癌患者血浆中的表达变化鲜有报道。本文主要研究硫氧还蛋白还原酶在宫颈病变患者血浆中的表达情况,验证其可否作为诊断宫颈上皮内瘤样变和早期宫颈癌的肿瘤标记物。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2018年1~9月南通市肿瘤医院妇科宫颈病变患者96例(CIN患者18例和宫颈癌患者78例),年龄33~71岁,平均年龄52岁。入组标准:所有患者均为初诊,手术前未经过其他治疗;经过病理确诊的CIN及宫颈鳞状细胞癌患者和宫颈腺癌患者;个人无肿瘤病史及近期输血史;于手术前一天采集患者血浆。健康对照为同期20例健康体检者,年龄24~76岁,平均年龄54岁。本研究已通过南通市肿瘤医院伦理委员会的批准。

1.2 主要试剂及仪器 TrxR检测仪器为酶标仪(Thermo Scientific公司 Multiskan Mk3),试剂盒由武汉尚宜康健科技有限公司提供。SCCA检测仪器为化学发光仪(Snibe公司 Maglumi 4000 plus),试剂由Snibe公司提供。

1.3 实验方法 空腹抽取静脉血2 ml于肝素钠抗凝管,3 000 r/min离心10 min,分离出血浆。运用酶联免疫吸附法检测TrxR的水平,采用电化学发光法检测同批血浆SCCA的水平。TrxR, SCCA的临界值分别为4 $\mu\text{g/L}$, 2.5 $\mu\text{g/L}$,检测值超过临界值为阳性。

1.4 统计学分析 采用SPSS19.0软件进行数据分析,血浆TrxR和SCCA的水平以中位数(四分位数)[M(P25, P75)]表示,采用Mann-Whitney U

检验、分析比较不同组间TrxR和SCCA水平的统计学差异。用MedCalc软件作ROC曲线,通过ROC曲线判断血浆TrxR和SCCA在CIN及宫颈癌诊断中的诊断效能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆TrxR和SCCA水平检测 见表1。CIN组与健康对照组相比TrxR水平显著增加,差异有统计学意义($U=33.5, P<0.001$);宫颈癌组与健康对照组相比TrxR水平显著增加,差异有统计学意义($U=17.0, P<0.001$),宫颈癌组血浆TrxR水平亦显著高于CIN组,差异均具有统计学意义($U=15.8, P<0.001$)。CIN组与健康对照组相比SCCA水平增加,差异有统计学意义($U=48.1, P<0.01$),宫颈癌组与健康对照组相比SCCA水平显著增加,差异有统计学意义($U=27.2, P<0.001$),宫颈癌组SCCA水平亦高于CIN组,差异具有统计学意义($U=24.1, P<0.001$)。

表1 三组血浆TrxR和SCCA水平检测结果比较

项 目	健康对照组 ($n=20, 1$ 组)	CIN组 ($n=18, 2$ 组)	宫颈癌组 ($n=78, 3$ 组)
TrxR($\mu\text{g/L}$)	2.46(0.98, 4.21)	4.38(1.26, 6.37)	5.98(4.02, 15.01)
SCCA($\mu\text{g/L}$)	1.34(0.52, 2.06)	1.61(0.72, 2.34)	7.12(2.76, 20.5)

2.2 ROC曲线分析 运用ROC曲线分析TrxR和SCCA对宫颈癌的诊断效能,见图1。

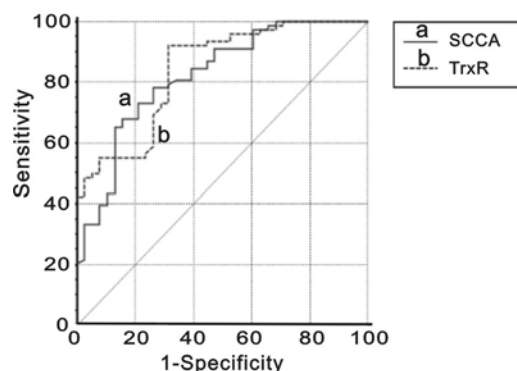


图1 血浆TrxR与血清SCCA诊断宫颈癌的ROC曲线分析

TrxR诊断宫颈癌的ROC曲线AUC是0.840 (95% CI: 0.761~0.902), 敏感度为92.3%, 特异度为68.4%, 约登指数为60.7%;而SCCA诊断

