

miR-126 和 CA125 在乳腺癌中的含量及其临床意义

王 卉 陆芸瑶 吴立翔 喻 垚 李光新 郭变琴

摘 要 **目的** 分析 miR-126 在乳腺癌患者肿瘤组织, CA125 在乳腺癌患者血浆中的含量及其与临床病理特征间的关系。**方法** 使用实时荧光定量 PCR 法检测 miR-126 在 26 例乳腺癌肿瘤组织及 36 例癌旁组织中的含量, 使用化学发光免疫法检测 26 例乳腺癌患者血浆及 39 例健康对照血浆中 CA125 的含量, 并与临床病理特征进行相关性分析。**结果** miR-126 在乳腺癌患者肿瘤组织及癌旁组织中的含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与健康对照比较, CA125 在乳腺癌患者血浆中的含量显著升高 ($P < 0.05$); CA125 的含量与年龄、肿瘤直径和临床分期无关 ($P > 0.05$), 但与乳腺癌淋巴结转移情况相关 ($P < 0.05$), 并且 CA125 在不同区域淋巴结临床分类中的含量比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 血浆中 CA125 的含量与乳腺癌淋巴结转移相关, CA125 可能作为预测乳腺癌淋巴结转移情况的新标志物。

关键词 乳腺癌 MiR-126 CA125

中图分类号 R737.9

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.01.031

Clinical Significance of MiR-126 and CA125 Expression in Breast Cancer. Wang Hui, Lu Yunyao, Wu Lixiang, et al. Chongqing Key Laboratory of Translational Research for Cancer Metastasis and Individualized Treatment, Chongqing University Cancer Hospital & Chongqing Cancer Institute & Chongqing Cancer Hospital, Chongqing 400030, China

Abstract **Objective** To explore the level of miR-126 in the breast cancer tissues and the concentration of CA125 in the plasma of breast cancer patients. And analyze the relevance between the levels of miR-126, CA125 and clinicopathological features of breast cancer patients. **Methods** Real-time fluorescence quantitative PCR was applied to measure the level of miR-126 in 26 tumor tissues and 36 adjacent tissues. The concentration of CA125 was detected by Chemiluminescence immunoassay in the plasma of 26 breast cancer patients and 39 controls. **Results** Compared with adjacent tissues, the level of miR-126 in tumor tissues was not obviously increased ($P > 0.05$). Compared with the controls, the concentration of CA125 was obviously increased in the plasma of breast cancer patients ($P < 0.05$). The level of CA125 was obviously related to lymph node metastasis ($P < 0.05$), but not associated with the age, tumor size and clinical stages ($P > 0.05$). Furthermore, our results showed that the level of CA125 in the plasma exhibited statistical differences among various lymph node metastasis subtypes ($P < 0.05$). **Conclusion** The level of CA125 is correlated with the lymph node metastasis, suggesting that it can be a marker for predicting lymph node metastasis of breast cancer patients.

Key words Breast cancer; MiR-126; CA125

microRNA (miRNA) 具有组织特异性、稳定性等优点,越来越多的 miRNA 被用来作为癌症诊断的标志物^[1]。研究发现 miR-126 在胃肠道肿瘤、甲状腺肿瘤、肺癌等多种肿瘤细胞中表达异常^[2]。CA125 是用于卵巢癌筛查的肿瘤标志物,许多研究显示,CA125 在其他癌症及免疫性疾病中也有重要作用^[3]。

miR-126 和 CA125 在乳腺癌中的研究相对较少,因此本研究检测了乳腺癌患者肿瘤组织中 miR-

126 的含量及血浆中 CA125 的含量,同时分析其与患者临床病理特征间的关系,希望这些新的标志物可以为乳腺癌的诊断和治疗提供依据。

资料与方法

1. 临床资料:收集重庆大学附属肿瘤医院 2017 年 1 月~2018 年 1 月间冻存的石蜡包埋乳腺癌组织标本 26 例,所有患者均经病理科医生确诊,术前均未接受放疗、化疗,且临床病理资料完整,患者平均年龄 52.08 ± 7.92 岁。根据美国癌症联合会 (AJCC) 和国际抗癌联盟 (UICC) 有关乳腺癌的 TNM 分期标准:Ⅰ期 5 例,Ⅱ期 12 例,Ⅲ期 7 例,Ⅳ期 2 例;有淋巴结转移者 16 例,无淋巴结转移者 10 例。癌旁组织 36 例,患者平均年龄 40.89 ± 12.27 岁。回顾乳腺癌患者的临床病理资料,获得 26 例患者的血浆 CA125 检测结

