

· 论著 ·

放射治疗后血清 YKL-40 变化对乳腺癌患者预后判断的价值

罗宏涛¹ 车团结² 王小虎¹ 魏世鸿¹ 姜专基³ 张莹² 刘锐锋¹ 董玉梅¹
郭丽云¹ 宋海霞¹

【摘要】 目的 探讨放射治疗后血清 YKL-40 变化对乳腺癌患者预后判断的价值。**方法** 采用抽签法随机选取 2011 年 6 月至 2012 年 12 月在甘肃省肿瘤医院乳腺科门诊进行乳腺癌筛查确诊为健康者 30 例(健康对照组),以及就诊于放射治疗科的 100 例乳腺癌患者进行前瞻性研究。采用 ELISA 法检测健康对照组及乳腺癌患者放射治疗前后血清 YKL-40 水平。采用独立样本 t 检验比较健康对照组与抽签法随机抽取的 30 例乳腺癌患者之间,以及 100 例乳腺癌患者放射治疗前或放射治疗后 CEA、CA153 阳性与阴性患者之间 YKL-40 水平的差异;采用配对 t 检验比较 CEA、CA153 阳性或阴性乳腺癌患者放射治疗前与放射治疗后血清 YKL-40 水平的差异。并且,放射治疗后血清 YKL-40 升高者与降低者局部复发率及远处转移率的比较采用 χ^2 检验,生存曲线绘制采用 Kaplan-Meier 法,生存率比较采用 Log-rank 检验。**结果** (1) 30 例乳腺癌患者放射治疗前后血清 YKL-40 水平分别为 (104.21 ± 22.07) ng/ml 和 (90.14 ± 23.85) ng/ml,均高于健康对照组的 (49.04 ± 9.61) ng/ml ($t = 12.491, 8.673, P$ 均 < 0.001)。100 例乳腺癌患者放射治疗前后血清 YKL-40 水平分别为 (102.17 ± 22.04) ng/ml 和 (91.67 ± 29.18) ng/ml,放射治疗后血清 YKL-40 水平逐步下降 ($t = 4.002, P < 0.001$)。(2) CEA 和 CA153 阳性患者血清 YKL-40 水平在放射治疗后较放射治疗前均明显降低[CEA: (87.26 ± 30.28) ng/ml 比 (107.23 ± 25.54) ng/ml, CA153: (77.52 ± 31.01) ng/ml 比 (108.12 ± 19.95) ng/ml, $t = 5.443, 4.750, P$ 均 < 0.001]。(3) 无论是放射治疗前,还是放射治疗后,CEA 阳性患者与阴性患者血清 YKL-40 水平均接近 ($t = 1.414, -0.992, P = 0.164, 0.523$);而在放射治疗后,CA153 阳性患者血清 YKL-40 水平却明显低于 CA153 阴性者 [(77.52 ± 31.01) ng/ml 比 (95.90 ± 27.42) ng/ml, $t = -2.559, P = 0.015$]。(4) 在 100 例乳腺癌患者中,88 例患者放射治疗后血清 YKL-40 水平较放射治疗前降低,12 例患者放射治疗后血清 YKL-40 水平较放射治疗前升高。中位随访 36 个月(24 ~ 48 个月),血清 YKL-40 降低者局部复发率、远处转移率分别为 18.6% (16/88) 和 13.6% (12/88),均明显低于血清 YKL-40 升高者的 66.7% (8/12) 和 50% (6/12) ($\chi^2 = 11.081, 7.157, P = 0.001, 0.007$)。放射治疗后血清 YKL-40 升高者 1、2、3 年 OS 率分别为 91.7%、83.3%、66.7%,而血清 YKL-40 降低者 1、2、3 年 OS 率分别为 97.7%、93.2%、86.4%。血清 YKL-40 升高者 OS 率明显低于血清 YKL-40 降低者 ($\chi^2 = 4.050, P = 0.044$)。**结论** YKL-40 在乳腺癌患者血清中具有较高的表达水平,放射治疗期间联合检测血清 YKL-40、CEA 和 CA153,对患者预后的评判具有一定价值。

