

DOI: 10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-06-008

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

乳腺癌患者血清 CXCL3、TLRs9 表达与术后复发转移的相关性分析

韩洁琼, 杨喜永

(驻马店市中心医院检验科, 驻马店 463000)

摘要 目的 分析血清 CXC 趋化因子配体 3(CXCL3)、Toll 样受体 9(TLRs9)与乳腺癌患者术后病情复发转移的相关性。方法 选取 105 例乳腺癌患者,所有患者均接受保乳术治疗,比较入组患者治疗前后的血清肿瘤标志物水平,血清 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 表达情况;分析血清 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 与乳腺癌患者病情严重程度的相关性以及对乳腺癌术后病情复发或转移的预测价值。结果 治疗后,癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 153(CA153)、糖类抗原 199(CA199)水平及 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 的相对表达量均低于治疗前,差异有统计学意义($P < 0.05$)。CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 与 CEA、CA153、CA199 正相关($P < 0.05$)。复发转移组 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 的相对表达量均高于未复发转移组($P < 0.05$)。CXCL3 mRNA 对乳腺癌术后复发转移的预测灵敏度、特异度分别为 85.25%、79.66%,截断值为 0.85;TLRs9 mRNA 对乳腺癌术后复发转移的预测灵敏度、特异度分别为 82.72%、75.49%,截断值为 10.71(AUC > 0.85)。结论 检测血清中 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 表达水平变化或可实现对患者术后病情复发、转移风险的早期预测。

关键词: 乳腺癌; CXC 趋化因子配体 3; Toll 样受体 9; 预测价值

中图分类号: R737.9

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2024)06-0058-06

Relationship between the expression of CXCL3 and TLRs9 in serum and postoperative recurrence and metastasis of breast cancer

HAN Jieqiong, YANG Xiyong

(Department of Laboratory, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China)

Abstract Objective To analyze the relationship between serum CXC recombinant chemokine ligand 3(CXCL3), Toll-like receptors 9(TLR9), and postoperative recurrence and metastasis of breast cancer. **Methods** 105 breast cancer patients were underwent breast-conserving surgery. Differences in the serum levels of tumor markers, serum CXCL3 mRNA, and TLRs9 mRNA before and after treatment were compared. The correlation between CXCL3 mRNA and TLR9 mRNA and the severity of breast cancer was tested using the Spearman correlation coefficient. The predictive value of CXCL3 and TLR9 mRNA for recurrence or metastasis after surgery was verified by drawing the

基金项目: 河南省医学科技攻关项目(SBGJ2021012004)。

第一作者: 韩洁琼, 硕士, 主管检验师, 研究方向为医学检验, hanjieqiong12@yeah.net。

receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Post-surgery, patients had lower levels of CEA, CA153, CA199, CXCL3, and TLR9 compared to preoperative levels, showing a statistically significant difference ($P < 0.05$). The mRNA levels of CXCL3 and TLR9 were positively correlated with CEA, CA153, and CA199 ($P < 0.05$). The relative expression levels of CXCL3 and TLR9 mRNA, along with CEA, CA153, and CA199 in the recurrence and metastasis group, were higher than those in the non-recurrence and metastasis group ($P < 0.05$). The ROC curve analysis showed that the sensitivity and specificity of CXCL3 mRNA in predicting postoperative recurrence and metastasis of breast cancer were 85.25% and 79.66%, respectively, and the cut-off value was 0.85. The sensitivity and specificity of TLR9 mRNA in predicting postoperative recurrence and metastasis of breast cancer were 82.72% and 75.49%, respectively, and the cut-off value was 10.71 ($AUC > 0.85$). **Conclusion** Monitoring changes in serum levels of CXCL3 and TLR9 may enable early prediction of postoperative disease recurrence and metastasis risk in breast cancer patients.