宫颈癌的 ROC 曲线 AUC 是 0.822(95%CI:0.740~0.886), 敏感度为 65.4%, 特异度为 86.8%, 约登指数 52.2%。两者诊断宫颈癌的效能 TrxR 要优于 SCCA。

2.3 TrxR 与 SCCA 水平在不同病理分期间的比

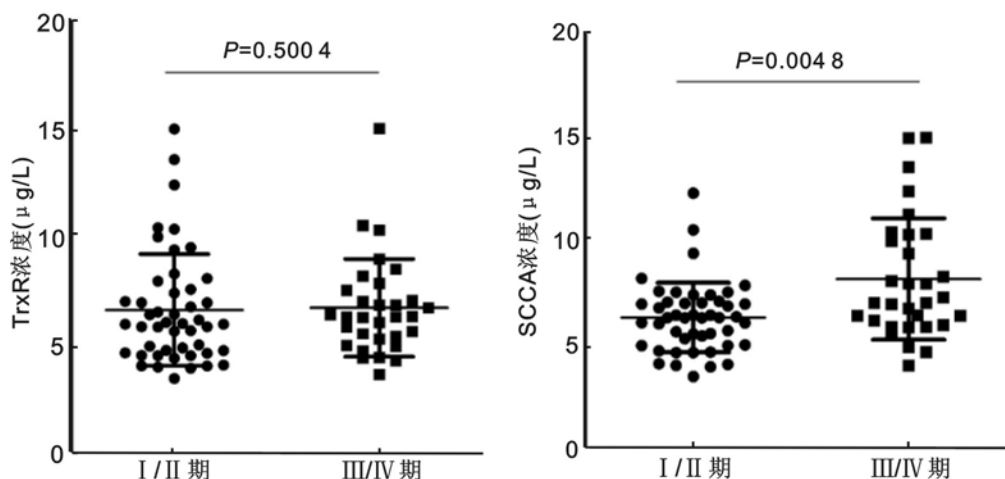


图2 宫颈癌 I/II 期患者和 III/IV 期患者血浆 TrxR 和 SCCA 水平

2.4 宫颈癌患者血浆 TrxR 水平与宫颈癌临床参数的关系 见表2。宫颈癌患者 TrxR 浓度与患者年龄、FIGO 分期、病理类型无关(均 $P>0.05$), 而与细胞分化程度呈现负相关, 差异具有统计学意义($U=496.0, P=0.034$)。

表2 宫颈癌患者血浆 TrxR 水平与临床参数间的关系[M(P25, P75)]

临床特征	n	TrxR[M(P25, P75)]	U	P
年龄(岁)				
<44	34	5.99(4.02, 12.39)	684.5	0.525
≥44	44	5.99(4.08, 14.01)		
FIGO 分期				
I-II 期	47	6.06(4.03, 12.69)	662.0	0.500
III-IV 期	31	6.10(4.06, 13.48)		
病理类型				
鳞癌	71	6.12(4.10, 12.90)	227.5	0.720
腺癌	7	6.07(4.08, 13.02)		
分化程度				
低分化	28	6.28(4.90, 14.38)	496.0	0.034
中、高分化	50	5.86(4.56, 11.59)		

3 讨论 宫颈癌的发生是由多种因素作用的病理生理过程, 其病理机制尚未完全清楚。在尚未有效预防宫颈癌的情况下, 早期诊断并得于及早治疗仍然是宫颈病变患者的最佳选择。SCCA 是临床上辅助诊断宫颈癌的主要肿瘤标志物, 其对于早期宫颈癌和 CIN 的诊断敏感度和特异度不高。当前与宫颈癌发生相关的各种基因标志物不断涌现^[6], 但还是存在着诊断效率不高, 或者不便临床常规应用^[7]。探寻早期即可高效诊断 CIN 和宫颈癌的肿瘤标志物是广大医学工作者的研究方向之一。从原核生物到人类的多种体细胞, TrxR 广泛存在, 它是人体内调控细胞异常增生水平的关键含硒酶, 具有多种生物学活性, 与肿瘤的发生、发展有着密

