

BRCA 基因相关散发性乳腺癌研究进展

孟荣荣 应明真 王雅杰

乳腺癌的发生是一系列因素共同作用的结果,其中重要的一部分是复杂的细胞和分子遗传学改变。BRCA1, BRCA2 基因突变赋予肿瘤易感性,由这些基因编码的蛋白质在相关的 DNA 修复过程中具有不同的功能。新近证据表明,除去遗传性肿瘤,许多散发性肿瘤的发病与这一机制的破坏有关。就广义而言,这类属性可以定义为“BRCA - ness”,也就是说,这些散发性肿瘤的患者可能是 BRCA1 或 BRCA2 基因突变的携带者。这些共同属性有可能对这一类肿瘤的临床治疗具有重要意义。现仅将近年来有关乳腺癌易感基因(breast cancer susceptibility gene, BRCA)及其相关乳腺癌的研究进展综述如下。

一、散发性乳腺癌的生物多样性

目前,我们应用基因表达微阵列分析来界定散发性乳腺癌的亚型,这一分析也许可以反映肿瘤从普通的乳腺上皮干细胞演变成肿瘤细胞的不同途径^[1]。根据数据的分析方法和激素受体的状态,可以将散发性乳腺癌分为 5 个亚型。传统上根据激素受体水平将乳腺癌进行亚型的分类,是因为激素受体水平代表了肿瘤对于内分泌药物如他莫西芬的潜在反应性。在激素受体阳性的肿瘤中,有两种类似的腺上皮细胞:一类为正常的乳腺导管内层细胞,一类为正常乳腺样细胞。还有一类激素受体阴性为主的乳腺癌通常过表达表皮生长因子超家族的成员之一的 ERBB2 蛋白(被称做 Her - 2/neu)。另外一类乳腺癌会表达高水平的肌上皮细胞型细胞角蛋白。因为肌上皮细胞存在于正常乳腺导管的外层基底细胞层中,所以这一类肿瘤也被称为类基底样或基底型肿瘤。

类似的基因表达分析方法,也适用于家族性 BRCA 基因携带者的乳腺癌的分类。有研究表明,基底型散发性肿瘤和家族 BRCA1 基因肿瘤可能有类似

的病因学基础。有关家族性 BRCA1 肿瘤的病理学研究支持并拓展这一发现。BRCA1 基因的肿瘤通常表达基底样,肌上皮样细胞型细胞角蛋白(CK5/6, CK14 和 CK17),而不是雌激素受体,并具有更高的有丝分裂计数^[2]。此外,家族性 BRCA1 基因肿瘤通常显示淋巴细胞浸润,并可能在肿瘤边缘出现扩张性生长(常见于病理描述),而在原位癌中往往不会出现一致的情形。

与具有独特表型的家族性 BRCA1 相关肿瘤相反,现有的技术很难从散发性乳腺癌中将家族性 BRCA2 相关肿瘤的组织病理学特征区别开来。尽管现有的研究很少,但这些群体中肿瘤基因表达模式的不同可以准确区分 3 类肿瘤。因此, BRCA1 和 BRCA2 基因突变携带者的肿瘤发展有截然不同的路径。这些差异反映了 BRCA1 基因在 DNA 损伤反应等细胞过程中的作用,而 BRCA2 基因在 RAD51 依赖的 DNA 自我修复和维持基因组稳定性中功能受到极大限制。因此, BRCA1 基因突变可能会赋予基底细胞样肿瘤特定的基因表达模式,这可能是由于 BRCA1 或其他维持基因组稳定的基因功能缺失所造成的。

