

• 临床检验研究论著 •

# 血清 HE4 与 CA125 联合检测在盆腔包块患者恶性卵巢癌风险评估中的应用价值

潘莹莹, 夏琳, 何小霞, 程黎明<sup>△</sup>

(华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科, 湖北武汉 430030)

**摘要:**目的 本研究应用血清人附睾蛋白 4(HE4)与糖类蛋白 125(CA125)联合检测并结合卵巢癌恶性风险模型(ROMA 法则)对拟行手术的盆腔包块患者进行卵巢癌恶性风险评估,并探讨其应用价值。方法 收集盆腔包块拟行手术患者 196 例血清(包括术前、术后),按术后病理诊断结果分为卵巢癌组和卵巢良性疾病组,并收集 120 例女性健康对照组血清,采用全自动化学发光微粒子免疫分析方法测定 HE4 和 CA125 水平并计算 ROMA 风险值。结果 卵巢癌组血清 HE4、CA125 水平[分别为(227.46±375.68)pmol/L 和(477.22±929.90)U/mL]与卵巢良性疾病组[(37.37±9.23)pmol/L 和(51.04±61.06)U/mL]和健康对照组[分别为(35.75±9.71)pmol/L 和(11.61±5.77)U/mL]比较,均呈显著升高( $P<0.05$ );将 75% 的卵巢良性疾病分类为低风险所对应的 ROMA 值确定为判断标准,其中未绝经患者 ROMA $\geq 5.6\%$  归为患上皮性卵巢癌的高风险性。而绝经患者 ROMA $\geq 17.5\%$  归为患上皮性卵巢癌的高风险性。按上述标准风险评估特异度 75%,总的灵敏度为 58.5%,阳性预测值为 67.9%,阴性预测值为 66.1%。结论 联合检测盆腔包块患者血清 HE4 和 CA125 浓度并采用 ROMA 法则在评估患者恶性卵巢癌风险中具有一定的应用价值,为临床上卵巢癌的早发现、早诊治以及提高卵巢癌患者的预后水平提供了新的思路。

**关键词:**卵巢肿瘤; CA125 抗原; 人附睾蛋白 4; 卵巢恶性肿瘤风险模型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.05.014

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)05-0543-02

## Significance of combined detection of HE4 and CA125 in risk assessment of patients with pelvic mass with malignant ovarian cancer

Pan Yingying, Xia Ling, He Xiaoxia, Cheng Liming<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science &amp; Technology, Wuhan, Hubei 430030, China)

**Abstract:**Objective To investigate the value of combined detection of serum HE4 and CA125 and the ROMA method used to assess the risk of malignant ovarian cancer in patients with pelvic mass. **Methods** The serum of 196 patients with pelvic mass were collected(before and after operation). According to the result of pathology diagnosis after operation, all patients were divided into ovarian cancer group(94 patients), benign ovarian disease group(102 patients) and 120 healthy controls. Serum HE4 and CA125 were assayed by automatic chemical microparticle Immunoassay. The value of ROMA was calculated. **Results** Serum HE4 and CA125 level of ovarian cancer patients [(227.46±375.68 pmol/L) and (477.22±929.90) U/mL] were significantly higher than the healthy controls[(35.75±9.71)pmol/L and (11.61±5.77)U/mL] and ovarian benign disease group [(37.37±9.23) pmol/L and (51.04±61.06) U/mL]( $P<0.05$ ). ROMA value is determined as 75% of benign ovarian disease classified as low-risk, if ROMA value  $\geq 5.6\%$  there was high risk of epithelial ovarian cancer for pre-menopausal patients and  $\geq 17.5\%$  for post-menopausal patients respectively. The specificity, sensitivity, positive predictive value and negative predictive value of risk assessment were 75%, 58.5%, 67.9% and 66.1% respectively, according to the above criteria. **Conclusion** Combined detection of serum HE4 and CA125 and the use of ROMA rule is suitable to assess the risk of malignant ovarian cancer in patients with pelvic mass and provides a new way for early detection and diagnosis of ovarian cancer and to improve the prognosis of ovarian cancer patients.