基金项目:重庆市卫生和计划生育委员会基金资助项目 (2016MSXM089)

作者单位:400030 重庆大学附属肿瘤医院、重庆市肿瘤研究所、重庆市肿瘤医院、肿瘤转移与个体化诊治转化研究重庆市重点实验室

通讯作者:郭变琴,电子信箱:178098941@qq.com

果,随机抽取同期检测的健康对照血浆 CA125 检测结果 39 例,平均年龄 43.92 ± 15.31 岁。本研究经笔者医院医学伦理学委员会批准,且所有患者均签署知情同意书。

2. 试剂与仪器:石蜡包埋组织切片 miRNA 提取试剂盒购自天根生化科技有限公司,miRNA 反转录试剂盒、miR-126 及内参 U6 的特异性茎环引物购自美国 GeneCopoeia 公司,SYBR® Premix Ex Taq 试剂盒购自宝生物工程有限公司,CA125 检测试剂购自德国西门子公司。CFX-Connect 荧光定量 PCR 仪、NanoDrop 1000 核酸浓度测定仪、Fresco17 高速冷冻离心机购自美国 Thermo 公司,ADVIA Centaur CP 全自动化学发光免疫分析仪购自德国西门子公司。

3. 实验方法:(1)使用石蜡包埋组织切片 miRNA 提取试剂盒提取乳腺癌及癌旁组织石蜡切片中的 miRNA。经 NanoDrop 1000 核酸浓度测定仪检测获得的 miRNA 的纯度及浓度合格后,用 miRNA 反转录试剂盒进行反转录。反转录产物按照 SYBR® Premix Ex Taq 试剂盒提供的方法检测组织中 miR-126 的含量。上述实验进行 3 次重复。(2)按照西门子 ADVIA Centaur CP 全自动化学发光免疫仪使用说明,检测乳腺癌患者及健康对照血浆中 CA125 的含量。

4. 统计学方法:采用 SPSS 24.0 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,miRNA 的相对定量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行计算,两指标相关性采用 Spearman 相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. miR-126 在乳腺癌患者癌旁组织和肿瘤组织中的含量:实时荧光定量 PCR 检测 26 例乳腺癌患者肿瘤组织及 36 例癌旁组织中 miR-126 的含量,结果显示二者间 miR-126 的含量比较差异无统计学意义 ($P = 0.139$,图 1)。

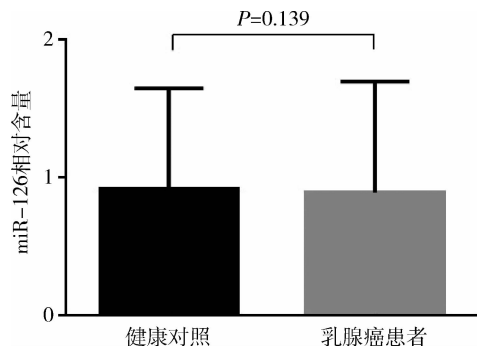


图 1 miR-126 在乳腺癌患者癌旁组织和肿瘤组织中的水平

2. CA125 在健康对照及乳腺癌患者血浆中的含量:应用化学发光免疫法检测 26 例乳腺癌患者化疗前及 39 例健康对照血浆中 CA125 的含量,与对照组比较,乳腺癌患者血浆中 CA125 含量明显升高 ($P = 0.012$,图 2)。

