

- damages connexin43-mediated endothelial gap junction intercellular communication[J]. *Biochem Cell Biol*, 2009, 87(2):867-874.
- [8] Leong T, Zylberstein D, Graham I, et al. Asymmetric dimethyl-arginine independently predicts fatal and nonfatal myocardial infarction and stroke in women 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(7):1-6.
- [9] Xue M, Hollenberg MD, Yong VW. Combination of thrombin and matrix metalloproteinase-9 exacerbates neurotoxicity in cell culture and intracerebral hemorrhage in mice[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(40):10281-10291.
- [10] Gidday JM, Gasche YG, Copin JC, et al. Leukocyte-derived matrix metalloproteinase-9 mediates blood-brain barrier breakdown and is pro-inflammatory after transient focal cerebral ischemia[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(4):558-568.
- [11] Serena J, Blaneo M, Castellanos M, et al. The prediction of malignant cerebral infarction by molecular brain barrier disruption markers[J]. *Stroke*, 2005, 36(9):1921-1926.
- [12] Rosell A, Ortega-Aznar A, Alvarez-Sabín J, et al. Increased brain expression of matrix metalloproteinase-9 after ischemic and hemorrhagic human stroke[J]. *Stroke*, 2006, 37(6):1399-1406.
- [13] 李志, 刘卉萍, 张谨, 等. 急性脑梗死患者血清基质金属蛋白酶-9 和同型半胱氨酸检测的临床价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(6):653-654.
- [14] Marenholz I, Heizmann CW. S100A16, a ubiquitously expressed EF-hand protein which is up-regulated in tumors[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(2):237-244.
- [15] Kapural M, Krizanac-Bengez L, Barnett G, et al. Serum S-100beta as a possible marker of blood-brain barrier disruption[J]. *Brain Res*, 2002, 94(2):102-104.
- [16] 李志, 王青, 张婷婷, 等. 急性脑梗死患者血清 S-100b 蛋白和基质金属蛋白酶-2 的含量检测及临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(14):1569-1570.
- [17] Naeimi ZS, Weinhofer A, Sarahrudi K, et al. Predictive value of S-100B protein and neuron specific-enolase as markers of traumatic brain damage in clinical use[J]. *Brain Inj*, 2006, 20(5):463-468.
- [18] Cheng H, Wu JP, Zeng SF. Neuroprotection of glial cell line-derived neurotrophic factor in damaged spinal cords following contusive injury[J]. *J Neurosci Res*, 2002, 69(3):397-408.
- [19] Wunderlich MT, Wallesch CW, Goertler M. Release of glial fibrillary acidic protein is related to the neurovascular status in acute ischemic stroke[J]. *Eur J Neurol*, 2006, 13(10):1118-1123.
- [20] Hill MD, Jackowski G, Bayer N, et al. Biochemical markers in acute ischemic stroke[J]. *CMAJ*, 2000, 162(8):1139-1140.
- [21] Hirashima Y, Endo S, Nakamura S, et al. Cerebrospinal fluid membrane-bound tissue factor and myelin basic protein in the course of vasospasm after subarachnoid hemorrhage[J]. *Neurol Res*, 2001, 23(7):715-720.

(收稿日期:2012-01-09)

• 综 述 •

人附睾蛋白 4 在卵巢癌中的应用研究进展

陈静波[△]综述, 崔清潭 审校

(解放军第 313 医院检验科, 辽宁葫芦岛 125000)

关键词: 卵巢肿瘤; 生物学标记; 人附睾蛋白 4; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.18.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)18-2233-03

恶性肿瘤的早期诊断是肿瘤治疗的关键,而恶性肿瘤的发生和发展,首先表现为血清学指标(如各种细胞因子)异常,发展到一定阶段后才出现影像学异常和临床症状,故血清学检测具有独特的优势。人附睾蛋白 4(HE4)最早发现于人附睾精曲小管及输精管内皮,后来发现其在卵巢上皮癌中有所表达。目前的研究认为 HE4 可用于妇科恶性肿瘤,尤其是卵巢癌的早期诊断及预后评估^[1-4]。现就 HE4 在卵巢癌诊断及预后评估中的应用研究进行综述。

