doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.11.003

❖基础研究❖

子宫内膜癌合并糖尿病患者 PAX8 的表达及意义

胡珊[1],杨丰美[1],高波[2]
(十堰市太和医院,1.妇产科;2.检验科,湖北 十堰 442000)

【摘要】目的:探讨配对盒基因8(PAX8)在子宫内膜癌(UCEC)中的表达及意义。**方法:**RT-PCR检测PAX8在癌组织和正常组织中的表达,分析PAX8的表达与UCEC临床病理特征的相关性及影响预后的因素;全自动生化分析仪检测UCEC患者血糖水平。**结果:**PAX8在癌组织中的表达高于正常组织($P<0.05$);PAX8的表达与UCEC临床分期、年龄、病理分型、病理分级、浸润深度及特异性生存(DSS)有相关性($P<0.05$)。回归分析显示,PAX8的表达是影响UCEC患者预后的因素($P<0.05$),且低表达患者(特别是合并糖尿病的低表达患者)有较长的肿瘤总生存期(OS)($P<0.05$)。合并糖尿病的UCEC患者PAX8的表达水平较高($P<0.05$),且患者血糖水平较高($P<0.05$)。**结论:**PAX8的高表达可能在UCEC预后特别是合并糖尿病的患者中扮演着重要作用。

【关键词】配对盒基因8;子宫内膜癌;表达;血糖;预后
【中图分类号】R737.3 **【文献标志码】**A

Expression and significance of PAX8 expression in endometrial carcinoma with diabetes

HU Shan[1], YANG Feng-mei[1], GAO Bo[2]
(1. *Department of Obstetrics and Gynecology*, 2. *Department of Laboratory Medicine*, *Taihe Hospital of Shiyan* 442000, *Hubei*, *China*)

【Abstract】 Objective: To analyze the expression and significance of paired-box 8 (PAX8) expression in uterine corpus endometrial carcinoma (UCEC) with diabetes. **Methods:** RT-PCR was used to detect the expression of PAX8 in cancer and normal tissues, and to analyze the correlation between PAX8 expression and the clinicopathological characteristics of UCEC, as well as the factors affecting the prognosis. The blood glucose level of UCEC patients was detected by automatic biochemical analysis instrument. **Results:** The expression of PAX8 in cancer tissues was higher than that in normal tissues ($P<0.05$). The expression of PAX8 was related to clinical stage, age, histological type, histologic grade, tumor invasion and DSS event ($P<0.05$). Regression analysis showed that PAX8 expression was the factor of influencing prognosis in patients with UCEC ($P<0.05$), patients with low expression, especially those with diabetes, had longer OS ($P<0.05$). Clinical sample verification showed that the expression level of PAX8 was higher in diabetic patients, and patients with high PAX8 expression had higher blood glucose level ($P<0.05$), the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** High expression of PAX8 may play an important role in the prognosis of UCEC, especially in patients with diabetes.

【Key words】 Paired-box 8 (PAX8); Uterine corpus endometrial carcinoma (UCEC); Expression; Blood sugar; Prognosis

子宫内膜癌(uterine corpus endometrial carcinoma, UCEC)是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一,占女性生殖系统恶性肿瘤的20%~30%,以发生于子宫内膜腺体的腺癌最常见[1]。近年来全世界范围内的发病率呈逐渐上升趋势,且恶性程度高,预后较差,寻找早期诊断和预后的指标尤为重要[2]。配对盒基因8(paired-box 8, PAX8)属于PAX蛋白家族,在胚胎发育、中枢神经系统、血管生成、免疫调控及肿瘤转移等方面均发挥重要作用[3];同时又属于限制性转录因子,参与细胞增殖与分化等生理活动,与多种肿瘤比如肺癌、卵巢癌、乳腺癌等的发生、发展密切相关[4-7]。但PAX8在女性生殖系统肿瘤,特别是在UCEC中的作用研究较少。本研究旨在探讨PAX8在UCEC中的表达及意义。

1 材料与方法

1.1 材料

UCEC配对样本(肿瘤组织样本及匹配的正常组织样本各23例)和非配对样本(肿瘤组织样本174例,正常组织样本91例)来自TCGA数据库和GTEx数据库;UCEC患者的临床资料从TCGA数据

基金项目:十堰市太和医院院级重点项目(2019JJM051)
作者简介:胡珊(1989-),女,硕士,住院医师。E-mail:hushan-2021@hotmail.com
通讯作者:杨丰美。E-mail:29256175@qq.com

