

论著·临床研究

血清 ANGPTL 2 联合 EGFR 对乳腺癌患的诊断价值研究*

屈 睿,胡红心[△],朱红胜

(苏州市立医院检验科,江苏苏州 215000)

摘 要:**目的** 检测表皮生长因子受体(EGFR)和血管生成素样蛋白-2(ANGPTL-2)水平在乳腺癌患者中的变化,探讨这两项指标在乳腺癌诊断中的价值及相关性,以期对乳腺癌的辅助诊断提供依据。**方法** 将 120 例初诊乳腺癌患者(乳腺癌组),120 例乳腺良性病变患者(良性组)和 80 例健康体检者(对照组)纳入本研究,收集患者的临床和病理资料,分析统计患者的临床病理特征。空腹采集静脉血进行血清 EGFR 和 ANGPTL-2 检测,比较各组间和各病理特征组间的水平差异,绘制 ROC 曲线分析血清 EGFR 和 ANGPTL-2 对乳腺癌的诊断价值,采用 Pearson 相关进行 EGFR 和 ANGPTL-2 间的相关性分析。**结果** 乳腺癌组患者血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平明显高于良性组和对照组($P<0.05$),良性组患者血清 ANGPTL-2 水平高于对照组($P<0.05$);肿瘤直径 ≥ 5 cm 患者血清 ANGPTL-2 水平明显高于肿瘤直径 <5 cm 患者($P<0.05$),而 EGFR 水平无明显差异($P>0.05$);血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平随着 TNM 分期的增加而呈升高趋势,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$);肿瘤有转移患者的血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平显著高于肿瘤无转移患者($P<0.05$);ROC 曲线分析得出血清 EGFR、ANGPTL-2 以及二者联合对乳腺癌的诊断曲线下面积(AUC)分别为 0.841、0.897、0.936,敏感度分别为 85.6%、80.2%、82.3%,特异度分别为 62.5%、85.0%、90.2%;Pearson 相关性分析显示,乳腺癌患者血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平呈正相关($r=0.52, P<0.001$)。**结论** 乳腺癌患者血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平升高,且二者间呈正相关,对乳腺癌具有较高的诊断价值。

关键词:EGFR; ANGPTL-2; 乳腺癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.15.019

中图法分类号:R446.61

文章编号:1673-4130(2019)15-1868-04

文献标识码:A

Diagnostic value of serum ANGPTL-2 combined with EGFR in patients with breast cancer*

QU Rui, HU Hongxin[△], ZHU Hongsheng

(Department of Clinical Laboratory, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou, Jiangsu 215000, China)

Abstract:**Objective** To detect the changes of EGFR and ANPTL-2 concentrations in patients with breast cancer(BC), and to explore the diagnostic value and correlation analysis of each indicator in BC, so as to provide the basis for the auxiliary diagnosis of BC. **Methods** A total of 120 cases of newly diagnosed breast cancer (breast cancer group), 120 cases of benign breast lesions (benign group) and 80 cases of health check-up (control group) were selected as the research objects. The clinical data of patients were collected and the clinical and pathological characteristics were analyzed. Fasting venous blood was collected for serum EGFR and ANPTL-2 measurement, and the changes between groups and pathological characteristics were compared. ROC curve was drawn to analyze the diagnostic value of serum EGFR and ANPTL-2 for BC. Pearson method was used to analyze the correlation between EGFR and ANPTL-2. **Results** The serum concentrations of EGFR and ANGPTL-2 in breast cancer group were significantly higher than those in benign group and control group, and the serum concentrations of ANGPTL-2 in benign group were higher than those in control group($P<0.05$). The concentration of serum ANGPTL-2 in patients with tumor diameter >5 cm was significantly higher than that in patients with tumor diameter <5 cm($P<0.05$), but there was no significant difference in EGFR concentration. Serum concentrations of EGFR and ANPTL-2 increased with the increase of TNM stage, and there was statistical significance between groups ($P<0.05$). The serum concentrations of EGFR and ANPTL-2 in patients with metastasis were significantly higher than those in patients without metastasis.

