

• 论 著 •

血清 miR-21、sICAM-1 和 CA153 联合检测 对乳腺癌的早期诊断价值*

汪晓曼¹, 朱怡恬¹, 叶莉莉¹, 苏亚娟^{2△}

1. 南京医科大学附属妇产医院/南京市妇幼保健院检验科, 江苏南京 210009;
2. 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院检验科, 黑龙江哈尔滨 150081

摘要:目的 探讨血清 miR-21、可溶性细胞间黏附分子 1(sICAM-1)和糖类抗原 153(CA153)联合检测对乳腺癌的早期诊断价值。方法 选取 2016 年 1 月至 2019 年 12 月在南京医科大学附属妇产医院诊断为乳腺癌的患者 31 例为恶性肿瘤组,选择同期活组织检测为乳房良性病变患者 31 例为良性肿瘤组,选择同期该院体检健康者 31 例为健康对照组。比较 3 组血清 miR-21、sICAM-1、CA153 水平,并对 miR-21、sICAM-1 和 CA153 单项及联合检测早期诊断乳腺癌的灵敏度、特异度、阴性预测值、阳性预测值、诊断效率进行比较。结果 血清 miR-21、sICAM-1、CA153 水平在恶性肿瘤组明显高于良性肿瘤组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清 miR-21、sICAM-1、血清 CA153 联合检测早期诊断乳腺癌的灵敏度、阳性预测值和诊断效率与 miR-21 单项检测比较,差异有统计学意义($P<0.05$);血清 miR-21、sICAM-1、CA153 联合检测早期诊断乳腺癌的灵敏度、阴性预测值、阳性预测值和诊断效率与 sICAM-1 单项检测比较,差异有统计学意义($P<0.05$);血清 miR-21、sICAM-1、CA153 联合检测早期诊断乳腺癌的灵敏度、特异度、阴性预测值、阳性预测值和诊断效率与 CA153 单项检测比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清 miR-21、sICAM-1、CA153 联合检测用于乳腺癌早期诊断的受试者工作特征曲线下面积为 0.891。结论 血清 miR-21、sICAM-1、CA153 联合检测能够显著提高临床对乳腺癌的早期诊断效率。

关键词:乳腺癌; miR-21; 可溶性细胞间黏附分子 1; 糖类抗原 153
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.09.009 **中图法分类号:**R737.9;R446.1
文章编号:1673-4130(2021)09-1060-04 **文献标志码:**A

Value of combined detection of serum miR-21,sICAM-1 and CA153 in early screening and diagnosis of breast cancer*

WANG Xiaoman¹, ZHU Yitian¹, YE Lili¹, SU Yajuan^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory, Obstetrics and Gynecology Hospital
Affiliated to Nanjing Medical University/Nanjing Maternal and Child Health Hospital, Nanjing,
Jiangsu 210009, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Tumor Hospital
Affiliated to Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150081, China

Abstract: Objective To investigate the clinical value of combined detection of serum miR-21, soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and carbohydrate antigen 153 (CA153) in early diagnosis of breast cancer. **Methods** From January 2016 to December 2019, 31 patients diagnosed with breast cancer in Obstetrics and Gynecology Hospital Affiliated to Nanjing Medical University were selected as the malignant tumor group, 31 patients diagnosed with benign breast lesions by biopsy during the same period were selected as the benign tumor group, and 31 healthy people in the hospital during the same period were selected as the healthy control group. The serum levels of miR-21, sICAM-1 and CA153 were compared among the three groups, and the sensitivity, specificity, negative predictive value, positive predictive value and diagnostic efficiency of single and combined detection of miR-21, sICAM-1 and CA153 for early diagnosis of breast cancer were compared. **Results** The levels of miR-21, sICAM-1 and CA153 in malignant tumor group were significantly higher than

* 基金项目:黑龙江省自然科学基金面上项目(H2018049)。
作者简介:汪晓曼,女,主管技师,主要从事妇科恶性肿瘤免疫学方面的研究。 △ 通信作者, E-mail:gg20151218rr@163.com。
本文引用格式:汪晓曼,朱怡恬,叶莉莉,等. 血清 miR-21、sICAM-1 和 CA153 联合检测对乳腺癌的早期诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(9):1060-1063.

