

◆ 妇科肿瘤 ◆

硫氧还蛋白还原酶在宫颈癌中的诊断价值

王丽丽, 吴 玮, 吴晓燕, 张金业

Diagnostic value of thioredoxin reductase in cervical carcinoma

Wang Lili, Wu Wei, Wu Xiaoyan, Zhang Jinye

Department of Clinical Laboratory, Nantong Tumor Hospital, Jiangsu Nantong 226361, China.

【Abstract】 Objective: To analyze the diagnostic value of TR in cervical carcinoma. **Methods:** Plasma was collected from 217 cases of pathologically confirmed cervical cancer patients in our hospital from October 2017 to May 2018. All the patients were initially diagnosed and no other treatment was performed before the operation. Blood plasma of 50 benign cervical lesions and 60 healthy controls were collected too. TR concentration was detected by enzyme kinetics method, all completed by Kaixi Medical Detection Company. CEA, CA125 and SCC were detected by Roche electrochemical luminescence method. SPSS 19.0 statistical software was used for analysis. TR was compared between cervical cancer and benign lesions and healthy control group using mann - whitney *U* test. The correlation between plasma TR and pathological features of patients with cervical cancer was examined by the nonparametric rank sum test. Spearman correlation was used to analyze the relationship between plasma TR and CEA, CA125 and SCC in cervical cancer patients, and ROC curve and AUC (95% CI) were used to evaluate their diagnostic efficacy as a diagnostic indicator. **Results:** The relative expression of TR was 6.78 (4.73, 9.38) U/ml, 3.69 (2.65, 4.99) U/ml and 3.26 (2.66, 4.28) U/ml in cervical cancer, benign lesions and healthy control group, respectively. The TR content of cervical cancer was significantly higher than that of benign lesions and healthy control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.001$). There was no significant difference in TR content between benign lesions and healthy controls ($P = 0.089$). According to the nonparametric rank sum test, the content of plasma TR in patients with cervical cancer is independent of age, type and stage ($P > 0.05$). The results showed that the sensitivity and accuracy of TR were 75.1% and 79.8%, respectively, higher than CEA, CA125 and SCC. The diagnostic value of TR, CEA, CA125 and SCC for cervical cancer was 0.893, 0.510, 0.769 and 0.550, respectively, according to AUC. The highest AUC value of the combined diagnosis of the four indicators was 0.946. **Conclusion:** The plasma concentration of TR in patients of cervical cancer is significantly higher than that of the benign lesions group and the healthy control group, and the diagnostic efficiency of TR to cervical cancer is higher than that of CEA, CA125 and SCC. The combined detection efficiency of the four indicators is the highest. TR can be used as a good diagnostic indicator for cervical cancer.

【Key words】 thioredoxin reductase (TR), cervical cancer, CEA, CA125, SCC

Modern Oncology 2020, 28(04):0639-0642

【摘要】 目的:分析硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase, TR)在宫颈癌中的诊断价值。**方法:**收集2017年10月至2018年5月在我院经病理学确诊的217例宫颈癌患者血浆。所有患者均为初诊,术前未行其他治疗。另收集50例宫颈良性病变和60例健康对照的血浆。TR含量由酶动力学方法检测,均由凯熙医学检验公司完成。采用罗氏电化学发光法检测CEA、CA125、SCC。应用SPSS 19.0统计软件进行分析。血浆TR在宫颈癌患者与良性病变及健康对照组间两两比较采用Mann - Whitney *U*检验。宫颈癌患者血浆TR与各临床病理特征之间的关系采用非参数秩和检验。宫颈癌患者血浆TR的含量与CEA、CA125和SCC的关系采用Spearman相关性分析,应用ROC曲线及AUC(95% CI)评估它们作为诊断指标的诊断效能。**结果:**TR在宫颈癌与良性病变及健康对照组间其相对表达量分别为6.78(4.73, 9.38) U/ml, 3.69(2.65, 4.99) U/ml和3.26(2.66, 4.28) U/ml。宫颈癌的TR含量显著高于良性病变及健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.001$)。宫颈良性病变血浆的TR含量与健康对照者差异无统计学意义($P = 0.089$)。根据非参数秩和检验,宫颈癌患者血浆TR的含量与年龄、类型和分期均无关($P > 0.05$)。宫颈癌组与健康对照组比较,TR的敏感度和准确度分别为75.1%和79.8%,高于CEA、CA125和SCC。TR、CEA、CA125、SCC对宫颈癌诊断价值通

