

## HMGA1 mRNA 在乳腺癌中的表达及临床价值<sup>①</sup>

秦明明,冯钢,章健,郑瑞,刘小岑,浦春<sup>②</sup>

(皖南医学院第一附属医院检验科,安徽 芜湖 241001)

E-mail:m15755386287@163.com)

**摘要:**目的 本文旨在探讨乳腺癌组织中高迁移率族蛋白 A1(HMGA1) mRNA 的检测对预测乳腺癌发生与发展的临床价值。方法 采用 RT-PCR 的方法检测 48 对乳腺癌样本(癌及癌旁组织)中 HMGA1 基因的相对表达,并采用多元线性回归分析 HMGA1 与临床特征的相关性。通过绘制 ROC 曲线评估 HMGA1 预测乳腺癌敏感性和特异性。结果 相比癌旁组织,乳腺癌组织中 HMGA1 mRNA 的表达上调;HMGA1 mRNA 相对表达在淋巴结转移、高组织学分级、雌孕激素受体阴性以及 HER-2 阴性的乳腺癌组织中明显上调;多元线性回归分析显示 HMGA1 mRNA 表达与淋巴结转移呈正相关( $\beta=2.627, P<0.001$ );ROC 曲线表明, HMGA1 mRNA 预测乳腺癌的诊断效能较高(敏感性为 83.30%, 特异性为 95.80%, 曲线下面积  $AUC=0.968$ ), cut-off 值等于 1.048。结论 HMGA1 mRNA 的高表达预示着患者有较大可能发生乳腺癌,且 HMGA1 mRNA 表达越高,乳腺癌患者的预后越差,有望为预测乳腺癌的发生与发展提供一个特异性的分子标志物。

**关键词:** 高迁移率族蛋白 A1; 乳腺肿瘤; 临床特征; mRNA

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1001-5817(2018)03-0223-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.03.004

### Expression and clinical value of HMGA1 mRNA in breast cancer

Qin Mingming, Feng Gang, Zhang Jian, Zheng Rui, Liu Xiaocen, Pu Chun

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui E-mail:m15755386287@163.com)

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical value of detection of high mobility group protein A1 (HMGA1) mRNA in breast cancer tissue in predicting the occurrence and development of breast cancer.

**Methods** The relative expressions of HMGA1 gene in 48 pairs of breast cancer samples (cancer and adjacent tissues) were detected by RT-PCR, and the correlation between HMGA1 and clinical features was analyzed by multivariate linear regression analysis. The sensitivity and specificity of HMGA1 in predicting breast cancer were evaluated by drawing ROC curves. **Results** Compared with normal adjacent tissue, the expressions of HMGA1 mRNA were up-regulated in breast cancer tissue. The relative expressions of HMGA1 mRNA were significantly up-regulated in breast cancer tissues with lymph node metastasis, high histological grade, negative progesterin receptor and negative HER-2. Multiple linear regression analysis showed that the expression of HMGA1 mRNA was positively correlated with lymph node metastasis ( $\beta=2.627, P<0.001$ ). ROC curve showed the higher diagnostic efficacy of HMGA1 mRNA in predicting breast cancer (the sensitivity was 83.30%, the specificity was 95.80% and the area under the curve was 0.968) and the cut-off value was 1.048. **Conclusion**

The high expression of HMGA1 mRNA indicates that breast cancer is more likely to occur, and the higher the expression of HMGA1 mRNA is, the worse the prognosis of breast cancer patient is, which is expected to provide a specific molecular marker for predicting the occurrence and development of breast cancer.