较 见图2。宫颈癌 I/II 期患者和 III/IV 期患者血浆 TrxR 水平比较差异无统计学意义($U=662.0, P=0.5004$), 而宫颈癌 I/II 期患者和 III/IV 期患者血浆 SCCA 浓度比较差异有统计学意义($U=452.0, P=0.0048$)。

切关系。有研究表明, 在肿瘤发生的早期, TrxR 的升高对维持细胞氧化还原稳态的调节起着关键作用, 其能抵抗致癌物质的氧化应激损伤; 一旦细胞癌变发生, 高水平的 TrxR 又与肿瘤细胞生长和抵抗凋亡进展相关联^[8]。因此, TrxR 可以作为一个方便、快捷的新型肿瘤诊断标志, 科研工作者也相继在乳腺癌^[9]、肝癌^[10]、非小细胞肺癌^[11]中得到了验证。RAHSAN 等^[12]发现肿瘤细胞可释放 TrxR 到外周血中, 且与肿瘤组织中 TrxR 浓度呈正相关。李方超等^[13]发现肺癌患者血浆中 TrxR 水平较健康人明显升高。本研究通过检测 TrxR 在 CIN 和宫颈癌患者血浆中的水平, 发现其在 CIN 和宫颈癌中都高表达, 与健康对照组相比差异均有统计学意义, 而且宫颈癌组高于 CIN 组, 差异亦存在统计学意义, 由此推断 TrxR 可作为宫颈癌和 CIN 诊断的一个可靠标志物。进一步运用 ROC 曲线分析, 结果显示血浆 TrxR 诊断宫颈癌的特异度略低于 SCCA, 但敏感度显著高于 SCCA, 这非常适用于宫颈癌的早期筛查。TrxR 诊断宫颈癌的约登指数高于 SCCA, 说明 TrxR 对宫颈癌的诊断效能高于传统肿瘤标志物 SCCA, TrxR 可作为辅助诊断宫颈癌的一个明星标志物。通过对 TrxR 和 SCCA 两个标志物与 FIGO 病理分期关系的分析, 我们发现 TrxR 与病理分期无显著相关性, 而 SCCA 与临床病理分期存在相关性, 随着病理分期的升高, SCCA 水平也显著升高。这说明在宫颈癌的筛查中, 检测 TrxR 水平将有助于早期宫颈癌的发现。本研究还分析了血浆 TrxR 水平在不同临床病理特征间的差异, 结果发现宫颈癌患者

的不同年龄、病理分期和病理类型与 TrxR 水平变化无密切关联,这与张百华等^[14]研究的 TrxR 水平在非小细胞肺癌不同病理参数中的表达特征相一致。但是在本研究中发现血浆 TrxR 水平与肿瘤细胞的分化程度呈现出一定的关联,由此推断 TrxR 的检测或许能够评估机体内异常增生的发生风险和程度,从而在肿瘤形成的更早期抓取肿瘤信号,便于肿瘤的早期诊断和及早治疗。但考虑到两者的差异不是特别显著,分析其原因可能与本次样本量不大有关,仍需扩大样本量来进一步的验证。相比其他基因标志物诊断宫颈癌,使用 ELISA 法检测 TrxR 水平方便快捷得多,且费用也低,可用于早期宫颈癌的大规模筛查^[15]。

综上所述,血浆 TrxR 水平的检测有助于宫颈癌及癌前病变的尽早发现,TrxR 对于宫颈癌的诊断效率优于肿瘤标志物 SCCA。由于本次研究样本数量有限,且为单中心研究,统计结果或许存在一定程度的偏差,需后期进一步扩大样本量、多中心的临床验证。

参考文献:

