

· 短篇论著 ·

血清可溶性酪氨酸蛋白激酶对乳腺癌的诊断及预后评估价值

费翔, 李立, 崔建春

(辽宁省人民医院甲状腺乳腺外科, 辽宁沈阳 110016)

摘要:目的 探讨血清可溶性酪氨酸蛋白激酶(sAx1)表达水平与乳腺癌患者临床资料及诊断、预后的关系。方法 分析 2016 年 3 月至 2019 年 3 月该院甲状腺乳腺外科收治的 103 例乳腺疾病患者的临床资料,采用酶联免疫吸附试验检测血清 sAx1 水平,利用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价血清 sAx1 水平对乳腺癌的诊断效能,并分析 5 年生存率;采用 Cox 比例风险模型分析影响乳腺癌患者生存率和预后的危险因素。结果 乳腺癌组血清 sAx1 水平 $[(60.19 \pm 23.05) \text{ ng/mL}]$ 明显高于乳腺纤维腺瘤组 $[(48.85 \pm 17.02) \text{ ng/mL}]$,差异有统计学意义($t=10.270, P<0.001$)。血清 sAx1 水平与肿瘤大小、淋巴结转移有关($P<0.05$),与患者年龄、肿瘤分期、雄激素受体、孕激素受体、绝经状态、Ki-67 标记指数无关($P>0.05$)。血清 sAx1 鉴别乳腺癌和乳腺纤维腺瘤的 ROC 曲线下面积为 0.874,根据最大约登指数(0.642 1)确定截断值为 46.09 ng/mL,灵敏度为 80.5%,特异度为 86.0%。生存分析显示,血清 sAx1 高水平组 5 年生存率明显低于低水平组,差异有统计学意义($\chi^2=8.139, P<0.01$)。Cox 多因素分析显示,血清 sAx1 是影响乳腺癌生存率预后的危险因素($P<0.05$)。结论 乳腺癌患者血清 sAx1 水平明显升高,高水平 sAx1 与患者肿瘤大小、淋巴结转移有关;血清 sAx1 可作为乳腺癌诊断及生存预后评估的指标。

关键词: 乳腺癌; 可溶性酪氨酸蛋白激酶; 诊断; 预后评估

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.15.028

中图法分类号:R446.11;R737.9

文章编号:1673-4130(2020)15-1904-04

文献标识码:B

乳腺癌是女性发病率最高的恶性肿瘤,WHO 调查显示,全球每年约有 160 万乳腺癌新发病例,发病率和病死率居各类恶性肿瘤首位^[1]。国外 1 项调查显示,I~II 期乳腺癌 5 年存活率达 90%以上,而 III~IV 期仅为 35%^[2-3]。由于乳腺癌发病早期较为隐匿,近 40%以上的患者就诊时已进入中晚期,错过了最佳治疗时机,患者预后较差。生物学指标在疾病早期筛查、预后评估方面有明显优势。有研究证实,酪氨酸蛋白激酶(Ax1)在恶性肿瘤中呈高水平表达,通过多种机制在恶性肿瘤进展中发挥作用^[4]。陈立婷等^[5]研究发现,Ax1 在恶性肿瘤组织中表达与患者预后有关。目前,关于 Ax1 在乳腺癌中表达的研究尚少见相关报道,本研究检测乳腺癌患者血清可溶性 Ax1 (sAx1)水平,探讨其对乳腺癌早期诊断及预后评估的价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2016 年 3 月至 2019 年 3 月本院甲状腺乳腺外科收治的 103 例乳腺疾病患者的临床资料,均经穿刺活检或手术病理切片检查确诊,分为乳腺癌组 58 例,年龄 34~71 岁,平均 (45.9 ± 11.5) 岁,体质量指数 19~25 kg/m²,平均