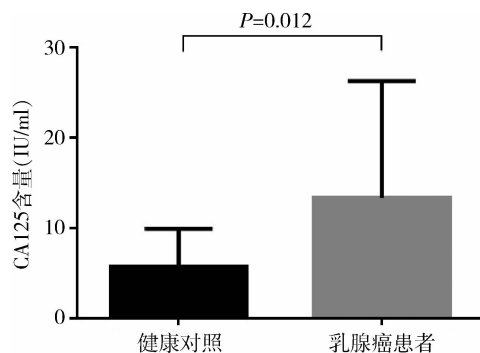


图 2 CA125 在健康对照及乳腺癌患者血浆中的含量

3. 乳腺癌患者化疗前血浆中 CA125 的含量与临床病理特征间的关系:以乳腺癌患者血浆中 CA125 含量的中位数为分界点,分为高含量组和低含量组。乳腺癌患者化疗前血浆中 CA125 的含量与患者区域淋巴结转移情况有关 ($P = 0.010$),与年龄 ($P = 0.560$)、肿瘤直径 ($P = 0.226$)、临床分期 ($P = 0.086$) 等无关(表 1)。

表 1 乳腺癌患者化疗前血浆中 CA125 的含量与临床病理特征间的关系

病理特征	n	CA125 含量		P
		低含量	高含量	
年龄(岁)				0.560
< 50	12	4	8	
≥ 50	14	8	6	
肿瘤直径(cm)				0.226
< 5	22	11	11	
≥ 5	4	1	3	
TNM 分期				0.086
I 期	5	4	1	
II 期	12	6	6	
III 期	7	1	6	
IV 期	2	1	1	
淋巴结转移				0.010
否	10	7	3	
是	16	5	11	

4. CA125 在乳腺癌患者化疗前血浆中不同区域淋巴结临床分类中的含量:为了进一步分析 CA125 的含量与乳腺癌患者区域淋巴结临床分类的关系 (N_0 :无区域淋巴结转移; N_1 :同侧腋窝淋巴结转移,

可移动; N_2 : 同侧腋窝淋巴结转移, 固定或融合; N_3 : 同侧锁骨下/上淋巴结转移), 笔者分析了不同区域淋巴结临床分类中 CA125 的含量, 结果显示 N_2 组 CA125 的含量比 N_0 组增多, 差异有统计学意义 ($P = 0.017$); 其他组 CA125 含量两两比较, 差异均无统计学意义 (图 3)。

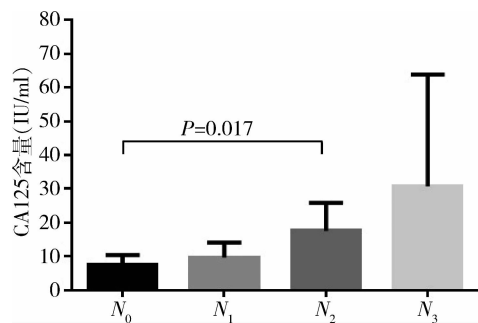


图 3 CA125 在乳腺癌患者化疗前不同区域淋巴结临床分类中的含量

讨 论

乳腺癌是世界女性最常见的恶性肿瘤之一, 尽管有许多治疗乳腺癌的方法, 它仍是导致女性癌症死亡的主要原因^[4,5]。许多乳腺癌患者在初诊时已到中晚期, 这是导致乳腺癌复发和治疗失败的主要原因。因此探究一种简单、经济成本低且能预测乳腺癌发生、发展情况的肿瘤标志物具有重要的意义。

CA125 又称黏蛋白 16 或 MUC16, 是一种黏蛋白家族的膜糖蛋白, 由 MUC16 基因编码^[6,7]。CA125 最早是在卵巢癌的小鼠模型中发现的, 研究发现人类的胸膜、腹膜间皮细胞、乳腺导管、细支气管上皮、子宫内膜、输卵管及卵巢等均会表达 CA125。正常生理状态下 (如女性月经期或孕期) 仅有极少量的 CA125 进入血液循环中^[1]。临床上 CA125 常被用来筛查和诊断卵巢癌, 也有少量研究探讨了 CA125 作为肿瘤标志物在乳腺癌的诊断、监测与预后中的作用^[8]。本研究中, 乳腺癌患者血浆中的 CA125 含量明显高于健康对照。这一结果与多项研究相符。Zhang 等^[9] 分析比较了 65 例乳腺癌患者和 50 例健康对照血清中 CA125 的含量, 结果显示乳腺癌患者血清中 CA125 含量明显高于健康对照。另有研究报道, 151 例乳腺癌患者的血清 CA125 水平显著高于 180 例健康对照^[8]。笔者的另一个发现是 CA125 的含量与患者区域淋巴结临床分类相关, 这与 Zhang 等^[9] 的研究结果相一致。而且 Fang 等^[8] 研究也发现高表达