库中下载。

1.2　方法

1.2.1　PAX8 表达及与临床病理特征的相关性分析　采用 R 语言分析配对样本和非配对样本中 PAX8 基因的表达情况;免疫组化法分析 HPA 在线数据库中 PAX8 蛋白在 UCEC 癌组织和正常组织中的表达情况;同时分析 PAX8 表达与临床病理特征的相关性。

1.2.2　PAX8 表达与 UCEC 预后的相关性分析　分析 UCEC 的临床资料,并将临床资料(临床分期、年龄、组织类型、组织分级、浸润程度等)与 PAX8 表达等因素一起构建 Cox 模型,单/多因素回归分析影响 UCEC 预后的因素,同时通过 K-M plotter 数据库分析并绘制 PAX8 表达在 UCEC 患者中的生存曲线。

1.2.3　临床样本 PAX8 基因表达检测　收集 2019 年 8 月至 2021 年 5 月新鲜的子宫内膜癌组织样本 47 例,正常子宫内膜样本 23 例,所有样本均经病理确诊。TRIzol 法提取所有样本中总 RNA,逆转录试剂盒(Thermo Fisher Scientifc)将 RNA 逆转录为 cDNA,测定浓度纯度后 -80 ℃保存备用。扩增引物(PAX8):5′-ATCCGGCCTGGAGTGATAGG-3′,5′-TGGCGTTTGTAGTCCCCAATC-3′;扩增引物(GAPDH):5′-GAAGGTGAAGGTCGGA GTC-3′,5′-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3′。扩增条件为 95 ℃ 5 min;94 ℃ 30 s,57 ℃ 30 s,72 ℃ 45 s 共 35 个循环;72 ℃ 8 min,$2^{-\triangle\triangle Ct}$ 计算基因相对表达水平。

1.2.4　子宫内膜癌患者血糖检测　所有患者空腹抽取外周血 5 mL 置于无抗凝剂的试管中,37 ℃静置 1 h 后离心获取血清,测定完血糖水平后剩余血清保存于 EP 管中 -80 ℃备用。血糖的检测在 AU2700 全自动生化仪上进行,采用配套试剂,检测前定标,空腹血糖正常参考范围为 3.9~6.1 mmol/L。所有患者通过询问糖尿病病史以及测定空腹血糖判定是否为子宫内膜癌合并糖尿病患者。

1.3　统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行分析与处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以[n(%)]表示,采用 χ^2 检验;生存曲线采用 Kaplan-Meier 法分析,并行 Log-rank 检验;相关性采用 Pearson 相关性分析;影响因素采用 Cox 回归分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　PAX8 在癌组织和正常组织中的表达

R 语言及免疫组化分析结果显示,PAX8 及蛋白质在癌组织中的表达高于正常组织,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见图 1。

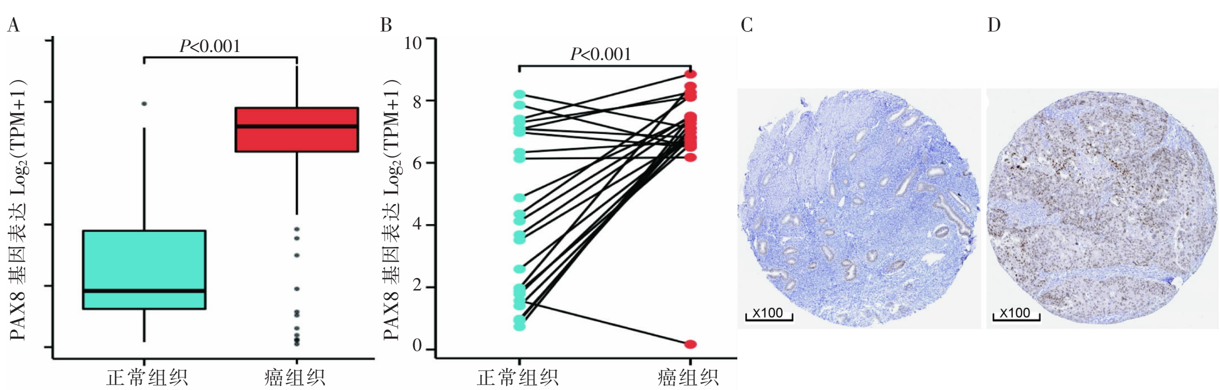

图 1　PAX8 在 UCEC 中的表达

A.非配对样本;B.配对样本;C.正常组织免疫组化;D.癌组织免疫组化。

2.2　PAX8 表达与临床病理特征的关系

相关性分析显示,PAX8 的表达在临床分期(III+IV)、年龄(≥60 岁)、组织分期(混合型 & 浆液性)、组织分级(G3)、浸润深度(>50%)及 DSS 事件(死亡病例)中的表达更高($P<0.05$)。见图 2。

