中图分类号：R737.9编号：20110121

**承德医学院**

硕士研究生毕业论文

**GDF3联合CA125、CA15-3和CEA等血清指标在乳腺癌诊断中的价值**

**The study on the detection of GDF3 combined CA125, CA15-3 and CEA in diagnosis of breast cancer**

研究生：陈梁

导师：李建华教授学科专业：肿瘤学

所在系部：临床学院

研究起止日期：2012年9月～2014年3月论文提交日期：2014年3 月

**承德医学 院**

**学位论文使用授权及知识产权归属承诺**

本学位论文在导师（或指导小组）的指导下，由本人独立完成。本学位论文研究所获的研究成果，其知识产权归承德医学院所有。承德医学院有权对本学位论文进行交流、公开和使用。凡发表与学位论文主要内容相关的论文，第一署名单位为承德医学院，试验材料、原始数据、申报的专利等知识产权均归承德医学院所有。否则，承担相应的法律责任。

研究生签名：导师签章：

年月日

**承德医学院**

**研究生学位论文独创性声明**

本论文是在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果，除了文中特别加以标注和致谢等内容外，文中不包含其他人已经发表或撰写的研究成果，指导教师对此进行了审定。本论文由本人独立撰写，文责自负。

研究生签名：导师签章：

年月日

**GDF3联合检测CA125、CA15-3和CEA等血清指标在乳腺癌诊断中的价值**

**The study on the detection of GDF3 combined CA125, CA15-3 and CEA in diagnosis of breast cancer**

研究生：陈梁学号：20110121

年 级：2011级研究生导 师：李建华教授学科专业：肿瘤学

所在系部：临床学院研究方向：肿瘤标志物

研究起止日期：2012年9月～2014年3月论文提交日期：2014年3 月

目 录

[摘要](#_Toc686971809) 3

[结论：](#_Toc686971810) 3

**[Abstract](#_Toc686971811)** 4

[前言](#_Toc686971812) 6

[1 研究对象](#_Toc686971813) 6

[2 标本采集与处理](#_Toc686971814) 7

[3 主要试剂及仪器](#_Toc686971815) 7

[4 实验方法](#_Toc686971816) 7

[5 统计学方法](#_Toc686971817) 8

[结论](#_Toc686971818) 13

[参考文献](#_Toc686971819) 13

[参考文献](#_Toc686971820) 16

**GDF3联合CA125、CA15-3和CEA等血清指标在乳腺癌诊断中的价值**

摘**要**

乳腺癌是当今女性最多发的恶性肿瘤之一，发病率居所有女性恶性肿瘤的首位。如今乳腺癌已经成为女性癌相关死亡的第一大疾病，在我国女性因乳腺癌年死亡率逐年增高，而乳腺癌本身是疗效最佳的实体肿瘤之一。因此早期的诊断和对症治疗对降低乳腺癌患者死亡率，提高患者的生活质量和延长生存期起到了至关重要的作用。肿瘤标志物则是临床上常用的早期筛查乳腺癌的重要手段之一，它存在血液、细胞、组织、体液中，可以有效的证实肿瘤的存在和生长，它对诊断肿瘤及鉴别诊断，[以及治疗过程中疗效和预后的评价意义重大。](file://localhost/H:/588773536706601/htmls/sentence_detail/222.htm)目前在临床上通常使用血清癌胚抗原

（Carcinoembryonic antigen, CEA）、糖类抗原15-3(Carbohydrate antigen 15-3, CA15-3)、糖类抗原125(Carbohydrate antigen 125, CA125)三种肿瘤标志物联合检测来辅助诊断。

**目的：**

本研究旨在通过实验的方式探讨生长分化因子（Growth differentiation factor 3, GDF3）血清指标水平对于乳腺癌诊断的意义。并深入探究CEA、CA15-3、CA125和GDF3单项独自检测或联合检测对乳腺癌诊断方面的价值。

**方法：**

1研究对象（1）乳腺癌组为2012年11月－2014年1月期间在我院肿瘤科住院，经影像学B超、乳腺钼靶片及手术术后病理检查证实，确诊的女性乳腺癌患者52例，年龄42-75岁，平均54.2±3.8岁。（2）良性乳腺疾病组为同期在我院住院的根据病史、B超、血液检查和术后病理检查确诊的女性良性乳腺疾病患者40 例，其中包括乳腺纤维瘤患者31

例，乳腺囊性增生患者6例，脂肪瘤患者3例，年龄39-71岁，平均52.8±5

岁；（3）正常对照组40例，为在我院体检中心的体检的女性健康体检者，

无心、肝、肺、肾等重要脏器疾病，年龄31-78岁，平均55.1±4.2岁。

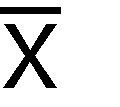
2标本的采集及处理采集研究对象3 mL空腹静脉血（如需行乳腺

手术的患者，均于术前采集） ，静置20 min ，离心15 min，并及时检测。

GDF3采用酶联免疫吸附法（Enzyme-linked immunosorbent, ELISA）测定，仪器为美国BioRad公司的BioRad450酶标仪，其余CA125、CA15-3和CEA三项标记物的测定选用电化学发光免疫分析法，仪器我们选用瑞士罗氏公司的Roche EleesysE601全自动电化学发光免疫分析仪。所有试剂均为仪器配套试剂，所有操作均严格按照仪器和试剂盒说明书进行。

*3*统计学方法选用SPSS17. 0统计软件进行全部测量数据的统计学处理，计量资料测定结果均以±s的形式表示，组间比较采用方差分析的方法，计数资料及率的比较选用χ2检验的方法。并应用敏感度、特异度及准确度，评价上述指标单独及联合诊断乳腺癌的效能，检验标准若 *P*

< 0.05，则认为有统计学意义。**结果：**



1乳腺癌组、良性乳腺疾病组和健康组GDF3、CA125、CA15-3 及

CEA的比较：

乳腺癌组、良性乳腺疾病组及健康组的血清指标GDF3的表达水平分别为：148.8±19.9 pg/ml、95.2±13.7 pg/ml、92.9±18.4 pg/ml，乳腺癌组血清GDF3水平明显高于良性乳腺疾病组和健康组，差异均有统计学意义（*P*

< 0.05），良性乳腺疾病组血清指标GDF3与健康组比较，差异无统计

学意义（*P*> 0.05）；乳腺癌组、良性乳腺疾病组和健康组血清指标CA15-3的表达水平分别为：49.6±15.3 U/ml、19.1±8.5 U/ml、18.7±5.2 U/ml，乳腺癌组血清指标CA15-3水平明显高于良性乳腺疾病组和健康组，差异有统计学意义（*P* < 0.05），良性乳腺疾病组血清指标CA15-3与健康组比较，差异无统计学意义（*P*> 0.05）；乳腺癌组、良性乳腺疾病组及健康对照组血清CA125指标的表达水平分别为：51.5±17.2 U/ml、22.7±6.6 U/ml、19.9±4.8 U/ml，乳腺癌组血清指标CA125水平明显高于良性乳腺疾病组和健康对照组，差异有统计学意义（*P* < 0.05），良性乳腺疾病组血清指标

CA125与健康对照组比较，差异无统计学意义（*P*> 0.05）；乳腺癌组、良性乳腺疾病组及健康组血清CEA 指标的表达水平分别为：16.4±8.1

ng/ml、3.2±1.9 ng/ml、2.5±1.6 ng/ml。乳腺癌组血清指标CEA水平明显高于良性乳腺疾病组和健康组，差异有统计学意义（*P* < 0.05），良性乳腺疾病组血清指标CEA与健康组比较，差异无统计学意义（*P*> 0.05）。

2 GDF3、CA125、CA15-3、CEA四种血清标记物单独检测敏感度、特异度及准确度比较：

GDF3敏感度、特异度及准确度依次为：15.4%(8/52)、77.5%（31/40）、

42.4%(39/92)；CA125敏感度、特异度及准确度依次为：17.3%（9/52）、

80.0%(32/40)、44.6%(41/92)；CA15-3 敏感度、特异度及准确度依次为：32.7%(17/52)、87.5%(35/40)、56.5%(52/92)；CEA 敏感度、特异度及准确度依次为：26.9%(14/52)、97.5%(39/40)、57.6%（53/92）。单独检测CA15-3和CEA对于乳腺癌诊断的敏感度、特异度及准确度优于CA125和GDF3，差异有统计学意义（*P* < 0.05）。

3 GDF3、CA125、CA15-3、CEA四种标记物联合检测敏感度、特异度及准确度比较：

四种血清指标两两联合其敏感度均优于单项指标测定，特异度相比单项测定均有少量降低，但准确度均有明显提高，其中，CA15-3和CEA联合敏感度和准确度最高，达到46.1%和64.1%。三项指标及四项指标联合检测较各指标单独及两两检测诊断敏感度和准确度均再次升高，其中三种标记物联合检测敏感度及准确度最好的为CA125、CA15-3和CEA组合。而GDF3、CA125、CA15-3和CEA四项指标联合检测其敏感度为

61.5 %，特异度72.5%，准确度66.3%。故综合来看，联合四项血清指标诊断乳腺癌效果最佳，但特异度相对较低，所以在临床应用上应配合其他检查方式，避免误诊。

结论：

1本实验通过对52例乳腺癌组患者的血清标记物CEA、CA125、CA15-3及GDF3水平进行检测，结果表明乳腺癌患者四项指标明显高于良性乳腺疾病患者及健康女性，对乳腺癌都有一定的诊断意义。

2 GDF3、CA125、CA15-3和CEA四种血清标记物单独检测比较，其敏感度依次为：CA15-3> CEA> CA125> GDF3，其特异度依次为：CEA> CA15-3> CA125> GDF3，这四种血清标志物的准确度依次为：CEA> CA15-3> CA125> GDF3。综合分析：四种血清指标单独检测诊断乳腺癌敏感度、特异度及准确度相比较，CA15-3和CEA最好。

3与GDF3、CA125、CA15-3和CEA单独检测相比，三项指标及四项指标联合检测较各指标单独及两两检测诊断敏感度均有不同程度的升

高，但诊断特异度较单独检测及两两联合明显下降，而准确度明显增高，其中联合检测GDF3、CA125、CA15-3和CEA这四项血清标记物关于乳腺癌诊断准确率最高。通过肿瘤标记物联检结果分析，证实肿瘤标记物联检其敏感性和准确度均高于单项指标的监测，能提高乳腺癌的阳性检出率，有利于乳腺癌的早期诊断。

**关键词：**乳腺癌；糖类抗原； 15-3；人生长分化因子； 3；癌胚抗原；糖 类抗原； 125；诊断；联合检测

**The study on the detection of GDF3 combined CA125, CA15-3 and CEA in diagnosis of breast cancer**

**Abstract**

Breast cancer is one of the most common malignant tumor of women today, incidence of a disease in the first of all female malignant tumors. Now breast cancer has become the first big disease cancer related death in women, Female breast cancer mortality is increasing year by year. And breast cancer itself is one of the best solid tumors of the curative effect. So early diagnosis and treatment to reduce the mortality of the patients with breast cancer, improve the patient's quality of life and prolong the living time is a very important role. Tumor markers is widely used in the usual medical important means of early detection of breast cancer. It exists in the blood, cells, tissues, body fluids, and many other places can be effectively confirmed the existence of the tumor and growth. Its diagnosis and differential diagnosis of tumor and curative effect evaluation and recovery situation is of great significance. Current clinical commonly used serum markers were carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate antigen 125 (CA125) and carbohydrate antigen 15-3 (CA15-3), a combination of these three tumor markers detection diagnosis to assist clinical early screening.

**Objective:**

This study was to explore human growth differentiation factor (GDF3) serum index for the diagnosis of breast cancer, significance and effect. And discussed the CEA, CA15-3, CA125 and GDF3 single independent inspection and joint the meaning and value of diagnosis of breast cancer. Tumor markers joint inspection result analysis, confirmed the tumor markers joint inspection the sensitivity and specificity were higher than that of the single parameter monitoring, Can increase the accuracy in early diagnosis of breast cancer, is helpful to early diagnosis of breast cancer.

