

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.08.006

血清 CA153、miR-335 联合检测对早期乳腺癌的诊断价值*

刘冲¹, 李胜¹, 张瑾^{2△}

1. 黄石市妇幼保健院/湖北理工学院附属妇幼保健院医学检验科, 湖北黄石 435000;

2. 武汉市黄陂区人民医院盘龙院区内科, 湖北武汉 430000

摘要:目的 探讨血清糖类抗原 153(CA153)、微小 RNA-335(miR-335)联合检测对早期乳腺癌的诊断价值。方法 选取 2019 年 1 月至 2020 年 12 月在黄石市妇幼保健院(下称该院)病理活检确诊为乳腺癌的 48 例早期乳腺癌患者作为恶性肿瘤组,选取同期该院 48 例病理活检确诊为乳房良性病变患者作为良性肿瘤组,另选取同期该院 48 例女性体检健康者作为健康对照组。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测血清 miR-335 水平,采用免疫化学发光法检测血清 CA153 水平,采用受试者工作特征曲线分析 CA153、miR-335 对早期乳腺癌的诊断价值。结果 恶性肿瘤组血清 CA153 水平明显高于良性肿瘤组和健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。恶性肿瘤组血清 miR-335 水平明显低于良性肿瘤组和健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。不同雌激素受体、临床分期、组织分化程度和病理类型的乳腺癌患者血清 CA153 水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。不同孕激素受体、组织分化程度和病理类型的乳腺癌患者血清 miR-335 水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。血清 CA153、miR-335 联合检测诊断早期乳腺癌的灵敏度、特异度和准确度均高于 CA153、miR-335 单独检测。结论 血清 CA153、miR-335 联合检测可明显提高临床对早期乳腺癌的诊断效能。

关键词: 乳腺癌; 糖类抗原 153; 微小 RNA-335

中图分类号: R446.1; R737.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2023)08-1046-04

The value of combined detection of serum CA153, miR-335 in early screening and diagnosis of breast cancer*LIU Chong¹, LI Sheng¹, ZHANG Jin^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory, Huangshi Maternal and Child Health Care Hospital of Edong Health Care/Maternal and Child Health Care Hospital Maternal and child Health Care Hospital Affiliated to Hubei Institute of Technology, Huangshi, Hubei 435000, China;

2. Department of Internal Medicine, Panlong Hospital of People's Hospital of Huangpi District, Wuhan, Hubei 430000, China

Abstract: Objective To investigate the value of serum carbohydrate antigen 153(CA153) and microRNA-335(miR-335) in the diagnosis of the early breast cancer. **Methods** From January 2019 to December 2020, 48 patients diagnosed with breast cancer in Huangshi Maternal and Child Health Care Hospital were selected as the malignant tumor group, and 48 patients diagnosed with benign breast lesions by biopsy during the same period were selected as the benign tumor group, and 48 healthy female people in the hospital during the same period were selected as the healthy control group. Serum miR-335 level was detected by real-time fluorescent quantitative PCR, serum CA153 level was detected by immunochemiluminometric assays, and the diagnostic value of serum CA153 and miR-335 in breast cancer was analyzed by receiver operation characteristic curve. **Results** The level of CA153 in malignant tumor group was significantly higher than those in benign tumor group and healthy control group ($P < 0.05$). The level of miR-335 in malignant tumor group was significantly lower than those in benign tumor group and healthy control group ($P < 0.05$). There were significant differences in serum CA153 levels of breast cancer patients with different estrogen receptor, clinicopathological staging, tumor invasion and TNM stages ($P < 0.05$). The expression level of serum miR-335 of breast cancer patients with different progesterone receptor, degree of tissue differentiation, tumor invasion and TNM stages were significantly different ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of CA153 combined with miR-335 in the diagnosis of early breast cancer were higher than those CA153 and miR-335 alone. **Conclusion** Combined detection of serum CA153 and miR-335 can significantly improve the clinical efficiency of early di-

* 基金项目: 湖北省卫生健康科研基金项目(WJ2019H203); 湖北省黄石市妇幼保健院院级科研项目(HSMCHH2022003)。

作者简介: 刘冲, 男, 主管技师, 主要从事肿瘤分子诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail: 281891762@qq.com。

agnosis of breast cancer.