2.3　UCEC 预后的影响因素

单因素回归分析显示,临床分期、年龄、组织分型、组织分级、肿瘤浸润及 PAX8 表达是影响患者肿瘤总生存期(OS)的因素;临床分期、组织分型、组织分级、肿瘤浸润及 PAX8 表达是影响患者无进展生存期(PFS)的因素。多因素回归分析显示,临床分期、肿瘤浸润及 PAX8 表达是影响患者 OS 的因素;临床分期、组织分级及 PAX8 表达是影响患者 PFS 的因素。根据 PAX8 表达不同分为高表达组和低表达组,低表达组患者 OS 长于高表达组(四分位生存时间 103.4 个月 *vs*. 31.8 个月);合并糖尿病的 UCEC 患者中,低表达患者 OS 长于高表达患者($P<0.05$),而其他临床亚组无统计学差异($P>$

0.05)。见图 3 及图 4。

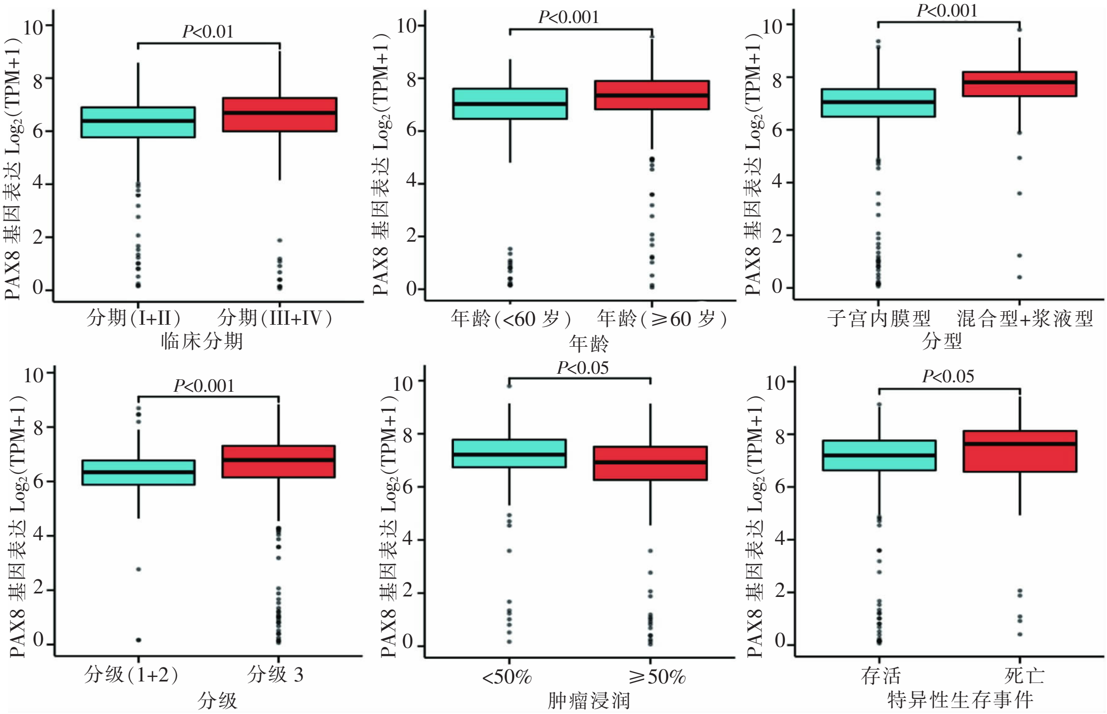

图 2　PAX8 表达与临床病理特征关系

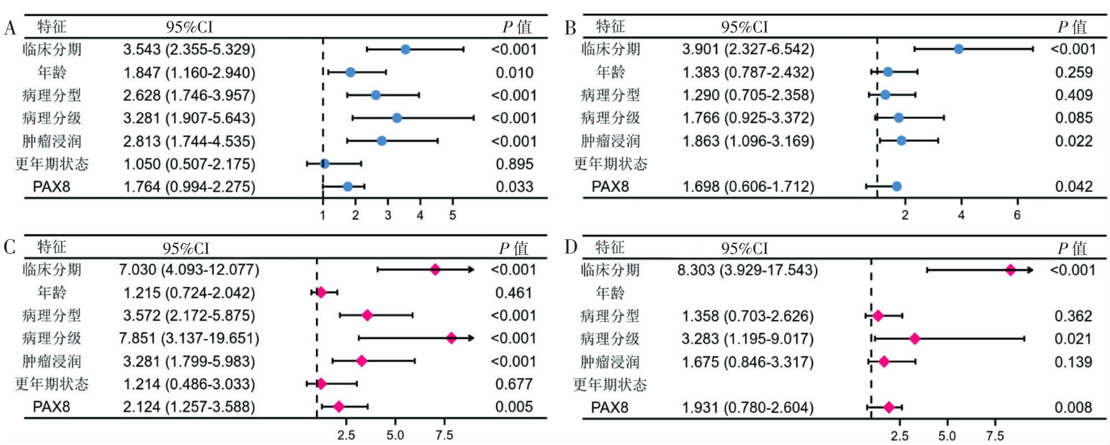

图 3　影响 UCEC 预后的因素

A. 单因素分析 OS 影响因素;B. 多因素分析OS 影响因素;C. 单因素分析 PFS 影响因素;D. 多因素分析PFS 影响因素

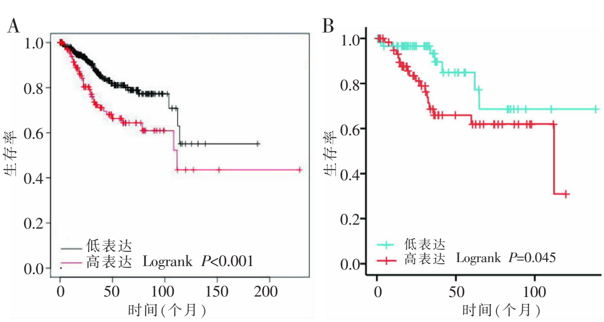

图 4　患者 OS 曲线

A.所有患者的 OS 曲线;B.糖尿病组患者的 OS 曲线。

2.4　临床样本中 PAX8 基因表达结果及与临床病理特征之间的关系

