

文章编号: 1000-2812 (2024) 07-0028-09

禾蔻安双基因甲基化检测在子宫内膜癌筛查中的应用价值

蔡炳昕¹, 李浏钰¹, 刘博¹, 刘沛², 王林海², 王义山²,
刘禹利³, 王紫芸², 杜珺¹1 甘肃省妇幼保健院 妇一科, 甘肃 兰州 730050; 2 北京起源聚禾生物科技有限公司, 北京 102600;
3 广东药科大学附属第一医院 精准医学中心, 广东 广州 510000

摘要: **目的** 探讨禾蔻安双基因 (*CDO1* 和 *CELF4*) 甲基化检测在异常子宫出血患者中子宫内膜癌筛查的应用价值。**方法** 选取2021年7月—2022年6月因异常子宫出血就诊于甘肃省妇幼保健院宫腔镜门诊的患者216例, 收集宫颈脱落细胞进行双基因甲基化检测, 同时收集患者基本信息、肿瘤生物学标记物与子宫内膜厚度等。以宫腔镜下子宫内膜组织病理学诊断为金标准, 分析禾蔻安双基因甲基化检测对异常子宫出血女性中子宫内膜癌检出的敏感性与特异性。**结果** 单因素分析中, 年龄 ($P=0.001$)、体重指数 (BMI, $P=0.002$)、糖尿病 ($P=0.012$)、绝经 ($P<0.001$)、*CDO1* 和 *CELF4* 甲基化 (均 $P<0.001$) 对判断是否罹患子宫内膜癌的差异有统计学意义。二元 Logistic 回归分析结果显示, BMI 的比值比 (OR) 为 3.970 (95% CI: [1.058, 14.895], $P=0.041$), 绝经的 OR 为 18.702 (95% CI: [1.847, 189.370], $P=0.013$), *CDO1*、*CELF4* 甲基化的 OR 分别为 22.351 (95% CI: [2.250, 221.989], $P=0.008$)、60.995 (95% CI: [5.992, 620.920], $P=0.001$)。 *CDO1* 和 *CELF4* 甲基化检测敏感性为 91.2% (95% CI: [76.3%, 98.1%])、特异性为 96.7% (95% CI: [93.0%, 98.8%])；超声检查的敏感性、特异性分别为 55.9% (95% CI: [37.9%, 72.8%]) 和 78.6% (95% CI: [71.9%, 84.3%])。血清癌胚抗原 125 检查的敏感性、特异性分别为 32.4% (95% CI: [17.4%, 50.5%]) 和 76.4% (95% CI: [69.0%, 82.8%])。**结论** 对于绝经后女性, 禾蔻安双基因甲基化检测较目前妇科检查中的血清癌胚抗原 125 与超声检查具有更高的敏感性与特异性, 可提示子宫内膜癌高风险。

关键词: 子宫内膜癌筛查; 异常子宫出血; 禾蔻安双基因甲基化; 无创检测**中图分类号:** R446.1; R446.5 **文献标识码:** A **doi:** 10.13885/j.issn.1000-2812.2024.07.004

Clinical value of CISENDO *CDO1*/*CELF4* dual gene methylation detection in endometrial cancer screening for females with abnormal uterine bleeding

Cai Bingxin¹, Li Liuyu¹, Liu Bo¹, Liu Pei², Wang Linhai², Wang Yishan²,
Liu Yuli³, Wang Ziyun¹, Du Jun¹

1 The First Department of Gynecology, Gansu Maternal and Child Health Hospital, Lanzhou 730050, China; 2 Beijing Origin-Poly Bio-Tec Co., Ltd., Beijing 102600, China; 3 Precision Medicine Center, The First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000, China

Abstract: **Objective** To explore the application value of CISENDO dual gene methylation detection (*CDO1* and *CELF4*) in endometrial cancer screening in women with abnormal uterine bleeding. **Methods** A total of

收稿日期: 2023-04-12

基金项目: 兰州市科技局指导性计划资助项目 (2022-5-92); 甘肃省自然科学基金资助项目 (23IRRA1380)