Key words: breast cancer; carbohydrate antigen 153; microRNA-335

乳腺癌是一种高发于女性的恶性肿瘤,我国近年来发病率呈升高趋势,其病死率逐年增高^[1]。70%的乳腺癌在晚期才被发现,而晚期乳腺癌一般伴有淋巴结和血液转移,晚期乳腺癌患者预后较差^[2]。提高早期乳腺癌的检出率对改善患者预后、提高患者生存率有重要意义。糖类抗原 153(CA153)是一种重要的肿瘤标志物,临床常用来诊断和监测乳腺癌的发生和发展,但 CA153 水平在肺癌、结肠癌、胰腺癌、肝癌等癌症中也表现为不同程度的增高^[3]。微小 RNA(miRNA)是一种长度约为 22 个核苷酸组成的内源性非编码单链小分子 RNA,miRNA 作用于 mRNA 的 3' UTR 端,可引起 mRNA 翻译抑制或者降解,与多种肿瘤相关^[4]。有研究表明,miR-335 在乳腺癌、胃癌等多种癌细胞中表达下调,miR-335 可以抑制乳腺细胞的侵袭和转移^[5]。目前,关于 CA153、miR-335 联合检测诊断早期乳腺癌的相关研究较少,本研究通过检测血清 CA153、miR-335 水平,探讨二者诊断早期乳腺癌的价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2020 年 12 月在黄石市妇幼保健院(下称本院)病理活检确诊为乳腺癌的 48 例早期乳腺癌患者作为恶性肿瘤组,年龄 31~82 岁,平均(54.28±5.85)岁;术后 TNM 分期:Ⅰ期 11 例,Ⅱ期 14 例,Ⅲ期 19 例,Ⅳ期 4 例。纳入标准:(1)经影像学检查和病理活检确诊为乳腺癌;(2)年龄≥31 岁;(3)临床病历资料完整。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤患者;(2)伴有脏器严重功能障碍患者;(3)存在交流障碍或者精神疾病患者。选取同期本院收治的 48 例病理活检确诊为乳腺纤维腺瘤、囊性增生及乳头状瘤患者作为良性肿瘤组,年龄 29~76 岁,平均(52.65±5.48)岁。选取同期本院 48 例女性体检健康者作为健康对照组,年龄 29~74 岁,平均(53.86±5.74)岁。3 组研究对象年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有研究对象均知情同意并签署知情同意书,本研究经本院伦理委员会审核批准。

1.2 仪器与试剂 血清 CA153 检测采用美国贝克曼 DXI800 免疫化学发光法及配套试剂,设备试剂三证齐全;RNA 提取试剂盒购自 Invitrogen 公司,SYBR Green 荧光染料试剂盒购自瑞士罗氏公司,引物由上海生物工程有限公司设计、合成。

1.3 方法

1.3.1 血清分离及保存 所有研究对象抽取清晨空腹静脉血 4 mL,室温静置 30 min,以 2 500 r/min 离心 15 min 后分离血清,分离后的血清置于-70℃低温冰箱保存备用,所有标本均无脂血、溶血及黄疸现象。

