

• 临床检验研究论著 •

乳腺癌外周血 SBEM 和 hMAM 联合检测的临床意义^{*}

田 英¹, 姜专基^{2△}, 司晓枫¹, 刘鸿雁³

(甘肃省肿瘤医院:1. 检验科;2. 乳腺科, 甘肃兰州 730050;3. 甘肃奇正藏药有限公司研发部, 甘肃兰州 730000)

摘 要:目的 探讨乳腺癌患者外周血乳腺小粘蛋白(SBEM)及人乳腺珠蛋白(hMAM)的表达及临床意义。方法 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)定量检测 68 例乳腺癌患者及 20 例乳腺纤维腺瘤患者及 20 例健康志愿者术前血清 SBEM 和 hMAM 的水平。结果 乳腺癌组术前血清 SBEM 和 hMAM 水平均高于纤维腺瘤组和健康对照组(P 均 <0.01)。有淋巴结转移的乳腺癌患者血清中 SBEM 和 hMAM 水平明显高于无淋巴结转移者, 差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。Ⅲ期患者血清 SBEM 和 hMAM 水平显著高于Ⅰ+Ⅱ期患者(P 均小于 0.01)。结论 SBEM 及 hMAM 特异性表达于乳腺癌外周血, 有可能作为检测乳腺癌外周血微转移的标志物, 有望成为判断乳腺癌患者病情发展和预后的新指标。

关键词: 乳腺肿瘤; 乳腺小粘蛋白; 人乳腺珠蛋白; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)16-1921-02

Detection of SBEM and hMAM in peripheral blood from patients with breast cancer and its clinical significance^{*}

Tian Ying¹, Jiang Zhuangji^{2△}, Si Xiaofeng¹, Liu Hongyan³

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Galactophore, the Tumor Hospital of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730050, China; 3. Department of Research and Development, Gansu Qizheng Tibetan, Pharmaceutical Joint Stock Co. Ltd, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Objective To explore the levels of small breast epithelial mucin(SBEM) and human mammaglobin(hMAM) in peripheral blood from patients with breast cancer and their clinical significance. **Methods** The levels of SBEM and hMAM in serum from 68 patients with breast cancer, 20 patients with mammary fibroadenoma and 20 volunteers were detected by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). **Results** Compared with breast fibroadenoma group and volunteer group, the levels of serum SBEM and hMAM in breast cancer group were much higher($P<0.01$). The levels of serum SBEM and hMAM of patients with lymph node positive were significantly higher than those in the other patients($P<0.05$). The levels of patients in stage Ⅲ were also significantly higher than those in stage Ⅰ and stage Ⅱ($P<0.01$). **Conclusion** SBEM and hMAM are specifically expressed in peripheral blood of breast cancer patients, and each of them may be marker of micrometastasis of breast cancer. They may be used as new biological indexes for judging progression and prognosis of mammary carcinoma.

Key words: breast neoplasms; small breast epithelial mucin; human mammaglobin; enzyme-linked immunosorbent assay

乳腺癌是女性最常见恶性肿瘤,其发病率近年来已跃居我国女性恶性肿瘤首位,其中大约有 30% 的患者最终发生远处转移^[1-2]。部分乳腺癌早期即可发生微转移,血液循环中的肿瘤细胞是导致乳腺癌血道播散和复发的重要原因之一^[3]。因此,早期外周血微转移的检测对指导乳腺癌临床治疗和判断预后具有重要意义。甘肃省肿瘤医院采用 ELISA 法检测乳腺癌患者外周血中乳腺小粘蛋白(SBEM)及人乳腺珠蛋白(hMAM)的血清水平,探讨二者联合检测在乳腺癌微转移中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 3~12 月在甘肃省肿瘤医院乳腺科经病理确诊为乳腺癌并行手术治疗的患者为研究对象。其中乳腺癌组 68 例,患者均为女性,年龄 26~77 岁,平均年龄 52.3 岁,中位年龄 48.5 岁。按照 UICC 2003 年制订的乳腺癌 TNM 分期标准:Ⅰ期 10 例,Ⅱ期 42 例,Ⅲ期 16 例。同时设立术后病理确诊的乳腺纤维腺瘤组(20 例)和健康对照组(20 例)($P>0.05$),3 组患者年龄组间比较差异无统计学意义,所有患者均无肝功能异常及免疫系统疾病,术前未接受过放、化疗或生物治疗等干预措施。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 3 组均抽取空腹静脉血 3 mL 于真空采血管内,于采集后 30 min 内以 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清,−80 ℃冰箱保存待测。

