

乳腺癌组织中BCRP的表达与新辅助化疗疗效的关系



张彦收, 刘运江

Correlation between BCRP Expression and Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy

ZHANG Yanshou,LIU Yunjiang

Department of Breast Surgery, Hebei Medical University Fourth Hospital,Shijiazhuang 050011,China

Corresponding Author:LIU Yunjiang,E-mail:lyj818326@126.com

Abstract: Objective To analyze the correlation between the expression of breast cancer resistance protein (BCRP) and efficacy of neoadjuvant chemotherapy. **Methods** BCRP expression in 84 patients of primary breast cancer were investigated by MaxVision™ one step before chemotherapy. Then the efficacy of neoadjuvant chemotherapy and pathological changes of post-chemotherapy surgical specimens was compared. The correlation between the expression of BCRP and efficacy of neoadjuvant chemotherapy was analyzed. **Results** (1)The positive expression rate of BCRP was 71.43% in patients with primary breast cancer. (2) BCRP expression was associated with the clinical efficacy of neoadjuvant chemotherapy. BCRP level in patients with acquired cCR after neoadjuvant chemotherapy was lower than that in SD+PD group and cPR group. BCRP expression between the three groups were significantly different ($\chi^2=9.779,P=0.008$). (3)BCRP expression was associated with the pathological response after neoadjuvant chemotherapy. BCRP expression in group of major histological response(grade of 4-5) was significantly lower than that in group of non major histological response (grade of 1-3)($\chi^2=8.649,P=0.003$). (4)There was significant positive relevance between BCRP expression and the number of axillary lymph node metastases($r=0.518, P=0.000$). **Conclusion** BCRP expression in primary breast carcinoma tissue could predict the clinical efficacy of neoadjuvant chemotherapy and histology effects. There is significantly positive relevance between the expression of BCRP and the number of axillary lymph node metastases. BCRP could be index for efficacy and prognosis judgement after neoadjuvant chemotherapy.

Key words:Breast cancer;Breast cancer resistance protein;Neoadjuvant chemotherapy;Efficacy

摘要: 目的 探讨原发性乳腺癌组织中乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)表达与新辅助化疗疗效的相关性。**方法** 采用免疫组织化学MaxVision™一步法检测84例原发性乳腺癌组织中BCRP的表达,结合新辅助化疗后临床疗效及术后病理组织学Miller&Payne(MP)分级,分析BCRP的表达与新辅助化疗疗效及相关病理指标的相互关系。**结果** (1)原发性乳腺癌组织中BCRP的阳性表达率为71.43%。(2)BCRP的表达水平与新辅助化疗临床疗效有关,新辅助化疗后获得cCR组患者BCRP表达水平明显低于SD+PD组和cPR组,三组间BCRP表达水平的差异有统计学意义($\chi^2=9.779, P=0.008$)。(3)BCRP的表达水平与新辅助化疗后组织学反应有关,组织学显著反应组(病理反应4~5级)BCRP的表达水平明显低于组织学非显著反应组(病理反应1~3级),差异有统计学意义($\chi^2=8.649, P=0.003$)。(4)BCRP的表达水平与新辅助化疗后残余阳性腋窝淋巴结的个数正相关($r=0.518, P=0.000$)。**结论** BCRP在原发性乳腺癌组织中有一定程度的表达,BCRP的表达水平可以预测新辅助化疗的临床疗效及组织学反应,BCRP的表达水平与新辅助化疗后残余阳性腋窝淋巴结的个数正相关,BCRP可以作为判断患者化疗效果及预后指标之一。

关键词: 乳腺癌; 乳腺癌耐药蛋白; 新辅助化疗; 疗效

中图分类号: R737.9 文献标识码: A

收稿日期: 2013-05-26; 修回日期: 2013-08-30
基金项目: 河北省普通高校强势特色学科基金资助项目(冀教字[2005]52)
作者单位: 050011 石家庄, 河北医科大学第四医院乳腺中心 河北省乳腺疾病诊疗中心
通信作者: 刘运江, E-mail:lyj818326@126.com
作者简介: 张彦收(1984-)男, 硕士, 医师, 主要从事乳腺肿瘤诊断治疗的研究

0 引言
肿瘤细胞的多药耐药性(multidrug resistance, MDR)是导致乳腺癌化疗失败的主要原因,乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)作为较晚发现的ATP结合的盒