**Key words:** HMGA1; breast tumor; clinical features; mRNA

① 基金项目:安徽省教育厅自然科学研究重点项目(kj2016A722)

② 通信作者,E-mail:philippepu@163.com

在女性肿瘤疾病中,乳腺癌的发病率最高,死亡率也较高<sup>[1]</sup>。肿瘤转移是乳腺癌死亡的主要原因<sup>[2]</sup>,但乳腺癌转移的细胞过程尚不清楚。组织学检查和淋巴结分期是目前临床上判断乳腺癌预后的最常用方法<sup>[3-4]</sup>,许多临床病理指标,包括肿瘤大小、乳腺癌相关受体、蛋白等,均与乳腺癌转移的风险增加有关<sup>[5-6]</sup>。高迁移率族蛋白 A1 (high mobility group A1, HMGA1) 是一种细胞核蛋白, HMGA1 蛋白过表达是结直肠癌、肝细胞癌和乳腺癌等恶性肿瘤的特征之一<sup>[7-9]</sup>。本研究通过 RT-PCR 的方法检测乳腺癌组织中 HMGA1 的相对表达,探讨检测 HMGA1 对预测乳腺癌发生与发展的临床价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

在皖南医学院第一附属医院,收集 2016—2017 年期间 48 对乳腺癌样本(乳腺癌和癌旁组织标本)。样本液氮冷冻保存于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,并记录患者的年龄、肿瘤直径、组织学分级、肿瘤转移等病理特征,采用 BOND MAX 法进行组织化学染色,并评估样本的激素受体(ER、PR)、Ki-67 和 HER-2 状态。48 例乳腺癌患者的平均年龄为  $(55.1 \pm 10.4)$  岁,年龄范围在 36~76 岁之间。乳腺癌和淋巴结转移的诊断按照 2015 版 CACA 乳腺癌诊疗指南及术后病理组织确诊,并采用常规方法进行乳腺癌组织学分级<sup>[10]</sup>。ER、PR、HER-2 的结果判断参照 ASO/CAP 指南推荐的评分系统。所有患者术前均未接受任何放疗、化疗或免疫治疗。所有患者均提供书面同意,研究方案已获皖南医学院机构伦理审查委员会批准。

### 1.2 仪器与试剂

逆转录仪器是美国 Labnet PCR 仪;荧光定量检测的仪器是 ABI 7500 序列检测系统(Life Technology, 美国);RNA 提取和逆转录试剂分别来自北京天根生化科技和上海赛默飞世尔科技有限公司;荧光定量检测试剂是 SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> kit (TaKaRa, 宝日医生物科技(北京)有限公司);PCR 采用的 HMGA1 和 GAPDH 引物购自广州锐博生物科技有限公司。

### 1.3 方法

组织中总 RNA 的提取、逆转录和荧光定量 PCR,采用 Trizol Universal 提取 50 mg 冷冻组织总 RNA,用凝胶电泳可视化 rRNA 条带分析提取 RNA 的完整性,用分光光度法确定提取总 RNA 的纯度。按照试剂盒说明书相关仪器的指示,用逆转录试剂进行逆转录,并采用荧光定量试剂盒定量检测 HMGA1 的 mRNA 的相对表达。并采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 HMGA1 mRNA 的相对表达。HMGA1 和 GAPDH

扩增产物长度分别为 80 bp 和 99 bp,引物序列见表 1。

表 1 HMGA1 和 GAPDH 的引物序列

引物名称	序列
HMGA1 上游序列	5'-TCCATTCTTCGACATCCGTCA-3'
HMGA1 下游序列	5'-GATCGTGGGCAGAACAGGAG-3'
GAPDH 上游序列	5'-CATCAAGAAGGTGGTGAAGCAG-3'
GAPDH 下游序列	5'-GTGTCGCTGTTGAAGTCAGAG-3'

### 1.4 统计学方法

连续变量以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,两组资料之间的比较采用  $t$  检验,多组资料的比较采用  $F$  检验和 LSD- $t$  检验。用多元线性回归分析,确定 HMGA1 表达与临床特征的相关性。用 ROC 曲线分析 HMGA1 mRNA 表达预测乳腺癌的临床效能和截断值。所有数据采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,双侧  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HMGA1 mRNA 在乳腺癌组织中的相对表达与癌旁组织 $(0.36 \pm 0.30)$ 相比, HMGA1 mRNA 相对表达在乳腺癌组织中明显上调 $(2.31 \pm 1.62)$ ( $t = 8.216, P < 0.001$ )。见图 1。

