

# BRCA1 在鼻咽癌中的表达及与预后关系的研究

杨 姣, 蒿艳蓉, 冯国生, 陈甲信, 邓 珊, 庞 强, 秦 俭, 陆合明, 彭露杏, 程金建

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号:81260348); 广西卫生厅重点科研课题(编号:桂卫重 2010037)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院临床肿瘤中心

作者简介: 杨 姣(1986-), 女, 医学硕士, 住院医师, 研究方向: 恶性肿瘤的综合治疗。E-mail: yyvsyy6912@163.com

通讯作者: 蒿艳蓉(1967-), 女, 博士, 副主任医师, 研究方向: 恶性肿瘤临床及基础的研究。E-mail: yanronghao.2008@aliyun.com

**[摘要]** 目的 观察乳癌基因 1 (BRCA1) 在鼻咽癌中的表达水平并分析其表达水平与预后的关系。方法 采用免疫组化 S-P 法检测 100 例患者鼻咽癌组织中 BRCA1 蛋白的表达水平, 阳性细胞计数  $\geq 50\%$  定为 BRCA1 高表达组;  $< 50\%$  及不表达者定为 BRCA1 低表达组。应用  $\chi^2$  检验对 BRCA1 表达水平与临床资料进行关联性分析。结果 100 例患者中 13 例失访, BRCA1 高表达者 37 例 (42.5%), 低表达者 50 例 (57.5%); BRCA1 表达与患者的临床分期 ( $P = 0.383$ )、原发灶退缩情况 ( $P = 0.434$ )、肿瘤发生远处转移 ( $P = 0.055$ ) 无明显关联性, 高表达组生存率稍高于低表达组, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 鼻咽癌组织中 BRCA1 蛋白的表达与临床分期和原发灶退缩程度无关, 但 BRCA1 低表达者更易出现远处转移的趋势。

**[关键词]** 鼻咽癌; 乳癌基因 1; 预后

**[中图分类号]** R 739.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)02-0095-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.02.01

## Research of the relationship between expression of BRCA1 and prognosis in nasopharyngeal carcinoma

YANG Jiao, HAO Yan-rong, FENG Guo-sheng, et al. Center of Clinical Oncology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the protein expression of Breast cancer1 (BRCA1) in nasopharyngeal carcinoma (NPC) and to analyze the relationship of BRCA1 expression with the prognosis. **Methods** The expression of BRCA1 proteins in the tissue of nasopharyngeal carcinoma in 100 patients with NPC was detected by immunohistochemistry. The high BRCA1 expression group included patients whose biopsy specimens showed at least 50% immunopositive tumor cells; The low BRCA1 expression group included patients whose biopsy specimens showed less than 50% immunopositive tumor cells, including negative expression. The correlations between protein expression and clinical data were assessed using the chi-square test. **Results** Thirteen patients failed to be followed-up. And in the rest 87 patients, the high BRCA1 expression group and low BRCA1 expression group included 37 patients (42.5%) and 50 patients (57.5%) respectively. No significant differences were found between the expression of BRCA1 proteins and TNM stage ( $P = 0.383$ ), tumor regression ( $P = 0.434$ ), or distant metastasis ( $P = 0.055$ ). The survival rate in the high BRCA1 expression group was higher than that in the low BRCA1 expression group, but there was no statistically significant differences between two groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** There was no significant correlation between the expression level of BRCA1 and TNM stage and tumor regression in nasopharyngeal carcinoma. However, the low expression of BRCA1 were more prone to metastasis tendency.

**[Key words]** Nasopharyngeal carcinoma; Breast cancer1 (BRCA1); Prognosis

鼻咽癌的治疗首选放疗, 放疗可导致 DNA 双链断裂 (DSB), DNA 修复基因参与 DNA 双链断裂的损伤修复, 未能修复的 DNA 末端可能参与染色体的转录过程中的某些位点从而影响基因的稳定性<sup>[1]</sup>。乳癌基因 1 (breast cancer1, BRCA1) 作为 DNA 修复