式转运蛋白超家族（adenosine triphosphat-binding cassette, ABC）成员，在乳腺癌组织中有一定程度的表达，在多药耐药方面有着重要作用。本实验通过检测接受新辅助化疗乳腺癌患者化疗前癌组织中BCRP的表达，探讨其表达水平与化疗临床疗效及术后组织学反应的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集2010年7月—2011年12月河北医科大学第四医院乳腺中心收治的原发性乳腺癌患者84例，均为女性单侧乳腺癌患者，乳房均有临床可评价原发病灶；临床分期Ⅱ~Ⅲ期，其中，Ⅱ期13例，Ⅲ期71例；年龄27~76岁，中位年龄51岁。所有患者的原发病灶在化疗前均经空芯针穿刺活检病理证实为浸润性乳腺癌。

1.2 免疫组织化学染色方法

取空芯针穿刺活检乳腺癌组织石蜡块切片进行免疫组织化学染色，兔抗人BCRP抗体购自美国博奥森生物技术有限公司，免疫组织化学染色采用MaxVision™一步法，免疫组织化学详细步骤参照试剂盒操作说明进行。

1.3 结果判定

BCRP表达情况的判定标准：BCRP的阳性表达部位主要为细胞膜和（或）细胞质，综合考虑阳性细胞在观察细胞中所在的比率和染色的强度进行分析。根据阳性细胞在观察细胞中所占比率计分：阳性细胞≤10%为1分，10%~50%为2分，>50%~75%为3分，>75%为4分。根据染色强度计分：无色为0分，淡黄色为1分，棕黄色为2分，棕褐色为3分。根据上述2项指标的乘积将结果分成4级：0~3分为（-），4分为（+），6分为（++），≥8分为（+++），其中≥6分定义为BCRP阳性表达。本研究用人胎盘组织切片作为阳性对照，PBS代替一抗作为阴性对照。

1.4 新辅助化疗方案的选择

化疗方案选择含蒽环联合紫杉类的2~3联方案，化疗2周期末评价化疗效果，如临床评定为无效（疾病进展或稳定），则更换化疗方案或考虑手术治疗；如临床评定为有效（完全缓解或部分缓解）则继续原方案化疗2周期。化疗4周期末再次评价化疗效果，后行乳腺癌改良根治术。具体化疗方案包括：TA或TE或TEC方案（TA方案为紫杉醇175 mg/m²或多西他赛75 mg/m²+吡柔比星50 mg/m²；TE方案为紫杉醇175 mg/m²或多西他赛75

mg/m²+表柔比星75 mg/m²，TEC方案为多西他赛75 mg/m²+表柔比星75 mg/m²+环磷酰胺600 mg/m²，化疗方案均为每21天1周期）。

1.5 疗效评价

疗效的评价主要是通过临床评价和病理组织学评价两方面进行的。

1.5.1 临床评价 本研究统一采用超声测量法，依据WHO实体瘤疗效评价标准对化疗反应进行评价。临床完全缓解（clinical complete remission, cCR，即肿瘤病灶完全消失），临床部分缓解（clinical partial remission, cPR，即化疗后肿瘤的两个最大横径之乘积缩小50%以上），疾病稳定（stable disease, SD，即化疗后肿瘤的两个最大横径之乘积缩小50%以下或肿瘤增大25%以下），疾病进展（progressive disease, PD，即化疗后肿瘤的两个最大横径之乘积增大25%以上）。病理完全缓解（pathological complete response, pCR，即原发肿瘤及区域淋巴结均无残留浸润性癌细胞，影像学未发现远处转移征象）。其中，cCR+cPR视为有效，SD+PD视为无效，以cCR+cPR计算有效率。

1.5.2 病理评价 所有患者化疗前后癌组织病理切片依据Miller & Payne（MP）分级系统进行评价：将同一病例手术后病理组织切片和化疗前病理组织切片进行对比，根据镜下肿瘤细胞的消退情况，分为5级：1级：细胞总数无变化；2级：肿瘤细胞数量轻微减少，减少比例≤30%；3级：肿瘤细胞数量减少比例介于30%~90%；4级：肿瘤细胞数减少>90%；5级：肿瘤细胞全部消失，无镜下可见浸润癌组织，仅见血管细微间质残留（此间质中常含有巨噬细胞）。导管原位癌亦归属此类。1~3级为组织学非显著反应（non major histological response, NMHR），4级和5级为组织学显著反应（major histological response, MHR）。