Keywords: breast cancer; postoperative metastasis and recurrence; CXCL3; Toll like receptor 9; predictive value

乳腺癌为临床常见恶性肿瘤,其发病原因考虑与内分泌激素分泌异常、遗传、肥胖、过度饮酒等因素均有密切关联。针对早期乳腺癌,临床多会在明确病灶大小、位置及周围组织器官侵袭程度的基础上,为患者制定个体化综合治疗措施,手术为治疗早期乳腺癌的首选方法。早期乳腺癌经外科手术治疗后,一年内病情复发率在10%左右,现阶段临床尚未提出可预测乳腺癌术后复发转移风险的有效指标^[1-2]。乳腺癌为一种非可控性的炎症反应,其疾病发生及病情进展与机体炎症反应均有密切关联,机体炎症反应程度或可反映其病情进展及预后。CXC趋化因子配体3(CXCL3)、Toll样受体9(TLRs9)均是可参与炎症反应发生、进展的重要物质,可通过参与乳腺癌或其他恶性肿瘤细胞的侵袭、扩散及转移而调控肿瘤微环境^[3-4]。为进一步实现对乳腺癌预后情况的早期预测,本研究旨在分析血清CXCL3、TLRs9与乳腺癌患者术后病情复发转移的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年10月至2023年1月驻马店市中心医院收治的105例乳腺癌患者,年龄58~72岁,平均(65.4±5.2)岁;病程1~5年,平均(3.1±0.3)年;术后KPS得分70~80分,平均(75.2±5.2)分。病理分期:I期65例,II期40例。本研究已获得驻马店市中

心医院医学伦理委员会审核批准(批准号:ZM1209-2021)。

纳入标准:①均诊断为乳腺癌^[5],经评估确认TNM病理分期^[6]为I期、II期;②符合保乳术指征,且自愿接受手术治疗;③术后功能状态评分(KPS)^[7]基线值均≥70分,预计生存周期>1年;④临床资料完整可供查阅;⑤已从医护人员处充分了解研究内容,同意获取并公开既往临床资料。

排除标准:①病灶已发生转移或扩散的中晚期乳腺癌;②三阴性乳腺癌;③经实验室检查确认存在免疫缺陷或感染症状;④合并其他类型恶性肿瘤;⑤临床资料缺失。

1.2 方法

所有患者均接受保乳术治疗。①嘱患者采取去枕平卧位,结合影像学检查结果确认病灶位置,设计相应手术切口,对术区进行常规消毒后铺巾;②切取大小为0.5 cm的腋窝前哨淋巴结组织进行活检,若检测结果为阴性则免除腋窝淋巴结清扫,若检测结果为阳性则参考乳腺癌根治术对腋窝淋巴结进行常规清扫;③确认淋巴结清扫完毕后对肿瘤组织实施象限切除,即对肿瘤及其周围直径1~2 cm处乳腺组织进行完整切除;④切除病灶及其周围组织时,需将组织内胸大肌肌筋膜一同切除,切除病灶时需冰冻切缘处,直至确认切除后组织切缘为阴性为止;⑤对残留腺体进行充分止血后,在保留腺体残腔情况下

直接对乳腺皮肤进行缝合。术后通过电话、线上回访等形式,对所有患者开展为期1年随访,若随访时,患者主诉有乳房肿块、皮肤异常、乳头溢液则需嘱患者回院进行影像学、病理学检查,以明确病灶转移或病情复发情况。

1.3 观察指标

①以2 mL外周静脉血为检测样本,统一作抗凝处理后,以转速3 000 r/min(半径0.5 cm)离心5 min后,经酶联免疫吸附法检测治疗前后癌胚抗原(CEA)、糖类抗原153(CA153)、糖类抗原199(CA199)等血清肿瘤标志物水平,检测仪设备为Elx800TS酶标仪(购自美国伯腾仪器有限公司);经逆转录聚合酶链式反应检测治疗前后血清CXCL3 mRNA以及TLRs9 mRNA表达水平,检测设备为IVD RT-PCR检测仪(购自德国耶拿分析仪器股份公司)。②分析CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA表达水平与CEA、CA153、CA199的相关性。③依据术后病灶是否复发、转移,将入组患者分为复发转移组和未复发转移组,比较两组血清CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA表达水平。④验证CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA表达水平对乳腺癌术后病情复发或转移的预测价值。术后复发或转移判定标准如下^[6]:若术后1年内乳腺组织局部可见皮瓣结节、肿块及周围淋巴结肿大,实验室检查提示肿瘤标志物水平再次升高,影像学检查提示有结节、肿块病灶,经病理组织学检

