部骨折再发的相关性[J].中国现代医药杂志,2024,26(3):42-46.
[5] 李蕾,陈燕,邵松,等. 创伤骨折术后病人营养不良风险预测模型的构建[J].蚌埠医学院学报,2023,48(7):967-970.
[6] SORIA PERDOMO F J, FERNANDEZ VILLASECA S, ZARAGOZA BREHCIST C, et al. Enhanced nutritional and functional recovery in femur fracture patients post-surgery: Preliminary evidence of muscle-targeted nutritional support in real-world practice[J]. Geriatrics, 2024, 9(6): 153.
[7] 邓海梅,许雅婷,蔡海晶,等. 加速康复护理对直肠癌患者术后营养状况、体质指数及并发症的影响探讨[J].中外医疗,2023,42(28):150-153.
[8] 黄罡,周赣东,王勇. 益气涤痰通腑汤对 COPD 伴呼吸衰竭患者肺功能及血清前白蛋白、转铁蛋白的影响[J].河南中医,2023,43(8):1203-1207.
[9] 韩孝红,焦聪聪,程立雪,等. 住院患者营养风险筛查及影响因素分析[J].中国医药科学,2024,14(16):110-113,159.
[10] 金沿欣,龚绍霞,刘天进,等.MNA-SF 和 GLIM 标准在住院老年 COPD 患者营养评估中的应用[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志,2023,10(1):127-132.
[11] 高卉,吕蓓蓓,李琳,等. 围手术期口服营养补充对老年股骨转子间骨折术后营养状况及生活质量的影响[J]. 肠外与肠内营养,2018,25(5):296-301.
[12] LIU M C, YANG C S, CHU Q N, et al. High serum levels of ferritin may predict poor survival and walking ability for patients with hip fractures: A propensity score matching study[J]. Biomark Med, 2022, 16(11): 857-866.
[13] 刘璐.骨质疏松症患者血清铁蛋白、TGF-β1、Omentin-1 及骨转换标志物水平对胸腰椎骨折的预测效能[J].检验医学与临床,2022,19(10):1395-1397.
[14] 王小冬,肖峰,杜艳萍,等. 老年 2 型糖尿病对骨密度、下肢肌功能、跌倒及骨折的影响[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2018,11(2):120-125.

收稿日期:2025-03-21
(本文编辑:吴迪汉)

ZSCAN12 和 *HIST1H4F* 基因甲基化在子宫内膜癌筛查中的潜在作用

沈舒,任丽芳,屠雨卉

【关键词】 宫颈脱落细胞;*ZSCAN12*;*HIST1H4F*;甲基化;子宫内膜癌
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.09.017
【中图分类号】 R737.3 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2025)09-0943-03

子宫内膜癌(endometrial carcinoma,EC)是全球女性生殖系统中最常见的恶性肿瘤,发病率逐年上升[1-2]。早期(I 期)EC 患者经规范治疗 5 年生存率可超 95%,晚期则不足 50%[2-3];因此,早期诊断对降低死亡率至关重要。当前评估 EC 主要依赖诊断性刮宫、宫腔镜等有创性检查,虽以组织病理学为确诊“金标准”,但漏诊率较高,且缺乏无创筛查方法[4]。大量研究证实基因甲基化与 EC 密切相关,宫颈刷片样本基因甲基化检测可用于风险评估[5-6]。*ZSCAN12* 位于 7 号染色体,编码锌指蛋白,参与 DNA 结合、转录调控及细胞分化,在 EC 中甲基化水平显著升高[7]。*HIST1H4F* 位于 6 号染色体组蛋白基因簇,编码组蛋白 H4 成员,在 EC 中高度甲基化[8]。本研究基于宫颈刷样本,优化高灵敏度定量甲基化特异性 PCR(qMS-PCR)技术,评估 *ZSCAN12* 与 *HIST1H4F* 在 EC 中的诊断价值,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2024 年 1—12 月在绍兴市妇幼保健院行全面分期手术并经病理检查确诊的 EC 患者 5 例作为内膜癌组;另选取同期本院收治的因异常子宫出血行诊刮并经病理确认为正常子宫内膜患者 15 例作为对照组。内膜癌组患者年龄 47 ~ 55 岁,中位年龄 47 岁;国际妇产科联盟(FIGO)分期:Ⅰ期 3 例,Ⅱ期 1 例,Ⅲ期 1 例;病理分级:G1 级 2 例,G2 级 2 例。对照组患者年龄 44 ~ 53 岁,中位年龄 49 岁;异常子宫出血-排卵障碍(AUB-O)型 8 例,子