【收稿日期】 2019-01-19

【作者单位】 南通市肿瘤医院检验科,江苏 南通 226361

【作者简介】 王丽丽(1985-),女,江苏南通人,主管技师,主要从事临床检验工作。E-mail:747905632@qq.com

【通讯作者】 吴晓燕(1966-),女,江苏南通人,主任检验技师,主要从事临床检验管理工作。E-mail:467072442@qq.com

过 AUC 表示分别为 0.893、0.510、0.769、0.550。四项指标联合诊断 AUC 值最高为 0.946。**结论:**宫颈癌患者 TR 血浆浓度明显高于良性病变组及健康对照组,TR 对宫颈癌的诊断效能高于 CEA、CA125 和 SCC。四项指标联合检测效能最高。血浆 TR 可以作为宫颈癌良好的辅助诊断指标。

【关键词】硫氧还蛋白还原酶(TR);宫颈癌;CEA;CA125;SCC

【中图分类号】R737.33

【文献标识码】A

DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2020.04.027

【文章编号】1672-4992-(2020)04-0639-04

宫颈癌严重威胁全世界妇女健康。在中国,2010年宫颈癌的发病率和死亡率分别为12.0%和3.4%^[1]。Huang Z等^[2]通过研究上海40年的浸润性宫颈癌登记记录,发现宫颈癌整体的发病率和死亡率显著下降,但年龄<60岁女性的发病率和死亡率上升趋势明显。在浸润性宫颈癌中感染人乳头瘤病毒HPV16型和HPV18型占71%^[3]。80%的女性在50岁之前可能有HPV感染的历史,大多数情况下是自限性的清除病毒,只有一小部分女性宫颈癌与人类乳头瘤病毒持续感染有关,这表明个体遗传易感性在宫颈癌发生中扮演着重要角色^[4]。尽管宫颈癌的诊断和治疗有所改善,但宫颈癌患者的5年总体存活率仍然很低^[5]。传统的宫颈癌肿瘤标志物有癌胚抗原(CEA)、糖类抗原125(CA125)、鳞状细胞癌抗原(SCC)等,但其单独检测时敏感度、特异度均不高。硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase, TR)是一类含硒的二聚体黄素酶,直接参与机体的氧化还原、细胞增殖和DNA合成等生理过程。目前发现其在肿瘤细胞的氧化还原系统中具有重要功能。Federico De Marco等^[6]深入了解氧化应激反应(oxidative stress, OS)在宫颈癌中的作用,通过氧化还原蛋白质组学方法来探究氧化应激如何协助HPV致癌,发现HPV16促进肿瘤的发生似乎与增加的氧化环境有关。本文旨在分析TR在宫颈癌中的诊断价值,报道如下。

1 材料与与方法

1.1 材料及一般资料

血浆标本来自2017年10月至2018年5月在我院经病理学确诊的宫颈癌患者217例。患者均为女性,年龄≤40岁者10例,年龄41~50岁者64例,年龄51~60岁者82例,年龄≥61岁者61例。病理诊断为宫颈鳞癌的有191例,宫颈腺癌及其他共有26例。病理分期I期100例,II期65例,III期48例,IV期4例。患者均为初诊,于术前一天收集患者血浆标本,采用肝素抗凝管采集,在采血后1h内3000 r/min离心10 min将分离得到的血浆装入EP管内冻存于-80℃冰箱内。每天下午凯熙医学检验人员来收标本,第二天检测。另收集50例宫颈良性病变(包括宫颈息肉、平滑肌瘤、宫颈癌前病变)和60例健康对照血浆。本研究经我院伦理委员会批准,所有参与者均提供了书面知情同意书。