基因在 DNA 双链断裂的修复中扮演着主要角色。BRCA1 在乳腺癌中研究较多, 但在鼻咽癌中的研究非常之少。本课题在前期研究基础上<sup>[2]</sup>, 进一步扩大样本量探讨 BRCA1 在鼻咽癌中的表达和预后的关系, 以期临床个体化综合治疗提供预测因素。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 本研究收集 2007-05 ~ 2012-02 经本院临床肿瘤中心确诊入院并采取调强放射治疗的鼻咽癌患者 100 例。入组标准:①年龄 17 ~ 76 岁, PS 评分  $\leq 2$  分。②经病理检查证实为鼻咽癌且尚未进行任何放疗、化疗等抗癌治疗的初治者;③按照鼻咽癌 (AJCC sixth Edition 2002) 分期为 I、II、III、IVa 及 IVb 期的患者;④确诊病例均有保存完好的鼻咽癌石蜡病理标本。⑤所有患者均经鼻咽 + 颅底 + 颈部 MRI 平扫 + 增强的检查证实具有可测量的肿瘤病灶。⑥无合并症及放化疗禁忌者。从患者出院后开始定期随访,随访日期截至 2012-10,100 例患者中 13 例失访。

**1.2 治疗方法** I 和 II 期患者接受单纯根治性调强放射治疗 (IMRT)。III 期、IVa 和 IVb 期患者接受铂类为主同步放化疗。具体 IMRT 方案:所有患者均采用仰卧位,热塑面罩固定头颈肩部,以层厚 2 mm 行 CT 增强扫描定位,数据重建后传入 CMS 或 Pinnacle 计划系统。勾画靶区包括大体肿瘤体积 (GTV),临床靶区 (CTV)、计划靶区 (PTV) 及危及器官,制定 IMRT 计划,鼻咽大体肿瘤体积 (GTV-nx) 处方剂量 68 ~ 72 Gy/30 ~ 32 f;颈部转移淋巴结 (GTV-nd) 处方剂量 68 ~ 72 Gy/30 ~ 32 f;临床靶体积 1 (CTV1) 58 ~ 62 Gy/30 ~ 32 f;临床靶体积 2 (CTV2) 50 ~ 56 Gy/30 ~ 32 f。计划验证合适后进行治疗。所有患者均接受根治性 IMRT。

**1.3 疗效评价方法** 完成调强放射治疗或者同步放化疗后 1 个月,经鼻咽 + 颅底 + 颈部 MRI 平扫 + 增强复查与治疗前 MRI 对比,原发灶退缩的近期疗效评价参照国际上通用实体瘤的疗效评价标准 (RECIST)。

### 1.4 病理实验研究

**1.4.1 病理标本来源** 选取上述病例中剔除失访 13 例后首诊我院病理科存档的鼻咽癌组织蜡块共 87 例。

**1.4.2 检测方法及试剂** 采用免疫组织化学 S-P 法。乳腺癌基因 1 (BRCA1) 兔抗人单克隆抗体浓缩型、S-P 免疫组化检测试剂盒 (兔) 购自北京博奥森公司。

**1.4.3 免疫组化结果评定** BRCA1 阳性物质表达定位于细胞核。由有经验的病理科主治医师在不知道任何临床和病理资料的情况下,通过光学显微镜,每张切片选 5 个高倍视野,每个视野计数 100 个细胞,观察肿瘤细胞免疫组化染色的情况并进行评分。根据阳性细胞百分比进行分组,阳性细胞计数  $\geq 50\%$  定为 BRCA1 高表达组;  $< 50\%$  及不表达者分别定为 BRCA1 低表达组。统计分析时记 (-) 为低表达, (+) 为高表达。

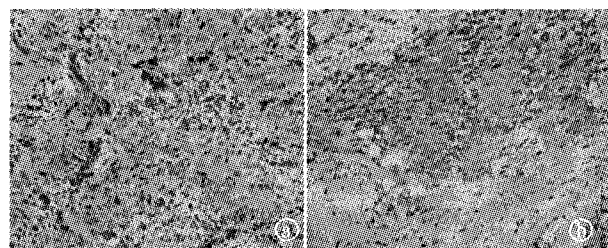
**1.5 统计学方法** 应用 SPSS19.0 统计软件进行统计学处理。偏态分布的计量资料比较采用秩和检验,单向无序计数资料组间比较和关联性分析采用  $\chi^2$  检验。应用 Kaplan-Meier 生存曲线对 BRCA1 表达与生存时间的关系进行单因素分析,Log-rank 检验分析生存曲线的差异。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 原发灶退缩的近期疗效评价** 87 例患者中达到完全缓解 (CR) 25 例 (28.7%), 达到部分缓解 (PR) 60 例 (69.0%), 进展 (PD) 2 例 (2.3%)。

