

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.01.010
文章编号: 1005-8982 (2019) 01-0055-05

Hepcidin 蛋白与乳腺癌骨转移的关系

蒋舒娜¹, 蒋丽娟¹, 邵小南²

(江苏省常州市第一人民医院 1. 检验科, 2. 核医学科, 江苏 常州 213003)

摘要: 目的 分析乳腺癌及乳腺癌骨转移患者的 Hepcidin 蛋白及相关指标, 探讨 Hepcidin 在乳腺癌发生、发展中的作用。**方法** 回顾性分析江苏省常州市第一人民医院乳腺癌骨转移患者 25 例、乳腺癌无骨转移患者 30 例及乳腺增生患者 30 例。比较 3 组患者 Hb、Hepcidin、BMP-6、IL-6、sTfR 的差异。用 ROC 曲线分析评价 Hepcidin、BMP-6、IL-6 对乳腺癌骨转移的诊断价值。多因素 Logistic 回归分析比较各指标在乳腺癌骨转移的作用。**结果** 3 组患者 Hb、Hepcidin、BMP-6、IL-6、sTfR 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对 Hepcidin 及 BMP-6, 乳腺癌骨转移组 > 乳腺癌无骨转移组 > 乳腺增生组; 对 IL-6, 乳腺癌骨转移组 > 乳腺癌无骨转移组 > 乳腺增生组, 但后两组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 对 Hb, 乳腺癌骨转移组 < 乳腺癌无骨转移组 < 乳腺增生组; 对于 sTfR, 乳腺癌骨转移组 < 乳腺癌无骨转移组 < 乳腺增生组。ROC 曲线分析发现 Hepcidin 对于乳腺癌骨转移均有较高诊断价值, 且优于 BMP-6、IL-6。多因素分析发现 Hepcidin 是乳腺癌骨转移的独立危险因素。**结论** Hepcidin 与乳腺癌骨转移有较好的相关性, 其诊断价值有待进一步研究。

关键词: 乳腺肿瘤; 骨转移 / 肿瘤转移; Hepcidin

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

Role of Hepcidin in bone metastasis of breast cancer

Shu-na Jiang¹, Li-juan Jiang¹, Xiao-nan Shao²

(1. Department of Laboratory Medicine, 2. Department of Nuclear Medicine, the First People's Hospital of Changzhou, Changzhou, Jiangsu 213003, China)

Abstract: Objective To investigate role of Hepcidin in bone metastases of breast cancer and its clinical significance. **Methods** A retrospective analysis of 25 breast cancer patients with bone metastases, 30 breast cancer patients without bone metastases, and 30 patients with breast hyperplasia was conducted. Levels of Hb, Hepcidin, BMP-6, IL-6, and sTfR were measured. Statistical analysis was performed to evaluate the diagnostic value of Hepcidin, BMP-6 and IL-6 in bone metastasis in breast cancer. **Results** Patients with bone metastasis experienced highest levels of Hepcidin, BMP-6 and IL-6, followed by patients without bone metastasis and patients with breast hyperplasia ($P < 0.05$). Patients with breast hyperplasia experienced highest levels of Hb and sTfR, followed by patients without bone metastasis and patients with breast hyperplasia ($P < 0.05$). ROC analysis showed that Hepcidin was superior to BMP-6 and IL-6 as a diagnostic marker for breast cancer with bone metastasis. Multivariate analysis showed that Hepcidin was an independent risk factor for breast cancer with bone metastasis. **Conclusion** Hepcidin may be a promising diagnostic biomarker for bone metastasis of breast cancer.