为了验证生物信息学分析结果,本研究检测了 47 例 UCEC 患者肿瘤组织及 23 例正常子宫中 PAX8 的表达及 UCEC 患者血糖水平。相关性分析结果显示,PAX8 的表达与是否合并糖尿病有关($P<0.05$),而与年龄、身体质量指数、高血压以及分期无关($P>0.05$)。PAX8 在肿瘤组织中的表达水平高于正常组织(0.51 ± 0.25 *vs.* 0.25 ± 0.10, $P<0.05$);合并糖尿病患者中的表达高于非糖尿病患者($P<0.05$);合并糖尿病患者中的血糖水平高于非糖尿病患者($P<0.05$),PAX8 高表达患者的血糖水平高于低表达患者($P<0.05$)。见表 1 及图 5。

表 1　PAX8 表达与临床病理特征的关系（$\bar{x} \pm s$）

特征	例数	PAX8 表达	t 值	P 值
年龄（岁）			1.45	0.150
≥60	30	0.47 ± 0.26		
＜60	17	0.58 ± 0.23		
身体质量指数（kg/m^2）			0.59	0.560
≥28	32	0.52 ± 0.25		
＜28	15	0.48 ± 0.25		
高血压			0.38	0.700
是	26	0.50 ± 0.27		
否	21	0.52 ± 0.24		
绝经状态			1.19	0.240
是	35	0.53 ± 0.25		
否	12	0.43 ± 0.26		
糖尿病			2.9	0.005
是	29	0.59 ± 0.24		
否	18	0.38 ± 0.22		
分期			0.24	0.800
I + II	33	0.51 ± 0.26		
III + IV	14	0.50 ± 0.25		