- [1] SUH D H, KIM J W, KANG S, et al. Major clinical research advances in gynecologic cancer in 2013[J]. J Gynecol Oncol, 2014, 25(3): 236-248.
- [2] HWANG-BO H, JEONG J W, HAN M H, et al. Auranofin, an inhibitor of thioredoxin reductase, induces apoptosis in hepatocellular carcinoma Hep3B cells by generation of reactive oxygen species[J]. Gen. Physiol. Biophys, 2017, 36(2): 117-128.
- [3] METERE A, FREZZOTTI F, GRAVE C E, et al. A possible role for selenoprotein glutathione peroxidase (GPx1) and thioredoxin reductases (TrxR1) in thyroid cancer: our experience in thyroid surgery[J]. Cancer Cell International, 2018, 18: 7.
- [4] YAN Xiang, ZHANG Xiaoshan, WANG Li, et al. Inhibition of thioredoxin/thioredoxin reductase induces synthetic lethality in lung cancers with compromised glutathione homeostasis[J]. Cancer Research, 2019, 79(1): 125-132.
- [5] ZHU GE Weishan, CHEN Ruijie, VLADIMIR K, et al. Costunolide specifically binds and inhibits thioredoxin reductase 1 to induce apoptosis in colon cancer[J]. Cancer Letters, 2018, 412: 46-58.
- [6] 田英, 王双勇, 赵雅, 等. 宫颈癌组织细胞中 Numb 基因表达及相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(6): 42-45.
TIAN Ying, Wang Suangyong, Zhao Ya, et al. Study on correlation and expression of numb gene in cervical cancer[J]. J Mod Lab Med, 2015, 30(6): 42-45.
- [7] 王冰, 朱玉蓉, 何玉杰, 等. 血清结合珠蛋白在宫颈癌诊断中的应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1): 106-108.
- [8] WANG Bing, ZHU Yuerong, HE Yujie, et al. Application of haptoglobin in cervical cancer diagnosis[J]. J Mod Lab Med, 2017, 32(1): 106-108.
- [9] KOHARYOVA M, KOLLAROVA M. Thioredoxin system-a novel therapeutic target[J]. Gen Physiol Biophys, 2015, 34(3): 221-233.
- [10] DONG Chaoran, ZHANG Lei, SUN Ruoxuan, et al. Role of thioredoxin reductase 1 in dysplastic transformation of human breast epithelial cells triggered by chronic oxidative stress[J]. Sci Rep, 2016, 6: 36860.
- [11] LI Chunyan, PENG Yan, MAO Binglang, et al. Thioredoxin reductase: A novel, independent prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Oncotarget, 2015, 6(19): 17792-17804.
- [12] CHEN Gong, CHEN Qiong, ZENG Fanxu, et al. The serum activity of thioredoxin reductases 1 (TrxR1) is correlated with the poor prognosis in EGFR wild-type and ALK negative non-small cell lung cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(70): 115270-115279.
- [13] KEMERDERE R, KACIRA T, HANIMOGLU H, et al. Tissue and plasma thioredoxin reductase expression in patients with glioblastoma multiforme[J]. Journal of Neurological Surgery-Part A Central European Neuro Surgery, 2013, 74: 234-238.
- [14] 李方超, 曾慧慧, 李贵新, 等. 血浆硫氧还蛋白还原酶在肺癌中表达的初步研究[J]. 实用肿瘤杂志, 2014, 29(3): 231-233.
LI Fangchao, ZENG Huihui, LI Guixin, et al. A preliminary study of plasma thioredoxin reductase expression in lung cancer[J]. Journal of Practical Oncology, 2014, 29(3): 231-233.
- [15] 张百华, 肖琴, 丁衍, 等. 血浆硫氧还蛋白还原酶 1 在 NSCLC 中的诊断价值[J]. 临床与实验医学杂志, 2016, 15(15): 1474-1478.
ZHANG Baihua, XIAO Qin, DING Yan, et al. Plasma thioredoxin reductase 1 is a potential diagnostic biomarker for non-small cell lung cancer[J]. Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2016, 15(15): 1474-1478.
- [16] 林金端, 刘红伟, 张欣宁, 等. Mybl2 在不同病变程度宫颈组织中的表达[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(2): 141-143, 145.
LIN Jinduan, LIU Hongwei, ZHANG Xinling, et al. Expression level and clinical significance of Mybl2 in cervical tissue[J]. J Mod Lab Med, 2017, 32(2): 141-143, 145.

收稿日期: 2018-12-08

修回日期: 2018-12-31