1.3.2 血清 CA153 检测 血清 CA153 水平检测采用免疫化学发光法,严格按照贝克曼设备及试剂说明

书执行。

1.3.3 血清 miR-335 检测 采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测 miR-335 水平,按照 Trizol 试剂盒说明书方法提取细胞总 RNA,按照 Invitrogen 公司试剂盒说明书进行反转录,反应产物进行反转录 RT-PCR 扩增。miR-335 扩增引物:上游 5'-AGC-CGTCAAGAGCAATAACGAA-3',下游 5'-GTG-CAGGGTCCGAGGT-3';U6 扩增引物:上游 5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3',下游 5'-AACGCT-TCACGAATTTGCGT-3'。反应体系:SYBR Taq II 10 μL,ROX Dye II 0.4 μL,U6 引物 1.6 μL,cDNA 2 μL,RNase Free H₂O 6 μL;反应条件:95℃ 10 min 变性,95℃ 10 s,60℃ 20 s,72℃ 30 s,累计反应 40 个循环。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析血清 CA153、miR-335 对早期乳腺癌的诊断效能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 CA153、miR-335 水平比较 良性肿瘤组与健康对照组血清 CA153、miR-335 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);恶性肿瘤组血清 CA153 水平明显高于良性肿瘤组和健康对照组,血清 miR-335 水平明显低于良性肿瘤组和健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 健康对照组、良性肿瘤组和恶性肿瘤组血清 CA153、miR-335 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CA153(ng/mL)	miR-335(fmol/L)
健康对照组	48	2.81±0.79	15.76±4.29
良性肿瘤组	48	3.05±0.89	14.69±4.05
恶性肿瘤组	48	15.34±4.82*	8.83±1.72*
t_1		1.324	1.472
P_1		0.308	0.235
t_2		5.973	2.849
P_2		<0.001	0.010

注: t_1 、 P_1 为良性肿瘤组与健康对照组比较; t_2 、 P_2 为恶性肿瘤组与良性肿瘤组比较;与良性肿瘤组和健康对照组比较,* $P<0.05$ 。

2.2 不同临床病理特征乳腺癌患者血清 CA153、miR-335 水平 不同雌激素受体(ER)、临床分期、组织分化程度和病理类型的乳腺癌患者血清 CA153 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);不同孕激素受体(PR)、组织分化程度和病理类型的乳腺癌患者血清 miR-335 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 血清 CA153、miR-335 单项及联合检测对早期乳腺癌诊断的 ROC 曲线分析 分别绘制血清 CA153、miR-335 单项对早期乳腺癌诊断的 ROC 曲线,经多因素 Logistic 回归分析得出联合预测因子,建立的模型为:联合预测因子=25.602-1.013 X_{CA153} -1.022 $X_{miR-335}$,绘制二者联合检测诊断的 ROC 曲线,CA153、miR-335 单项及二者联合检测诊断的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.748、0.819、0.889;血清 CA153、miR-335 联合检测诊断早期乳腺癌的灵敏度、特异度和准确度与 CA153 单项检测比较,联合检测的诊断效能明显高于 CA153 单项检测,差异有统计学意义($\chi^2=5.315、5.147、10.197, P<0.05$);血清 CA153、miR-335 联合检测诊断早期乳腺癌的灵敏度、特异度和准确度与 miR-335 单项检测比较,联合检测的诊断效能明显高于 miR-335 单项检测,差异有统计学意义($\chi^2=6.316、9.299、14.594, P<0.05$)。

见表 3、图 1。

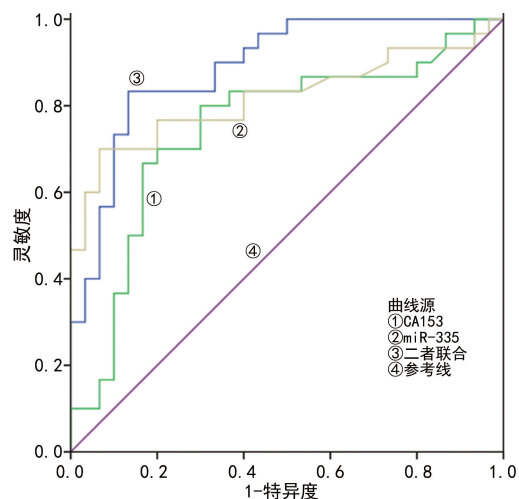


图 1 血清 CA153、miR-335 单项或联合检测诊断早期乳腺癌的 ROC 曲线

表 2 不同临床病理特征乳腺癌患者血清 CA153、miR-335 水平比较($\bar{x} \pm s$)