查确认为阳性则判定为病情复发;若术后1年内体格检查提示手术切口周围有结节、腋下淋巴结可触及肿大结节,伴乏力、肝区疼痛、骨痛、厌食、头晕头痛、胸痛咳血等其他症状,经影像学检查提示其他部位有结节、肿块病灶,实验室检查提示肿瘤标志物水平升高则可判定为病灶转移。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件处理数据,计数资料以样本量 n 、样本量占比(%)表示,进行 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,用 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。经Spearman相关性系数检验CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA表达水平与血清肿瘤标志物的相关性, $P<0.05$ 表示二者相关, $r<0$ 表示负相关, $0<r<1$ 表示正相关^[8]。通过绘制受试者工作特征(ROC)曲线,并观察线下面积(AUC)验证CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA对乳腺癌发病风险的预测效能,当 $AUC>0.85$ 时认为具有较高预测效能^[11]。

2 结果

2.1 血清肿瘤标志物及CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA表达情况

经保乳术治疗后,乳腺癌患者的CEA、CA153、CA199水平以及CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA相关表达量均低于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$),结果如表1所示。

表1 治疗前后血清肿瘤标志物水平及CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA表达情况比较

时间	n /例	CEA/(ng/mL)	CA153/(U/mL)	CA199/(U/mL)	CXCL3 mRNA	TLRs9 mRNA
治疗前	105	10.33±2.25	50.82±10.33	55.61±10.46	1.96±0.47	15.33±5.25
治疗后	105	4.45±1.23	25.32±5.44	37.22±5.45	0.85±0.22	10.45±2.31
t		23.497	22.381	15.977	21.918	8.718
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA与肿瘤标志物的相关性分析

经Spearman相关性系数检验,CXCL3 mRNA、

TLRs9 mRNA与CEA、CA153、CA199正相关($P<0.05$),结果如表2所示。

表2 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 与肿瘤标志物的相关性分析

指标	CEA		CA153		CA199	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
CXCL3 mRNA	0.351	<0.05	0.353	<0.05	0.352	<0.05
TLRs9 mRNA	0.349	<0.05	0.348	<0.05	0.345	<0.05

2.3 不同病情转归患者的 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 表达情况

105 例患者经保乳术治疗后 1 年的复发转移率

为 33.33% (35/105), 复发转移组 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 的相对表达量均高于未复发转移组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 结果如表 3 所示。

表3 不同病情转归患者的 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 表达情况比较

组别	<i>n</i> /例	CXCL3 mRNA	TLRs9 mRNA
复发转移组	35	0.92±0.23	11.29±2.32
未复发转移组	70	0.77±0.25	10.13±2.15
<i>t</i>		2.975	2.538
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.4 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 对乳腺癌术后复发转移的预测效能分析

经 ROC 曲线分析, CXCL3 mRNA 对乳腺癌术后复发转移的预测灵敏度、特异度分别为 85.25%、

79.66%, 截断值为 0.85, TLRs9 mRNA 对乳腺癌术后复发转移的预测灵敏度、特异度分别为 82.72%、75.49%, 截断值为 10.71 ($AUC > 0.85$), 结果如表 4、图 1 所示。

表4 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 对乳腺癌术后复发转移的预测效能

指标	灵敏度/%	特异度/%	AUC	95%CI	截断值	<i>P</i>
CXCL3 mRNA	85.25	79.66	0.861	0.808~0.895	0.85	<0.05
TLRs9 mRNA	82.72	75.49	0.858	0.814~0.901	10.71	<0.05

