

血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测在乳腺癌诊断中的价值

强少盈¹ 张菊² 张华伟³ 王鹏博³ 刘文超^{1△}

(1 西安市第四军医大学西京医院肿瘤科 陕西 西安 710032 ;

2 第四军医大学基因所 陕西 西安 710032 ; 3 第四军医大学预防医学系 陕西 西安 710032)

摘要 目的 探讨血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统在乳腺癌诊断中的临床价值。方法 临床确诊的乳腺癌患者 307 例为乳腺癌组,非乳腺癌的其他恶性肿瘤患者 495 例为对照组。应用多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统检测 12 种肿瘤标志物水平,评价血清肿瘤标志物的在乳腺癌组与对照组之间的差异。结果 CA153,CEA,Free-PSA 这三项指标为诊断乳腺癌的独立相关因素($P<0.05$),比较三项指标 ROC 曲线下面积可见,CA153 对于鉴别乳腺癌准确性更高,其敏感性、特异性分别为 78.92 和 56.14,女性乳腺癌患者 Free-PSA 可见明显升高,对乳腺癌有特殊提示意义,手术前后标志物 CA199、CA242、Ferritin、CA125 水平差异有统计学意义。结论 在临床常用的肿瘤标记物中,CA153,CEA,Free-PSA 水平的升高与乳腺癌发生独立相关,其中 CA153 具有更高的诊断准确性,Free-PSA 水平升高对乳腺癌的诊断有特别提示意义。

关键词: 肿瘤标志物 乳腺癌 诊断

中图分类号 R737.9 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2012) 10-1923-03

Application and the Research Progress of Multiple Serum Tumor Marker Protein Chip Detection for Breast Cancer

QIANG Shao-ying¹, ZHANG Ju², ZHANG Hua-wei³, WANG Peng-bo³, LIU Wen-chao^{1△}

(1 Department of Oncology, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an, 710032, China;

2 Institute of Genetics, The Fourth Military Medical University, Xi'an, 710032, China;

3 Department of preventive medicine The Fourth Military Medical University, Xi'an, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the diagnostic value of multi-tumor markers protein biochip detective system in the diagnosis of breast cancer. **Methods**: Three hundred and seven patients with breast cancer (breast cancer group) and four hundred and ninety five patients with other cancer (control group) were studied. Serum CEA, AFP, CA125, CA15-3, CA19-9, CA242, Ferritin and others were measured with the multi-tumor markers protein biochip detective system. The levels of the markers above were compared between the breast cancer group and the control group. Those with a P value of <0.1 were entered into a multivariate analysis. Then the receiver operating curve (ROC) was performed. The diagnostic value of each markers was compared using the area under the curve. **Results**: The levels of CA153, CEA, Free-PSA in breast cancer group were higher than in control group ($P<0.01$). From the ROC Curve, CA153 is the most sensitive tumor marker in breast cancer. There is a distinct difference in the level of CA199, CA242, Ferritin, CA125 between patients have surgery and those who have not had surgery. **Conclusion**: The rise of CA153, CEA, Free-PSA have an independent relation with breast cancer, and CA153 has higher diagnosis accuracy. The level of Free-PSA has a special significance in the diagnosis of breast cancer.

Key words: Tumor marker; Breast cancer; Diagnosis

Chinese Library Classification: R737.9 **Document code**: A

Article ID: 1673-6273(2012)10-1923-03

乳腺癌是全球范围内威胁女性健康的最常见的恶性肿瘤,全世界每年约有 100 多万妇女患有乳癌,与欧美国家相比,我国乳腺癌患者发病率逐年上升,且呈现日益年轻化的趋势。早期诊断和规范治疗是提高患者生存率的关键。目前对于乳腺癌的诊断依赖于体格检查、影像学检查和组织病理学检查,但这些诊断方法只能对有明显临床表现的患者有诊断价值,对于高危人群的筛查和早期患者的诊断意义不大。随着对肿瘤标志物