1.2 TR含量检测方法

采用底物酶动力学方法直接测定样本中总巯基量。采用TR抑制剂特异性掩蔽样本中的TR活性后,再次测定样本中其他巯基物质含量。用总巯基量减去其他巯基含量,即得到样本中TR活性检测数值。检测均由凯熙医学检验公司完成。本研究采用的临床检测试剂盒是国家食品药品监督管理局已批准上市的“人外周血TR活性检测试剂盒”(医疗器械上市注册证号为鄂械注准20132401815及国械注准20173404606),TR检测的性能验证已通过了国家食药监局评审,并写入了产品的技术要求文件。

1.3 CEA、CA125、SCC检测

采用电化学发光法检测,所采用的试剂盒和检测仪器均购自罗氏公司(Roche Applied Science),检测操作均在我院检验科完成。

1.4 统计学方法

应用SPSS 19.0统计软件进行分析。数据以中位数(下四分位数,上四分位数)表示。TR在宫颈癌与良性病变及健康对照组间两两比较采用Mann-Whitney U检验。宫颈癌患者血浆TR与各临床病理特征之间的关系采用非参数秩和检验。采用Spearman相关性分析宫颈癌患者血浆TR与CEA、CA125和SCC的关系,应用ROC曲线及AUC(95% CI)评估它们作为诊断指标的诊断效能。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈癌与良性病变及健康对照组间TR的相对表达量

TR在宫颈癌与良性病变及健康对照组间其相对表达量分别为6.78(4.73,9.38)U/ml、3.69(2.65,4.99)U/ml和3.26(2.66,4.28)U/ml,见图1。宫颈癌血浆中的TR表达量显著高于良性病变及健康对照组,差异均有统计学意义($U = 6.307, 9.318, P$ 均 < 0.001);宫颈良性病变血浆的TR表达量与健康对照者差异无统计学意义($U = 1.702, P = 0.089$)。

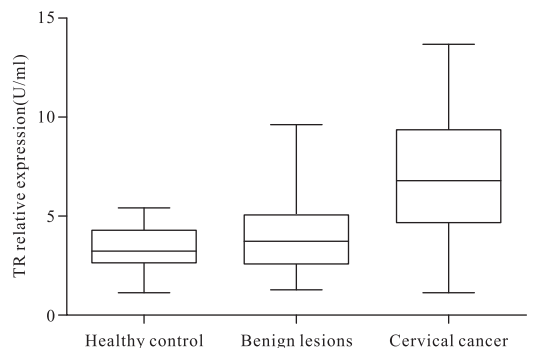


图1 宫颈癌与良性病变及健康对照组间TR的相对表达量
Fig.1 Relative expression of TR in cervical cancer, benign lesions and healthy control group

2.2 宫颈癌患者血浆TR的含量与临床病理特征的关系

将217例宫颈癌按年龄、类型和分期等临床资料进行分组,统计各资料分组间TR的差异。根据非参数秩和检验,宫颈癌患者TR的含量与年龄、类型和分期均无关($P > 0.05$),详见表1。

2.3 宫颈癌的TR与CEA、CA125和SCC的相关性

CEA、CA125和SCC在宫颈癌与良性病变及健康对照组的表达水平见表2。TR与CEA($r = 0.167, P = 0.002$)、CA125($r = 0.323, P = 0.000$)存在相关性,与SCC($r = 0.080, P = 0.150$)无相关性,见图2-4。

表1 宫颈癌患者血浆TR的含量与临床病理特征的关系

Tab.1 Relation between TR content and clinicopathological features in patients with cervical cancer

Clinicopathological features	n	TR(U/ml)			χ^2/Z	P
		25% quantile	Median	75% quantile		
Age (years)					1.285	0.733
≤40	10	4.96	6.67	8.84		
41~50	64	4.14	6.41	9.03		
51~60	82	4.99	6.82	9.95		
≥61	61	5.00	7.04	9.53		
Type					0.857	0.391
Squamous cell carcinomas	191	4.63	6.91	9.54		
Adenocarcinoma and others	26	4.75	6.49	8.57		
Stage					1.493	0.684
I	100	4.98	6.71	9.05		
II	65	4.13	6.68	10.02		
III	48	5.05	7.21	9.40		
IV	4	4.97	7.95	12.21		

