

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.04.015

# 钼靶联合 hMAM、BRCA-1 表达水平检测对乳腺癌的诊断价值

温冰馨,王 斌<sup>△</sup>

中一东北国际医院普外科一科,辽宁沈阳 110021

**摘要:**目的 探讨钼靶联合乳腺癌人乳腺珠蛋白(hMAM)基因、乳腺癌易感基因-1(BRCA-1)表达水平对乳腺癌的诊断价值。方法 选取2016年1月至2019年8月在该院就诊的乳腺癌患者150例纳入肿瘤组,另选取同期良性乳腺肿瘤患者100例纳入良性组。通过受试者工作特征(ROC)曲线分析单独及联合应用钼靶及hMAM、BRCA-1检测诊断乳腺癌的灵敏度、特异度、ROC曲线下面积(AUC)等。结果 肿瘤组钼靶检测阳性率(68.7%)明显高于良性组(27.0%),差异有统计学意义( $\chi^2=41.730, P<0.05$ )。肿瘤组hMAM表达水平明显高于良性组,BRCA-1表达水平明显低于良性组,差异有统计学意义( $t=49.723, 30.632, P<0.05$ )。钼靶及hMAM、BRCA-1联合检测诊断乳腺癌的灵敏度(78.7%)明显高于单独检测的灵敏度(68.7%、57.3%、60.7%),差异有统计学意义( $P<0.05$ ),还保持了较高的特异度(79.0%),联合检测的AUC(0.864)明显高于单独检测(0.792、0.753、0.642),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 钼靶检测及hMAM、BRCA-1表达水平检测可提高乳腺癌诊断的灵敏度,并保持较高的特异度,对乳腺癌诊断有重要的临床价值。

**关键词:**乳腺癌; 钼靶; 人乳腺珠蛋白基因; 乳腺癌易感基因-1; 联合检测

中图法分类号:R737.9;R445

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)04-0482-04

## Diagnostic value of molybdenum target combined with the expression level of human breast cancer mammaglobin gene and breast cancer susceptibility gene-1 in breast cancer patients WEN Bingxin, WANG Bin<sup>△</sup>

First Department of Surgery, Zhongyi Northeast International Hospital,  
Shenyang, Liaoning 110021, China

**Abstract: Objective** To analyze diagnostic value of molybdenum target combined with the expression level of human breast cancer mammaglobin gene(hMAM) and breast cancer susceptibility gene-1 (BRCA-1) in breast cancer patients. **Methods** A total of 150 patients with breast cancer from January 2016 to August 2019 were selected as tumor group, and 100 benign breast cancer patients in the same period were selected as benign group. The sensitivity, specificity, and area under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC) of single indicator detection and combination with hMAM, BRCA-1 expression levels and molybdenum target in the diagnosis of breast cancer were analyzed by ROC curve. **Results** The positive rate of molybdenum target test in tumor group (68.7%) was significant higher than that in benign group (27.0%,  $\chi^2 = 41.730, P<0.05$ ). The expression level of hMAM in tumor group was significantly higher than that in benign group ( $t=49.723, P<0.05$ ). The expression level of BRCA-1 in tumor group was significantly lower than that in benign group ( $t=30.632, P<0.05$ ). The sensitivity (78.7%) of the combined diagnosis for breast cancer was significantly higher than that of single detection (68.7%, 57.3%, 60.7%,  $P<0.05$ ), and maintained a high specificity (79.0%). The AUC of the combined detection (0.864) was significantly higher than those of single indicator (0.792, 0.753, 0.642,  $P<0.05$ ). **Conclusion** The combined detection of molybdenum target and the expression level of hMAM and BRCA-1 could improve the sensitivity of breast cancer diagnosis and maintain high specificity, which has important clinical value for breast cancer diagnosis.

