

晚期三阴性乳腺癌 *TUBB3* 基因表达及与化疗疗效间关系

孔天东,段方方,王留晏,陈露,周寒丽,刘丹娜,刘萌萌
(郑州市第三人民医院,河南大学附属郑州市肿瘤医院,河南 郑州 450000)

摘要: [目的] 探讨 *TUBB3* 基因在晚期三阴性乳腺癌中的表达情况,及其与化疗疗效关系。[方法] 回顾性分析晚期三阴性乳腺癌患者 97 例,检测患者肿瘤标本 *TUBB3* mRNA 表达量,分析 *TUBB3* mRNA 与临床特征及化疗疗效的关系。[结果] *TUBB3* mRNA 表达水平与患者的年龄、月经状态、转移部位、Ki67 指数及 PS 评分无明显相关性,但与组织学分级相关。*TUBB3* mRNA 表达水平与紫杉类疗效关系密切,低表达者疗效好。Logistic 分析表明三阴性乳腺癌化疗疗效与腋窝转移状态、Ki67 及 *TUBB3* mRNA 表达相关。[结论] *TUBB3* 基因有望成为晚期三阴性乳腺癌化疗疗效的预测基因,值得进一步研究。

关键词: 三阴性乳腺癌; *TUBB3*; 化疗疗效

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1671-170X(2018)03-0195-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.03.B003

Relationship Between *TUBB3* Expression with Chemotherapeutic Efficacy in Patients with Advanced Triple-negative Breast Cancer

KONG Tian-dong, DUAN Fang-fang, WANG Liu-yan, et al.

(The 3rd People's Hospital of Zhengzhou City, The Zhengzhou Tumor Hospital of Henan University, Zhengzhou 450000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the relationship between *TUBB3* mRNA expression and chemotherapeutic efficacy in patients with advanced triple-negative breast cancer. [Methods] Clinical data of 97 patients with advanced triple-negative breast cancer treated with TAC, TP, or TX schemes were retrospectively analyzed. The expression of *TUBB3* mRNA was detected by liquid chip technique, and the relationship between *TUBB3* gene expression and efficacy of chemotherapy was analyzed. [Results] The expression of *TUBB3* mRNA in triple-negative breast cancer patients was not correlated with age, menstrual status, metastatic sites, Ki67 and PS score (all $P > 0.05$); it was positively correlated with histological grade ($P = 0.028$) and negatively correlated with the efficacy of taxanes therapy. Logistic analysis showed that the efficacy of chemotherapy was associated with axillary lymph node metastasis, Ki67 index and *TUBB3* mRNA expression. [Conclusion] *TUBB3* gene expression is negatively associated with efficacy of chemotherapy, which might be used as a predictor for chemotherapy in patients with triple-negative breast cancer.

Subject words: triple-negative breast cancer; *TUBB3*; liquid phase chip

近年来乳腺癌成为女性发病率居第一位的恶性肿瘤。乳腺癌具有高度异质性,目前治疗以分子分型为基础,三阴性乳癌(triple-negative breast cancer,

TNBC) 是一种特殊类型的乳腺癌,指雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和人类表皮生长因子受体 2(Her-2)表达皆为阴性的乳腺癌^[1]。TNBC 具有恶性程度高、侵袭性强等特点,约占所有乳腺癌的 15% 左右^[2]。目前 TNBC 缺乏有效的靶向治疗药物和靶点,晚期 TNBC 仍以化疗为主,疗效较差。紫杉醇为晚期 TNBC 化疗的一线药物,有研究显示微管蛋白

基金项目:郑州市科技攻关计划(20130532)

通讯作者:刘萌萌,副主任医师,硕士;郑州市第三人民医院病理科,河南省郑州市管城区南顺城街 136 号(450000);E-mail: 16136749@qq.com

收稿日期:2017-06-04;修回日期:2017-08-07

β -3 (tubulin beta 3 class III, TUBB3)的表达与抗微管类药物例如紫杉类疗效关系密切^[3]。本研究拟探讨 TUBB3 基因在 TNBC 患者中的表达情况及对化疗的预测意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析我院从 2010 年 5 月至 2015 年 6 月晚期 TNBC 患者 97 例,均为晚期不能手术或者术后复发转移患者,临床有影像学可测量的病灶,PS 评分 0~2 分,年龄 18~75 岁,无明显心肝肾等功能障碍,术后辅助化疗至肿瘤复发至少间隔一年,无恶性胸腔积液或腹腔积液,无严重感染。其中年龄>60 岁 38 例,≤60 岁 59 例;绝经后 63 例,未绝经 34 例;PS 评分 0~1 分 65 例,2 分 32 例(Table 1)。