**2.2 随访结果** 2 例患者于治疗后的第 8 个月、第 23 个月局部复发, 26 例患者于治疗后的第 4 个月至第 57 个月出现远处转移, 中位时间 26 个月, 其中肝转移 12 例, 肺转移 9 例, 骨转移 5 例。远处转移率为 29.9%。

**2.3 BRCA1 蛋白表达与临床病理因素的关系** BRCA1 阳性物质表达定位于细胞核。BRCA1 高表达者 37 例 (42.5%), 低表达者 50 例 (57.5%), 见图 1。BRCA1 表达与患者的年龄、性别、民族、病理分型及 AJCC 分期均无明显关联性 ( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 1。



④为 BRCA1 低表达

⑤为 BRCA1 高表达

图 1 鼻咽癌组织中 BRCA1 阳性细胞表达于细胞核。镜下所见 (SP  $\times 400$ )

表 1 BRCA1 蛋白表达与临床病理因素的关系 ( $n = 87$ )

| BRCA1      | 例数 | 中位年龄 (岁)     | 性别    |    | 民族    |    | 病理类型  |     | AJCC 分期 |     |    | 转移情况  |     |
|------------|----|--------------|-------|----|-------|----|-------|-----|---------|-----|----|-------|-----|
|            |    |              | 男     | 女  | 汉     | 壮  | 未分化   | 低分化 | II      | III | IV | 无转移   | 有转移 |
| 高表达        | 37 | 46 (25 ~ 68) | 21    | 16 | 27    | 10 | 34    | 3   | 7       | 17  | 13 | 30    | 7   |
| 低表达        | 50 | 42 (21 ~ 65) | 33    | 17 | 28    | 22 | 46    | 4   | 7       | 18  | 25 | 31    | 19  |
| $\chi^2/Z$ | -  | 0.302        | 0.772 |    | 2.643 |    | 0.001 |     | 1.918   |     |    | 3.695 |     |
| $P$        | -  | 0.584        | 0.380 |    | 0.105 |    | 0.985 |     | 0.383   |     |    | 0.055 |     |

## 2.4 BRCA1 蛋白表达与原发灶退缩程度的关系

该组患者均接受调强放射(IMRT)治疗,按照试验要求治疗结束后 1 个月复查 MRI 平扫 + 增强与治疗前 MRI 比较,100% 的患者原发灶均达到 PR 以上,其中 CR 25 例,PR 60 例,另有 2 例患者出现远处转移但原发灶仍达 PR。经统计学分析,BRCA1 蛋白的表达高低与原发灶退缩程度无关( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 BRCA1 蛋白表达与原发灶退缩程度的关系[n(%)]

| BRCA1  | 例数 | CR       | PR       |
|--------|----|----------|----------|
| 高表达(+) | 37 | 9(24.3)  | 28(75.7) |
| 低表达(-) | 50 | 16(32.0) | 34(68.0) |

注:  $\chi^2 = 0.612, P = 0.434$

2.5 BRCA1 蛋白表达情况与远处转移的关系 BRCA1 表达情况与远处转移无相关性( $P = 0.055$ ),BRCA1 表达者高低与有无转移无关( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 3 BRCA1 蛋白表达情况与远处转移的关系[n(%)]

| BRCA1  | 例数 | 无转移      | 有转移      |
|--------|----|----------|----------|
| 高表达(+) | 37 | 30(81.1) | 7(18.9)  |
| 低表达(-) | 50 | 31(62.0) | 19(38.0) |

注:  $\chi^2 = 3.695, P = 0.055$

2.6 两组生存曲线比较 两组生存曲线随着生存时间的递增,生存曲线从 1 ~ 0 逐渐呈阶梯状下降;高表达(+)组的生存曲线在低表达(-)组之上,且没有交叉,直观表明高表达(+)组的生存率稍高于低表达(-)组,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。约在 50 个月为低表达(-)组 50% 生存时间,是高表达(+)组 73% 生存时间,显示低表达(-)组患者更易出现远处转移的趋势。见图 2。