Keywords: breast neoplasms; bone metastasis/neoplasm metastasis; Hepcidin

最新的癌症统计发现, 乳腺癌占女性新发癌症的 15%, 在 30 ~ 59 岁女性中, 乳腺癌是最常见的癌症,

乳腺癌是 45 岁以上女性癌症死亡的主要原因, 其次是肺癌。中国近几十年来肥胖和缺乏活动发生率增加,

收稿日期: 2017-12-05

[通信作者] 蒋丽娟, E-mail: czyylj@126.com

可能是影响乳腺癌发病率的主要原因^[1]。在晚期乳腺癌中,骨转移的发生率为 65% ~ 75%,而首发症状为骨转移者占 27% ~ 50%^[2]。

ORLANDI 等^[3]发现,相对于健康对照组,乳腺恶性肿瘤和乳腺良性病变患者的 Heparin 均增高。CINISELLI 等^[4]也发现,与良性乳腺疾病比较,乳腺癌的 Heparin 明显升高,证实了 Heparin 在乳腺癌诊断的潜在作用。然而, Heparin 与乳腺癌骨转移的相关研究较少。本研究通过分析乳腺癌及乳腺癌骨转移患者的 Heparin、骨形态发生蛋白 6 (bone morphogenetic protein 6, BMP-6)、白细胞介素 6 (Interleukin 6, IL-6)、可溶性转铁蛋白受体 (human soluble transferrin receptor, sTfR) 及血红蛋白 (Hemoglobin, Hb) 等相关指标,探讨 Heparin 在乳腺癌发生、发展中的作用,以指导临床决策。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2013 年 6 月—2014 年 3 月江苏省常州市第一人民医院乳腺癌骨转移患者 25 例,乳腺癌无骨转移患者 30 例及乳腺增生患者 30 例。3 组患者年龄匹配,年龄 55 ~ 75 岁,平均 66 岁。所有患者均经手术或病理确诊,所有乳腺癌患者均经过放射性核素扫描 (ECT) 初筛,并 X 射线、CT 或 MRI 明确有无骨转移。排除影响因素:骨代谢疾病、急性炎症反应 (CRP > 6 mg/L)、肝功能异常 (凝血酶原时间和谷丙转氨酶异常) 及心肺疾病病史。

1.2 试剂及仪器

Sysmex XE2100 血细胞分析仪及试剂购自日本 Sysmex 公司,血清 Heparin、BMP-6、IL-6 及 sTfR 检测试剂盒购自美国 R&D 公司,酶标仪、洗板机购自美国 Biorad 公司。

1.3 血常规、血清 Heparin、BMP-6、IL-6、sTfR 的检测

隔夜空腹,于 8:00 ~ 10:00 收集血样,防止 Heparin 的昼夜波动^[5],分别注入 EDTA 抗凝管 (2 ml) 和血清管 (3 ml)。血常规在 2 h 内检测;血清管 3 000 r/min 离心 30 min 分离血清,置入 -80℃ 冰箱冷冻保存。按试剂盒说明书操作,采用酶联免疫吸附测定 (ELISA) 分别检测血清标本中 Heparin、BMP-6、IL-6、sTfR 的含量 (Heparin 检测范围 15.6 ~ 1 000 pg/ml, BMP-6 检测范围 156.00 ~ 10 000 pg/ml, IL-6 检测范围 3.1 ~ 300 pg/ml, sTfR 检测范围 3.0 ~ 80 nmol/L)。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 13.0 统计软件,各组数据做正态性检验及方差齐性检验,计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,符合正态分布且方差齐的数据比较采用单因素方差分析,组内两两比较用 LSD-*t* 检验,方差不齐的数据比较用非参数 Mann-Whitney *U* 检验; ROC 曲线比较各指标对乳腺癌骨转移的诊断价值,多因素 Logistic 回归分析比较各指标在乳腺癌骨转移的作用, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组患者年龄、Heparin、IL-6、Hb、BMP-6、sTfR 比较

3 组患者平均年龄比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 3 组患者 Heparin、IL-6、Hb、BMP-6、sTfR 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (见表 1)。

3 组患者 Heparin、IL-6 及 Hb 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较后发现,对 Heparin, 乳腺癌骨转移组 > 乳腺癌无骨转移组 > 乳腺增生组; 对 IL-6, 乳腺癌骨转移组 > 乳腺癌无骨转移组及乳腺增生组,但乳腺癌无骨转移组与乳腺增生组比较,差

表 1 3 组患者年龄、Heparin、IL-6、Hb、BMP-6、sTfR 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄 / 岁	Heparin / (pg/ml)	IL-6 / (pg/ml)	Hb / (g/L)	BMP-6 / (pg/ml)	sTfR / (nmol/L)
乳腺癌骨转移组	25	65.2 ± 7.8	86.37 ± 16.30	17.45 ± 5.42	110.58 ± 20.13	498.40 ± 193.77	5.03 ± 0.69
乳腺癌无骨转移组	30	63.6 ± 9.7	47.21 ± 18.48	12.13 ± 6.36	132.44 ± 17.78	335.26 ± 179.83	7.21 ± 0.70
乳腺增生组	30	62.7 ± 8.9	34.31 ± 16.79	10.80 ± 5.92	149.96 ± 14.09	309.13 ± 35.85	7.80 ± 5.35
<i>F/H</i> 值		0.161	65.733	9.313	35.185	15.632	26.411
<i>P</i> 值		0.851	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 3 组患者 Heparin、IL-6、Hb 比较采用单因素方差分析, BMP-6、sTfR 因不符合方差齐性, 采用非参数检验

