

• 论 著 •

联合检测血清 HE4 和 CA153 对乳腺癌早期诊断的价值

陈 慧¹, 陈光辉¹, 梁映亮¹, 徐灼均¹, 王万党¹, 曾今诚²

(1. 南方医科大学附属小榄医院, 广东中山 528400; 2. 广东医学院东莞科研中心, 广东东莞 523808)

摘要:目的 探讨联合检测血清人附睾分泌蛋白 4(HE4)与糖类抗原 153(CA153)在乳腺癌早期诊断中的应用价值。方法 收集乳腺癌患者 40 例, 乳腺良性疾病患者 50 例及体检健康者 30 例, 采用免疫组化法检测组织中 HE4 的表达, 采用化学发光法检测血清 CA153 和 HE4 的表达水平, 并分析比较血清 CA153 和 HE4 单项或联合检测对女性乳腺癌的诊断价值。结果 乳腺癌组织 HE4 高表达率明显高于乳腺良性肿瘤组织($P < 0.05$), 乳腺癌患者血清 HE4 和 CA153 水平均明显高于乳腺良性疾病患者和体检健康者($P < 0.05$), 同时乳腺癌患者血清 HE4 与 CA153 呈正相关($P < 0.05$)。血清 HE4 和 CA153 单一指标检测乳腺癌的检出率分别为 85.0%、65.7%; 而两者联合检测的检出率高达 92.5%, 明显高于单项检测。结论 血清 HE4 对乳腺癌的早期诊断具有参考价值, 同时联合血清 CA153 检测能提高乳腺癌的检出率, 可成为乳腺癌筛查和早期诊断的可靠模式。

关键词: 乳腺癌; 人附睾分泌蛋白 4; 糖类抗原 153

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.039

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)13-1893-03

The value of serum HE4 and CA153 in the early diagnosis of breast cancer

Chen Hui¹, Chen Guanghui¹, Liang Yingliang¹, Xu Zhuojun¹, Wang Wandang¹, Zeng Jincheng²

(1. Xiaolan Affiliated Hospital to Nanfang Medical University, Zhongshan, Guangdong 528400, China; 2. Dongguan Scientific Research Center, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China)

Abstract: Objective To explore the application value of combined detection of serum human epididymis protein 4(HE4) and carbohydrate antigen 153(CA153) in the early diagnosis of breast cancer. Methods 40 cases of patients with breast cancer, 50 cases of patients with benign breast disease and 30 cases of healthy individuals were collected. The tissues HE4 expression was detected by using immunohistochemical staining, the serum levels of CA153 and HE4 were detected by using chemiluminescence. The diagnostic values of single detection of serum HE4 and CA153 or combined detection of the two indicators for female patients with breast cancer were analyzed. Results The rate of high expression of HE4 in breast cancer tissues was significantly higher than that in benign breast disease tissues ($P < 0.05$), serum levels of HE4 and CA153 in patients with breast cancer were significantly higher than those in patients with benign breast disease and healthy individuals ($P < 0.05$), and serum level of HE4 was positively correlated with serum level of CA153 in patients with breast cancer ($P < 0.05$). The positive rate of combined detection of serum CA153 and HE4 (92.5%) was higher than that of single detection of CA153 (65.7%) and single detection of HE4 (85.0%). Conclusion Serum HE4 has a reference value for the early diagnosis of patients with breast cancer, meanwhile combing with CA153 can increase detection rate, which could be an appropriate model in the screening and early diagnosis of breast cancer.

Key words: breast cancer; human epididymis protein 4; carbohydrate antigen 153

乳腺癌是女性常见和多发的恶性肿瘤之一, 据统计全球每年约 458 400 人死于乳腺癌, 占恶性肿瘤死亡病例的 14%^[1], 近年来其发病率呈现上升趋势, 且趋于年轻化^[2], 严重威胁女性健康。乳腺癌的及早诊断对临床治疗和预后具有重要意义。目前, 乳腺癌检查主要依赖于乳房 X 射线检查, 然而这种方法存在极大的局限性。一方面, X 射线具有潜在的致癌性, 另一方面, X 射线检查辨识度需要肿瘤大小在几毫米以上^[3]。因此, 寻找新的乳腺癌早期诊断方法依旧是当前乳腺癌防治过程中的重要课题。糖类抗原 153(CA153)是一种表达在乳腺癌细胞的相关抗原, 在大多数乳腺癌的恶化过程中存在极高表达, 其在乳腺癌早期诊断中具有重要价值^[4]。前期研究中, 笔者所在课题组发现血清 CA153 与糖类抗原 125(CA125)、癌胚抗原(CEA)和糖类抗原 19-9(CA19-9)联合检测能提高乳腺癌的诊断率, 其联合检出率约 70%^[5]。然而, 4 种肿瘤标志物联合检测乳腺癌的检出率和特异度还不够理想。近年来, 研究发现人附睾蛋白 4(HE4)在人正常组织及乳腺上皮细胞均有表达, 且在乳腺癌组织有较高水平表达, 这表明 HE4 有可能成为乳腺癌诊断的肿瘤标志物^[6]。为探讨 HE4 及 HE4 联合