1 HE4 的结构

Kirchhof 等^[1,5] 从人附睾远端上皮细胞中首先克隆获得 HE4 编码基因的 cDNA。该编码基因位于染色体 20q12-13.1,全长约 12 kb,包括 5 个外显子和 4 个内含子,并有多重剪切方式,可编码小分子分泌蛋白 HE4、SLPI、Elafin 等。HE4 为相对分子质量 11×10^3 、等电点 4.3 的小分子弱酸性蛋白,含有 2 个高度保守的乳清酸性蛋白(WAP)结构域,属于乳清酸性蛋白家族(WFDC)。WAP 结构域含有 8 个半胱氨酸组成的 4 个二硫键核心区域,因此又称 WFDC2。该结构域中有 1 个抑制性环结构,可通过插入蛋白酶活性区而抑制蛋白酶活性。HE4 的氨基酸序列与生殖道分泌物中的细胞外蛋白酶抑制剂相似,因此推断 HE4 可能与精子成熟有关^[6]。

早期研究发现,卵巢癌组织高表达 HE4,而癌旁组织不表达,且肺癌、肝癌、肾癌、甲状腺癌等癌组织中也未见表达^[7-9]。然而,也有研究证实正常组织可少量表达 HE4,可能与检测方法的灵敏度不同有关^[6]。目前还未完全明确 HE4 的生理功能。由于 HE4 与 WAP 具有相似性,因此有学者推测 HE4 可能是参与肺组织宿主防御反应及精子发生过程的一种蛋白酶抑制剂。然而也研究显示,HE4 的表达并不受肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、脂多糖(LPS)、白细胞介素 1β (IL- 1β) 等前炎症反应介质刺激的影响,且未检出 HE4 具有任何蛋白酶抑制剂的生物活性^[10-11]。

2 HE4 与卵巢癌

卵巢癌发病率仅次于宫颈癌和子宫内膜癌,因发病隐匿、早期诊断率低,导致其致死率占妇科肿瘤的首位^[12]。但如果早期发现,其 5 年生存率可达 80%~90%,故早期诊断对改善卵巢癌患者预后非常重要。在众多可用于卵巢癌诊断的肿瘤标志物中,CA125 是惟一得到公认的。但女性处于月经期或妊娠期及部分卵巢良性肿瘤均可导致血清 CA125 水平升高,因此 CA125 诊断卵巢癌的灵敏度较高而特异性较差,在临床应用中尚有局限性^[13]。

2.1 HE4 与卵巢癌的诊断 Schummer 等^[8] 于 1999 年证实

[△] 通讯作者, E-mail: jingboc@163.com。

卵巢癌组织高表达 HE4,生理水平的 HE4 表达于呼吸道及生殖系统正常组织中。2003 年首次报道将 HE4 作为分子标记物用于卵巢癌诊断^[4]。Urban 等^[14]比较了 HE4、间皮素、基质金属蛋白酶 7、SLPI、Spondin2 和胰岛素样生长因子结合蛋白 2 在 112 名侵袭性卵巢肿瘤患者与 706 名对照患者(前列腺癌,肺癌,结直肠癌等)中的表达,证实 HE4 是筛查 CA125 增高的女性患者恶性肿瘤的理想指标。因年龄增高及吸烟均可导致血清 HE4 水平的增高,在个体的纵向随访监测中意义更大。Holcomb 等^[15]分析了 229 例绝经前附件肿瘤(195 例良性,18 例恶性,16 例交界性)患者血清中的 CA125 及 HE4 水平,证实 CA125 和 HE4 对在恶性肿瘤的诊断灵敏度分别为 83.3%和 88.9%,而特异度分别为 59.5%和 91.8%。正常的血清 HE4 水平可以排除 98%的 CA125 升高患者患有恶性卵巢癌。Chang 等^[16]以 491 例女性患者作为研究对象,比较了 HE4 及 CA125 对恶性生殖系统肿瘤的鉴别能力,证实在中国人群中,选择合适的临界值(HE4>150 pmol/L、CA125>35 U/mL)可将各自的灵敏度提高到 95%和 98%,二者联合检测对恶性卵巢癌的诊断特异度为 100%。Park 等^[17]通过检测 2 182 例健康妇女及 72 例孕妇血清 HE4 和 CA125 水平,认为亚洲人群中 HE4 和 CA125 的 97.5%正常参考值范围分别小于 33.2 pmol/L 和 38.3 U/mL;通过检测 66 例卵巢癌患者和 257 例良性生殖系统肿瘤患者血清 HE4 及 CA125 水平,证实上述 HE4 及 CA125 的临界值对鉴别良恶性肿瘤的灵敏度分别为 90.9%、72.7%,特异度分别为 94.1%、94.4%。Escudero 等^[18]分析了 1 059 例西班牙人[健康者 101 例、良性疾病患者 535 例(妇科疾病患者 292 例),恶性疾病患者 423 例(卵巢癌患者 127 例)]血清 HE4 和 CA125 水平,认为 CA125 和 HE4 的临界值分别为 35 U/mL 和 140 pmol/L,且健康者 HE4 和 CA125 水平高于临界值的比例分别为 1.1%、9.9%,良性疾病患者分别为 12.3%和 37.0%,而良性妇科疾病患者只有 1.3%和 33.2%,说明二者对妇科疾病具有不同的诊断价值。HE4 仅在妇科及肺癌患者中明显增高,而 CA125 在其他非妇科疾病,甚至非上皮源性肿瘤中均有较高表达。Moore 等^[19]研究了 96 例子宫内膜腺癌患者血清 HE4 水平与临床分期的关系,发现 HE4 水平大于 70 pmol/L 可作为区别 I 期(包括 I A 和 I B)与晚期疾病的标志,且与肿瘤对肌层的侵袭度及是否有淋巴转移有较好相关性,说明在进行此类肿瘤的手术治疗前,可根据血清 HE4 水平拟定手术方案(包括切除范围、术式及是否进行淋巴清扫等)。Kim 等^[20]认为术前血清 CA125≥535 U/mL 可预测淋巴结转移。

