

· 专家论坛 ·

与乳腺癌相关的肿瘤标志物研究现状及评价

耿翠芝

当前,肿瘤标志物的检测已从细胞水平深入到分子基因水平,在检测技术上,它将生物化学、核医学、免疫学、细胞学、病理学、分子生物学等诸多学科融合在一起,不仅使检测的项目有了大幅度的增加,而且检测的特异性和灵敏度也有很大的提高。

肿瘤标志物在肿瘤诊断,检测肿瘤复发与转移,判断疗效和预后,以及人群普查等方面都有较大的实用价值,而且在肿瘤发生和发展机制研究中也具有重要作用。肿瘤标志物除用于肿瘤诊断外,还可为临床肿瘤治疗提供依据,以其为靶点进行肿瘤的靶向治疗及免疫治疗,因此,肿瘤标志学已成为肿瘤学中一个重要的新学科、新领域。2007 年法国学者 Hinestrosa 等^[1]在《Nature》杂志发表文章(Shaping the future of biomarker research in breast cancer to ensure clinical relevance),认为肿瘤生物标志物在指导乳腺癌的预防、干预和改善患者生存质量上有很大潜力,但是目前成功率很低,效果很不满意。因此,需要投入很大资金去研究肿瘤生物标志物、以确定乳腺癌的个体化治疗方案。

1 肿瘤标志物的概念和分类

肿瘤标志物(tumor biomarkers)是 1978 年 Herberman 在美国国立癌症研究所(NCI)召开的“人类免疫及肿瘤免疫诊断”会上提出的,次年在英国第七届“肿瘤发生生物学和医学”会议被学者们认可,并开始引用。

所谓肿瘤标志物,是指在肿瘤发生和增殖过程中,由肿瘤细胞生物合成、释放或者是宿主对癌类反应而异常产生或升高、反映肿瘤存在和生长的一类物质。它们的存在或量变可以提示肿瘤的性质,了解肿瘤的组织发生、细胞分化和细胞功能,有助于进行肿瘤的诊断、分类、判断预后及指导治疗^[2]。

根据肿瘤标志物的来源及特异性,大致可以分为两大类。仅为某一种肿瘤所产生的特异性物质,称为该肿瘤的特异性标志物。如前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)就是前列腺肿瘤所产生的特异性标志物质,只

有患前列腺癌时,PSA 才会显著性升高。但更多的肿瘤标志物,则是在一类组织类型相似而性质不同的物质。肿瘤发生时,其含量会有较大的变化,一般称这类物质为肿瘤的辅助标志物。这类标志物往往在良性肿瘤或正常组织也会出现,但在肿瘤发生时,这类标志物的含量要明显高出良性肿瘤或正常组织。

临床工作中常常根据肿瘤标志物本身的化学特性分为以下几类:(1) 肿瘤胚胎性抗原标志物;(2) 糖类标志物;(3) 酶类标志物;(4) 激素类标志物;(5) 蛋白质类标志物;(6) 基因类标志物(表 1)^[3-8]。

2 肿瘤标志物的选择及临床应用

作为一种良好的肿瘤标志物应该具有下列条件:(1) 标志物的含量变化应与肿瘤的生长、消退、转移有直接的定性或定量的比例关系;(2) 标志物应具有较高的特异性,能比较明显地区别于正常人群和良性肿瘤,但在一般情况下,酶的活性在普通疾病及良性肿瘤中也会变化,易对肿瘤的诊断造成混淆;(3) 检测这类标志物的方法简便,易推广,而且成本较低^[7]。

理想的肿瘤标志物应具备:(1) 特异性高,对肿瘤与非肿瘤鉴别的准确性可达 100%;(2) 敏感性高,能在极早期发现肿瘤,不漏诊;(3) 在体液中的浓度应与瘤体大小、临床分期密切相关,并可据此判断预后;(4) 半衰期短,可根据其水平的升降监测治疗效果及肿瘤是否复发或转移;(5) 肿瘤标记物的浓度和肿瘤转移、恶性程度相关,可通过定量或定性检测协助肿瘤的分期和预后的判断。(6) 存在于体液,特别是血液中易于检测^[1]。