【关键词】 乳腺肿瘤; 生物学标记; 糖蛋白类; 放射疗法

【中图法分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

Prognostic value of serum YKL-40 change after radiotherapy for breast cancer patients Luo Hongtao¹, Che Tuanjie², Wang Xiaohu¹, Wei Shihong¹, Jiang Zhuangji³, Zhang Ying², Liu Ruifeng¹, Dong Yumei¹, Guo Liyun¹, Song Haixia¹. ¹Department of Radiotherapy, ²Department of Breast Surgery, Gansu Provincial Tumor Hospital, Lanzhou 730040, China; ³Baiyuan Genetic Technology Co., Ltd, Lanzhou 730030, China
Corresponding author: Wang Xiaohu, Email: xhwanggansu@163.com

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2016.04.005

基金项目:甘肃省卫生行业科研计划管理项目(GWGL2010-5)

作者单位:730040 兰州,甘肃省肿瘤医院放射治疗科¹、乳腺科²;730030 兰州百源基因科技有限公司³

通信作者:王小虎,Email:xhwanggansu@163.com

【Abstract】 Objective To explore the significance of serum YKL-40 changes after radiotherapy in predicting the prognosis of breast cancer patients. **Methods** From June 2011 to December 2012, we randomly enrolled 30 healthy women from breast cancer screening in Department of Breast Surgery and 100 breast cancer patients treated in Department of Radiotherapy in Gansu Provincial Tumor Hospital for a prospective study. The serum YKL-40 level in healthy women and breast cancer patients was detected by ELISA. Independent-sample t test was used to detect the difference in serum YKL-40 level between 30 healthy women and 30 random breast cancer patients, as well as the difference in serum YKL-40 level of CEA/CA153 positive or negative breast cancer patients before and after radiotherapy in 100 breast cancer patients. Paired-sample t test was used to detect the difference in serum YKL-40 level of CEA/CA153 positive or negative breast cancer patients before and after radiotherapy. χ^2 test was used to compare the local recurrence and distant metastasis between patients with serum YKL-40 level elevated and patients with serum YKL-40 level declined after radiotherapy. The survival curve was plotted using Kaplan-Meier and survival rates were compared using Log-rank test. **Results** (1) The serum YKL-40 levels in 30 breast cancer patients were (104.21 ± 22.07) ng/ml and (90.14 ± 23.85) ng/ml before and after radiotherapy respectively, significantly higher than (49.04 ± 9.61) ng/ml in healthy controls ($t = 12.491, 8.673, P < 0.001$), while the serum YKL-40 levels in 100 breast cancer patients were (102.17 ± 22.04) ng/ml and (91.67 ± 29.18) ng/ml before and after radiotherapy respectively, and the serum YKL-40 levels were gradually decreased after radiotherapy ($t = 4.002, P < 0.001$). (2) The serum YKL-40 levels in patients with CEA/CA153 positive after radiotherapy were significantly lower than that before radiotherapy [CEA: (87.26 ± 30.28) ng/ml vs (107.23 ± 25.54) ng/ml, CA153: (77.52 ± 31.01) ng/ml vs (108.12 ± 19.95) ng/ml, $t = 5.443, 4.750$, all $P < 0.001$]. (3) Before and after radiotherapy, there was no significant difference in serum YKL-40 level between CEA positive and CEA negative breast cancer patients ($t = 1.414, -0.992; P = 0.164, 0.523$). After radiotherapy, the serum YKL-40 level in patients with CA153 positive was significantly lower than that in patients with CA153 negative [(77.52 ± 31.01) ng/ml vs (95.90 ± 27.42) ng/ml, $t = -2.559, P = 0.015$]. (4) Among 100 breast cancer patients, the serum YKL-40 level decreased in 88 cases and increased in 12 cases after radiotherapy. Breast cancer patients were followed up for 24 to 48 months (median follow-up of 36 months). Local recurrence and distant metastasis rate were 18.6% (16/88) and 13.6% (12/88) in patients with serum YKL-40 level elevated, significantly higher than 66.7% (8/12) and 50% (6/12) in patients with serum YKL-40 level declined respectively. The OS in patients with serum YKL-40 level elevated was significantly lower than that in patients with serum YKL-40 level declined ($\chi^2 = 11.081, 7.157; P = 0.001, 0.007$). The 1-, 2- and 3-year survivals were 91.7%, 83.3% and 66.7% in patients with serum YKL-40 level elevated, 97.7%, 93.2% and 86.4% in patients with serum YKL-40 level declined respectively. The OS in patients with serum YKL-40 level elevated was significantly lower than that in patients with serum YKL-40 level declined ($\chi^2 = 4.050, P = 0.044$). **Conclusion** YKL-40 is highly expressed in breast cancer patients and the combined detection of serum YKL-40, CEA and CA153 during radiotherapy has predictive value in the prognosis of breast cancer patients.