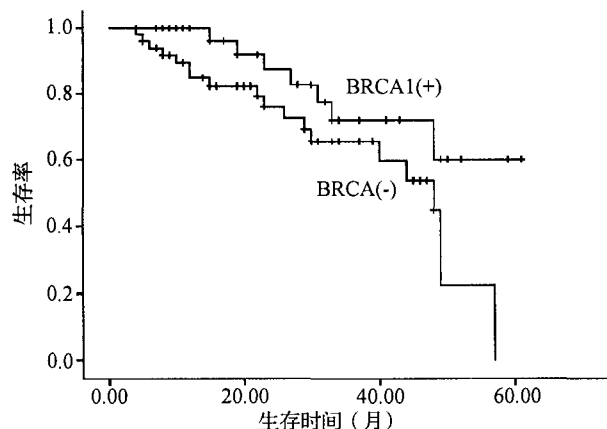


图 2 BRCA1 表达水平与鼻咽癌患者的无转移生存曲线的比较

## 3 讨论

3.1 BRCA1 最早被确定是在 1990 年<sup>[3]</sup>,BRCA1 由 1 863 个氨基酸组成,其 C 末端为一酸性结构域,称为 BRCT(BRCA1 C-terminus),它是含有两个长约 95 个氨基酸残基的串联重复序列,对细胞周期监控与 DNA 损伤修复起重要作用。BRCA1 作为 DNA 修复基因,参与核苷酸剪切修复和同源重组修复。在 DNA 双链断裂的修复中,BRCA1 参与共济失调毛细血管扩张症突变基因(ATM)为主要的同源重组修复,当电离辐射诱导 DNA 损伤时候,信号传导通路中的上游基因 ATM,能够感受到 DNA 损伤信号,并通过催化 BRCA1 进一步激活其下游基因 DNA 修复相关蛋白 51,实现对电离辐射等诱导的 DNA 损伤的修复过程<sup>[4]</sup>。BRCA1 在乳腺癌中被研究得相对较透彻,但 BRCA1 在鼻咽癌中的表达及对预后的影响尚未见报道。

3.2 本研究结果显示,BRCA1 蛋白的表达与临床病理因素及近期疗效评价原发灶消退程度无显著关联性。对于 BRCA1 与放射敏感性的研究目前的报道尚未有统一共识。Ruffner<sup>[5]</sup>等证实 BRCA1 的突变或者缺陷可以提高放疗的敏感性,这主要是由于 BRCA1 可以引起同源重组的失败。但与之相反的,也有学者<sup>[6]</sup>提出,BRCA1 的表达水平与放疗敏感性没有关系。目前认为,放射敏感的肿瘤,接受射线照射后肿瘤消退得较快,近期疗效较好。随着物理学与生物科学理论不断完善及放射治疗技术的快速发展,调强放射(IMRT)<sup>[7]</sup>治疗已成为临床上放疗的主流技术,不仅高剂量区分布的形状在三维方向上与靶区的形状一致,而且靶区(照射野)内各点的剂量可按照预定的要求的进行调整,使治疗的增益比提高。本组接受 IMRT 的患者原发灶消退情况的评价是几乎完全都达到 PR 以上,所以,本组患者 BRCA1 表达与原发灶消退程度无明显关联性可能与目前放疗技术的提高有关。而且目前尚无统一的方法评估放疗的敏感性,不同研究常常采用不同的方法来评估;另一个可能的原因,BRCA1 蛋白参与许多不同而且复杂的细胞程序,而染色体对不同的诱变剂的敏感性不一样,放疗介导的细胞中心体过度复制起着不同的作用<sup>[8]</sup>。这些均有可能导致 BRCA1 在修复 DNA 的过程中产生不同的作用。肿瘤的消退程度与 DNA 修复基因之间有着怎样的关系,还需要更深一步的研究。

3.3 到目前为止,研究报道 BRCA1 的 C 末端突变可能导致同源重组(HR)缺陷,进而导致基因的不

稳定甚至肿瘤的发生。基因的不稳定性,可能是促使肿瘤发生远处转移的一个重要因素。虽然在我们的研究中,没有观察到 BRCA1 的表达水平和无转移生存的关联性( $P = 0.055$ ),但是仍然显示出一种 BRCA1 高表达者可能有较好预后的趋势。这主要是因为高表达 BRCA1 者, DNA 双链断裂的损伤修复能力强,从而更好地维持基因组的完整性,而未能修复的 DNA 末端可能参与染色体的转录过程中的某些位点从而影响基因的稳定性<sup>[1]</sup>。不过,目前 BRCA1 在乳腺癌中研究较多, BRCA1 的表达水平与乳腺癌的预后的关系尚未十分明确, Ruffner<sup>[5]</sup>表明 BRCA1 的表达水平与乳腺癌预后有关, Baeyens 等<sup>[9]</sup>表明 BRCA1 的表达水平与乳腺癌预后无关。本研究观察到 BRCA1 的表达水平和无转移生存率无相关性( $P = 0.055$ ),这可能和我们的样本量较小有关,如果扩大样本量深入研究可能会得到不一样的结果。