作者简介: 杜珺, 女, 主管药师, 研究方向为基础医学, e-mail: 305025542@qq.com, 通信作者

216 patients who presented with abnormal uterine bleeding at the Gansu Provincial Maternal and Child-care Hospital's hysteroscopy outpatient clinic between July 2021 and June 2022 were selected for this study. Cervical exfoliated cells were collected for dual-gene methylation testing, alongside the collection of basic patient information, tumor biological markers, and endometrial thickness assessed through ultrasound. Using the histopathological diagnosis of endometrial tissue obtained via hysteroscopy as the gold standard, the sensitivity and specificity of dual-gene methylation testing for detecting endometrial cancer in women with abnormal uterine bleeding were analysed. **Results** In univariate analysis, age ($P=0.001$), body mass index ($P=0.002$), diabetes ($P=0.012$), menopause ($P<0.001$), *CDO1* methylation ($P<0.001$), and *CELF4* methylation ($P<0.001$) have an impact on the risk of endometrial cancer, and the differences are statistically significant. Binary logistic regression analysis results showed that the odds ratio (*OR*) value of body mass index was 3.970 (95% *CI*: [1.058, 14.895]), $P=0.041$, the *OR* value of menopause was 18.702 (95% *CI*: [1.847, 189.370], $P=0.013$), The *OR* values of *CDO1* methylation and *CELF4* methylation were 22.351 (95% *CI*: [2.250, 221.989], $P=0.008$), 60.995 (95% *CI*: [5.992, 620.920], $P=0.001$), respectively. CISENDO (*CDO1* and *CELF4*) dual gene methylation detection has a sensitivity of 91.2% (95% *CI*: [76.3%, 98.1%]) and a specificity of 96.7% (95% *CI*: [93.0%, 98.8%]); the sensitivity and specificity of ultrasound examination are 55.9% (95% *CI*: [37.9%, 72.8%]) and 78.6% (95% *CI*: [71.9%, 84.3%]); the sensitivity and specificity of carbohydrate antigen 125 were 32.4% (95% *CI*: [17.4%, 50.5%]) and 76.4% (95% *CI*: [69.0%, 82.8%]). **Conclusion** For postmenopausal women, dual-gene methylation testing demonstrates higher sensitivity and specificity compared to the currently utilized serum carbohydrate antigen 125 and ultrasound examinations, indicating a higher risk of endometrial cancer.

Keywords: endometrial cancer screening; abnormal uterine bleeding; dual gene methylation; non-invasive detection

子宫内膜癌是女性第六大最常见的癌症, 2020年, 全球估计有417 000例病例和97 000例死亡病例^[1]。在欧美国家中, 子宫内膜癌的发病率已经成为妇科癌症之首^[2]。在中国, 根据国家癌症中心2019年公布的《2015年中国恶性肿瘤流行情况分析》, 子宫内膜癌发病数约为69 000例, 死亡16 000例, 发病率10.28/10万, 甚至成为部分发达城市女性生殖系统恶性肿瘤发病率的首位^[3]。子宫内膜癌相关危险因素包括年龄、家族史或遗传因素、雌激素暴露(如卵巢排卵功能障碍、分泌雌激素的卵巢肿瘤)、恶劣生活方式(酗酒、肥胖、吸烟), 及其他疾病如糖尿病等^[4]。近年来中国子宫内膜癌的发病率随着人口老龄化、饮食结构和生活习惯的改变(高脂、高热饮食和低运动量生活方式)、代谢疾病(肥胖症、糖尿病)、初潮早、未育、延迟绝经等也日益增多^[5]。子宫内膜癌早期通常无明显症状, 多表现为异常子宫出血(abnormal uterine bleeding, AUB), 5%~10%绝经后阴道出血女性被诊断为子宫内膜癌。

国外研究^[6]显示子宫内膜癌在50岁以下的女性中约占1%, 在55岁的女性中上升到3%, 在80岁以上的女性中上升到24%。绝经前女性经期延长、月经周期缩短、阴道淋漓不尽出血是常见AUB的主诉。然而, 绝大多数女性对于月经周期缩短并未重视, 可能是导致延误诊断的原因之一^[7]。

目前临床上多采用超声检查(有性生活史经阴道超声; 无性生活史经腹超声)联合宫腔镜检查 and 子宫内膜活检筛查子宫内膜癌。子宫内膜癌诊断标准: 宫腔镜直视下行子宫内膜分段诊刮术, 膨宫压力控制在70 mmHg (1 mmHg≈0.133 kPa) 以内, 子宫内膜癌诊断仍以组织学检查为“金标准”(子宫内膜癌病理诊断依据)。此侵入性诊断可能会带来子宫穿孔、空气栓塞、宫颈裂伤、水中毒、大出血、宫腔黏连、不孕等。无创性超声检查及血清癌胚抗原125(carbohydrate antigen 125, CA125)检测不能明确子宫内膜癌诊断^[8-11]。由于AUB患者大部分对子宫内膜癌认知率低, 极有可能因为排斥宫腔镜检查而延误诊断及治疗,

而且患者反复接受宫腔镜检查 and 子宫内膜活检等侵入性检查,增加了经济负担及宫腔操作带来的风险^[12]。

早期子宫内膜癌5年生存率约95%,晚期(Ⅳ期)的5年生存率为16%~45%^[13]。目前缺乏无创早期筛查的方法,使用更适合早期检查的生物标志物并制定合理的早期筛查策略对于改善子宫内膜癌患者生存期至关重要。

在新兴技术中,使用DNA甲基化检测筛查子宫内膜癌是最有潜力的方法之一。DNA甲基化是表观遗传学修饰的一种常见方式,是在DNA 5'端对胞嘧啶进行共价修饰,这种修饰通常与基因沉默相关^[14]。异常的甲基化在癌症的发生发展中起重要作用。针对妇科肿瘤的DNA甲基化早筛早诊生物标志物研究从21世纪初至今已发展得如火如荼^[15-17]。在宫颈病变/宫颈癌筛查中,DNA甲基化检测技术已扮演重要作用^[18],国内外指南和共识^[19-21]也越来越认可DNA甲基化检测技术对宫颈癌的辅助诊断作用,包括高危人类乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)阳性和细胞学结果为非典型鳞状细胞癌的患者分流,避免由三型转化区和非HPV引起的腺癌造成的误诊及对育龄期妇女在保留生育能力背景下的治疗和用药进行指导等。