表2 CEA, CA125 和 SCC 在宫颈癌与良性病变及健康对照组的表达水平

Tab.2 Expression levels of CEA, CA125 and SCC in cervical cancer, benign lesions and healthy control group

Group	n	CEA(U/ml)	CA125(U/ml)	SCC(ng/ml)
Cervical cancer	217	1.93(1.25, 3.31)	16.63(10.27, 28.92)	1.20(0.80, 3.85)
Benign lesions	50	1.85(1.39, 2.48)	10.98(6.28, 13.36)	3.15(1.75, 4.97)
Healthy control	60	2.04(1.42, 2.96)	9.56(6.29, 13.30)	1.20(0.80, 1.80)

2.4 TR、CEA、CA125 和 SCC 对诊断宫颈癌的 ROC 曲线分析

将 TR、CEA、CA125 和 SCC 结合宫颈癌组和健康对照组作 ROC 曲线(图5),分析各指标对宫颈癌诊断的特异度和灵敏度,并计算其准确度、阳性及阴性预测值。结果显示(表3),宫颈癌组与健康对照组比较,TR的敏感度和准确度分别为 75.1% 和 79.8%,高于 CEA、CA125 和 SCC。TR、CEA、CA125、SCC 对宫颈癌诊断价值通过 AUC 表示分别为 0.893、0.510、0.769、0.550,而四项指标联合诊断 AUC 最高为 0.946,故联合检测效能最高,所以,TR 对宫颈癌的诊断价值高于 CEA、CA125 和 SCC。

