

乳腺癌相关基因 (BRCA1) 与新辅助化疗敏感度研究

张 勇 叶俊松

摘 要 **目的** 探讨散发性乳腺癌基因 BRCA1 在乳腺癌组织中的表达与新辅助化疗敏感度的关系。**方法** 应用免疫组化方法,对乳腺癌患者癌组织 BRCA1 表达情况进行检测,并用同一化疗方案 (TEC) 对该组患者进行新辅助化疗,分析其与新辅助化疗敏感度的关系。**结果** 乳腺癌患者 BRCA1 表达阳性患者完全缓解率、部分缓解率、稳定率、进展率分别为 24.6%、70.1%、5.2%、0; 乳腺癌患者 BRCA1 表达阴性患者完全缓解率、部分缓解率、稳定率、进展率分别为 9.2%、55.6%、31.5%、3.7%。两组相比各项指标比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** BRCA1 表达水平与新辅助化疗敏感度呈显著正相关, BRCA1 可能作为一项预测化疗疗效、指导制定合理治疗方案的新指标。

关键词 乳腺癌 BRCA1 基因 新辅助化疗 化疗敏感度

[中图分类号] R737 [文献标识码] A

Relationship Between Breast Cancer Related Genes (BRCA1) with Sensitivity to Neoadjuvant Chemotherapy. Zhang Yong, Ye Junsong.
Department of Galactophore, The 1st People's Hospital of Kunming City, Yunnan 650011 China

Abstract **Objective** To investigate the relationship between the expression of BRCA1 in the Sporadic breast cancer tissues and the sensitivity to neoadjuvant chemotherapy **Methods** To detect Expression of BRCA1 was detected by immunohistochemical and the neoadjuvant chemotherapy was given with the same chemotherapy regimens (TEC). The relationship between BRCA1 expression and efficacy of neoadjuvant chemotherapy was studied. **Results** The efficacy of breast cancer BRCA1 expression positive patients with complete response, partial response, stable disease and progress disease were 24.6%, 70.1%, 5.2%, 0% respectively and those of no expression with complete response, partial response, stable disease and progress disease were 9.2%, 55.6%, 31.5%, 3.7% respectively. Efficacy displayed a significant difference between BRCA1 positive and negative subgroup. **Conclusion** BRCA1 expression has a positive relationship with sensitivity to neoadjuvant chemotherapy, and can be used as a good marker for predicting efficacy of chemotherapy and guiding to establish reasonable treatment plan.

Key words Breast cancer; BRCA1 gene; Neoadjuvant chemotherapy; Chemotherapy sensitivity

乳腺癌是全世界女性最常见的恶性肿瘤之一,已成为世界范围的公共卫生问题^[1]。大约 5% ~ 10% 的乳腺癌病例为遗传性乳腺癌,乳腺癌易感基因 1 (breast cancersusceptibility gene - 1, BRCA1) 的胚系突变是最重要的遗传易感因素^[2]。BRCA1 基因参与细胞周期调控、基因转录调节, DNA 损伤修复及凋亡等多种细胞活动,具有抑制细胞生长功能,在维持基因组稳定性中起重要作用,其表达的缺失,可能导致肿瘤细胞对一些化疗药物耐药^[3]。本研究同过本研究采用免疫组化技术检测了乳腺癌中 BRCA1 的表达情况,并分析了其表达情况与新辅助化疗疗效之间的关系。