肿瘤标志物的临床应用主要包括^[1]:(1) 肿瘤普查:对无症状人群,尤其是高危人群进行肿瘤检查,是早期发现肿瘤的有效手段。虽然甲胎蛋白(AFP)、EB 病毒壳抗原 IgA 抗体(VCA-IgA)在原发性肝癌及鼻咽癌的普查中积累了一定的经验,但由于特异性和灵敏度达不到普查的要求,绝大多数肿瘤标志物不适用于普查,所以选择合适的人群,多种标志物联合检测才能达到普查的目的。(2) 肿瘤诊断与鉴别诊断:一般说来,不同的肿瘤标志物有其相对的器官特异性,但没有绝对的特异性,一种标志物可以在几种脏器肿瘤中出现阳性,同样一种肿瘤有可能出现几种标志物阳性。所以肿瘤标志物检测的正确使用,应提倡几种相关指标的联合测定和动态观察。(3) 判断疗效及监测预后:肿瘤标志物是判断疗效及预后方面非常有用的参考指标,特定肿瘤标志物的出现、含量的变化,在多数患者中与疗效有良好的相关性。在病情的好转、恶化及肿瘤有无复发及转移等方面,肿瘤标志物可以早期提供有价值的信息。

表 1 临床常见肿瘤标志物一览表

标志物	阳性对肿瘤预警及发生的范围	阳性提示疾病种类肿瘤胚胎性抗原标志物
癌胚抗原(CEA)	胰腺癌、结肠癌、肺癌、乳腺癌、直肠癌、胃癌、肝癌等	肠道憩室、直肠息肉、结肠炎、肝硬化、肝炎和肺部疾病等
甲胎蛋白(AFP)	原发性肝细胞癌、睾丸癌、畸胎瘤、卵巢癌等	病毒性肝炎、肝硬化、妇女妊娠及胎儿神经管缺损畸形等
糖类标志物		
CA125	卵巢癌、乳腺癌、胃癌、肺癌、结肠直肠癌、其他妇科肿瘤等	子宫内膜异位症、盆腔炎、卵巢囊肿、胰腺炎、肝炎、肝硬化等
CA50	胰腺癌、胆囊癌、原发性肝癌、卵巢癌、结肠癌、乳腺癌、子宫癌等	慢性肝病
CA15-3	乳腺癌、原发性肝癌、肺癌、前列腺癌等	肝脏、胃肠道、肺、乳腺、卵巢疾病
CA19-9	胰腺癌、胆囊癌、胆管壶腹癌、胃癌、结肠癌、肺癌、肝癌、乳腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌、前列腺癌等	急性胰腺炎、胆囊炎、胆汁淤积性胆管炎、肝硬化、肝炎
CA242	胰腺癌、结肠癌、胃癌、肺癌、前列腺癌等	胃、肠、胰腺及肺部疾病
CA72-4	卵巢癌、大肠癌、胃癌、乳腺癌、胰腺癌	
酶类标志物		
前列腺酸性磷酸酶(PAP)	前列腺癌	前列腺肥大、前列腺炎
前列腺特异性抗原(PSA)游离型前列腺特异性抗原(Free-PSA)	前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫癌等	前列腺肥大、前列腺炎、肾脏和泌尿生殖系统疾病等
神经原特异性烯醇化酶(NSE)	肾脏神经母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞癌、大细胞肺癌、嗜铬细胞瘤、胰岛细胞瘤、甲状腺髓样癌、黑色素瘤等	溶血性疾病
α -L-岩藻糖苷酶(AFU)	原发性肝癌、转移性肝癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫癌	肝硬化、慢性肝炎、消化道出血 激素类标志物
生长激素(HGH)	垂体瘤、肝癌、肾癌、肺癌等	垂体腺瘤、肢端肥大症、巨人症、慢性肝病、肝硬化、垂体性侏儒、垂体前叶功能减退症、肥胖症、饥饿、营养不良
人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)	子宫绒毛膜癌、某些生殖细胞肿瘤如卵巢或睾丸畸胎瘤、精原细胞瘤、其他恶性肿瘤(胃、胰腺、肺、结肠、肝)等	葡萄胎、子宫内膜异位症、卵巢囊肿等
蛋白质类标志物		
铁蛋白(Ferritin, Fe) L	各种恶性肿瘤如白血病、淋巴瘤、胰腺癌、肺癌、肝癌、乳腺癌等	慢性炎性疾病、轻型地中海贫血、肝硬化、肝坏死、HIV 感染、酒精中毒, 含铁血黄素沉积
组织多肽抗原(TPA)	卵巢癌、肺癌	急性肝炎、胰腺炎、肺炎
β 2 微球蛋白(β 2-microglobulin, β 2m)	淋巴系统肿瘤如慢性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、骨肉瘤、多发性骨髓瘤等中尤为明显, 在肺癌、乳腺癌、胃肠道癌及子宫颈癌等增高	
本周蛋白(Bence-Jones protein, BJP)	骨髓瘤	
基因类标志物		
癌基因(N-myc、c-erbB-2、N-ras、c-myc、H-ras、K-ras)		
抑癌基因		