**Methods:**

1. Object of study: (1) Breast cancer group is in November 2012 - January 2014 in our hospital during the period of oncology department in the hospital, the imaging ultrasound, mammary gland molybdenum target inspection and postoperative pathological examination and verification, 52 cases of women with breast cancer, their age is 42 years old to 75 years old, with an average of

54.2 years. (2) Benign breast disease group is in the same period in our hospital in the hospital, according to their sick after inspection and ultrasonic and blood, and postoperative pathological examination confirmed the 40 female patients with benign breast disease of breast cancer, including 31 patients with mammary gland fibroma, and 6 patients with breast cystic hyperplasia, 3 patients with lipoma, their age is 39-71, with an average of 52.8 years. (3) Normal control group with 40 people, who were examined in our hospital medical center of women's health check-up, centerless, important organs such as liver, lung, and kidney disease, age, at the age of 31-78 with an average of

55.1 years.

2. Specimen collection and processing: Acquisition research object fasting venous blood 3 mL(if you want to do breast surgery patients, both in preoperative acquisition), let stand 20 min, 15 min, fully carries on the centrifugal and timely detection. Using enzyme-linked immunosorbent (ELISA) to determine GDF3, instrument we chose to use BioRad BioRad450 enzyme standard instrument company. The determination of CA125, CA15-3 and CEA choose electrochemiluminescence immunoassay, instrument with roche company makes first EleesysE601 automatic electrochemical luminescence immunity analyzer. All reagents for instrument reagent, all operations must be in accordance with the instrument and reagents and equipment on the instructions.

3. Statistical methods: Choose SPSS17. 0 statistical software for all measurement data statistics processing. measurement data determination results with x±s. We adopt the method of variance analysis is compared between group, if need to compute data and speed, we adopt the method of

Chi-square. Sensitivity and application, specific degrees and the accuracy of/(a

+ d) /(a + b + c + d)]. Respectively to evaluate the index for the diagnosis of breast cancer and the effect of joint in the diagnosis of breast cancer, inspection standard if *P* < 0.05, think they conform with the principle of statistics.

**Results:**

1. Breast cancer, Benign breast disease group and healthy group GDF3, CA125, CA15-3 and CEA comparison:

Breast cancer, benign breast disease group and healthy group, serum levels of index GDF3 is respectively: 148.8±19.9 pg/ml, 95.2±13.7 pg/ml and 92.9±18.4 pg/ml. Breast cancer patients serum level of GDF3 compared with benign breast disease group and healthy group, *P* < 0.05, differences in accordance with the requirements of the statistical standard. Benign breast disease group compared with the healthy group, serum index GDF3 *P*> 0.05, which do not require statistical differences. Breast cancer and benign breast disease group and healthy group serum index of CA15-3 levels are: 49.6 ±

15.3 U/ml, 19.1±8.5 U/ml, 18.7±5.2 U/ml. Breast cancer group CA15-3 levels of serum markers and benign breast disease group and health control group, the difference has statistical significance. Benign breast disease group of serum markers of CA15-3 levels compared with healthy group, is not in conformity with the statistical differences. Breast cancer and mammary gland diseases group and healthy group of serum CA125 level: 51.5±17.2 U/ml,

22.7±6.6 U/ml, 19.9±4.8 U/ml. Breast cancer serum CA125 level and benign breast disease group compared with the healthy group, accord with the requirement of statistical difference. Benign breast disease group compared with healthy group, the serum levels of CA125 is not in conformity with the statistical differences. Group of breast cancer and breast benign disease group and healthy group of serum CEA levels:16.4±8.1 ng/ml, 3.2±1.9 ng/ml, 2.5

±1.6 ng/ml. Breast cancer group serum CEA levels compared with benign breast disease group and healthy group, in accordance with statistical differences. Benign breast disease group compared with healthy group, the

Serum CEA level is not in conformity with the statistically significant difference.

2. GDF3, CA125, CA15-3 and CEA in four separate serum markers detection accuracy and sensitivity, specific and comparison:

GDF3 sensitivity, specific degrees and accuracy in the order: 15.4% (8/52), 77.5% (31/40), 42.4% (39/92); CA125 sensitivity, specific degrees and accuracy in the order: 17.3% (9/52), 80.0% (32/40), 44.6% (41/92); CA15-3 sensitivity, specific degrees and accuracy in the order: 32.7% (17/52), 87.5% (35/40), 56.5% (52/92); The CEA sensitivity, specific degrees and accuracy in the order: 26.9% (14/52), 97.5% (39/40), 57.6% (53/92). CA15-3 and CEA

Separate detection of breast cancer, the sensitivity of the specific degrees and accuracy are better than that of CA125 and GDF3, accord with statistical difference (*P* < 0.05).

3. GDF3, CA125, CA15-3 and CEA joint four markers detection accuracy and sensitivity, specific and comparison:

Four kinds of serum index both joint its sensitivity are better than the single parameter determination, specific degrees compared with the single measurement is a little lower, but the accuracy are improved obviously. The CA15-3 and CEA joint highest sensitivity and accuracy, and 46.1% and 64.1%. Three indicators and four indicators combined detection compared with separate indicators and two both detection sensitivity and accuracy to rise again. Sensitivity and accuracy of the best three indicators of joint detection of CA125 + CA15-3 + CEA combination. And GDF3, CA125, CA15-3 and CEA

Four indicators coalition detection sensitivity was 61.5%, its specific degree 72.5%, 66.3% accuracy. So together, combined the four best index of serum in the diagnosis of breast cancer, but the specific degree is relatively low, so should cooperate with other inspection method on clinical application, to avoid the misdiagnosis.

**Conclusion:**

1．This experiment by means of 52 cases of breast cancer patients serum markers CEA, CA125, CA15 3 and GDF3 level testing, results showed that the

Four indicators for the diagnosis of breast cancer has certain significance of breast cancer patients serum of four indicators were significantly higher than that of benign breast diseases group and healthy group, the difference was statistically significant. Of breast cancer patients serum GDF3 is obtained by experiment compared with benign breast disease group and healthy group, the difference was statistically significant.

2．GDF3, CA125, CA15-3 and CEA four serum marker detection results

Compare alone, its sensitivity in the order: CA15-3> CEA> CA125> GDF3, followed by its specific degrees: CEA> CA15-3> CA125> GDF3, its accuracy in the order: the CEA> CA15-3> CA125> GDF3. Comprehensive analysis: the four kinds of serum index detection alone diagnostic accuracy of breast cancer susceptibility, specific degrees and CA15-3 and CEA is best.

3．About GDF3, CA125, CA15-3 and CEA detection alone, compared

With three indicators and four indicators joint detection is two separate indicators and the increase of detection sensitivity to some extent, but the diagnosis of specific degrees compared with single detection and two two joint decreased obviously, and significantly higher accuracy, the joint detection GDF3, CA125, CA15-3 and CEA four serum index for breast cancer diagnosis accuracy rate is highest. The clinical practical value remains to be further discussed.

**Keywords:** Breast cancer; Growth differentiation factor3 (GDF3); Carcin- oembryonic antigen (CEA); Carbohydrate antigen 125 (CA125); Carbohydrate antigen 15-3 (CA15-3); Diagnosis; Joint detection

**英文缩写**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 英文缩写 | 英文全称 | 中文全称 |
| CEA | Carcinoembryonic antigen | 癌胚抗原 |
| CA15-3 | Carbohydrate antigen 15-3 | 糖类抗原 15-3 |
| CA125 | Carbohydrate antigen 125 | 糖类抗原 125 |
| GDF3 | Growth differentiation factor3 | 人生长分化因子 3 |
| ROC | Receiver operating characteristic curves | 受试者工作特征曲线 |
| AUC | Area under the curve | 曲线下面积 |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent | 酶联免疫吸附法 |
| TGF-β | Transforming growth factor-β | 转化生长因子-β |
| WBC | White blood cells | 白细胞 |
| Hb | Hemoglobin | 血红蛋白 |
| PLT | Platelet | 血小板 |
| ALT | Alanine aminotransferase | [谷丙转氨酶](http://baike.baidu.com/subview/65582/6296344.htm#viewPageContent) |
| AST | Aspertate aminotransferase | 谷草转氨酶 |
| LDH | Lactate dehydrogenase | 乳酸脱氢酶 |
| Cr | Creatinine | 肌酐 |
| HCV | Hepatitis C virus | 丙肝病毒 |

**GDF3联合CA125、CA15-3和CEA等血清指标在乳腺癌诊断中的价值**

前**言**

乳腺癌是当今妇女最常见的恶性肿瘤之一，发病率居所有女性恶性肿瘤的首位[1]，而且其发病率仍呈逐年升高的趋势[2-3]。如今乳腺癌已经成为女性癌相关死亡的第一大疾病，在我国女性因乳腺癌年死亡率逐年增高，而乳腺癌本身是疗效最佳的实体肿瘤之一。乳腺癌若能早期发现、早期诊断、早期进行医疗，能够显著提高疾病治愈率，降低患者地经济负担，提高生活质量和生存率[4]。当今医学有多种手段和指标可以诊断乳腺癌，如超声影像，免疫组化，基因方面的检测等，但由于各种主观方面因素的影响，其结果很难标准化。肿瘤标志物则是临床上常用的早期筛查乳腺癌的重要手段之一[5]，它存在血液、细胞、组织、体液中，可以有效的证实肿瘤的存在和生长，它对诊断肿瘤及鉴别诊断以及治疗过程中疗效和预后的评价意义重大。一种恶性肿瘤可以释放出很多种肿瘤标记物，而一种肿瘤标记物可以作用于多种肿瘤[6]，目前，科学研究发现，多种肿瘤标志物都与乳腺癌有关，但任何一个单独检测时灵敏度均较低，尤其是对于早期患者非常容易漏检[7]，没有任何一种肿瘤标记物单独检测就能够满足临床的需要。联合检测乳腺癌患者血清GDF3、CA125、CA15-3和CEA，来判断这四者联检对乳腺癌的诊断的特异性和灵敏度，为临床乳腺癌的早期诊断寻求一种更好的方法[8-9]。（Fig 1-3）

转化生长因子-β[10]（Transforming growth factor-β，TGF-β）是属

于一组科学新近发现的，能够调节细胞生长和分化的TGF-β超家族

[11]，它是一类分泌型的多肽，它们在各种生理过程中都发挥了重要作

用。人生长分化因子3（growth differentiation factor 3, GDF3）属TGF-β超家族中的一员[12]，在脂肪生成、早期胚胎发育等方面起到一定的作用。目前，有研究显示，GDF3乳腺癌组织中异常表达[13]，本实验通过许血清试验验证的方式，进一步探讨GDF3对于乳腺癌诊断的意义。

20世纪80年代，专家利用杂交瘤细胞技术来识别肿瘤特异性大分子糖蛋白抗原（carbohydrate antigen, CA），并发现了单克隆抗体的识别系统。CA[是肿瘤细胞](http://baike.baidu.com/view/2921695.htm)相关抗原。常用的CA系列有：CA125（[卵巢癌](http://baike.baidu.com/view/124600.htm)相关抗原）；CA19-9（[胰腺](http://baike.baidu.com/view/63378.htm)、肠癌相关抗原）；CA72-4（[胃癌](http://baike.baidu.com/view/44100.htm)相关抗原）；CA15-3（[乳腺癌](http://baike.baidu.com/view/44894.htm)相关抗原）等等。CA15-3 已被证明是乳腺癌的相关抗原，它位于肿瘤细胞的表面，当细胞发生癌变时，细胞膜上蛋白酶和唾液酶的活性增加，细胞骨架被破坏，导致细胞抗原凋落，释放到血液，使血清CA15-3含量升高。CA15-3是乳腺癌的最常用的特异性标志物[14]。据报道30%-50%的乳腺癌患者的血清CA15-3水平显著升高[15]，其含量的变化与乳腺癌的治疗效果密切相关，目前认为CA15-3是乳腺癌患者诊断和监测病情和术后复发情况、观察疗效的最好的指标[16]。