的研究逐渐深入和蛋白芯片技术的不断发展,多肿瘤标志物蛋白芯片诊断技术在临床上的应用备受重视,而且多项标志物联合检测结果由于单项指标^[1],该技术与传统检测方法相比具有高灵敏度、高效和高通量的特点,所需血液标本用量少,操作简便快捷^[2,3]。本文旨在评价 12 种肿瘤标志物糖链抗原 19-9 (CA19-9)、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、癌胚抗原 (CEA)、糖链抗原 242 (CA242)、铁蛋白 (Ferritin)、人绒毛膜促性腺激素 (β -HCG)、甲胎蛋白 (AFP)、游离型前列腺特异性抗原 (Free-PSA)、前列腺特异性抗原 (PSA)、糖链抗原 125 (CA125)、生长激素 (GH)、糖链抗原 153 (CA153) 单项和多项联合检测对于乳腺癌诊断的临床价值。

1 对象与方法

作者简介 强少盈 (1983-),女,住院医师,硕士,主要从事肿瘤靶向治疗临床研究, E-mail: 1102758812@qq.com

△通讯作者 刘文超 (1962-),女,教授,主任医师,博士生导师,主要从事肿瘤内科综合诊治以及肿瘤生物学研究

E-mail: xjcancer@fmmu.edu.com

(收稿日期 2011-09-03 接受日期 2011-09-30)

1.1 研究对象

收集 2010 年 1 月至 2010 年 6 月在我院门诊和住院的乳腺癌患者 307 例,年龄 26~75 岁,平均年龄 49.8 岁,对照组为其他恶性肿瘤患者 495 例,均为女性,年龄 23~83 岁,平均年龄 53 岁。所有病例均经细胞或组织病理学检测确诊的患者。

1.2 方法

晨起空腹采集静脉血 3 ml,离心分离血清,于 -20℃ 冰冻保存待测。肿瘤标志物的检测应用 C-12 型肿瘤诊断用蛋白芯片试剂盒和 HD-2001A 生物芯片检测仪进行,由浙江湖州数康生物科技有限公司生产,严格按照试剂盒说明书和仪器操作规则检测肿瘤标志物水平并记录检测结果,将检测结果与阈值比较,12 种肿瘤标志物的阈值分别为 CA199 35KU/L、NSE 13 $\mu\text{g/L}$ 、CEA 5 $\mu\text{g/L}$ 、CA242 20KU/L、Ferritin 219 $\mu\text{g/L}$ (女)、 β -HCG 3 $\mu\text{g/L}$ 、AFP 20 $\mu\text{g/L}$ 、Free-PSA 1 $\mu\text{g/L}$ 、PSA 5 $\mu\text{g/L}$ 、CA125 35KU/L、HGH 7.5 $\mu\text{g/L}$ 、CA153 35KU/L,

超出阈值范围的即为阳性。两组患者的血液标本均在我科实验室用相同方法和试剂测定,并做好室内质控,保证检测结果的准确性、重复性和可比性。

1.3 统计学分析

使用 SPSS16.0 统计软件进行统计分析。计量资料结果用均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以百分率表示。

2 结果

2.1 将乳腺癌组与其它类型肿瘤对照组的各项肿瘤标志物检测值进行单项比较,对高于对照组并有显著统计学差异的指标为自变量,以是否是乳腺癌作为应变量,进行 logistic 回归分析,分析结果见表 1。由分析结果可以得出,在乳腺癌诊断中特异性最高的肿瘤标志物种类为 CEA、Free_PSA、CA153,同时也要考虑患者的年龄因素。

表 1 以是否为乳腺癌作为因变量的 logistic 回归分析

Table 1 Logistic regression analysis on being breast cancer or not as a dependent variable

	P	95.0% C.I.	
		Lower	Upper
Age	0.000	0.953	0.983
CEA	0.019	0.000	0.244
Free_PSA	0.000	0.028	0.291
CA153	0.004	2.744	2.086

Note: a control group: simple excision of nodules; b control group: regular therapy.