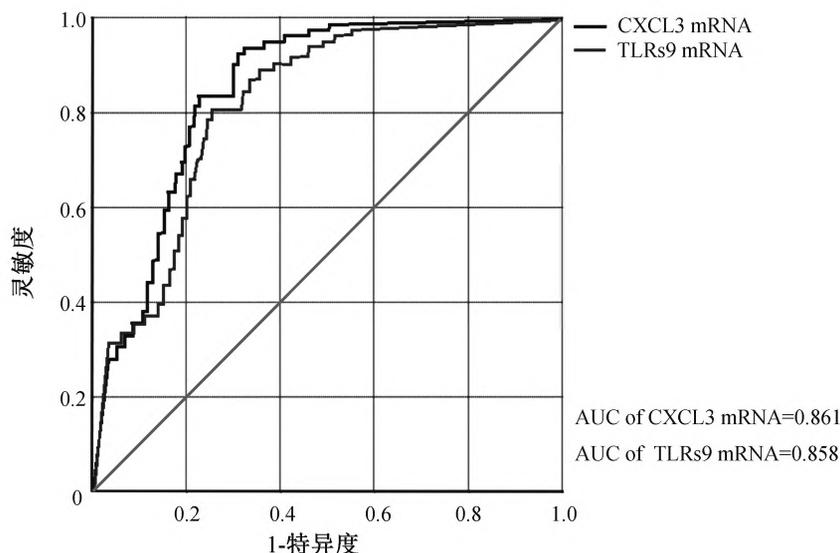


图1 CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA 对乳腺癌术后复发转移的 ROC 曲线分析

3 讨论

乳腺癌为女性常见恶性肿瘤,其发病率较高,可给患者生命安全造成严重威胁,但随着医疗技术的不断进步,此病逐步成为疗效相对较好的实体肿瘤之一。目前,针对早期乳腺癌,临床多以外科手术为主要治疗措施,通过切除原发病灶能有效抑制病情进展,并延长患者生命周期^[7-8]。乳腺癌患者经手术治疗后短期复发、转移风险较高,考虑与患者自身年龄、术前病理分期、肿瘤直径大小等均有密切关联。目前,临床多会通过应用CT、MRI等影像学手段预测患者术后复发、转移风险,但尚未提出预测乳腺癌术后复发转移的有效标志物,但上述方法检查过程复杂,价格昂贵,或无法充分适应患者的临床需求^[9-10]。

本研究结果显示,105例患者经保乳术治疗后的CEA、CA153、CA199等肿瘤标志物水平以及CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA的相对表达量均低于治疗前,提示保乳术治疗早期乳腺癌的效果较好,可有效下调肿瘤标志物水平及CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA相对表达量。癌症实质是一种非可控的炎症反应,与机体适应免疫功能相关的细胞因子为驱动此类非可控炎症反应的重要载体,CXCL以及TLRs9均为已知的、可影响肿瘤微环境的重要细胞因子。目前临床认为,细胞在分裂过程产生的分子遗传错误是肿瘤发生的重要基础,通常肿瘤细胞内包含多种基因缺陷及易位,上述基因缺陷随细胞分裂活跃而积累后,则会导致肿瘤发生^[11]。CXCL对肿瘤细胞的侵袭、外渗、迁徙、存活及凋亡均有重要影响。CXCL3为CXCL家族重要成员之一,是一种多细胞分泌的低相对分子质量生物活性蛋白质,可参与肿瘤的发生及进展^[12-13]。本研究结果显示,经Spearman相关性系数检验,CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA与CEA、CA153、CA199正相关($P < 0.05$),进一步证实CXCL3、TLRs9的mRNA与乳腺癌患者病情严重程度密切相关。相关研究^[14]结果表明,CXCL3能通过活化G蛋白偶联受体并降低环腺苷酸水平而参与肿瘤发生发展,为一种重要的肿瘤诱导因子。TLRs是一种可识别高度保守微生物的病原相关分子模式受体,可介导天然免疫应答反应,也是机体天然免疫及

获得性免疫应答的重要连接受体。目前,临床发生的TRLs共有10种,TLRs9为广泛表达于人体及动物组织免疫细胞、恶性肿瘤细胞的TLRs家族成员之一^[15-16]。相关研究^[17]结果表明,TLRs9能通过介导炎症反应而影响肿瘤微环境,还可通过促进肿瘤细胞增殖而引起细胞免疫逃逸,其水平表达与乳腺癌等妇科恶性肿瘤患者的临床分期、病理分级及病灶转移等密切相关。通过对不同病情转归患者的CXCL3、TLRs9的mRNA进行对比后,结果显示,复发转移组的CXCL3、TLRs9的mRNA相关表达量均高于未复发转移组。CXCL3可参与多种疾病的病理生理过程,可通过建立梯度浓度而对肿瘤细胞的侵袭、转移能力造成直接影响。相关研究^[18]结果表明,阻断CXCL3信号转导,可一定程度上抑制肿瘤细胞迁移,对降低病情复发或病灶转移风险有重要意义。TLRs9在T细胞、单核细胞等免疫细胞的表达量极少,但在乳腺癌的肿瘤组织中表达量较高,当TLRs9与其经典配体相结合后即可启动干扰素信号通路及促炎细胞因子信号通路,并通过参与炎症发生、加剧炎症发展而引发癌症^[19]。本研究结果显示,CXCL3 mRNA对乳腺癌术后复发转移的预测灵敏度、特异度分别为85.25%、79.66%,截断值为0.85,TLRs9 mRNA对乳腺癌术后复发转移的预测灵敏度、特异度分别为82.72%、75.49%,截断值为10.71(AUC>0.85)。