糖类抗原125（carbohydrate antigen 125, CA125）发现于1983年，是Bast等人[17]从上皮性[卵巢癌](http://baike.baidu.com/view/124600.htm)抗原中检测出的可以被单克隆抗体OC125所结合的一种[糖蛋白](http://baike.baidu.com/view/184084.htm)。近年来，CA125在恶性肿瘤特别是卵巢癌的诊断中已广泛使用[18]。研究表明，CA125在一些非妇科的恶性肿瘤，如淋巴癌、黑色素瘤、肺癌、胃癌、肝癌、胆管癌、胰腺癌、肾细胞癌、结肠癌以及乳腺癌等部分患者血清CA125浓度也有升高[20]，研究发现，乳腺癌细胞存在并可释放CA125入血。在乳腺癌中的阳性率据报道约为22%[18]。

癌胚抗原（carcinoembryonic antigen, CEA）最[初在结肠癌](http://baike.baidu.com/view/88566.htm)和胎儿的肠组织中发现，因此叫做癌胚抗原[21]。CEA升高常见于[结肠癌](http://baike.baidu.com/view/76663.htm)、[胰腺癌](http://baike.baidu.com/view/73514.htm)、[胃癌](http://baike.baidu.com/view/44100.htm)、[甲状腺髓样癌](http://baike.baidu.com/view/200453.htm)以及乳腺癌等。在恶性肿瘤的状态下，

CEA进入淋巴循环和血液循环，引起血清CEA的异常升高。但吸烟的人、[妊娠期](http://baike.baidu.com/view/923484.htm)孕妇和心血管疾病、[糖尿病](http://baike.baidu.com/view/923.htm)、非特异性[结肠炎](http://baike.baidu.com/view/362945.htm)等疾病的患者中15%～53%的[血清](http://baike.baidu.com/view/42775.htm)CEA也会有所上升[22]，所以CEA不是一种特定的恶性肿瘤的标记物，在诊断上只有辅助价值。

由此可见，在目前的科学研究及科技发展的情况下，以上四种血清指标单独检测都无法确诊乳腺癌，而本课题通过联合检测血清

GDF3、CA125、CA15-3、CEA在乳腺癌患者及正常人中的表达水平，并将各指标进行对比分析，旨在探讨联合检测[23]GDF3、CA125、

CA15-3、CEA在乳腺癌早期诊断中的意义。

**材料与方法**

# 1 研究对象

## 1.1 乳腺癌组：

选取承德市中心医院肿瘤外科2012年11月－2014年1月期间

住院的女性乳腺癌患者52例，年龄42-75岁，平均54.2±3.8岁。所有乳腺癌患者的诊断经影像学Ｂ超、乳腺钼靶片及手术病理检查证实确诊。符合2013年中国抗癌协会修订的《中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范（2013版）》的乳腺癌诊断标准，且临床病史资料完整，对于同时患有其它恶性肿瘤或者肿瘤全身广泛转移者，不在研究范围。

## 1.2 良性乳腺疾病组：

选取同期在承德市中心医院肿瘤外科住院的女性良性乳腺疾病患者40例，年龄39-71岁，平均52.8±5岁。所有良性乳腺疾病组病例，都是根据病史、B超、血液检查和术后病理检查确诊的。其中乳腺纤维瘤患者31例，乳腺囊性增生病6例，脂肪瘤3例。

## 1.3 正常对照组：

选取同期在我院体检中心的体检的女性健康体检者40例，无心、

肝、肺、肾等重要脏器疾患，年龄31-78岁，平均55.1±4.2岁。

## 1.4 一般资料等条件：

所选以上3组间年龄、白细胞（WBC）、血红蛋白（Hb）、血小板（PLT）、[谷丙转氨酶](http://baike.baidu.com/subview/65582/6296344.htm#viewPageContent)（ALT）、谷草转氨酶（AST）、乳酸脱氢酶（LDH）、肌酐（Cr）、尿素（UREA）、HCV抗体阳性情况等一般资料，经检验均具有均衡性（*P*> 0.05）。

# 2 标本采集与处理

所有受试者均在清晨空腹采集外周血3mL（如需行乳腺手术的患者，均于术前采集），无溶血、脂血，置于未加抗凝剂的试管中，静置于室温下20 min, 3000 r/min离心15 min，用Ependorff管分装分离血清，每管0.5-1ml，分别编码，保存于-40℃冰箱中。

# 3 主要试剂及仪器

## 3.1 仪器设备：

美国BioRad公司Bio-Rad450全自动酶标仪、瑞士ROCHE公司电化学分析仪E601、日本日立公司全自动化学分析仪7180、白洋低速离心机80C、海尔电冰箱BD-92B、白洋高速离心机600A、康健旋涡混合器KJ-201BS、海尔低温冰箱DW-40L262、新康恒温水浴箱420-C、微量移液器、移液器头、EP管、量桶、烧杯、光化学贴膜、滤纸。

## 3.2 试剂组成：

CEA试剂盒、CA15-3试剂盒、CA125试剂盒、GDF3 elisa试剂盒（包含免疫吸附剂、酶结合物、底物、显色剂、终止液、结合物及标本的稀释液、浓缩洗涤液）。

# 4 实验方法

## 4.1 GDF3测定：

### 4.1.1 检测原理：

选用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验（ELISA）法。在包被微孔中预先包被GDF3抗体，并依次加入标本和标准品。HRP标记检测抗体，经过温育后彻底清洗。用底物TMB显色，TMB在过氧化物酶的催化下呈蓝色，并在酸的作用下变为最终的黄色。颜色的深浅于样品中的GDF3浓度呈正相关。用酶标仪在450nm的波长下测定吸光度（OD值），然后计算样品浓度。

### 4.1.2 溶液配置和血清标本收集：

①设备平时保存在冷藏冰箱中，使用前在室温下平衡20分钟后再使用。刚从冰箱取出的浓缩洗涤液中会有结晶，使用前先以水浴加热使结晶溶解完全，所有液体组分在使用前均充分摇匀。

②洗涤液：以蒸馏水按1: 20的比例稀释，即1份20X洗涤缓冲液中加入19份蒸馏水。

③血清标本：使用的试管不含热原和内毒素，操作过程中避免一切细胞刺激，收集血液后，在3000转/分的离心机中离心15分钟，将血清和红细胞完全分离。血液标本采集后冷冻（-30℃）保存，检测时将血清标本及检测试剂盒平衡至室温。

④标准品液配制：使用前每管中添加蒸馏水200µl使之充分溶解。

### 4.1.3 操作步骤：

①在室温下静置20min后，从铝箔袋中取出所需的板条，其余板条用自封袋密封后放回2-8℃的冷藏冰箱内。

②设置好样本孔和标准品孔，标准品孔中各加入不同浓度的标准品50μl。

③样本孔中首先加入10μl待测的样本，再加入40μl样本稀释液；空白孔中不加。

④除去空白孔之外，标准和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶

（HRP）标记过的检测抗体100μl，并用封板膜密封反应孔，在37℃水浴箱中温育60min。

⑤弃去液体，用吸水纸拍干，每孔中加满洗涤液清洗，静置1min

后，甩干洗涤液，用吸水纸拍干，如此重复5次。

⑥每孔中加入底物A和B各50μl，在37℃水浴箱中避光温育

15min。

⑦每孔中加入终止液50μl，并在15min内，在450nm波长下测定出各孔的OD值。

### 4.1.4 结果判断：

绘制标准曲线：在Excel工作表中，以标准品浓度和对应OD值作为横坐标和纵坐标，绘制出标准品的线性回归曲线，用曲线方程计算出各样本的浓度值。

## 4.2 CEA电化学发光法检测：

### 4.2.1 样本的采集和准备：

①血清样品用有分离胶的真空管收集。

②检测前，将样本、定标液和质控品在常温（20-25℃）下平衡。

③样本、定标液和质控品在分析仪上的检测需在2小时内完成。

### 4.2.2 检测:

①遵照说明书中有关分析仪的相关指导进行检测。

②试剂使用之前分析仪自动搅拌磁珠微粒，直至其处于悬浮状态后。试剂通过条形码自动读取相关信息，在特殊的情况下，分析仪不能自动读取条形码信息时，手动输入条形码标签上的15位数字序号

读取信息。

③ROCHE E601电化学分析仪：将冷藏试剂室温平衡至20℃左右，放置分析仪的试剂盘（20°C）内。

## 4.3 CA125、CA15-3的电化学发光法基本同CEA的检测方法。

# 5 统计学方法

利用SPSS17.0统计软件来进行统计分析，计量资料用*x*±SD的形式来表示，各组间比较选用方差分析检验，组间两两比较用SNK检验，计数资料用百分数的形式表示，组间比较选用χ2检验，*P*<0.05则认为差异有统计学意义；CA125正常参考值为0-35U/ml, CA15-3正常参考值为0-25 U/ml, CEA正常参考值为0-3.4ng/ml. GDF3界值的界定采用受试者工作特征曲线的方式，简称ROC曲线，它是基于一系列不同的二分类的方式，以真阳性率（灵敏度）为纵坐标，以假阳性率（1-特异度）为横坐标来绘制曲线[24]。然后计算曲线下的面积，面积越大，诊断价值越高，面积在0.9以上时准确性达到最高。通过

ROC曲线来评价肿瘤标志物检测乳腺癌的特异性及敏感度等应用价值。以曲线下面积（AUC）1.0为最理想检测指标，若AUC<0.5，则无诊断价值。（Fig 4）

**结果**

## 1 乳腺癌组、良性乳腺肿瘤组及正常对照组血清GDF3、CA125、CA15-3、CEA检测结果：

### 1.1 血清GDF3在乳腺癌组、良性乳腺肿瘤组及正常对照组中的检测结果：

乳腺癌组血清GDF3为：148.8±19.9 pg/ml；良性乳腺肿瘤组血清

GDF3为：95.2±13.7 pg/ml、正常对照组血清GDF3为：92.9±18.4 pg/ml。乳腺癌组血清指标GDF3水平明显高于良性乳腺肿瘤组和正常对照组，差异有统计学意义（*P* < 0.05），良性乳腺肿瘤组血清指标GDF3与正常对照组比较，差异无统计学意义（*P*> 0.05）（Table 1）。

### 1.2 血清CA125在乳腺癌组、良性乳腺肿瘤组及正常对照组中的检测结果：

乳腺癌组血清CA125为：51.5±17.2 U/ml；良性乳腺肿瘤组血清

CA125为：22.7±6.6 U/ml、正常对照组血清CA125为：19.9±4.8 U/ml。乳腺癌组血清指标CA125水平明显高于良性乳腺肿瘤组和正常对照组，差异均有统计学意义（*P* < 0.05），良性乳腺肿瘤组血清指标CA125与正常对照组比较，差异无统计学意义（*P*> 0.05）（Table 1）。

### 1.3 血清CA15-3在乳腺癌组、良性乳腺肿瘤组及正常对照组中的检测结果：

乳腺癌组血清CA15-3为：49.6±15.3 U/ml；良性乳腺肿瘤组血清CA15-3为：19.1±8.5 U/ml、正常对照组血清CA15-3为：18.7±5.2 U/ml。乳腺癌组血清指标CA15-3水平明显高于良性乳腺肿瘤组和正常对照组，差异均有统计学意义（*P* < 0.05），良性乳腺肿瘤组血清指标CA15-3与正常对照组比较，差异无统计学意义（*P*> 0.05）（Table 1）。

### 1.4 血清CEA在乳腺癌组、良性乳腺肿瘤组及正常对照组中的检测结果：

乳腺癌组血清CEA为：16.4±8.1 ng/ml；良性乳腺肿瘤组血清CEA为：3.2±1.9 ng/ml、正常对照组血清CEA为：2.5±1.6 ng/ml。乳腺癌组血清指标CEA水平明显高于良性乳腺肿瘤组和正常对照组，差异均有统计学意义（*P* < 0.05），良性乳腺肿瘤组血清指标CEA与正常对照组比较，差异无统计学意义（*P*> 0.05）（Table 1）。

