

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.18.018

子宫内膜癌病灶超声造影参数与 Beclin1、Bax 及 CDK4 表达水平的相关性分析*

谭茂梅, 林琳

联勤保障部队第九〇〇医院妇产科, 福建福州 350000

摘要:目的 分析子宫内膜癌病灶超声造影参数与 Beclin1、Beclin1 关联 X 蛋白(Bax)及周期素依赖性激酶 4(CDK4)表达水平的相关性。方法 选取 2022 年 1 月至 2023 年 1 月在联勤保障部队第九〇〇医院就诊的 42 例子宫内膜癌患者作为恶性组, 58 例癌前病变患者作为良性组。两组患者均给予超声造影成像检查并测定造影剂平均渡越时间(MMT)、达峰时间(TTP)及峰值强度(Peak), 均进行子宫切除术并采集病灶组织, 检测 Beclin1、Bax、CDK4 及周期素依赖性激酶 6(CDK6)表达水平。采用 Pearson 相关分析子宫内膜癌病灶超声造影参数与 Beclin1、Bax 及 CDK4 表达水平的相关性。结果 恶性组病灶 Peak 高于良性组, MMT 长于良性组, TTP 短于良性组, Beclin1、Bax 表达水平低于良性组, CDK4、CDK6 表达水平高于良性组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。恶性组中 TNM 分期为 III~IV 期患者病灶 Peak 高于 I~II 期患者, MMT 长于 I~II 期患者, TTP 短于 I~II 期患者, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。恶性组中 TNM 分期为 III~IV 期患者病灶组织 Beclin1、Bax 表达水平低于 I~II 期患者, CDK4、CDK6 表达水平高于 I~II 期患者, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson 相关分析结果显示, 子宫内膜癌病灶 Peak、MTT 与 CDK4 及 CDK6 表达水平呈正相关($P < 0.05$), 与 Beclin1、Bax 表达水平呈负相关($P < 0.05$), TTP 与病灶组织 CDK4 及 CDK6 表达水平呈负相关($P < 0.05$), 与 Beclin1、Bax 表达水平呈正相关($P < 0.05$)。结论 子宫内膜癌患者 MMT 长于癌前病变患者, 以及 Peak、CDK4、CDK6 表达水平均高于癌前病变患者, 子宫内膜癌患者病灶超声造影参数 MMT、TTP 及 Peak 与 Beclin1、Bax 及 CDK4 表达水平相关, 超声造影检查有助于辅助临床判断子宫内膜癌患者细胞凋亡相关蛋白表达情况。

关键词:子宫内膜癌; 超声造影参数; Beclin1; Beclin1 关联 X 蛋白; 周期素依赖性激酶 4

中图分类号:R711.7;R737.33

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)18-2707-04

Correlation analysis of contrast-enhanced ultrasound parameters with Beclin1, Bax and CDK4 expression levels in endometrial cancer lesions*

TAN Maomei, LIN Lin

Department of Obstetrics and Gynecology, the 900th Hospital of Joint Logistic Support Force, Fuzhou, Fujian 350000, China

Abstract: Objective To analyze the correlation between contrast-enhanced ultrasound parameters and the expression levels of Beclin1, Beclin1-associated X protein (Bax) and cyclin dependent kinase 4 (CDK4) in endometrial cancer lesions. **Methods** A total of 42 patients with endometrial cancer and 58 patients with precancerous lesions in the the 900th Hospital of the Joint Logistic Support Force from January 2022 to January 2023 were selected as the malignant group and the benign group. Contrast-enhanced ultrasound imaging was performed in both groups and the mean transit time (MMT), peak time (TTP) and peak intensity (Peak) of contrast agent were measured. Hysterectomy was performed in both groups and lesion tissues were collected to detect the expression levels of Beclin1, Bax, CDK4 and cyclin dependent kinase 6 (CDK6). Pearson correlation was used to analyze the correlation between contrast-enhanced ultrasound parameters and the expression levels of Beclin1, Bax and CDK4 in endometrial cancer. **Results** The Peak of lesions in the malignant group was higher than that in the benign group, the MMT in the malignant group was longer than that in the benign group, the TTP in the malignant group was shorter than that in the benign group, the expression levels of Beclin1 and Bax were lower than those in the benign group, and the expression levels of CDK4 and CDK6 in the malignant group were higher than those in the benign group, with statistical significance ($P < 0.05$). In the