作者单位: 312000 浙江省绍兴,绍兴市妇幼保健院
通信作者: 沈舒,Email:sxfbss@163.com

宫内膜增生 3 例，子宫内膜息肉 4 例。两组年龄差异无统计学意义（$P > 0.05$）。本研究获得绍兴市妇幼保健院医学伦理委员会批准，所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 采集研究对象的宫颈脱落细胞学样本，来源于传统细胞学检查和（或）高危人乳头瘤病毒（human papillomavirus，HPV）检测的剩余样本。样本采集过程中，严格按照标准操作流程，确保样本的完整性和准确性。采集的宫颈刷液样本立即储存在–20 ℃的冷冻环境中。

此外，采集内膜癌组患者全子宫切除术的新鲜子宫内膜组织，经液氮速冻，并储存在 –80 ℃ 条件下。

1.2.2 DNA 提取和亚硫酸氢盐转化 使用 TIANamp 基因组 DNA 提取试剂盒（北京天健）从样本中提取基因组 DNA。分离后，DNA 被洗脱在 30 μl 洗脱缓冲液中，并储存在–20 ℃环境中直到分析。使用 DNA 甲基化试剂盒（广东光明创新生物医药有限公司），按照说明书用亚硫酸氢盐对分离的 DNA 进行修改。通过将未甲基化的胞嘧啶（C）转化为尿嘧啶（U），而甲基化的胞嘧啶（5mC）则保持不变，从而在后续的 PCR 扩增中实现甲基化状态的检测。

1.2.3 甲基化敏感性定量 PCR（qMS-PCR） PCR 条件：50 ℃ 5 min；94 ℃ 20 min；93 ℃ 30 s，56 ℃ 60 s，65 ℃ 30 s，循环 50 次。以管家基因β-actin（ACTB）为定量和质量评估的内部参考。在 qMS-PCR 测试中，如果 Ct 值＜ 40 以及目标物的信号强度＞ ACTB 的信号强度，则 2 个重复中≥1 个或 3 个重复中≥2 个（如适用）视为阳性。每组中候选基因的甲基化水平用甲基化评分来确定。所有分析都是在 ABI7500 实时 PCR 系统（Applied Biosystems）上进行，每个样品的测试为一式两份或三份。引物和探针序列见表 1。

1.3 统计方法 所有数据分析在 GraphPad Prism 5.0 软件中完成。计量资料以中位数（四分位数）表示，两组比较 Mann-Whitney *U* 检验。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组织中 *ZSCAN12* 和 *HIST1H4F* 甲基化 5 例内膜癌组患者均检测到 *ZSCAN12* 和 *HIST1H4F* 基因的甲基化。

2.2 宫颈刷液中 *ZSCAN12* 和 *HIST1H4F* 甲基化 内膜癌组患者的宫颈刷样本中都有 *ZSCAN12* 和 *HIST1H4F* 基因的甲基化。对照组的宫颈刷中，有 1 例 *ZSCAN12* 甲基化检测呈阳性，1 例 *HIST1H4F* 甲基化检测呈阳性。

3 讨论

EC 具有高度异质性[8]，临床诊断目前仍依赖于子宫内膜活检侵入性手段。鉴于国内外尚无推荐的无创筛查方案，因此亟需开发一种简便易行、成本低廉、创伤小且准确性高的早期诊断方法[4]。