3 与乳腺癌有关的肿瘤标志物及其研究进展

目前,推荐并已经在乳腺癌筛查、诊断和监测预后中使用的肿瘤标志物包括:雌激素和孕激素受体、HER-2/*neu*(c-erbB-2)、CA15-3、BR27.29(CA27.29)、CEA 等。新发现的乳腺癌标志物:表皮生长因子受体(EGFR)、组织蛋白酶 D、尿激酶型纤溶酶原激活剂(uPA)和组织型纤溶酶原激活剂(tPA)等。

3.1 雌激素受体和孕激素受体(ER/PR)

ER/PR 被用于判断乳腺癌患者是否对激素治疗(如 tamoxifen)产生应答。ER/PR 已经作为乳腺癌患者预后的检测指标,可以区别高复发危险(预后不良)和低复发危险(预后良好)乳腺癌患者的肿瘤类型。配体结合技术和酶免疫分析技术的测定结果表明,没有肿瘤的乳腺组织中性激素受体含量很低(每毫克蛋白质 < 15 fmol)或检测不出性激素受体,这已被用免疫组织化学检测的许多研究所确认。通常以每毫克提取 10 fmol 蛋白质(通过配体结合)或以每毫克提取 15 fmol 蛋白质(通过酶免疫分析)作为临界值。一般情况下,绝经前的乳腺癌女性患者的受体水平比绝经后低;雌激素受体阳性的乳腺肿瘤患者生存年限较长。如果未知病理来源的转移肿瘤中 ER/PR 阳性,则提示来源于乳腺癌的可能性大。

近年发现的一个新的雌激素受体基因——雌激素 β 受体(ER- β)和已被广泛研究的雌激素 α 受体(ER- α)在 DNA 和配体结合区域显示出一定程度的同源性(同源性分别为 96% 和 58%),但这两个异构体的配体键合比例和生物活性不同。ER- β 跟 ER- α 和孕激素受体(PR)共同表达伴随一些低生物侵袭性的乳腺癌肿瘤指标提示,ER- β 阳性的肿瘤倾向于对抗雌激素治疗产生应答,但还需要进一步建立独立的 ER- β 预测值^[9]。

3.2 HER-2/*neu*(c-erbB-2)

肿瘤基因 HER-2/*neu*(c-erbB-2)最初从鼠神经母细胞瘤中分离得到,编码相对分子质量为 185 000 的表面糖蛋白,呈酪氨酸转氨酶激酶活性,结构类似于 EGF 受体。其临床意义为:血清 HER-2/*neu* 的水平与乳腺癌的分期呈正相关,乳腺癌患者手术后每 3 个月进行一次血清 HER-2/*neu* 检测,水平升高预示肿瘤复发,与组织学方法互为补充,决定是否采用 Herceptin 的治疗方案^[10]。研究表明,HER-2/*neu* 肿瘤蛋白高水平表达与乳腺癌患者的不良预后有关。

3.3 乳腺癌抗原 15-3(CA15-3)

CA15-3 是 1984 年 Hilkens 等从人乳脂肪球膜上糖蛋白 MAM-6 制成的小鼠单克隆抗体(115-DB);1984 年 Kufu 等自肝转移乳腺癌细胞膜制成单克隆

抗体(DF-3),故命名 CA15-3。它是监测乳腺癌患者术后复发的最佳指标,当 CA15-3 浓度大于 100×10^3 U/L 时,可认为有转移性病变,其含量的变化与治疗结果密切相关。研究显示,体循环中 CA15-3 浓度的降低指示患者的治疗效果良好;而 CA15-3 浓度的持续或升高则指示患者病情发展或治疗效果不佳。CA15-3 作为乳腺癌的主要标记物,在 23% 的原发性乳腺癌和 69% 转移性乳腺癌可有 CA15-3 的升高;乳腺癌的 I 期和 II 期,仅有 10 ~ 20% 的患者有升高,所以不能用于乳腺癌的早期诊断。因此 1997 年美国 FDA 批准 Mucin 1 (CA15-3) 作为 II/III 期乳腺癌复发的检测指标。