$(22.3 \pm 2.4) \text{ kg/m}^2$;乳腺纤维腺瘤组 45 例,年龄 34~70 岁,平均 (46.1 ± 11.2) 岁,体质量指数 20~25 kg/m²,平均 $(22.6 \pm 2.2) \text{ kg/m}^2$ 。根据乳腺癌患者血清 sAx1 水平中位数(63.49 ng/mL)又可将乳腺癌患者分为 sAx1 高水平组($>63.49 \text{ ng/mL}$)27 例和 sAx1 低水平组($\leq 63.49 \text{ ng/mL}$)31 例。乳腺癌组纳入标准:(1)临床资料完整,有随访记录者;(2)未进行放疗、化疗或其他抗癌治疗者;(3)各项检查均知情同意者。乳腺癌组除围术期严重并发症或术中死亡病例,合并其他恶性肿瘤患者。乳腺癌患者肿瘤分期参照美国癌症联合委员会与国际抗癌联盟关于乳腺癌病理分期标准(第 7 版)^[6],I 期 17 例,II 期 30 例,III 期 11 例。乳腺纤维腺瘤组排除标准:近 3 个月行大型手术治疗,乳腺肿块手术切除复发者。两组患者年龄、体质量指数等一般资料比较,差异均无统计学意义($t=0.088, 0.652, P=0.465, 0.258$),具有可比性。本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 血清标本采集 两组患者入院后次日清晨空腹 12 h 采集肘静脉血 3 mL,采用美国贝克曼库尔特 AllegraX-30 多功能台式离心机以 2 500 r/min 离心

20 min, 静置后抽取上层血清, 将血清标本编号置于 -70 °C 超低温冰箱内保存备用。血清 sAxI 水平检测采用酶联免疫吸附试验, 检测仪器为美国 Thermo 公司 APPLISKAN 型酶标仪, 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司; 试验操作步骤简述如下: 将标本从 -70 °C 冰箱取出室温融解, 分别设置标准品孔和标本孔, 标准品孔加入不同水平的标准液, 待测标本孔中加入稀释后的待测标本。向标准品孔和标本孔中加入辣根过氧化物酶标记亲和素工作液, 封板, 室温孵育 45 min; 再向每孔加入相应底物, 室温暗处孵育 15 min。加终止液终止反应, 450 nm 处测各孔吸光度值, 通过绘制吸光度曲线计算标本 sAxI 水平。

1.2.2 临床资料收集 收集乳腺癌患者临床资料, 包括年龄、肿瘤分期、肿瘤大小、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、淋巴结转移、绝经状态、Ki-67 标记指数(Ki-67)等。

1.3 随访 随访时间从乳腺癌患者术后第 2 天开始计算, 终末时间为末次随访日期或复发转移日期或死亡日期。本研究乳腺癌患者随访 6~60 个月, 中位随访 41 个月。

1.4 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件包进行数据分析处理。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 *t* 检验; 计数资料以例数表示, 采用 χ^2 检验或 Fishers 确切概率法。根据血清 sAxI 水平绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线), 根据 ROC 曲线下面积(AUC)评价其对乳腺癌的诊断效能。采用 Kaplan-Meier 法绘制乳腺癌患者生存曲线, 并行 Log-Rank 法。采用 Cox 回归模型分析影响预后的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清 sAxI 水平比较 乳腺纤维腺瘤组血清 sAxI 水平为 (48.85 ± 17.02) ng/mL, 乳腺癌组为 (60.19 ± 23.05) ng/mL, 乳腺癌组血清 sAxI 水平明显高于乳腺纤维腺瘤组, 差异有统计学意义 ($t = 10.270, P < 0.001$)。

2.2 血清 sAxI 水平与乳腺癌患者临床资料的关系 血清 sAxI 水平与肿瘤大小、淋巴结转移有关; 肿瘤直径 > 5 cm 患者血清 sAxI 水平明显高于肿瘤直径 ≤ 5 cm 患者; 有淋巴结转移患者血清 sAxI 水平明显高于无淋巴结转移患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 血清 sAxI 水平与患者年龄、肿瘤分期、ER、PR、绝经状态、Ki-67 均无关 ($P > 0.05$), 见表 1。

2.3 ROC 曲线分析血清 sAxI 水平对乳腺癌的诊断效能 ROC 曲线分析显示, 血清 sAxI 水平鉴别乳腺癌和乳腺纤维瘤的曲线下面积(AUC)为 0.874, 根据最大约登指数(0.642 1)确定截断值为 46.09 ng/mL,

灵敏度为 80.5%, 特异度为 86.0% (95%CI: 0.807 ~ 0.940, $P = 0.001$), 见图 1。

表 1 血清 sAxI 水平与乳腺癌患者临床资料的关系 (n)