**Key words:** ovarian neoplasms; CA125 antigen; human epididymal protein 4; risk of ovarian malignancy algorithm

卵巢癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤,其发病率在女性生殖系统肿瘤中占第 3 位,病死率居妇科恶性肿瘤之首<sup>[1-2]</sup>。研究显示,75% 的患者发现时已处于晚期,其 5 年生存率仅为 10%~20%,如果能早期诊断卵巢癌,其 5 年生存率可以提高到 65%<sup>[3]</sup>,然而卵巢癌早期诊断方法较少,灵敏度及特异性亦不高,因此寻找有效的血清标志物对卵巢癌早起诊断及预后有着极其重要的意义。目前在临床上较常应用的卵巢癌血清标志物是 CA125,然而不仅在绝大多数的卵巢癌中表达增高,在正常卵巢表面上皮、卵巢良性肿瘤和上皮性癌组织中均有不同程度的表达<sup>[4]</sup>,应用 CA125 诊断卵巢癌的假阳性率较高,且敏感性和特异性不够<sup>[5-6]</sup>,在临床应用存在很大的局限性。HE4 是 WFDC2 基因编码的一个酸性、小的单信号肽,属于 4-二硫键核心乳清酸(WFDC)蛋白家族,最早发现于人附睾上皮细胞,

由于其在卵巢癌组织中高表达,而在卵巢组织及其他正常组织中不表达或低表达<sup>[7]</sup>,本研究采用先进的化学发光微粒子免疫联合检测盆腔包块患者血清 HE4 和 CA125 水平,并结合卵巢癌恶性评估模型(ROMA 法则)评估其在恶性卵巢癌风险评估中的应用价值。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2009 年 2 月至 2010 年 12 月以盆腔包块待查拟行手术收治在本院妇科及妇科肿瘤病房的患者,根据术后病理报告将患者分为卵巢恶性肿瘤组、卵巢良性病变组,其中卵巢恶性肿瘤组 94 例(术前 39 例、术后 55 例),包括卵巢浆液性腺癌 75 例,卵巢子宫内膜样癌 12 例,卵巢透明细胞癌 4 例,卵巢移行细胞癌 3 例,患者平均年龄(49.66±11.46)岁;卵巢良性病变组 102 例,包括卵巢浆液性腺纤维瘤 2 例,卵巢

囊肿 69 例,先天性多囊卵巢 2 例,卵巢炎 1 例,卵巢浆液性乳头状囊腺瘤 9 例,卵巢卵泡膜细胞瘤 1 例及卵巢成熟性囊性畸胎瘤 18 例,患者平均年龄(32.71±10.19)岁。另收集同期本院女性健康体检者(肝、肾功能正常,无糖尿病、高血压等内科慢性疾病,胸部 X 线检查正常,B 超检查证实无甲状腺、乳腺及盆腔包块)120 例(绝经 60 例、未绝经 60 例),平均年龄(45.07±15.86)岁。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 采用 BD 真空采血管收集所有研究对象肘静脉血 3 mL,样本采集后 1 h 内送至实验室以离 3 000 r/min 离心 10 min 后分离血清样本于专用样本冻存管中,置 -80 ℃ 冰箱待检。

1.2.2 样本检测 HE4 和 CA125 检测试剂盒均由自美国雅培公司提供,检测所用仪器均为 Architect i2000SR,采用全自动化学微粒子发光免疫分析方法进行测定,检测过程严格按照仪器和试剂操作说明书进行。

1.2.3 预测指数(PI)的计算依据患者的 HE4 水平和 CA125 水平,根据患者的绝经情况分别用下列公式(1)和公式(2)计算:(1)未绝经:PI = -12.0 + 2.38 × LN[HE4] + 0.0626 × LN[CA125];(2)绝经后:PI = -8.09 + 1.04 × LN[HE4] + 0.732 × LN[CA125];式中 LN = 自然对数。