those in benign tumor group ($P < 0.05$). The sensitivity, positive predictive value and diagnostic efficiency of combined detection of miR-21, sICAM-1 and CA153 for early diagnosis of breast cancer were significantly different from those of single detection of miR-21 ($P < 0.05$). The sensitivity, negative predictive value, positive predictive value and diagnostic efficiency of combined detection of miR-21, sICAM-1 and CA153 for early diagnosis of breast cancer were significantly different from those of single detection of sICAM-1 ($P < 0.05$). The sensitivity, specificity, negative predictive value, positive predictive value and diagnostic efficiency of combined detection of miR-21, sICAM-1 and CA153 for early diagnosis of breast cancer were significantly different from those of single detection of CA153 ($P < 0.05$). The area under the receiver operating characteristic curve of miR-21, sICAM-1 and CA153 combined detection for early diagnosis of breast cancer was 0.891. **Conclusion** Combined detection of serum miR-21, sICAM-1 and CA153 can significantly improve the clinical efficiency of early diagnosis of breast cancer.

Key words: breast cancer; miR-21; soluble intercellular adhesion molecule-1; carbohydrate antigen 153

乳腺癌是严重威胁女性健康的常见恶性肿瘤,全世界每年新增病例约 138 万,近年其发病率呈逐年升高的趋势,世界卫生组织公布的统计数据显示,乳腺癌已成为全球女性的首发恶性肿瘤^[1]。文献报道,早期乳腺癌预后较好,但晚期乳腺癌因发生淋巴结和血行转移,预后较差,因此,乳腺癌的早期诊断对提高乳腺癌的疗效、改善预后具有重要意义^[2-3]。乳腺癌的诊断临床常采用活组织检测,但因其具有侵入性、存在取样误差和患者依从性差等缺点难以开展^[4]。目前血清肿瘤标志物的检测已成为乳腺癌早期诊断的重要辅助手段之一,受到临床的广泛重视,且每一种肿瘤标志物都有其独特的优势和局限性,合理利用能优势互补,提高乳腺癌的诊断率^[5]。本研究对血清中非编码小 RNA 分子 miR-21、可溶性细胞间黏附分子 1(sICAM-1)和糖类抗原 153(CA153)联合检测在乳腺癌早期诊断中的应用价值进行探讨,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2019 年 12 月在南京医科大学附属妇产医院诊断为乳腺癌的患者 31 例作为恶性肿瘤组,年龄 35~77 岁,平均 (53.13 ± 4.65) 岁,术后病理 TNM 分期:Ⅰ期 7 例,Ⅱ期 9 例,Ⅲ期 13 例,Ⅳ期 2 例。选择同期在南京医科大学附属妇产医院活组织检测为乳房良性病变患者 31 例作为良性肿瘤组,年龄 37~79 岁,平均 (54.16 ± 4.92) 岁;选择同期在南京医科大学附属妇产医院体检健康者 31 例作为健康对照组,年龄 36~76 岁,平均 (52.48 ± 5.27) 岁。3 组受试者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。所有受试者均签署知情同意书,本研究经南京医科大学附属妇产医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 血清 CA153 检测采用瑞士罗氏 e601 电化学发光微粒子仪及匹配的试剂,以上项目通过室内质评及性能验证;血清 sICAM-1 检测试剂盒由 CUSABIO 公司提供。RNA 提取试剂盒由美国

Invitrogen 公司提供,SYBR Green 荧光染料试剂盒购自瑞士罗氏公司,PCR 引物由上海昕浩生物设计、合成。

1.3 方法

1.3.1 血清标本的分离 所有患者抽取空腹静脉血 5 mL,室温静置 20 min,以 3 000 r/min 离心 20 min 进行血清分离,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,所有标本避免脂血、溶血和黄疸。

1.3.2 血清 CA153 和 sICAM-1 检测 血清 CA153 的检测采用电化学发光微粒子法,血清 sICAM-1 的检测采用酶联免疫吸附试验双抗体夹心法。以上各指标的检测均严格按照试剂说明书及《全国临床检验操作规程》第 4 版^[6]进行。