Table 1 The clinical data of patients

Clinical features	N	Percent(%)
Age(years)		
>60	38	39.2
≤60	59	60.8
Menstrual status		
Menopause	63	64.9
Non-menopause	34	35.1
Histological grade		
I~II	21	21.6
III	76	78.4
Transfer parts		
Armpit	36	37.1
Lung	36	37.1
Liver	35	36.1
Bone	27	27.8
Brain	23	23.7
Ather parts	19	19.6
Ki67 index		
≤14%	39	40.2
>14%	58	60.8
PS Score		
0~1	65	67.0
2	32	33.0

1.2 治疗方案

均采用 TAC、TX、TP 化疗方案,限一、二线化疗使用。本研究共入组 97 例患者,其中使用 TAC 方案 38 例,TP 方案 26 例,TX 方案 33 例。具体剂量为

TAC:PTX 135~175mg/m²,d1,ADM 60mg/m²,d1,CTX 0.8/m²,d1;TP:PTX 135~175mg/m²,d1,DDP 60~80mg/m²,d1;TX:PTX 135~175mg/m²,d1,Xeloda 1.0~1.5/m²,d1~14。均为 21 天为一个周期,PTX 可用 DOC 代替,剂量为 DOC 60~75mg/m²。每位患者至少完成 2 个周期后方可评级疗效,至多不超过 6 个周期。

1.3 疗效评价标准

近期疗效评价以 RECIST 1.1 标准^[4],分为完全缓解(complete remission,CR)、部分缓解(partial remission,PR)、稳定(stable disease,SD)和进展(progressive disease,PD),以 CR+PR+SD 的总例数为有效,以 PD 为无效。

1.4 检测方法

实验所有标本均来自我院病理科的病理标本或者穿刺活检蜡块。采用液相芯片技术测定 TUBB3 基因的表达情况。75%乙醇、缓冲液、裂解液、洗涤液、链霉亲和素-藻红蛋白均由金域检验提供。液相基因芯片系统购自美国 Luminex 公司,超微量核酸蛋白分析仪购自德国赛默飞 Nanodrop。具体步骤:取适量肿瘤组织石蜡切片,加入裂解液,56℃下裂解反应 2h,采用美国 NanoDrop 公司超微量核酸蛋白分析仪检测裂解液中总 mRNA 纯度;55℃震荡孵育前加入缓冲液,支持探针-微球,支持延伸探针;次日置于磁力架上 1min,去上清(磁性微球聚集在底部);洗涤震荡 1min,置于 1min,去上清,重复 3 次;加入扩增延伸探针和标记探针,震荡 1h 50℃;置于磁力架上 1min,去上清,洗涤 2 次;加入链霉素和素-藻红蛋白,震荡 30min 50℃;置于磁力架上 1min,去上清,洗涤 2 次;洗涤震荡 5min,读取结果。仪器微球荧光读数为原始结果,再与基因库乳腺癌人群结果比对,其中<25%为低表达,25%~75%为中表达,>75%为高表达^[5]。

1.5 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件包,计数资料采用 χ^2 检验,TUBB3 基因表达与临床特征关系采用 Logistic 二元回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TUBB3 mRNA 表达情况

TUBB3 mRNA 表达高低与患者的年龄、月经状态、转移部位、Ki67 增殖指数及 PS 评分无明显相关

性(P 值均 >0.05),但与肿瘤组织学分级相关,组织学分级越高,中高表达例数越多($P=0.028$)(Table 2)。

Table 2 TUBB3 mRNA expression and clinical data

Clinical features	N	TUBB3			χ^2	P
		Low	Medium	High		
Age(years)						
>60	38	9	10	19	2.507	0.285
≤60	59	22	16	21		
Menstrual status					2.280	0.320
Menopause	63	17	15	31		
Non-menopause	34	8	13	13		
Histological grade					7.118	0.028
I ~ II	21	11	5	5		
III	76	18	20	38		
Transfer parts					1.970	0.373
Armpit	36	12	15	9		
Non-armpit	61	26	17	18		
Ki67 index					5.044	0.080
≤14%	39	16	8	15		
>14%	58	27	20	11		
PS Score					3.588	0.166
0~1	65	15	28	22		
2	32	13	9	10		