CA125 的乳腺癌患者中有 54.3% 存在淋巴结转移。伴随淋巴结转移的乳腺癌患者 CA125 升高的原因可能是肿瘤细胞转移至淋巴结的过程中浸润至胸膜、腹膜间皮细胞、乳腺导管等, 机体应激性分泌了大量的 CA125^[10]。

miR-126 在胃肠道肿瘤、生殖系统肿瘤及肺癌等中, 可通过对 PI3K、KRAS、EGFL7、CRK 等基因的调节, 参与癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[2]。乳腺癌中, miR-126 参与癌细胞的增殖与转移^[11,12]。Wang 等^[13] 研究表明, 与癌旁组织比较, 乳腺癌组织中 miR-126 的表达下调。笔者的研究结果发现, 乳腺癌患者肿瘤组织和癌旁组织中 miR-126 的含量比较差异无统计学意义, 可能是由于本研究的样本量偏少, 并且收集的乳腺癌患者合并了不同的基础疾病, 如高血压、糖尿病等, 不同疾病状态可能对 miR-126 的表达有一定的影响。

乳腺癌的转移是导致乳腺癌患者死亡最重要的原因之一, 多数患者在转移后 5~10 年死亡^[14~16]。转移性乳腺癌的早期发现与治疗一直是研究者努力攻克的难题。CA125 在乳腺癌淋巴结转移的患者中表达普遍升高, 但其预警作用还需开展深入研究。

参考文献

- Cortez MA, Calin GA. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases [J]. *Exp Opin Biol Ther*, 2009, 9(6): 703-711
- Ebrahimi F, Gopalan V, Smith RA, et al. miR-126 in human cancers: clinical roles and current perspectives [J]. *Exp Mol Pathol*, 2014, 96(1): 98-107
- Norun LF, Erikstein B, Nustad K. Elevated CA 125 in breast cancer - a sign of advanced disease [J]. *Tumour Biol*, 2001, 22(4): 223-228
- Liang HF, Zhang XZ, Liu BG, et al. Circular RNA circ-ABC10 promotes breast cancer proliferation and progression through sponging miR-1271 [J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(7): 1566-1576
- Tong CWS, Wu MX, Cho WCS, et al. Recent advances in the treatment of breast cancer [J]. *Front Oncol*, 2018, 14(8): 227
- Bottoni P, Scatena R. The role of CA 125 as tumor marker: biochemical and clinical aspects [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 867: 229-244
- Yang WL, Lu Z, Bast RC, Jr. The role of biomarkers in the management of epithelial ovarian cancer [J]. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2017, 17(6): 577-591
- Fang C, Cao Y, Liu X, et al. Serum CA125 is a predictive marker for breast cancer outcomes and correlates with molecular subtypes [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(38): 63963
- Zhang SJ, Hu Y, Qian HL, et al. Expression and significance of ER, PR, VEGF, CA15-3, CA125 and CEA in judging the prognosis of breast cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev Apjcp*, 2013, 14(6): 3937-3940

(下转第 152 页)

成为一个新的抗癌治疗靶点,可能改善 ccRCC 患者的预后。虽然本研究已经初步证明 MXD3 是一种新的 ccRCC 诊断和预后标志物,但本研究也存在一些局限性。主要的缺点是 TCGA 和 GEO 数据库只提供了 MXD3 在 mRNA 水平上的表达,这或许不能完全代表 MXD3 在蛋白水平上的表达及活化程度。MXD3 参与 ccRCC 发生、发展的可能机制还有待于进一步研究。