2.2 对回归结果显示为独立相关因素者做受试者工作曲线(receivers operating curve, ROC) 评价其检验效能,分析结果见图 1。比较 CEA、Free-PSA 和 CA153 三项指标的 ROC 曲线下面积可以看出,CA153 对于诊断乳腺癌的准确性更高,曲线下的面积为 0.593,诊断有统计学意义 ($P=0.000$),即 CA153 值越大越有可能是乳腺癌,与以往文献报道一致。

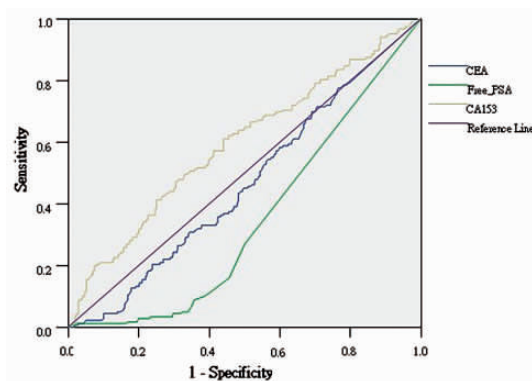


图 1 CA153,CEA,Free_PSA 受试者工作曲线下面积

Fig.1 The area under the receiver-operating curve

2.3 运用多远方差分析 (MANOVA) 的方法对 182 例乳腺癌术前患者和 125 例术后患者的肿瘤标志物水平进行分析,得出手术前后标志物水平变化有统计学差异的指标,分别为 CA199 ($p=0.0062$)、CA242 ($P=0.0277$)、Ferritin ($P=0.0381$)、CA125 ($P=0.0162$),见图 2。

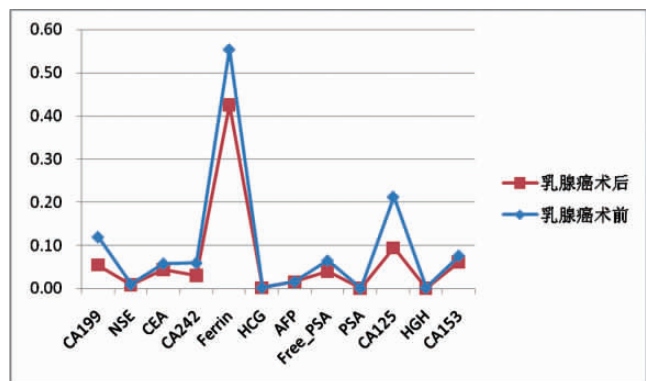


图 2 乳腺癌术前术后肿瘤标志物平均值的变化趋势

Fig. 2 Breast cancer tumor markers postoperative recovery of the average trends

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,在西欧、北美等发

达国家,乳腺癌发病率居女性癌瘤的首位,在我国北京、上海、天津等大城市,乳腺癌发病率已跃居女性各种癌瘤的首位,其病因尚不明确,影响乳腺癌预后的最重要的因素是分期,Ⅰ期