* 基金项目:福建省自然科学基金资助项目(2021J011261)。

作者简介:谭茂梅,女,医师,主要从事妇产科方向的研究。

malignant group, the TNM stage III-IV patients had a higher Peak than that of I-II patients, the MMT of III-IV patients was longer than that of I-II patients, and the TTP of III-IV patients was shorter than that of I-II patients, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). In malignant group, the expression levels of Beclin1 and Bax in lesion tissues of patients with TNM stage III-IV were lower than those of patients with stage I-II, and the expression levels of CDK4 and CDK6 of patients with stage III-IV were higher than those of patients with stage I-II, with statistical significance ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that Peak and MTT in endometrial cancer lesions were positively correlated with the expression levels of CDK4 and CDK6 ($P < 0.05$) and negatively correlated with the expression levels of Beclin1 and Bax ($P < 0.05$). TTP in endometrial cancer lesions was negatively correlated with the expression levels of CDK4 and CDK6 ($P < 0.05$) and positively correlated with the expression levels of Beclin1 and Bax ($P < 0.05$). **Conclusion** MTT in patients with endometrial cancer was longer than that in patients with precancerous lesions, Peak, CDK4, CDK6 expression levels of focal contrast-enhanced in patients with endometrial cancer were higher than those in patients with precancerous lesions, and MTT, TTP and Peak of contrast-enhanced ultrasound parameters in patients with endometrial cancer were correlated with Beclin1, Bax and CDK4 expression levels. Contrast-enhanced ultrasound is helpful to evaluate the expression of apoptosis-related proteins in patients with endometrial carcinoma.

Key words: endometrial cancer; contrast-enhanced ultrasound parameter; Beclin1; Beclin1 is associated with X protein; cyclin dependent kinase 4

子宫内膜癌占女性生殖系统恶性肿瘤的 20%~30%, 50~60 岁为该病的高发年龄。近年来, 该恶性肿瘤发病呈年轻化趋势^[1-2]。子宫内膜癌首选手术治疗, 但有 10% 的患者术后复发, 且复发患者的平均生存期 < 1 年^[3]。超声造影成像作为一种新兴的无创诊断技术, 应用于甲状腺癌、乳腺癌等恶性肿瘤的病情评估中, 该技术可有效反映子宫内膜癌病灶情况^[4]。目前, 关于子宫内膜癌具体发病机制尚未完全阐明。有研究表明, 子宫内膜癌发生、发展与细胞增殖和凋亡有关^[5]。近年来研究发现, Beclin1、Bcl-2 关联 X 蛋白(Bax)及周期素依赖性激酶 4(CDK4)与子宫内膜癌发病密切相关^[6]。而目前, 有关子宫内膜癌 Beclin1、Bax 及 CDK4 表达水平与病灶超声造影参数关系的研究较少。基于此, 本研究探讨了子宫内膜癌 Beclin1、Bax 及 CDK4 表达水平与病灶超声造影参数的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2022 年 1 月至 2023 年 1 月在联勤保障部队第九〇〇医院就诊的 42 例子宫内膜癌患者作为恶性组, 58 例癌前病变患者作为良性组。恶性组年龄为 32~68 岁, 平均(47.6±3.5)岁; 平均子宫内膜厚度为(4.70±0.69)mm; 平均体质指数(BMI)为(21.75±1.06)kg/m²; TNM 分期: I~II 期 18 例, III~IV 期 24 例。良性组年龄为 31~67 岁, 平均(47.2±3.0)岁; 平均 BMI 为(21.60±1.04)kg/m²。两组年龄、BMI 比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 有可比性。纳入标准: (1)接受子宫切除术治疗, 且经病理学检查确诊为子宫内膜癌^[7]; (2)临床资料完整。排除标准: (1)合并内分泌、血液及消化系统疾病; (2)合并严重的脏器病变; (3)中途退出本

研究。本研究经联勤保障部队第九〇〇医院医学伦理委员会审核批准(2021-第 53 号), 且所有患者均知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 超声造影检查方法 取患者膀胱截石位, 采用 GE-LOGIQ-E9 型彩色多普勒超声诊断仪(美国 GE 公司)RIC5-9 探头经阴道确定病灶部位及周边血流, 选取病灶最佳观察面, 探头频率为 4~9 MHz。将 2.4 mL Sono Vue 造影剂注射于肘静脉, 超声诊断仪扫描病灶组织。采用 QLAB 软件分析峰值强度(Peak)、达峰时间(TTP)及平均渡越时间(MMT)。