1.2.2 实验方法 待测标本均采用 ELISA 法测定,试剂盒购自上海拜力生物科技有限公司(美国进口分装),检测步骤严格按试剂盒说明书进行。洗板机为美国 Rayto RT-3000 型,ELISA 分析数据由美国 Rayto RT-6000 型全自动酶标仪读取。SBEM 及 hMAM 单位为 ng/mL。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件数进行据处理,测量结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组术前血清 SBEM 和 hMAM 水平比较 乳腺癌组术前 SBEM 水平高于纤维腺瘤组和健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$);乳腺癌组术前 hMAM 水平高于纤维腺瘤组,亦高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

2.2 乳腺癌患者术前血清 SBEM 和 hMAM 水平与病理特征的关系 淋巴结阳性组患者 SBEM 和 hMAM 水平显著高于

^{*} 基金项目:兰州市科技局社会发展基金资助项目(编号:2011-2-36)。 [△] 通讯作者, E-mail:jiangzhuangji@163.com。

淋巴结阴性组患者;Ⅲ期患者 SBEM 和 hMAM 水平显著高于 I、Ⅱ期患者水平,差异均有统计学意义(P 均小于 0.01);SBEM 和 hMAM 水平在不同病理学分级之间无显著性差异($P>0.05$),见表 2。

表 1 3 组术前血清 SBEM 和 hMAM 水平比较			
组别	<i>n</i>	SBEM	hMAM
纤维腺瘤组	20	21.34±5.87	22.82±5.05
健康对照组	20	19.61±5.20	21.97±4.95
乳腺癌组	68	47.39±18.65	39.29±4.95

表 2 血清 SBEM 和 hMAM 水平和临床指数之间的关系			
临床指数	<i>n</i>	SBEM	hMAM
TNM 分期			
I + Ⅱ	52	42.39±16.23	35.78±13.26
Ⅲ	16	63.66±17.02	50.72±14.43
病理学分级			
G ₁	14	45.44±17.87	36.92±13.29
G ₂	38	44.95±18.04	37.20±13.83
G ₃	16	54.90±19.89	46.32±17.16
淋巴结状况			
—	33	34.67±11.47	29.93±8.57
+	35	59.39±16.01	48.12±14.20

3 讨 论

SBEM 又称为 BS106 或 B511S,是一种由 SBEM-mRNA 编码的 90 个氨基酸组成的低相对分子质量的唾液酸糖蛋白。其编码基因位于染色体 12q13.2 上,具有 1 个分泌肽链和 3 条 8 肽前后序列重复的疏水核心。其具体结构和功能及其在乳腺癌发生、发展过程中的作用目前不是十分清楚。由 Richard 等^[4]于 2002 年首次在癌症研究杂志上报道,他们利用公共序列表达的同位素标记技术和基因表达分析数据库筛选分离得到 SBEM-mRNA,证明 SBEM-mRNA 仅在乳腺和唾液腺组织中表达,而在前列腺、肺、卵巢、睾丸等组织不表达,与 CEA、CK-19、MUC-1 等肿瘤标志物相比具有乳腺组织特异性,可用于乳腺癌微转移的检测,可作为临床早期诊断乳腺癌生物学标志物。

hMAM 由 Waston 和 Fleming^[5]于 1996 年首次报道,其为一个相对分子质量为 10×10^3 的分泌差异型表达蛋白。其基因位于染色体 11q12.3~13.1 的密集区,该蛋白的氨基酸序列与子宫珠蛋白超家族同源,是 93 个氨基酸构成的多肽,属于子宫珠蛋白家族中的乳腺特异性成员,它的功能目前仍不明确^[6]。国内外研究报道,hMAM 几乎只在乳腺上皮细胞和乳腺癌组织中过度表达,其他肿瘤如:肠癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、恶性黑色素瘤等不表达。Jiang 等^[7]用 cDNA 消减和基因芯片技术证实,hMAM 是乳腺癌敏感、特异性高表达基因。hMAM 的组织特异性表达以及分泌性蛋白的特点使其在乳腺癌临床应用中具有较高的潜在价值。此外,Jonine 等^[8]研究发现人类血清中不存在其他可干扰 ELISA 方法检测 hMAM 的蛋白,且样本采集后不同时间段的检测水平之间无显著性差异,在-20℃条件下,储存时间大于 1 年的标本检测结果显示仍然没有显著性差异的检验结果改变,提示 hMAM 蛋白水平稳定,受储藏条件和检测时间影响较小。