**Key words:** breast cancer; molybdenum target; human breast cancer mammaglobin gene; breast cancer susceptibility gene-1; combination detection

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,其发病率及致死率在全球逐年升高,成为女性发病率最高的肿瘤,在女性恶性肿瘤致死率中高居第六位,成为危害

女性健康的第一大杀手<sup>[1]</sup>。早期诊断乳腺癌具有重要的临床意义。目前,诊断乳腺癌的方法主要为影像学检查,如超声、钼靶检测等,但是对于早期患者的筛

作者简介:温冰馨,女,主治医师,主要从事乳腺疾病的诊治研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: wangbin1918011@163.com。

本文引用格式:温冰馨,王斌. 钼靶联合 hMAM、BRCA-1 表达水平检测对乳腺癌的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(4): 482-485.

选准确率仍有待提高<sup>[2-3]</sup>。乳腺癌在分子生物学上具有较为特异的表征,如乳腺癌人乳腺珠蛋白(hMAM)基因、乳腺癌易感基因-1(BRCA-1)等,可作为预测乳腺癌发生的高危风险因子<sup>[4-5]</sup>。本研究分析了钼靶及hMAM、BRCA-1 表达水平检测对乳腺癌的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2019 年 8 月在本院就诊的乳腺癌患者 150 例纳入肿瘤组,年龄(41.12±4.74)岁;病理类型包括浸润性导管癌 88 例,原位癌 22 例,腺癌 26 例,浸润性小叶癌 14 例。另选取同期就诊的良性乳腺肿瘤患者 100 例纳入良性组,年龄(42.09±5.10)岁;病理类型包括乳腺纤维腺瘤 78 例,乳腺囊性增生病 16 例,乳管内乳头状瘤 6 例。两组患者年龄比较,差异无统计学意义( $t=1.537, P=0.125$ )。肿瘤组纳入标准:经病理诊断符合乳腺癌诊断标准<sup>[6]</sup>的患者;首次诊治患者。肿瘤组排除标准:合并其他类型恶性肿瘤患者;复发转移患者;合并严重肝、肾、心脑血管等疾病患者;孕妇或哺乳期女性。良性组纳入标准:经病理诊断符合良性乳腺肿瘤诊断标准<sup>[7]</sup>的患者;首次诊治患者。良性组排除标准:合并严重肝、肾、心脑血管疾病患者;孕妇或哺乳期女性。本研究经过本院医学伦理委员会审阅同意,所有患者均签署知情同意书。

1.2 方法 两组患者均行钼靶及 hMAM、BRCA-1 检测,比较两组患者相关参数差异,绘制 ROC 曲线分析各指标单独及联合检测的诊断价值。(1)钼靶检测:患者取平卧位,进行 X 射线扫描,对两侧乳房及周围组织显影;阳性的诊断标准为患者肿块显影清晰,与周围组织界限不清,钙化点较为清晰,否则为阴性。每例患者由两位具有 5 年以上钼靶检测诊断乳腺癌工作经验的医师独立完成,意见不一致时讨论得出一致结果。(2)实验室指标检测:①提取总 RNA。取患者静脉血 5 mL,弃去开始的 1 mL 防止其他细胞污染,取 1 mg/mL 血液标本采用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,生理盐水稀释 2~3 倍,人淋巴细胞分离液分离出淋巴细胞,采用异硫氰酸胍-酚-氯仿一步法提取总 RNA。②cDNA 合成。设计甘油醛-3-磷酸脱氢