在以子宫内膜癌患者为对象的甲基化研究^[22-25]中发现,禾蔻安双基因cysteine dioxygenase type 1(CDO1)和CUGBP elav-like family member 4(CELF4) CpG基因岛的甲基化水平比正常人明显升高^[26]。CDO1是生长发育调控基因,常在癌症检测到其高甲基化结果;CEL F4作为免疫调节基因,与癌症增殖和侵袭的整体改变有关^[27-28]。Huang等^[29]在组织和宫颈脱落细胞中共发现了14个在子宫内膜癌中呈高甲基化的基因,其中以BHLHE22、CDO1和CEL F4有最优的检测能力;3个基因在子宫内膜癌中的检测敏感性为83.7%~96.0%,特异性为78.7%~96.0%。同时,将3个基因中的任意2个基因组合,敏感性可接近91.8%,特异性可达95.5%^[29]。多个病理确诊的子宫内膜癌报告^[26-27, 30-31]都表明可通过检测人宫颈脱落细胞DNA中CDO1和CEL F4的甲基化识别是否发生子

宫内膜癌。

改进子宫内膜癌无创早期筛查及诊断迫切需要开发更精准的检测方法。研究^[32]显示液基薄层细胞学检查(thin-prep cytologic test, TCT)进行CDO1和CEL F4双基因甲基化检测用于子宫内膜癌无创筛查具有临床可行性。本研究对异常子宫出血女性的TCT标本进行禾蔻安双基因甲基化检测,探讨此检查在子宫内膜癌筛查中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 资料来源

本研究为回顾性研究,以2021年7月—2022年6月在甘肃省妇幼保健院就诊的216例AUB患者为研究对象,并已通过甘肃省妇幼保健院伦理委员会审查批准[批件文号:(2023)GSFY伦理(56)号]。纳入标准:(1)年龄 ≥ 20 岁且需行宫腔镜检查;(2)愿意接受CDO1和CEL F4双基因甲基化检测并签署知情同意书;(3)既往未因妇科疾病接受过任何手术治疗。排除标准:(1)既往有妇科恶性肿瘤病史;(2)合并心、肝、肾功能异常者;(3)依从性较差;(4)认知障碍者;(5)未完成妇科超声、肿瘤标记物、血常规、肝功能、肾功能等相关检查者。收集研究对象基本情况(包含年龄、孕产次等)、超声、血清CA125、体重指数(body mass index, BMI)等信息及TCT、宫腔镜检查 and 子宫内膜活检。

1.2 方法

收集TCT所需样本2 mL,并进行CDO1和CEL F4甲基化检测。经离心沉淀分离后进行后续DNA提取、重亚硫酸盐转化和荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测。按照[人CDO1和CEL F4基因甲基化检测试剂盒(PCR-荧光探针法)](北京起源聚禾生物科技有限公司)产品说明书操作并判读Cp值,用检测基因的Cp值减去内参基因的Cp值,得到的即为 ΔCp 值,阳性判断标准为CDO1的 $\Delta Cp \leq 8.4$ 或CEL F4的 $\Delta Cp \leq 8.8$ 。超声检查评估子宫内膜厚度:围经期女性子宫内膜厚度 ≥ 11 mm与绝经后女性子宫内膜厚度 ≥ 5 mm判断为阳性。

1.3 统计学方法

采用SPSS 26.0统计软件分析数据。计数资料以绝对数或百分比表示并使用卡方检验。单因素分析中差异有统计学意义的因素纳入多因素Logistic回归分析。用独立样本 t 检验比较CDO1和CELF4甲基化检测在子宫内膜良性病变与子宫内膜癌之间 ΔCp 值的差异是否有统计学意义。采用受试者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线下面积(area under the curve, AUC)评估各指标诊断子宫内膜癌的效果,并计算敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、比值比(odds ratio, OR)及95%置信区间(95% CI)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本信息

本研究对象的基本信息见表1。多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)患者15例,占比44.1%。2型糖尿病患者6例,占比17.6%。70.6%的子宫内膜癌患者怀孕1~2次,生育1个小孩的人数占比61.8%(24例)。基因CDO1甲基化

水平 $\Delta Cp \leq 8.4$ 的阳性率79.4%,基因CELF4甲基化水平 $\Delta Cp \leq 8.8$ 的阳性率为88.2%。

2.2 子宫内膜癌患病的危险因素分析

在单因素分析中,年龄($P=0.001$)、体重指数(body mass index, BMI)($P=0.02$)、绝经($P<0.001$)、糖尿病($P=0.012$)、CDO1甲基化($P<0.001$)、CELF4甲基化($P<0.001$)对罹患子宫内膜癌的影响差异有统计学意义(表1)。将单因素分析中 $P<0.05$ 的变量纳入二元Logistic回归方程,结果显示, BMI的OR为3.970(95% CI: [1.058, 14.895], $P=0.041$), 绝经的OR为18.702(95% CI: [1.847, 189.370], $P=0.013$), CDO1甲基化和CELF4甲基化的OR分别为22.351(95% CI: [2.250, 221.989], $P=0.008$)和60.995(95% CI: [5.992, 620.920], $P=0.001$), 均为子宫内膜癌患病的危险因素(表2)。