CA153 检测能否提高乳腺癌的检出率, 本研究通过收集不同乳腺疾病患者标本, 判断 HE4 及 HE4 联合 CA153 检测对乳腺癌诊断的价值, 为乳腺癌的早期诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2013 年 12 月南方医科大学附属小榄医院收治的经病理确诊的女性乳腺疾病患者 90 例: 其中乳腺癌 40 例(乳腺癌组), 年龄 28~57 岁, 平均(40.7±3.4)岁; 乳腺良性疾病 50 例, 年龄 25~55 岁, 平均(39.5±4.4)岁, 其中良性肿瘤 25 例(乳腺良性肿瘤组), 乳腺增生 15 例(乳腺增生组), 乳腺炎 10 例(乳腺炎组)。另选取 30 例女性体检健康者作为健康对照组, 年龄 23~50 岁, 平均(39.7±5.2)岁。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测 90 例乳腺疾病组织经石蜡包埋, 切片后采用链霉菌抗生素蛋白—一过氧化物酶连接法(SP 法)检测组织 HE4 蛋白的表达情况。羊抗人 HE4 抗体(1:400 稀释)购自美国 Santa Cruz 公司; 二抗、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒购自福州迈新生物公司。检测步骤参见试剂盒操作说明进行。所有切片均采用双盲法, 由 2 名有经验的

病理医师分别阅片。免疫组织化学结果判断如下:组织细胞胞质内出现棕黄色颗粒或团块为 HE4 阳性,无特异性染色为阴性。判读采用二级计分法,染色强度计分标准:不着色为 0 分,淡黄色为 1 分,黄色或深黄色为 2 分,黄褐色或棕褐色为 3 分。阳性细胞范围计分标准:无阳性细胞为 0 分,阳性细胞小于或等于 25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,大于 50% 为 3 分。将上述两项得分的乘积作为最终结果,以累积积分大于或等于 3 分为高表达,否则视为低表达。

1.2.2 血清 HE4 和 CA153 检测 所有研究对象均抽取清晨空腹静脉血 3 mL,待血凝固后分离血清,采用电化学发光免疫检测法检测血清 HE4 和 CA153 水平。使用仪器为 Cobase601 型全自动电化学发光免疫分析系统,试剂、校准品、质控品均为原装产品。检测结果以血清 CA153 水平大于 25 U/mL 作为阳性判断标准,血清 HE4 水平大于 140 pmol/L 为阳性判断标准。以上所有操作步骤严格按照说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 Graphpad prism 5 进行统计分析,计数资料采用百分率进行描述并行 χ^2 检验;计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述行 *t* 检验,相关性分析采用 Pearson 相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 组织 HE4 表达比较 HE4 在不同乳腺疾病乳腺组织中的表达呈现明显差异。乳腺癌组织中 HE4 高表达率为 87.5% (35/40),乳腺良性组织中 HE 高表达率为 20.0% (10/50),两者比较差异有统计学意义($\chi^2 = 40.5, P < 0.05$)。乳腺良性肿瘤组织中 HE4 高表达率为 28.0% (7/25),乳腺增生组织中 HE4 高表达率为 20.0% (3/15),乳腺炎组织中 HE4 高表达率为 0.0% (0/10),各组之间 HE4 表达率差异无统计学意义($P > 0.05$)。乳腺癌组织 HE4 高表达率高于乳腺良性肿瘤组织,两组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 23.82, P < 0.05$)。