## 2 四种血清标志物单独检测结果比较：

结果表明，乳腺癌组各项标志物单项检测，敏感度分别为：GDF3 15.4%(8/52)，CA15-3 32.7%(17/52)，CA125 17.3%(9/52)，CEA 26.9%

（14/52）。以乳腺良性疾病组作为对照组，以上各项标志物的特异度分别为GDF3 77.5%(31/40)，CA15-3 87.5%(35/40)，CA125 80.0%

（32/40），CEA 97.5%（39/40）。综合起来，以上各项标志物的准确度分别为：GDF3 42.4%(39/92)，CA15-3 56.5%(52/92)，CA125 44.6%

（41/92），CEA 57.6%（53/92）。其敏感度依次为：CA15-3> CEA>

CA125> GDF3，其特异度依次为：CEA> CA15-3> CA125> GDF3，其

准确度依次为：CEA> CA15-3> CA125> GDF3。四种血清指标单独检测诊断乳腺癌的敏感度CA15-3最高，且与CA125、GDF3比较，差异有统计学意义（*P* < 0.05），与CEA比较无统计学意义（*P*> 0.05）。

CEA 诊断敏感度与CA125、GDF3 比较，差异有统计学意义（*P* <

0.05）。四种血清指标单独检测诊断乳腺癌的特异度CEA最高，且与

CA125、CA15-3、GDF3三指标比较，差异有统计学意义（*P* < 0.05）。四种血清指标单独检测诊断乳腺癌的准确度CEA最高，且与CA125、

GDF3比较，差异有统计学意义（*P* < 0.05），与CA15-3比较无统计学意义（*P*> 0.05）。C15-3诊断准确度与CA125、GDF3比较，差异有统计学意义（*P* < 0.05）。综合分析：四种血清指标单独检测诊断乳腺癌敏感度、特异度及准确度CA15-3、CEA最好（Table 2, Fig 5）。

## 3 四种标记物联合检测结果比较：

四种标记物两两联合检测的敏感性分别为：GDF3+CA125 25.0%

(13/52)，GDF3+CA15-3 40.4%(21/52)，GDF3+CEA 34.6%(18/52)，CA125+CA15-3 42.3%(22/52)，CA125+CEA 36.5%(19/52)，CA15-3+

CEA 46.1%（24/52）。特异性分别为：GDF3+CA125 72.5%(29/40)，GDF3+CA15-3 75.0% ( 30/40)，GDF3+CEA 77.5% ( 31/40)，CA125+CA15-3 75.0% ( 30/40)，CA125+CEA 80.0% ( 32/40)，CA15-3+CEA 87.5%（35/40）。准确度分别为：GDF3+CA125 45.7%

(42/92)，GDF3+CA15-3 55.4%(51/92)，GDF3+CEA 53.3%(49/92)，CA125+CA15-3 56.5% ( 52/92)，CA125+CEA55.4%（51/92），

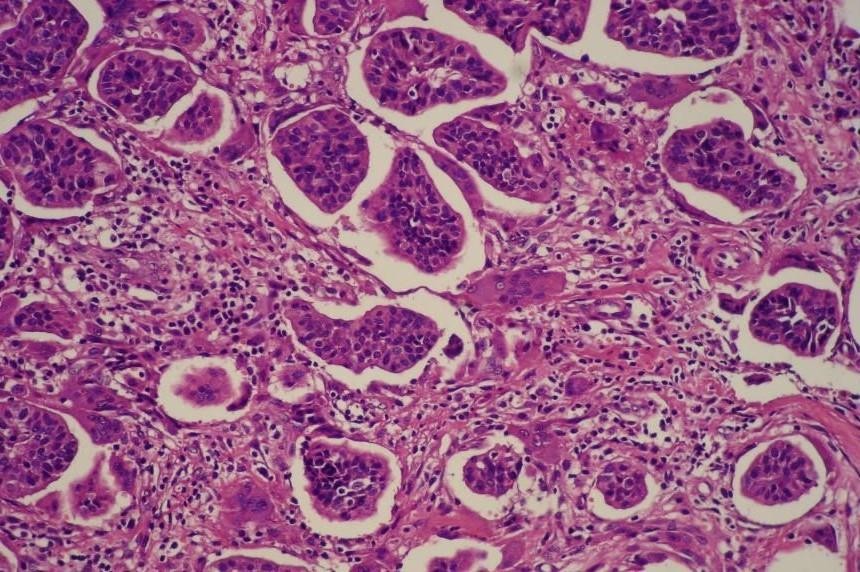
CA15-3+CEA 64.1%（59/92）。其中CA15-3+CEA 组合其敏感性、特异性及准确度均较其他组合高，且差异有统计学意义（Table 3, Fig 6）。

GDF3+CA125+CA15-3三指标联合检测的敏感性、特异性、准确性分别为48.1%(25/52)、72.5%(29/40)、58.7%（54/92），其他三种三项组合联合检测与之无明显差异，而联合四种血清标记物GDF3+CA125+CA15-3+CEA的敏感性、特异性、准确性分别为61.5%

（32/52）、72.5%(29/40)、66.3%（61/92）。与GDF3、CA125、CA15-3

和CEA单独检测相比，三项指标及四项指标联合检测较各指标单独及两两检测诊断敏感度均有不同程度的升高，但诊断特异度较单独检测及两两联合明显下降；联合检测可以不同程度的提高诊断敏感性，减少漏诊，具有重要的临床意义，而特异性有所下降，从而可能增加误诊率，应引起临床注意。而从准确度来看，联合检测GDF3、CA125、CA15-3和CEA四项血清指标对于乳腺癌诊断准确率最高。其临床实用价值有待进一步探讨（Table 3, Fig 7）。

**附图**



**Fig 1** micro papillary carcinoma of breast **cancer**



**Fig 2** invasive lobular carcinoma of the breast **cancer**



**Fig 3** small invasive breast **cancer**



**Fig 4** GDF3 ROC **curve**



100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

0

GDF3

CA125

CA15-3

CEA

Sensitivity Specificity Accuracy

**Fig 5** GDF3, CA125, CA15-3 and CEA test results alone four **markers**

CA153+CEA

CA125+CEA CA125+CA153 GDF3+CEA GDF3+CA153

GDF3+CA125

0

20

40

60

80

100

Accuracy Specificity Sensitivity

**Fig 6** GDF3, CA125, CA15 3 and CEA four markers compared two **joint**

**Detection results**

CA125+CA153+CEA

GDF3+CA153+CEA GDF3+CA125+CEA

GDF3+CA125+CA153

Accuracy

Specificity Sensitivity

GDF3+CA125+CA153+CEA

0 10 20 30 40 50 60 70 80

**Fig 7** GDF3, CA125, CA15-3 and CEA four markers **comparing three and four joint detection results**

**附表**

**Table** **1** three groups of patients serum GDF3, CA125, CA15-3 and **CEA**

|  |  | Level test resul | ts( x ±s ) |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Group | N | CA15-3(U/ml) | CA125(U/ml) | CEA(ng/ml) | GDF3 (pg/ml) |
| Breast Cancer Group | 52 | 49.6±15.3 | 51.5±17.2 | 16.4±8.1 | 148.8±19.9 |
| Benign breast disease group | 40 | 19.1±8. 5＃ | 22.7±6.6 | 3.2±1.9 | 95.2±13.7 |
| Health group | 40 | 18.7±5. 2＊ | 19.9±4.8 | 2.5±1.6 | 92.9±18.4 |

注：乳腺癌组与#和**＊**比较Ｐ*<0.05*，#与**＊**比较Ｐ*> 0.05*

Table 2 separate four markers detection results

| Index | Sensitivity | Specificity | Accuracy |
| --- | --- | --- | --- |
| GDF3 | 15.4%(8/52) | 77.5%(31/40) | 42.4%(39/92) |
| CA125 | 17.3%(9/52) | 80.0%(32/40) | 44.6%(41/92) |
| CA15-3 | 32.7%(17/52) | 87.5%(35/40) | 56.5%(52/92) |
| CEA | 26.9%(14/52) | 97.5%(39/40) | 57.6%(53/92) |

敏感度=真阳性/（真阳性+假阴性）×100%；特异度=真阴性/（真阴性十假阳性）×100% ；

准确度=(真阳性+真阴性) /（真阳性+真阴性+假阳性+假阴性）×100%

**Table** **3** **four markers joint detection results**

| Index | Sensitivity | Specificity | Accuracy |
| --- | --- | --- | --- |
| GDF3+CA125 | 25.0%(13/52) | 72.5%(29/40) | 45.7%(42/92) |
| GDF3+CA15-3 | 40.4%(21/52) | 75.0%(30/40) | 55.4%(51/92) |
| GDF3+CEA | 34.6%(18/52) | 77.5%(31/40) | 53.3%(49/92) |
| CA125+CA15-3 | 42.3%(22/52) | 75.0%(30/40) | 56.5%(52/92) |
| CA125+CEA | 36.5%(19/52) | 80.0%(32/40) | 55.4%(51/92) |
| CA15-3+CEA | 46.1%(24/52) | 87.5%(35/40) | 64.1%(59/92) |
| GDF3+CA125+CA15-3 | 48.1%(25/52) | 72.5%(29/40) | 58.7%(54/92) |
| GDF3+CA125+CEA | 42.3%(22/52) | 72.5%(29/40) | 55.4%(51/92) |
| GDF3+CA15-3+CEA | 51.9%(27/52) | 75.0%(30/40) | 62.0%(57/92) |
| CA125+CA15-3+CEA | 53.8%(28/52) | 75.0%(30/40) | 63.0%(58/92) |
| GDF3+CA125+CA15-3+CEA | 61.5%(32/52) | 72.5%(29/40) | 66.3%(61/92) |

**讨论**

目前，乳腺癌已成为妇女最常见的恶性肿瘤之一，其发病率呈逐渐上升的趋势[25]，乳腺本身并不是维持生命活动的重要器官，所以原位乳腺癌并不是致命的疾病；但由于乳腺恶性肿瘤细胞失去了正常细胞的特性，细胞之间为松散连接的结构，非常容易脱落[26]。而癌细胞一旦发生脱落以后，游离癌细胞可以伴随血液或淋巴液扩散至全身，形成恶性肿瘤的转移，危及患者生命[27]。目前乳腺癌已成为威胁女性身心健康的最常见的肿瘤。乳腺癌发病率在全球自20世纪70年代末

期以来一直呈上升的趋势。据报道，在美国每8名妇女中就会有1名乳腺癌患者。尽管在全球角度来看中国不是乳腺癌的高发国家，但不应乐观。近年来，我国的乳腺癌发病率的增长速度超过了乳腺癌高发国家1%~2%。据我国癌症中心和卫生部疾病预防控制局于2012年公布的我国2009年的乳腺癌的发病数据显示：全国肿瘤登记地区乳腺

癌的发病率位居所有女性恶性肿瘤的第1位，女性乳腺癌发病率（粗率）全国总计为42.55/10万，其中城市为51.91/10万，农村为23.12/10万[28]。

如今乳腺癌已经成为女性癌相关死亡的第一大疾病，在我国女性因乳腺癌年死亡率逐年增高，而乳腺癌本身是疗效最佳的实体肿瘤之一。因此，早期的诊断并进行合适的个体化治疗对减少患者死亡率，改善患者的生存质量和延长生存期起到了重要的作用。

人体的正常细胞转变为癌细胞的过程中，细胞表面的某些糖蛋白和脂类将发生变化，具体表现为肿瘤细胞表面的某些相关抗原的表达升高，这些抗原可以脱落至患者体液中，作为血清肿瘤标志物[29]。在患者处于亚临床状态时，血清肿瘤标志物往往就出现在了血液中，并且随着病情的进展浓度逐渐增加，因此血清肿瘤标志物可用于肿瘤的辅助诊断。