二、BRCA 基因定位、结构与功能

1. BRCA 基因发现、定位及结构:乳腺癌易感基因定位于染色体 17q21^[3]。20 世纪 90 年代,经过对早发性乳腺癌家族进行连锁分析,第 1 次将 BRCA1 基因与乳腺癌联系起来。1995 年,在研究参与遗传性易感乳腺癌家族的其他基因时,通过对连续几代的乳腺癌家系经过连接分析和定位克隆发现了位于染色体 13q12.3 上的 BRCA2 基因。BRCA1 和 BRCA2 基因都具有相当复杂的基因组结构。BRCA1 基因由 24 个外显子构成, BRCA2 基因由 27 个外显子构成。两者都编码大蛋白:BRCA1 基因包含 1863 个氨基酸和 BRCA2 基因包含 3418 个氨基酸。与此同时,在男性乳腺癌的家系中发现携带高频率 BRCA2 基因突变^[4]。BRCA1 和 BRCA2 基因突变携带者不仅容易发展成乳腺癌和卵巢癌,而且也增加了发生输卵管肿

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81072175, 81102010);上海市卫生局科研计划项目(2009113)

作者单位:200433 上海,第二军医大学附属长海医院肿瘤科

通讯作者:王雅杰,教授,博士生导师,电子信箱:yajiewa0459@

163.com

瘤,结肠癌,黑色素瘤,前列腺癌和胰腺癌的风险。

2. BRCA 的功能:存在 BRCA1/BRCA2 的种系杂合子突变的妇女患乳腺癌、卵巢癌的概率明显升高。BRCA1 似乎在细胞中发挥着广泛的作用,与调节细胞周期、DNA 损伤修复、细胞生长与凋亡及转录等多种生物学途径均有关系^[5]。相反地,BRCA2 的功能表面上被 DNA 重组、修复过程所限制,但是对于 RAD51 活性的调节尤其重要。缺少 BRCA1/BRCA2 的细胞在同源重组的保守机制修复 DNA 双链断裂上存在功能缺陷。这会导致非保守机制修复的 DNA 位点上存在潜在的基因突变,例如非同源末端链接和单链退火。这种基因组不稳定性可能构成了 BRCA1/BRCA2 突变引起肿瘤易感性的遗传学基础。

三、散发性乳腺癌中 BRCA 基因的失活

基因失活表观遗传机制,现在公认为是抑癌基因沉默中基因突变的潜在选择。研究最多的表观遗传事件是发生在 CpG 岛胞嘧啶残基的异常甲基化。虽然一般在基因组普遍未被充分代表,这些核苷酸的岛发生在一个基因组相当重要的部分,通常在那里他们未甲基化。在肿瘤中这些 CpG 岛的重新甲基化与包装密集的组蛋白中周围 DNA 的包装及转录的沉默有关。发现在散发性乳腺癌中的 11%~14% 有 BRCA1 启动子的异常甲基化,而卵巢癌中发生这一现象的比例占到 5%~31%^[6]。在多数情况下,BRCA1 基因的表达是检测不到的,说明作为甲基化的后果往往导致完全的基因表达沉默。甲基化是常与其他等位基因的丢失有关—即杂合性丢失 (LOH),在 BRCA1 位点,这可能意味着一种情形,即一个等位基因通过缺失而丢失,另一个等位基因通过启动子甲基化而表达缺失^[6]。

BRCA1 基因甲基化在正常的乳腺组织中没有发现,似乎主要局限于乳腺癌和卵巢癌,在结直肠癌、口腔癌或白血病中尚未发现甲基化的证据,在肺癌和颈部肿瘤只是偶然发生甲基化。因此,肿瘤甲基化取向是与肿瘤发生中的 BRCA1 基因突变携带者相类似。BRCA1 基因甲基化的乳腺肿瘤具有更高的病理分级,表现为分裂更迅速的侵袭性肿瘤,而且可能是 ER 阴性,与遗传性 BRCA1 基因相关乳腺癌相似的特定亚型有关联^[6]。此外,BRCA1 基因甲基化的肿瘤,如家族 BRCA1 的患者,常表现为 c-myc 基因扩增和缺乏 ERBB2 的扩增。这些表型的 BRCA1 基因甲基化的显示肿瘤的比例是低于家族的 BRCA1 基因的肿瘤。这可能反映了某种程度的不完整,可能是