3.4 BR27.29(CA27.29)

BR27.29 是新近研究出的黏蛋白类乳腺癌肿瘤标志物家族(包括 CA15-3)的成员,是由黏蛋白抗原(MUC-1)产生的不同类型的抗体。BR27.29 单克隆抗体的反应序列和用于 CA15-3 分析的 DF3 抗体的反应序列在抗原决定簇图谱中相重叠。BR27.29 的临床应用仅限于有局部复发和远处转移乳腺癌患者的随访。

3.5 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen,CEA)

CEA 是 1965 年 Gold 和 Freedman 首先从胎儿及结肠组织中发现的,CEA 的编码基因位于 19 号染色体。CEA 在正常组织中不表达,诊断的准确率和特异性较低,由于 CEA 可以在不同的乳腺非典型增生中表达阳性,因此对乳腺癌没有特异性。研究发现,CEA 在乳腺导管癌中的高表达多于小叶癌。并且,研究者认为,它在导管原位癌中的高表达说明是乳腺组织癌变过程中的一个早期标志物。

3.6 表皮生长因子受体

表皮生长因子(EGF)是相对分子质量为 6000 的单链多肽,三个二硫桥结构使之具有高度的热稳定性。EGF 受体蛋白是一个复杂的分子,它具有能和 EGF 相连的细胞外区域、一个使该受体固定于细胞质膜上的跨膜部分和一个包含 ATP 结合位点和呈酪氨酸转氨酶激酶活性的内部区域。EGF 受体存在于某些乳房、子宫和卵巢的肿瘤中,可以通过与放射标记的 EGF 用结合的方法进行检测。由于放射标记的 EGF 很昂贵,许多实验室更愿意使用配体竞争分析方法,同时检测特异性结合能力和 EGF 亲和力。乳腺癌活检标本中 EGF 受体的过表达(即数目增加)与较短的无症状期以及患者总存活率下降密切相关。和类固醇性激素受体不同,乳腺癌活检样本中高水平的 EGF 受体提示预后不良。虽然美国临床肿瘤学会(ASCO)的临床实践指导原则中没有纳入

EGF 受体的应用,但 EGF 受体作为预后因子和预测试验针对 EGF 受体阳性的治疗乳腺癌新药的应答显示出越来越高的价值。

3.7 组织蛋白酶 D

组织蛋白酶 D 属于酸性溶酶体蛋白酶,存在于所有细胞中。组织蛋白酶 D 的分解方式类似于乳腺癌和正常乳腺,在培养的乳腺癌细胞中是由雌激素介导分泌的一个 M_r 52 000 的前体物质。前-组织蛋白酶 D 是一个磷酸蛋白,可分解为 3 个相对分子质量分别为 48 000、34 000 和 14 000 的分子。它们的单克隆抗体已经研制出来并用于生产放射免疫分析试剂盒。酶免分析(EIA)和酶联免疫吸附分析(ELISA)试剂盒也已研制出来并用于乳腺癌提取物中的组织蛋白酶 D 的分析。有证据表明,在腋窝淋巴结阴性的乳腺癌患者中,组织蛋白酶 D 的过表达与较短的无症状期和总存活率的下降相关。然而,ASCO 的专家组认为,现有的数据对于推荐组织蛋白酶 D 用于乳腺癌患者的诊治尚不够充分。

