

ER、PR、Her-2 与 VEGF 在乳腺癌组织中的表达及其相互关系的研究进展

张玉洲 赵芳 徐高磊 江飞 孙少霖 马守霞 肖华

摘要 乳腺癌标志物雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人表皮生长因子受体 2(Her-2)、血管内皮生长因子(VEGF)在乳腺癌早期诊断、普查、治疗、复发、转移、预后等方面都有重要的意义。三阴性乳腺癌(ER、PR、Her-2 均为阴性)因具有特殊的生物学行为及临床病理特征,故对常规治疗疗效欠佳,且预后较差。VEGF 是一种重要的血管生成刺激因子,目前,以 VEGF 为靶点的抗血管化治疗已进入临床试验阶段,是治疗乳腺癌的最新方法,其中人工合成的 VEGF 单克隆抗体-贝伐单抗,将可能成为临床治疗三阴性乳腺癌的一个新靶点。

关键词 乳腺癌 ER PR Her-2 血管内皮生长因子

中图分类号 R737.9

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.02.008

乳腺癌(breast cancer)是妇女最常见的恶性肿瘤之一,严重威胁人类的健康和生命,占总癌症患者中的 23%,在 14~54 岁女性癌症中,乳腺癌是引起死亡的第一大原因^[1]。随着医疗水平的不断提高,在乳腺癌诊断研究方面有了很大的进步,但如何准确全面评估乳腺癌患者的预后,为制定最佳临床治疗方案提供可靠的理论依据,目前还缺乏报道。国外研究发现,乳腺癌患者雌激素受体(estrogen receptor, ER)和孕激素受体(progesterone receptor, PR)均为阴性,则预后较差,这提示检测 ER 和 PR 的表达情况,对于判断乳腺癌的预后具有重要参考价值^[2]。人表皮生长因子受体 2(Her-2/neu)在乳腺癌患者中有 20%~30% 的过表达现象,对乳腺癌的预后、治疗有重要意义。三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)即为雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和人表皮生长因子受体 2(Her-2)均阴性表达的乳腺癌,是一种独立、特殊的临床病理类型,侵袭性较强、预后差^[3]。目前, TNBC 的研究已逐渐发展成为国内外乳腺癌临床科研的新热点。

1971 年, Folkman 首先提出肿瘤的生长依赖新生血管的生成,即肿瘤血管生成概念,如果没有血管生成,则实体瘤的生长不会超过 1mm³,说明肿瘤的生长、侵袭与转移在很大程度上依赖于血管生成^[4]。

关于肿瘤血管生成的分子机制,目前尚未形成定论,但先前研究已证实有数十种促血管生成、抑血管生成的因子参与其中,而血管内皮生长因子(VEGF)被认为可能是最强烈的促血管生成因子,在乳腺癌中也具有重要的预后价值^[5]。VEGF 在机体各器官系统肿瘤中研究较广泛,其人工合成的 VEGF 单克隆抗体——贝伐单抗,目前被认为是最成熟的阻止血管生成的药物。贝伐单抗是一种针对血管内皮生长因子的重组人源化单克隆抗体,含有人类 IgG 片段(93%)及鼠源结构(7%),其轻链可变区由鼠源部分构成,能够特异性地与 VEGF 相结合,阻碍 VEGF 与内源性 VEGFR 的结合,抑制其生物学活性,有效减少新生血管形成,从而达到抑制肿瘤生长的目的^[6]。本文将对 ER、PR、Her-2 与 VEGF 在乳腺癌组织中的相互关系做简要综述,并探讨其成为三阴性乳腺癌临床治疗靶点的可能性,为全面判断乳腺癌预后、更好地实现个体化治疗提供新的指标与方案。

一、ER、PR、Her-2 概况

1. 雌激素受体(estrogen receptor, ER): 乳腺的正常生长发育、细胞增生均受雌激素与孕激素影响,在正常的乳腺组织中,存在有 ER、PR 表达,能够调节乳腺组织细胞生长与分化。1971 年,研究者发现在部分乳腺癌细胞中,存在雌激素受体,如果患者体内雌激素受体阳性,再给予雌激素治疗,则促进肿瘤细胞的生长发育;若切断雌激素来源,就会有好的治疗效果。而雌激素受体阴性的患者,切断雌激素来源后,并没有明显疗效,这表明 ER 在乳腺癌中的过表达同

基金项目:开封市科技计划发展项目(20120318)