文献报道显示，目前科学研究中发现具有乳腺癌诊断价值的血清标志物主要有CA15-3、CA125、CEA、CA27.29、CA19-9、CYFRA21-1、

MCA、CAM26、CAM29和TPS等等。在影像学诊断和病理学诊断之后，肿瘤标志物检测也逐渐成为最常用的肿瘤诊断方法之一。通过

血清中的糖类抗原153(CA153)、糖类抗原125(CA125)、癌胚抗原(CEA)浓度单独或联合检测的方法，已被广泛用于乳腺癌的诊断[30]。转化生长因子-β（TGF-β）超家族，是一种结构保守的二聚体分

泌蛋白，其功能是多种多样的。生长分化因子3（GDF3）是TGF-β超家族的一员。1993年，小鼠的GDF3被克隆出来，发现它的转录本主要存在于骨髓、脾脏、胸腺和脂肪组织之中。目前，对于GDF3的作用的研究主要集中在以下三个方面：1)作为一个脂肪细胞生成的细胞因子；2)可作为多能干细胞（胚胎干细胞）的标记；3）在早期胚胎的发育中发挥作用。而近年来有文献显示，通过基因研究的方式，人生长分化因子3（GDF3）在乳腺癌病变组织中浓度明显减少[31]。本实验通过血清学研究验证的方式，发现乳腺癌患者血清GDF3表达水平高于良性乳腺疾病患者和正常女性，且差异有统计学意义（*P* <

0.05），对于这个结果，可能是由于乳腺癌患者组织GDF3 释放到了血清中，引起血清GDF3上升。对于单项GDF3诊断乳腺癌，本研究发现：GDF3在乳腺癌中的诊断敏感度为15.4%，特异度为77.5%，准确度为42.4%。所以初步认为GDF3具备诊断排查乳腺癌的能力，其与其他指标联合检测将在下文探讨。

1981年，Bast等人利用卵巢浆液性囊腺癌细胞系免疫纯种小鼠，获由得了分子量为200-1000KD的糖蛋白肿瘤抗原的单克隆抗体，即

CA125，然后它被作为卵巢上皮癌肿瘤标志物并应用于临床[32]。但

CA125并不是单纯的卵巢上皮癌的特异性抗原[33]，它与其它的苗勒管衍生物的良性肿瘤以及腹膜炎性反应等都有关。关于CA125与乳腺癌的相关性研究，有报道称其在乳腺癌中的阳性率为20%，有报道称CA125与乳腺癌复发存在相关性[34]，但Arjun等人在1542例成年女性中进行CA125的检测后，报道CA125的浓度与乳腺癌的发生及复发并不相关[35]，所以目前对于CA125关于乳腺癌的检测仍有争议。本研究通过血清学研究验证的方式，发现乳腺癌组患者血清CA125指标水平高于良性乳腺疾病组患者和健康组女性，且差异有统计学意义（P<0.05）。CA125 在乳腺癌中的诊断敏感度为17.3%，特异度为

80.0%，准确度为44.6%。提示CA125与乳腺癌之间存在相关性，且针对其诊断特异性和准确度较高，可作为乳腺癌辅助诊断的指标之一;

但鉴于CA125诊断乳腺癌的灵敏度不高(17.3%)，并且CA125在肝癌、肺癌、结肠癌以及一些其他恶性肿瘤患者体液中都有不同程度的升高，因此我们认为用CA125浓度来检测乳腺癌还应结合其它的诊断方法。

CA15-3是目前公认的诊断乳腺癌敏感性、特异性和准确度均较高的肿瘤标志物[36]。1984年，Hilkens等从人乳脂肪球膜上糖蛋白MAM-6制成了小鼠单克隆抗体115-DB，并由Kufu等人利用肝转移乳腺癌细胞膜制成了单克隆抗体DF-3，故被命名为CA15-3[37-38]. CA15-3分子量为400000u. CA15-3已被证明是乳腺癌的相关抗原，它位于肿瘤细胞的表面，当细胞发生癌变时，细胞膜上蛋白酶和唾液酶的活性增加，细胞骨架被破坏，导致细胞抗原凋落，释放到血液，使血清CA15-3含量升高[39-40]。目前已有文献报道，CA15-3水平可以帮助鉴别诊断脑膜癌（腺癌、非腺癌）、肺癌等[41]。已有研究表明，CA15-3可用于监测乳腺癌的病情发展，它的水平变化能反映肿瘤的缓解或恶化情况[42]。本研究发现：CA15-3在乳腺癌中的诊断敏感度为

32.7%，特异度为87.5%，准确度为56.5%。提示CA15-3对于乳腺癌的诊断特异性和准确度较高，敏感度也相对较高，可作为乳腺癌辅助诊断的重要指标。

CEA，即癌胚抗原，是1965年由Gold和Freedman等人从胎儿及结肠癌组织中首先发现的[43]，它是一种多糖蛋白复合物，分子量为

22ku，45%为蛋白质成分，其基因编码位于19号染色体[44]。在恶性肿瘤的状态下，CEA进入淋巴循环和血液循环，引起血清CEA的异常升高，分泌CEA的肿瘤多位于空腔脏器，但肺癌和乳腺癌等患者血清中亦会增高，大多显示肿瘤浸润或是转移，有报道也提出CEA可以作为预测及鉴别乳腺癌肝转移与良性肝病变的指标[45]。本研究发现：CEA在乳腺癌中的诊断敏感度为26.9%，特异度为97.5%，准确度为57.6%。提示CEA对于乳腺癌的诊断特异性和准确度较高，敏感度也相对较好，因此，检测乳腺癌患者血清CEA水平对临床疾病的临床分期、治疗效果、预后等有重要的临床价值。

以上这些肿瘤相关的血清标志物单独用于乳腺癌诊断时，敏感度及准确度均普遍较低，从而限制了临床应用。其中敏感度最高的

CA15-3只有32.7%(17/52)，准确度最高的CEA亦只有57.6%(53/92)。而通过本实验，将现在临床已验证的乳腺癌肿瘤标记物CA125、CA15-3和CEA与本研究实验性的GDF3联合起来，发现四种血清指标两两联合其敏感度均优于单项指标测定，特异度相比单项测定均有少量降低，但准确度均有明显提高，其中CA15-3和CEA联合敏感度和准确度最高，达到46.1%(24/52)和64.1%(59/92)。三项指标及四项指标联合检测较各指标单独及两两检测诊断敏感度和准确度均再次升高，其中三项指标联合检测敏感度及准确度最好的为CA125+CA15-3+CEA组合。而GDF3、CA125、CA15-3和CEA四项

指标联合检测其敏感度为61.5%(32/52)，特异度72.5%(29/40)，准确度66.3%(61/92)。故综合来看，联合四项血清指标诊断乳腺癌效果最佳，但特异度相对较低，所以在临床应用上应配合其他检查方式，避免误诊。

结**论**

1、GDF3在乳腺患者血清中高表达，在良性乳腺疾病患者及正常组血清中不表达或低表达，其差异有统计学意义，可作为乳腺癌诊断的血清标志物。

2、CA15-3和CEA是在乳腺癌诊断中敏感度、特异度和准确度均较高的肿瘤标记物，CA15-3和CEA两者联合检测是本实验中所有两两联合检测中敏感度、特异度和准确度最好的，且总体优于本实验四项标记物单独检测效果。

3、将CA125、CA15-3和CEA与GDF3四项联合检测，其敏感度及准确度均较高，特异度虽有下降，但也保持在较高水平。应用在临床，可提高乳腺癌的检出率，有助于提高乳腺癌的早期诊断率及术前诊断。

参考文献

[1] Olszewski WP, Szumera—Cieckiewicz A, Pieehocki J'et a1. The characteristics of the sentinel lymphnode metastasis in predicting the ax. illary lymph node status in patients with breast carcinoma. PolJP- Athol,2009,60(3):l38.

[2] Dupont WD, Parl FF, Hartmann WH, et al. Breast cancer risk associated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia[J]. Cancer, 1993,71(4):1258-1265.

[3]程广源. 乳腺癌标志物的临床意义[J]. 癌症进展杂志，2004 ，

2(5):400-5.

[4] Bendrik C, Dabrosin C. Estradiol increases IL-8 secretion of normal human breast tissue and breast cancer in vivo[J]. J Immunol,2009, 182(1):371-378.

[5] Bast RC Jr, Ravdin P, Hayes D F, et al. 2000 update of recommendatio- ns for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. J Clin Oncol,2001,19(6):1865.

[6] Adams J, Carder PJ, Downey S et al. Vascular endothelial growth fac-tor(VEGF) in breast cancer: comparison of plasma, serum, and tis-sue VEGF and microvessel density and effects of tamoxifen[J]. CancerRes,2000,60(11):2898.

[7]陆云飞，向俾庭，曾健等.血清TSGF、CA153、CA125及CEA联合

检测对乳腺癌的诊断价值[J].广西医学院学报，2006，23(2)：173.

[8]曾益新．肿瘤学[M]．北京：人民卫生出版社，1999: 44. [9]Aufiemma A, Mercanti A, Fiorio E, et a1. Invasive breast cancer: Ki-67

Evaluation in 3909 early breast cancer patients[J]. ASCO Meeting Abstracts,2005,23(16Suppl):678.

[10] J. Lew, K Beaudene, C. M. Litwin, and J H. Wang Purification and

Characterization of a novel proline-directed protein kinase from bovine brain. J Biol Chem 1992,267: 13383-13390.

[11] J. Lew, R. J. Winkfein, H. K. Paudel, and J. H. Wang. Brain proline-directed protein kinase is a neurofilament kinase which displays high sequence homology to p34cdc2. J. Biol Chem,1992,267:25922-25926

[12] J. Ko, S. Humbert, R. T. Bronson, S. Takahashi, A. B. Kulkami, E. Li, and L. H. Tsai. p35 and p39 are essential for cyclin-dependent kinase 5 function daring neurodevelopment. J Neurosci.2001,2l:6758-6771.

[13]李强.人生长分化因子GDF3在乳腺癌中的功能初探暨CDK5剪接

本的克隆及其生物学性质分析[D].上海：复旦大学，2010. [14]Van Dalen A, Favier J，Baumgartner L，et al．Serum levels of CA125

And TPS during treatment of ovarian cancer[J]. Anticancer Res,2000,20(6D):5107－5108．

[15] Dupnt WD, Parl FF, et a1. Breast cancer risk associated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia[J]. Cancer,1993,

71(6):1258-1260．

[16] Pegram MD, Pauletti G, Slamon DJ. her-2/neu as a predictive marker of response to breast cancer therapy. Breast Cancer Res Treat,1998,52:65-77.

[17]李亚芬. 乳腺癌标记物对预后估计的意义. 中国实用外科杂

志,2001,21(9):527~528.

[18] Dohmoto K, Hojo S, Fujita J, et al. Mechanisms of the release of CYFRA21- 1 in the human lung cancer cell lines [J]. Lung Cancer,2000,30(1):55-57.

[19] Erbagci AB. Menstrual cycle dependent variability for serum tumor markers CEA, AFP, CA125 and CA15-3 in healthy women. Dismarkers,1999,15(4):259~267.

[20] Osman N, O'Leary N, Mulcahy E, et al. Correlation of serum CA125

With stage, grade and survival of patients with epithelial ovari-an cancer at a single centre[J]. Irish Med J,2008;101:245－257.

[21] Lumachi F, Ermani M, Brandes A, et al. Predictive value of different prognostic factors in breast cancer recurrences: multivariate analysis using a logistic regression model[J]. Anticancer Research

2001,21(6A):4105-4108.

[22] Nishimura R, Nagao K, Miyayama H, et al. Elevated serum CA15-3 levels correlate with positive estrogen receptor and initial favorable outcome in patients who died from recurrent breast cancer[J]. Breast cancer,2003,10(3):220-227.

[23]王音.联合检测乳腺癌肿瘤标志物的临床意义[D].大连：大连医科

大学，2011.

[24]何惠，刘基铎，周迎春等. ROC曲线评价AFU及AFP对原发性肝癌的诊断价值.国际检验医学杂志，2006，27（2）：118.

[25]冉健，孙万邦.乳腺癌免疫生物治疗研究进展.国际检验医学杂志，2012. 33（2）.