【Key words】 Breast neoplasms; Biological markers; Glycoproteins; Radiotherapy

乳腺癌是女性最常见的、严重威胁妇女健康的恶性肿瘤之一。术后放射治疗是乳腺癌综合治疗的重要组成部分,但其疗效目前尚缺乏有效的监测指标。YKL-40 是由癌细胞分泌的一种糖蛋白,可刺激内皮细胞的迁移^[1]。血清 YKL-40 水平可作为预测肿瘤发生的一种新的生物标志物^[2]。笔者拟通过观察乳腺癌患者放射治疗前后血清 YKL-40 水平的变化,探讨其作为乳腺癌放射治疗预后评价指标的可

行性。

资料和方法

一、一般资料

采用抽签法随机选取 2011 年 6 月至 2012 年 12 月就诊于甘肃省肿瘤医院放射治疗科的 100 例乳腺癌患者进行前瞻性研究。患者均为女性,年龄

为(57.2±11.5)岁,诊断均为病理确诊,其中浸润性导管癌 85 例,浸润性小叶癌 15 例;乳腺癌改良根治术后 80 例,乳腺癌保留乳房术后 14 例,局部晚期未行手术者 6 例;临床分期 I 期 15 例,II 期 53 例,III 期 20 例,IV 期 12 例;分子分型 luminal A 型 33 例, luminal B 型 27 例,HER-2 阳性型 28 例,三阴性乳腺癌 12 例;CEA 阳性 31 例、阴性 69 例, CA153 阳性 23 例、阴性 77 例。既往有可导致血清 YKL-40 水平升高疾病如肝病、关节炎、肿瘤的患者均不纳入本研究。患者的随访时间为 24~48 个月,中位随访时间为 36 个月,失访 5 例(5%),失访按死亡统计。

同时,选取同时期在甘肃省肿瘤医院乳腺科门诊进行乳腺癌筛查确诊为健康者的 30 例女性作为健康对照组,年龄为(44.3±3.2)岁。并采用抽签法随机从 100 例乳腺癌患者中选择 30 例[年龄为(52.5±11.8)岁],与健康对照组进行比较。

本研究经甘肃省肿瘤医院伦理委员会论证可行,所有受试者入组前均签署知情同意书。

二、放射治疗方法

放射治疗采用直线加速器 6-MV X 线与 9 MeV 电子线。放射治疗区域依据患者肿瘤分期及肿瘤部位确定。乳腺癌改良根治术后患者照射剂量为 50 Gy(分为 25 次);乳腺癌保留乳房术后患者全乳腺照射剂量为 50 Gy(分为 25 次),全乳腺照射结束后瘤床区电子束补量 10 Gy(分 5 次)。

三、血清 YKL-40 检测

(1)采集受试者清晨空腹静脉血 3 ml,于室温凝固后,以 2 000 r/min(离心半径 6.5 cm)离心 5 min,吸取血清,-20℃保存备用;(2)采用 ELISA 法检测血清 YKL-40 水平(YKL-40 试剂盒为上海富众生物科技发展有限公司产品,实验操作严格按照试剂盒说明书进行)。在抗体工作液反应孔中加入终止液 50 μl,轻轻震荡混匀,15 min 内在 450 nm 波长处测定各孔的吸光度值,以吸光度值为纵坐标,以标准品质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,算出回归方程。然后,根据血清标本的吸光度值可以求出其中的 YKL-40 水平。