抑癌基因的表观遗传学沉默在癌症的发生和进展中起重要作用[9-10]。DNA 甲基化作为关键的表观遗传调控机制，在肿瘤早期即表现出特定 CpG 岛的高频异常甲基化。这种稳定且可逆的修饰方式为肿瘤筛查提供了理想的分子靶点[11]。研究表明，多种基因（*MLH1*、*RASSF1A*、*PTEN* 、*HOXA9*、*CDH1*）的甲基化与 EC 的发生和发展密切相关[12-13]。研究表明，通过宫颈刮片检测 DNA 甲基化标志物对 EC 进行筛查可获得较高的敏感性与特异性[14]。利用易获取的巴氏涂片样本进行 EC 筛查诊断，不仅减少了侵入性操作的需求，也提升了筛查效率。

本研究选取 *ZSCAN12* 和 *HIST1H4F* 作为核心标志物，主要基于其在泛癌种中所展现的关键表观遗传调控作用。在胃癌中，*ZSCAN12* 甲基化可抑制 CCL5 分泌，导致 $CD3^+/CD8^+$ T 细胞密度降低，最终致使患者 5 年总生存率降低[15]。在乳腺癌中，*ZSCAN12* 甲基化通过 miR-29b/CDC25A 轴缩短 G1 期，促进肿瘤微环境中 Ki-67 阳性细胞比例升高，促进疾病进展[16]。*HIST1H4F* 在三阴性乳腺癌中的甲基化阳性率与组织学分级及 ER 状态显著相关[17]。

表 1 引物和探针序列

名称		序列（5’→3’）
ZSCAN12	F	AGAGCGGTCGCGGAAGT
	R	AACCGAAAACGACCACGAAA
	P	HEX-CGTTTCGCGCGGGTTGGTTTT-BHQ1
HIST1H4F	F	AGGAATATTTTAAGAATATCGC
	R	CCATCGCAAAATACTACG
	P	FAM- GGTTAAGCGACGGATGG-BHQ1

注：F 为正向引物，R 为反向引物，P 为探针

在膀胱癌中，*HIST1H4F* 通过表观遗传调控染色质状态，参与肿瘤的发生发展[18]。

本研究探索了 EC 患者的宫颈刷液中 *HIST1H4F* 和 *ZSCAN12* 基因甲基化水平，与采用阴道棉条检测 *RASSF1A/HOXA9* 甲基化（*AUC* 0.75 ～ 0.74）的研究 [19] 以及通过宫颈刷片检测 *BHLHE22/CDO1/CELF4* 甲基化（灵敏度 83.7%～ 96.0%，特异性 78.7%～ 96.0%）[20]形成方法学互补。本研究利用宫颈癌筛查后的残余宫颈刷液样本进行甲基化检测，结果显示 EC 患者均检测到 *ZSCAN12* 和 *HIST1H4F* 基因的甲基化，与既往国外研究的结果基本一致，初步证实了相关甲基化位点在国人 EC 早期诊断中的应用潜力。与宫腔刷液相比，本研究采用的样本来源更具微创性和临床可及性。

本研究对照组 2 例甲基化阳性可能源于：（1）隐匿性癌前病变，（2）慢性炎症等妇科疾病引发的表观遗传改变，（3）检测系统的技术波动。这提示未来需建立多中心大样本队列，结合长期随访明确甲基化阳性个案的临床转归。

本研究存在一定局限性：（1）作为一项横断面研究，未能系统评估 EC 患者的甲基化特征，也未能筛选出关键诊断标志物。（2）本研究未对甲基化在 EC 发生发展过程中的分子机制进行深入探讨，因而尚无法明确其是否早于疾病的组织学变化。（3）样本量较小，疾病类型覆盖范围有限，需进一步扩大研究规模，以验证该方法在早期诊断与疾病预测中的准确性与临床应用价值。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

参　考　文　献

[1] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会,中华医学会病理学分会,国家病理质控中心.子宫内膜癌分子检测中国专家共识(2021 年版)[J].中国癌症杂志,2021,31(11):1126-1144.