作者单位:475000 河南省开封市妇产医院(张玉洲、赵芳、江飞、孙少霖、马守霞、肖华);450000 郑州大学基础医学院(徐高磊)

乳腺癌的发生存在一定的相关性^[7]。ER 是核受体蛋白超家族中的重要成员之一,主要作用是调节癌变基因与肿瘤抑制基因的表达,从而诱导或抑制肿瘤的发生、发展。如 ER 基因发生突变,也可能会导致乳腺癌,其可能机制是突变后的 ER 对雌激素的敏感度显著增强,导致细胞过度增生,诱发乳腺癌发生^[8]。

体内的雌激素与雌激素受体(ER)结合,调节许多靶器官组织的生长、分化及其功能。乳腺、子宫中都表达有 ER α 、ER β ,ER α 分布在第 6 条染色体上,而 ER β 位于第 14 条染色体上,传统观念上,认为雌激素通过单一受体 ER α 发挥主要的生物学效应,但通过对 ER β 的深入研究,惊奇的发现 ER 与乳腺癌有着微妙的关联^[9]。随着分子生物学技术的不断进步,研究者认为雌激素有可能通过 ER α 、ER β 信号途径,直接作用于乳腺上皮,研究证明,乳腺组织中同时有 ER α 、ER β 表达,而 ER β 在人乳腺癌组织中表达降低,甚至消失^[10]。Speirs 等采用免疫组化方法 RT-PCR 从 mRNA 水平、受体蛋白方面研究证实,ER α 、ER β 在人体的正常乳腺组织中都有表达,且 ER β 有可能是正常乳腺组织的“优势受体”^[11]。另外,如果 ER α mRNA 表达水平上调,则会促使转移生长因子 α (TGF- α) 表达上升,进一步促使肿瘤发生;ER β mRNA 表达水平下调,则对 ER α 的抑制作用就会有所减弱,肿瘤细胞对雌激素的敏感度增加,导致肿瘤的发生^[12]。

2. 孕激素受体 (progesterone receptor, PR): 乳腺癌雌激素受体、孕激素受体是性激素受体,也存在于正常的乳腺上皮细胞,属于核受体超家族中的一类甾体激素受体。孕激素受体是体内的雌激素和雄激素受体相结合,相互诱导形成的产物^[13]。人体内的乳腺细胞,其生长、发育的调节依赖于雌激素和孕激素的周期性改变,而孕激素的作用需要雌激素的运动,即雌激素进入细胞内与受体结合后,会形成一种激素-受体复合物,再逐渐移向核内,引发基因转录,进而合成新的蛋白,包括 PR^[14]。因此,可以认为 PR 的合成必须有雌激素作为启动,PR 的合成接受 ER 的控制和调节,如缺乏 ER,则不能够合成 PR,说明 PR 的表达证明了细胞内 ER 的功能机制的完整性,是确定雌激素反应途径完整性的典型标志,故可认为 PR 的出现证明了 ER 功能机制的完整性,PR 在孕激素存在的前提下,能够显著抑制乳腺癌细胞株的生长、发育,进而抑制肿瘤细胞浸润、转移。

3. 人表皮生长因子受体 2 (Her-2): Her-2 基

因又称之为 Her-2/neu 基因或 C-erbB2 基因,1985 年,Her-2 就被确认为 v-erb-B2 相关的原癌基因。在正常组织细胞中,Her-2 的表达、功能尚不十分清楚,但是在乳腺癌患者中,通过对其发病机制、临床预后、转移方面的详细研究,发现 Her-2 的基因扩增、蛋白的过表达始终贯穿于乳腺癌的发生、发展进程中,尤其是 Her-2 基因的单克隆抗体——Herceptin,更是在临床上得到了广泛的应用^[15]。Her-2/neu 基因最早是起源于乙基亚硝脒引起的大鼠神经母细胞瘤株中,随着对 Her-2 基因的深入研究,大量研究表明该基因与机体多种恶性肿瘤有着密切的关系,特别是乳腺癌的发生、发展^[16]。Her-2 诱导肿瘤发生的基本机制是由 Her-2/neu 基因扩增所引起,在单个上皮细胞内,连续产生多于正常的两个基因拷贝,促使 Her-2/neu 基因转录增加,造成 Her-2 mRNA 水平显著升高,与此同时,Her-2 蛋白合成逐渐增加致使细胞表面过度表达。