四、CA153 及 CEA 检测

(1)采集患者清晨空腹静脉血 3 ml,用离心机分离血清后,采用罗氏公司 Elecsys 2010 电化学发光免疫分析仪在 3 h 内检测完毕。试剂采用仪器配套的进口试剂盒。(2)CA153 正常值为 0~28 U/ml,

>28 U/ml 判断为阳性;CEA 正常值为 0~3.4 ng/ml, >3.4 ng/ml 判断为阳性^[3]。

五、统计学分析

采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析。各组资料经正态性检验符合正态分布(健康对照组 $W=0.896, P=0.398$;乳腺癌患者放射治疗前 $W=1.036, P=0.234$,放射治疗后 $W=1.032, P=0.237$),因此,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。健康对照组与 30 例乳腺癌患者之间,以及放射治疗前或放射治疗后 CEA、CA153 阳性与阴性患者之间 YKL-40 水平的比较采用独立样本 t 检验。CEA、CA153 阳性或阴性患者放射治疗前与放射治疗后血清 YKL-40 水平的比较采用配对 t 检验。放射治疗后血清 YKL-40 升高者与降低者局部复发率及远处转移率的比较采用 χ^2 检验,生存曲线绘制采用 Kaplan-Meier 法,生存率比较采用 Log-rank 检验。以 $P<0.050$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、30 例健康对照者与 30 例乳腺癌患者血清 YKL-40 水平

健康对照组血清 YKL-40 水平为(49.04±9.61)ng/ml,乳腺癌患者放射治疗前后血清 YKL-40 水平分别为(104.21±22.07)ng/ml 和(90.14±23.85)ng/ml。乳腺癌患者放射治疗前、后血清 YKL-40 水平均高于健康对照组($t=12.491, 8.673, P$ 均<0.001)。

二、100 例乳腺癌患者血清 YKL-40 水平

100 例乳腺癌患者放疗前后血清 YKL-40 水平分别为(102.17±22.04)ng/ml 和(91.67±29.18)ng/ml,放射治疗后血清 YKL-40 水平逐步下降($t=4.002, P<0.001$)。

三、乳腺癌患者 CEA、CA153 表达与放射治疗前后血清 YKL-40 水平的关系

CEA 和 CA153 阳性患者放射治疗后血清 YKL-40 水平较放射治疗前均明显降低,而 CEA 和 CA153 阴性患者放射治疗后血清 YKL-40 水平较放射治疗前均无明显变化;并且,CEA 阳性患者血清 YKL-40 水平无论是放射治疗前,还是放射治疗后,均与 CEA 阴性患者相似,但是,CA153 阳性患者血清 YKL-40 水平仅在放射治疗前与 CA153 阴性患者相似,在放射治疗后却明显低于 CA153 阴性患者(表 1)。

表 1 乳腺癌患者 CEA、CA153 表达与放射治疗前后血清 YKL-40 水平的关系

组别	例数	YKL-40(ng/ml, $\bar{x}\pm s$)	
		放射治疗前	放射治疗后
CEA			
阳性	31	107. 23±25. 54	87. 26±30. 28 ^a
阴性	69	99. 90±20. 10	93. 65±28. 67 ^b
<i>t</i> 值		1. 414	-0. 992
<i>P</i> 值		0. 164	0. 523
CA153			
阳性	23	108. 12±19. 95	77. 52±31. 01 ^c
阴性	77	100. 40±22. 44	95. 90±27. 42 ^d
<i>t</i> 值		1. 581	-2. 559
<i>P</i> 值		0. 112	0. 015

注: CA153 为糖类抗原 153; ^a 与 CEA 阳性患者放射治疗前相比, $t=5.443$, $P<0.001$; ^b 与 CEA 阴性患者放射治疗前相比, $t=1.883$, $P=0.064$; ^c 与 CA153 阳性患者放射治疗前相比, $t=4.750$, $P<0.001$; ^d 与 CA153 阴性患者放射治疗前相比, $t=1.837$, $P=0.070$