1.3.3 血清 miR-21 检测 采用实时荧光定量 PCR,通过标准曲线计算血清 miR-21 水平。采用苯酚氯仿法提取血清中总 RNA,反转录成 cDNA,采用 SYBR Green 法检测血清 miR-21 水平,上游引物 5'-TGC GGT AGC TTA TCA GAC TG-3',下游引物 5'-CCA GTG CAG GGT CCG AGG T-3'。反应体系:MgCl₂ 1.20 μL ,PCR 缓冲液 2.00 μL ,dNTPs (10 mmol/L) 0.40 μL ,Taq 酶 0.30 μL ,探针和引物 0.33 μL ,cDNA 1.00 μL ,加 ddH₂O 至总反应体积 20.00 μL 。反应条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 15 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,共 40 个循环。每个样品设 3 个复孔,同时以 ddH₂O 设为阴性对照。

1.3.4 计算公式 灵敏度=真阳性/(真阳性+假阴性) $\times 100\%$,特异度=真阴性/(真阴性+假阳性) $\times 100\%$,阴性预测值=真阴性/(真阴性+假阳性) $\times 100\%$,阳性预测值=真阳性/(真阳性+假阳性) $\times 100\%$,诊断效率=真阳性+真阴性/(真阳性+假阳性+真阴性+假阴性) $\times 100\%$ 。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件进行统计学分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验,多样本均数间的比较采用方差

分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验;计数资料以率表示,两组间比较采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析乳腺癌发生的早期诊断效能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组血清 miR-21、sICAM-1、CA153 水平比较
血清 miR-21、sICAM-1、CA153 水平在良性肿瘤组与健康对照组比较,差异无统计学意义($t=1.261$ 、 1.319 、 1.685 ,均 $P>0.05$);血清 miR-21、sICAM-1、CA153 水平在恶性肿瘤组明显高于良性肿瘤组,差异有统计学意义($t=2.876$ 、 2.651 、 5.394 ,均 $P<0.05$)。见表 1。

表 1 3 组血清 miR-21、sICAM-1、CA153 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-21 (fmol/L)	sICAM-1 (ng/mL)	CA153 (U/mL)
健康对照组	31	3.11±0.60	737.9±133.9	16.70±4.64
良性肿瘤组	31	3.37±0.98	799.4±222.5	19.00±6.30
恶性肿瘤组	31	4.62±2.26	969.4±279.2	39.11±19.70
<i>t</i> ₁		1.261	1.319	1.685
<i>P</i> ₁		0.212	0.192	0.097
<i>t</i> ₂		2.876	2.651	5.394
<i>P</i> ₂		0.006	0.010	<0.001

注:*t*₁、*P*₁ 表示良性肿瘤组与健康对照组比较;*t*₂、*P*₂ 表示恶性肿瘤组与良性肿瘤组比较。

2.2 3 种生物学标志物单项或联合检测对乳腺癌的早期诊断效能
本研究数据显示,血清 miR-21、sICAM-1、CA153 联合检测早期诊断乳腺癌的灵敏度、阳性预测值和诊断效率与 miR-21 单项检测比较,差异有统计学意义($\chi^2=5.383$ 、 6.653 、 4.391 ,均 $P<0.05$);血清 miR-21、sICAM-1、CA153 联合检测早期诊断乳腺癌的灵敏度、阴性预测值、阳性预测值和诊断效率与 sICAM-1 单项检测比较,差异有统计学意义($\chi^2=7.715$ 、 4.310 、 5.922 、 4.257 ,均 $P<0.05$);血清 miR-21、sICAM-1、CA153 联合检测早期诊断乳腺癌的灵敏度、特异度、阴性预测值、阳性预测值和诊断效率与 CA153 单项检测比较,差异有统计学意义($\chi^2=7.715$ 、 6.945 、 5.107 、 12.37 、 7.461 ,均 $P<0.05$)。见表 2。

分别绘制血清 miR-21、sICAM-1、CA153 单项和联合检测对乳腺癌早期诊断的 ROC 曲线,结果显示,miR-21、sICAM-1、CA153 单项检测早期诊断乳腺癌的 ROC 曲线下面积分别为 0.739(95%CI:0.604~0.874)、0.723(95%CI:0.591~0.854)、0.767(95%CI:0.633~0.902),而血清 miR-21、sICAM-1、CA153 联合检测早期诊断乳腺癌的 ROC 曲线下面积