材料与方法

1. 一般资料:筛选昆明市第一人民医院 2011 年 4 月 ~ 2014 年 4 月乳腺癌 111 例。入组条件:①均为女性,患者年龄 27 ~ 66 岁,中位年龄 44 岁;②乳腺癌患者均首次诊断为原发性乳腺癌,既往无其他肿瘤史,无化、放疗史入组患者一级亲属均无乳腺癌病史;③空芯针穿刺活检病理证实为乳腺浸润性导管癌, Ki-67 均 > 20% (排除 Luminal A 型);④患者均为 II ~ III 期,无法行 I 期手术,或有保乳意愿,除原发肿块较大外 (肿块直径 > 3cm 或体积大于乳房体积的 1/6),均满足保乳条件患者 (肿块距离乳头 > 2cm、未见其他象限的多发病灶、有条件进行术后放疗等);⑤均为无化疗禁忌,能耐受化疗者,并接受 TEC 化疗至少 2 个周期,根据体检、B 超、钼靶等影像学检查进行评估。如化疗疗效评估为完全缓解 (complete response, CR)、部分缓解 (partial response, PR)、稳定 (stable disease, SD),则继续化疗至第 4 疗程,如为进展 (progress disease, PD),则更改治疗方案 (有 2 例两个疗程化疗后出现进展而更换化疗方案,列入进展组,其余患者均完成;第 4 疗程新辅助化疗);⑥入组 BRCA1 基因扩增 57 例,未扩增 54 例。

基金项目:云南省教育厅科学研究基金资助项目 (2011c089)

作者单位:650011 昆明市第一人民医院乳腺科 (张勇), 试验中心 (叶俊松)

2. 方法: (1) BRCA1 检测: 所有标本常规 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μ m 连续切片, 石蜡包埋。二甲苯脱蜡, 乙醇逐步水化。微波抗原修复, SP 免疫组化染色。按说明书步骤操作。阴性对照用 PBS 代替一抗, 用已知的 BRCA1 表达阳性的癌组织切片做阳性对照。(2) 化疗方案: 所有患者均接受 TEC (多西他赛 75mg/m²、环磷酰胺 500mg/m²、表柔比星 80mg/m²) 方案化疗至少 2 个周期, 其中 4 例因严重骨髓抑制而减少剂量。

3. 结果判定: (1) 癌组织 BRCA1 表达判定标准: 以细胞核出现棕黄色颗粒为表达阳性, 阳性细胞数 < 10% 为“-”, 10% ~ 25% 为“+”, 25% ~ 75% 为“++”, > 75% 为“+++”。(2) 新辅助化疗疗效判定标准: 第 4 疗程化疗结束后 2 周, 根据临床检查、B 超、钼靶等影像学检查, 按 WHO 标准进行评价: CR: 临床及影像学检查未发现肿瘤残留; PR: 肿瘤最大径减少 > 30%; SD: 介于 PR 和 PD 之间; PD: 肿瘤最大径增加 > 20%。

4. 统计学方法: 各种临床参数及化疗间的比较为 χ^2 检验及 Fisher's 确切概率法, 采用 SPSS 10.0 统计学软件进行分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 乳腺癌组织 BRCA1 表达相关临床资料的关系: 2 组临床资料与 BRCA1 的表达情况见表 1, 2 组患者是在是否绝经、淋巴结转移、临床分期、等方面无明显差异 ($P > 0.05$), 而在组织学分级有明显差异: BRCA1 高表达者组织学分级高, 低表达者分级较低 ($P = 0.03$)。

表 1 乳腺患者临床资料与 BRCA1 表达 [n(%)]

临床资料	BRCA1 高表达	BRCA1 低表达	χ^2	P
<i>n</i>	57	54		
是否绝经				
是	23(40.3)	21(38.9)	0.02	0.15
否	34(59.6)	33(61.1)		
淋巴结转移				
阳性	30(52.6)	28(51.8)	0.01	0.15
阴性	27(47.4)	26(48.1)		
临床分期				
II	22(38.6)	18(33.3)	0.33	0.13
III	35(61.4)	36(66.7)		
组织学分级				
I ~ II 级	22(38.6)	30(55.6)	6.56	0.03
III 级	35(61.4)	24(44.4)		

2. 乳腺癌组织 BRCA1 表达与相关病理指标的关系: 乳腺癌组织 BRCA1 表达与 TOP - II 无关, BRCA1 高表达者 ER、PR 阳性率 (63.1%) 比 BRCA1 低表达者 (55.6%) 较高, 但差异无统计学意义 ($P = 0.06$)。而与 Her - 2 表达呈正相关: Her - 2 表达阳性者