林碧君等^[21]的研究证实,卵巢癌患者血清 HE4、CA125 水平较健康者显著增高($P<0.01$),卵巢良性疾病患者 HE4、CA125 水平与健康者比较差异无统计学意义($P>0.05$),HE4 在卵巢癌早期(I、II 期)的诊断灵敏度(阳性率)为 64.3%(9/14),高于 CA125[42.9%(6/14)],卵巢癌 II、III、IV 期患者二者联合检测的阳性率高于单项检测。

卵巢癌组织特异性高表达 HE4,这为制备用于卵巢癌基因治疗的组织一肿瘤特异性探针提供了可能。Berry 等^[22]分离获得了大小为 652 bp 的 HE4 启动子,发现 pHE4-652 能够驱动报告基因在卵巢癌上皮细胞系中特异性高表达,提示 pHE4-652 有可能作为一种新的启动子应用于卵巢癌的靶向性基因治疗。然而,HE4 用于子宫内膜癌基因治疗尚未见报道^[23]。

2.2 HE4 与卵巢癌的预后 HE4 不仅对早期卵巢癌有较高的诊断及鉴别诊断价值,对其预后和转归也有很好的参考价

值。Hynninen 等^[24]认为,HE4 不仅是鉴别早期卵巢肿瘤良恶性的重要指标,还可用于恶性卵巢癌初期化疗的疗效评价,其与预后的相关性明显优于 CA125。Steffensen 等^[25]检测了 139 例卵巢癌初诊患者接受卡铂-紫杉醇化疗前的血清 HE4、CA125 及 HER2 水平,认为 HE4 是可独立作为卵巢癌患者预后的可靠指标。Paek 等^[26]检测了 78 例盆腔肿瘤患者 HE4 水平,发现 HE4 高表达与晚期卵巢恶性肿瘤及其血清学分型密切相关,血清 HE4 水平与恶性卵巢癌患者术后的病理分型及血清学分型存在正相关,且血清 HE4 水平较高预示患者无瘤生存期将明显缩短,证实 HE4 不仅是诊断恶性肿瘤的良好指标,对患者接受化疗的预后判断也有较大的参考价值。Bandiera 等^[27]检测了 419 例女性(健康者 140 例,卵巢良性囊肿患者 131 例,子宫内膜异位症患者 34 例,卵巢上皮癌患者 114 例)血清 HE4 及 CA125 水平,并对其进行了多因素方差分析,认为 HE4 对鉴别上述 3 种疾病有较高的特异性,而 CA125 对卵巢上皮癌则有更高的敏感性,且 HE4 可作为独立因素判断恶性肿瘤患者的预后。陈颖等^[28]采用 RNAi 技术下调了 Caov3 和 SKOV3.ip1 卵巢癌细胞株中高表达的 HE4,同时检测其细胞周期、凋亡、增殖率及迁移率等表型的变化,结果表明下调 HE4 的表达使细胞停滞于 G0/G1 期,且抑制细胞增殖和迁移,提示 HE4 可能通过影响细胞周期及其生长、迁移而促进恶性肿瘤的生长、转移和侵袭。

3 HE4 与其他恶性肿瘤

除卵巢及呼吸道外,肺腺癌组织也可表达 HE4。Tokuishi 等^[29]检测了 152 例手术切除的肺腺癌组织中的 HE4 及其剪接变异体 HE4-1、HE4-V3 的表达水平,结果显示 HE4 在肺腺癌组织中 100%表达,且 HE4-V3 的表达率为 92.1%(140/152),进一步的研究表明,HE4-V3 表达水平的高低对患者 5 年生存率有较高的预后判断价值。