为 0.891(95%CI:0.792~0.991)。见图 1。

表 2 3 种生物学标志物单项或联合检测对乳腺癌的早期诊断效能(%)

指标	灵敏度	特异度	阴性预测值	阳性预测值	诊断效率
miR-21	74.2	80.6	86.2	65.7	78.4
sICAM-1	70.9	82.3	85.0	66.7	78.5
CA153	70.9	75.8	83.9	59.5	74.2
联合检测	87.1	90.3	93.3	81.8	89.2
χ^2_1	5.383	—	—	6.653	4.391
<i>P</i> ₁	0.020	—	—	0.010	0.036
χ^2_2	7.715	—	4.310	5.922	4.257
<i>P</i> ₂	0.005	—	0.038	0.015	0.039
χ^2_3	7.715	6.945	5.107	12.370	7.461
<i>P</i> ₃	0.005	0.008	0.024	0.000	0.006

注: χ^2_1 、*P*₁ 表示联合检测与 miR-21 比较; χ^2_2 、*P*₂ 表示联合检测与 sICAM-1 比较; χ^2_3 、*P*₃ 表示联合检测与 CA153 比较。—表示未做统计学处理。

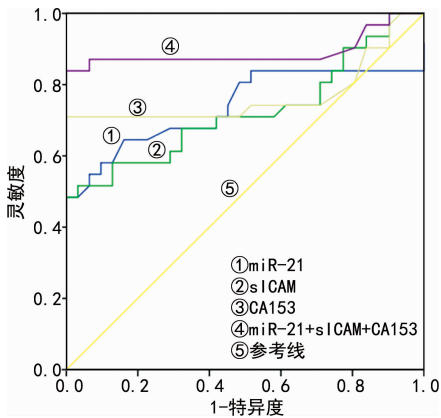


图 1 血清 miR-21、sICAM-1、CA153 单项和联合检测早期诊断乳腺癌的 ROC 曲线

3 讨 论

近年来随着生命科学技术的迅猛发展,一类在进化上高度保守、在基因转录后水平实现负向调控基因的 miRNA 的研究在各个领域最为活跃,极大拓宽了人们对生物发育、疾病发生、发展的认识^[7]。在哺乳动物基因组中,成熟的 miRNA 基因调控着超过 30% 的基因表达或蛋白合成^[8],因此,miRNA 在不同疾病及病理进程中具有特定的表达谱,已经在多种肿瘤、自身免疫性疾病、炎症等多种疾病的诊断和预后中显示了重要价值^[9]。miRNA 不仅在组织中稳定表达,并且在血清中具有较高的稳定性和特异度,因此,有望成为早期诊断肿瘤的无创新型生物学标志物^[10]。

多种恶性癌组织中 miRNA 的表达与肿瘤的发生、发展密切相关,miR-21 作为 miRNA 中研究的热门原癌基因,被视为一种理想的肿瘤生物学标志物^[11]。miR-21 已被发现在多种血液系统和实体器官的恶性肿瘤中发挥重要作用,是目前唯一发现的在肺

癌、胃癌、肝癌、乳腺癌、结肠癌和食管癌中均高表达的 miRNA,也是第一个可以在肿瘤患者血清中检测到的 miRNA,因此,在 miRNA 的研究领域中,miR-21 的作用不容忽视^[12]。文献报道显示,miR-21 在乳腺癌早期患者血清中显著升高,提示 miR-21 在乳腺癌的早期诊断中具有一定的临床价值,且相对于早期乳腺癌患者,晚期患者 miR-21 升高更为显著,因此,miR-21 与乳腺癌的临床分期密切相关^[13]。本研究结果显示,miR-21 在恶性肿瘤组均明显高于良性肿瘤组。但基于 miR-21 表达具有广谱性,将 miR-21 单项检测用于乳腺癌早期诊断,特异度较低,因此,本研究将 miR-21 与 sICAM-1、CA153 联合检测,以提高临床对于乳腺癌早期诊断的特异度。sICAM-1 作为介导细胞间黏附的黏附分子,与其配体结合可介导肿瘤细胞与不同细胞、基质的黏附,以此促进肿瘤的侵袭和转移。研究显示,sICAM-1 在肝癌组织中表达显著增加,水平与肿瘤的大小、包膜的完整性密切相关,且有转移组 sICAM-1 水平显著高于无转移组,sICAM-1 已作为预测肝癌转移、复发和预后的重要生物学指标^[14]。亦有研究发现,sICAM-1 在乳腺癌组织中的表达强度和阳性率明显高于相应的正常乳腺组织^[15],与本研究对 sICAM 的检测结果高度一致,提示本研究选择将 sICAM-1 作为乳腺癌早期诊断的指标之一切实可行。CA153 作为公认的乳腺癌相关抗原,不仅用于乳腺癌的监测和筛查,还可作为乳腺癌骨转移及预后的标志物^[16],但单独将 CA153 作为乳腺癌早期诊断的标志物尚存在片面性。因此,本研究将血清 miR-21、sICAM-1、CA153 联合检测用于乳腺癌的早期诊断,其灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断效率较单项检测均显著提高,分别为 87.1%、90.3%、93.3%、81.8%、89.2%,且联合检测早期诊断乳腺癌的 ROC 曲线下面积为 0.891,说明联合检测对乳腺癌的早期诊断有重要临床价值。本研究不足之处在于纳入的样本量相对较少,后续研究中,将采取前瞻性研究,扩大临床样本量,进一步确定适合本地区特色的乳腺癌早期诊断模式。