临床资料	n	血清 sAxI		χ^2	P
		高水平组 (n=27)	低水平组 (n=31)		
年龄(岁)				0.069	0.792
≥45	29	13	16		
<45	29	14	15		
肿瘤分期				6.209	0.013
I~II期	18	4	14		
III期	40	23	17		
肿瘤大小(cm)				0.014	0.906
≥5	33	16	17		
<5	25	11	14		
ER				0.624	0.430
阴性	29	12	17		
阳性	29	15	14		
PR				0.115	0.735
阴性	25	11	14		
阳性	33	16	17		
淋巴结转移				8.215	0.004
有	31	9	22		
无	27	18	9		
绝经状态				0.069	0.792
是	29	13	16		
否	29	14	15		
Ki-67(%)				0.395	0.530
≥15	17	9	8		
<15	41	18	23		

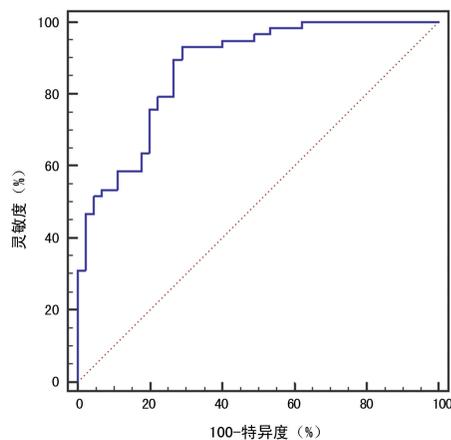
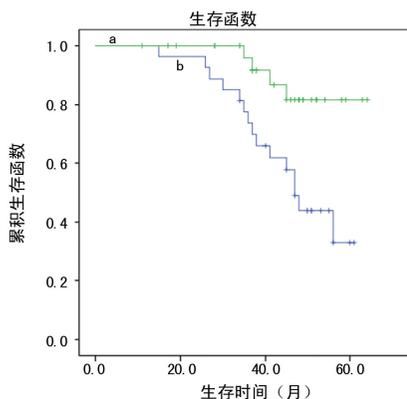


图 1 血清 sAxI 水平对乳腺癌的诊断效能

2.4 不同血清 sAxI 水平乳腺癌患者的生存曲线 生存曲线分析显示, 血清 sAxI 高水平组和低水平组 5 年生存率分别为 44.4% 和 87.1%。血清 sAxI

高水平组 5 年生存率明显低于低水平组, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.139, P < 0.01$), 见图 2。



注: a 为低水平组; b 为高水平组。

图 2 乳腺癌患者生存曲线

2.5 Cox 回归分析影响乳腺癌生存的危险因素

Cox 多因素回归分析显示, 血清 sAxl 是影响乳腺癌生存预后的危险因素 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 Cox 回归分析影响乳腺癌生存预后的危险因素

变量	r^2	95%CI	P
年龄(≥ 50 岁 vs. < 50 岁)	0.920	0.292~2.903	0.887
肿瘤分期(I + II 期 vs. III 期)	1.536	0.419~5.641	0.517
肿瘤大小(≥ 5 cm vs. < 5 cm)	0.860	0.260~2.849	0.805
ER(阴性 vs. 阳性)	0.498	0.116~2.149	0.350
PR(阴性 vs. 阳性)	1.311	0.306~5.625	0.716
淋巴结转移(有 vs. 无)	2.195	0.685~7.033	0.186
绝经状态(绝经前 vs. 绝经后)	0.560	0.192~1.628	0.287
Ki-67($\geq 15\%$ vs. $< 15\%$)	1.581	0.545~4.592	0.399
sAxl 水平(高水平 vs. 低水平)	0.229	0.070~0.751	0.015

3 讨 论

Axl 是 Tyro3 受体酪氨酸激酶亚家族中的重要成员之一, 是由胞外区、胞内区及跨膜区组成的单次跨膜蛋白。Axl 在正常机体组织均有不同程度表达, 在心肌、甲状腺、骨骼肌、造血系统、结肠黏膜中呈高水平表达, 而在外周血淋巴系统中表达较低。有研究显示, Axl 信号途径在抑制肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤细胞转移、新生血管形成中参与恶性肿瘤发生、发展^[7]。DAVIES 等^[8]研究证实, 超过 56% 的前列腺癌患者、70% 的肺癌患者、65% 的直肠癌患者肿瘤组织中 Axl 表达增强。有学者发现, Axl 高水平表达是 II 期胰腺癌远端转移和死亡的独立危险因素, 这可能与 Axl 促进胰腺癌细胞增殖和侵袭性增强有关^[9]。Axl 不仅与恶性肿瘤不良预后相关, 还参与了肿瘤细胞耐药性的形成。刘志等^[10]从拉帕替尼 BT474 细胞分离耐药的 ER 阳性、人表皮生长因子受体-2 阳性乳腺癌细胞中发现, Axl 过度表达是乳腺癌的耐药机制。因