酶(GAPDH)引物,并制备反转录反应体系 20  $\mu$ L(总 RNA 1  $\mu$ L+随机引物 200 ng+ RNasin 20 U+5 $\times$  反转录反应缓冲液 4  $\mu$ L+M-MLV 反转录酶 20 U,加无检酸酶的水补充体积至 20  $\mu$ L),42  $^{\circ}$ C 反应 55 min。③PCR 扩增。hMAM 以 GAPDH 为内对照, BRCA-1 以  $\beta$ -微球蛋白为内对照,取反转录反应产物 2  $\mu$ L,0.2  $\mu$ L 的三磷酸脱氧核苷(dNTP,10 nmol/L),0.15  $\mu$ L 牛血清清蛋白(BSA,10  $\mu$ g/ $\mu$ L),0.5  $\mu$ L 引物(10  $\mu$ g/L),MgCl<sub>2</sub> 1  $\mu$ L(25 mmol/L),0.1  $\mu$ g DNA 聚合酶,1  $\mu$ L 水解探针(3  $\mu$ g/L),焦碳酸二乙酯(DEPC)-水(H<sub>2</sub>O)(加至 10  $\mu$ L)。条件为 95  $^{\circ}$ C 3.5 min,95  $^{\circ}$ C 10 s;退火 55  $^{\circ}$ C 20 s,延伸 72  $^{\circ}$ C 30 s,45 个循环。根据标准曲线,7500 Fast Sequence Detector 分析仪自动计算出标本中 hMAM、BRCA-1 与 GAPDH、 $\beta$ -微球蛋白的表达水平,并计算 hMAM、BRCA-1 与 GAPDH 的比值。反应中所涉及的反转录反应体系、PCR 反应体系及 7500 Fast Sequence Detector 分析仪为美国 ABI 公司生产。引物设计及合成采用 PE 公司 Primer Express 软件设计引物和探针,引物由上海基康生物技术有限公司合成。诊断标准:hMAM 及 BRCA-1 表达水平在受试者工作特征(ROC)曲线 cut-off 值上方即为阳性,下方为阴性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。绘制 ROC 曲线评估各项指标诊断价值,采用 Hanley-McNeil 方法比较 ROC 曲线下面积。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组钼靶检测结果比较 肿瘤组钼靶检测阳性率为 68.7%(103/150),良性组为 27.0%(27/100),差异有统计学意义( $\chi^2=41.730, P<0.05$ )。

2.2 两组 hMAM、BRCA-1 表达水平比较 肿瘤组 hMAM 表达水平明显高于良性组,差异有统计学意义( $t=49.723, P<0.05$ ),肿瘤组 BRCA-1 表达水平明显低于良性组,差异有统计学意义( $t=30.632, P<0.05$ )。见表 1。

表 1 两组各项实验室指标表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别       | <i>n</i> | GAPDH<br>( $\times 10^5$ copy/mL) | hMAM<br>( $\times 10^5$ copy/mL) | hMAM/GAPDH<br>( $\times 10^{-3}$ ) | $\beta$ -微球蛋白<br>( $\times 10^5$ copy/mL) | BRCA-1<br>( $\times 10^5$ copy/mL) | BRCA-1/GAPDH<br>( $\times 10^{-3}$ ) |
|----------|----------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| 肿瘤组      | 150      | 3.02±0.14                         | 33.21±6.32                       | 11.02±2.61                         | 3.10±0.10                                 | 1.02±0.28                          | 0.31±0.03                            |
| 良性组      | 100      | 3.01±0.13                         | 6.65±1.38                        | 2.21±0.68                          | 3.11±0.09                                 | 2.76±0.52                          | 0.93±0.21                            |
| <i>t</i> |          | 0.569                             | 49.723                           | 39.385                             | 0.806                                     | 30.632                             | 29.325                               |
| <i>P</i> |          | 0.570                             | <0.001                           | <0.001                             | 0.421                                     | <0.001                             | <0.001                               |