1.2.2 检测 CDK4、周期素依赖性激酶 6(CDK6)、Beclin1 及 Bax 表达水平 子宫切除术中留取患者子宫内膜组织, 在病灶组织中加入 PIRA 裂解液, 充分匀浆, 置于 4 °C 环境中保存 1 h。以 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 进行 SDS-PAGE 电泳、转印, 采用脱脂奶粉进行封闭, 加入一抗, 置于 4 °C 环境中过夜, 再加入二抗, 置于室温环境中孵育 2 h, 加入化学发光法辣根过氧化物酶显色。采用 Image JV1.8.0.112 软件进行半定量分析, 以 β -actin 作为阴性对照, 以 CDK4、CDK6、Beclin1、Bax 条带的管密度值指标作为 CDK4、CDK6、Beclin1 及 Bax 相对表达量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验。采用 Pearson 相关分析子宫内膜癌病灶超声造影参数与 Beclin1、Bax 及 CDK4 表达水平的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 Peak、TTP 及 MMT 比较 恶性组病灶

Peak 高于良性组,MMT 长于良性组,TTP 短于良性组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 Peak、TTP 及 MMT 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Peak	TTP(s)	MMT(s)
恶性组	42	27.91±4.31	13.09±2.59	58.71±8.13
良性组	58	16.19±3.03	32.94±3.58	45.27±6.62
t		15.12	-32.17	8.81
P		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组 Beclin1、Bax、CDK4 及 CDK6 表达水平比较 恶性组 Beclin1、Bax 表达水平低于良性组,CDK4、CDK6 表达水平高于良性组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 不同 TNM 分期患者病灶 Peak、TTP 及 MMT 比较 TNM 分期为 III~IV 期患者 Peak 高于 I~II 期患者,MMT 长于 I~II 期患者,TTP 短于 I~II 期患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 不同 TNM 分期患者 Beclin1、Bax、CDK4 及 CDK6 表达水平比较 TNM 分期为 III~IV 期患者病灶组织 Beclin1、Bax 表达水平低于 I~II 期患者,CDK4、CDK6 表达水平高于 I~II 期患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 子宫内膜癌病灶超声造影参数与 Beclin1、Bax

及 CDK4 表达水平的相关性分析 Pearson 相关分析结果显示,子宫内膜癌病灶 Peak 和 MTT 与 CDK4 及 CDK6 表达水平呈正相关($P < 0.05$),与 Beclin1、Bax 表达水平呈负相关($P < 0.05$),TTP 与病灶组织 CDK4 及 CDK6 表达水平呈负相关($P < 0.05$),与 Beclin1、Bax 表达水平呈正相关($P < 0.05$)。见表 5。

表 2 两组 Beclin1、Bax、CDK4 及 CDK6 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Beclin1	Bax	CDK4	CDK6
恶性组	42	0.49±0.12	0.28±0.14	0.95±0.23	1.26±0.23
良性组	58	1.93±0.41	1.58±0.46	0.34±0.12	0.41±0.13
t		-25.29	-20.27	15.71	21.58
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 不同 TNM 分期患者病灶 Peak、TTP 及 MMT 比较($\bar{x} \pm s$)

TNM 分期	n	Peak	TTP(s)	MMT(s)
III~IV 期	24	32.44±5.08	7.21±2.04	64.43±9.95
I~II 期	18	21.87±3.54	20.93±3.17	51.09±6.52
t		7.55	-17.05	4.94
P		<0.001	<0.001	<0.001

表 4 不同 TNM 分期患者病灶组织 Beclin1、Bax、CDK4 及 CDK6 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

TNM 分期	n	Beclin1	Bax	CDK4	CDK6
III~IV 期	24	0.21±0.06	0.18±0.05	1.13±0.29	1.52±0.28
I~II 期	18	0.87±0.24	0.43±0.12	0.71±0.18	0.92±0.17
t		-12.99	-9.22	5.40	8.03
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 5 子宫内膜癌病灶超声造影参数与 Beclin1、Bax 及 CDK4 表达水平的相关性分析