1.2.4 ROMA 值的计算 ROMA 值的计算(即预测可能性),将 PI 值代入以下公式:ROMA(%) = EXP(PI)/(1 + EXP(PI)) × 100。

1.3 统计学处理 数据分析采用 SPSS13.0 统计软件。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间均数比较采用方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 HE4 和 CA125 水平测定 卵巢恶性肿瘤组血清 HE4 和 CA125 水平[分别为(227.46 ± 375.68) pmol/L 和(477.22 ± 929.90) U/mL]分别与卵巢良性病变组[分别为(37.37 ± 9.23) pmol/L 和(51.04 ± 61.06) U/mL]和对照组[分别为(35.75 ± 9.71) pmol/L 和(11.61 ± 5.77) U/mL]比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而对照组和卵巢良性病变组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 卵巢良、恶性组与对照组血清 HE4 和 CA125 水平

组别	n	HE4(pmol/L)	CA125(U/mL)
卵巢恶性肿瘤组	94	227.46 ± 375.68	477.22 ± 929.90
卵巢良性病变组	102	37.37 ± 9.23	51.04 ± 61.06
对照组	120	35.75 ± 9.71	11.61 ± 5.77

2.2 检测各组血清 HE4、CA125 并利用 ROMA 法则对恶性卵巢癌进行风险评估<sup>[8]</sup> 以病理诊断为判断标准,评估 ROMA 法则的灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值。在本次研究中,未绝经组共有 95 例卵巢良性疾病术前病例,绝经组有 7 例卵巢良性术前病例,无论是绝经前患者还是绝经后患者,其中 75% 的卵巢良性疾病分类为低风险所对应的 ROMA 值确定为判别标准,大于该值即为高风险(绝经前和绝经后人进行分组)(即 75% 的特异性)。75% 的卵巢良性疾病分类为低风险所对应的 ROMA 值判为低风险,大于该值为高风险。因此,确定本研究的 ROMA 风险值如下,未绝经患者:ROMA ≥ 5.6%,发现上皮性卵巢癌的高风险性。ROMA < 5.6%,发现上皮性卵巢癌的低风险性;绝经患者 ROMA ≥

17.5%,发现上皮性卵巢癌的高风险性;ROMA < 17.5%,发现上皮性卵巢癌的低风险性。通过新建立的 ROMA 值,依据病理诊断的结果作为标准,进行四格表分析,见表 2。

表 2 ROMA 风险评估结果表

组别	未绝经组		绝经组		两组合并	
	恶性	良性	恶性	良性	恶性	良性
ROMA 高风险(n)	13	24	42	2	55	26
ROMA 低风险(n)	9	71	30	5	39	76
灵敏度(%)	59.1		58.3		58.5	
特异度(%)	74.7		71.4		74.5	
阳性预测值(%)	35.1		95.5		67.9	
阴性预测值(%)	88.8		14.3		66.1	

3 讨论

HE4 最早是从人附睾上皮细胞中发现,为 WFDC2 基因的编码产物,是一个酸性、小的单信号肽和半胱氨酸丰富。其在卵巢癌组织中高表达,但在正常组织包括卵巢组织中不表达或低表达。在一个病例对照研究中将卵巢癌患者与健康个体和良性疾病患者进行比较,Hellstrom 等<sup>[9]</sup> 发现人附睾蛋白 4 在卵巢癌检测中在特异性为 96% 水平时的灵敏度为 67%。在后续的研究中,对卵巢癌的大量已知标记物进行评价,人附睾蛋白 4 作为单一标志物的灵敏度最高,而人附睾蛋白 4 和 CA125 联用对于恶性卵巢肿瘤比其任何一种单用更精确,其灵敏度为 76%,特异性为 95%<sup>[10]</sup>,而 Park 等<sup>[11]</sup> 的研究亦表明 HE4 和 CA125 联合检测能够提高卵巢癌早期诊断的敏感性。本次研究采用更为先进的化学发光微粒子免疫联合检测盆腔包块患者血清 HE4 和 CA125 水平,并结合卵巢癌恶性评估模型(ROMA 法则)评估其在恶性卵巢癌风险评估中的应用价值。结果表明,卵巢癌组血清 HE4、CA125 水平与各自健康对照组和卵巢良性疾病组相比均显著升高;而卵巢良性疾病组 HE4、CA125 水平与健康对照组比较均无统计学差异,这与国外的研究相一致。