1.6 统计学方法

所有数据应用SPSS13.0统计软件处理，BCRP的表达水平与新辅助化疗临床疗效、病理反应的关系采用Kruskal-Wallis秩和检验；以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BCRP在原发性乳腺癌组织中的表达情况

BCRP的阳性着色部位主要分布于肿瘤细胞的胞膜和（或）胞质，呈棕黄色颗粒状，弥漫性或

散在分布,在本研究的84例乳腺癌标本中,BCRP表达(-)及(+)共24例,表达(++)共32例,表达(+++)共28例,乳腺癌组织中BCRP的阳性表达率为71.43%,见图1。

2.2 BCRP的表达水平与乳腺癌新辅助化疗临床疗效的关系

所有患者经新辅助化疗后均行乳腺癌改良根治术。其中,有64例患者全部完成预定4周期术前化疗后行手术治疗,20例患者完成2周期化疗后临床评价为疾病稳定或疾病进展,随后进行了手术治疗。大部分患者经新辅助化疗后,肿块较前明显缩小。依据WHO实体瘤疗效客观评价标准,将所有入组患者分为cCR,共22例,cPR,共37例,pCR 9例;SD+PD共25例。新辅助化疗的总有效率为70.24%,pCR率为10.71%。采用Kruskal-Wallis秩和检验分析不同组间BCRP的表达情况。新辅助化疗后获得cCR组患者BCRP表达水平的平均秩次为29.41,明显低于SD+PD组的48.10,也低于获得cPR组的46.50,三组间BCRP表达水平的差异有统计学意义($\chi^2=9.779, P=0.008$),见表1。进一步分析获得cCR组患者与cPR组的BCRP表达情况,前者BCRP表达水平低于后者,两组相比差异有统计学意义($\chi^2=8.130, P=0.004$)。

2.3 BCRP的表达水平与乳腺癌新辅助化疗后组织病理学反应的关系

依据MP分级系统对所有患者进行病理反应评价,其中病理反应4~5级者36例(42.86%),达到pCR者9例。依据病理反应将所有患者分为组织学显著反应组(4~5级)和组织学非显著反应组(1~3级),就两组患者BCRP的表达进行对比分析。结果显示,组织学显著反应组患者BCRP的表达水平明显低于组织学非显著反应组($\chi^2=8.649, P=0.003$),差异有统计学意义,见表1。进一步分析组织学显著反应组中获得pCR与未获得pCR患者BCRP的表达情况,结果显示,获得pCR患者BCRP

表达水平的平均秩次为12.00,明显低于未获得pCR患者的20.67($\chi^2=7.202, P=0.007$),差异有统计学意义,见表1。

2.4 BCRP的表达水平与新辅助化疗后残余阳性腋窝淋巴结个数的关系

根据术后残余阳性腋窝淋巴结个数,将84例患者分为无淋巴结转移组,共20例,1~3个淋巴结转移组,共22例,4个及4个以上淋巴结转移组,共42例。分析三组间BCRP的表达情况。结果显示BCRP表达水平在三组间差异有统计学意义($\chi^2=25.574, P=0.000$),见表1。采用Spearman进行相关性分析后发现,BCRP的表达水平与新辅助化疗后残余阳性腋窝淋巴结个数呈正相关($r=0.518, P=0.000$)。

2.5 新辅助化疗疗效与不同分子分型乳腺癌的关系

根据化疗前空芯针穿刺标本肿瘤细胞ER、PR、HER2的表达情况将84例乳腺癌患者分为3型,即Luminal型(ER+、PR+/-),HER2+型(ER-、PR-,HER2+),三阴型(ER-、PR-、HER2-)。比较三组不同分子分型乳腺癌新辅助化疗的有效率,结果显示,HER2+型新辅助化疗的有效率高于Luminal型及三阴型($\chi^2=6.211, P=0.045$),差异有统计学意义,见表2。

3 讨论

目前,新辅助化疗是对具有潜在可手术的局部晚期乳腺癌患者的主要治疗方法,通过化疗可以使原发病灶和转移淋巴结缩小达到降期的目的,提高手术切除率和保乳率;并作为体内的药敏实验,及时的进行疗效的评价,调整用药方案;尽早控制体内潜在的微转移灶。但乳腺癌的多药耐药一直影响着新辅助化疗的疗效。BCRP是1998年Doyle等^[1]在MCF-7/AdrVp细胞系中发现的跨膜转运蛋白,Rocchi等^[2]通过免疫组织化学方法证实了BCRP主要分布于细胞膜的表面,主要作用是参与膜内外药物的转运,但不改变药物在细胞