BRCA1 阳性表达率高 (39.2%), Her - 2 表达阴性者 BRCA1 表达率低 (29.3%), 差异有统计学意义 ($P = 0.03$), 详见表 2。

表 2 BRCA1 表达与相关病理指标关系 [n(%)]

病理指标	BRCA1 阳性	BRCA1 阴性	χ^2	P
<i>n</i>	57	54		
ER (PR)				
阳性	37(63.1)	28(55.6)	1.95	0.06
阴性	20(36.8)	26(44.4)		
TOP - II				
阳性	32(58.3)	34(63.0)	0.54	0.12
阴性	25(41.7)	20(37.0)		
Her - 2				
阳性	25(39.2)	15(29.3)	3.91	0.03
阴性	32(60.8)	39(70.7)		

3. 乳腺癌组织 BRCA1 表达与新辅助化疗效的关系: BRCA1 高表达组患者经新辅助化疗完全临床缓解率、部分缓解率、稳定率、进展率分别为 24.6%、70.1%、5.2%、0%。而 BRCA1 低表达组分别为 9.2%、55.6%、31.5%、3.7%。高表达组和低表达组对同一新辅助化疗反应有统计学差异: 高表达者对化疗敏感度高, 低表达者对化疗敏感度低 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 BRCA1 表达与新辅助化疗敏感度关系 [n(%)]

BRCA1	<i>n</i>	完全临床缓解率	部分缓解率	稳定率	进展率
+	57	14(24.6)	40(70.1)	3(5.2)	0(0)
-	54	5(9.2)	30(55.6)	17(31.5)	2(3.7)
χ^2		2.15	1.90	5.65	1.05
P		0.02	0.04	0.006	0.23

讨 论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 我国每年女性乳腺癌发病 16.9 万, 是女性第 2 位最常见恶性肿瘤, 而在部分地区及城市已成为发生率最高的女性恶性肿瘤^[4]。乳腺癌的发生、发展是一个多因素、多基因相互作用、相互影响的多步骤、多阶段的复杂生物学过程。20 世纪 90 年代, Kennedy 等^[5]用连锁分析 (linkage analysis) 方法确定了 17q21 上有某个基因与乳腺癌的发生有关, 并将其命名为 BRCA1。近年来对乳腺癌的研究, 证实至少存在 BRCA1 和 BRCA2 两种乳腺癌遗传易感基因, 并且同为抑癌基因。BRCA2 能参与细胞周期调控, 胚胎生长发育, DNA 损伤修复及转录调控等生命活动。而对 BRCA1 的研究相对更为深入及透彻。据统计, BRCA1 在散发性乳

腺癌患者中很少突变,但是 BRCA1 后天的失活已经被证实散发性乳腺癌中起着重要的作用,有 4% ~ 5% 的乳腺癌与 BRCA1 基因异常相关,其中遗传性乳腺癌比例达到 40% ~ 50%^[6]。作为抑癌基因, BRCA1 对肿瘤生长起负性调节作用,在 DNA 修复中起重要作用,维持基因组的完整,如装配有丝分裂纺锤体,中心体的复制,细胞周期的调控,以及 DNA 双链断裂中染色体的重建。同时在转录活化和转录抑制、调节细胞周期、复制中心体中均发挥作用。有研究显示:BRCA1 在正常乳腺、异型增生、原位癌、及浸润性癌的表达呈递减趋势,表明 BRCA1 作为一种抑癌基因同时也参与散发性乳腺癌的发生和发展,并可能成为临床诊断和判断预后的一个有用指标^[7]。