2.2 基因表达与化疗疗效关系

TUBB3 mRNA 低表达组有更高的化疗有效率,较中高表达组有统计学差异(Table 3)。

2.3 化疗药物疗效与其他临床指标及基因关系

将药物疗效作为因变量,将年龄、绝经状态、是否腋窝转移、组织学分级、Ki67 指数、TUBB3 mRNA 表达作为自变量,采用二元 Logistic 回归分析药物疗效与以上各变量之间的关系,用 Wald 检验筛选变量,最终进入回归方程的变量为腋窝转移状态、Ki67 指数及 TUBB3 mRNA 表达水平(Table 4)。

Table 3 Relationship between TUBB3 mRNA expression with chemotherapy curative effect

TUBB3 mRNA	TAC		TP		TX	
	Effective	Progressive	Effective	Progressive	Effective	Progressive
Low	16	2	11	3	13	3
Midium-High	10	11	4	9	7	10
χ^2	7.429		6.238		5.544	
P	0.006		0.013		0.019	

Table 4 Relationship between chemotherapy efficacy with clinical features

Independent variable	B	SE	Wald χ^2	df	P	Exp(B)	95%CI
Axillary etastasis	-5.325	2.012	4.653	1	0.026	1.328	0.732~2.477
Ki67 index	-3.547	1.523	3.656	1	0.078	1.224	0.522~3.015
TUBB3 mRNA	-2.539	1.063	4.105	1	0.004	3.278	1.473~5.258
Constant	-3.417	1.113	8.423	1	0.042	2.011	

3 讨论

三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 是乳腺癌的一种特殊类型,大多数属于 Basal-like 型。TNBC 通常好发于年轻女性,生长快,更容易发生内脏转移,预后较差。该类型乳腺癌不能从内分泌治疗及抗 Her-2 药物中获益,化疗目前仍是 TNBC 的主要治疗方式^[6]。

TNBC 虽然缺乏标准的化疗方案,但紫杉类仍为主要化疗药物,主要包括紫杉醇、多西他赛、紫杉醇脂质体以及白蛋白紫杉醇等。紫杉醇其主要作用机制为:紫杉醇能与微管特异性结合,使微管稳定,抑制微管的正常装配,其主要对 G2 期和 M 期细胞敏感,并有放射增敏作用^[7]。多西他赛作用机制和紫杉醇基本相同,但稳定微管的作用比紫杉醇大 2 倍,并能诱导维管束的装配,不改变原丝数量^[8]。

TUBB3 是一种可使微管不稳定的 β 微管蛋白同型蛋白,其编码的 3 型微管蛋白对抗微管类药物疗效影响较大^[9]。该基因能够抑制正常细胞的有丝分裂并抑制微管合成,是抗微管类药物的主要作用靶点,一些体外研究^[10]证实 TUBB3 低表达可增加抗微管类药物的敏感性,另一些研究发现 TUBB3 过表达与紫杉类耐药有关^[11]。钟科^[12]研究了 TUBB3 和 TOP2A 基因与乳腺癌化疗疗效关系,提示 TUBB3 mRNA 低表达患者的缓解率(57.14%)明显高于高表达者(14.71%);TUBB3 mRNA 低表达、中表达患者的总有效率(92.86%、83.33%)均显著性高于高表达组的(52.94%)。徐振宁等^[3]在胃癌患者的研究中也发现,TUBB3 基因表达与紫杉类药物疗效有关。本

研究显示,TUBB3 mRNA 表达与紫杉类药物疗效关系密切,TUBB3 mRNA 高表达者疗效差,低表达者疗效好,并且在 TNBC 中,TUBB3 mRNA 表达情况与年龄、绝经状态、PS 评分、转移状态、Ki67 指数无明显相关性。

综上所述,紫杉类药物是 TNBC 重要的化疗药物,TUBB3 基因在 TNBC 组织中的表达水平有可能提示紫杉

类药物的疗效,为我们更好更有效地选择靶向药物提供了思路,值得进一步研究。

参考文献:

- [1] Chen WQ,Zheng RT. Incidence,mortality and survival analysis of breast cancer in China [J]. Chin J Clin Oncol, 2015,42(13):688-674.[陈万青,郑荣寿. 中国女性乳腺癌发病死亡和生存状况[J].中国肿瘤临床,2015,42(13):668-674.]
- [2] Hong J,Chen XS,Wu JY,et al. Analysis of the factors influencing adjuvant chemotherapy decisions for triple negative breast cancer[J]. Chin J Oncol,2017,39(1):39-43. [洪进,陈小松,吴佳毅,等.三阴性乳腺癌辅助化疗决策的影响因素分析[J].中华肿瘤杂志,2017,39(1):39-43.]
- [3] Xu ZY,Chen HT,Mao Y,et al. Expression and clinical significance of TS and TUBB3 in gastric cancer tissues[J]. Chin J Cancer Prev Treat,2014,21(5):372-376. [徐振宇,陈海涛,茆勇,等. 胃癌组织 TS 及 TUBB3 表达临床意义分析[J].中华肿瘤防治杂志,2014,21(5):372-376.]
- [4] Khokher S,Qureshi MU,Chaudhry NA. Comparison of WHO and RECIST criteria for evaluation of clinical response to chemotherapy in patients with advanced breast cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2012,13(7):3213-3218.
- [5] Zhu Y. The meaning of drug-related targets in individualized neoadjuvant chemotherapy of breast cancer[D]. Changsha: Central South University,2013. [朱焯.探讨药物相关性靶标在乳腺癌个体化新辅助化疗中的意义[D].长沙:中南大学,2013.]
- [6] Aini S,Tuerxuntai M,Su Y,et al. Expression of MAPK and SNAIL protein in triple negative breast cancer and its clinical significance[J]. Journal of Chinese Oncology, 2017,23(5):405-408. [艾尼·沙塔尔,吐尔逊太·木哈买提,苏毅,等. 三阴性乳腺癌中 MAPK 及 SNAIL 蛋白的表达及临床意义[J].肿瘤学杂志,2017,23(5):405-408.]
- [7] Yu Y,Lu WL,Chen J,et al. Knockdown of PKD1 decreased sensitivity of human salivary gland adenoid cystic carcinoma cell line ACC2 to paclitaxel [J]. Cancer Res Prev Treat,2016,43(6):448-452. [余宇,卢婉鹭,陈娇,等. 蛋白激酶 D1 沉默可降低人涎腺腺样囊性癌细胞 ACC-2 对紫杉醇的敏感度 [J]. 肿瘤防治研究,2016,43(6):448-452.]
- [8] Sha HY,Zheng WW,Guo CY,et al. Analysis on adverse drug reactions induced by docetaxel [J]. Chin Hosp Pharm J,2015,35(6):536-539. [沙红玉,郑文文,郭晨煜,等. 多西他赛所致不良反应报告分析[J].中国医院药学杂志,2015,35(6):536-539.]
- [9] Huang J,Hu HB,Xie YC,et al. Effect of TUBB3,TS and ERCC1 mRNA expression on chemoresponse and clinical outcome of advanced gastric cancer by multiplex branched-DNA liquid chip technology [J]. J Cent South Univ (Med Sci),2013,38(6):582-589. [黄进,胡华斌,谢阳春,等. TUBB3,TS,ERCC1 mRNA 表达对晚期胃癌化疗疗效和预后的影响 [J]. 中南大学学报(医学版),2013,38(6):582-589.]
- [10] Kavallaris M,Burkhart CA,Horwitz SB. Antisense oligonucleotides to class III beta-tubulin sensitize drug-resistant cells to taxol[J]. Br J Cancer,1999,80(7):1020-1025.
- [11] Han Y,Yu D P,Zhou SJ,et al. Associations between clinical characteristics and oncogene expression in patients with non-small cell lung cancer[J]. Genet Mol Res,2014,13(4):8913-8924.
- [12] Zhong K. The clinical and pathological features of TUBB3 and TOP2A patients with advanced breast cancer and its relationship with paclitaxel and anthracyclines drug therapy[J]. Journal of Third Military Medical University, 2016,38(14):1659-1663. [钟科. TUBB3 和 TOP2A 与晚期乳腺癌患者临床病理特征及与紫杉类联合蒽环类药物治疗疗效的关系[J].第三军医大学学报,2016,38(14):1659-1663.]