[2] CROSBIE E J, KITSON S J, MCALPINE J N, et al. Endometrial cancer[J]. Lancet, 2022, 399(10333): 1412-1428.

[3] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2022[J]. CA A Cancer J Clinicians, 2022, 72(1): 7-33.

[4] 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.

[5] 赵行平,徐大宝,马洁稚,等.DNA 甲基化检测在育龄期异常子宫出血女性子宫内膜癌诊断中的应用价值[J].中华检验医学杂志,2023,46(4):367-374.

[6] WEVER B M M, VAN DEN HELDER R, VAN SPLUNTER A P, et al. DNA methylation testing for endometrial cancer detection in urine, cervicovaginal self-samples and cervical scrapes[J]. Int J Cancer, 2023, 153(2): 341-351.

[7] BEINSE G, BORGHESE B, METAIRIE M, et al. Highly specific droplet-digital PCR detection of universally methylated circulating tumor DNA in endometrial carcinoma[J]. Clin Chem, 2022, 68(6): 782-793.

[8] WANG S F, DU C Y, LI M, et al. Endometrial cancer detection by DNA methylation analysis in cervical Papanicolaou brush samples [J]. Technol Cancer Res Treat, 2024, 23: 15330338241242637.

[9] 王攀,赵洪林,任凡,等.表观遗传学在恶性肿瘤发生发展和治疗中的新进展[J].中国肺癌杂志,2020,23(2):91-100.

[10] 韩恒怡, 樊峰, 李海涛. 表观遗传学和癌症代谢的研究进展[J]. 中国医学科学院学报, 2021, 50(1): 1-16.

[11] MCCONECHY M K, DING J R, CHEANG M C, et al. Use of mutation profiles to refine the classification of endometrial carcinomas[J]. J Pathol, 2012, 228(1): 20-30.

[12] SILVA F F V E, BALLINI A, CAPONIO V C A, et al. Insights into MLH1 methylation in endometrial adenocarcinoma through pyrosequencing analysis: A retrospective observational study[J]. Cancers, 2024, 16 (11): 2119.

[13] FIOLKA R, ZUBOR P, JANUSICOVA V, et al. Promoter hypermethylation of the tumor-suppressor genes *RASSF1A GSTP1* and *CDH1* in endometrial cancer[J]. Oncol Rep, 2013, 30(6): 2878-2886.

[14] 谢小兵,刘禹利. DNA 甲基化检测在肿瘤诊疗中的应用[J]. 中华检验医学杂志,2024,47(4):349-352.

[15] HUANG R L, SU P H, LIAO Y P, et al. Integrated epigenomics analysis reveals a DNA methylation panel for endometrial cancer detection using cervical scrapings[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(1): 263-272.

[16] WEN X, JIN H Y, LI M, et al. Methylation statuses of *NCOR2*, *PARK2*, and *ZSCAN12* signify densities of tumor-infiltrating lymphocytes in gastric carcinoma[J]. Sci Rep, 2022,12(1):862.

[17] SITU Y, LIANG Q Y, ZENG Z Y, et al. Systematic analysis of the BET family in adrenocortical carcinoma: The expression, prognosis, gene regulation network, and regulation targets[J]. Front Endocrinol, 2023, 14: 1089531.

[18] 严珊珊,雷雯,李帅杰,等. HIST1H4F 基因甲基化在三阴性乳腺癌中的预后价值[J]. 岭南现代临床外科,2024,24(1):54-58.

[19] VAROL N, KELES I, YILDIZ H, et al. Methylation analysis of histone 4-related gene *HIST1H4F* and its effect on gene expression in bladder cancer[J]. Gene, 2023, 866: 147352.

[20] DONG S H, LI W, WANG L, et al. Histone-related genes are hypermethylated in lung cancer and hypermethylated *HIST1H4F* could serve as a pan-cancer biomarker[J]. Cancer Res, 2019, 79(24): 6101-6112.

收稿日期：2025-03-20

（本文编辑：孙海儿）