达水平作为检验变量,是否诊断为乳腺癌为状态标量,以 1—特异度为 X 轴,以灵敏度为 Y 轴绘制 ROC 曲线,见图 1。根据 ROC 曲线可得,联合检测的灵敏

度明显高于各指标单独检测,且联合检测的 AUC 明显高于各项指标单独检测,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 单独及联合检测对乳腺癌的诊断性能比较

| 指标     | 灵敏度 (%) | 特异度 (%) | 阳性预测值 (%) | 阴性预测值 (%) | cut-off                  | 约登指数  | Kappa | AUC   | 标准误   | 95%CI       | P      |
|--------|---------|---------|-----------|-----------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------|
| 钼靶     | 68.7    | 73.0    | 79.2      | 60.8      | —                        | 0.391 | 0.704 | 0.792 | 0.027 | 0.747~0.853 | 0.044  |
| hMAM   | 57.3    | 82.0    | 82.7      | 56.2      | $6.32\times10^5$ copy/mL | 0.245 | 0.672 | 0.753 | 0.029 | 0.697~0.809 | 0.001  |
| BRCA-1 | 60.7    | 61.0    | 70.0      | 50.8      | $0.55\times10^5$ copy/mL | 0.215 | 0.561 | 0.642 | 0.035 | 0.572~0.711 | <0.001 |
| 联合检测   | 78.7    | 79.0    | 84.9      | 71.2      | —                        | 0.575 | 0.788 | 0.864 | 0.021 | 0.823~0.905 | —      |

注:—为无数据。

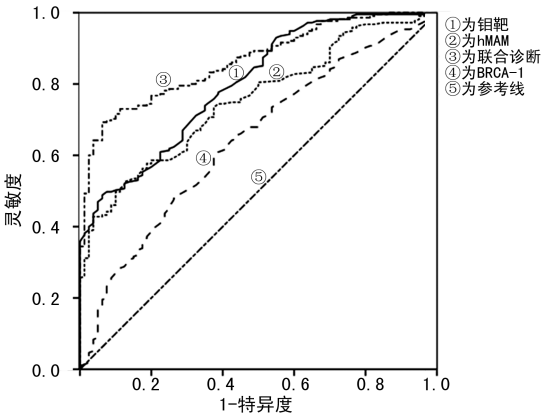


图 1 ROC 曲线分析

3 讨 论

以往研究表明,乳腺癌早期诊断能明显改善患者生存率<sup>[8]</sup>,但目前临床缺乏其早期筛查的有效手段,因此,探索简单、有效、非侵入性的早期乳腺癌检查方法具有重要的临床意义。影像学检查,如钼靶检测在乳腺占位性病变的检查中有独特的优势,操作简便,重复性强<sup>[9]</sup>。同时,乳腺癌在分子表型上具有特异性表征,约 40%的乳腺癌患者存在 hMAM 及 BRCA-1 过度表达,因此,进行乳腺癌相关基因的表达检测也可为其诊断提供重要的依据<sup>[10]</sup>。

钼靶检测是乳腺癌诊断的常用方法,通过放射性显影观察病灶形态、大小、部位、与周围组织关系、边缘、钙化等特征,以此判断病灶的良恶性,具有操作简便、重复性好等特点<sup>[11]</sup>。含笑等<sup>[12]</sup>的研究表明,簇状钙化、肿块及两者合并是乳腺癌钼靶检测结果的 3 个重要特征。本研究中,钼靶检测诊断乳腺癌的灵敏度为 68.7%,特异度为 73.0%,AUC 为 0.792。阳君<sup>[13]</sup>的研究表明钼靶检测诊断乳腺癌的准确率为 72%,结果与本研究接近。但进一步分析发现,钼靶检测在筛选具有一定典型病灶形态的乳腺癌中具有优势,但是对于一些存在非特异变化的良性病变可能会产生误诊,而对于小病灶、不典型的病灶可能会造