3.8 尿激酶型纤溶酶原激活剂及其受体和抑制剂

尿激酶型纤溶酶原激活剂(uPA)和组织型纤溶酶原激活剂(tPA)为丝氨酸蛋白酶,其功能是使纤溶酶原转变为纤溶酶。在生理学和病理学情况下的细胞迁移和组织重建过程中,tPA 主要参与血管内血栓溶解,而 uPA 则介导细胞周围的蛋白分解。

uPA 的酶前体(pro-uPA 无活性)由细胞分泌,并在细胞表面与其受体(uPAR)相结合。特定的蛋白酶(纤溶酶、胰蛋白酶、激肽释放酶、组织蛋白酶)可使 pro-uPA 转化为其活性形式。pro-uPA 活性形式的相对分子质量很大(M_r 为 52 000),由两个二硫键相连的多肽链组成[A 链(158 个氨基酸, M_r 为 32 000),B 链(253 个氨基酸, M_r 为 20 000)]。活化的 uPA 可使纤溶酶原转变为纤溶酶。纤溶酶是一个广谱蛋白酶,在细胞外基质中催化降解多种蛋白质(可以是侵入或转移的蛋白质)。纤溶酶原激活剂抑制剂(PAI-1 和 PAI-2)由正常细胞和肿瘤细胞产生,与其受体结合可抑制 uPA 的活性。

在癌症中,uPA 介导肿瘤细胞的入侵。对许多肿瘤的组织提取物(包括乳腺癌、卵巢癌、子宫癌、宫颈癌、前列腺癌、肠癌)中 uPA、PAI-1 和 PAI-2 水平的评估均有报道。研究显示:如果在同一活检标本中 uPA、PAI-1 和 PAI-2 均过表达,就可能准确预测乳腺癌的复发和患者总体存活率的降低。uPA 和 PAI-1 作为生物学诊断指标用于临床,还需进一步研制出标准化的 ELISA 检测试剂盒和稳定的参考品。

4 结语

总之,乳腺癌肿瘤标志物的研究已经取得重大进展,但寻找理想的特异性强的标志物仍是今后努力的重点。只有找到高度灵敏、高特异性的肿瘤标志物,才能协助临床在早期诊断、早期治疗及疗效检测、预后判断等方面有新突破。

参考文献

- [1] Hinestroza M C, Dickersin K, Klein P, *et al.* Shaping the future of biomarker research in breast cancer to ensure clinical relevance. *Nature*, 2007, 7: 311 – 315.
- [2] 中华医学会检验医学分会肿瘤标志物专家委员会. 肿瘤标志物. *中华检验医学杂志*, 2004, 27: 393.
- [3] Würtz S Ø, Henriksen K L, Lykkesfeldt A, *et al.* Integration of new and future biomarkers in the treatment of breast cancer. *Ugeskr Laeger*, 2007, 169: 2999 – 3003.
- [4] Ostrowski S R, Katzenstein T L, Pedersen B K, *et al.* Residual viraemia in HIV-1-infected patients with plasma viral load < or = 20 copies/ml is associated with increased blood levels of soluble immune activation markers. *Scand J Immunol*, 2008, 68: 652 – 660.
- [5] Peyromaure M. PSA: a new prostate cancer marker. *Prog Urol*, 2004, 14: 8 – 11.
- [6] Saboury A A, Atri M S, Sanati M H, *et al.* A thermodynamic study on the interaction between magnesium ion and human growth hormone. *Biopolymers*, 2006, 81: 120 – 126.
- [7] Ochi Y, Okabe H, Inui T, *et al.* Tumor marker-present and future. *Rinsho Byori*, 1997, 45: 875 – 883.
- [8] Nicolini A, Tartarelli G, Carpi A, *et al.* Intensive post-operative follow-up of breast cancer patients with tumour markers: CEA, TPA or CA15.3 *vs* MCA and MCA-CA15.3 *vs* CEA-TPA-CA15.3 panel in the early detection of distant metastases. *BMC Cancer*, 2006, 6: 269 – 278.
- [9] Yang X R, Pfeiffer R M, Garcia Closas M, *et al.* Hormonal markers in breast cancer: co-expression, relationship with pathologic characteristics, and risk factor associations in a population-based study. *Cancer Res*, 2007, 67: 10 608 – 10 617.
- [10] Agrawal A K, Jeleń M, Rudnicki J, *et al.* Molecular markers (c-erbB-2, p53) in breast cancer. *Folia Histochem Cytobiol*, 2008, 46: 449 – 455.。

【关键词】 乳腺癌; 肿瘤标志物

【中图法分类号】 R737.9 【文献标识码】 A

(收稿日期: 2009-01-20)

(本文编辑: 张毅)

耿翠芝. 与乳腺癌相关的肿瘤标志物研究现状及评价[J/CD]. *中华乳腺病杂志: 电子版*, 2009, 3(1): 9 – 15.