* 基金项目:苏州市科教兴卫青年科技项目(KJXW2016030)。

作者简介:屈睿,女,主管技师,主要从事临床检验诊断的研究。 [△] 通信作者, E-mail: hongxin212@126.com。

本文引用格式:屈睿,胡红心,朱红胜. 血清 ANGPTL 2 联合 EGFR 对乳腺癌患的诊断价值研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(15):

ROC curve analysis showed that the diagnostic area under curve(AUC) of serum EGFR,ANGPTL-2 and their combination for BC were 0.841,0.897 and 0.936,with sensitivity 85.6%,80.2% and 82.3%,specificity 62.5%,85.0% and 90.2%,respectively. Pearson correlation analysis showed that serum EGFR and ANPTL-2 levels were positively correlated in BC patients ($r=0.52,P<0.001$). **Conclusion** Serum levels of EGFR and ANPTL-2 in BC patients increased,and there was a positive correlation between them,which had a high diagnostic value for BC.

Key words:epidermal growth factor receptor; angiotensin-like protein-2; breast cancer

目前乳腺癌早期筛查和辅助诊断最具特异性的血清学生物标志物为糖链抗原 153(CA153),但仅 30%-50%的乳腺癌患者 CA153 水平出现明显升高,而且结肠癌、肺癌、子宫颈癌和胰腺癌等疾病的患者也可出现 CA153 水平的升高,故 CA153 在乳腺癌的辅助诊断应用中具有一定的局限性^[1]。乳腺癌临床治疗中亟待解决的问题为早期诊断困难和术后易复发转移^[2]。因此,寻找预测乳腺癌发病的血清学标记物成为提高乳腺癌早期诊断率和寻找临床分子治疗靶点的研究热点。有大量研究表明表皮生长因子受体(EGFR)与乳腺癌的发生发展密切相关,是乳腺癌早期诊断、预后评估和分子治疗靶点^[3-4]。血管生成素样蛋白-2(ANGPTL-2)是类似于血管生成素的糖蛋白,有研究表明其与癌症存在密切相关性,可作为癌症的预后或者预测性生物标志物以及极有可能作为癌症治疗的新靶点^[5]。目前,国内外关于 AN-GPTL-2 对乳腺癌患者的临床价值研究报道较少,故本研究拟通过检测乳腺癌患者 EGFR 和 ANGPTL-2 水平的变化,探讨这两项指标在乳腺癌诊断中的价值及相关性,以期对乳腺癌的辅助诊断提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2017 年 10 月至 2018 年 10 月本院经组织病理学确诊为初诊乳腺癌的患者 120 例纳入研究并作为乳腺癌组,年龄 25~62 岁,平均年龄(35.75±7.61)岁,其中浸润性导管癌 87 例,浸润性小叶癌 8 例,导管内原位癌 25 例。根据乳腺癌 TNM 分期(第 7 版)^[6]进行临床分期,I 期患者 12 例,II 期患者 55 例,III 期患者 53 例。选取同时期本院收治的可手术切除治疗的乳腺良性病变患者 120 例作为良性组,年龄 24~61 岁,平均年龄(36.11±6.93)岁,其中导管内乳头状瘤 37 例,乳腺纤维腺瘤 83 例。另外,选取同期于本院进行健康体检的健康女性 80 例作为对照组,年龄 23~63 岁,平均年龄(34.81±7.52)岁。3 组人群年龄、基础疾病等一般资料方面具有可比性($P>0.05$)。所有纳入研究者知情且愿意参与本研究,签署知情同意书。本研究获得医院医学伦理委员会知情并审核批准。

1.2 纳入与排除标准 乳腺癌组和良性组纳入标准:(1)所有患者均为初诊并经病理组织学确诊;(2)所有患者术前均未进行药物治疗、化疗或放疗等;(3)

所有患者的临床病历资料完整。排除标准:(1)患有结肠癌、胃癌、胰腺癌等其他恶性肿瘤和其他肿瘤并发乳腺转移者;(2)心、肺、肝、肾功能、血脂、血糖异常者;(3)患有自身免疫性疾病者、甲状腺疾病和妊娠者;(4)病理资料和病历资料不完善者。