成漏诊,需要联合其他指标提高诊断效能。

hMAM 是乳腺癌相关基因,在人体第 11 号染色体上,正常情况下在成人的乳腺组织表达,而在乳腺癌细胞中可过度表达,因此,临床可依据其表达水平进行乳腺癌的诊断<sup>[14]</sup>。BRCA-1 在人体第 17 号染色体上,正常情况下作为一种抑癌基因参与细胞周期调控、细胞增殖及损伤修复等过程,突变后可见表达水平降低或缺失,与乳腺癌、卵巢癌的发生密切相关<sup>[15]</sup>。本研究中,hMAM 表达水平诊断乳腺癌的 cut-off 值为  $6.32\times10^5$  copy/mL 灵敏度为 57.3%,特异度为 82.0%,AUC 为 0.753(95%CI:0.697~0.809);BRCA-1 表达水平诊断乳腺癌的 cut-off 值为  $0.55\times10^5$  copy/mL,其对应的灵敏度为 60.7%,特异度为 61.0%,AUC 为 0.642(95%CI:0.572~0.711)。hMAM、BRCA-1 表达水平诊断乳腺癌是针对发生了相关基因突变的乳腺癌的诊断,但这些只是乳腺癌中的一部分,会产生漏诊;因此,hMAM、BRCA-1 表达水平诊断乳腺癌的灵敏度较低,单独诊断价值有限。

既往研究表明,联合多种方法诊断乳腺癌可提高其检出率<sup>[16]</sup>。本研究中钼靶、hMAM、BRCA-1 联合诊断乳腺癌的灵敏度(78.7%)明显高于单项检测的灵敏度(68.7%、57.3%、60.7%),差异有统计学意义( $P<0.05$ );联合检测在提高乳腺癌检测灵敏度的同时,还保持了较高的特异度(79.0%),联合检测的 AUC 明显高于单独检测,表明联合检测可提高乳腺癌的检出率,具有较好的临床应用前景。结合前文,钼靶检测诊断乳腺癌灵敏度较低,特异度较高,存在漏诊的情况;而 hMAM、BRCA-1 表达水平诊断灵敏度低,诊断性能有限,因此,将三者联合可提高乳腺癌的诊断灵敏度,同时保持较高的特异度,明显提高了诊断性能。