患者 10 年生存率可超过 80%,而IV期患者的生存率不到 15%,所以,早期发现乳腺癌对于患者的治疗和预后至关重要。

CA153 属于糖蛋白类抗原,为多形上皮粘蛋白,在识别乳腺癌的敏感性和特异性方面,其作用优于其他肿瘤标志物,主要用于乳腺癌的监测和筛选,以及评价患者预后情况,对于发现乳腺癌具有重要意义^[4]。已有研究显示,CA153 是监测病人术后复发和转移情况的重要指标,血清 CA153 水平升高,提示乳腺癌的局部或全身复发且升高早于核素检查和临床检查的阳性发现,对于乳腺癌转移的诊断有相当高的敏感性和特异性,且转移病灶越多、范围越广,CA153 水平越高^[5],所以对乳腺癌患者动态观察 CA153 水平的变化,能早期发现复发和转移,有效反映患者的治疗效果,为临床制定治疗方案提供依据。除乳腺癌外,CA153 还存在于肺腺癌、卵巢癌、胰腺癌等多种肿瘤内,且在早期乳腺癌的阳性检出率较低^[6],所以单一 CA153 的检测对于乳腺癌的诊断受到一定限制。本组标本的检测结果表明,CEA 在乳腺癌中的表达也具有较高的特异性。CEA 是一种糖蛋白,存在于胚胎胃肠粘膜上皮和一些恶性组织的细胞表面,是多种肿瘤的标志物,主要用于消化道肿瘤的诊断和疗效评价,作为乳腺癌早期诊断的价值不大,但有助于分析治疗效果、判断预后和预测复发和转移^[7]。已有研究显示,随着分期程度的增加,血清中 CA153 和 CEA 阳性率有增加趋势,且与乳腺癌病理组织中的 C-erbB2 有一定相关性^[8]。除 CA153 和 CEA 以外,本研究结果还显示出 Free PSA 在乳腺癌中的表达较其他标志物有较高特异性。前列腺特异性抗原是分子量为 30KD 的单链糖蛋白,属于丝氨酸蛋白酶,由人类前列腺激肽释放酶基因家族成员之一 HKLK3 所编码,主要由前列腺管状上皮细胞合成研究发现,在乳腺癌组织中存在 HKLKs 的异常表达^[9],PSA 在血清中主要有两种存在形式,一种是与糜蛋白酶结合形成的复合物,另一小部分为非结合型,即游离型 PSA (Free_PSA)。PSA 自发现以来已成为最有效的前列腺肿瘤标志物,近年的研究表明,PSA 也存在于女性某些依赖激素调控的组织如乳腺、卵巢、肾上腺及体液中^[10]。有研究报道,乳腺肿瘤组织的 PSA 与前列腺组织中的 PSA 分子大小具有同一性,两者的 mRNA 序列一至致,乳腺肿瘤组织中编码 PSA 的 DNA 序列物基因突变,与男性前列腺中合成的 PSA 是同一分子^[11]。女性体内 HKLK3 编码的 PSA 主要来源于乳腺组织,是一种激素应答的效应分子,受雄激素、孕激素、糖皮质激素、肾上腺激素等的调节^[12]。本研究显示随着乳腺癌分期严重程度的增加和恶性程度的升高,Free PSA 阳性率有升高趋势,但尚无统计学差异。本研究显示乳腺癌术前和术后肿瘤标志物水平也有很大差异,本研究显示,血清标志物 CA199、CA242、Ferrin、CA125 在手术后的乳腺癌患者较术前患者有明显降低,所以对手术后的乳腺癌患者进行肿瘤标志物的定期检测,有助于判断手术的治疗效果和疾病的发展状况。

4 小结与展望

乳腺癌肿瘤标志物的研究已经取得许多新进展,且随着检测技术的不断更新,在临床上的应用越来越普遍,肿瘤标志物联合检测能使乳腺癌诊断的敏感性提高到 89.6%,可以弥补单项指标诊断的漏诊,完善了单项指标不足,对乳腺癌早期诊断的敏感性、准确性有显著提高^[13],有良好的辅助诊断价值,多肿瘤标志物蛋白芯片诊断技术也存在一定局限性,例如灵敏度

和特异度有待提高、检测费用较高,假阳性假阴性等^[14],但现在仍未发现某一种特异性及敏感性均十分理想的标志物对于早期检测乳腺癌有较高应用价值,且最佳的肿瘤标志物及最佳组合不是一成不变的,在肿瘤的不同时期以及不同的转移程度,肿瘤标志物都有可能重新组合^[15]。肿瘤标志物测定的临床价值在于动态观察,从而为乳腺癌的诊治提供更高的临床参考价值。

参考文献 (References)

