

乳腺癌组织及血清 MICA 表达特点

张晓燕 周 斌

摘 要 **目的** 检测乳腺癌组织及血清中主要组织相容性复合体 I 类相关基因 A (MICA) 水平, 研究其对于乳腺癌诊断的意义。**方法** RT-PCR 检测 32 例乳腺癌及癌旁组织 MICA mRNA 表达水平, ELISA 法检测 56 例乳腺癌血清、69 例乳腺良性疾病血清及 75 例健康体检者血清中 MICA 浓度, 分析其与临床病理参数的关系。**结果** 乳腺癌组织 MICA 阳性表达率 81.25% (26/32) 显著高于癌旁组织 9.38% (3/32), 乳腺癌组 MICA mRNA 相对表达量 (1.36 ± 0.18) 显著高于乳腺癌旁 (0.76 ± 0.09), 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$); 患者血清中 MICA 浓度显著高于乳腺良性疾病患者及健康体检者; 与临床病理特征关系分析表明, I 期 + II 期乳腺癌组织 MICA mRNA 表达显著高于 III 期 + IV 期, 与血清中不一致 (III 期 + IV 期乳腺癌患者血清中 MICA 蛋白表达量显著高于 I 期 + II 期); 乳腺癌组织 MICA mRNA 水平与淋巴结转移与否无明显相关性, 转移组血清 MICA 蛋白浓度显著高于未转移者, 与年龄及分级无明显相关性。**结论** MICA 可作为乳腺癌诊断的辅助指标, 并与临床分期相关; 早期肿瘤组织高表达 MICA, 从而诱导 NK 细胞杀灭肿瘤细胞, 晚期肿瘤组织表面 MICA 脱落至血液是导致其高表达。

关键词 MICA PCR 乳腺癌

[中图分类号] R737 [文献标识码] A

Clinical Significance of MICA in the Diagnosis of Breast Cancer. Zhang Xiaoyan, Zhou Bin. The Third People's Hospital of Haining, Zhejiang 314408, China

Abstract **Objective** To evaluate the value of MICA in the diagnosis of breast cancer. **Methods** Reverse transcription-PCR were used to study the MICA expression in 32 breast cancer and adjacent tissues. The serum concentration of MICA in the breast cancer patients (56 cases), benign breast disease patients (69 cases) and healthy women (75 cases) were detected by ELISA kit. **Results** The positive rate of MICA mRNA in breast cancer and adjacent tissues was 81.25% (26/32) and 9.38% (3/32) respectively, and the former was obviously higher than the latter. The serum concentration of MICA in the breast cancer patients was obviously higher than benign breast disease patients and healthy women. The concentration of serum MICA in breast cancer with III + IV stage was dramatically higher than that of I + II stage, and also higher in the breast cancer patients with axillary lymph node metastasis. But the level of MICA mRNA in patients with I + II stage was higher than III + IV stage, and had no correlation with axillary lymph node metastasis. **Conclusion** The measurement of serum MICA and MICA RNA provides useful information for early diagnosis of disease in patients with breast cancer.

Key words MICA; PCR; Breast cancer

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一。2011 年美国《Chemical Abstracts》杂志公布的最新统计数据 displays, 仅 2011 年美国就将有 20 万以上的女性罹患乳腺癌, 其发生率已占据妇科肿瘤的 31%^[1]。近年来主要组织相容性复合体 I 类相关基因 A (MICA) 越来越吸引研究者兴趣。肿瘤细胞表面表达 NK 细胞的活化型受体 (NKG2D) 的配体 MICA 蛋白, 激活 NK 细胞和 CD8⁺T 细胞的细胞毒作用, 杀灭肿瘤细胞。随着肿瘤进展, 组织细胞的 MICA 从肿瘤细胞表面脱落到癌细胞周围的间质组织及血液中, 成为可溶性 MICA, 下调 NK 细胞对抗肿瘤细胞的作用, 可能是

