

乳腺癌患者血清长链非编码 RNA ATB 表达水平检测及临床诊断价值

洪 宏, 袁建芬, 喻海忠 (南通市中医院检验科, 江苏南通 226001)

摘要: 目的 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)ATB 在乳腺癌患者血清中的表达水平及其对乳腺癌的诊断价值。方法 选取 2017 年 6 月~2019 年 9 月期间收治的乳腺癌患者 37 例, 同期乳腺良性疾病患者 30 例及健康体检者 26 例作为研究对象, 逆转录 PCR(qRT-PCR) 检测各组血清中 lncRNA-ATB 的表达水平, 化学发光法检测各组血清 CA153, 受试者工作特征曲线分析单一及联合检测对乳腺癌的诊断价值。结果 乳腺癌患者血清中的 lncRNA-ATB 相对表达量明显高于乳腺良性疾病患者 ($U=233, P<0.01$) 和健康体检者 ($U=131, P<0.01$), 差异有统计学意义。单独检测 lncRNA-ATB 的 ROC 曲线下的 AUC 为 0.824 (95%CI: 0.735 ~ 0.914), 灵敏度为 89.2%, 特异度为 67.9%。联合 lncRNA-ATB 和 CA153 检测的 ROC 曲线下的 AUC 为 0.876 (95%CI: 0.800 ~ 0.953), 灵敏度为 83.8%, 特异性为 80.4%。结论 血清中高表达的 lncRNA-ATB 可能为乳腺癌诊断的一个潜在的生物学标志物。

关键词: 长链非编码 RNA; ATB; 乳腺癌; 生物学标志物

中图分类号: R737.9; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 02-022-03

doi:10.3969 / j.issn.1671-7414.2020.02.007

Detection and Clinical Diagnosis Value of Serum Long Non-coding RNA ATB in Patients with Breast Cancer

HONG Hong, YUAN Jian-fen, YU Hai-zhong

(Department of Clinical Laboratory, Nantong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Nantong 226001, China)

Abstract: Objective To investigate the expression levels of long non-coding RNA(lncRNA)ATB in the serum of breast cancer patients and its potential value for the diagnosis of breast cancer. **Methods** From June 2016 to September 2019, 37 cases of breast cancer, 30 cases of benign breast disease and 26 cases of health check-up were selected as the subjects. The levels of serum lncRNA-ATB were detected by quantitative reverse transcription PCR(qRT-PCR). The level of serum CA153 was determined by chemiluminescence. Receiver operating characteristic(ROC) curve was used to analyze the diagnosis value of single and combined detection in breast cancer. **Results** The relative expression levels of serum lncRNA-ATB in patients with breast carcinoma were significantly higher than those in benign breast disease ($U=233, P<0.01$) and healthy controls($U=131, P<0.01$), the difference was statistically significant. By separate detection, the AUC under the ROC curve of lncRNA-ATB was 0.824 (95%CI: 0.735~0.914) with 89.2% sensitivity and 67.9% specificity, and combined detection of lncRNA-ATB and CA153 AUC under the ROC curve was 0.876 (95%CI: 0.800~0.953) with 83.8% sensitivity and 80.4% specificity. **Conclusion** Serum lncRNA-ATB may serve as a potential biomarker for the diagnosis of breast cancer.

Keywords: long non-coding RNA; ATB; breast cancer; biomarker

近年来, 乳腺癌的发病率及死亡率逐年增高, 严重威胁女性的身心健康^[1]。目前, 临床上常用的肿瘤标志物 CA153 特异度和灵敏度均不高, 容易出现误诊及漏诊, 且单项肿瘤标志物的检测在辅助诊断中有一定的局限性^[2]。长链非编码 RNA-ATB (long non-coding RNA-ATB, lncRNA-ATB) 在多种恶性肿瘤组织或血清中异常表达, 但在乳腺癌外周血表达水平的研究较少, 且表达情况较传统标记物 CA153 对乳腺癌的诊断价值也未见报道。本研究旨

在对研究对象血清中 lncRNA-ATB 表达水平进行检测, 并探讨联合检测 CA153 模式在乳腺癌诊断中的价值, 现详细报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2017 年 6 月~2019 年 9 月期间收治的乳腺癌患者 37 例, 同期乳腺良性疾病患者 30 例及健康体检者 26 例作为研究对象。乳腺癌组纳入标准: 病理检查确诊为乳腺癌, 排除曾进行化疗或放疗、肝肾功能异常、过敏者等, 年龄

基金项目: 南通市科技发展计划项目 (MSZ18133)。

作者简介: 洪宏 (1977-), 女, 硕士研究生, 副主任技师, 研究方向: 分子生物学、乳腺肿瘤, E-mail:1823210139@qq.com。

通讯作者: 喻海忠 (1967-), 男, 主任技师, 硕士生导师, E-mail:yuhai.zhong911@163.com。

38~79岁,平均年龄51.2岁。乳腺良性疾病组为同期收治患者,年龄46~72岁,平均年龄53.2岁。另健康组为女性体检者,均无肝肾、心血管及乳腺等疾病,年龄43~76岁,平均年龄52.4岁。各组在年龄、性别上差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 试剂和仪器 Trizol (Invitrogen 美国), TakaRa PrimeScript RT reagent kit, SYBR Premi ExTaq kit (大连宝生物工程有限公司), lncRNA-ATB 及内参引物(上海生工生物工程有限公司)。Cobas z 480 实时荧光定量 PCR 仪(Roche 瑞士), Cobas e 411 电化学发光仪(Roche 瑞士), CA153 试剂及质控品均为原装配套试剂。