2.3 指标对子宫内膜癌区分能力

CDO1和CELF4单独或是联合甲基化检测在子宫内膜良性病变与子宫内膜癌之间 ΔCp 值的差异均存在统计学意义($P<0.001$, 图1)。ROC曲线评价各指标区分子宫内膜癌和对照组的诊断效

表1 基本信息

表 1 基本信息								例(%)	
变量	年龄/岁		体重指数/(kg·m ⁻²)		绝经	2型糖尿病	PCOS	子宫肌瘤	
	<45	≥45	≤23.9	≥24.0	是	是	是	是	
子宫内膜癌(<i>n</i> =34)	7(20.6)	27(79.4)	8(23.5)	26(76.5)	22(64.7)	6(17.6)	15(44.1)	8(23.5)	
异常子宫出血非子宫内膜癌(<i>n</i> =182)	89(48.9)	93(51.1)	96(52.7)	86(47.3)	24(13.2)	8(4.4)	84(46.2)	50(27.5)	
<i>P</i> 值	0.001		0.002		< 0.001	0.012	0.854	0.833	
变量	子宫腺肌病		孕次/次			产次/次			
	是		0	1~2	≥3	0	1	2	≥3
子宫内膜癌(<i>n</i> =34)	4(11.8)		2(5.9)	24(70.6)	8(23.5)	5(14.7)	21(61.8)	4(11.8)	4(11.8)
异常子宫出血非子宫内膜癌(<i>n</i> =182)	11(6.0)		23(12.6)	88(48.4)	71(39.0)	42(23.1)	107(58.8)	29(15.9)	4(2.2)
<i>P</i> 值	0.264		0.397			0.084			
变量	内膜厚度/mm			血清CA125/(U·mol ⁻¹)		CDO1甲基化		CELF4甲基化	
	<5	5~11	>11	<35	≥35	<i>ΔCp</i> ≤8.4	<i>ΔCp</i> >8.4	<i>ΔCp</i> ≤8.8	<i>ΔCp</i> >8.8
子宫内膜癌(<i>n</i> =34)	10(29.4)	17(50.0)	7(20.6)	23(67.6)	11(32.4)	27(79.4)	7(20.6)	30(88.2)	4(11.8)
异常子宫出血非子宫内膜癌(<i>n</i> =182)	60(33.0)	91(50.0)	31(17.0)	120(76.4)	37(23.6)	4(2.2)	178(97.8)	5(2.7)	177(97.3)
<i>P</i> 值	0.855			0.298		<0.001		<0.001	

PCOS 多囊卵巢综合征。

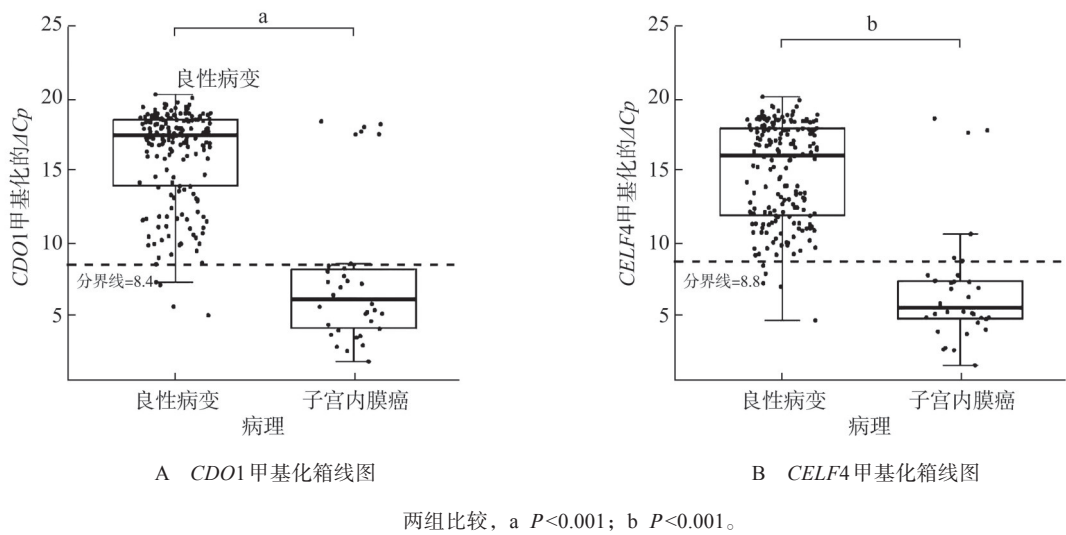


图1 良性病变与子宫内膜癌样本 *CDO1* 和 *CELF4* 甲基化水平比较

果。基因 *CELF4* 甲基化的 AUC 最大, 基因 *CDO1* 甲基化其次, 其他因素依次为绝经、BMI、糖尿病病史 (图2)。

2.4 各指标诊断子宫内膜癌的临床性能

诊断子宫内膜癌的各种指标的临床性能见表3。基因 *CELF4* 甲基化对子宫内膜癌的敏感性和特异性分别为88.2% (95% *CI*: [72.5%, 96.7%]) 和97.3% (95% *CI*: [93.7%, 99.1%]), 阳性预测值 (positive predictive value, PPV) 和阴性预测值 (negative predictive value, NPV) 分别为85.7%和97.8%。基因 *CDO1* 甲基化对子宫内膜癌的敏感性和特异性分别为79.4%(95% *CI*: [62.1%, 91.3%])