指标	Beclin1		Bax		CDK4		CDK6	
	r	P	r	P	r	P	r	P
Peak	-0.778	<0.001	-0.739	<0.001	0.748	<0.001	0.834	<0.001
MTT	-0.653	<0.001	-0.592	<0.001	0.652	<0.001	0.622	<0.001
TTP	0.887	<0.001	0.826	<0.001	-0.819	<0.001	-0.852	<0.001

3 讨论

子宫内膜癌是女性生殖系统常见肿瘤,其发生率及病死率均居女性生殖系统恶性肿瘤前列。目前关于子宫内膜癌的研究较多,但因其发生、发展及转移涉及多种因素,机制复杂,目前还尚无明确定论^[8]。临床采用手术的方式治疗子宫内膜癌患者可取得较好预后,但晚期子宫内膜癌患者的 5 年生存率较低,故早期诊断对于改善子宫内膜癌患者预后意义重大。诊断子宫内膜癌的常用手段有病理活体组织检查、超声检查,其中病理活体组织检查是诊断子宫内膜癌的

金标准,而超声检查是目前兴起的一种诊断早期癌症的手段。注入造影剂后分析时间-强度曲线并测定造影参数,可反映病灶部位血管丰富程度以此作为诊断依据^[9]。目前超声检查在诊断甲状腺癌、乳腺癌等多种疾病中发挥重要作用。肿瘤的发生、发展是细胞恶性增殖的结果,由于子宫内血管较多,为肿瘤细胞的转移、侵袭提供营养,故采用超声检查能够较好地诊断子宫内膜癌。陈玲等^[10]采用超声及病理活体组织检查诊断子宫内膜癌,结果发现超声检查和病理活体组织检查诊断的灵敏度、特异度比较,差异无统计学

意义。本研究结果显示,恶性组病灶 Peak 高于良性组,MMT 长于良性组,TTP 短于良性组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),提示子宫内膜癌病灶的影像学特点主要为血管阻力小、血供丰富及血流量大等。

早期诊断子宫内膜癌的意义在于及时治疗,以改善患者预后,此外对子宫内膜癌患者进行肿瘤标志物检查对于评估预后、判断疗效也具有重要作用。CDK4 及 CDK6 是新生血管的主要调控因子,通过与 CyclinD1 结合,诱导子宫内膜癌细胞增殖,改变癌细胞周期,从而对恶性肿瘤的发生、发展创造条件^[11-13]。有研究表明,Bcl-2 不仅抑制细胞凋亡,并且可诱导细胞恶性增殖并保护细胞存活^[14]。另有研究表明,子宫内膜癌病灶组织 Bcl-2 高表达,能抑制子宫内膜癌细胞凋亡,促进正常细胞基因突变,促进子宫内膜癌病情发展^[15]。Bax 是 Bcl-2 家族成员之一,为一种促凋亡基因,有报道指出,在细胞凋亡时,Bax 表达水平升高,发挥促进细胞凋亡作用^[16]。同时,Bax 还可诱导并激活 Caspase 家族介导的凋亡级联反应,从而加速细胞凋亡^[17]。Beclin-1 高表达可促进癌细胞自噬,从而发挥调控癌细胞的作用,并可加速细胞自噬过程^[18]。本研究结果显示,恶性组 Beclin1、Bax 表达水平低于良性组,CDK4、CDK6 表达水平高于良性组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),说明子宫内膜癌患者病灶部位肿瘤细胞凋亡速度减慢而增殖速度加快,与回亚男等^[19]研究结果一致。本研究结果显示,子宫内膜癌病灶 Peak、MTT 与 CDK4 及 CDK6 表达水平呈正相关($P < 0.05$),与 Beclin1、Bax 表达水平呈负相关($P < 0.05$),而 TTP 与 CDK4、CDK6 表达水平呈负相关($P < 0.05$),与 Beclin1、Bax 表达水平呈正相关($P < 0.05$),上述结果说明子宫内膜癌患者病灶部位血流灌注与癌细胞增殖、凋亡基因存在一定关系,但是尚未清楚二者具体因果关系。