有学者应用免疫组织化学法检测了 31 例子宫内膜癌患者、20 例子宫内膜正常增生者和 19 例子宫内膜增生者组织标本中的 HE4 水平,同时应用酶联免疫吸附试验检测了受试者血清 HE4 水平,结果显示:子宫内膜癌患者组织及血清 HE4 水平明显高于子宫内膜正常增生者和子宫内膜增生者,且子宫内膜癌患者术前血清 HE4 水平与国际妇产科联盟(FIGO)分期、血清 CA125 水平,与术后病理组织 HE4 表达水平一致。HE4、YKL40 单项检测诊断子宫内膜癌的受试者工作特征曲线下面积分别为 0.882、0.809,对于子宫内膜癌具有一定的辅助诊断价值。当血清 HE4、YKL40 临界值分别设为 150 pmol/L 和 78.85 $\mu\text{g/L}$ 时,HE4、YKL40 单项检测及二者联合检测诊断子宫内膜癌的灵敏度分别为 35.48%、67.74%和 74.19%,联合检测诊断灵敏度高于单项检测,表明 HE4、YKL40 联合检测具有更高的子宫内膜癌辅助诊断价值^[30-31]。

4 小 结

血清 HE4 水平随年龄增长而增加,尤其是在绝经后妇女中更明显;而 CA125 则相反,在绝经前的健康育龄期妇女中偏高。肾功能不全患者有可能因肾小球滤过功能低下使血清 HE4 聚积,导致其血清水平异常升高^[18]。虽然 HE4 可用于妇科肿瘤的诊断,但也有研究表明其诊断价值并不理想。Lenhard 等^[32]采用 ARCHITECT 系统与酶免分析法测定并比较了 HE4 与 CA125 对卵巢肿瘤的鉴别诊断意义,认为单独检测时,HE4 对晚期肿瘤的特异性较 CA125 高,而 CA125 对早期肿瘤较的特异性较 HE4 高,二者联合检测则对早期卵巢恶性肿瘤具有更大的鉴别诊断及预后价值。Van Gorp 等^[33]利用卵巢恶性肿瘤风险计算法(ROMA)对 389 例经超声检查确诊

的拟进行外科治疗的盆腔肿瘤患者进行了关于 HE4 诊断意义的前瞻性研究,结果表明在 ROMA 系统中,HE4 并不具有比 CA125 更高的灵敏度及特异性,说明 HE4 的临床价值仍有待更深入的研究。

参考文献

- [1] Kirchhoff C, Habben I, Ivell R, et al. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors[J]. Biol Reprod, 1991, 45(2): 350-357.
- [2] Drapkin R, Von Horsten HH, Lin Y, et al. Human epididymis protein 4(HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas[J]. Cancer Res, 2005, 65(6): 2162-2169.
- [3] Ono K, Tanaka T, Tsunoda T, et al. Identification by cDNA microarray of genes involved in ovarian carcinogenesis[J]. Cancer Res, 2000, 60(18): 5007-5011.
- [4] Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma[J]. Cancer Res, 2003, 63(13): 3695-3700.
- [5] Kirchhof C. Molecular characterization of epididymal proteins[J]. Rev Reprod, 1998, 3(1): 86-95.
- [6] Bingle L, Singleton V, Bingle CD. The putative ovarian tumour marker gene HE4 (WFDC2), is expressed in normal tissues and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms[J]. Oncogene, 2002, 21(17): 2768-2773.
- [7] Wang K, Gan L, Jeffery E, et al. Monitoring gene expression profile changes in ovarian carcinomas using cDNA microarray[J]. Gene, 1999, 229(1/2): 101-108.
- [8] Schummer M, Ng WV, Bumgamer RE, et al. Comparative hybridization of an array of 21,500 ovarian cDNAs for the discovery of genes overexpressed in ovarian carcinomas[J]. Gene, 1999, 238(2): 375-385.
- [9] Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, et al. Human epididymis protein 4(HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas[J]. Cancer Res, 2005, 65(11): 2162-2169.
- [10] Bingle L, Cross SS, High AS, et al. WFDC2 (HE4): a potential role in the innate immunity of the oral cavity and respiratory tract and the development of adenocarcinomas of the lung[J/OL]. Respir Res, 2006-04-06[2012-06-14]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1459147/?tool=pubmed>.
- [11] Li J, Dowdy S, Tipton T, et al. HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9(6): 555-566.
- [12] Whitehouse C, Solomon E. Current status of the molecular characterization of the ovarian cancer antigen CA125 and implication for its use in clinical screening[J]. Gynecol Oneol, 2003, 88(1Pt2): 152-157.
- [13] 杨永彬,徐伟,陈建利,等. 卵巢癌肿瘤标志物研究进展[J]. 国外医学妇产科学分册, 2004, 31(4): 229-232.
- [14] Urban N, Thorpe JD, Bergan LA, et al. Potential role of HE4 in multimodal screening for epithelial ovarian cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2011, 103(21): 1630-1634.
- [15] Holcomb K, Vucetic Z, Miller MC, et al. Human epididymis protein 4 offers superior specificity in the differentiation of benign and malignant adnexal masses in premenopausal women[J/OL]. Am J Obstet Gynecol, 2011-05-16[2012-06-14]. [http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(11\)00610-7/fulltext](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(11)00610-7/fulltext).
- [16] Chang X, Ye X, Dong L, et al. Human epididymis protein 4(HE4)