乳腺癌是一种全身性疾病,目前乳腺癌的治疗趋势是一个多种治疗方法的综合治疗,包括手术、化疗、放疗以及生物学治疗等,其中全身化疗占有重要地位。对于一些无法一期手术的患者,采用新辅助化疗(术前化疗)的方法进行治疗,其疗效至少不低于与传统化疗,同时患者新辅助化疗的疗效也可以作为患者预后的判断,化疗疗效较好的患者其总生存率(OS)及无病生存率(DFS)均明显优于化疗效果差者^[8]。但也有相当一部分患者对新辅助化疗不敏感。对于新辅助化疗疗效的预测,国内外专家研究者进行了许多研究,近来的研究证实,基于雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)状态、人类表皮生长因子受体(Her-2)基因过表达或扩增以及 Ki-67 表达情况将乳腺癌分为乳腺导管 A 型(luminal A)、乳腺导管 B 型(luminal B)、Her-2 阳性型和基底细胞样型(三阴性),能较好地预测预后并指导乳腺癌的个体化治疗^[9]。同时,国内外对乳腺癌化疗药物敏感度也进行了大量的研究及临床实验,也取得了一些成果,并得到了临床验证。其中蒽环类药物对 TOP-II 阳性患者的治疗效果、铂类对三阴性乳腺癌的敏感度等,也得到公认^[10]。BRCA1 能消除一系列 DNA 损伤剂引起的凋亡表型,并诱导抗微管药物的作用,增强其疗效,如紫杉醇等^[11]。而同时也有研究证实, BRCA1 突变导致表达抑制,增加不成熟姐妹染色体分离比例,随后破坏,细胞也就失去纺锤体检查点的标志,从而显示出对紫杉醇的耐药。

此项研究对入组乳腺癌患者的 BRCA1 进行检测,并根据 BRCA1 是否扩增进行分组,分别给予同一含紫杉醇的化疗方案(TEC)进行相同疗程新辅助化

疗后,由此得出结论, BRCA1 基因表达水平高的患者总体对化疗敏感度好(完全临床缓解率、部分缓解率均显著高于低表达者),反之表达水平低的患者总体敏感度差。并可以在此基础上进行深入的研究进一步证实,在乳腺癌患者的化疗中, BRCA1 可能作为一个新的预测乳腺癌新辅助化疗敏感度,尤其是含紫杉醇类的化疗方案的独立指标,使乳腺癌患者治疗更有针对性。

综上所述, BRCA1 结构和功能的异常与乳腺癌的发生密切相关,同时可能与化疗疗效有关,随着对乳腺癌的发生、发展及化疗药物作用机制研究的进一步深入。能够让我们更好地利用这些机制,为乳腺癌的个体化治疗提供一定的指导,有利于采用更合理的治疗方法,进一步提高乳腺癌患者的生存率,改善生活质量,并节约医疗资源。

参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1): 10-29
- 2 Pruthi S, Gostout BS, Lindor NM. Identification and management of women with BRCA mutations or hereditary predisposition for breast and ovarian cancer [J]. Mayo Clin Proc, 2010, 85(12): 1111-1112
- 3 Kriege M, Jager A, Hooning M J, et al. The efficacy of taxanechemotherapy for metastatic breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers [J]. Cancer, 2012, 118(4): 899
- 4 张敏璐, 黄哲宙, 郑莹. 中国 2008 年女性乳腺癌发病、死亡和患病情况的估计及预测 [J]. 中华流行病学杂志, 2012, 33(10): 1049-1051
- 5 Kennedy RD, Quinn JE, Mullan PB, et al. The role of BRCA1 in the cellular response to chemotherapy [J]. Natl Cancer Inst, 2004, 96(22): 1659-1668
- 6 Struwing JP, Hartge P, Wacholder S, et al. The risk of p53 mutation associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews [J]. N Engl J Med, 1997, 336(20): 1401-1408
- 7 亚威, 徐广涛, 吕仕才, 等. am23、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
- 8 Fuzhong T, Nan L, Jiajia G, et al. Clinical significance of the relationship between expression of survivin and effects of neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2008, 35(8): 1319-1323
- 9 Ciarrocca M, Gradishar W. New molecular classifications of breast cancer [J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(5): 303-313
- 10 王佳玉, 徐兵河. HER-2 和 Top-II α 可作为乳腺癌化疗疗效的预测因子 [J]. 中国医科大学学报, 2011, 40(5): 462-464
- 11 Ciarrocca M, Gradishar W. New molecular classifications of breast cancer [J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(5): 303-313

(收稿日期: 2014-05-05)

(修回日期: 2014-05-26)