BRCA1 基因的非特异性及表观遗传沉默。最后,表达微阵列提供有限的信息也表明,散发的 BRCA1 基因的甲基化肿瘤基因表达谱可能与家族 BRCA1 基因相关肿瘤非常相似。一项实验研究显示,复发转移性乳腺癌患者外周血 BRCA1 甲基化率显著增加,但在此研究中没有发现 BRCA1 基因的甲基化与肿瘤激素受体状态的关联^[7]。

与 BRCA1 相反,在乳腺癌 BRCA2 基因启动子的超甲基化与卵巢癌启动子甲基化很少发生,没有令人信服的证据表明在肿瘤中出现了表观遗传学沉默。BRCA2 基因的失活的一个潜在的替代机制最近浮出水面,涉及一个被称为 EMSY 的新基因^[8]。据证实,EMSY 与 BRCA2 基因的部分片段有相互作用—第 3 外显子,这是以前被牵连至转录调控。EMSY 还与染色质重塑蛋白相互作用,当其过度表达时,抑制 BRCA2 基因的转录活性。通过观察在散发性癌中 EMSY 在 13% 的散发的原发性乳腺癌中起扩增作用,在 17% 的高级别的散发性卵巢癌中扩增。在淋巴结阴性乳腺癌,EMSY 扩增与其生存率相关,这就表明在散发性癌中 EMSY 扩增可能使一个路线的 BRCA2 基因失活^[8]。虽然这项工作很有趣,但是仍有一些悬而未决的问题,即在维持基因组稳定性上 EMSY 扩增是否会影响 BRCA2 基因的作用。因此,仍然要确定在散发性癌中 EMSY 扩增在何种程度上可能模拟家族性 BRCA2 乳腺癌的表型。

四、BRCA 相关散发性乳腺癌病理学特征

1. 组织学:与 BRCA 关联的乳腺癌的组织结构与非 BRCA 关联的散发性乳腺癌病理特点不同,BRCA1 关联肿瘤大多数是浸润性导管腺癌 (74%)。同样 BRCA2 肿瘤的最共同组织结构也是浸润性导管癌 (76%)。另外与散发性乳腺癌相比,BRCA1 相关性肿瘤中,13% 是髓样癌,而散发性乳腺癌中只有 2% 的病理分型是髓样癌。其余的组织学类型在 BRCA1 突变相关的肿瘤和散发性乳腺癌的比率是一样的。研究表明,对于其他的组织病理学特征,BRCA1 肿瘤更常为不良分化 (3 级)。微管构造减少,但有较高的多形性,所有方面表明更具有浸润性表型。但与散发性乳腺癌相比,报告显示:在 BRCA2 相关乳腺癌中,扩散型 (多型性) 分叶状、管状、筛状乳腺癌的发病率较高。由于更少的微管形成,更多核多形性高的有丝分裂率,BRCA2 肿瘤是更多为中低分化癌 (2、3 等级)^[9]。同时近期一项研究显示,BRCA 在正常乳腺、异型增生、原位癌及浸润性癌中的表达呈递减趋

势,说明 BRCA 基因缺失与乳腺癌的发生有密切关系^[10]。提示 BRCA 蛋白表达的减少与乳腺癌的浸润性生物学行为及不良预后有关,所以可以推测随着进一步研究的深入,BRCA 蛋白的检测将有可能作为评估乳腺癌生物学行为和预后的新因素。

关于浸润性乳腺癌前病变,最初报道虽然导管原位癌(DCIS)和小叶原位癌(LCIS)在 BRCA1 突变携带者中发生率低,分别为 41% 和 2%,但是在非携带者中为 56% 和 6%,两者之间无显著性差异。与对照组相比,在 BRCA2 突变携带者中有同样低的频率,分别为 52% 和 3%,56% 和 6%^[11]。调查研究发现,对突变的 BRCA1 携带者施行预防性乳腺切除通常发现癌前病变或原位癌的频率更高。这些病变涉及乳腺导管原位癌,小叶原位癌,非典型性乳腺管(ADH)和非典型小叶增生(ALH),普遍导管增生,柱状细胞病变,纤维腺瘤^[12]。同样,对 BRCA2 突变的携带者施行预防性乳腺切除,其癌前病变的发生概率与 BRCA1 突变携带者类似。