肿瘤免疫逃逸的机制^[2,3]。本研究通过检测乳腺癌组织及血清中 MICA 表达水平, 探讨其与乳腺癌进展相关临床参数的相关性, 为临床诊断提供新的参考, 为进一步以 MICA 为靶点进行乳腺癌免疫治疗提供基础。

材料与方法

1. 实验对象: 收集具有明确病理和影像学诊断的乳腺癌患者组织 32 例, 按照 1972 年国际抗癌协会修订的乳腺癌临床分期法分期, 其中 I 期 + II 期 15 例, III 期 + IV 期 18 例; 同时收集血清 56 例, 患者年龄 25 ~ 69 岁, 平均年龄 43.5 岁; 乳腺良性疾病组 69 例, 包括乳腺纤维瘤, 乳腺小叶增生等其他乳腺疾病患者, 年龄 23 ~ 67 岁, 平均年龄 45.2 岁; 笔者医院女性健康体检者 75 例为正常对照组, 年龄 21 ~ 65 岁, 平均年龄 41.6 岁。

作者单位: 314408 浙江省海宁市第三人民医院 (张晓燕); 海宁市中医院 (周斌)

2. RT-PCR 检测: MICA 液氮研磨约 1g 组织标本, Trizol 试剂提取总 RNA, 按照反转录试剂盒说明书, 将总 RNA 反转录成 cDNA 后, 进行 MICA 的 PCR 反应, 引物序列为上游: 5'-CTGTGCCATACCAGTTAA-3', 下游: 5'-ATCAAGGAC-CAGAAAGAAGG-3', 产物片段长 439bp; PCR 反应条件: 94℃ 2min, 94℃ 30s, 54℃ 30s, 72℃ 45s, 循环 35 次, 72℃ 延伸 5min, 4℃ 保存; PCR 产物上样于 1.5% 琼脂糖凝胶上进行电泳检测, 凝胶成像系统分析, 以 MICA 和 β -actin 电泳带的荧光强度灰度值的比值表示其 mRNA 的相对表达量。

3. 血清 MICA 检测: 收集各组患者及健康体检者血清标本, 储藏于 -70℃ 冰箱备用。按照 ELISA 试剂盒说明书操作, 检测各标本中 MICA 浓度。

4. 统计学方法: 运用 SPSS 16.0 统计学软件进行分析, 计量资料应用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 来描述, 阳性率的比较采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 乳腺癌组织 MICA PCR 结果分析: 乳腺癌及癌旁组织 MICA PCR 电泳结果如图 1 所示, 乳腺癌病灶组织和相应的癌旁组织阳性表达率分别为 81.25% (26/32) 和 9.38% (3/32)。

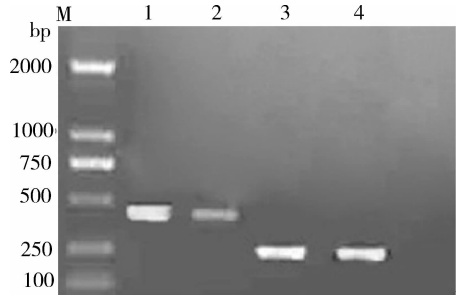


图 1 PCR 产物电泳结果图

M. 分子质量标准; 1. 癌组织 MICA; 2. 癌旁 MICA; 3. 癌组织 actin; 4. 癌旁组织 actin

2. 乳腺癌组织 MICA mRNA 表达水平与临床病理特征相关性分析: 以 MICA 和 β -actin 电泳带的荧光强度灰度值的比值表示其 mRNA 的相对表达量, 乳腺癌组 MICA mRNA 相对表达量为 1.36 ± 0.18 , 显著高于乳腺癌旁组织 0.76 ± 0.09 ; 15 例 I 期 + II 期乳腺癌组织 MICA mRNA 相对表达量表示成 1.75 ± 0.39 , 显著高于 III 期 + IV 期 0.96 ± 0.13 ($P < 0.01$); 其表达量与淋巴结转移无明显的相关性。