综上所述, BRCA1 高表达者可能有较好预后的趋势。但毕竟本研究是一个阴性的结果,分析本研究的不足之处:(1)入选的病例数较少,其中失访了 13 例,可能还不足以达到产生统计学差异的最小样本量。(2)免疫组化的检测有人为因素的可能,使研究结果存在一定的偏倚。因此, BRCA1 对鼻咽癌预后的影响仍有待进一步深入研究。

## 参考文献

- Obe G, Durante M. DNA double strand breaks and chromosomal aberrations[J]. Cytogenet Genome Res, 2010, 128(1-3):8-16.
- Guo Y, Chen JX, Yang S, et al. Selection of reliable reference genes for gene expression study in nasopharyngeal carcinoma[J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31(11):1487-1494.
- Hall JM, Lee MK, Newman B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21[J]. Science, 1990, 250(4988):1684-1689.
- 冯爽,曹建平,朱巍,等.在 DNA 损伤修复信号传导通路中 ATM 介导的 BRCA1 及 RAD51 作用机理的研究[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2006, 24(2):115-119.
- Ruffner H, Joazeiro CA, Hemmati D, et al. Cancer-predisposing mutations within the RING domain of BRCA1: loss of ubiquitin protein ligase activity and protection from radiation hypersensitivity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(9):5134-5139.
- Taghian A, Ramsay J, Allalunis-Turner J, et al. Intrinsic radiation sensitivity may not be the major determinant of the poor clinical outcome of glioblastoma multiforme[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1993, 25(2):243-249.
- 赵充,卢泰祥,韩非,等.139 例鼻咽癌调强放疗的临床研究[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2006, 15(1):1-6.
- Shimada M, Kobayashi J, Hirayama R, et al. Differential role of repair proteins, BRCA1/NBS1 and Ku70/DNA-PKcs, in radiation-induced centrosome overduplication[J]. Cancer Sci, 2010, 101(12):2531-2537.
- Baeyens A, Thierens H, Claes K, et al. Chromosomal radiosensitivity BRCA1 and BRCA2 mutation carriers[J]. Int J Radiat Biol, 2004, 80(10):745-756.

[收稿日期 2013-10-09][本文编辑 黄晓红 韦颖]

## 《国外英文生物医学期刊中文译名对照手册》

### 邮购启事

随着医学科学和信息技术的快速发展,医学学术论文写作和医学期刊编辑出版的标准化、规范化的要求越来越严格。目前我国生物医学药学类期刊已达 1 400 多种,每年所刊发的学术论文数十万篇,但我们在长期的期刊编辑工作中发现,在众多的医学论文中发生引用、参考、著录、编译外文医学期刊期名不全、不规范、不标准、错漏及缩写语不正确等问题较为普遍,严重影响了论文和期刊的学术质量。因此,为了更方便、有效、快捷地使广大的医药卫生科技人员和广大的读者、论文作者、期刊编者全面、正确地掌握和标准、规范使用和参考及著录国外英文期刊及缩写语,我们收集了国外 3 000 多种英文生物医学、药学期刊,对其规范的英文全名、缩写语和中文名称进行了编译,并注明出版(地),按英文字母顺序进行编排,便于读者、论文作者和期刊编者查阅和对照。本书能有效地帮助广大的医学科研、教学、临床业务人员,在校的博士生、硕士生、本科生,医学期刊编辑人员和图书情报信息人员解决在撰写、修改和编辑科研报告、学位论文,学术论文中查阅、参考外文医学期刊不方便,引用、著录不规范、不标准的问题,以提高广大医学业务技术人员学术论文写作的水平和期刊的编辑学术质量。

本书大 32 开本,彩色封面,精美印刷,已由接力出版社出版,定价每册 30 元,由《中国临床新医学》杂志编辑部发行。订阅者请通过邮局直接汇款(书价 30 元,挂号邮费 5 元,共计 35 元)到编辑部订购(请在汇单上注明“购手册”)。款到即发书并开具正式发票。

汇款邮编、单位及地址:530021 广西南宁市桃源路 6 号《中国临床新医学》杂志编辑部

收款人:韦颖