4 结论

CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA的相对表达量与乳腺癌患者的血清肿瘤标志物水平正相关,动态监测CXCL3 mRNA、TLRs9 mRNA的相对表达量或有利于实现对患者术后复发或转移风险的早期预测。

参考文献

- [1] LIU S, SHEN Y W, XIANG J L, et al. Accelerated perioperative rehabilitation for breast cancer patients undergoing radical mastectomy: a systematic review [J]. J Perianesth Nurs, 2023, 38(2): 339-348.
- [2] HUPPERT L A, MARIOTTI V, CHIEN A J, et al. Emerging immunotherapeutic strategies for the treatment of breast

- cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2022, 191(2): 243-255.
- [3] 邵建斌. 保乳手术与改良根治术在早期乳腺癌治疗中的临床效果对比[J]. *中外医学研究*, 2023, 21(10): 151-154.
- [4] 牛涛, 周逢海. 炎症与肿瘤微环境[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2023, 48(12): 1899-1913.
- [5] SHAMSEDEEN H, PIKE F, GHABRIL M, et al. Karnofsky performance status predicts outcomes in candidates for simultaneous liver-kidney transplant [J]. *Clin Transplant*, 2021, 35(2): e14190.
- [6] 梁云, 肖运平, 主晓磊, 等. 多模式 MRI 联合 CA125、CA153、CA199 预测乳腺癌术后复发转移的临床价值研究[J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2024, 22(2): 92-94.
- [7] 郭新忠, 王哲理. 保乳手术在早期乳腺癌中的临床效果[J]. *内蒙古医学杂志*, 2023, 55(3): 364-365.
- [8] YEERAVALLI R, DAS A. Molecular mediators of breast cancer metastasis[J]. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*, 2021, 14(4): 275-289.
- [9] 解祥通, 闫可, 费喜峰, 等. 胶质瘤炎症适应免疫: Toll 样受体与趋化因子的作用[J]. *中华神经医学杂志*, 2021, 20(12): 1264-1269.
- [10] 林珉佳, 查海玲, 张曼琪, 等. 常规超声联合 CEUS 特征与乳腺癌术后复发转移的相关性分析[J]. *肿瘤影像学*, 2024, 33(1): 75-81.
- [11] 李彬, 冯锋, 刘富垒. 肿瘤切除手术诱发术后复发的机制及纠正策略研究进展[J]. *山东第一医科大学(山东省医学科学院)学报*, 2023, 44(7): 535-540.
- [12] 苏璇, 朱晓斌, 张俊萍. CXC 趋化因子受体 3 变体及其配体在肿瘤微环境中作用的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(7): 728-731.
- [13] GAO X L, MAJETSCHAK M. G protein activation via chemokine(C-X-C motif) receptor 4 and α_{10} -adrenoceptor is ligand and heteromer-dependent [J]. *FEBS Lett*, 2023, 597(15): 2017-2027.
- [14] SUN X T, HE X K, ZHANG Y, et al. Inflammatory cell-derived CXCL3 promotes pancreatic cancer metastasis through a novel myofibroblast-hijacked cancer escape mechanism[J]. *Gut*, 2022, 71(1): 129-147.
- [15] FANG C, ZHONG R, LU S, et al. TREM2 promotes macrophage polarization from M1 to M2 and suppresses osteoarthritis through the NF- κ B/CXCL3 axis [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(6): 1992-2007.
- [16] 杨宏鹏, 张首国, 曹莹, 等. Toll 样受体相关疾病研究进展[J]. *科学技术与工程*, 2022, 22(35): 15427-15435.
- [17] 王丽丽, 张三元. Toll 样受体 9 在妇科恶性肿瘤中的研究进展[J]. *中国临床研究*, 2022, 35(9): 1249-1252.
- [18] 李文燕, 祝迪薇, 顾艳玲, 等. CXCL3/CXCR2 调节乳腺癌细胞上皮-间质转化的作用机制研究[J]. *浙江医学*, 2021, 43(3): 254-259.
- [19] ALZHRANI B. The biology of toll-like receptor 9 and its role in cancer [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2020, 30(5): 457-474.

[收稿日期: 2024-06-14]

[责任编辑: 杨建香 英文编辑: 张勇]