3. 血清中 MICA 的 ELISA 结果: 与 56 例乳腺癌患者 MICA 水平相比, 乳腺良性病组和健康体检者其浓度明显降低, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。乳腺良性病患者血清 MICA 较健康体检者高, 无统计学差异 (表 1)。

表 1 各组血清 MICA ELISA 检测结果

组别	n	MICA (pg/ml)
乳腺癌	56	195.63 $\pm$ 89.16
乳腺良性病	69	71.28 $\pm$ 30.06 *
健康体检者	75	51.97 $\pm$ 19.65 *

与乳腺癌组相比, * $P < 0.05$

4. MICA 浓度与乳腺癌临床病理特征相关性: 33 例 III 期 + IV 期乳腺癌患者血清中含量明显高于 I 期 + II 期, 淋巴结转移者 MICA 浓度明显高于未转移者, MICA 浓度与患者年龄和分化程度无明显相关性, 具体情况见表 2。

表 2 MICA 浓度与乳腺癌临床病理特征相关性

临床特征	n	MICA 浓度 (pg/ml)
年龄 (岁)		
≥ 55	31	205.87 $\pm$ 102.37
< 55	25	182.98 $\pm$ 75.69
临床分期 *		
I、II 期	23	155.49 $\pm$ 59.02
III、IV 期	33	223.61 $\pm$ 117.89
淋巴结转移 *		
是	21	238.21 $\pm$ 106.78
否	35	170.08 $\pm$ 69.32
分化程度		
高分化	28	208.19 $\pm$ 98.27
中低分化	28	182.35 $\pm$ 82.16

组内比较, * $P < 0.05$

讨 论

近年来乳腺癌的发病率逐年上升, 严重威胁健康, 对乳腺癌的早期诊断是提高生存率和生活质量的关键。NK 细胞在控制肿瘤发生、发展过程中起重要作用, 通过识别肿瘤细胞表面活化和抑制性分子标志, 从而控制对肿瘤细胞杀伤作用。NKG2D 是 NK 细胞表面一个重要的激活性受体, 能识别肿瘤细胞表面主要组织相容性复合体 I 类相关基因 A (MICA), 从而激活 NK 细胞和 CD8⁺ T 细胞的细胞毒作用, 杀灭肿瘤细胞^[4]。研究表明早期分化程度较高的肿瘤组织细胞 MICA 表达量较高, 迅速诱导 NK 细胞杀伤肿瘤细胞发挥免疫监视作用。本研究发现乳腺癌组织 MICA mRNA 表达水平明显高于癌旁组织, 说明 MICA 来源于肿瘤组织, 可能作为乳腺癌诊断新的潜在标志物。晚期肿瘤细胞表面 MICA 蛋白脱落释放到间质及血清中形成可溶性 MICA 进而引起肿瘤免疫逃逸^[5,6]。血清中可溶性 MICA 可通过 ELISA 法进行检测, 本实验中笔者检测出乳腺癌血清中其水平明

显高于良性疾病和健康体检者,说明其来自肿瘤组织。随着肿瘤进一步进展,血清中浓度明显升高,肿瘤细胞表面的 MICA 脱落到血清中变成的可溶性 sMICA 进一步加剧,从而导致其失去介导 NKG2D 杀灭肿瘤细胞的作用,故可能作为肿瘤逃逸指标^[7]。

本研究发现,Ⅰ期+Ⅱ期乳腺癌组织 MICA mRNA 表达显著高于Ⅲ期+Ⅳ期,而Ⅲ期+Ⅳ期乳腺癌患者血清中 MICA 蛋白表达量显著高于Ⅰ期+Ⅱ期。乳腺癌患者初期肿瘤细胞表面表达 MICA,组织中表达水平增高,随着肿瘤进展,肿瘤细胞表面 MICA 蛋白脱落释放到间质及血清中形成可溶性 MICA 进而引起肿瘤免疫逃逸,此时组织中 MICA 检测量降低,而血清中可溶性 MICA 量升高,血清可溶性 MICA 随着分期逐渐升高,削弱了 NK 细胞对肿瘤细胞免疫抑制作用,可以此为肿瘤免疫治疗研究靶点。同时血清中可溶性 MICA 还与淋巴结转移相关,可能作为乳腺癌转移与否的辅助判断指标。