1.3 方法 (1)收集患者的临床及病理资料,分析统计患者的临床和病理特征。(2)所有受试者均于治疗前或者体检当日清晨空腹采集静脉血 5 mL,置于不含抗凝剂的红帽真空采血管中,3 000 r/min 离心 10 min 后,取上清进行各指标检测。EGFR 检测采用 ELISA 法,试剂盒购于美国 R&D 公司,操作严格按照试剂盒说明书进行。ANGPTL-2 检测采用化学发光法,仪器使用德国罗氏 Cobas e601 全自动电化学发光分析仪及其配套试剂进行。

1.4 统计学处理 运用 SPSS23.0 软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验或者单因素方差分析。绘制 ROC 曲线分析 EGFR 和 AN-GPTL-2 单独以及联合检测对乳腺癌的诊断价值。采用 Pearson 相关分析乳腺癌患者检测指标间的相关性。当 $P<0.05$ 时,差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组患者 EGFR 和 ANGPTL-2 水平的比较 3 组患者血清 EGFR 和 ANGPTL-2 平均水平由高到低均依次为乳腺癌组、良性组、对照组,3 组间血清 AN-GPTL-2 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$),良性组和乳腺癌组血清 EGFR 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 3 组患者 EGFR 和 ANGPTL-2 水平的比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	EGFR(ng/mL)	ANGPTL-2(μ g/L)
对照组	80	9.32±0.97	9.45±0.94
良性组	120	10.25±1.01	11.98±2.03*
乳腺癌组	120	15.51±9.76*△	27.02±10.11*△

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与良性组比较,△ $P<0.05$

2.2 乳腺癌患者 EGFR 和 ANGPTL-2 水平与临床病理特征的关系 肿瘤直径 ≥ 5 cm 患者血清 AN-GPTL-2 水平明显高于肿瘤直径 <5 cm 的患者($P<0.05$),而 EGFR 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平随着 TNM 分期的增加而呈升高趋势,组间比较差异有统计学意义

($P<0.05$);肿瘤有转移患者的血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平显著高于肿瘤无转移患者($P<0.05$),见表 2。

表 2 乳腺癌患者 EGFR 和 ANGPTL-2 水平与临床病理特征的关系($\bar{x}\pm s$)			
临床病理特征	<i>n</i>	EGFR(ng/mL)	ANGPTL-2(μg/L)
肿瘤直径			
<5 cm	75	15.40±2.69	23.93±2.39
≥5 cm	45	15.23±3.11	32.81±6.29*
病理类型			
浸润性导管癌	87	15.26±4.76	28.69±4.12
浸润性小叶癌	8	15.31±2.05	27.86±5.75
导管原位癌	25	15.39±2.68	28.45±4.33
分化程度			
低分化	43	15.25±3.11	27.63±6.01
中分化	34	15.47±2.39	27.19±5.11
高分化	43	15.29±2.40	28.16±4.53
TNM 分期			
I 期	12	11.41±0.86	19.33±3.87
II 期	55	14.84±1.33△	22.99±4.31△
III 期	53	17.13±2.89▲	32.94±5.16▲
转移情况			
无转移	86	14.01±2.05	22.29±3.14
有转移	34	17.64±2.99#	31.13±6.21#

注:与肿瘤直径<5 cm 比较,* $P<0.05$;与 TNM I 期比较,△ $P<0.05$;与 TNM 分期 II 期比较,▲ $P<0.05$;与肿瘤无转移组比较,# $P<0.05$

2.3 血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平对乳腺癌的诊断价值分析 绘制 ROC 曲线分析得出血清 EGFR、ANGPTL-2 以及二者联合检测对乳腺癌诊断的曲线下面积(AUC)分别为 0.841、0.897、0.936,敏感度分别为:85.6%、80.2%、82.3%,特异度分别为 62.5%、85.0%、90.2%,见图 1。

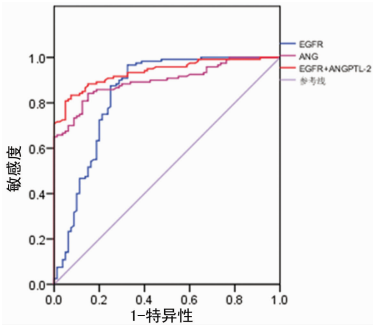


图 1 血清 EGFR、ANGPTL-2 以及二者联合检测对乳腺癌诊断的 ROC 曲线

2.4 血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平在乳腺癌患者中的相关性分析 Pearson 相关性分析显示,乳腺癌患者血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平呈正相关($r=$