- [1] 刘荣华,林红,孙晓茹. C-12 蛋白芯片检测方法在肿瘤早期诊断中的临床价值 [J]. 现代肿瘤医学, 2008, 16(6): 1040-1041
Liu Hua-rong, Lin Hong, Sun Xiao-rong. C-12 protein microarray detection method in early diagnosis of cancer clinical value[J]. Modern Oncology, 2008, 16(6): 1040-1041
- [2] 万文徽. 肿瘤标志物的临床应用中的若干问题[J]. 中华检验医学杂志, 2000, 23(1) 9
Wan Wen-hui. Tumor markers of the clinical application of the problems[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2000, 23(1): 9
- [3] 张小峰,崔亚玲,李小燕,等. 河南省肿瘤医院 24960 例恶性肿瘤住院病例分析. 中国肿瘤, 2009, 18 90-91
Zhang Xiao-feng, Cui Ya-ling, Li Xiao-yan, et al. 24960 patients with malignant tumor hospital case analysis in Henan province tumor hospital[J]. Chinese cancer, 2009, 18: 90-91
- [4] Keshaviah A, Dellapasqua S, Rotmensz N, et al. CA153 and alkaline phosphatase as predictors of breast cancer recurrence; a combined analysis of seven International Breast Cancer Study Group trial[J]. Ann Oncol, 2007, 18(4):701-708
- [5] Wojtacki J, Kmszewski W, Sliwiska M, et al. Elevation of senlm Cal53 antigen: an early indicator of distant metastasis from breast cancer Retrospective analysis of 733 cases [J]. J Przegl Lek, 2001, 58 (6): 4981
- [6] 郑航,罗荣城. TPS、CA153 联合检测对乳腺癌的诊断价值. 第一军医大学学报, 2005, 25(10) 1293-1298
Zheng Hang, Luo Rong-cheng. TPS, CA153 united detection in the diagnosis of breast cancer value [J]. Journal of First Military Medical University, 2005, 25(10): 1293-1298
- [7] 崔红霞,韩存芝,杜丽莉,等. 肿瘤标志物在监测乳腺癌患者复发转移中的意义[J]. 中国循证医学杂志, 2008, 8 (10) : 842-845
Cui Hong-xia, Han Cun-zhi, Du Li-li, et al. Tumor markers in monitoring the significance of breast cancer patients relapse and metastasis [J]. Chinese Journal of Evidencebased Medicine, 2008, 8 (10) : 842-845
- [8] 仲崇明,周彦,卞光荣,等. 乳腺癌患者血清肿瘤标志物与免疫组化标志物相关性研究[J]. 实用肿瘤学杂志, 2010, 24 (3) : 224-226
Zhong Chong-ming, Zhou Yan, Bian Guang-rong, et al. Breast cancer patients serum tumor markers and immunohistochemical markers correlation[J]. Journal of Practical Oncology, 2010, 24 (3) : 224-226
- [9] Diamandis EP, Youssef GM. Human tissue kallikreins: a family of new cancer biomarkers[J]. Clin Chem, 2002, 48 (8) : 1198-1205
- [10] Mannello F, Gazzanelli. Prostate - specific antigen : a further player in the field of breast cancer diagnosis [J]. Breast Cancer Res, 2001, 3 (4): 238-243
- [11] Keshaviah A, Dellapasqua S, Rotmensz N, et al. CA15-3 and alkaline phosphatase as predictors for breast cancer recurrence: a combined analysis of seven International Breast Cancer Study Group Trials [J]. Ann Oncol, 2007, 18 (4): 701-708
- [12] 王建国,史春云,李贞洁,等. 血清 PSA 在乳腺癌中的诊断价值[J].

医学研究与教育, 2010, 27(12): 36-38

Wang Jian-guo, Shi Chun-yun, Li Zhen-jie, et al. Serum PSA in the breast cancer diagnosis value[J]. The medical research and education, 2010, 27(12): 36-38

[13] 班副植, 黄承乐, 黎荣能, 等. 乳腺癌患者血清肿瘤标志物联合检测的临床价值[J]. 现代预防医学, 2010, 37 (4) : 756-758

Ban Fu-zhi, Huang Cheng-le, Li Rong-neng, et al. Breast cancer patients serum tumor markers joint test clinical value[J]. Modern Preventive Medicine, 2010, 37 (4) : 756-758

[14] 汪覆鸣, 冷佳丽, 李晓军. 多肿瘤标志物蛋白芯片检测在乳腺癌早期

诊断中的价值[J]. 现代肿瘤医学, 2009, 17 (4) : 1094-1096

Wang, Fu-ming, Leng Jia-li, LiXiao-jun. Diagnostic value of multiple tumor marker protein biochip detection system in breast cancer, Modern Oncology, 2009, 17 (4) : 1094-1096

[15] 郑辉, 吴赞, 孔建新. 多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统的临床应用分析[J]. 安徽医药, 2006, 10(4): 273-275