参考文献

- 1 Liu SH, Liu YF, Liou SH, *et al.* Mortality and cancer incidence among physicians of traditional Chinese medicine: a 20-year national

- follow-up study[J]. *Occup Environ Med*, 2010, 67(3): 166-169
- 2 Zou Y, Stastny P. Role of MICA in the immune response to transplants[J]. *Tissue Antigens*, 2010, 76(3): 171-176
- 3 Sanchez-Correa B, Morgado S, Gayoso I, *et al.* Human NK cells in acute myeloid leukaemia patients: analysis of NK cell-activating receptors and their ligands[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60(8): 1195-1205
- 4 Ashiru O, López-Cobo S, Fernández-Messina L, *et al.* A GPI anchor explains the unique biological features of the common NKG2D-ligand allele MICA*008[J]. *Biochem J*, 2013, 454(2): 295-302
- 5 Bedel R, Thiery-Vuillemin A, Grandclement C, *et al.* Novel role for STAT3 in transcriptional regulation of NK immune cell targeting receptor MICA on cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(5): 1615-1626
- 6 Kloess S, Huenecke S, Piechulek D, *et al.* IL-2-activated haploidentical NK cells restore NKG2D-mediated NK-cell cytotoxicity in neuroblastoma patients by scavenging of plasma MICA[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(11): 3255-3267
- 7 Serrano AE, Menares-Castillo E, Garrido-Tapia M, *et al.* Interleukin 10 decreases MICA expression on melanoma cell surface[J]. *Immunol Cell Biol*, 2011, 89(3): 447-457

(收稿日期:2013-11-07)

(修回日期:2013-12-02)

惠州地区肾活检患者的流行病学分析

林克宣 刘冠贤 吴 勇 黄成文 石咏军 钟伟强

摘 要 **目的** 了解惠州地区肾活检病例流行病学情况,提高本地区慢性肾脏病诊治水平。**方法** 回顾性分析了惠州地区肾活检病例的病理类型构成情况,分析病理类型与性别、年龄的关系。**结果** 肾活检病例共 309 例,原发性肾小球疾病(PGN)250 例(80.9%),继发性肾小球疾病(SGN)58 例(18.8%),肾小管间质疾病 1 例(0.3%)。PGN 中前 3 位病理类型是 IgA 肾病(IgAN)、微小病变、膜性肾病(MN),SGN 中前 3 位病理类型是狼疮性肾炎、乙型肝炎相关性肾炎、过敏性紫癜性肾炎和糖尿病肾病。MN 占 PGN 的比例(20.0%)明显高于国内文献报告,与国内文献比较其差异有统计学意义($P < 0.05$)。PGN 以男性多见,SGN 以女性多见,PGN 和 SGN 的高发人群均为青年人。**结论** 惠州地区 PGN 以 IgAN 最常见。MN 占 PGN 比例明显高于国内文献报告,这是本地区肾活检病例最突出流行病学特点。

关键词 肾活检 流行病学 肾脏病理

[中图分类号] R692 [文献标识码] A

Epidemiological Analysis of Renal Biopsy in Huizhou. Lin Kexuan, Liu Guanxian, Wu Yong, Huang Chengwen, Shi Yongjun, Zhong Weiqiang. Department of Nephrology, Huizhou Central People's Hospital, Clinical Key Specialty in Guangdong Province, Guangdong 516001, China

Abstract Objective To understand the epidemiological situation of cases with renal biopsy in Huizhou, and improve the level of diagnosis and treatment of chronic kidney disease in Huizhou region. **Methods** The pathological type composition of the cases with renal

基金项目:广东省科技计划项目(2012B031800343)

作者单位:516001 广东省惠州市中心人民医院肾内科

通讯作者:石咏军,电子信箱:1287901286@qq.com