参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. *Cancer J Clin*, 2018, 68 (1):7-30
- 2 Kumar A, Kumari N, Gupta V, *et al.* Renal cell carcinoma: molecular aspects [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2018, 33 (3):246-254
- 3 Escudier B, Kataja V, Group EGW. Renal cell carcinoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(Suppl 4):81-82
- 4 Shuch B, Amin A, Armstrong AJ, *et al.* Understanding pathologic variants of renal cell carcinoma: distilling therapeutic opportunities from biologic complexity [J]. *Eur Urol*, 2015, 67 (1):85-97
- 5 Bouhellel MA, Lambert M, David - Cordonnier MH. Targeting transcription factor binding to DNA by competing with DNA binders as an approach for controlling gene expression [J]. *Curr Top Med Chem*, 2015, 15 (14):1323-1358
- 6 Hurlin PJ, Queva C, Koskinen PJ, *et al.* Mad3 and Mad4: novel Max - interacting transcriptional repressors that suppress c - myc dependent transformation and are expressed during neural and epidermal differentiation [J]. *EMBO J*, 1995, 14 (22):5646-5659
- 7 Grandori C, Cowley SM, James LP, *et al.* The Myc/Max/Mad network and the transcriptional control of cell behavior [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2000, 16:653-699
- 8 Okada M, Miller TC, Wen L, *et al.* A balance of Mad and Myc expression dictates larval cell apoptosis and adult stem cell development

during *Xenopus* intestinal metamorphosis [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8 (5):e2787

- 9 Barisone GA, Ngo T, Tran M, *et al.* Role of MXD3 in proliferation of DAOY human medulloblastoma cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (7):e38508
- 10 Duong C, Yoshida S, Chen C, *et al.* Novel targeted therapy for neuroblastoma: silencing the MXD3 gene using siRNA [J]. *Pediatr Res*, 2017, 82 (3):527-535
- 11 Wozniak MB, Le Calvez - Kelm F, Abedi - Ardekani B, *et al.* Integrative genome - wide gene expression profiling of clear cell renal cell carcinoma in Czech Republic and in the United States [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (3):e57886
- 12 Foley KP, McArthur GA, Queva C, *et al.* Targeted disruption of the MYC antagonist MAD1 inhibits cell cycle exit during granulocyte differentiation [J]. *EMBO J*, 1998, 17 (3):774-785
- 13 Wang E, Sorolla A, Cunningham PT, *et al.* Tumor penetrating peptides inhibiting MYC as a potent targeted therapeutic strategy for triple - negative breast cancers [J]. *Oncogene*, 2018, 38 (1):140-150
- 14 Gabay M, Li Y, Felsher DW. MYC activation is a hallmark of cancer initiation and maintenance [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2014, 4 (6):a014241
- 15 Barisone GA, Satake N, Lewis C, *et al.* Loss of MXD3 induces apoptosis of Reh human precursor B acute lymphoblastic leukemia cells [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2015, 54 (4):329-335
- 16 Ngo T, Corrales A, Bourne T, *et al.* Alternative splicing of MXD3 and its regulation of MXD3 levels in glioblastoma [J]. *Front Mol Biosci*, 2019, 6:5
- 17 Satake N, Duong C, Chen C, *et al.* Targeted therapy with MXD3 siRNA, anti - CD22 antibody and nanoparticles for precursor B - cell acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Br J Haematol*, 2014, 167 (4):487-499

(收稿日期:2019-05-18)

(修回日期:2019-05-20)

(上接第 147 页)

- 10 Leonard G, Low J, Berman A, *et al.* CA 125 elevation in breast cancer: a case report and review of the literature [J]. *Breast J*, 2015, 10(2):146-149
- 11 Yang R, Dick M, Marme F, *et al.* Genetic variants within miR - 126 and miR - 335 are not associated with breast cancer risk [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 127(2):549-554
- 12 Vimalraj S, Miranda PJ, Ramyakrishna B, *et al.* Regulation of breast cancer and bone metastasis by microRNAs [J]. *Disease Markers*, 2013, 35(5):369-387
- 13 Wang CZ, Yuan P, Li Y. MiR - 126 regulated breast cancer cell invasion by targeting ADAM9 [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6):

6547-6553

- 14 Yates LR, Knappskog S, Wedge D, *et al.* Genomic evolution of breast cancer metastasis and relapse [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(2):169-184
- 15 Esteva FJ, Hubbard - Lucey VM, Tang J, *et al.* Immunotherapy and targeted therapy combinations in metastatic breast cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(3):e175-e186
- 16 Zucchetti B, Shimada AK, Katz A, *et al.* The role of histone deacetylase inhibitors in metastatic breast cancer [J]. *Breast*, 2019, 2(43):130-134

(收稿日期:2019-04-18)

(修回日期:2019-04-26)