参数	n	CA153(ng/mL)	t_1	P_1	miR-335(fmol/L)	t_2	P_2
年龄(岁)			0.649	0.489		1.193	0.249
≤45	22	14.92±4.38			8.76±1.54		
>45	26	16.29±4.32			8.93±1.24		
ER			4.973	<0.001		0.977	0.353
阳性	35	13.89±4.55			8.494±1.62		
阴性	13	17.29±1.93			8.216±1.71		
PR			0.701	0.482		3.018	0.001
阳性	33	15.28±4.09			7.79±1.33		
阴性	15	15.89±3.76			9.68±1.57		
HER2			0.415	0.631		1.279	0.219
阳性	31	15.33±4.61			8.19±1.92		
阴性	17	15.57±4.24			8.26±1.88		
肿瘤最大径(cm)			0.857	0.406		1.195	0.294
≤2	28	14.88±4.71			8.35±1.49		
>2	20	15.69±4.62			8.41±1.42		
临床分期			5.229	<0.001		1.884	0.093
I、II期	25	12.73±3.05			8.43±1.62		
III、IV期	23	17.24±2.97			8.29±1.71		
组织分化程度			3.357	0.001		5.229	<0.001
高、中分化	36	13.76±2.51			6.99±1.61		
低分化	12	17.03±2.97			9.55±1.36		
病理类型			4.283	<0.001		5.108	<0.001
浸润性癌	29	16.82±2.99			6.65±1.84		
非浸润性癌	19	13.15±3.04			9.59±1.43		

注:HER2 为人表皮生长因子受体 2; $t_1、P_1$ 为不同临床病理特征乳腺癌患者 CA153 水平比较; $t_2、P_2$ 为不同临床病理特征乳腺癌患者 miR-335 水平比较。

表 3 血清 CA153、miR-335 单项及联合检测对乳腺癌的诊断效能

指标	AUC	标准差	P	95%CI	临界值	灵敏度(%)	特异度(%)	准确度(%)
CA153	0.748	0.041	0.036	0.618~0.879	12.03 ng/mL	70.83	76.04	74.31
miR-335	0.819	0.037	0.024	0.705~0.933	6.83 fmol/L	68.75	70.83	70.83
二者联合	0.889	0.052	0.011	0.807~0.970	—	89.58	88.54	88.89

注:—表示无数据。

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,高发于 40~60 岁更年期前后的女性,流行病学调查结果显

示,全球女性乳腺癌发病率为 24.2%^[6]。乳腺癌的发病原因尚不明确,可能与体内多个癌基因的缺失或活化、更年期激素变化、环境因素等相关^[7]。目前诊断

乳腺癌主要包括实验室生化指标、影像学、病理学检查等综合手段,其中早期乳腺癌的发现主要依赖于血清肿瘤标志物和影像学检查,但是影像学筛查早期乳腺癌存在一定的局限性,不但难以发现乳腺微小肿块,还极易产生误诊和漏诊^[8],目前更倾向于寻找一种或多种血清学标志物来诊断早期乳腺癌。CA153 自 20 世纪 90 年代开始应用于乳腺癌的诊断,作为一种可靠的血清学标志物用于临床乳腺癌筛查,但是血清 CA153 水平明显升高,往往提示乳腺癌已经进入中晚期^[9-10],因此,CA153 单独用来诊断早期乳腺癌仍存在灵敏度不高的缺陷。miRNA 参与调节体内多种生理、病理过程及体内多种基因的表达,通过抑制或促进癌基因表达来影响肿瘤的发生和发展^[11]。同时,miRNA 在血清中的水平稳定且易于检测,可与传统血清糖类肿瘤标志物一起诊断早期肿瘤来提高其诊断效能。