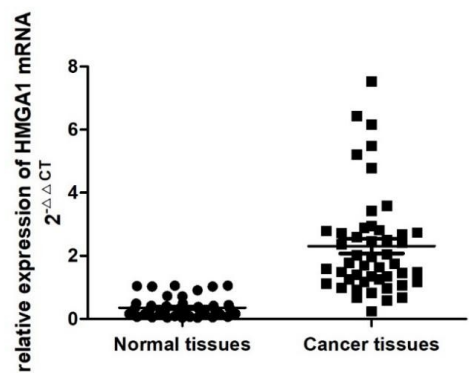


图 1 HMGA1 mRNA 在乳腺癌及癌旁正常组织中的相对表达

注:Normal tissues 指正常组织;Cancer tissues 指癌组织

### 2.2 不同临床特征的乳腺癌组织中 HMGA1 mRNA 的表达差异

HMGA1 mRNA 在年龄、肿瘤直径、Ki-67 增殖指数方面差异无统计学意义,而高组织学分级 ( $P = 0.003$ )、ER 阴性 ( $P = 0.008$ )、PR 阴性 ( $P = 0.011$ )、HER-2 阳性 ( $P = 0.007$ )、淋巴结转移 ( $P < 0.001$ ) 的乳腺癌患者 HMGA1 mRNA 表达较高。见表 2。

### 2.3 HMGA1 mRNA 的表达与乳腺癌临床特征的相关性

为了进一步分析 HMGA1 mRNA 与乳腺癌临床特征的相关性,对表 2 中 HMGA1 相对表达有差异

的相关指标进行多元线性回归分析,结果显示 HMGA1 mRNA 表达与淋巴结转移呈正相关( $\beta=2.627$ ,  $P<0.001$ ),见表 3。

表 2 HMGA1 mRNA 在乳腺癌不同临床特征之间的相对表达

临床特征	n	HMGA1 mRNA 表达	t / F	P
年龄(岁)			0.832	0.410
≤50	21	2.09±1.26		
>50	27	2.48±1.86		
组织学分级			6.683	0.003
I 级	7	1.23±0.98		
II 级	26	1.98±1.10		
III 级	15	3.38±2.05 <sup>ab</sup>		
肿瘤直径(cm)			0.389	0.699
≤2	20	2.42±1.41		
>2	28	2.23±1.77		
ER			2.182	0.047
阴性	12	3.36±2.09		
阳性	36	1.96±1.28		
PR			2.254	0.035
阴性	19	3.03±2.21		
阳性	29	1.84±0.83		
HER-2			2.558	0.017
阴性	28	1.79±1.05		
阳性	20	3.04±1.99		
Ki67 增殖指数(%)			0.147	0.884
≤14	12	2.25±1.54		
>14	36	2.33±1.67		
淋巴结转移			4.186	0.007
否	42	1.90±1.10		
是	6	5.17±1.87		

注:与组织学 I 级相比, a:  $P<0.05$ ;与组织学 II 级相比, b:  $P<0.01$

表 3 多元线性回归分析 HMGA1 mRNA 的表达与临床特征的相关性

临床病理特征	HMGA1 mRNA 的表达	
	$\beta(95\% CI)$	P
年龄	-0.024 (-0.059~0.012)	0.183
组织学分级	0.549 (-0.058~1.155)	0.075
肿瘤直径	0.036 (-0.253~0.326)	0.801
ER	-0.092 (-1.489~1.306)	0.895
PR	-0.469 (-1.879~0.942)	0.505
HER-2	0.114 (-0.260~0.489)	0.540
Ki67 增殖指数(%)	-0.130 (-1.932~1.671)	0.884
淋巴结转移	2.627 (1.407~3.846)	<0.001

2.4 HMGA1 mRNA 预测乳腺癌的诊断效能 见图 2,ROC 曲线所示, HMGA1 mRNA 表达水平(cut-off 值=1.048)对乳腺癌的敏感性为 83.30%,特异性为 95.80%(AUC=0.968,95% CI 0.938~0.999)。