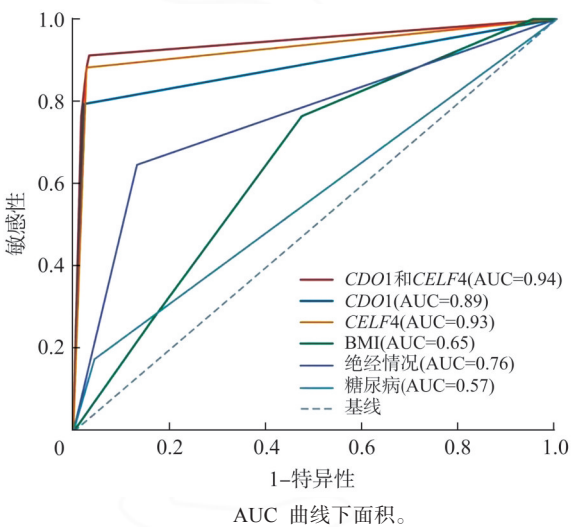


图2 各指标受试者操作特征曲线下面积

表2 子宫内膜癌患病的影响因素分析 (多因素 Logistic 分析)

因素	β 值	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>P</i> 值	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
年龄 ≥ 45 岁	-0.737	1.101	0.448	0.503	0.479	[0.055, 4.137]
体重指数 $\geq 24 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$	1.379	0.675	4.176	0.041	3.970	[1.058, 4.895]
糖尿病	1.465	1.231	1.416	0.234	4.326	[0.388, 48.253]
绝经	2.929	1.181	6.147	0.013	18.702	[1.847, 189.370]
<i>CDO1</i> 甲基化 $\Delta\text{CpCDO1} \leq 8.4$	3.107	1.171	7.035	0.008	22.351	[2.250, 221.989]
<i>CELF4</i> 甲基化 $\Delta\text{CpCELF4} \leq 8.8$	4.111	1.184	12.056	0.001	60.995	[5.992, 620.920]

和97.8% (95% *CI*: [94.5%, 99.4%]), PPV 和 NPV 分别为87.1%和96.2%。双基因联合敏感性为91.2%(95% *CI*: [76.3%, 98.1%]), 特异性为96.7% (95% *CI*: [93.0%, 98.8%]), PPV 为83.8%, NPV 为98.3%。

2.5 子宫内膜癌风险评估模型

将 Logistic 回归分析中的子宫内膜癌危险因素纳入子宫内膜癌风险评估模型中, 将各因素分别组合构建了20个模型, 双基因模型的 AUC、敏感性、特异性均高于单基因模型, 表4展示了按

表 3 各指标及其联合形式诊断子宫内膜癌的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值和曲线下面积

指标	临界值	敏感性/% 95% CI	特异性/% 95% CI	PPV/% 95% CI	NPV/% 95% CI	AUC 95% CI
体重指数	≥24 kg·m ⁻²	76.5 [52.5, 84.9]	64.8 [57.4, 71.8]	27.3 [21.9, 33.5]	92.2 [87.4, 95.3]	0.654 [0.560, 0.747]
糖尿病	是	17.6 [15.8, 62.8]	56.0 [14.2, 73.7]	42.9 [24.2, 61.5]	86.1 [41.7, 93.7]	0.566 [0.454, 0.679]
绝经情况	是	64.7 [31.0, 97.6]	86.8 [27.1, 91.0]	47.8 [33.4, 62.2]	92.9 [85.0, 96.4]	0.758 [0.658, 0.858]
CDO1 甲基化	ΔCpCDO1≤8.4	79.4 [62.1, 91.3]	97.8 [94.5, 99.4]	87.1 [71.6, 94.8]	96.2 [92.9, 98.0]	0.886 [0.804, 0.968]
CELF4 甲基化	ΔCpCELF4≤8.8	88.2 [72.5, 96.7]	97.3 [93.7, 99.1]	85.7 [71.5, 93.5]	97.8 [94.6, 99.1]	0.927 [0.863, 0.992]
双基因甲基化	ΔCpCDO1≤8.4 或 ΔCpCELF4≤8.8	91.2 [76.3, 98.1]	96.7 [93.0, 98.8]	83.8 [68.0, 93.8]	98.3 [95.2, 99.7]	0.939 [0.882, 0.997]

PPV 阳性预测值, NPV 阴性预测值, AUC 曲线下面积, CI 置信区间。

表 4 诊断模型的敏感性、特异性和曲线下面积及其 95% CI

指标	敏感性/%	95% CI	特异性/%	95% CI	AUC	95% CI
模型 1	91.2	[76.3, 98.1]	96.7	[93.0, 98.8]	0.945	[0.894, 0.995]
模型 2	88.2	[68.9, 95.1]	95.6	[93.7, 99.1]	0.969	[0.948, 0.996]
模型 3	91.2	[72.5, 96.7]	96.2	[93.7, 99.1]	0.980	[0.951, 0.993]
模型 4	94.1	[75.4, 98.4]	95.1	[94.5, 99.6]	0.986	[0.964, 0.998]