此, 对 Axl 的靶向治疗是恶性肿瘤治疗的方向。

马兴聪等^[11]研究证实, 乳腺癌组织中 Axl 阳性率明显高于相配对的癌旁组织, 进一步研究发现 Axl 表达与乳腺癌浸润程度、肿瘤分期有关。Axl 不仅可存在于细胞表面蛋白组织中, 亦可以 sAxl 形式存在于血清中。在血清中 sAxl 可减缓 Gas6 释放, 延长半衰期, 以提高生物利用度, 可增强 Gas6 局部及系统性作用。有研究表明, sAxl 可促进细胞膜受体 Axl 的活化, 促进细胞转移及下游信号激活^[12]。

目前, 关于血清 sAxl 与恶性肿瘤关系的报道较少, 在部分肿瘤中发现血清 sAxl 水平异常。刘艳艳等^[13]报道显示, 上皮卵巢癌组血清中 sAxl 水平高于卵巢良性上皮肿瘤组和正常卵巢组, 提示 sAxl 可作为上皮卵巢癌早期诊断和预后评估的肿瘤标志物。本研究观察了血清 sAxl 与乳腺癌临床资料的关系, 结果发现, 血清 sAxl 水平与肿瘤大小、淋巴结转移有关, 提示血清 sAxl 与乳腺癌肿瘤进展和转移有关, 可作为乳腺癌患者诊断和预后的评估指标。本研究进一步探讨 sAxl 对乳腺癌诊断的意义, 结果显示, 血清 sAxl 鉴别乳腺癌和乳腺纤维瘤的 AUC 为 0.874, 说明血清 sAxl 有望作为乳腺癌早期筛查和病情监测的指标。

在对宫颈癌和结直肠癌患者的研究中发现, 通过上调 sAxl 与 Gas6 表达, 可促进肿瘤细胞侵袭和转移, 进一步证实 sAxl 可能参与乳腺癌细胞的转移并引起不良预后^[14]。成琳等^[14]报道, 乳腺癌患者血清 sAxl 水平明显升高, sAxl 高水平是乳腺癌生存期较短和复发的独立预测因子。本研究随访结果显示, sAxl 高水平组 5 年生存率明显低于低水平组, sAxl 水平升高是乳腺癌生存预后的独立危险因素, 提示血清 sAxl 可作为乳腺癌预后的评估指标, sAxl 水平升高表明生存率较低。

综上所述, 乳腺癌患者血清 sAxl 水平明显升高, 高水平 sAxl 与患者肿瘤大小、淋巴结转移相关, 血清 sAxl 可作为乳腺癌早期诊断、临床预后的评估指标。

参考文献

- [1] 丁敏侠, 柏艳红, 唐凤珍, 等. 超声造影联合超声 BI-RADS 分级在临床疑似乳腺癌病变中的诊断价值[J]. 实用癌症杂志, 2018, 33(7): 1184-1186.
- [2] CAMPBELL J J, HUME R D, WATSON C J, et al. Engineering mammary gland in vitro models for cancer diagnostics and therapy[J]. Mol Pharm, 2014, 11(7): 1971-1981.
- [3] APOSTOLI A J, SKELHORNE-GROSS G E A, RUBINO R E, et al. Loss of PPAR γ expression in mammary secretory epithelial cells creates a pro-(下转第 1920 页)