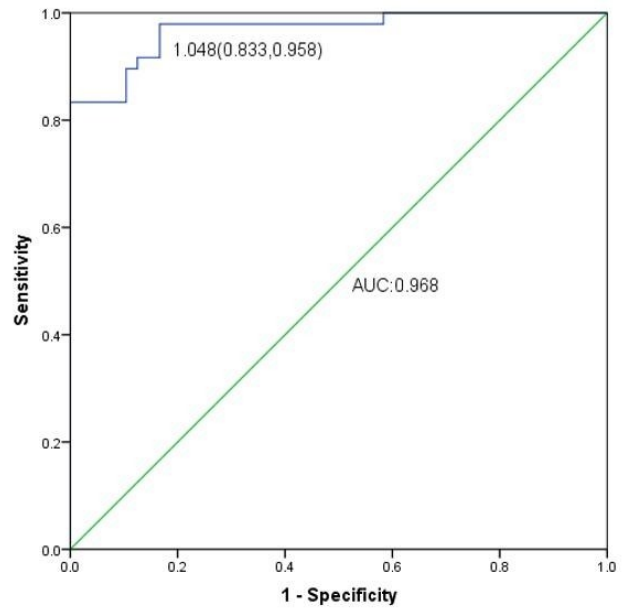


图 2 HMGA1 mRNA 预测乳腺癌的 ROC 曲线

注: Sensitivity 代表敏感性; 1-Specificity 代表 1-特异性

### 3 讨论

早期乳腺癌及时治疗,预后较好<sup>[11]</sup>,但是,乳腺癌术后的转移仍然是导致患者死亡的主要原因<sup>[2]</sup>。相关研究表明,高迁移率族蛋白(HMGA)在组织胚胎时期高表达,而在成人组织细胞中不表达或极低表达,在多种恶性肿瘤中高表达<sup>[12]</sup>,可通过影响一些基因的表达而影响乳腺癌细胞的浸润转移<sup>[13]</sup>。与前期研究相一致<sup>[12]</sup>,本研究发现,相比于癌旁组织, HMGA1 mRNA 在乳腺癌组织中的表达上调。

前期研究表明, HMGA1 蛋白与乳腺癌的组织学分级、HER-2 状态密切相关<sup>[14-15]</sup>,而关于 HMGA1 mRNA 与乳腺癌预后相关指标的研究比较少见。通过分析 HMGA1 mRNA 在乳腺癌组织中的表达在不同临床特征之间的表达差异,我们发现 HMGA1 mRNA 在高组织学分级、ER 阴性、PR 阴性、HER-2 阳性、淋巴结转移的乳腺癌组织中表达上调,此结果提示, HMGA1 mRNA 可能与乳腺癌的相关特征有关。进一步通过多元线性回归分析,发现乳腺癌组织中的 HMGA1 mRNA 水平与淋巴结转移相关,而与 ER、PR、HER-2 状态等其他临床指标无显著相关。前期结果表明淋巴结转移乳腺癌患者组织中基因表达异常可能是发生远处转移的危险因素<sup>[16]</sup>。相关报道也表明, HMGA1 可通过多种途径影响乳腺癌细胞的转移<sup>[17]</sup>,本结果与相关报道相符。由于样本量少,因此对本研究结果的解释应谨慎,且需进一步进行验证。

防治乳腺癌的关键是早期诊断、治疗,目前临床上

尚缺乏理想的乳腺癌诊断的肿瘤标志物,临床上往往通过联合多种指标和检查手段对乳腺癌进行筛查确诊。研究表明,CA15-3、CEA、C-erbB2等多项指标联合能够明显提高乳腺癌诊断的敏感性和特异性<sup>[18]</sup>。而通过分析 HMGA1 mRNA 的表达对预测乳腺癌发生的诊断效能,可以发现 HMGA1 mRNA 预测乳腺癌发生的敏感性为 83.30%,特异性为 95.80%(AUC=0.968),临界值为 1.048。提示 HMGA1 不仅能够准确预测乳腺癌的发生,而且对于乳腺癌的转移和预后具有重要的临床价值。