模型 1 CDO1 甲基化和 CELF4 甲基化的 Logistic 回归诊断模型; 模型 2 CDO1 甲基化、体重指数、糖尿病和绝经情况的 Logistic 回归诊断模型; 模型 3 CELF4 甲基化、体重指数、糖尿病和绝经情况的 Logistic 回归诊断模型; 模型 4 CDO1 甲基化、CELF4 甲基化、体重指数、糖尿病和绝经情况的 Logistic 回归诊断模型; AUC 曲线下面积; CI 置信区间。

照 AUC 值最大原则选取的 4 个模型结果, 其中模型 4 的 Logistic 回归诊断模型 AUC 最高, 模型 1 的 Logistic 回归诊断模型 AUC 最低。

3 讨论

研究^[33]揭示了子宫内膜癌的 4 种基因组亚型分子分层意义, 包括 DNA 聚合酶 ε 催化亚基超突变型、微卫星不稳定型、高拷贝数 (浆液性癌样) 和低拷贝数组 (子宫内膜样), 但由于其技术成本过高、操作难度大且检测结果解读复杂, 取材损害性高, 仍较少将分子检测应用于子宫内膜癌早期诊断^[9, 25]。发展迅速的甲基化检测技术包含基因组范围测序、甲基化芯片技术、亚硫酸氢盐测序和甲基化特异性 PCR 等^[34-37]。而后者以其面向不同肿瘤的高特异性、操作简便、成本更低、样本要求小且对临床设备要求更低等, 更适合于癌症的临床早筛早诊。

Liew 等^[38]从宫颈脱落细胞中比较基因甲基化与体基因突变的研究显示 *BHLHE22/CDO1/HAND2* 甲基化检测 (敏感度为 87.0%, 特异性为 86.0%) 较 *PTEN* 和 *TP53* 基因突变 (敏感度为 25% 和特异性为 33.3%) 高, 基因甲基化检测作为无创内膜癌检测方法具有很大的优势。本研究在 AUB 女性的宫颈脱落细胞中检测结果显示 *CDO1* 及 *CELF4* 双基因甲基化具有特异性结果, 显示出甲基化基因检测在 AUB 女性子宫内膜癌无创早期筛查的重要意义。

虽然 AUB 是子宫内膜癌最常见的临床症状, 但 AUB 患者子宫内膜癌的患病率仅 5%~10%^[39]。子宫内膜癌最常见的诊断方法是使用超声测量子宫内膜的厚度, 但超声无法准确判别恶性程度。对于内膜增厚的女性需进行宫腔镜及活检^[40]。超声检测中, 绝经后内膜厚度≥5 mm 或绝经前内膜厚度≥11 mm 的女性需进行宫腔镜检查、分段诊刮

与内膜病理检查,尽管如此还是可能漏诊,且约有30%的患者要接受反复的宫腔镜检查^[41]。一般来说,诊断性刮宫结束后,在雌激素的作用下,子宫内膜逐渐增生、修复,对子宫的伤害不是很明显。但频繁诊断性刮宫对子宫内膜造成的伤害较大,有可能导致子宫内膜不能正常修复而引起月经过少,甚至宫腔黏连。诊断性刮宫过程中如果无菌操作不严格,还有诱发宫腔内感染的可能。无创甲基化基因检测技术具有无疼痛、无感染、简单、速度快等优点,能有效满足临床诊断子宫内膜癌患者的需要。

子宫内膜增生与子宫内膜癌受到非遗传与遗传因素影响,子宫内膜癌已趋向低龄化^[42]。由于一部分绝经前女性存在月经周期异常,更容易延误治疗。在本研究中绝经前女性子宫内膜癌占比35.3%,较国外调查^[43]比例更高,国外报道^[43]被诊断患有子宫内膜癌的年轻女性患肥胖(52%~58%)、未产、不孕、月经不调和糖尿病的比例更高,而甘肃省女性生活习惯或环境因素影响是否增加内膜癌患病率,须深入研究。

子宫内膜癌无创早筛在妇科领域已成为临床研究重要内容。Liew等^[38]在研究中也发现子宫内膜癌样本中检测4个基因(*BHLHE22*、*CDO1*、*TBX5*及*HAND2*)的甲基化敏感性为87%,特异性为86%;*BHLHE22/CDO1/TBX5*3个基因组合,敏感性为89.1%,特异性为80%。本研究也证实了优化甲基化位点与检测方法后*CDO1*和*CELF4*两个基因组合,具有较高的诊断价值,双基因模型诊断具有高敏感性与特异性,在区分良性和恶性的子宫内膜病变中具有重要潜在价值,能提高诊断正确率,值得临床推广应用。

中国2017年起草了《子宫内膜癌筛查和早期诊断专家共识(草案)》建议使用子宫内膜细胞学检查早期筛查风险人群,至今仍未建立基于中国国情的针对子宫内膜癌的标准筛查规范^[44]。在子宫内膜细胞学检查中缺乏病理学家和临床医生同时认可的子宫内膜细胞学诊断标准。由于子宫内膜的变化与激素水平相关,细胞学检查的取材时间也会影响结果的判别^[13]。近年来常用的经阴道超声检查方法对绝经前子宫内膜癌和癌前病变的

检出敏感度有限,难以成为独立筛查手段^[45];新兴发展的微量组织病理检查有细胞学检查类似的困境,且要求受试者的子宫内膜有足够厚度,绝经后女性患者易漏诊^[13,46]。根据双基因甲基化检测对子宫内膜病变的高检出能力,对比现有指南和专家共识,其有潜力成为子宫内膜癌单独或联合筛查的重要检测方法。