四、放射治疗后血清 YKL-40 升高者与降低者的局部复发率及远处转移率

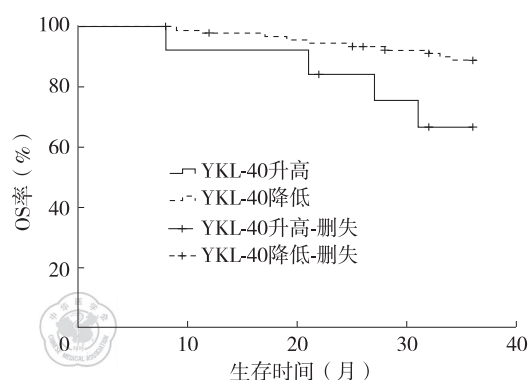
在 100 例乳腺癌患者中, 有 12 例患者放射治疗后血清 YKL-40 水平较放射治疗前升高, 其余 88 例患者放射治疗后血清 YKL-40 水平较放射治疗前降低。血清 YKL-40 降低者局部复发率和远处转移率均明显低于血清 YKL-40 升高者 ($t=11.081$ 、7.157, $P=0.001$ 、0.007) (表 2)。

表 2 乳腺癌患者放射治疗后血清 YKL-40 变化与局部复发及远处转移率的关系

YKL-40	总例数	局部复发		远处转移	
		例数	复发率 (%)	例数	转移率 (%)
升高	12	8	66.7	6	50.0
降低	88	16	18.6	12	13.6
χ^2 值		11.081		7.157	
<i>P</i> 值		0.001		0.007	

五、放射治疗后血清 YKL-40 升高者与降低者的 OS 率比较

放射治疗后血清 YKL-40 升高者 1、2、3 年 OS 率分别为 91.7%、83.3%、66.7%, 而血清 YKL-40 降低者 1、2、3 年 OS 率分别为 97.7%、93.2%、86.4%。血清 YKL-40 升高者 OS 率明显低于血清 YKL-40 降低者 ($\chi^2=4.050$, $P=0.044$, 图 1)。



注: 血清 YKL-40 升高者 OS 率明显低于血清 YKL-40 降低者, $\chi^2=4.050$, $P=0.044$

图 1 乳腺癌患者放射治疗后血清 YKL-40 变化对 OS 率的影响

讨 论

YKL-40 是属于壳质酶蛋白家族的一种糖蛋白, 由一条含有 383 个氨基酸的多肽链组成, 其相对分子质量约为 40×10^3 , 等电点为 7.6。YKL-40 最早是在非泌乳期牛的乳汁分泌物中发现的^[4], 后来发现其在关节软骨细胞、人骨肉瘤细胞 (MG-63)、激活的巨噬细胞、中性粒细胞以及由 neu/ ras 致癌基因刺激的鼠乳腺肿瘤中选择性表达^[5]。研究显示, YKL-40 在乳腺癌^[6]、胶质瘤^[7-8]、软组织肿瘤^[9]、卵巢癌^[10]等多种肿瘤组织中高表达。而本研究提示 YKL-40 在乳腺癌患者血清中高表达。

YKL-40 可促进血管平滑肌细胞迁移, 增加与瘤旁间质的黏附活性, 从而帮助肿瘤血管生成和浸润转移, 同时可参与肿瘤外基质重建, 是肿瘤形成、生长微环境的重要因子^[11]。YKL-40 还可通过激活蛋白激酶、三磷酸激酶信号通路, 使调控分裂的蛋白激酶磷酸化, 产生瀑布样放大的增殖信号, 进而发挥调控细胞增殖作用^[1]。

Tarpgaard 等^[11]研究发现, YKL-40 升高是大肠癌预后不良的独立危险因素, 且化疗前 YKL-40 高表达患者应用一线化疗药物时敏感性较差, 故化疗前检测 YKL-40 水平对于预判化疗疗效, 进而改变治疗策略亦有一定指导意义。Francescone 等^[12]的研究显示, 脑胶质瘤组织中 YKL-40 呈高表达者, 对放射治疗的反应较差。本研究对 100 例乳腺癌患者放射治疗前后血清 YKL-40 水平进行分析, 也发现 YKL-40 水平与肿瘤的复发、转移有关, 放射治疗后血清 YKL-40 水平升高者更易发生远处转移和局部

复发。放射治疗后血清 YKL-40 水平升高的患者,其长期生存率明显低于放射治疗后血清 YKL-40 水平降低的患者,与文献报道的研究结果一致^[6,13],提示 YKL-40 是预测肿瘤发展趋势的良好指标之一。