4. 三阴性乳腺癌: 乳腺癌属一种异质性疾病,随着对其肿瘤生长、临床进展分子机制研究的深入,发现存在着不同生物学行为的乳腺癌亚型。三阴性乳腺癌 (TNBC) 即为雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR)、人表皮生长因子受体 2 (Her-2) 均阴性表达的乳腺癌,占全部乳腺癌总数的 10% ~ 20%,主要发生于绝经前年轻女性^[17]。研究结果显示,种族不同,其 TNBC 发病比例完全不相同,其中,非洲裔美国妇女比例较高约 39%,而韩国三阴性乳腺癌比例是 14.7%,日本为 15%^[18]。Cleator 等^[19]采用 cDNA 微阵列技术,对乳腺癌患者基因表达特征进行全面分析后,将乳腺癌分为正常乳腺样型、管腔 A 型、管腔 B/C 型、基底细胞样型、Her-2 过表达型共 5 种亚型,大多数研究者认为,基底样乳腺癌与 TNBC 具有很多相似的生物学特性,但并非完全相同。

TNBC 具有特殊的自身生物学行为,临床进展较快且生存周期短,且预后较其他类型乳腺癌差。目前,针对于三阴性乳腺癌的治疗,缺乏最佳治疗方案,一般采用常规标准治疗,早在 1978 年,回顾性分析研究表明,与其他类型的乳腺癌相比,TNBC 对化疗有较高的敏感度,但由于其潜在的耐药机制,临床上一一般采用多药联合和序贯化疗,如环磷酰胺 + 甲氨蝶呤 + 5-FU、阿霉素 + 环磷酰胺序贯紫杉醇、紫杉类 + 卡铂等^[20]。TNBC 不表达 ER、PR,故不能针对这些靶点采取治疗,但 EGFR 在三阴性乳腺癌中是过度特异性表达的,达到 54%,目前已研发了大量的靶向药

物,如贝伐单抗、特罗凯、易瑞沙、格列卫、拉帕替尼、达沙替尼(BMS-354825)等,大部分试验仍在进行中^[21]。达沙替尼是一个口服的、小分子多靶点激酶抑制剂,是目前研究较成熟的 Src 抑制剂,另外,达沙替尼还可抑制三阴性乳腺癌细胞 c-Kit 表达,将达沙替尼用于治疗 TNBC 已进入临床试验阶段^[22]。

二、VEGF 概况

1. VEGF:迄今为止,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)被认为是功能最强、作用最直接、显著促进血管内皮细胞分裂增生的生长因子。早在 1989 年, Ferrara 等^[23]首次在牛垂体滤泡星状细胞体外培养液中,分离纯化出来一种糖蛋白(即 VEGF),不仅是内皮细胞的特异性有丝分裂原,也是一种血管通透性诱导因子。目前,研究发现 VEGF 家族共包含 5 大成员: VEGF(也称为 VEGF-A)、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、PGF(胎盘生长因子),5 大成员均与血管发育、生成密切相关,而 VEGF-C 还与淋巴管内皮生成有关联。VEGF 是一种高度选择性、特异性的血管内皮细胞有丝分裂原,在体外能够诱导内皮细胞增生、迁移,抑制内皮细胞凋亡;在体内, VEGF 在血管生成中起着举足轻重的作用,促进血管生成、增强血管渗透性^[24]。

2. VEGF 与乳腺癌:乳腺癌患者的预后,直接关系到患者的生活质量,也备受临床医生的重视。除了传统的预后指标,如临床分期、腋窝淋巴结状况、雌激素受体等,研发了一些新的指标,如肿瘤增生标志物、原癌基因活性、新生血管活性,目前还处于初步探索之中。近些年来,血管生成活性逐渐发展成为研究新热点,其中,生血管因子的表达水平,是评价生血管活性强度的良好指标。在与乳腺癌生长、发展、转移相关的众多生血管因子中,其表达量最高的是 VEGF。1991 年, Weidnor 等率先提出在乳腺癌组织中,肿瘤血管生成同转移密切相关,自此以后,经过学者的不断研究,发现至少 10 余种促进血管生成活性物质,尤其以 VEGF 研究较广泛^[25]。

Toi 等^[26]在研究浸润性乳腺癌组织过程中,发现 VEGF 蛋白的表达水平与乳腺癌血管生成、早期的复发有一定关联。Brown^[27]研究发现,乳腺癌组织内的血管内皮细胞,高表达 VEGF 受体 FLT-1、KOR。因此, VEGF 在乳腺癌血管生成过程中扮演着重要的角色。Manders 等对 574 例淋巴结阴性,且未行全身辅助治疗的乳腺癌患者采用 EUSA 法检测,发现 VEGF 是乳腺癌中一个独立的预后因素。Foekens 等研究认