本研究针对在AUB疑患有子宫内膜癌的患者进行禾蔻安甲基化基因与临床检测方法比对,结果显示宫颈口TCT标本检测*CDO1*与*CELF4*基因甲基化具有高度敏感性与特异性结果。子宫内膜癌甲基化基因检测进一步提高了治疗的准确率,可应用于子宫内膜癌早期筛查与检测,更准确地辅助临床诊断和采取对应的干预治疗措施。

本研究仅调查了216例病例,而且来自于同一家医院,样本量小,有区域局限性,仅为初步验证基因甲基化无创检测的意义,结论的推广价值有待进一步研究。后续将进一步扩大样本量,开展多中心前瞻性随机对照研究,提供更可靠的临床数据。进行更大规模的子宫内膜癌高风险女性的筛查研究,除了解甘肃省妇女内膜癌风险人群与因素外,还可以了解甲基化无创检测在更广泛人群中的应用,让更多的妇女可以早发现、早治疗,保障妇女健康。

参考文献

- [1] Njoku K, Barr CE, Crosbie EJ. Current and emerging prognostic biomarkers in endometrial cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 890908.
- [2] Emma JC, Sarah JK, Jessica NM, et al. Endometrial Cancer[J]. *The Lancet*, 2022, 399(10333): 1412-1428.
- [3] 郎景和. 子宫内膜癌诊治的几个问题[J]. *中华妇产科杂志*, 2000, 32(7): 159.
- [4] Raglan O, Kalliala I, Markozannes G, et al. Risk factors for endometrial cancer: An umbrella review of the literature[J]. *International Journal of Cancer*, 2019, 145(7): 1719-1730.
- [5] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: A cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3): 209-249.
- [6] Gredmark T, Kvint S, Havel G, et al. Histopathological

- findings in women with postmenopausal bleeding[J]. British Journal of Obstetrics and Gynaecology, 1995, 102(2): 133-136.
- [7] Crosbie EJ, Kitson SJ, Mcalpine JN, et al. Endometrial cancer[J]. The Lancet, 2022, 399(10333): 1412-1428.
- [8] 许丽, 安亚丽, 张廷凤, 等. 子宫内膜不典型增生合并子宫内膜癌的危险因素分析[J]. 兰州大学学报: 医学版, 2022, 48(7): 57-61.
- [9] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 子宫内膜癌诊断与治疗指南(2021年版)[J]. 中国癌症杂志, 2021, 31(6): 501-512.
- [10] Williams KA, Terry KL, Tworoger SS, et al. Polymorphisms of MUC16 (CA125) and MUC1 (CA15.3) in relation to ovarian cancer risk and survival[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e88334.
- [11] Jiang Tao, Huang Ling, Zhang Shulan. Preoperative serum CA125: A useful marker for surgical management of endometrial cancer[J]. BMC Cancer, 2015, 1(15): 1-8.
- [12] Smith R, Kerlikowske K, Feldstein VA, et al. Endovaginal ultrasound to exclude endometrial cancer and other endometrial abnormalities[J]. JAMA, 1998, 280(17): 1510-1517.
- [13] 俞梅, 向阳, 马晓欣, 等. 子宫内膜癌筛查规范建议[J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(5): 307-311.
- [14] 张学红, 刘亚琦, 丁显平. 遗传学在生殖医学领域的研究[J]. 兰州大学学报: 医学版, 2023, 49(3): 1-4.
- [15] Kong Linghua, et al. DNA methylation for cervical cancer screening: A training set in China[J]. Clinical Epigenetics, 2020, 76(12): 1-10.
- [16] Wever BMM, Van Den Helder R, Van Splunter AP, et al. DNA methylation testing for endometrial cancer detection in urine, cervicovaginal self-samples and cervical scrapes[J]. International Journal of Cancer, 2023, 153(2): 341-351.
- [17] Chen Dongfei. Rapid and ultrasensitive electrochemical detection of DNA methylation for ovarian cancer diagnosis[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2022, 2(6): 114126.
- [18] Li Lei. 2022-RA-902-ESGO Novel methylated genes as a second triage step after hrHPV testing to improve colposcopy referral in HPV infected women with cervical lesions (cancer)[J]. International Journal of Gynecologic Cancer, 2022, 32(2): 14.
- [19] World Health Organization. WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention, second edition[M/OL]. 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030824>.
- [20] Lauby B, Vilahur N, Bianchini F, et al. The IARC perspective on colorectal cancer screening[J]. The New England Journal of Medicine, 2018, 378(18): 1734-1740.
- [21] 郎景和, 陈飞, 王华庆, 等. 中国宫颈癌三级规范化防止蓝皮书[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2023.
- [22] 孔令华, 肖晓萍, 万茹, 等. DNA 甲基化检测在绝经后女性子宫内膜癌筛查中的应用价值[J]. 中华医学杂志, 2023, 103(12): 907-912.
- [23] Maekawa H, Ito T, Orita H, et al. Analysis of the methylation of CpG islands in the *CDO1*, *TAC1* and *CHFR* genes in pancreatic ductal cancer[J]. Oncology Letters, 2020, 19(3): 2197-2204.
- [24] Fujjiyama Y, Kumamoto Y, Nishizawa N, et al. Promoter DNA hypermethylation of the cysteine dioxygenase 1 (*CDO1*) gene in intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN)[J]. Annals of Surgical Oncology, 2020, 27(10): 4007-4016.
- [25] Harada H, Soeno T, Yokoi K, et al. Prediction of efficacy of postoperative chemotherapy by DNA methylation of *CDO1* in gastric cancer[J]. The Journal of Surgical Research, 2020, 256(59): 404-412.
- [26] Tu Simei, Zhang Hao, Qu Xinjian. Screening of key methylation-driven genes *CDO1* in breast cancer based on WGCNA[J]. Cancer Biomarkers, 2022, 34(4): 571-582.
- [27] Poulogiannis G, Ichimura K, Hamoudi RA, et al. Prognostic relevance of DNA copy number changes in colorectal cancer[J]. The Journal of Pathology, 2010, 220(3): 338-347.
- [28] Qi Bingli. Hypermethylated *CDO1* and *CELF4* in cytological specimens as triage strategy biomarkers in endometrial malignant lesions[J]. Frontiers in Oncology, 2023, 13(9): 1289366.
- [29] Huang Ruilan. Integrated epigenomics analysis reveals a DNA methylation panel for endometrial cancer detection using cervical scrapings[J]. Clinical Cancer Research, 2017, 23(1): 263-272.
- [30] Wen Kuochang. Endometrial cancer detection using a cervical DNA methylation assay (MPap) in women with abnormal uterine bleeding: A multicenter hospital-based validation study[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(17): 4343.