目前,甘肃省肿瘤医院临床上用于乳腺癌常规检查的成熟肿瘤标志物为 CEA 和 CA153。CEA 是从结肠腺癌和胎儿肠组织中提取的一种肿瘤相关抗原,存在于乳腺上皮细胞表面,参与细胞黏附。CA153 也是乳腺上皮细胞表面的一种糖蛋白。此两者被广泛应用于乳腺癌的临床检查中,但其敏感度和特异度尚不理想^[14]。本研究通过比较乳腺癌 CEA 和 CA153 阳性者与阴性者之间放射治疗前后血清 YKL-40 的变化,提示 CEA 和 CA153 阳性者放射治疗后血清 YKL-40 水平较放射治疗前明显下降。因此,笔者认为检测血清 YKL-40 水平对评判乳腺癌患者放射治疗预后具有一定临床价值,值得临床进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Kzhyshkowska J, Yin S, Liu T, et al. Role of chitinase-like proteins in cancer[J]. Biol Chem, 2016, 397(3): 231-247.
- [2] Kazakova MH, Sarafian VS. YKL-40--a novel biomarker in clinical practice? [J]. Folia Med (Plovdiv), 2009, 51(1): 5-14.
- [3] 罗宏涛,魏世鸿,王小虎,等.联合检测 CA153 和 CEA 在乳腺癌复发转移监测中的临床价值[J]. 甘肃医药, 2014, 33(10): 728-730.
- [4] Johansen JS, Williamson MK, Rice JS, et al. Identification of proteins secreted by human osteoblastic cells in culture[J]. J Bone Miner Res, 1992, 7(5): 501-512.
- [5] Bjørn ME, Andersen CL, Jensen MK, et al. Circulating YKL-40 in myelofibrosis a potential novel biomarker of disease activity and the inflammatory state[J]. Eur J Haematol, 2014, 93(3): 224-228.
- [6] Shao R, Cao QJ, Arenas RB, et al. Breast cancer expression of YKL-40 correlates with tumour grade, poor differentiation, and other cancer markers[J]. Br J Cancer, 2011, 105(8): 1203-1209.
- [7] Anghileri E, Castiglione M, Nunziata R, et al. Extraneural metastases in glioblastoma patients: two cases with YKL-40-positive glioblastomas and a meta-analysis of the literature[J]. Neurosurg Rev, 2016, 39(1): 37-45.
- [8] Harving ML, Christensen LH, Ringsholt M, et al. YKL-40 expression in soft-tissue sarcomas and atypical lipomatous tumors: An immunohistochemical study of 49 tumors [J]. Acta Orthop, 2014, 85(2): 195-200.
- [9] 杨帅,王伟民,张小鹏,等.血清 YKL40 水平与胶质瘤病理分级及预后的相关性研究[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2014, 19(10): 437-439.
- [10] 尚倩,赵淑萍. YKL-40 和 VEGF 在上皮性卵巢癌组织中的表达及其临床意义[J]. 泰山医学院学报, 2014, 35(3): 171-173.
- [11] Tarpgaard LS, Guren TK, Glimelius B, et al. Plasma YKL-40 in patients with metastatic colorectal cancer treated with first line oxaliplatin-based regimen with or without cetuximab: result from the nordic VII study[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e87746.
- [12] Francescone RA, Scully S, Faibish M, et al. Role of YKL-40 in the angiogenesis, radioresistance, and progression of glioblastoma[J]. Biol Chem, 2011, 286(17): 15 332-15 343.
- [13] Kang EJ, Jung H, Woo OH, et al. YKL-40 expression could be a poor prognostic marker in the breast cancer tissue[J]. Tumour Biol, 2014, 35(1): 277-286.
- [14] 刘敏,陈昌国,马聪,等. CEA、CA153、CA199、CYFR21-1 联合检测在乳腺癌诊断中的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(3): 320-321.

(收稿日期:2016-01-05)

(本文编辑:罗承丽)

罗宏涛,车团结,王小虎,等.放射治疗后血清 YKL-40 变化对乳腺癌患者预后判断的价值[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2016, 10(4): 215-219.