综上所述,恶性组 Peak 及 CDK4、CDK6 表达水平高于良性组,MMT 长于良性组,TTP 短于良性组,Beclin1、Bax 表达水平低于良性组,Peak、MTT 与病灶组织 CDK4 及 CDK6 表达水平呈正相关,与 Beclin1、Bax 表达水平呈负相关,而 TTP 与 CDK4、CDK6 表达水平呈负相关,与 Beclin1、Bax 表达水平呈正相关。本研究中样本量有限,关于子宫内膜癌患者病灶部位的血流灌注与增殖凋亡基因的因果关系还有待进行更深入的研究。

参考文献

[1] 罗茜,尹国武,朱晓明. 子宫内膜癌手术治疗的研究进展[J]. 现代生物医学进展,2017,17(11):2197-2200.
[2] 焦思萌,孔为民. 子宫内膜癌放射治疗进展[J]. 肿瘤学杂志,2016,22(7):554-559.

[3] 石红,肖祯. 子宫内膜癌手术治疗相关问题[J]. 大连医科大学学报,2017,39(2):105-109.
[4] 张俊莹. 超声造影在早期子宫内膜癌分期诊断中的价值及临床病理特征分析[J]. 实用癌症杂志,2017,32(12):2070-2073.
[5] 于岩君,尹香花. 子宫内膜癌发病机制的研究进展[J]. 医学综述,2018,24(9):1719-1723.
[6] 郭倩,秦春蕾. 子宫内膜癌中细胞凋亡和相关基因的表达研究[J]. 中国肿瘤临床与康复,2021,28(8):905-909.
[7] 王瀚. 子宫内膜癌超声造影参数与病灶组织中癌细胞恶性生物学特征的相关性[J]. 海南医学院学报,2017,23(8):1131-1133.
[8] 张阳阳,张琨,李冬,等. 子宫内膜癌发病相关危险因素的研究进展[J]. 中国妇幼保健,2018,33(1):219-222.
[9] 周虹,郑惠. 彩色多普勒超声检查在子宫内膜癌病情判断中的应用[J]. 山东医药,2018,58(19):54-56.
[10] 陈玲,胡兵,赵云. 超声造影和时间-强度曲线对子宫内膜良恶性病变的鉴别诊断价值[J]. 中国全科医学,2014(29):3484-3486.
[11] BURES N, NELSON G, DUAN Q L, et al. Primary squamous cell carcinoma of the endometrium: clinicopathologic and molecular characteristics[J]. Int J Gynecol Pathol, 2013,32(6):566-575.
[12] PATNAIK A, ROSEN L S, TOLANEY S M, et al. Efficacy and safety of abemaciclib, an inhibitor of CDK4 and CDK6, for patients with breast cancer, non-small cell lung cancer, and other solid tumors[J]. Cancer Discov, 2016,6(7):740-753.
[13] 夏望仙. 子宫内膜癌组织中 p57kip2 和 Cyclin D1 的表达[J]. 中国妇幼保健,2018,33(3):523-525.
[14] 周璐,刘亚楠,靳晓冬. 子宫内膜癌组织中 Bcl-2、Bmi-1 的表达情况及临床意义[J]. 实用癌症杂志,2023,38(2):223-226.
[15] 冯海利,侯亮. Smac、Bcl-2、Survivin 和 Bax 在早期子宫内膜癌中的表达与预后的相关性分析[J]. 中国妇幼保健,2016,31(20):4275-4279.
[16] 冯海利,侯亮,梁海峰. 子宫内膜癌中 Smac、Bcl-2、Survivin 和 Bax 基因的表达及临床意义[J]. 中国肿瘤临床与康复,2016,23(12):1443-1446.
[17] MIRAKHOR S S, EZAZI B T, ZAR-GHAMPOUR M, et al. Expression of p53, Bcl-2 and bax in endometrial carcinoma, endometrial hyperplasia and normal endometrium: a histopathological study[J]. J Obstet Gynaecol (Lahore), 2018,38(7):999-1004.
[18] 陈飞,余婷婷,李俊. 宫颈癌中自噬标记蛋白 Beclin1、p62 的表达及其临床意义[J]. 实用癌症杂志,2017,32(2):218-220.
[19] 回亚男,郝桂纯,杨静,等. 子宫内膜癌患者病灶超声造影成像检查结果、增殖凋亡基因编码蛋白表达及其相关性分析[J]. 山东医药,2018,58(3):19-22.