[26]张敏，景永.三种肿瘤标志物联合检测在乳腺癌诊断中的临床价值

[J].中国现代药物应用，2010，4(21)：48-49.

[27]陈智周，范振符，杨剑等.肿瘤标志物CA15-3的免疫放射分析及其临床应用.中华肿瘤杂志，1998，20(2)：125.

[28]毕铁强，任长玲，曹明智. P185蛋白表达与血清CA15-3联合监测在乳腺癌治疗中的意义[J].肿瘤基础与临床，2008，21(4)：26-27.

[29] Haglund C, Lundin J, Kuusela P, et al. CA242, a new tumor marker for pancreatic cancer: a comparison with CA19-9, CA50 and CEA[J]. Br J cancer,1994,70(3):487-92.

[30] Abd Hamid U M, Royle L, Saldova R, et al. A strategy to reveal

Potential giycan markers from serum glycoproteins associated with breast cancer progression. Glycobiology,2008,18:1105．

[31] M. Nikolic, M. M. Chou, W. Lu, B. J. Mayer, and L. H. Tsai. The p35/Cdk5 kinase is a neuron-specific Rac effector that inhibits Pakl activity. Nature.1998,395:194-198.

[32]叶伟民，韩焕，孔宪涛等.肿瘤标志物CA125测定及其临床意义[J].

中国免疫学杂志，1995，15(11)：522.

[33] Jung SY, R. M. S. S., Factors associated with mortality after breast cancer metastasis.2012. p.103-12.

[34]汤钊猷. 现代肿瘤学.上海：上海医科大学出版社，2000.359~361.

[35] Norum, L. F., B. Erikstein and K. Nustad, Elevated CA125 in breast cancer—A sign of advanced disease. Tumour Biol,2001.22(4):p. 223-8.

[36]朱海龙. CEA、AFP、CA125、CA15-3、CA19-9 检测对恶性肿瘤

的诊断价值探讨[J].当代医药卫生，2006, 22(22)：3422-3423. [37]Ogwaa Y, Masuzaki H, Isse N, et al. Molecular cloning of rat obese

CDNA andaugmented gene expression in genetically obese zucker fatty(fa/fa) rats. J Clin Invest,1995,96(3):1647-1652.

[38] Maffei M, Halaas J, Ravussin E, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects, Nat Med,1995, l(11):1155-1161.

[39]谢翠华，陆亚平. CA153在乳腺癌诊断和肿瘤分期中的应用[J].实用

心脑肺血管病杂志，2008，16(11)：44-45. [40]陈智周，范振符，杨剑等.肿瘤标志物CA153 的免疫放射分析及

其临床应用[J].中华肿瘤杂志，1998，20(2)：125-128.

[41] Cinti S, Matteis RD, pico C, et al. Secretory granules of endocrine and chief of human stomach mucosa contain leptin. Int J Obes Relat Metab Disodr,2000,24(6):789-793.

[42] Duffy, Michael J, Duggan, Catherine. High preoperative CA 15-3 concentrations predict adverse outcome in node-negative and node-positive breast cancer: study of 600 patients with histologically confirmed breast cancer[J]. Clinical Chemistry,2004,50(3):559-563.

[43]牛爱军，张志强，孙晓明等.乳腺癌患者CA153、CEA临床应用价

值探讨[J].实用医学杂志，2004，21(3)：210-213.

[44] Martínez -Trufero, et al. Serum markers and prognosis in locally advanced breast cancer[J]. Cancer,2005,91(6):522-530.

[45] Schneider J, Veleovsky HG, Morr H, et al. Compoarson of the tumor markers tumor M2-PK, CEA, CYFRA211, NSE and SCC in the diagnosis of lung cancer[J]. Anticancer Res,2000, 20(6D):5053-58.

**综述**

**关于乳腺癌血清肿瘤标记物单独及联合检测的研究进展**

目前，乳腺癌已成为妇女最常见的恶性肿瘤之一，乳腺癌发病率在全球自20世纪70年代末期以来一直呈上升的趋势[1]，据报道，全

世界每年约有近120万妇女罹患乳腺癌，而其中的50万会死于乳腺

癌。在西欧和北美等的发达国家，乳腺癌占所有女性恶性肿瘤发病率之首[2]。值得我们关注的是，中国是乳腺癌的发病率增长最快的国家之一，近年来，我国的乳腺癌发病率的增长速度超过了乳腺癌高发国家1%~2%。据我国癌症中心和卫生部疾病预防控制局于2012年公布的我国2009年的乳腺癌的发病数据显示：全国肿瘤登记地区乳腺癌

的发病率位居所有女性恶性肿瘤的第1位，女性乳腺癌发病率（粗率）全国总计为42.55/10万，其中城市为51.91/10万，农村为23.12/10万。乳腺癌也已成为城市女性的最大杀手，在北京、上海、广州和其他大城市的发病率更高。以上海为例，上海妇女的乳腺癌患病率目前已达到70/10万[3]。

在分子学水平上说，乳腺癌是一种复杂的多基因疾病，当前治疗的有效率约为70%，治疗失败的主要原因是癌细胞的复发转移。乳腺癌患者经过初期手术后，其生存率的提高除归功于及时发现、早期诊断外，还取决于合理进行局部放疗和全身化疗、内分泌治疗、生物治疗等综合辅助治疗的持续完善。早期乳腺癌预后良好，导管原位癌5年内生存率为100%，随着病情的发展，患者预后会越来越差，IV期乳腺癌患者5年生存率仅为约34%。恶性肿瘤的浸润和转移，常对临床治疗及改善预后造成困难。乳腺癌的分期方法很多，目前临床上大多采用国际抗癌协会制定的S（原发癌瘤）、N（区域淋巴结）、M（远处转移）分期法（1988年修订）来判断乳腺癌有无转移和发生转移的程度，但乳腺癌往往从一开始发生时即有全身微灶的转移，虽然这部分病例临床上未发现可触及的淋巴结转移，但实际上往往已经存在远处转移或者是有远处转移的危险性。乳腺癌患者生存率的高低，主要与肿瘤的分期有关，如能早期诊断、早期治疗，则是提高疾病治愈

率，减轻患者的经济负担，提高生活质量并且降低乳腺癌患者死亡率的关键所在[4]。

肿瘤标志物（Tumor marker）则是临床上常用的早期筛查恶性肿瘤的重要手段之一，是指在恶性肿瘤在发生和增殖过程中，由肿瘤细胞所产生和分泌的，释放到血液、细胞和体液中的，反映肿瘤的存在和生长的一种物质。该标志物可以用化学、免疫学和分子生物学方法进行量化检测，对肿瘤的诊断和鉴别诊断，以及评价治疗过程中的疗效及预后具有重大的意义。自1978年以来，在美国国家癌症研究所召开的“人类免疫及肿瘤免疫诊断”会上提出肿瘤标志物这一新概念以后，许多与恶性肿瘤相关的生物化学和免疫学指标就不断的被发现，目前已发现了100多种肿瘤标记物，在临床常用的肿瘤标志物就

已有20多种。肿瘤标志物在乳腺癌的检测中也发挥了不可忽略的作用，又因为他们的价格低廉也容易被患者所接受，在乳腺癌的初步筛查中是非常重要的。一些专家认为，即使病人自我感觉并没有感到特别不适，仍然建议每年做一个关于肿瘤标志物的检测，以求安心。

1乳腺癌的血清肿瘤标记物：

近年来在乳腺癌研究中发现，大量血清肿瘤标志物在乳腺癌诊断中是具有重要诊断价值的，这种乳腺癌肿瘤标志物实际上是与乳腺癌相关的抗原，在正常情况下血中应无表达或仅有少量表达，而乳腺癌肿瘤存在时可在血中出现或血中含量明显升高。实验室可以从人体外周血液分离出血清或血浆进行乳腺癌肿瘤标志物的检测。本文综合了目前已发现并已经过了实验鉴定的乳腺癌肿瘤标志物，综合展示了目前对于乳腺癌肿瘤标志物的科学进展。

1.1糖类抗原15-3（Carbohydrate antigen 15-3, CA15-3）：

CA15-3是目前公认的诊断乳腺癌敏感性、特异性和准确度均较高的肿瘤标志物[5]。1984年，Hilkens等从人乳脂肪球膜上糖蛋白MAM-6制成了小鼠单克隆抗体115-DB，并由Kufu等人利用肝转移乳腺癌细胞膜制成了单克隆抗体DF-3，故被命名为CA15-3 [6][7]. CA15-3分子量为400000u. CA15-3已被证明是乳腺癌的相关抗原，它位于肿瘤细胞的表面，当细胞发生癌变时，细胞膜上蛋白酶和唾液酶的活性增加，细胞骨架被破坏，导致细胞抗原凋落，释放到血液，

使血清CA15-3含量升高[8][9]。目前已有文献报道，CA15-3水平可以帮助鉴别诊断脑膜癌（腺癌、非腺癌）、肺癌等[10]。已有研究表明，CA15-3可用于监测乳腺癌的病情发展，它的水平变化能反映肿瘤的缓解或恶化情况[11]。1997年美国FDA批准了CA15-3可作为监测

Ⅱ/Ⅲ期乳腺癌复发的检测指标。目前在临床上CA15-3是临床上诊断乳腺癌最为常用的血清肿瘤标志物。

1.2癌胚抗原（CEA）：

CEA，即癌胚抗原，是1965年由Gold和Freedman等人从胎儿及结肠癌组织中首先发现的[12]，它是一种多糖蛋白复合物，分子量为22ku，45%为蛋白质成分，其基因编码位于第19号染色体[13]。在恶性肿瘤的状态下，CEA进入淋巴循环和血液循环，引起血清CEA的异常升高，分泌CEA的肿瘤多位于空腔脏器，但肺癌和乳腺癌等患者血清中亦会增高，大多显示肿瘤浸润或是转移，有报道也提出

CEA可以作为预测及鉴别乳腺癌肝转移与良性肝病变的指标[14]。有文献报道血清CEA在晚期乳腺癌中的阳性率40-50％[15]，并且在治疗有效时CEA降低，因此CEA可作为转移性乳腺癌预后标志。

1.3糖类抗原125（Carbohydrate antigen 125, CA125）：

1981年，Bast等人利用卵巢浆液性囊腺癌细胞系免疫纯种小鼠，获由得了分子量为200-1000KD的糖蛋白肿瘤抗原的单克隆抗体，即

CA125，然后它被作为卵巢上皮癌肿瘤标志物并应用于临床[16]。但

CA125并不是卵巢上皮癌的特异性抗原[17]，它与其它的苗勒管衍生物的良性肿瘤以及腹膜炎性反应等都有关。关于CA125与乳腺癌的相关性研究，有报道称其在乳腺癌中的阳性率为20%，有报道称

CA125与乳腺癌复发存在相关性[18]，但Arjun等人在1542例成年女性中进行CA125的检测后，报道CA125的浓度与乳腺癌的发生及复发并不相关[19]，所以目前对于CA125关于乳腺癌的检测仍有争议。目前有研究报道：在早期乳腺癌中，CA125的敏感性非常低，但当乳腺癌患者发生肺转移或出现恶性胸腔积液以后，其血清CA125浓度可显著升高。据文献报道，CA125在乳腺癌患者血清中阳性率大约占24%-31%，而在伴有淋巴结转移的乳腺癌患中，血清CA125的阳性率可达到40%-45%[20][21]，故CA125也可作为乳腺癌联合检测中的项

目之一。

1.4原癌基因人[类表皮生长因子受体](http://baike.baidu.com/view/598782.htm)-2（human epidermalgrothf- actor receptor-2, HER-2）：