异无统计学意义 ($t = 0.834, P = 0.406$); 对 Hb, 乳腺癌骨转移组 < 乳腺癌无骨转移组 < 乳腺增生组。

3 组患者 BMP-6、sTfR 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对 BMP-6, 根据平均秩次 (59.08 VS 38.77 VS 33.83), 乳腺癌骨转移组 > 乳腺癌无骨转移组 > 乳腺增生组; 对 sTfR, 根据平均秩次 (23.50 VS 44.52 VS 57.73), 乳腺癌骨转移组 < 乳腺癌无骨转移组 < 乳腺增生组。见图 1、2。

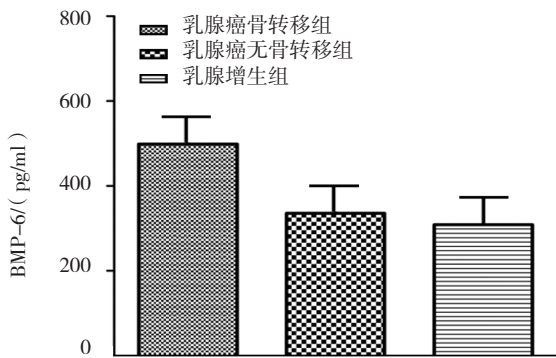


图 1 3 组患者的 BMP-6 比较 ($\bar{x} \pm s$)

2.2 Hepcidin、BMP-6、IL-6 对乳腺癌骨转移的诊断价值

Hepcidin、BMP-6、IL-6 对乳腺癌骨转移的诊断 ROC 曲线见图 3, 各项参数见表 2, Hepcidin 用于乳腺癌骨转移的诊断价值最高。

2.3 乳腺癌骨转移的影响因素

以乳腺癌是否骨转移为应变变量 (骨转移 $Y=1$, 无

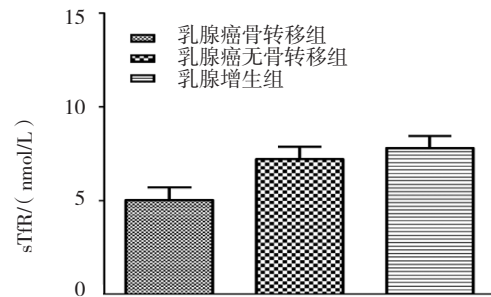


图 2 3 组患者的 sTfR 比较 ($\bar{x} \pm s$)

骨转移 $Y=0$), Hepcidin、BMP-6、IL-6、sTfR 及 Hb 赋值后为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。在回归方程中有意义的指标有两项, 为 Hepcidin 和 sTfR; Hepcidin 为骨转移危险因素, sTfR 为保护因素。主要影响因素结果见表 3。

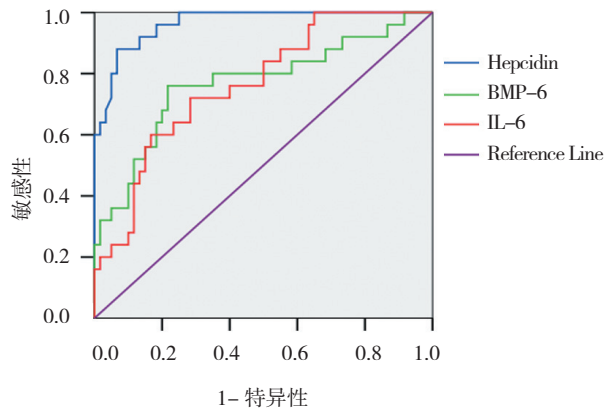


图 3 Hepcidin、BMP-6、IL-6 用于乳腺癌骨转移诊断的 ROC 曲线

表 2 Hepcidin、BMP-6、IL-6 用于乳腺癌骨转移诊断的各项参数

指标	AUC	P 值	95%CI		界值	敏感性 /%	特异性 /%
			下限	上限			
Hepcidin	0.964	0.000	0.931	0.998	63.01	92.0	86.7
BMP-6	0.768	0.000	0.647	0.889	371.93	76.0	78.3
IL-6	0.764	0.000	0.657	0.871	15.10	72.0	71.7