0.52, $P<0.001$),见图 2。

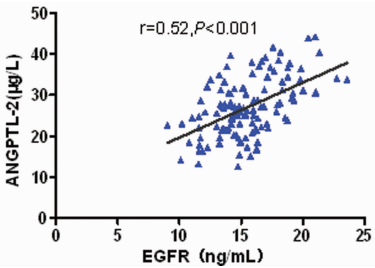


图 2 相关性分析

3 讨 论

乳腺癌是一种发生发展机制涉及多种因素的高度异质性恶性肿瘤,是世界范围内最常见的女性癌症,也是女性癌症死亡的最主要原因^[7]。随着人口老龄化、环境的变化和诊断技术的改进,乳腺癌的发病率近年来呈升高趋势,发病人群也呈年轻化,但其发病早期症状和体征不典型,易误诊和漏诊^[8]。故寻求新的检测指标用于乳腺癌的早期诊断和病情判断有着重要意义。

肿瘤细胞或者肿瘤微环境的细胞分泌因子表达的改变是癌症发生和进展的关键事件。有研究报道,ANGPTL 蛋白家族成员在细胞癌变和转移发展等不同阶段通过自分泌或者旁分泌等形式进行活性调节^[9]。ENDO 等^[10]发现转移性乳腺癌者血清 ANGPTL-2 水平显著高于健康人或导管原位癌或非转移性浸润性导管癌患者,雌激素受体和孕激素受体阴性患者血清 ANGPTL-2 水平可反映组织学分级,尤其是“三阴”患者。而且,ENDO 等^[11]还检测了携带 MDA-MB231 细胞的体内乳腺癌移植免疫缺陷雌性小鼠血清 ANGPTL-2 水平的变化,结果显示乳腺癌细胞分泌 ANGPTL-2 的水平随着细胞增殖和肿瘤进展而增加,验证了乳腺癌患者血清 ANGPTL-2 水平的变化趋势。MASUDA 等^[12]发现肿瘤细胞源性 ANGPTL-2 可能通过上调肿瘤细胞 CXCR4 的表达来增强乳腺癌细胞对 CXCL12 信号转导的应答,从而增加骨转移,提示这可能为治疗转移性乳腺癌提供了新的治疗方法。本课题组发现乳腺癌组患者血清 ANGPTL-2 水平明显高于良性组 and 对照组,肿瘤直径≥5 cm 患者血清 ANGPTL-2 水平明显高于肿瘤直径<5 cm 患者,血清 ANGPTL-2 水平随着 TNM 分期的增加而呈升高趋势,肿瘤有转移患者的血清 ANGPTL-2 水平显著高于肿瘤无转移患者。这与李峻^[13]等的研究结果相符合,提示血清 ANGPTL-2 水平与乳腺癌的临床病理特征存在相关性,可作为判断乳腺癌肿瘤大小、临床分期和转移的潜在标志物,为乳腺癌的临床治疗效果评估和预后判断提供实验室依据。

EGFR 为单链跨膜糖蛋白,可通过 MAPK/EPK、PI3K-Akt 和 PLC-IP3/DAG 等信号通路而产生 Ras、

PARP 和 Raf 等细胞效应因子而参与调控乳腺癌的发生、发展、侵袭、转移和治疗^[14]。张功学等^[15]的研究发现乳腺癌组织中 EGFR 阳性表达和组织学分级、淋巴结转移有关,组织学分级越高、有淋巴结转移的乳腺癌患者,其 EGFR 阳性表达率越高。本研究结果显示乳腺癌组患者血清 EGFR 水平明显高于良性组和对照组,且其水平随着 TNM 分期的增加而呈升高趋势,肿瘤有转移患者的血清 EGFR 水平显著高于肿瘤无转移患者。这表明血清 EGFR 水平与乳腺癌的发生发展存在密切相关性。