2. 免疫表型:BRCA1 相关乳腺癌病变的免疫表型特征,首先是雌激素受体 α (ER - α) 的低表达。1997 年,有研究报道,BRCA1 相关肿瘤与散发性肿瘤相比,ER - α 的表达明显降低,这是有关 BRCA1 和 ER 关联的首例报道。后续的研究证实了这一观察,此外还证实了低水平 ER - α 和高级别肿瘤,低发病年龄之间显著的联系。相比之下,雌激素受体 β (ER - β) 在乳腺癌 BRCA1 基因突变的肿瘤中也呈现过度表达。类似的,孕激素受体(PR)的低表达也有报道。与对照组相比,人类表皮生长受体 2 (Her - 2/neu) 在 BRCA1 基因相关乳腺癌中含量较低。此外,Her - 2/neu 基因扩增的 BRCA1 基因肿瘤很少被报道。有研究将这一现象解释为在 BRCA1 基因出现胚系的突变情况下,Her - 2/neu 随着在 BRCA1 上的杂合性缺失而丢失,因为在 17 号染色体上,Her - 2/neu 的位置靠近 BRCA1。与 Her - 2/neu 相反,表皮生长因子受体(EGFR)的过表达与 BRCA1 突变引起的乳腺癌密切相关。BRCA1 基因相关乳腺癌往往缺乏细胞周期蛋白 D1 (CCND1)。此外,在这种情况下,p27Kip1 的含量也非常低,同时可以观察到高含量的细胞周期蛋白 E。另外 BRCA1 在调节基因表达时与 p53 有相互作用,多数有 BRCA1 基因突变的乳腺癌伴有 p53 基因突变^[13]。突变的 p53 基因在 BRCA1 肿瘤约占 30% ~ 77%,而在对照组中只存在大约 20%。因此,p53 的积累突变往往能在与

BRCA1 基因有关的乳腺癌中观察到。另外,一项研究显示 BRCA1 突变及其与 p53 突变间的关系随种族地理不同而不同,如在美国 Ashkenazi 犹太族妇女中 BRCA1 突变率较高且伴高频率的 p53 基因突变,而我国 BRCA1 基因突变类型尚未完全确定,与 p53 基因突变之间的关系还有待进一步研究揭示^[14]。此外,p53 突变基因的分布可能会受到 BRCA1 和 BRCA2 基因的影响。总之,这些免疫表型特征表明 BRCA1 相关浸润性乳腺癌很大程度上显示了乳腺祖细胞的免疫表型特征,这表明他们最初可能(相对于 BRCA2 相关肿瘤)源自这些细胞。

BRCA2 相关乳腺癌的免疫表型特征与散发性乳腺癌的免疫表型特征相似。结论为,大多数 BRCA2 肿瘤显示出与 BRCA1 相关乳腺癌不同的免疫表型。BRCA2 相关肿瘤显示更高水平的 ER - α 和 PR 的表达。此外,这些 BRCA2 相关乳腺癌的雌激素受体阳性率随着年龄的增长而降低。在各种研究报告中,BRCA2 相关乳腺癌中 Her - 2/neu 低或者无表达。此外,最近的研究报道,BRCA2 相关乳腺癌与 BRCA1 相关乳腺癌对比,具有更高成纤维细胞生长因子 1 (FGF1) 与纤维母细胞生长因子受体 2 (FGFR2) 的表达。这能帮助从其他乳腺癌中辨别 BRCA2 相关乳腺癌。BRCA2 相关乳腺癌与 BRCA1 乳腺癌相比,p53 突变的发生率没有区别甚至更低。与 BRCA1 和无 BRCA 携带者相比,BRCA2 中表达更高的细胞周期蛋白 D1, BAX 和 BCL2。然而,有数据表明,表皮生长因子受体 EGFR 在 BRCA2 相关肿瘤中表达升高。总之,大多数 BRCA2 相关乳腺癌是所谓的管腔型(luminal type),伴有 ER、PR、CK8 和 CK18 过表达。这与在 BRCA1 有关乳腺癌观察明显不同的,指向不同根源的乳腺细胞腔内,而不像在 BRCA1 相关乳腺癌,指向乳腺祖细胞。