as a serum tumor biomarker in patients with ovarian carcinoma[J]. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21(5): 852-858.

- [17] Park Y, Kim Y, Lee EY, et al. Reference ranges for HE4 and CA125 in a large Asian population by automated assays and diagnostic performances for ovarian cancer[J]. Int J Cancer, 2012, 130(5): 1136-1144.
- [18] Escudero JM, Auge JM, Filella X, et al. Comparison of serum human epididymis protein 4 with cancer antigen 125 as a tumor marker in patients with malignant and nonmalignant diseases[J]. Clin Chem, 2011, 57(11): 1534-1544.
- [19] Moore RG, Miller CM, Brown AK, et al. Utility of tumor marker HE4 to predict depth of myometrial invasion in endometrioid adenocarcinoma of the uterus[J]. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21(7): 1185-1190.
- [20] Kim HS, Park NH, Chung HH, et al. Significance of preoperative serum CA-125 levels in the prediction of lymph node metastasis in epithelial ovarian cancer[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2008, 87(11): 1136-1142.
- [21] 林碧君,李波,李春仙. HE4 和 CA125 联检在卵巢癌中的应用价值[J]. 放射免疫学杂志, 2010, 60(5): 564-565.
- [22] Berry NB, Cho YM, Harrington MA, et al. Transcriptional targeting in ovarian cancer cells using the human epididymis protein 4 promoter[J]. Gynecol Oneol, 2004, 92(3): 896-904.
- [23] 孙桂荣,丛培珊. 卵巢癌、子宫内膜癌肿瘤标志物人附睾蛋白 4[J]. 中国医刊, 2010, 60(11): 86-88.
- [24] Hynninen J, Auranen A, Dean K, et al. Serum HE4 profile during primary chemotherapy of epithelial ovarian cancer[J]. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21(9): 1573-1578.
- [25] Steffensen KD, Waldstrem M, Brandslund I, et al. Prognostic impact of prechemotherapy serum levels of HER2, CA125, and HE4 in ovarian cancer patients[J]. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21(6): 1040-1047.
- [26] Paek J, Lee SH, Yim GW, et al. Prognostic significance of human epididymis protein 4 in epithelial ovarian cancer[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2011, 158(2): 338-342.
- [27] Bandiera E, Romani C, Specchia C, et al. Serum human epididymis protein 4(HE4) and Risk for Ovarian Malignancy Algorithm(ROMA) as new diagnostic and prognostic tools for epithelial ovarian cancer management[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2011, 20(12): 2496-2506.
- [28] 陈颖,张磊,吴娟娟,等. 沉默轴突导向蛋白 4D 基因对卵巢癌 SK-OV3 细胞恶性生物学行为的影响[J]. 中华肿瘤杂志, 2011, 33(5): 324-330.
- [29] Tokuiishi K, Yamashita S, Ohbo K, et al. Splice variant HE4-V3 expression is associated with favorable prognosis in pulmonary adenocarcinoma[J]. Tumour Biol, 2012, 33(1): 103-109.
- [30] 杨彩虹,徐永辉,张雪玉. 人附睾蛋白 4 在子宫内膜癌组织及血清中的表达及临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2011, 38(9): 516-519.
- [31] 张雪玉,杨彩虹,吕娟. 子宫内膜癌患者血清中 HE4、YKL-40 的表达及临床意义[J]. 现代妇产科进展, 2011, 20(5): 377-380.
- [32] Lenhard M, Stieber P, Hertlein L, et al. The diagnostic accuracy of two human epididymis protein 4(HE4) testing systems in combination with CA125 in the differential diagnosis of ovarian masses[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(12): 2081-2088.
- [33] Van Gorp T, Cadron I, Despierre E, et al. HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm[J]. Br J Cancer, 2011, 104(5): 863-870.