- [31] Wang Lei, Dong Lanlan, Xu Jun, et al. Hypermethylated *CDO1* and *ZNF454* in cytological specimens as screening biomarkers for endometrial cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 6(12): 714663.
- [32] Den R, Wever BM, Van Trommel JA, et al. DNA methylation markers for endometrial cancer detection in minimally invasive samples: A systematic review[J]. *Epigenomics*, 2020, 12(18): 1661-1672.
- [33] 李璐媛, 宋艳. 子宫内膜癌分子分型与相关免疫治疗的最新研究进展[J]. *中华医学杂志*, 2022, 102(42): 3409-3414.
- [34] Gong Ting, Borgard H, Zhang Zao, et al. Analysis and performance assessment of the whole genome bisulfite sequencing data workflow: Currently available tools and a practical guide to advance dna methylation studies[J]. *Small Methods*, 2022, 6(3): 2101251.
- [35] Roomy MA, Chehadeh W, Awadhi RA. Prediction of cervical cancer precursor lesions by quantitative methylation specific PCR: A retrospective study[J]. *Cytopathology*, 2023, 34(3): 204-210.
- [36] Garcia CA, Álvarez D, Musulen E, et al. Validation of a DNA methylation microarray for 285,000 CpG sites in the mouse genome[J]. *Epigenetics*, 2022, 17(12): 1677-1685.
- [37] Li Ning, Ye Mingzhi, Li Yingrui, et al. Whole genome DNA methylation analysis based on high throughput sequencing technology[J]. *Methods*, 2010, 52(3): 203-212.
- [38] Liew PL, Huang RL, Wu TI, et al. Combined genetic mutations and DNA-methylated genes as biomarkers for endometrial cancer detection from cervical scrapings[J]. *Clinical Epigenetics*, 2019, 11(1): 170.
- [39] Clarke MA, Long BJ, Del Mar Morillo A, et al. Association of endometrial cancer risk with postmenopausal bleeding in women: A systematic review and Meta-analysis[J]. *JAMA Internal Medicine*, 2018, 178(9): 1210-1222.
- [40] Jacobs I, Gentry A, Burnell M, et al. Sensitivity of transvaginal ultrasound screening for endometrial cancer in postmenopausal women: A case-control study within the UKCTOCS cohort[J]. *The Lancet, Oncology*, 2011, 12(1): 38-48.
- [41] Flynn H, Ryan J, Narine N, et al. Diagnostic accuracy of cytology for the detection of endometrial cancer in urine and vaginal samples[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 952.
- [42] Mcconechy MK, Ding J, Cheang MC, et al. Use of mutation profiles to refine the classification of endometrial carcinomas[J]. *The Journal of Pathology*, 2012, 228(1): 20-30.
- [43] Son Ji, Carr C, Yao Meng, et al. Endometrial cancer in young women: Prognostic factors and treatment outcomes in women aged ≤ 40 years[J]. *International Journal of Gynecological Cancer: Official Journal of the International Gynecological Cancer Society*, 2020, 30(5): 631-639.
- [44] 子宫内膜癌筛查专家委员会. 子宫内膜癌筛查和早期诊断专家共识(草案)[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2017, 33(10): 1050-1052.
- [45] Shen Yufei, Yang Wenqing, Liu Jiachen, et al. Minimally invasive approaches for the early detection of endometrial cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2023, 22(1): 53.
- [46] 张彤, 周蓉, 刘晨, 等. 子宫内膜采集器获取标本的满意度及相关因素对病理诊断符合率的影响[J]. *中华妇产科杂志*, 2014, 1(9): 655-658.

(责任编辑: 金 红)