2.2 血清 HE4 比较 不同乳腺疾病患者血清 HE4 和 CA153 水平也存在明显差异。乳腺癌患者血清 HE4 水平[(170.90 ± 13.59) pmol/L]高于乳腺良性疾病患者[(74.96 ± 4.89) pmol/L]和体检健康者[(51.37 ± 3.70) pmol/L],且乳腺良性疾病患者高于体检健康者,差异均有统计学意义(*t* 值分别为 6.735、7.451、3.973, $P < 0.05$)。乳腺良性疾病患者中,乳腺良性肿瘤患者血清 HE4 水平高于乳腺增生患者和乳腺炎患者,差异均有统计学意义(*t* 值分别为 3.186、2.721, $P < 0.05$)。乳腺增生患者、乳腺炎患者及体检健康者间血清 HE4 水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 血清 CA153 水平比较 乳腺癌患者血清 CA153 水平[(29.10 ± 1.36) U/mL]高于乳腺良性疾病患者[(19.43 ± 0.61) U/mL]和体检健康者[(16.99 ± 0.79) U/mL],且乳腺良性疾病患者高于体检健康者,差异均有统计学意义(*t* 值分别为 6.559、7.090、2.479, $P < 0.05$)。乳腺良性疾病患者中,乳腺良性肿瘤患者血清 CA153 水平高于体检健康者,差异有统计学意义(*t* = 3.737, $P < 0.05$)。乳腺良性肿瘤患者、乳腺增生患者和乳腺炎患者间血清 CA153 水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.4 血清 HE4 和 CA153 水平相关性分析 Pearson 相关性分析显示,乳腺癌患者和乳腺良性肿瘤患者血清 HE4 水平与血清 CA153 水平均呈正相关(相关系数 *r* 分别为 0.447 6、0.403 3, $P < 0.05$);乳腺增生患者、乳腺炎患者及体检健康者血清 HE4 水平与血清 CA153 水平均无明显相关性(相关系数 *r* 分别为 0.103 0、0.091 0、0.303 4, $P > 0.05$)。

2.5 血清 HE4、CA153 单独检测及联合检测的检出率 乳腺

癌患者血清 HE4、CA153 检出率最高,分别为 85.0%、67.5%,各组血清 HE4、CA153 检出率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。乳腺癌患者血清 HE4 与 CA153 联合检测检出率最高(92.5%),各组血清 HE4 与 CA153 联合检测检出率差异有统计学意义($P < 0.05$)。乳腺癌患者血清 HE4 检出率高于 CA153 检出率,差异有统计学意义($\chi^2 = 7.813, P = 0.005 2$);乳腺癌患者血清 HE4 与 CA153 联合检测检出率高于 HE4、CA153 单项检测。见表 2。

表 1 血清 HE4 和 CA153 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HE4(pmol/L)	CA153(U/mL)
乳腺癌组	40	170.90 ± 13.59	29.10 ± 1.36
乳腺良性肿瘤组	25	92.96 ± 6.90*	21.33 ± 0.85
乳腺增生组	15	61.39 ± 5.54*#	20.14 ± 0.73
乳腺炎组	10	61.65 ± 5.45*#	19.78 ± 0.98
健康对照组	30	51.37 ± 3.70*#	16.99 ± 0.79*

*: $P < 0.05$,与乳腺癌组比较;#: $P < 0.05$,与乳腺良性肿瘤组比较。

表 2 不同乳腺疾病患者血清 HE4、CA153 单独及联合检测检出率(%)

组别	<i>n</i>	HE4	CA153	HE4 联合 CA153
乳腺癌组	40	85.0	67.5	92.5
乳腺良性肿瘤组	25	32.0	20.0	32.0
乳腺增生组	15	20.0	13.3	20.0
乳腺炎组	10	10.0	10.0	20.0
健康对照组	30	6.6	6.6	10.0

3 讨 论

目前,临床上诊断肿瘤的方法主要有 3 类:物理学方法如超声、X 射线、CT 及磁共振成像(MRI)等,组织细胞学方法如细胞病理学及免疫组织化学等,以及生物化学方法如血清肿瘤标志物检测。物理学诊断法和组织细胞学诊断法往往只能发现中晚期病例,难以达到早期发现恶性肿瘤的目的。血清肿瘤标志物检测因其具有创伤小、简便、客观等优点,普遍应用于肿瘤的筛查、诊断、疗效评价及复发监测等方面。本研究旨在寻找可靠的乳腺癌血清早期诊断标志物。