五、BRCA 相关散发性乳腺癌的临床治疗意义

对于 BRCA 相关性乳腺癌预防性手术方案,包括双侧乳腺切除术和双侧输卵管卵巢切除术(BSO)。预防性双侧乳腺切除术,几乎 100% 减少了突变携带者患乳腺癌的风险。鉴于其有可能引起影响患者的卵巢癌发生率,特别是在 BRCA1 基因突变携带者上,专家强烈建议在妇女接受 BSO 包括拆除完成生育的输卵管。一项研究的初步结果表明,BRCA1 基因突变的绝经后妇女使用激素替代疗法与降低乳腺癌的风险相关。重要的是需要在不同人群中实验然后经过一个较长的研究期加以验证。

ER/PR/Her - 2/neu 联合不表达状态,归类为 BRCA1 相关乳腺癌中的一些被称为“三阴性”乳腺癌,据临床观察这些癌可能需要一套备用的化疗方法。由于 BRCA 基因在 DNA 修复过程中起着重要的作用,DNA 交联剂如顺铂,丝裂霉素 - C,将对由于 BRCA1 和 BRCA2 基因突变进而功能失调引发的疾病具有良好的效果。一项新辅助治疗的试验中发现,BRCA1 突变患者对顺铂的反应性较之对紫杉类药物的反应性好,PCR 分别为 83%、8%^[15]。通过观察显示:与非遗传性卵巢癌患者相比,BRCA1 基因突变的卵巢癌患者对铂类为基础的化疗有较高的肿瘤反应。

目前出现了一种具有潜力的新方法治疗 BRCA1 和 BRCA2 相关肿瘤,那就是使用(ADP - 核糖)聚合酶 1(PARP1)抑制剂。如前面提到的,BRCA1 和 BRCA2 基因都参与 DNA 双链断裂修复。PARP1 参与碱基切除修复,这是 DNA 单链断裂修复的关键途径。缺失 PARP 将会导致自发的单链断裂,损坏自我复制转入双链断裂,引发同源重组修复。然而,随着 BRCA1 或 BRCA2 基因功能的丧失,细胞就会抑制 PARP 活动,显然导致持久性 DNA 损伤,其通常是由同源重组修复的。当两个途径缺陷时会导致染色体不稳定,细胞循环终止最后死亡。细胞存活实验表明,相比杂合子突变或野生型细胞,缺乏野生型 BRCA1 或 BRCA2 基因的细胞株对 PARP 抑制剂极为敏感。使用非胚胎干细胞 BRCA2 基因缺陷也会获得类似的结果。这些结果表明 PARP 抑制剂在 BRCA1 和 BRCA2 的相关乳腺癌治疗中具有潜在用途。目前正在对患乳腺癌和(或)卵巢癌的 BRCA 携带者进行不同的临床评估试验进行探索^[16]。就方法学而言,尽管之前的蛋白质组学分析在临床实践中因为乳腺癌的复杂性而存在技术壁垒,MALDI - TOF/SELDI - TOF MS 等创新型蛋白质组学平台分析工具为蛋白质生物标志物的检测提供了足够的统计效力和严谨的分析功能,相信在不久的将来他们将能够在个体化药物的研发过程中发挥重要的作用^[17]。