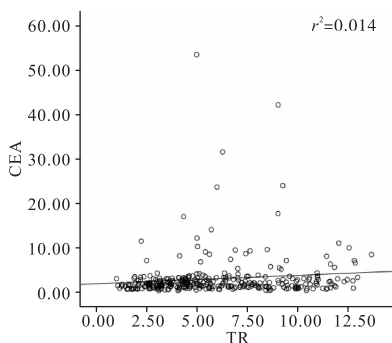


图2 TR 与 CEA 的相关性分析

Fig.2 Correlation analysis of TR and CEA

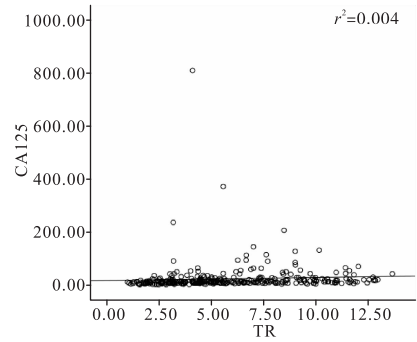


图3 TR 与 CA125 的相关性分析

Fig.3 Correlation analysis of TR and CA125

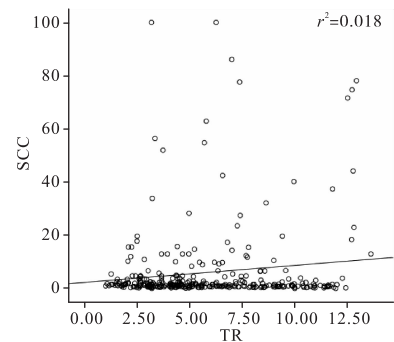


图4 TR 与 SCC 的相关性分析

Fig.4 Correlation analysis of TR and SCC

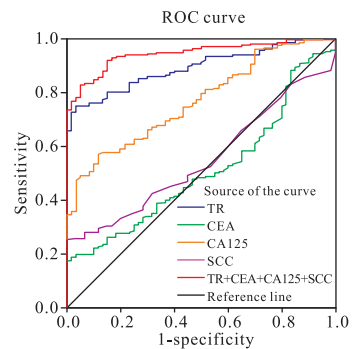


图5 TR、CEA、CA125 和 SCC 对诊断宫颈癌的 ROC 曲线

Fig.5 ROC curves of TR, CEA, CA125 and SCC for the diagnosis of cervical cancer

3 讨论

在中国,宫颈癌的患病人数以农村居多。据刘萍^[7]调查,在 25 547 例宫颈癌患者中,农村患者占 64.5%,远远高于城市 35.5%。由于城市条件优越,定期的体检对于降低宫颈癌的患病率有一定帮助。但体检中传统的 CEA、CA125、SCC 这些指标对宫颈癌的特异度及敏感度均不高,因此,发现对宫颈癌诊断效率高的指标迫在眉睫。最近研究发现 TR 直接参与各种癌症的发生发展。Fink EE^[8]报告了一种机制,该机制是通过抑制转录线粒体 Trx R2 基因,在多发性骨髓瘤细胞中直接诱导细胞的氧化。Muri J 等^[9]揭示 Trx1 系统在胸腺和周围 T 细胞的代谢重组中发挥关键功能,为 T 细胞白血病治疗提供新的靶点。Li K 等^[10]研究发现异巴伐他酮可能通过与含有 TrxR1 的硒半胱氨酸的相互作用诱导活性氧介导凋亡,并通过抑制 TrxR1 活性和增加人前列腺癌

PC-3 细胞中的 ROS 水平诱导致死性内质网应激,敲除 TrxR1 会使癌细胞对异巴伐他酮治疗敏感。Liu Y 等^[11]研究

表明利用己二烯三硫化物(diallyl trisulfide, DATS)靶向 Trx 系统可能是抑制三阴性乳腺癌转移的一种有效的治疗策略。

表3 TR,CEA,CA125 和 SCC 对诊断宫颈癌的 ROC 曲线分析
Tab.3 ROC curves of TR,CEA,CA125 and SCC for the diagnosis of cervical cancer

Indicators	Critical value	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)	AUC
TR	4.815	75.1(163/217)	96.7(58/60)	79.8(221/277)	98.8(163/165)	48.2(54/112)	0.893
CEA	4.23	17.5(38/217)	100.0(60/60)	35.4(98/277)	100.0(38/38)	25.1(60/239)	0.510
CA125	14.45	57.1(124/217)	88.3(53/60)	63.9(177/277)	94.7(124/131)	36.3(53/146)	0.769
SCC	3.70	25.3(55/217)	100.0(60/60)	41.5(115/277)	100.0(55/55)	27.0(60/222)	0.550
Combined dagnosis	0.775	82.9(180/217)	95.0(57/60)	85.6(237/277)	98.4(180/183)	60.6(57/94)	0.946

本次研究中宫颈癌的 TR 含量 6.78(4.73,9.38)U/ml 显著高于宫颈良性病变 3.69(2.65,4.99)U/ml 及健康对照组 3.26(2.66,4.28)U/ml,差异均有统计学意义($U=6.307$ 、 9.318 , P 均 <0.001)。宫颈良性病变的血浆 TR 含量与健康对照组差异无统计学意义($U=1.702$, $P=0.089$)。Li C 等^[12]通过多变量回归分析发现 TrxR 是肝细胞癌复发的独立危险因素,在复发和预后不良的患者血浆中 TrxR 高表达。研究发现^[13] TrxR2 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中呈高表达,在年龄小于 60 岁的患者中表现更为明显。说明 TR 在宫颈癌、肝细胞癌和 NSCLC 中的表达相似,都是上调的。

本次研究中将 217 例宫颈癌按年龄、类型和分期等临床资料进行分组,统计各资料分组间 TR 的差异。根据非参数秩和检验,宫颈癌患者血浆 TR 的含量与年龄、类型和分期均无关($P>0.05$)。国内外文献报道^[13-15] TR 的含量与年龄、类型、病理分期、有无淋巴结转移等临床病理特征显著相关。这与我们的研究有所出入。一方面由于多数研究都采取的是“前瞻性收集样本、回顾性研究标志物”的模式,选择样本时需尽量选择随机的、独立的样本分别验证,减少偏倚。另外由于样本量较小,需要扩大样本量等来进一步验证其相关性。TR 与 CEA、CA125 存在相关性,与 SCC 无相关性。这些指标的相关性还需要扩大样本量进一步验证。

本文结果显示,宫颈癌组与健康对照组比较,TR 的敏感度和准确度显著高于 CEA、CA125 和 SCC。TR、CEA、CA125、SCC 对宫颈癌诊断价值通过 AUC 表示分别为 0.893、0.510、0.769、0.550。所以,TR 对宫颈癌的诊断效能高于 CEA、CA125 和 SCC。四项指标联合诊断 AUC 值最高为 0.946。