本实验结果显示,SBEM、hMAM 在乳腺癌和纤维腺瘤组、健康对照组之间差异有统计学意义($P<0.01$);且淋巴结阳性组乳腺癌患者血清中 SBEM、hMAM 水平明显高于淋巴结阴性组患者,随临床分期增加血清 SBEM、hMAM 水平有升高之

趋势,这提示 SBEM、hMAM 血清水平可能与乳腺癌具有一定关系,且表达水平越高,提示发生血道播散或微转移的风险越高。这与国内学者研究结果吻合^[9-10]。此外,SBEM 和 hMAM 水平在病理学分级亚组分析中显示无显著性差异($P>0.05$),这与 Gillander 等^[11]研究结果不一致,该结果可能与样本含量较小和最初研究目标不同有关,Gillander 样本含量为 489 例,且其研究目标为腋窝淋巴结。

综上所述,SBEM、hMAM 有可能与乳腺肿瘤发展、转移有关,作为乳腺癌外周血微转移的检测指标,其具有高度特异性,对于乳腺癌的诊断、治疗及术后随访具有积极的作用。其外周血水平在一定程度上能够反映临床病期,对进一步指导治疗、判断预后有重要意义,但对于其表达调控机制尚不十分清楚,有待进一步研究。

参考文献

[1] Ignatiadis M,Kallergi G,Ntoulia M,et al. Prognostic value of the molecular detection of circulating tumor cells using a multimarker RT-PCR assay for cytokeratin 19,mammaglobin A,and HER2 in early breast cancer[J]. Clin Cancer Res,2008,14(9):2593-2600.

[2] 章涤,黄艳春. EGFR 和 SBEM 联合检测在乳腺癌外周血微转移中的意义[J]. 新疆医科大学学报,2009,32(3):315-317.

[3] Reinholz MM,Nibbe A,Jonart LM,et al. valuation of a panel of tumor markers for molecular detection of circulating cancer cells in women with suspected breast cancer[J]. Clin Cancer Res,2005,11(10):3722-3732.

[4] Miksicek RJ,Myal Y,Watson PH,et al. Identification of a novel breast and salivary gland-specific, mucin-like gene strongly expressed in normal and tumor human mammary epithelium[J]. Cancer Res,2002,62(10):2736-2740.

[5] Watson MA,Fleming TP. Mammaglobin, a mammary-specific member of the uteroglobin gene family, is overexpressed in human breast cancer[J]. Cancer Res,1996,56(15):860-865.

[6] Gargano G,Agnese V,Calo V,et al. Detection and quantification of mammaglobin in the blood of breast cancer patients; can it be useful as a potential clinical marker Preliminary results of a GOIM (Gruppo Oncologico dell' Italia Meridionale) prospective study [J]. Ann Oncol,2006,17(7):41-45.

[7] Jiang Y,Harlocker SL,Molesh DA,et al. Discovery of differentially expressed genes in human breast cancer using subtracted cDNA libraries and cDNA microarrays [J]. Oncogene, 2002, 21 (14): 2270-2282.

[8] Bernstein JL,Godbold JH,Raptis G,et al. Identification of mam-maglobin as a novel serum marker for breast cancer[J]. Clin Cancer Res,2005,11(18):6528-6535.

[9] Yang HW,Yang NW,Cao J,et al. Detection of SBEM-mRNA in peripheral blood of patients with breast cancer and its clinical significance[J]. Chin J Cancer Res,2006,18(4):294-298.

[10] 仲雷,张建国,郭宝良,等. 乳腺小黏蛋白在检测乳腺癌患者外周血微转移中的意义[J]. 中华乳腺病杂志(电子版),2008,2(1):40-47.

[11] Gillanders WE,Mikhitarian K,Hebert R,et al. Molecular detec-tion of micrometastatic breast cancer in histopathology-negative axillary lymph nodes correlates with traditional predictors of prognosis;an interim analysis of a prospective multi-institutional cohort study[J]. Ann Surg,2004,239(6):828-837.