为,针对晚期乳腺癌患者,检测癌组织中 VEGF 蛋白含量,对其治疗效果有预示价值。

三、ER、PR、Her-2、VEGF 之间的相互关系

临床上如何确定乳腺癌患者的手术方式、辅助化疗方案、判断乳腺癌的预后,主要根据 TNM 分期、ER、PR、Her-2 来决定的。根据 ER、PR、Her-2 在乳腺癌组织中的不同表达,将其分为导管 A 型(ER+、PR+/-、Her-2-),导管 B 型(ER+、PR+/-、Her-2+), TNBC 型(ER-、PR-、Her-2-)、Her-2 型(ER-、PR-、Her-2+)。随着临床上 Her-2 过表达型靶向药物的不断应用,虽然乳腺癌的预后较前有所好转,但 TNBC 由于缺少多种内分泌治疗、靶向治疗药物,所以预后仍较差。Her-2 基因引发乳腺癌生物学特征的具体机制还不十分清楚,但体外实验已经证实, Her-2 可引起 VEGF 转录 RNA 及蛋白水平的增加,抑制 Her-2 的药物,如曲妥珠单抗可造成 VEGF 的降低。

ER、PR 是判断患者预后、分子靶向治疗、术后化疗方案的选择的重要指标。研究表明,无论是 ER(+), PR(-)或是 ER(+), PR(+),但 VEGF 受体-2 阳性的患者,他莫西芬治疗均无效。研究观察 44 例乳腺癌患者术前 1 天、术后第 1、3、7、30、120 天血清中血管内皮生长因子水平的变化情况,发现同 VEGF 水平降低组相比较,升高组中的 ER 表达明显降低,但 Her 表达则明显高于降低组。目前,在编码 VEGF 的基因中,意外发现了功能性雌激素反应序列,说明雌激素水平能调节人体乳腺癌细胞 VEGF 分泌量,体外实验中,也已证实雌激素、孕激素能刺激 VEGF mRNA 及其蛋白表达。在 20%~30% 的乳腺癌患者中,发病机制与 Her-2 基因的扩增及过表达与有关, Her-2 的过表达说明乳腺癌预后较差,并导致 VEGF 表达增多。

由于 TNBC 中 ER、PR、Her-2 均阴性表达,缺乏多种内分泌治疗、靶向治疗的靶点,虽然 TNBC 相对于其他类型乳腺癌来讲,对化疗药物较为敏感,但预后仍较差。目前,针对 TNBC 的靶向治疗,做了大量的临床研究,主要有血管生成抑制剂、多聚腺苷酸酶抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂等,特别是血管生成抑制剂——贝伐单抗,美国食品及药物监督管理局已于 2008 年批准贝伐单抗用于转移性乳腺癌的治疗。随着基础医学、分子生物学、临床医学研究的进步,也将为乳腺癌患者的预后带来更多有价值的参考指标,为患者提供更具体的个体化治疗方案。

乳腺癌中 VEGF 蛋白的表达,在肿瘤血管生成、生长、转移中起着重要作用,VEGF 作为三阴性乳腺癌治疗靶点的研究正在进行中,但是,血管生成依赖于多种因子参与,而如果单纯针对一种因子治疗,可能会造成其他因子的代偿,且伴随大量抗血管生成药物的临床应用,最终并发症也较多。现在,临床上正在尝试采用持续、低剂量抗血管生成药物治疗乳腺癌,但具体效果有待于进一步验证。

综上所述,虽然 TNBC 的临床表现、病理学特征有助于更好地治疗 TNBC,但它仍然是乳腺癌中的一个特殊亚群,缺乏可靠的内分泌治疗、靶向药物治疗。现有资料显示,采用新辅助化疗达到 pCR 的 TNBC 患者,其预后较好,而有残余癌组织的预后仍然较差。针对 TNBC 的靶向治疗也在深入研究中,其中血管内皮生长因子(VEGF)、BRCA-1、ERGF 的研究最为热门。抗血管生成治疗为乳腺癌患者带来了福音,针对 VEGF 的研究会为三阴性乳腺癌患者开辟一条新的路径。目前,抗 VEGF 药物的研究大多还处于临床初级阶段,其最佳药物剂量、用药时间、配伍方案等还需要众多医学者的一致努力,相信在未来的几年里,针对三阴性乳腺癌的治疗,会不断涌现出更权威的辅助化疗方案及靶向药物,进而提高整个乳腺癌团体的生存率。