HE4 最早于 1991 年由 Kirchhoff 等^[7]从人的附睾中克隆发现,其基因全长 12×10^3 bp,由 5 个外显子和 4 个内含子构成,定位于人染色体 20q12-q13.1。HE4 基因编码一种酸性小分子分泌型糖蛋白,与细胞外蛋白酶抑制剂有很高同源性^[7]。2006 年,Galgano 等^[8]发现采用免疫组织化学方法发现 HE4 在女性生殖道、乳腺腺上皮、呼吸道上皮、肾远曲小管、结肠黏膜及唾液腺组织均存在不同程度的低表达,但在卵巢浆液性癌、肺腺癌、乳腺癌、胰腺癌及移行细胞癌均存在较高水平表达。目前有关 HE4 的生物学功能还未完全明确,近年来的研究发现 HE4 可能与精子形成、呼吸系统固有免疫失衡、肿瘤的增殖迁移及 MAPK 信号通路相关分子磷酸化有关^[9-10]。

本研究发现 HE4 在不同乳腺疾病患者组织和血清中存在差异表达。在乳腺癌患者组织中其高表达率为 87.5%,明显高于乳腺良性肿瘤患者、乳腺增生患者、乳腺炎患者及体检健康者;同样乳腺癌患者的血清 HE4 水平也明显高于其他各组,且在乳腺癌中的检出率达 85.0%。目前 HE4 已被美国食品药品监督管理局(FDA)批准广泛应用于卵巢癌的早期筛查及鉴别诊断,且其在子宫内膜癌中的早期诊断价值也逐渐得到证

实^[11-12]。本研究证实了上述研究结果,表明 HE4 对乳腺癌诊断具有参考价值。本研究也发现乳腺癌患者血清 CA153 水平高于乳腺良性疾病组织,且其在乳腺癌中的检出率达 67.5%,与之前的研究结果较一致^[2,13-15]。目前,因 CA153 对乳腺癌检测的灵敏度和特异度较好,已被 FDA 批准为乳腺癌的诊断指标^[16]。值得注意的是,笔者通过乳腺癌和乳腺良性肿瘤患者血清 HE4 与 CA153 水平相关性分析显示,乳腺癌患者和乳腺良性肿瘤患者血清 HE4 与 CA153 水平均呈正相关,尤其是乳腺癌患者,相关系数 r 为 0.447 6,提示乳腺癌组织中 HE4 和 CA153 的表达可能介导某些相似的生物学过程,也间接肯定了 HE4 对乳腺癌的诊断价值。

本研究进一步分析了检测血清 HE4 和 CA153 对乳腺癌患者的检出率,结果显示血清 HE4 和 CA153 均能较好地检出乳腺癌患者,检出率分别达 85.0% 和 67.5%,提示 HE4 可较好的预测乳腺癌的发生。然而联合检测血清 HE4 与 CA153 时发现其检出率更高,达 92.5%,表明联合检测血清 HE4 和 CA153 能够更好地指示乳腺癌的发生,对乳腺癌的早期诊断具有更大的实用价值,可成为乳腺癌筛查和早期诊断的可靠模式。

综上所述,本研究发现乳腺癌患者组织及血清 HE4 高表达,表明其具有潜在的诊断和预后判断价值,同时提示联合检测血清 HE4 和 CA153 能够更好地检出乳腺癌,但其具体的作用机制有待进一步的研究。

参考文献

[1] Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Parkin DM, et al. Global burden of cancer in 2008: a systematic analysis of disability-adjusted life-years in 12 world regions[J]. *Lancet*, 2012, 380(9856): 1840-1850.

[2] Pelton K, Coticchia CM, Curatolo AS, et al. Hypercholesterolemia induces angiogenesis and accelerates growth of breast tumors in vivo[J]. *Am J Pathol*, 2014, 184(7): 2099-2110.

[3] Hondermarck H. Breast cancer: when proteomics challenges biological complexity[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2003, 2(5): 281-291.

[4] Staden SV, Staden JFV. New tool for screening of whole blood for early detection of breast cancer antigen (CA153) [J]. *J Med Chem*, 2013, 1(2): 86-91.

[5] 陈光辉, 曾今诚, 隋洪, 等. 血清 CA153、CA125、CEA 和 CA19-9 联合检测对乳腺癌早期诊断的价值[J]. *现代医院*, 2012, 12(6):

71-73.

[6] Li J, Dowdy S, Tipton T, et al. HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2009, 9(6): 555-566.

