

血清中肿瘤相关钙信号转导蛋白 2 抗体 对乳腺癌诊断及预后的临床价值

郑 专 董学君

摘 要 **目的** 探讨乳腺癌患者血清中肿瘤相关钙信号转导蛋白 2 (TACSTD2) 抗体表达水平及其在乳腺癌诊断及预后中的临床应用价值。**方法** 用表达 TACSTD2 的噬菌体包被空白的微孔板, ELISA 法分别检测 100 例乳腺癌患者、60 例乳腺良性增生患者及 60 名健康体检者血清中 TACSTD2 抗体含量。**结果** 与健康对照组相比, 乳腺癌患者血清中 TACSTD2 抗体含量明显升高, 具有统计学意义 ($P < 0.001$); 乳腺癌患者组血清中 TACSTD2 抗体含量亦明显高于良性对照组 ($P < 0.001$); 但是已发生淋巴结转移的乳腺癌患者与未发生淋巴结转移的患者血清中 TACSTD2 抗体含量相比较, 无显著性差异 ($P > 0.05$)。**结论** 血清 TACSTD2 抗体的表达与乳腺癌的发生密切相关, 可作为乳腺癌诊断的肿瘤标志物。

关键词 TACSTD2 乳腺癌 肿瘤标志物

Diagnostic Value of Antibody Against Tumor - associated Calcium Signal Transducer 2 in Patients with Breast Cancer. Zheng Zhuan, Dong Xuejun. Molecular Medicine Center, Shaoxing People's Hospital, Zhejiang 312000, China

Abstract Objective To evaluate the application value of antibody against tumor - associated calcium signal transducer 2 (TACSTD2) in the treatment effect monitoring in breast cancer. **Methods** Antibody against TACSTD2 was determined by ELISA in breast cancer patients ($n = 100$), benign breast disease patients ($n = 60$) and health controls ($n = 60$). **Results** The level of antibody against TACSTD2 was significantly higher in breast cancer patients than that in health controls and in benign breast disease patients ($P < 0.001$). However, there was no statistically significant difference between antibody against TACSTD2 in the breast cancer patients who had axillary lymph node metastasis and that in the breast cancer patients who had no axillary lymph node metastasis ($P > 0.05$). **Conclusion** Antibody against TACSTD2 is helpful in the diagnosis of breast cancer.

Key words TACSTD2; Breast neoplasms; Tumor markers

乳腺癌是危害妇女健康的主要恶性肿瘤之一。近年来, 乳腺癌发病率呈明显上升趋势, 流行病学调查表明, 女性 25 ~ 35 岁乳腺癌的发病率大幅增加, 55 ~ 65 岁为第 2 个发病高峰。在大中城市, 乳腺癌已跃居女性恶性肿瘤的首位或第 2 位, 成为“女性之敌”。检测乳腺癌血清标志物可以反映肿瘤的生物特性, 对辅助诊断、指导治疗及判断预后均有重要意义。肿瘤相关钙信号转导蛋白 2 (TACSTD2) 在人类的角膜、胰腺、前列腺等器官中均有表达, 并在正常的滋养层细胞、多层上皮细胞及上皮癌中高度表达^[1-4]。TACSTD2 参与多种细胞的增殖、凋亡相关基因和癌基因的转录。TACSTD2 的表达与肿瘤侵袭及预后有关, 已有研究报道, 乳腺癌组织中 TACSTD2 的基因表达量远远高于正常乳腺组织, 但是乳腺癌患

者血清 TACSTD2 抗体含量是否高于正常人, TACSTD2 抗体检测能否作为检测乳腺癌的标志物之一, 还有待进一步研究^[5-8]。

本文利用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测 100 例乳腺癌患者血清中 TACSTD2 抗体的含量, 探讨血清中 TACSTD2 抗体在乳腺癌的诊断及预后中的临床应用价值。

对象与方法

1. 对象: 经病理和影像学确诊的乳腺癌患者共 100 例, 年龄 35 ~ 70 岁, 其中无淋巴结转移 36 例, 有淋巴结转移 64 例。病理确诊为乳腺良性疾病患者 60 例, 年龄 26 ~ 58 岁, 其中乳腺纤维瘤 31 例, 乳腺囊肿 29 例。以上研究对象均为绍兴市人民医院住院患者。对照组为 60 名健康体检者, 年龄 20 ~ 65 岁, 无任何慢性疾病。

2. 标本采集: 均采空腹静脉血 5ml, 4℃ 1800 × g 离心 10min, 收集血清并于 -20℃ 保存待测。

3. TACSTD2 抗体测定: 将表达 TACSTD2 的 T7 噬菌体液 1:1000 稀释, 并包被 96 孔酶标板, 4℃ 冰箱内过夜, 次日每孔加 200μl 5% 牛血清白蛋白 (BSA)/磷酸盐缓冲液 (PBS) 室温

基金项目: 浙江省医药卫生科学研究基金资助项目 (2009A208)

作者单位: 312000 绍兴市人民医院分子医学中心

通讯作者: 董学君, 电子信箱: dxj9666@163.com

封闭 2h;用 TBS - T (50mmol/L Tris - HCl pH 7.5, 0.15mol/L NaCl, 0.1% 吐温 20) 洗 5 次, 每次 3min, 加入 1:100 稀释的血清样本 100 μ l, 室温孵育 1h;用 TBS - T 洗 5 次, 加入 1:10000 稀释的 HRP 偶联的山羊抗人 IgG100 μ l, 室温放置 1h;用 TBS - T 洗 5 次, 加入显色液 A、B 各 1 滴, 于 37℃ 孵育 15min, 立即加入终止液 1 滴;酶标仪 450nm 波长下检测 OD 值。每孔反应均重复 3 次, 并设阴性对照和空白对照。按试剂说明书, Cutoff 值 = 2.0 $\times$ 阴性对照平均 OD 值。