卵巢癌恶性风险评估模型法(ROMA)主要依据患者血清 CA125 和 HE4 水平,结合患者月经状态,通过 Logistic 回归分析建立相应的数学模型,主要用于预测盆腔包块卵巢癌的发病风险<sup>[8,10,12]</sup>。首先对 102 例患卵巢良性疾病的患者按未绝经和绝经两种计算方法求出 ROMA 值,将 75% 的卵巢良性疾病分类为低风险所对应的 ROMA 值确定为判别标准,其中未绝经患者若 ROMA ≥ 5.6%,归为患上皮性卵巢癌的高风险性,低于该值为低风险。而绝经患者若 ROMA ≥ 17.5%,归为患上皮性卵巢癌的高风险性,低于该值为低风险。

依据病理学诊断为金标准,ROMA 值风险评估未绝经组 74.7% 患卵巢良性疾病者归为低风险组,而将 59.1% 的卵巢上皮癌者划入高风险组,所对应的阳性预测值为 35.1%,阴性预测值仅为 88.8%。ROMA 值风险评估绝经组 71.4% 患卵巢良性疾病者归为低风险组,而将 58.3% 的卵巢上皮癌者划入高风险组,所对应的阳性预测值为 95.5%,阴性预测值为 14.3%。由于卵巢良性疾病组有 24 例 ROMA 值达到高风险,导致未绝经组阳性预测值低,与本研究卵巢癌患者未绝经病例数偏少有关。而在绝经组由于卵巢良性疾病组病例数偏少,从而导致绝经组阴性预测值过低。为消除这种病例数的影响,有必要进行更大样本量的研究,弥补此缺陷。

综上所述,HE4 可作为临床诊断上皮性(下转第 547 页)

直接接触而完成<sup>[8]</sup>。

临床研究发现,胃癌晚期患者外周血 Treg 水平比早期胃癌患者高很多,胃癌患者 Treg 的免疫功能与肿瘤生长有着紧密关系,可直接与肿瘤发展同步进行。通过研究发现可知,肿瘤免疫机制中 Treg 细胞的作用和外周血 Treg 细胞的比率变化,在临床指导与免疫治疗过程中,具有非常大的重要意义,在未来肿瘤研究治疗反面,是一个非常有效的方法<sup>[9-12]</sup>。

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 不仅与肿瘤免疫机制有关系,与其数量多少和肿瘤恶性程度也有相关性,该细胞数量增多,说明肿瘤预后较差。所以,恶性肿瘤患者外周血中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 数量比对照组要高出 1 倍以上。经检测,晚期(Ⅲ+Ⅳ期)恶性肿瘤患者外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞水平比早期(Ⅰ+Ⅱ期)患者高,Ⅳ期恶性肿瘤患者的外周血调节 T 细胞水平最高。

Foxp3<sup>+</sup>Treg 是促进 T 细胞生长及功能发挥的重要因素。因为 Treg 具有抑制机体抗肿瘤免疫的作用,所以 Foxp3<sup>+</sup>Treg 在肿瘤免疫中具有促瘤的作用。根据肿瘤分期与 Foxp3 基因表达,探索研究 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞对细胞杀伤肿瘤效应的影响范围,可以为更深一步研究免疫治疗的临床应用打下坚实的基础。

参考文献

[1] 梁建明,孙青,钟永,等.胃癌患者外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞比率及表型特征研究[J].蚌埠医学院学报,2010,35(9):883-886.  
 [2] Stephens LA, Mottet C, Mason D, et al. Human CD4(+)CD25(+) thymocytes and peripheral T cells have immune suppressive activity in vitro[J]. Eur J Immunol, 2001, 31(4): 1247-1254.