[7] Kirchhoff C, Habben I, Ivell R, et al. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors[J]. *Biol Reprod*, 1991, 45(2): 350-357.

[8] Galgano MT, Mills SE, Stelow EB. Hyalinizing trabecular adenoma of the thyroid revisited: a histologic and immunohistochemical study of thyroid lesions with prominent trabecular architecture and sclerosis[J]. *Am J Surg Pathol*, 2006, 30(10): 1269-1273.

[9] Li J, Chen H, Mariani A, et al. HE4 (WFDC2) promotes tumor growth in endometrial cancer cell line[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3): 6026-6043.

[10] Karlsen NS, Karlsen MA, Høgdall CK, et al. HE4 tissue expression and serum HE4 levels in healthy individuals and patients with benign or malignant tumors: a systematic review[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014, 23(11): 2285-2295.

[11] Kaijser J, Van Belle V, Van Gorp T, et al. Prognostic value of serum HE4 levels and risk of ovarian malignancy algorithm scores at the time of ovarian cancer diagnosis[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, 24(7): 1173-1180.

[12] Brennan DJ, Hackethal A, Metcalf AM, et al. Serum HE4 as a prognostic marker in endometrial cancer: a population based study[J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 132(1): 159-165.

[13] Brouckaert O, Laenen A, Wildiers H, et al. The prognostic role of preoperative and (early) postoperatively change in CA15.3 serum levels in a single hospital cohort of primary operable breast cancers[J]. *Breast*, 2013, 22(3): 254-262.

[14] 华彬, 陆旭, 肖文政, 等. 血清肿瘤标记物 β 2 微球蛋白、癌胚抗原、CA153 和 CA125 检测对乳腺癌临床实践的意义探讨[J/CD]. *中华乳腺病杂志: 电子版*, 2012, 6(3): 10-13.

[15] 姜肖刚, 谢玮, 陈相, 等. 血清 nectin-4、CA15-3、CEA 联合检测在乳腺癌诊断中的价值[J]. *临床检验杂志*, 2013, 31(10): 755-756.

[16] Luo L, Dong LY, Yan QG, et al. Research progress in applying proteomics technology to explore early diagnosis biomarkers of breast cancer, lung cancer and ovarian cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(20): 8529-8538.

(收稿日期: 2015-04-28)

(上接第 1892 页)

参考文献

[1] 马开富. CMIA 与 ELISA、TPPA、TRUST 检测梅毒的方法学比较[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(16): 1994-1996.

[2] Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(5): a000414.

[3] 蒋传好. 梅毒螺旋体重组蛋白 TPpF1 在梅毒血清学诊断中的应用[D]. 南华大学, 2013.

[4] 王华, 张洪为, 雷丽明. 胎传梅毒 152 例临床流行病学调查分析[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2013, 27(1): 52-53.

[5] 雷震山, 杜剑强, 吴少琴, 等. 巢式 PCR 法在早期梅毒诊断中的应用评价[J]. *现代生物医学进展*, 2013, 13(23): 4529-4531.

[6] 来天明, 姜宪尘. 2011 年浙江省衢州市梅毒诊断符合率调查分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23(1): 235-236.

[7] Desrosiers DC, Anand A, Luthra A, et al. TP0326, a Treponema

pallidum β -barrel assembly machinery A (BamA) orthologue and rare outer membrane protein[J]. *Mol Microbiol*, 2011, 80(6): 1496-1515.

[8] 崔静. 183 例先天性梅毒临床资料分析[D]. 吉林大学, 2012.

[9] 熊春莲, 李方才, 占小梅, 等. 梅毒血清学试验在梅毒诊断中的应用[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(1): 199-200.

[10] 秦玲. TPPA 和 TRUST 两种检查方法在梅毒血清学检查中的应用[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2010, 18(7): 881-882.

[11] 龚匡隆, 尤永燕, 张津萍, 等. 现用梅毒血清试验临床应用价值评估[J]. *微生物与感染*, 2011, 6(1): 23-26.

[12] 肖春梅, 朴桂花, 李富荣, 等. 梅毒血清学实验室检查及临床应用[J]. *实用医学杂志*, 2011, 27(8): 1485-1486.

[13] 吴劲松. RPR 与 TPPA 检测对梅毒诊断及疗效的价值分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(2): 416-417.

(收稿日期: 2015-05-10)