参考文献

[1] UY J, PATRIZIO L, SUNG-BAE K. HER2 + breast

- cancer treatment and cardiotoxicity; monitoring and management[J]. Breast Cancer Res Tr, 2019, 12(9): 237-250.
  - [2] HU Y, ZHANG Y, CHENG J. Diagnostic value of molybdenum target combined with DCE-MRI in different types of breast cancer[J]. Oncol Lett, 2019, 18(4): 4056-4063.
  - [3] STEPHANIE L B, ANNA G S, JENNIFER G W, et al. DCE-and DW-MRI as early imaging biomarkers of treatment response in a preclinical model of triple negative breast cancer[J]. Nmr in Biomedicine, 2017, 30(11): 54-67.
  - [4] RYU J M, CHOI H J, KIM I, et al. Prevalence and oncologic outcomes of BRCA 1/2 mutations in unselected triple-negative breast cancer patients in Korea[J]. Breast Cancer Res Treat, 2018, 12(10): 154-169.
  - [5] 吴海燕, 何雄斌, 胡玉林, 等. 乳腺癌外周血微转移与乳腺癌转移抑制基因 1 的相关性及临床意义[J]. 中华内分泌外科杂志, 2018, 12(5): 362-367.
  - [6] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国晚期乳腺癌临床诊疗专家共识(2018 版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(9): 703-713.
  - [7] 王殊, 谢菲. 乳腺纤维腺瘤诊治专家共识[J]. 中国实用外科杂志, 2016, 36(7): 752-754.
  - [8] SUBRAMANIAN S, KEATING N L. Delays in breast cancer diagnosis after a state policy limiting medicaid enrollment[J]. Cancer, 2017, 123(17): 3219-3221.
  - [9] HU Y, ZHANG Y, CHENG J. Diagnostic value of molybdenum target combined with DCE-MRI in different types of breast cancer[J]. Oncol Lett, 2019, 18(4): 4056-4063.
  - [10] LI Q, LI L. The diagnostic value of combined detection of genetic markers and serum protein markers on breast cancer[J]. Saudi J Biol Sci, 2019, 26(1): 183-187.
  - [11] JANANI I, PURNA S K. Steering efficacy of nano molybdenum towards cancer; mechanism of action[J]. Biol Trace Elem Res, 2020, 194(1): 121-134.
  - [12] 含笑, 胡茂能, 余梁, 等. 乳腺钼靶摄影中乳腺癌影像学表现和相关肿瘤标志物表达的相关性[J]. 安徽医学 2018, 40(1): 67-69.
  - [13] 阳君. 钼靶和超声及 MRI 对乳腺癌的诊断价值多中心研究及卫生经济学评价[J]. 放射学实践, 2018, 35(6): 579-581.
  - [14] LV X, FENG X, HAO X, et al. Anti-hMAM monoclonal antibodies evaluated in breast and non-breast tissues for differential diagnosis implication[J]. Tumori, 2016, 102(3): 264-278.
  - [15] MARIE-CHRISTINE P, CHARU K, CHARLES J, et al. Transcriptional signature of lymphoblastoid cell lines of BRCA1, BRCA2 and non-BRCA1/2 high risk breast cancer families[J]. Oncotarget, 2017, 8(45): 78691-78712.
  - [16] 李林, 熊有毅, 秦威, 等. 患者血清前列腺特异抗原、细胞角蛋白 19 片段抗原 21-1 联合检测乳腺癌的临床研究[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(8): 1388-1390.
- (收稿日期: 2020-05-10 修回日期: 2020-10-12)
- 
- (上接第 481 页)
- [3] 梁欣, 张国磊, 李敏, 等. HIV-1 新发感染者的带型特征及免疫状况的相关性[J]. 中国热带医学, 2019, 19(3): 205-208.
  - [4] 李仲平, 梁浩坚, 王湜, 等. 2007—2016 年广州地区抗-HIV 阳性无偿献血者人群特征分析[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(11): 1270-1274.
  - [5] 何锐洪, 詹宗伟, 林惠燕, 等. 中山地区 2006—2015 年无偿献血人群人类免疫缺陷病毒感染情况分析[J]. 临床输血与检验, 2017, 19(3): 288-291.
  - [6] 关亮, 林云明, 郑朝晖. 台州市献血人群 HIV 感染者特征及感染途径分析[J]. 中国输血杂志, 2019, 32(9): 937-939.
  - [7] 黄鹂, 林永财, 欧山海. 2008—2017 年厦门地区献血者 HIV 感染情况分析[J]. 中国卫生标准管理, 2018, 9(23): 123-126.
  - [8] 朱绍汶, 胡文佳, 王亚武, 等. 江苏地区无偿献血人群人类免疫缺陷病毒感染趋势调查[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(10): 1311-1312.
  - [9] 温秀明, 邬旭群, 刘永梅, 等. 深圳市志愿无偿献血者 HIV 感染状况分析[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(8): 769-771.
  - [10] 谢思燕, 陈学杰. 917 例 WB 检测 HIV 抗体阳性及不确定结果带型分析[J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24(12): 1189-1191.
  - [11] 魏微. 2015—2016 年辽阳市 HIV-1 抗体阳性者 WB 带型及首次 CD4+T 淋巴细胞检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(5): 619-621.
  - [12] 郑敏娜, 夏建辉, 宁铁林, 等. 蛋白免疫印迹法条带特征与人类免疫缺陷病毒新发感染的相关性[J]. 中华传染病杂志, 2015, 33(4): 206-209.
  - [13] 郭川, 纪琳莹, 吴耀波, 等. 不同临床分期 HIV-1 感染者/AIDS 患者血样的蛋白印迹试验带型分析[J]. 检验医学, 2015, 30(2): 145-148.
- (收稿日期: 2020-07-09 修回日期: 2020-11-12)