表 3 乳腺癌骨转移多因素 Logistic 回归分析参数

指标	b	S _b	Wald χ^2	P 值	\hat{OR}	95%CI	
						下限	上限
Hepcidin	0.300	0.108	7.653	0.006	1.349	1.091	1.668
BMP-6	0.044	0.037	1.466	0.226	1.045	0.973	1.123
IL-6	-0.008	0.141	0.003	0.955	0.992	0.752	1.308
sTfR	-2.133	0.827	6.646	0.010	0.118	0.023	0.600
Hb	0.039	0.060	0.436	0.509	1.040	0.925	1.169

3 讨论

既往研究发现, Heparin 升高与多种癌症有关, 如多发性骨髓瘤、前列腺癌、肾细胞癌^[6-9]。PINNIX 等^[10]的研究突出了膜铁转运蛋白(FPN)和 Heparin 在乳腺癌细胞铁稳态失衡起重要作用。这些作者第一次表明, 在培养的乳腺癌细胞, Heparin 通过转录后机制负调控 FPN 表达; 此外, 在肿瘤细胞中的 Heparin 浓度高于正常细胞。近期的相关研究发现, 乳腺癌患者与健康对照组比较, 血浆 Heparin 浓度更高^[3, 11], Heparin 可以负性调节癌细胞 FPN 的表达。CINISELLI 等^[4]也发现, 与良性乳腺疾病相比, 乳腺癌的 Heparin 明显升高。本组资料中, 乳腺癌患者无论有无骨转移, Heparin 水平均高于乳腺增生组, 与上述观点相符。

为什么乳腺癌患者血浆 Heparin 升高? 由铁状态、促红细胞生成活性、炎症, 以及每个独立信号的相对强度形成相互作用的通路来决定肝脏 Heparin 表达上调(包括 BMP-6/SMAD4 通路和 IL-6/STAT3 通路)^[3]。Heparin 升高可能是由于炎症刺激或肿瘤分泌物 IL-6 升高了血清铁或依赖 BMPs 提供的信号。机制研究也发现, 增加铁、BMP-6 和 IL-6 能共同促进肝脏 Heparin 的合成^[11]。

BMP-6 是 BMPs 家族成员, 属于转化生长因子 β 。BMP 已经被发现与多种癌症如乳腺癌、前列腺癌、多发性骨髓瘤和卵巢癌相关。特别是多发性骨髓瘤的血清 BMP-2 水平会升高^[7]。先前研究已经表明, BMP-6 在原发性乳腺癌标本和细胞株表达, 是癌细胞生长和迁移的抑制剂^[12]。本组资料中, 乳腺癌 BMP-6 水平高于乳腺增生组, 且有骨转移组更高, 说明 BMP-6 不仅与乳腺疾病的良恶性相关, 与骨转移也有很大关系。

IL-6 作为细胞因子的核心成员, 由淋巴细胞、单核细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞以及某些肿瘤细胞产生, 对肿瘤细胞的增殖有重要影响。杨士军等^[13]的研究结果显示, IL-6 在健康对照组和无骨转移组患者血清中都具有一定水平, 但都没有超过 150 pg/ml(试剂盒提供的正常上限), 而骨转移组患者血清 IL-6 水平明显高于无骨转移组和健康对照组, 推测转移的肿瘤细胞自身产生 IL-6, 提示 IL-6 参与乳腺癌骨转移的病理过程。本组资料中, 乳腺癌骨转移组 IL-6 高于无骨转移组和乳腺增生组, 支持上述观点。

在晚期乳腺癌中, 骨转移的发生率为 65% ~ 75%^[14-15], 而首发症状为骨转移者占 27% ~ 50%, 一旦

发生骨转移, 疾病进入不可治愈的阶段, 因此骨转移决定乳腺癌患者的预后。薛东等^[16]发现血清 Heparin 可以作为诊断前列腺癌骨转移的敏感指标, 同时可以作为预后随访指标, 判断治疗疗效。PINNIX 等^[10]也发现在乳腺癌人群中伴随高 FPN 和低 Heparin 表达的患者预后较好, 95% 存活 5 年无复发。相反, 高 Heparin 表达与预后差相关, 较低的肿瘤 FPN 水平也有类似结果。Pinnix 用无转移生存率的多因素分析证实了 FPN 和 Heparin 独立的预后价值。