4. 统计学方法:数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. TACSTD2 抗体在乳腺癌、乳腺良性肿瘤患者及健康体检女性血清中的表达:乳腺癌患者血清中 TACSTD2 抗体水平高于健康对照组及乳腺良性疾病组患者 ($P < 0.001$);而乳腺良性疾病组与健康对照组之间无显著性差异 ($P = 0.274$, 表 1)。

表 1 乳腺癌组及对照组 TACSTD2 抗体含量比较

组别	n	血清 TACSTD2 抗体含量 (S/cut off)
正常对照组	60	5.9 ± 1.2
乳腺良性疾病组	60	6.2 ± 1.3
乳腺癌组	100	$17.1 \pm 3.5^*$

与正常对照组或与乳腺良性对照组比较, * $P < 0.05$

2. 乳腺癌患者血清中 TACSTD2 抗体水平与肿瘤淋巴结转移的关系:出现淋巴结转移的患者与未出现转移的患者 TACSTD2 抗体水平无显著性差异 ($P = 0.162$, 表 2)。

表 2 血清 TACSTD2 抗体表达与乳腺癌淋巴结转移的关系

淋巴结转移	n	血清 TACSTD2 抗体含量 (S/cut off)
阳性	64	18.3 ± 3.9
阴性	36	17.1 ± 3.4

讨 论

大量研究结果显示,人体内的肿瘤能诱导机体产生免疫反应,生成抗肿瘤相关抗原 (TTA) 的自身抗体,其在肿瘤抗原表达量很低的时候就能检测出。ADMON A 和 SHOSHAN SH 提出,这些自身抗体可直接作用于体内细胞表面的受体,活化和刺激细胞生长的信号传导通路,从而可能导致细胞无限制的增殖,甚至诱导肿瘤的发生^[10]。这些异常的自身抗体有可能出现在肿瘤发生早期的某个阶段,在上调促肿瘤受体的表达,增加肿瘤的恶性程度或者在导致肿瘤获得潜在的转移能力中起到关键性的作用,因此产生的自身抗体有可能作为肿瘤发生标志物。

本研究显示乳腺癌患者血清中 TACSTD2 抗体整

体水平显著高于正常对照组及乳腺良性疾病组,而乳腺良性疾病组的 TACSTD2 抗体水平与正常对照组无显著性差异,表明该指标可用于乳腺癌的辅助诊断。我们进一步研究发现,发生淋巴结转移的乳腺癌患者与未发生淋巴结转移的患者血清中 TACSTD2 抗体含量相比,无显著性差异 ($P > 0.05$),说明该指标在监测乳腺癌病情方面价值不大。

研究中我们还应用了噬菌体展示技术,用噬菌体展示肽库来源的模拟抗原替代 TACSTD2,包被微孔板,用 ELISA 法检测血清中的抗体^[11]。其操作简便,重复性好,检测速度快,可以对乳腺癌进行早期诊断,有利于肿瘤的早期治疗,提高患者的生存率。

总而言之,检测乳腺癌患者血清中的 TACSTD2 抗体,为肿瘤的诊断与治疗提供一个新的有效思路。

参考文献

- 1 Birkenkamp - Demtroder K, Olesen SH, Srensen FB, *et al.* Differential gene expression in colon cancer of the caecum versus the sigmoid and rectosigmoid[J]. Gut, 2005, 54:374 - 384
- 2 Nakashima K, Shimada H, Ochiai T, *et al.* Serological identification of TROP2 by recombinant cDNA expression cloning using sera of patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer, 2004, 112(6):1029 - 1035
- 3 Santin AD, Zhan F, Bellone S, *et al.* Gene expression profiles in primary ovarian serous papillary tumors and normal ovarian epithelium; identification of candidate molecular markers for ovarian cancer diagnosis and therapy[J]. Int J Cancer, 2004, 112(1):14 - 25
- 4 Iacobuzio - Donahue CA, Maitra A, Shen - Ong GL, *et al.* Discovery of novel tumor markers of pancreatic cancer using global gene expression technology[J]. Am J Pathol, 2002, 160(4):1239 - 1249
- 5 Coldren CD, Helfrich BA, Witta SE, *et al.* Baseline gene expression predicts sensitivity to gefitinib in nonsmall cell lung cancer cell lines[J]. Mol Cancer Res, 2006, 4(8):521 - 528
- 6 Mühlmann G, Spizzo G, Gostner J, *et al.* TROP2 expression as prognostic marker for gastric carcinoma[J]. Clin Pathol, 2009, 62:152 - 158
- 7 Wang J, Day R, Dong Y, *et al.* Identification of Trop - 2 as an oncogene and an attractive therapeutic target in colon cancers[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(2):280 - 285
- 8 Pau NIB, Zakaria Z, Muhammad R, *et al.* Gene expression patterns distinguish breast carcinomas from normal breast tissues; the Malaysian context[J]. Pathol Res Pract, 2010, 206(4):223 - 228
- 9 Tan EM, Zhang J. Autoantibodies to tumor associated antigens: reporters from the immune system[J]. Immunol Rev, 2008, 222(1):328 - 340
- 10 Admon A, Shoshan SH. Antibodies as oncogenes; a hypothesis[J]. Med Hypotheses, 2006, 67(3):471 - 473
- 11 董学君,李志国,杨明峰,等. 乳腺癌新指标的筛选及其临床价值验证[J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28(11):2005 - 2006

(收稿:2011 - 12 - 31)

(修回:2012 - 02 - 16)