参考文献

- 1 Lu SM, Nelson JA, Fischer JP, *et al.* The impact of complications on function, health, and satisfaction following abdominally based autologous breast reconstruction: a prospective evaluation[J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2014,67(5):682-692
- 2 Mohajeri A, Zarghami N, Pourhasan Moghadam M, *et al.* Prostate-specific antigen gene expression and telomerase activity in breast cancer patients: possible relationship to steroid hormone receptors[J]. *Oncol Res*, 2011,19(8-9):375-380
- 3 Schiavon G, Tonini G. Hormone-biological therapy in breast cancer: preclinical evidences, clinical studies and future directions[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2010, 10(1):3-18
- 4 Ghorab MM, El-Gazzar MG, Alsaid MS. Synthesis and anti-breast cancer evaluation of novel N-(guanidinyl)benzenesulfonamides[J]. *Int J Mol Sci*, 2014,15(4):5582-5595
- 5 Zhang SJ, Hu Y, Qian HL, *et al.* Expression and significance of ER, PR, VEGF, CA15-3, CA125 and CEA in judging the prognosis of breast cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(6):3937-3940
- 6 Hu HJ, Li SG, Liu J, *et al.* Detection of the expression of HER2 using CdTe/ZnSe core/shell quantum dots as fluorescence probe in breast cancer cells[J]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 2011,40(7):484-486

- 7 Hooshmand S, Ghaderi A, Yusoff K, *et al.* Differentially expressed proteins in ER+ MCF7 and ER- MDA-MB-231 human breast cancer cells by RhoGDI- α silencing and overexpression[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014,15(7):3311-3317
- 8 Cheong SJ, Jang D, Jeong HJ, *et al.* Reduction of stimulated sodium iodide symporter expression by estrogen receptor ligands in breast cancer cells[J]. *Nucl Med Biol*, 2011,38(2):287-294
- 9 Kim JY, Yi BR, Go RE, *et al.* Methoxychlor and triclosan stimulates ovarian cancer growth by regulating cell cycle- and apoptosis-related genes via an estrogen receptor-dependent pathway[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014,37(3):1264-1274
- 10 Mayer IA, Abramson VG, Isakoff SJ, *et al.* Stand up to cancer phase Ib study of pan-phosphoinositide-3-kinase inhibitor buparlisib with letrozole in estrogen receptor-positive/human epidermal growth factor receptor 2-negative metastatic breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(12):1202-1209
- 11 Baker ME, Uh KY. Evolutionary analysis of the segment from helix 3 through helix 5 in vertebrate progesterone receptors[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2012,132(1-2):32-40
- 12 Sivik T, Jansson A. Progesterone and levonorgestrel regulate expression of 17 β HSD-enzymes in progesterone receptor positive breast cancer cell line T47D[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012,422(1):109-113
- 13 Daltoé RD, Madeira KP, de Carvalho AA, *et al.* Evaluation of the progesterone receptor status in breast cancer using three different antibodies: a comparison by Allred score system[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013,7(1):331-339
- 14 Bessonova L, Taylor TH, Mehta RS, *et al.* Risk of a second breast cancer associated with hormone-receptor and HER2/neu status of the first breast cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011,20(2):389-396
- 15 李文华, 孙奇, 覃希, 等. ER、PR、C-erbB-2、HMFG 在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J]. *山东医药*, 2011, 51(47):54-56
- 16 Verma S, Joy AA, Rayson D, *et al.* HER story: the next chapter in HER-2-directed therapy for advanced breast cancer[J]. *Oncologist*, 2013,18(11):1153-1166
- 17 Costarelli L, Malavolta M, Giacconi R, *et al.* In vivo effect of alpha-bisabolol, a nontoxic sesquiterpene alcohol, on the induction of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice[J]. *Oncol Res*, 2010,18(9):409-418
- 18 Chen TC, Cho HY, Wang W, *et al.* A novel temozolomide-perillyl alcohol conjugate exhibits superior activity against breast cancer cells in vitro and intracranial triple-negative tumor growth in vivo[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014,13(5):1181-1193
- 19 Cleator SJ, Palmieri C, Coombes CR. The ethnic profile of triple-negative breast cancer[J]. *Onkologie*, 2008,31(11):580-582
- 20 Dieci MV, Criscitiello C, Goubar A, *et al.* Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study[J]. *Ann Oncol*, 2014,25(3):611-618

(下转第 74 页)