综上所述,血浆 TR 可以作为宫颈癌的良好辅助诊断指标。用于临床还需要在扩大样本量的同时需尽量选择随机的、独立的样本分别验证。本研究也为我们后续研究 TR 在宫颈癌中的生物学行为奠定了基础。

【参考文献】

[1] Chen W,Zheng R,Zhang S,et al. Report of cancer incidence and mortality in China,2010[J]. Ann Transl Med,2014,2(7):61.
 [2] Huang Z,Zheng Y,Wen W,et al. Incidence and mortality of gynaecological cancers:Secular trends in urban Shanghai,China over 40 years[J]. Eur J Cancer,2016,08(63):1-10.
 [3] De Sanjose,S Quint WG,Aleman L,et al. Human papilloma virus genotype attribution in invasive cervical cancer: A retrospective cross-sectional worldwide study [J]. Lancet Oncol, 2010, 11(11):1048-1056.
 [4] De Freitas AC,Gurgel AP,Chagas BS,et al. Susceptibility to cervi-

cal cancer:An overview[J]. Gynecol Oncol,2012,126(2):304-311.
 [5] Uyar D,Rader J. Genomics of cervical cancer and the role of human papillomavirus pathobiology[J]. Clin Chem,2014,60(1):144-146.
 [6] Federico De Marco,Elona Bucaj,Cesira Foppoli,et al. Oxidative stress in HPV-driven viral carcinogenesis:Redox proteomics analysis of HPV-16 dysplastic and neoplastic tissues[J]. PLoS One, 2012,7(3):1-13.
 [7] LIU P. Evaluation of clinical epidemiology of cervical cancer of 13 years in mainland China [J]. Chinese Journal of Applied Gynecology and Obstetrics,2018,34(1):41-45. [刘萍. 中国大陆 13 年宫颈癌临床流行病学大数据评价[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2018,34(1):41-45.]
 [8] Fink EE,Mannava S,Bagati A,et al. Mitochondrial thioredoxin reductase regulates major cytotoxicity pathways of proteasome inhibitors in multiple myeloma cells[J]. Leukemia,2016,30(1):104-111.
 [9] Muri J,Heer S,Matsushita M,et al. The thioredoxin-1 system is essential for fueling DNA synthesis during T-cell metabolic reprogramming and proliferation[J]. Nat Commun,2018,9(1):1851-1867.
 [10] Li K,Zheng Q,Chen X,et al. Isobavachalcone induces ROS-mediated apoptosis via targeting thioredoxin reductase 1 in human prostate cancer PC-3 cells[R/OL]. (2018-10-16) [2018-11-20]. <http://doi.org/10.1155/2018/1915828>.
 [11] Liu Y,Zhao Y,Wei Z,et al. Targeting thioredoxin system with an organosulfur compound, diallyl trisulfide (DATS), attenuates progression and metastasis of triple-negative breast cancer(TNBC) [J]. Cell Physiol Biochem,2018,50(5):1945-1963.
 [12] Li C,Peng Y,Mao B,et al. Thioredoxin reductase: A novel, independent prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Oncotarget,2015,6(19):17792-17804.
 [13] BU Lina,LIN Yurong,LIU Yanfeng,et al. Expression and prognosis of TrxR2 in non-small cell lung cancer[J]. Modern Oncology,2017,25(20):3245-3248. [卜丽娜,林玉蓉,刘延峰,等. 硫氧还蛋白还原酶-2 在非小细胞肺癌中的表达及预后[J]. 现代肿瘤医学,2017,25(20):3245-3248.]
 [14] Erdi F,Kaya B,Esen H,et al. New clues in the malignant progression of glioblastoma:Can the thioredoxin system play a role[J]? Turkish Neurosurgery,2018,28(1):7-12.
 [15] Esen H,Erdi F,Kaya B,et al. Tissue thioredoxin reductase-1 expression in astrocytomas of different grades[J]. Journal of Neuro-oncology,2015,121(3):451-458.