Zheng Hui, Wu Zan, Kong Jian-xin. Multiple tumor markers protein microarray detection system of the clinical application of analysis[J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2006, 10(4): 273-275

· 重要信息 ·

2012 年第十一届全国脂质与脂蛋白学术会议征稿通知 (第一轮)

由中国生物化学与分子生物学会脂质与脂蛋白专业委员会主办, 山西医科大学、山西医科大学附属第一医院协办的 " 第十一届全国脂质与脂蛋白学术会议 " 拟于 2012 年 7-8 月在山西省太原市召开。本次会议预计参会人数 300~400 人, 是脂质领域规模最大的全国性专题学术会议。会议主题为 " 创新脂质科学研究, 推动转化医学发展 "。我们很荣幸地邀请了十几位在脂质、脂蛋白的分子生物学、病理生理学、检验医学、临床医学和中医药研究方面做出突出贡献的国内外著名专家, 将在会上报告脂质与脂蛋白基础研究、临床应用研究及转化医学的最新成果和发展趋势。会议将采用专题报告、大会发言、分会交流、壁报和青年优秀论文评奖相结合的方式进行, 以达到共同学习、共同提高的目的。我们诚挚地邀请您参加在美丽的古城太原举办的这次盛会。

一、征文内容

1. 各种脂质与脂代谢相关蛋白的结构与功能研究;
2. 脂质与脂蛋白的代谢、修饰、运转及网络调控研究;
3. 基因组学、蛋白组学及脂质组学在脂代谢相关疾病研究中的应用;
4. 应用系统生物学平台对脂代谢紊乱及相关性疾病的中医药基础研究;
5. 各种脂代谢相关疾病动物模型的复制研究;
6. 药物及中药调控脂代谢紊乱及相关性疾病的分子网络研究;
7. 脂代谢相关疾病的分子生物学检验、遗传分析及临床应用;
8. 临床血脂检测的实验室质量控制与标准化研究;
9. 脂代谢相关疾病的基因与干细胞治疗研究;
10. 心血管疾病危险因素及标志物的研究;
11. 中国胆固醇教育计划的检验医学及其临床协作;
12. 脂代谢相关疾病的个体化诊疗技术研究;
13. 血脂异常的流行病学研究。

二、征文要求

1. 未公开发表的论著、综述、简报、经验交流等。参加青年论文竞赛的作者请在首页的第一行注明 " 青年论文参赛论文。参赛作者须为第一作者, 年龄应在 35 岁以下 (1977 年 1 月 1 日以后出生) 。

2. 投稿形式 500~800 字的摘要 (按目的、方法、结果、结论四段式撰写, 结果中要包含主要数据), 请务必在稿件中注明作者姓名、单位、联系电话、通讯地址和邮政编码, 以便及时沟通。

3. 论文摘要 中文或英文, 中文用宋体, 小四号字体, 不超过 800 字; 英文用 Time New Roman 字体, 小四号字体, 不超过 500 字, 单倍行距; word 文件名应为 " 作者姓名 - 单位 "。

4. 论文提交方式 采用网上投稿的方式, 请将稿件发送到会议的专用邮箱 lipid2012@126.com 请务必在邮件主题写明 " 太原会议投稿 ", 以附件形式发送。

5. 截稿日期 2012 年 5 月 31 日 (以 Email 为准)。

6. 优秀论文将推荐到《医学分子生物杂志》、《心肺血管疾病杂志》、《中国动脉硬化杂志》和《现代生物医学进展》等核心刊物上正刊发表。

欢迎全国各地相关专业的临床、基础、药物研发人员和研究生踊跃投稿, 在读研究生会议费从优。会议也为学术界和企业搭建沟通桥梁, 介绍转化医学的发展及临床应用前景, 欢迎相关医药企业、医疗器械厂商踊跃参加本次会议。

进一步了解相关信息可登陆中国生物化学与分子生物学会脂质与脂蛋白专业委员会网站 <http://www.lipid-lipoprotein.org>。

中国生物化学与分子生物学会脂质与脂蛋白专业委员会

山西医科大学

山西医科大学附属第一医院

2012 年 2 月 2 日