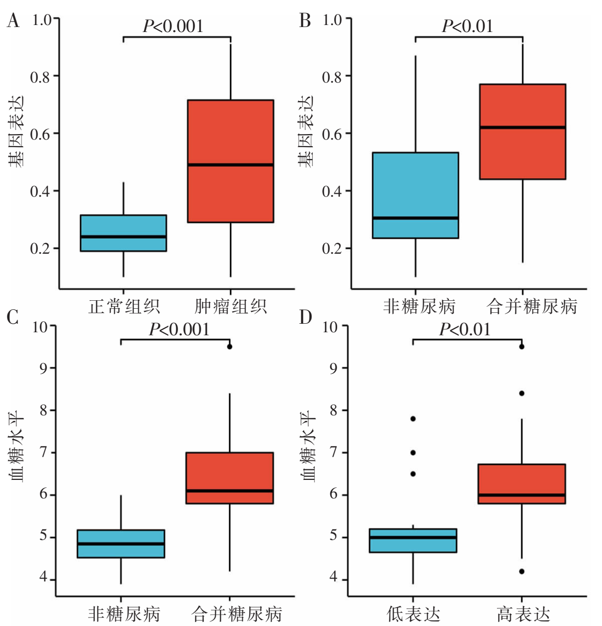

图 5　不同分组间基因表达及血糖水平

3　讨论

生物信息学是对组学的各种数据进行处理和分析，可以对已知或新的基因产物进行全面分析。随着计算机技术和生物技术的快速发展，生物信息学技术对了解和探究疾病的发病发挥了重要作用。作为一种女性生殖系统常见的恶性肿瘤，UCEC 近年来的发病率呈逐渐上升趋势，且由于缺乏特异性的早期诊断指标，导致预后较差。PAX 基因是一组发育性转录因子，是正常组织形成和细胞分化的关键调控因子[8]，在多种实体肿瘤中异常表达。

本研究发现，PAX8 在癌组织中高表达，特别是在分期（III + Stage IV）、年龄（≥60 岁）、组织分期（混合型 & 浆液性）、组织分级（G3）、浸润深度（＞50%）等临床患者中（均 $P < 0.05$）。回归分析发现，临床分期、组织浸润和 PAX8 表达是影响子宫内膜癌患者预后的因素，特别是低表达患者有着较好的预后（$P < 0.05$）。有研究[9]表明，MACC1-AS1 的高表达可以增强肝癌细胞中 PAX8 的表达，且 MACC1-AS1 的高表达可以通过调节 PAX8 进而促进肝癌细胞的增殖、上皮间质转化和侵袭。PAX8 在高级别浆液性卵巢癌中普遍表达，其沉默可以减少人高级别浆液性卵巢癌细胞系的增殖，增加凋亡[10]。由于 PAX8 在高级别浆液性卵巢癌中介导多种致瘤机制，包括增殖、迁移、血管生成和凋亡等，降低 PAX8 水平或中断 PAX8 的转录活性可以抑制这些癌前效应[5,11]，为 PAX8 在肿瘤发生发展过程中所起到的促进作用提供了证据。

分析临床亚组中 PAX8 的表达与预后关系发现，糖尿病患者中，低表达患者同样也有较好的预后（$P < 0.05$）。通过临床样本验证发现，在合并糖尿病患者中 PAX8 的表达水平相对较高（$P < 0.05$），且高表达的患者有相对较高的血糖水平（$P < 0.05$），进一步表明在 UCEC 的预后过程中，PAX8 的表达和血糖水平起着重要的作用，但两者之间的关系及机制还需要进一步研究。糖尿病是 UCEC 较为常见的发病因素，且合并 2 型糖尿病也是雌激素依赖型 UCEC 患者预后不良的因素[12]。有研究[13]表明，PAX8 在妊娠小鼠胰岛和重组催乳素处理的人胰岛中被诱导，PAX8 表达的增加影响胰岛活力，存在 PAX8 的基因突变的孕妇有发生妊娠糖尿病的风险。

综上，PAX8 的高表达可能在 UCEC 特别是在合并糖尿病的患者预后过程中起着重要的作用。

参考文献

[1] Berger AA, Dao F, Levine DA. Angiogenesis in endometrial carcinoma: Therapies and biomarkers, current options, and future perspectives[J]. Gynecol Oncol, 2021, 160(3): 844 – 850.

[2] Huvila J, Pors J, Thompson EF, *et al*. Endometrial carcinoma: molecular subtypes, precursors and the role of pathology in early diagnosis[J]. J Pathol, 2021, 253(4): 355 – 365.

[3] Arakawa T, Fukuda S, Hirata T, *et al*. PAX8: A Highly Sensitive Marker for the Glands in Extragenital Endometriosis[J]. Reprod Sci, 2020, 27(8): 1580 – 1586.

[4] Jeong JH, Kim NY, Pyo JS. Analysis of PAX8 immunohistochemistry in lung cancers: a meta-analysis[J]. J Pathol Transl Med, 2020, 54(4): 300 – 309.

（下转第 1422 页）