(上接第 544 页)

卵巢癌的一种新的血清标志物,也是卵巢良恶性疾病鉴别诊断的良好指标。本研究首次采用先进的化学发光微粒子免疫方法联合检测血清 HE4 和 CA 125 水平,并结合 ROMA 值风险评估在盆腔包块患者罹患恶性卵巢癌的早期诊断上具有较好的应用价值,为临床上卵巢癌的早发现、早诊治以及提高卵巢癌患者的预后提供了新的思路。

参考文献

[1] Ho SM. Estrogen, Progesterone and Epithelial Ovarian Cancer [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2003, 1(1): 73.  
 [2] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2004, 62(1): 10-29.  
 [3] Schink JC. Current initial therapy of stage III and IV ovarian Cancer: challenges for managed care [J]. Semin Oncol, 1999, 26 (Suppl 1): S2-7.  
 [4] Strigini FA, Gadducci A, Del Bravo B, et al. Differential diagnosis of adnexal masses with transvaginal sonography, color flow imaging, and serum CA 125 assay in pre- and postmenopausal women [J]. Gynecol Oncol, 1996, 61(1): 68-72.  
 [5] Kobayashi H, Yamada Y, Sado T, et al. A randomized study of screening for ovarian Cancer: a multicenter study in Japan [J]. Int J Gynecol Cancer, 2008, 18(3): 414-420.  
 [6] Bast RC Jr. Status of tumor markers in ovarian cancer screening

[3] Yamagiwa S, Gray JD, Hashimoto S, et al. A role for TGF-beta in the Generation and expansion of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells from human peripheral blood [J]. J Immunol, 2001, 166(12): 7282-7289.  
 [4] 雷晓,余佩武,赵永亮,等. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞在胃癌患者的表达及其临床意义 [J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(5): 397-400.  
 [5] Salgame P, Abrams JS, Clayberger C, et al. Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T cell clones [J]. Science, 1991, 254(5029): 279-282.  
 [6] 周光炎. 免疫学原理 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007: 247-249.  
 [7] Terabe M, Berzofsky JA. Immunoregulatory T cells in tumor immunity [J]. Curr Opin Immunol, 2004, 16(2): 157-162.  
 [8] 张通通,袁向亮,李美星,等. 胃癌 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>调节性 T 细胞的异常增高与患者免疫抑制状态的相关性分析 [J]. 诊断学理论与实践, 2010, 9(4): 339-342.  
 [9] 袁向亮,沈定丰,卢剑,等. 胃癌 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>调节性 T 淋巴细胞数量和分布及 Foxp3 基因表达与肿瘤分期的相关性 [J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(4): 378-383.  
 [10] 史学菲,白平,唐承薇,等. 胃癌患者手术前后 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞的变化 [J]. 中国普外基础与临床杂志, 2011, 18(9): 942-946.  
 [11] 吕承刚,李永翔. 胃肠道恶性肿瘤患者 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞的检测及意义 [J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(7): 817-820.  
 [12] 齐治,李荣,陈凇,等. 胃癌患者外周血调节性 T 细胞检测及初步分析 [J]. 中华实验外科杂志, 2009, 26(5): 608-609.

(收稿日期:2012-12-02)

[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(Suppl 10): S200-205.

[7] 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.  
 [8] Moore RG, Mcmeekin DS, Brown AK, et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian Cancer in patients with a pelvic mass [J]. Gynecol Oncol, 2009, 112(1): 40-46.  
 [9] Hellstrom 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.  
 [10] Rosenthal A, Jacobs I. Ovarian cancer screening [J]. Semin Oncol, 1998, 25(3): 315-325.  
 [11] Park Y, Lee JH, Hong DJ, et al. Diagnostic performances of HE4 and CA125 for the detection of ovarian Cancer from patients with various gynecologic and non-gynecologic diseases [J]. Clin Biochem, 2011, 44(10/11): 884-888.  
 [12] Montagnana M, Danese E, Ruzzenente O, et al. The ROMA (risk of ovarian malignancy algorithm) for estimating the risk of epithelial ovarian Cancer in women presenting with pelvic mass: is it really useful? [J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(3): 521-525.

(收稿日期:2012-11-09)