1.3 方法 术前空腹抽取静脉血 3 ml, 1 h 内于 4 °C 条件下,以 12 000 g 离心力离心 10 min 分离血清,用 Trizol 法提取血清中的总 RNA。分光光度计 $A_{260nm/280nm}$ 检测吸光度,1.8~2.2 合格,进行下一步逆转录反应,按照 TakaRa PrimeScript RT reagent kit 试剂盒说明书操作,生成的 cDNA 置于 -70 °C 保存。采用实时荧光定量 PCR (qPCR) 法检测血清 lncRNA-ATB 及内参基因 GAPDH 表达水平。lncRNA-ATB 上游引物: 5'-TACAACCACTGCACTACCTG-3', 下游引物: 5'-TGGAATGCTTGAAGGCTGCT-3'; GAPDH 上游引物: 5'-GGGAGCCAAAAGGGTCAT-3', 下游引物: 5'-GAGTCCTTCCACGATACCAA-3' 反应体系为: cDNA 2 μ l, 上下游引物各 1 μ l, SYBR 10 μ l, H₂O 6 μ l, 共 20 μ l; 反应条件为: 95 °C 预变性 2 min, 95 °C 5 s, 60 °C 25 s, 40 个循环, 溶解曲线 1 个循环。用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示 lncRNA-ATB 的相对表达含量。用罗氏 Cobas e 411 型电化学发光仪检测 CA153。

1.4 统计学分析 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析,首先用 Kolmogorov-Smirnov Z 检验进行正态性检验,呈非正态分布,用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,两组间比较采用非参数 Mann-Whitney U 检验。联合诊断采用二元 Logistic 回归分析,受试者工作特征曲线(ROC 曲线)下面积(AUC),灵敏度和特异度评价指标的诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 lncRNA-ATB 相对表达水平比较 lncRNA-ATB 在乳腺癌组 [1.82(1.19, 3.74)]、乳腺良性疾病组 [1.13(0.92, 1.31)] 和健康对照组 [0.98(0.83, 1.14)] 血清中的表达水平差异有统计学意义($H=29.45$, $P < 0.01$)。乳腺癌组血清 lncRNA-ATB 表达水平明显高于乳腺良性病组($U=233$, $P < 0.01$)和健康对照组($U=131$, $P < 0.01$),差异有统计学意义。

2.2 血清 CA153 含量和 lncRNA-ATB 相对表达量单独与联合检测对乳腺癌的诊断价值 见图 1。结果显示, lncRNA-ATB 灵敏度为 89.2%, 特异度为 67.9%, AUC 为 0.824 (95%CI: 0.735~0.914, $P < 0.01$), 其临床诊断临界值(cutoff value ≤ 1.104), 而 CA153 灵敏度仅为 67.6%, 特异度为 91.1%, AUC 为 0.809 (95%CI: 0.712 ~ 0.906, $P < 0.01$)。再以 lncRNA-ATB, CA153 为自变量, 建立 Logistic 回归模型, 通过模型中的概率值来拟合联合检测的 ROC 曲线, CA153 和 lncRNA-ATB 联合检测的灵敏度提高至 83.8%, 特异度为 80.4%, AUC 为 0.876 (95%CI: 0.800 ~ 0.953, $P < 0.01$)。

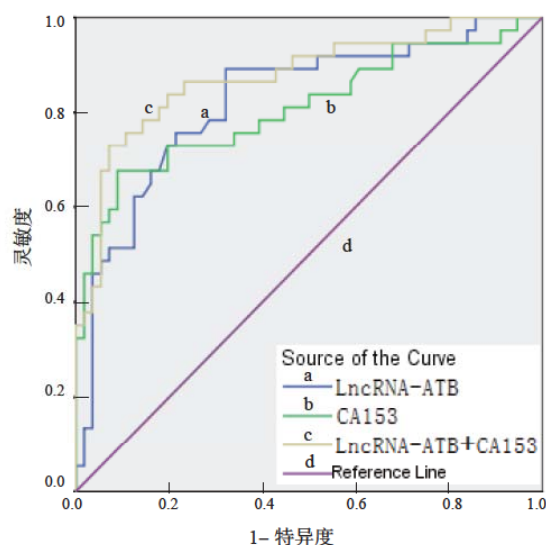


图 1 ROC 曲线

3 讨论

lncRNA 是一类长度超过 200 个核苷酸的 RNA 分子, 能通过表观遗传、转录及转录后的调控等方面影响相关基因的表达, 参与染色体修饰、基因沉默、转录激活等, 与肿瘤的发生、发展相关, 其表达异常影响着肿瘤细胞的生物学行为^[3-4]。由于不具有编码蛋白质的潜能, 曾被认为是无用 RNA 或转录噪声^[5]。lncRNA-ATB 全称 lncRNA activated by TGF- β , 长度约为 2.4kb, 位于人类第 14 号染色体上, 是首个被发现的能被转化生长因子激活的长链非编码 RNA^[6]。lncRNA-ATB 在多种肿瘤中异常表达, 是肿瘤发生、发展过程中的关键调控分子^[7-9]。lncRNA-ATB 在曲妥珠单抗耐药的乳腺癌患者组织中及 SKBR-3 细胞系中呈高表达, 其机制为 lncRNA-ATB 通过 ceRNA 结合 miR-200c 上调 ZEB1 和 ZNF127 的表达, 高表达的 ZEB1/ZNF127 促进肿瘤细胞发生 EMT 和对曲妥珠单抗的耐药, 下调 lncRNA-ATB 可以显著抑制 SKBR-3 细胞的生长, 同时可促进曲妥珠单抗耐药的 SKBR-3 细胞凋亡^[10]。

本研究显示, 乳腺癌患者血清中 (下转 31 页)