#### 4 结论

综上所述, HMGA1 mRNA 在乳腺癌组织中高表达,与乳腺癌相关预后指标相关,可能是乳腺癌淋巴结转移的危险因素;另外, HMGA1 mRNA 对于预测乳腺癌发生的敏感性和特异性较高,有望为预测乳腺癌的发生、发展以及靶向治疗提供新的分子指标。

#### 参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1):7-30.
- [2] AbdRaboh NR, Shehata HH, Ahmed MB, et al. HER1 R497K and HER2 I655V polymorphisms are linked to development of breast cancer [J]. *Disease Markers*, 2013, 34(6):407-417.
- [3] Hasebe T, Iwasaki M, Akashi-Tanaka S, et al. Important histologic outcome predictors for patients with invasive ductal carcinoma of the breast [J]. *Am J Surg Pathol*, 2011, 35(10):1484-1497.
- [4] Lupe K, Truong PT, Alexander C, et al. Ten-year locoregional recurrence risks in women with nodal micrometastatic breast cancer staged with axillary dissection [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2011, 81(5):e681-688.
- [5] Ravaioli S, Tumedei MM, Foca F, et al. Androgen and oestrogen receptors as potential prognostic markers for patients with ductal carcinoma in situ treated with surgery and radiotherapy [J]. *Int J Exp Pathol*, 2017, 98(5):289-295.
- [6] Aktas B, Kasimir-Bauer S, Müller V, et al. Comparison of the HER2, estrogen and progesterone receptor expression profile of primary tumor, metastases and circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16:522.
- [7] Williams MD, Zhang X, Belton AS, et al. HMGA1 drives metabolic reprogramming of intestinal epithelium during hyperproliferation, polyposis, and colorectal carcinogenesis [J]. *J Proteome Res*, 2015, 14(3):1420-1431.
- [8] Andreozzi M, Quintavalle C, Benz D, et al. HMGA1 Expression in Human Hepatocellular Carcinoma Correlates with Poor Prognosis and Promotes Tumor Growth and Migration in in vitro Models [J]. *Neoplasia*, 2016, 18(12):724-731.
- [9] Sepe R, Piscuoglio S, Quintavalle C, et al. HMGA1 overexpression is associated with a particular subset of human breast carcinomas [J]. *J Clin Pathol*, 2016, 69(2):117-121.
- [10] 姬国强. 影响乳腺癌术中冰冻诊断准确性的病理因素研究 [J]. *中国医药指南*, 2015, 13(16):140-141.
- [11] Hao W, Zhang X, Xiu B, et al. Vitronectin: a promising breast cancer serum biomarker for early diagnosis of breast cancer in patients [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(7):8909-8916.
- [12] Pallante P, Sepe R, Puca F, et al. High mobility group A proteins as tumor markers [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2015, 2:1-7.
- [13] Yun J, Kuo WL, Boelens MC, et al. Signalling pathway for RKIP and Let-7 regulates and predicts metastatic breast cancer [J]. *EMBO J*, 2011, 30:4500-4514.
- [14] Zhang S, Lei R, Wu J, et al. Role of high mobility group A1 and body mass index in the prognosis of patients with breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(5):5719-5726.
- [15] Chiappetta G, Botti G, Monaco M, et al. HMGA1 protein overexpression in human breast carcinomas: correlation with ErbB2 expression [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(22):7637-7644.
- [16] Chernyy V, Pustynyak V, Kozlov V, et al. Increased expression of miR-155 and miR-222 is associated with lymph node positive status [J]. *J Cancer*, 2018, 9(1):135-140.
- [17] Pegoraro S, Ros G, Ciani Y, et al. A novel HMGA1-CC-NE2-YAP axis regulates breast cancer aggressiveness [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(22):19087-19101.
- [18] 陈少华. 肿瘤标志物组合在乳腺癌防治中的应用 [J]. *右江民族医学院学报*, 2010, 32(5):671-673.

收稿日期:2018-04-30;修回日期:2018-05-29