总之,随着乳腺癌在我国呈逐年升高的趋势以及对 BRCA 基因结构、功能、病理特征等的认识,不断探索相应的临床对策已成为目前研究热点。我们还应在此基础上继续深入 BRCA 基因与其他的乳腺癌易感基因的共同作用,进而探究散发性乳腺癌的演变过程,以便探索诊断线索和新的治疗方法。

参考文献

1 Smalley M, Ashworth A. Stem cells and breast cancer: A field in

- transit[J]. Nat Rev Cancer,2003,3(11): 832 - 844
- 2 Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, *et al.* Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer[J]. J Natl Cancer Inst,2003,95(19): 1482 - 1485
- 3 Thompson D, Easton D. The genetic epidemiology of breast cancer genes[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia,2004,9(3): 221 - 236
- 4 Spearman AD, Sweet K, Zhou XP, *et al.* Clinically applicable models to characterize BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance[J]. J Clin Oncol,2008,26(33): 5393 - 5400
- 5 Milne RL, Antoniou AC. Genetic modifiers of cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers[J]. Ann Oncol,2011,22(Suppl 1): i11 - 17
- 6 Esteller M, Silva JM, Dominguez G, *et al.* Promoter hypermethylation and BRCA1 inactivation in sporadic breast and ovarian tumors[J]. J Natl Cancer Inst,2000,92(7): 564 - 569
- 7 卢元丽,梁旭,林晓琳,等. 复发转移性乳腺癌患者外周血 BRCA1、CDH1、DKK1 和 SFRP1 甲基化检测意义的研究[J]. 中国实验诊断学,2011,15(7): 1095 - 1097
- 8 Hughes - Davies L, Huntsman D, Ruas M, *et al.* EMSY links the BRCA2 pathway to sporadic breast and ovarian cancer[J]. Cell, 2003,115(5): 523 - 535
- 9 der Groep P, Bouter A, Menko FH, *et al.* High frequency of HIF - 1alpha overexpression in BRCA1 related breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat,2008,111(3): 475 - 480
- 10 于亚威,徐广涛,吕仕才,等. nm23、BRCA - 1 和 ki - 67 在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 实用肿瘤杂志,2011,26(1): 30 - 33
- 11 Arun B, Vogel KJ, Lopez A, *et al.* High prevalence of preinvasive lesions adjacent to BRCA1/2 - associated breast cancers[J]. Cancer Prev Res (Phila),2009,2(2): 122 - 127
- 12 Isern AE, Loman N, Malina J, *et al.* Histopathological findings and follow - up after prophylactic mastectomy and immediate breast reconstruction in 100 women from families with hereditary breast cancer[J]. Eur J Surg Oncol,2008,34(10): 1148 - 1154
- 13 Parija S, Kumar A. A structural bioinformatics approach to explore the interactions of P53 and BRCA1 gene products on ovarian and breast cancer[J]. Int J Bioinform Res Appl,2011,7(1): 1 - 14
- 14 Yarden RI, Friedman E, Metsuyanin S, *et al.* Single - nucleotide polymorphisms in the p53 pathway genes modify cancer risk in BRCA1 and BRCA2 carriers of Jewish - Ashkenazi descent[J]. Mol Carcinog,2010,49(6): 545 - 555
- 15 Byrski T, Gronwald J, Huzarski T, *et al.* Pathologic complete response rates in young women with BRCA1 - positive breast cancers after neo - adjuvant chemotherapy[J]. J Clin Oncol,2010,28(3): 375 - 379
- 16 Tuma RS. Combining carefully selected drug, patient genetics may lead to total tumor death[J]. J Natl Cancer Inst,2007,99(20): 1505 - 1506,1509
- 17 Galvao ER, Martins LM, Ibiapina JO, *et al.* Breast cancer proteomics: a review for clinicians[J]. J Cancer Res Clin Oncol,2011, 137(6): 915 - 925 (收稿:2011 - 11 - 16)
(修回:2011 - 11 - 18)