目前尚未发现有关血清 EGFR 和 ANGPTL-2 在乳腺癌患者中的相关性以及二者联合对乳腺癌的诊断价值的文献报道。本研究探讨了血清 EGFR 和 ANGPTL-2 联合检测对乳腺癌的诊断价值,结果发现血清 EGFR 和 ANGPTL-2 对乳腺癌的诊断均具有较高的诊断价值,ANGPTL-2 对乳腺癌的单独诊断效价高于 EGFR,二者联合可明显提高诊断效能。本研究还首次报道了乳腺癌患者血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平呈正相关性,这表明二者间具有某种关联或者分子机制的联系。

本研究虽然检测了血清 EGFR 和 ANGPTL-2 在乳腺癌患者中的变化及其与临床病理特征的关系,并探讨了其单独及联合对乳腺癌的诊断价值,以及分析了二者间的关系,但仍存在不足之处,如存在样本量较少,未进行组织水平含量检测以及进行二者间相互关联的分子机制研究,这些将在后续的研究中逐一进行完善。

4 结 论

乳腺癌患者血清 EGFR 和 ANGPTL-2 水平升高,与临床病理特征存在密切联系,且二者间呈正相关性,对乳腺癌具有较高的诊断价值,联合检测可提高对乳腺癌的诊断效能。

参考文献

[1] LI X, DAI D, CHEN B, et al. Clinicopathological and prognostic significance of cancer antigen 15-3 and carcinoembryonic antigen in breast cancer: a meta-analysis including 12 993 patients[J]. Dis Markers, 2018, 2018: 9863092.

[2] SUN Y S, ZHAO Z, YANG Z N, et al. Risk factors and preventions of breast cancer[J]. Int J Biol Sci, 2017, 13

(11):1387-1397.

[3] 赵婧晖, 谢鲲鹏, 隋佳琪, 等. 秦皮素通过抑制 EGFR 及其下游 AKT 信号通路抑制 MCF-7 细胞增殖及迁移[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2016, 32(1):56-63.

[4] ELBAZ M, AHIRWAR D, RAVI J, et al. Novel role of cannabinoid receptor 2 in inhibiting EGF/EGFR and IGF-I/IGF-IR pathways in breast cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(18):29668-29678.

[5] SATO R, YAMASAKI M, HIRAI K, et al. Angiopoietin-like protein 2 induces androgen-independent and malignant behavior in human prostate cancer cells[J]. Oncol Rep, 2015, 33(1):58-66.

[6] 薛卫成. 介绍乳腺癌 TNM 分期系统(第 7 版)[J]. 诊断病理学杂志, 2010, 17(4):241-244.

[7] 韩璐, 宋丰举, 陈可欣. 乳腺癌预后生物标志物研究进展[J]. 天津医药, 2016, 44(4):404-407.

[8] AKRAM M, IQBAL M, DANIYAL M, et al. Awareness and current knowledge of breast cancer[J]. Biol Res, 2017, 50(1):33.

[9] CARBONE C, PIRO G, MERZ V, et al. Angiopoietin-like proteins in angiogenesis, inflammation and cancer[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(2):E431.

[10] ENDO M, YAMAMOTO Y, NAKANO M, et al. Serum ANGPTL2 levels reflect clinical features of breast cancer patients; implications for the pathogenesis of breast cancer metastasis[J]. Int J Biol Markers, 2014, 29(3):239-245.

[11] MASUDA T, ENDO M, YAMAMOTO Y, et al. ANGPTL2 increases bone metastasis of breast cancer cells through enhancing CXCR4 signaling[J]. Sci Rep, 2015, 5:9170.

[12] 李峻, 谢玉莲, 李刚, 等. 血清 HER-2、TGF- β 1、Angptl2 在乳腺癌诊断中的价值及其与临床病理特征的关系[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2017, 10(10):109-112.

[13] 仲维兰, 鲁美钰, 司春枫, 等. 乳腺癌靶向治疗研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(4):622-626.

[14] 孙轩. SHP2 调控 EGFR/ERK 信号通路促进乳腺癌增殖转移的分子机制研究[D]. 天津:天津医科大学, 2017.

[15] 张功学, 齐峰, 丁凯, 等. Ki67、Her2 及 EGFR 在乳腺癌组织中表达的临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(3):375-379.

(收稿日期:2019-02-12 修回日期:2019-04-28)