原癌基因人类[表皮生长因子受体](http://baike.baidu.com/view/598782.htm)-2（HER-2）基因位于人类17号染色体的q21区带上，是具有酪氨酸激酶活性的细胞膜糖蛋白编码，分为细胞外结构域、跨膜域和胞内结构域三个部分[22]。HER-2参与了对细胞的生长、繁殖和分裂的调控[23]以及参与控制肿瘤的生长。研究表明，HER-2可以作为乳腺癌的预后的评价指标，是[乳腺癌](http://baike.baidu.com/view/44894.htm)预后的重要判断因子[24]，临床上HER-2阳性的乳腺癌患者常表现为肿瘤恶性程度高、生存率低、病情发展迅速、易发生淋巴转移、化疗的缓解期缩短[25]。目前，许多学者已经证明血清和组织HER-2的水平和表达具有一致性[26][27]。因此美国FDA已批准血清HER-2可用于晚期转移性乳腺癌的疗效监测和治疗后随访[28]。

1.5血管内皮生长因子（Vascular endothelial growth factor, VEGF）：血管内皮生长因子（VEGF）是已发现的促进肿瘤血管生成的最

重要的因子。肿瘤的生长和代谢，转移和复发与肿瘤血供密切相关。在肿瘤生长的血管前期，因为肿瘤主要依赖周围组织的弥散来获取养分，从而抑制了肿瘤的生长，使其直径不超过2mm，肿瘤细胞暂处于休眠的状态。直至血管期，肿瘤内新生血管开始生成，肿瘤开始迅速生长并可以发生细胞的分裂、生长和转移[29]。VEGF就是最重要的血管生长刺激因子。VEGF不仅可以促进不同来源的内皮细胞增殖和构建血管的作用，促进内皮细胞和单核细胞的迁移，也可以增加微血管的通透性，尤其是毛细血管后静脉和小静脉，帮助肿瘤细胞进入了脉管系统，促进了肿瘤侵袭和转移[30]。研究结果表明，已确诊的乳腺癌患者血清VEGF水平明显高于健康人和患有乳腺良性肿瘤的患者，并且随着乳腺癌分级的增高，其表达水平越来越高。有研究详细比较乳腺癌化疗患者化疗前、化疗后1周期和化疗后5-6周期血清

VEGF的水平变化[31]，发现化疗5-6周期以后患者血清VEGF明显下降，VEGF可作为一个乳腺癌得到控制程度的指标。

1.6肿瘤特异性生长因子（Tumor specific growth factor, TSGF）：

1989 年，加拿大多伦多大学的科学家们发现了由恶性肿瘤细胞

产生的一类特殊物质，命名为肿瘤特异性生长因子（TSGF），它可以促进肿瘤的生长及其周围毛细血管的增生，而对血管的正常组织的增生没有明显的效果。随着恶性肿瘤的生长，TSGF被逐步释放到外周血中，在恶性肿瘤形成的早期浓度即可被检出。所以说，TSGF不仅仅是恶性肿瘤的特异性标志[32]，而且它还可以应用于恶性肿瘤的早期诊断[33][34]。TSGF是广谱型肿瘤相关标志物，近年来有报道在乳腺癌患者及肿瘤相关高危人群中TSGF水平的有明显上升趋势[35]。

1.7糖类抗原19-9（Carbohydrate antigen 19-9, CA19-9）：

CA19-9是1979年科普罗夫斯基等人在免疫小鼠结肠癌细胞中获得的单克隆抗体。CA19-9是一种糖蛋白，为唾液酸化的乳-N-岩藻戊糖，在正常人唾液腺、前列腺、胰腺、乳腺都有微量存在。目前，在临床上，CA199大多作为胰腺癌和结肠直肠癌的标志物。近年来有文献报道，CA19-9在结肠癌、肝癌、胆囊癌、胰腺癌、胃癌、肺癌以及乳腺癌等各种恶性肿瘤均可出现异常升高[36]。据赵春红[37]报道，通过68例乳腺癌患者、50例良性乳腺疾病患者及58例健康人血清进行分组试验，发现CA19-9在乳腺癌组血清含量水平明显高于良性乳腺疾病组和健康组。CA19-9对于乳腺癌检测灵敏度35.3%，特异性

94.4%，准确度达71.6%。验证了肿瘤标记物CA19-9对于乳腺癌诊断的价值。

1.8 C角蛋白19片段抗原21-1（Cytokeratins fragment antigen 21-1, CYFRA21-1）：

CYFRA21-1属于细胞角蛋白CK19的一员，它是从MCF-7 癌细胞株制备出来的，抗CK19单克隆抗体KS19-1 和BM19-21 所证实的抗原[38]。CYFRA21-1在正常情况下在外周血、骨髓、淋巴结呈无表达或低表达，而在恶性上皮肿瘤中，激活蛋白酶加速了细胞降解，使大量可溶性CYFRA21-1被释放，造成血液中CYFRA21-1水平升高[39]。现在临床上首选CYFRA21-1 作为非小细胞肺癌的标志[40]。另据刘志勇[41]等报道，Ⅳ期乳腺癌和复发性乳腺癌中的CYFRA21-l阳性率分别为60％和64.2％，阳性率高于CA15-3和CEA。对于复发性乳腺癌及判断乳腺癌手术和放化疗的效果，CYFRA21-l具有明显的优势。

1.9组织多肽特异抗原（Tissue polypeptide specific antigen, TPS）：

TPS是通过细胞角蛋白18抗体识别出的组织多肽抗原可溶性片段，在上皮来源的原发性恶性肿瘤和转移瘤都有较高表达。研究表明，

TPS在卵巢癌患者血清中普遍升高，其他如肺癌、乳腺癌患者也可以出现血清水平升高[42]，它与其它标志物一起可以作为诊断、跟踪肿瘤和病情变化的辅助指标。据陶晓军等[43]2012年报道，通过69例乳腺癌患者、52例良性乳腺疾病患者及48例健康人血清进行分组试验，发现乳腺癌组血清TPS水平显著高于良性乳腺疾病组与健康对照组，差异有统计学意义。且乳腺癌患者III-IV期肿瘤标志物TPS水平及阳性率均显著高于I-II期。TPS对于乳腺癌检测灵敏度56.5%，特异性

88.0%，准确度达75.1%。另据Bjorklund B等[44]对3000余例乳腺癌历时4年的随访研究显示TPS浓度大小可反映肿瘤细胞活性，将该指标与其他相关标志物联合应用可提高对乳腺癌复发的检出率。

1.10人乳腺球蛋白（Human mammoglobin, hMAM）：

hMAM是一种在1996年由Watson等[45]应用差异筛选技术分离而得到的新的乳腺组织特异性基因，该基因位于人第11 号染色体

q13上，编码1个M r10×10 3的糖蛋白，它仅在成人乳腺上皮组织中表达，且在乳腺癌细胞株和乳腺肿瘤中呈过度表达[46][47]。在正常情况下，乳腺细胞是不能进入血液循环。因此，在乳腺癌患者的外周血中检出hMAM－mRNA的表达，则提示有乳腺癌微转移的可能。有研究者[48]证实通过免疫染色检测乳腺球蛋白的值可筛选出72%的乳腺肿瘤，并且通过实验验证hMAM血清水平对于乳腺癌诊断具有较高的敏感度、特异度及准确度。

除上述乳腺癌肿瘤标记物外，对于其他的乳腺癌肿瘤标记物目前也有报道，如：肿瘤相关抗原27.29(CA27.29)[49]、粘蛋白癌抗原

（MCA）[50]、癌抗原粘蛋白29（CAM29）、癌抗原粘蛋白26（CAM26）

[51]等等，本文不一一列举。虽然多数的乳腺癌血清肿瘤标志物在目前

还仅处于实验研究及观察的阶段，但相信会有越来越多的血清肿瘤标志物有希望在将来的临床中成为能够早期诊断乳腺癌、判断预后及调整治疗方案的工具。

2关于肿瘤标记物的联合检测：

相对于一种乳腺癌血清标记物单独检测，两种、三种及更多乳腺癌肿瘤标记物联合检测是当今世界乳腺癌血清肿瘤标记物研究的主流课题，结果普遍表明两种以上联合检测乳腺癌的敏感度及准确度明显高于单项检测，有利于乳腺良、恶性疾病的鉴别诊断，对乳腺癌早期诊断和治疗有着非常重要的意义。

2.1乳腺癌的CEA和CA15-3的联合应用：

许多研究表明乳腺癌中单项监测CEA或CA15-3敏感度均较低，而且乳腺良性疾病及正常人中亦可见到阳性结果，存在很大的漏诊及误诊的可能，因此一般来讲其对乳腺癌的临床早期诊断无实际性的意义[52]。但是很多报道示CEA、CA15-3联合检测的诊断的敏感性可大量提高。Molina [53]报道乳腺癌患者术前CEA和CA15-3未超过正常水平的患者生存期长，而超过正常水平的患者生存期短。据黄芳[54]报道，联合检测CEA、CA15-3可以使其敏感性达到83%，特异性89.2%，准确度高达87.0%。2005 年美国NACB 也推荐

CEA+CA153 联合检测用于监测乳腺癌病情的进展。

2.2乳腺癌的CEA、CA15-3和CA125的联合应用：

经过多次研究证实CA125也是乳腺癌的一种重要的血清标志物，CEA、CA125、CA15-3水平的升高都与乳腺癌的发生密切相关。但是，CEA、CA125、CA15-3在临床上都是被广泛采用的广谱标志物，其水平不仅会在乳腺癌、卵巢癌、结肠癌等肿瘤患者的外周血中发生变化，也会在呼吸系统疾病、急性疾病、感染等情况下上升[55]。因此单独检测一项指标，其灵敏度和特异度均不理想，会造成较多的假阳性和假阴性情况发生，不利于乳腺癌的早期筛查[56]。而联合检测

CEA、CA125和CA15-3是现在临床上最常采用的方法，据吕蕾[57]等报道，联和检测CEA、CA125和CA15-3对于乳腺癌诊断灵敏度可达89%，而特异度可达95.5%。

目前临床上CA153、CEA是最常用的乳腺癌血清学标志物，而其他如CA125、CA27-29、TPA、TPS、HER-2等现也有使用。肿瘤标志物联合检测乳腺癌可大大提高其敏感度和准确度，如今乳腺癌血清学检测方法仍在飞速发展，不断的有新的标记物被发现，被证实。人类仍需继续研究及努力，找出更好更准确的方案，极力减少乳腺癌

漏诊及误诊的几率，为乳腺癌早发现、早治疗提供更好的方法，降低乳腺癌患者的死亡率，提高生存质量。

参考文献

[1]姜丽，傅国平，王忻妍. BRCA1、BRCA2和DBC2基因突变与华东地区早发性乳腺癌发病关系[J].中华临床医师杂志（电子版），2010，4(2)：198-201.

[2] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics,2009. CA Cancer J Clin, 2009,59(4):225-249.

[3]杨坤，任建强.乳腺癌肿瘤标志物的研究现状及展望[J].临床和实验医学

杂志.2011.11(21):1711-1713.

[4]张华，项明洁，毛顺露，等.三项肿瘤标志物联合检测在乳腺癌诊断中的价值[J].中国实验诊断学，2011，22(1)：22.

[5]朱海龙. CEA、AFP、CA125、CA15-3、CA19-9检测对恶性肿瘤的诊断价值探讨[J].现代医药卫生，2006，22(22)：3422-3423.

[6] Ogwaa Y, Masuzaki H, Isse N, et al. Molecular cloning of rat obese cDNA andaugmented gene expression in genetically obese zucker fatty(fa/fa) rats. J Clin Invest,1995,96(3):1647-1652.

[7] Maffei M, Halaas J, Ravussin E, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects, Nat Med,1995, l(11):1155-1161.

[8]谢翠华，陆亚平．CA153在乳腺癌诊断和肿瘤分期中的应用[J]．实用

心脑肺血管病杂，2008, 16(11)：44-45．

[9]陈智周，范振符，杨剑，等．肿瘤标志物CA153的免疫放射分析及其临床应用[J]．中华肿瘤杂志，1998, 20(2)：125-128．

[10] Cinti S, Matteis RD, pico C, et al. Secretory granules of endocrine and chief of human stomach mucosa contain leptin. Int J Obes Relat Metab Disodr,2000,24(6):789-793.

[11] Duffy, Michael J, Duggan, Catherine. High preoperative CA 15-3 concentrations predict adverse outcome in node-negative and node-positive breast cancer: study of 600 patients with histologically confirmed breast cancer[J]. Clinical Chemistry,2004,50(3):559-563.