然而, 国内外缺乏对 Heparin 与乳腺癌骨转移的直接研究。杨士军等^[13]发现 IL-6 与乳腺癌骨转移相关。本组资料 ROC 曲线分析发现 Heparin 对乳腺癌骨转移诊断有较高的价值, 且优于 BMP-6 及 IL-6。进一步多因素分析结果, Heparin 为乳腺癌骨转移危险因素, sTfR 为保护因素。上述结果证实 Heparin 不仅可以诊断乳腺癌骨转移, 还可以作为乳腺癌预后随访指标。通过 BMP-6 拮抗剂和 IL-6 单抗能降低 Heparin 的表达, 也许可作为治疗手段, 改善体内微炎症状态和铁代谢, 延缓乳腺癌骨转移的进展, 纠正肿瘤晚期贫血^[17]。

综上所述, Heparin 与乳腺癌骨转移有较好的相关性, 但由于本研究为小样本回顾性研究, 其诊断价值还需要进一步研究。同时期待 Heparin 对于乳腺癌及乳腺癌骨转移有潜在的治疗价值。

参考文献:

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] 江泽飞, 陈佳艺, 牛晓辉, 等. 乳腺癌骨转移和骨相关疾病临床诊疗专家共识(2014版)[J]. 中国肺癌杂志, 2014, 95(4): 241-247.
- [3] ORLANDI R, de BORTOLI M, CINISELLI C M, et al. Heparin and ferritin blood level as noninvasive tools for predicting breast cancer[J]. Ann Oncol, 2014, 25(2): 352-357.
- [4] CINISELLI C M, de BORTOLI M, TAVERNA E, et al. Plasma heparin in early-stage breast cancer patients: no relationship with interleukin-6, erythropoietin and erythroferrone[J]. Expert Rev Proteomics, 2015, 12(6): 695-701.
- [5] TROUTT J S, RUDLING M, PERSSON L, et al. Circulating human heparin-25 concentrations display a diurnal rhythm, increase with prolonged fasting, and are reduced by growth hormone administration[J]. Clin Chem, 2012, 58(8): 1225-1232.
- [6] GANZ T, OLBINA G, GIRELLI D, et al. Immunoassay for human heparin[J]. Blood, 2008, 112(10): 4292-4297.
- [7] MAES K, NEMETH E, ROODMAN G D, et al. In anemia of multiple myeloma, heparin is induced by increased bone

- morphogenetic protein 2[J]. *Blood*, 2010, 116(18): 3635-3644.
- [8] Tanno T, Rabel A, Alleyne M, et al. Heparin, anaemia, and prostate cancer[J]. *BJU Int*, 2011, 107(4): 678-679.
- [9] Kamaï T, Tomosugi N, Abe H, et al. Increased serum heparin-25 level and increased tumor expression of heparin mRNA are associated with metastasis of renal cell carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2009, (9): 270.
- [10] Pinnix Z K, Miller L D, Wang W, et al. Ferroportin and iron regulation in breast cancer progression and prognosis[J]. *Sci Transl Med*, 2010, 2(43): 43ra56.
- [11] Zhang S, Chen Y, Guo W, et al. Disordered heparin-ferroportin signaling promotes breast cancer growth[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(11): 2539-2550.
- [12] Alarmino E L, Kallioniemi A. Bone morphogenetic proteins in breast cancer: dual role in tumorigenesis[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2010, 17(2): R123-139.
- [13] 杨士军, 谭维琴, 鲍艳梅. CA153、IL-6 及 IL-8 与乳腺癌骨转移相关性探讨 [J]. *重庆医学*, 2011, 40(4): 355-356.
- [14] Futakuchi M, Singh R K. Animal model for mammary tumor growth in the bone microenvironment[J]. *Breast Cancer*, 2013, 20(3): 195-203.
- [15] Akhtari M, Mansuri J, Ka, Guise T, et al. Biology of breast cancer bone metastasis[J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2008, 7(1): 3-9.
- [16] 薛冬, 何小舟, 许贤林, 等. Heparin 蛋白与前列腺癌骨转移的相关性研究 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2013, 34(1): 65-68.
- [17] Pietrangelo A. Heparin in human iron disorders: therapeutic implications[J]. *J Hepatol*, 2011, 54(1): 173-181.

(张西倩 编辑)