- [2] REN C, NAI Y, LV W, et al. Focus on autonomic dysfunction in anti-NMDAR encephalitis: a case report[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(24):10970-10975.
- [3] 张响宁, 陈卫银, 唐英超, 等. 自身免疫性脑炎抗体阴性的自身免疫性脑炎一例[J/CD]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2019, 7(19):174-175.
- [4] 吴凌超, 胡崇宇, 龙莉莉, 等. 抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎及其伴随痫性发作的临床特点[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2019, 44(5):544-548.
- [5] 肖邦, 潘贵书. 海洛因成瘾对大鼠海马 CA3 区 NR1、NR2A 亚基表达的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(17):2275-2276.
- [6] ENDRES D, RAUER S, KERN W, et al. Psychiatric presentation of anti-NMDA receptor encephalitis[J]. *Front Neurol*, 2019, 10(5):1086-1089.
- [7] BLITSHTYEN S, BROOK J. Postural tachycardia syndrome (POTS) with anti-NMDA receptor antibodies after human papillomavirus vaccination[J]. *Immunol Res*, 2017, 65(1):282-284.
- [8] LIU C Y, ZHU J, ZHENG X Y, et al. Anti-N-Methyl-D-aspartate receptor encephalitis: a severe, potentially reversible autoimmune encephalitis[J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017:6361479.
- [9] LI H, GUO Y K, CUI Y L, et al. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: a case report [J]. *Medicine*, 2018, 97(50):e13625.
- [10] SAKAMOTO S, KAWAI H, OKAHISA Y, et al. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis in psychiatry [J]. *Acta Med Okayama*, 2019, 73(3):189-195.
- [11] WARREN N, SISKIND D, O'GORMAN C. Refining the psychiatric syndrome of anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis[J]. *Acta Psychiatr Scand*, 2018, 138(5):401-408.
- [12] 钱颖, 曹秉振. 抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎 29 例回顾分析[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(26):54-57.
- [13] GRAUS F, TITULAER M J, BALU R, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis [J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(4):391-404.
- [14] KAYSER M S, TITULAER M J, GRESA-ARRIBAS N, et al. Frequency and characteristics of isolated psychiatric episodes in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis[J]. *JAMA Neurol*, 2013, 70(9):1133-1139.
- [15] 王君霞, 罗伟, 盛巧妮, 等. 1 例儿童抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎案例分析[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(10):1471-1472.
- [16] 王昕, 杨健, 张桂榛, 等. 儿童抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎的脑电图特点[J]. *北京医学*, 2016, 38(1):1195-1198.

(收稿日期:2019-12-10 修回日期:2020-02-20)

(上接第 1906 页)

- breast tumorigenic environment[J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(5):1055-1066.
- [4] 沈辉, 盛晗, 陆建菊, 等. 程序性死亡受体 1 和 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 3 在乳腺癌肿瘤微环境中的表达、分布及其与临床病理特征的关系[J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(17):1352-1357.
- [5] 陈立婷, 卢萍, 孙宇辉, 等. Gas6/Axl 信号通路 with 肿瘤关系的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(19):3165-3168.
- [6] 刘裔莎, 魏兵, 杨雯娟, 等. 美国癌症联合会乳腺癌分期(第七版)简介[J]. *中华病理学杂志*, 2010, 39(11):787-790.
- [7] TIWARI R V, PARAJULI P, SYLVESTER P W, et al. γ -Tocotrienol-induced autophagy in malignant mammary cancer cells[J]. *Exp Biol Med*, 2014, 239(1):33-44.
- [8] DAVIES A H, REIPAS K M, PAMBID M R, et al. YB-1 transforms human mammary epithelial cells through chromatin remodeling leading to the development of basal-like breast cancer[J]. *Stem Cells*, 2014, 32(6):1437-1450.
- [9] SEO M J, LEE J J, KIM H O, et al. Detection of internal mammary lymph node metastasis with 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in patients with stage III breast cancer[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2014, 41(3):438-445.
- [10] 刘志, 陶自坚. 受体酪氨酸激酶 Eph 基因与肿瘤微环境及相关治疗的研究进展[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2017, 33(11):1241-1244.
- [11] 马兴聪, 闫婉君, 赵小瑶, 等. Wnt/ β -catenin 信号活化与乳腺癌肿瘤浸润淋巴细胞的相关性及其临床意义[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2018, 39(6):860-864.
- [12] 韦常宏, 陈伊, 宁淑芳, 等. 绝经后及年轻女性乳腺癌患者肿瘤分子分型及临床病理特征对比观察[J]. *山东医药*, 2016, 56(43):93-95.
- [13] 刘艳艳, 孙颖川, 李潜, 等. 不同肿瘤细胞内源性 DNA 双链断裂水平与放射灵敏度参数 SF2 的相关性[J]. *广东医学*, 2017, 38(22):3405-3409.
- [14] 成琳, 杨良根, 许凌云, 等. 乳腺癌患者肿瘤异常蛋白表达的影响因素研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(26):60-62.

(收稿日期:2019-11-08 修回日期:2020-02-23)