[12]牛爱军，张志强，孙晓明，等.乳腺癌患者CA153、CEA临床应用价值

探讨[J].实用医学杂志，2004，21(3)：210-213.

[13] Martínez -Trufero, et al. Serum markers and prognosis in locally advanced breast cancer[J]. Cancer, 2005,91(6):522-530.

[14] Schneider J, Veleovsky HG, Morr H, et al. Compoarson of the tumor markers tumor M2-PK, CEA, CYFRA211, NSE and SCC in the diagnosis of lung cancer[J]. Anticancer Res,2000, Nov-Dec,20(6D):5053-5058.

[15]万文徽，章静波，邓国仁，等.肿瘤标志临床应用于研究[M].北京大学

医学出版社.2007.9.

[16]叶伟民，韩焕，孔宪涛，等.肿瘤标志物CA125测定及其临床意义[J].

中国免疫学杂志，1995，15(11)：522.

[17] Jung SY, R. M. S. S., Factors associated with mortality after breast cancer metastasis.. 2012. p. 103-12.

[18]汤钊猷.现代肿瘤学.上海：上海医科大学出版社，2000.359~361.

[19] Norum, L. F., B. Erikstein and K. Nustad, Elevated CA125 in breast cancer—A sign of advanced disease. Tumour Biol,2001.22(4):p.223-8.

[20] Dupont WD, Parl FF, Hartmann WH, et a1. Breast cancer risk associated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia[J]. Cancer,1993, 71(4):1258-1265.

[21]洪锡田，王景萍，张瑞丽.血清CA15-3，CA125，CEA，SF联合检测

对乳腺癌的诊断中的价值[J].中国民康医学，2007, 19(1)：23-23．

[22] Lohrish C, PiccanM. An overview of HER-2[J]. Sem in Oncol,2001,28:3- 11.

[23] Wingens M, Wama T, Van Ingen H, et al. Structural analysis of an epidermal growth factor/transforming growth factoralpha chimera with unique ErhB binding specificity[J]. J Biol Chem,2003,278(40):39114- 39123.

[24] Di Fiore PP, Pierce JH, Fleming TP, et al. Overexpression of t he human EGF receptor confers an EDF2 dependent t ransformed phenotype to NIH 3 T3 cells[J]. Cell,1987,51:1063-1070.

[25]戴携，张言涛，秦琴，张显岚. HER2表达在乳腺癌辅助化疗方案选择

中的作用.湖南师范大学学报（医学版）。2010，3(1)：22-28.

[26]袁芃，徐兵河，张春，等.乳腺癌患者血清Her-2/neu水平及相关性研究

[J].中华肿瘤杂志，2003，25(6)：573-574.

[27] Volkmar M, Isabell W, Hans J, et al. Prognostic and predictive impact of the Her-2/neu extracellular domain(ECD) in the serum of patients treated with chemotherapy for metastatic breast cancer[J]. Breast Cancer Research and Tre-atment,2004,86:9-18.

[28] Cook GB, Neaman IE, Goldblatt JL, et al. Clinical utility of serum Her-2/neu testing on the bayer immunol automated system in breast cancer[J]. Anticancer Rea,2001,21(2B):1465-1470.

[29] Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, et al. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer[J]. Lancet,1992,340:145-1461. [30]Evelyne D, Patricia H, Aude V, et al. Tumor angiogenesis and tissue factor expression during hepatocellular carcinoma progression in atransgenic

mouse mode[J]. J Hepatol,2003,38(6):793-802. [31]唐金海，赵建华，龚建平等.化疗对乳腺癌患者血清血管生成调节因子

水平的影响[J].中华肿瘤杂志，2007，29: 210.

[32]孙建国，陈正堂，曹正怀，等. TSGF检测在恶性肿瘤诊断及疗效观察中的价值.第三军医大学学报，2001，23(6)：731.

[33]徐元斌，王德春，朱忠勇.恶性肿瘤特异性生长因子(TSGF)测定及临床应用.福建医学检验，1996，1(3)：118.

[34]曾视伦，曾维群，谯雅嘉.肿瘤特异性生长因子和甲胎蛋白联合检测原发性肝癌的早期诊断价值.重庆医学，2002，31(6)：496.

[35]于柏峰，刘冰.联合检测VEGF、TSGF、CA153及CA125在乳腺癌诊断中的临床意义.中国妇幼保健，2012，27: 822-823.

[36]陈运贤.恶性肿瘤的分子诊断技术[M].分子诊断与治疗杂志.2009, 1: 73-74.

[37]赵春红.血清CA153、CA 125、CA199和CEA联合检测在乳腺癌诊断中

的价值[M].肿瘤研究与临床.2012，24(8)：553-555.

[38]李凤巧. PSA、CYFRA21-1、CA153、CEA的联合检测在乳腺癌中的临床价值[M].医学理论与实践.2013，26(2)：156-157.

[39] Nakata B, Takashima T, et al. Serum CYFRA21-1 (cytokeratin-19 fragmen-

Ts) is a useful tumour marker for detecting disease relapse and assessing treatment efficacy in breast cancer[J]. Cancer,2004,91(5):873-878.

[40] Sheard MA, Vojtesek B, Simickovam M, et al. Release of cytokeratin-18 and 19 fragments (TPS and CYFRA21-1) into the extracellular space during apoptosis[J]. J Cell Biochem,2002,85(4):670-672.

[41]刘志勇，欧阳忠，邹小明.乳腺癌新的肿瘤标志物-CYFRA21-1.江西医

药.2010, 45(4)：4299-4302.

[42] Stawicki S, Mroczko B, Szmitkowski M. Tumor markers of breast cancer[J]. Postepy Hig Med Dosw(Online),2004,19(58):292-300.

[43]陶晓军，陈桂明，冯晓鸿，孙业富.血清TK1、TPS、CA15-3联合检测

在乳腺癌诊断中的临床价值[J].国际检验医学杂志，2012, 33（16）：

1943-1946.

[44] Bjorklund B, Einarsson R. TPS(tissue polypeptidespecificantigen) in oncologic practice: A review with reference to 3000 cases of breast cancer[J]. Tumor diagnther,1996;17(3):67.

[45] Watson MA, Fleming TP, et al. Mammoglobin, a mamma ry-specific member of the uteroglobin gene family, is overexpressed in human breast cancer[J]. Cancer Res,1996,56(4):860-865.

[46] Watson M A, Darrow C, Zimonjic D B, et al. Structure and transcriptional regulation of the human mammaglobin gene, a breast cancer associated member of the ulteroglobin gene family localized to chromosome 11q13[J]. Oncogene,1998,16(6):817-824.

[47] Gal S, Fidler C, Lo YM, et al. Detection of mammaglobin mRNA in the plasma of breastcancer patients[J]. AnnNY AcadSci,2001,945:192-194.

[48] Bernstein, Jonine L, et al. Identification of mammaglobin as a novel serum marker for breast cancer [J]. Clinical Cancer Research,2005,11(18):6528- 6535.

[49]苏新良，吴凯南.乳腺癌标记物CA27.29的临床价值[J].中国肿瘤临

床.1997，24(4)：304.

[50]任绍青. CA153和MCA检测在乳腺癌诊治中的应用价值[J].中国临床实用医学.2010，4(7)：94-96.

[51]孔宪涛.肿瘤特异抗原和相关抗原的研究现状及检测[J].中华检验医学杂志，2000, 23(1):56-58.

[52] Kurebayashi J. Biomarkers in breast cancer. Gan To Kagaku Ryoho.2004,1 (7):1021-1026.

[53] Molina R, Duffy MJ, Aronsson AC, et al. Tumor marker in breast cancer.

EGTM Recommendations. Anticancer Res,1999,19:2803-2805.

[54]黄芳. CAl53与CEA联合检测在乳腺癌诊断中的应用价值[J].广西医科大学学报.2009，26(3)：434-435.

[55]曹春芳，邓懋清.电化学发光法检测肿瘤相关抗原结果临床意义分析[J].

实用心脑肺血管病杂志.2011，19(6)：992-993.

[56] Pedersen AC, Sorensen PD, Jacobsen EH. Sensitivity of CA15-3, CEA and serum HER2 in the early detection of recurrence of breast cancer[J]. Che- m Lab Med, 2013, 13: 1-9.

[57]吕蕾，冯雪.血清CEA、CA125、CA153联合检测在乳腺癌诊断中的应

用价值研究[J].医学检验.2013，3(8)：121-122.

致**谢**

三度春华秋实，三载光阴流水，三年的研究生学习生活随着毕业论文的完成也即将进入尾声。从开始进入课题到论文的顺利完成，一直都离不开各位老师、各位同学和朋友们给我的热情的帮助。

首先向我尊敬的导师李建华教授表示最诚挚的谢意！无论在工作与生活，学习和科研的过程中，都给予我无微不至的关心、指导和帮助。导师渊博的专业知识，严谨的治学态度，精益求精的工作作风，诲人不倦的高尚师德，严以律己、宽以待人的崇高风范，朴实无华、平易近人的人格魅力对我影响深远。不仅授我以文，而且教我做人，三年以来，授予我无数终身受益的知识和道理，引领我走向正确的人生方向。对导师的感激之情是无法用言语来表达的，在此谨向导师表示崇高的敬意和衷心的感谢！谢谢您！

衷心感谢李建辉教授对我科研的设计、论文的修改上提供的无私的指导和支持，尤其是他渊博的学识、敏锐的洞察力，为我论文的选题、撰写和修改提供了关键的启发和帮助。

衷心感谢承德市中心医院肿瘤科全体医护人员对我的学习和生活的关心和照顾，感谢王翔主任在工作学习和生活上对我提供的支持和鼓励，感谢钱浩老师、王新杰老师、刘雷老师、吴爽老师、马胜辉老师、蔡淑云老师、杨强老师在我学习和工作过程中给予我的指导和建议，感谢侯志伟护士长和肿瘤科全体护理人员在我工作和科研中给予我的帮助，感谢我的学长白吉明在我实验及论文撰写方面给与的宝贵意见。肿瘤科医护人员在我工作与学习上提供的帮助，在我实验设计和论文撰写方面提供的素材积累和指导，让我深深的喜欢上了这个大家庭。

衷心感谢冯军老师、赵志国老师在我实验过程和论文撰写过程中对我的大力支持和帮助！感谢辛宏老师、檀立端老师在我论文修改过程中的指导和宝贵的建议。

感谢承德市中心医院检验科、输血科的各位老师对本实验的大力支持，使我的实验得以顺利完成！我将永远感谢你们！

衷心感谢承德医学院研究生部的乔跃兵老师、李德臣老师、张晓英老师在研究生学习阶段给予我的真切关怀。

感谢我的同学和朋友们，在我实验过程中给予我很多支持，还在论文的撰写和排版过程中提供热情的帮助。

感谢我的家人常年对我的支持和理解！

感谢各位专家评委能够在百忙之中评审我的论文！

特别感谢所有支持过我、帮助过我、批评过我、鼓励过我和理解过我的人们！

最后，感谢岁月与时光对我的磨砺！

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **个人简历** | |  | | |
| **一、 个人基本情况** | |
| 姓名 陈梁 性别 男 | | 民族 | 汉族 | |
| 出生日期 1987 年 05 月 16 日 | | 籍贯 | 河北省承德市 | |
| **二、个人经历** | |  |  | |
| 2006.9-2011.6 | 湖北医药学院 临床医学专业 | | | 学士学位 |
| 2011. 9 至今 | 承德医学院研究生部 | | |  |

**三、专业名称和研究方向**

肿瘤学专业肿瘤标志物

**四、发表论文情况**

GDF3联合CA125、CA153、CEA等血清指标在乳腺癌诊断中的价值[J].环球中医药，2013, 6(S2):178-179.（指导老师：李建华老师，李建辉老师，赵志国老师，王翔老师，钱浩老师）

**五、承担或主研课题情况**

GDF3联合CA125、CA15-3和CEA等血清指标在乳腺癌诊断中的价

值