参考文献

- [1] FAHAD U M. Breast cancer: current perspectives on the disease status[J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1152(1): 51-64.
- [2] ODLE T G. Precision medicine in breast cancer[J]. Radiol Technol, 2017, 88(4): 401-421.
- [3] PEAIRS K S, CHOI Y, STEWART R W, et al. Screening for breast cancer[J]. Semin Oncol, 2017, 44(1): 60-72.
- [4] MILOSEVIC M, JANKOVIC D, MILENKOVIC A, et al. Early diagnosis and detection of breast cancer[J]. Technol Health Care, 2018, 26(4): 729-759.
- [5] 张晓洁, 张美娟, 张立涛, 等. CEA、CA153、CYFRA21-1、CRP 联合检测在乳腺癌辅助诊断中的临床价值探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(23): 3352-3354.
- [6] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 236-239.
- [7] BHARALI D, JEBUR H B, BAISHYA D, et al. Expression analysis of serum microRNA-34a and microRNA-183 in hepatocellular carcinoma[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2018, 19(9): 2561-2568.
- [8] XIN L, GAO J, WANG D, et al. Novel blood-based microRNA biomarker panel for early diagnosis of chronic pancreatitis[J]. Sci Rep, 2017, 7: 40019-40028.
- [9] LIU S S, CHAN K K, CHU D K, et al. Oncogenic microRNA signature for early diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia and cancer[J]. Mol Oncol, 2018, 12(12): 2009-2022.
- [10] FENG C, ZHANG L H, SUN Y, et al. GDPD5, a target of miR-195-5p, is associated with metastasis and chemoresistance in colorectal cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 101: 945-952.
- [11] EMAMI S S, NEKOUIAN R, AKBARI A, et al. Evaluation of circulating miR-21 and miR-222 as diagnostic biomarkers for gastric cancer[J]. J Cancer Res Ther, 2019, 15(1): 115-119.
- [12] ZAMANI S, SOHRABI A, HOSSEINI S M, et al. Deregulation of miR-21 and miR-29a in cervical cancer related to HPV infection[J]. Microna, 2019, 8(2): 110-115.
- [13] WANG H, TAN Z Q, HU H, et al. microRNA-21 promotes breast cancer proliferation and metastasis by targeting LZTFL1[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 738-751.
- [14] CHEN V L, LE A K, PODLAHA O, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 is associated with hepatocellular carcinoma risk: multiplex analysis of serum markers[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 11169-11177.
- [15] THIELEMANN A, BASZCZUK A, KOPCZYNSKI Z, et al. The clinical usefulness of assessing the concentration of cell adhesion molecules sVCAM-1 and sICAM-1 in the serum of women with primary breast cancer[J]. Contemp Oncol (Pozn), 2014, 18(4): 252-259.
- [16] KAZARIAN A, BLYUSS O, METODIEVA G A, et al. Testing breast cancer serum biomarkers for early detection and prognosis in pre-diagnosis samples[J]. Br J Cancer, 2017, 116(4): 501-508.

(收稿日期: 2020-09-23 修回日期: 2020-12-29)