本研究结果显示,早期乳腺癌患者 CA153 水平升高,且与 ER、临床分期、组织分化程度和病理类型均相关,提示 CA153 不但可以用来诊断早期乳腺癌,还可以用来判断肿瘤的严重程度。有研究报道,CA153 对中、晚期乳腺癌诊断的灵敏度 > 65%,除用于筛查乳腺癌发病外,更多用来监测乳腺癌的病情进展、预后、复发^[12]。本研究结果显示,CA153 单独诊断早期乳腺癌,其灵敏度为 70.83%,特异度为 76.04%,准确度只有 74.31%,这样的诊断效能对于发现和诊断早期乳腺癌的能力远远不足。miR-335 定位于 7q32 的 MEST 基因内含子区域,在体内多个组织中广泛表达^[13],miR-335 在包括乳腺癌等多种肿瘤患者血清中表达下调,在体外培养的非小细胞肺癌细胞株中,miR-335 可通过下调生存素的表达抑制肿瘤细胞的体外侵袭能力^[14]。考虑到 miR-335 水平在肿瘤患者血清中呈低表达的特点,本研究选取其作为研究指标之一,研究结果显示,血清 miR-335 水平与 PR、组织分化程度和病理类型均有关,诊断乳腺癌的灵敏度为 68.75%,特异度为 70.83%,准确度为 70.83%,其诊断效能略低于 CA153。但 CA153、miR-335 联合检测用于乳腺癌的诊断效能明显高于单项检测,分析原因可能是不论是 CA153 还是 miR-335,均不是乳腺癌的特征性指标,在其他类型肿瘤中均可以检测到异常表达的 CA153 和 miR-335,但二者联合检测可以作为诊断早期乳腺癌的血清学指标来提高早期乳腺癌的筛查阳性率。

综上所述,早期乳腺癌患者血清 CA153 水平升高,而血清 miR-335 水平降低。血清 CA153 水平与 ER、临床分期、组织分化程度和病理类型均相关;血清 miR-335 水平与 PR、组织分化程度和病理类型均相关。CA153、miR-335 联合检测可提高临床对早期

乳腺癌的诊断效能。

参考文献

- [1] 曹毛毛,陈万青. GLOBOCAN 2020 全球癌症统计数据解读[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版),2021,13(3):63-69.
- [2] 万军. 血清肿瘤标志物 CA153、CA125、CEA 和 HER-2 联合检测在乳腺癌诊断中的价值[J]. 现代检验医学杂志,2018,33(6):125-127.
- [3] WANG W, XU X, TIAN B, et al. The diagnostic value of serum tumor markers CEA, CA19-9, CA125, CA15-3, and TPS in metastatic breast cancer [J]. Clin Chim Acta, 2017,470:51-55.
- [4] EMAMI S S, NEKOUIAN R, AKBARI A, et al. Evaluation of circulating miR-21 and miR-222 as diagnostic biomarkers for gastric cancer [J]. Cancer Res Ther, 2019,15(1):115-119.
- [5] HAO J, LAI M, LIU C. Expression of miR-335 in triple-negative breast cancer and its effect on chemosensitivity [J]. BUON, 2019,24(4):1526-1531.
- [6] 张雪,董晓平,管雅喆,等. 女性乳腺癌流行病学趋势及危险因素研究进展[J]. 肿瘤防治研究,2021,48(1):87-92.
- [7] COUGHLIN S S. Social determinants of breast cancer risk, stage, and survival [J]. Breast Cancer Res Treat, 2019,177(3):537-548.
- [8] JAFARI S H, SAADATPOUR Z, SALMANINEJAD A, et al. Breast cancer diagnosis: imaging techniques and biochemical markers [J]. J Cell Physiol, 2018,233(7):5200-5213.
- [9] LI X, XU Y, ZHANG L. Serum CA153 as biomarker for cancer and noncancer diseases [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2019,162:265-276.
- [10] FAN Y, CHEN X, LI H. Clinical value of serum biomarkers CA153, CEA, and white blood cells in predicting sentinel lymph node metastasis of breast cancer [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2020,13(11):2889-2894.
- [11] CORREIA D E, SOUSA M, GJORGJIEVA M, et al. Deciphering miRNAs' action through mirna editing [J]. Int J Mol Sci, 2019,20(24):6249.
- [12] 吴琳,秦峰. ProGRP 联合 CEA 和 CA153 在乳腺癌患者血清中的表达及其临床诊断价值 [J]. 检验医学与临床, 2021,18(23):3387-3390.
- [13] YE L, WANG F, WU H, et al. Functions and targets of miR-335 in cancer [J]. Onco Targets Ther, 2021,14:3335-3349.
- [14] ZHAO W, CHEN T, ZHAO Y. Upregulated lncRNA CASC9 contributes to progression of non-small cell lung cancer through inhibition of miR-335-3p and activation S100A14 expression [J]. Onco Targets Ther, 2020,13:6027-6036.