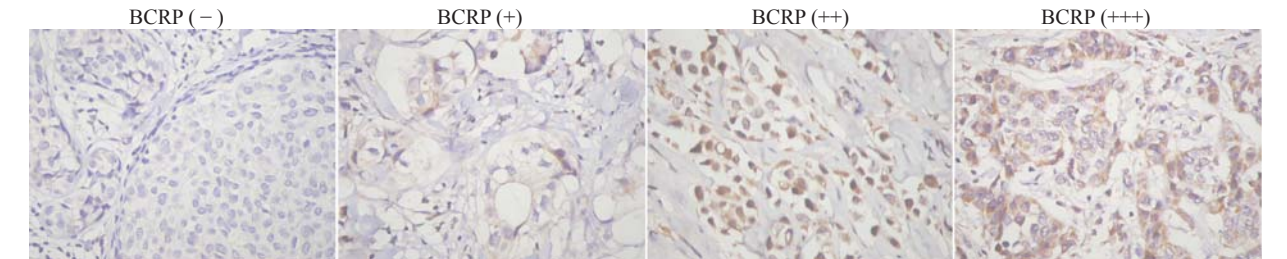


图1 乳腺癌耐药蛋白在浸润性导管癌组织中的表达(SP×40)
Figure 1 BCRP expression in infiltrating ductal carcinoma tissue of breast cancer (SP×40)

表1 乳腺癌耐药蛋白表达水平和化疗疗效及病理指标的相关性

Table1 Correlation of BCRP expression with efficacy of neoadjuvant chemotherapy and pathological indexes

Efficacy and clinic characteristics		BCRP			n	χ^2	P
		- - +	++	+++			
Clinical efficacy	cCR	13	5	4	22	9.779	0.008
	cPR	6	18	13	37		
	SD+PD	5	9	11	25		
Pathological response	MHR	18	9	9	36	8.649	0.003
	NMHR	6	23	19	48		
MHR	pCR	8	1	0	9	7.202	0.007
	Non-pCR	10	8	9	27		
Lymphatic gland	0	13	6	1	20	25.574	0.000
	1-3	7	11	4	22		
	≥4	4	15	23	42		

Notes:NMHR: non major histo logical response; MHR: major histological response; cCR: clinical complete remission; cPR: clinical partial remission; SD: stable disease; PD: progressive disease;pCR: pathological complete response

表2 不同分子分型乳腺癌新辅助化疗疗效对比

Table2 Efficacy of breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy in different molecular subtypes

Molecular subtypes	n	ORR (%)	χ^2	P
Luminal	29	17(58.62)	6.211	0.045
HER2+	30	26(86.67)		
TNBC	25	16(64.00)		

Notes:TNBC:triple negative breast cancer;ORR:objective response rate

内的分布。BCRP可以通过水解ATP供能将细胞内的药物泵出，降低细胞内药物浓度从而导致细胞耐药。BCRP虽然属于ATP结合盒式转运蛋白超家族成员，但从空间结构来看，BCRP仅相当于P-gp分子的一半，它仅有6个跨膜区和1个ATP结合位点，这与典型的ABC转运蛋白不同，因此也被称为不完整转运分子（half transporter）。BCRP mRNA在胎盘和肝脏及小肠黏膜中表达较高，在结肠、胃、卵巢、肾脏及乳腺中呈弱阳性表达^[3]，陈颖欣等^[4]研究显示，BCRP在正常的乳腺组织、乳腺增生、导管上皮非典型增生、导管原位癌和浸润性导管癌中均有表达，且阳性表达率逐步升高，分别为15.4%、25.0%、25.0%、33.3%和42.9%，并且在浸润性导管癌中仅在肿瘤细胞表达。张琼等^[5]研究发现在BCRP阳性表达的14例患者中5-氟尿嘧啶和阿霉素耐药组所占比例明显高于BCRP阴性组，提示BCRP参与了乳腺癌对上述药物多药耐药的形成。目前研究资料已表明，BCRP的表达与白血病、非小细胞肺癌、乳腺癌的临床化疗敏感性有关，但与多耐药基因MDR1编码的P-糖蛋白（P-glycoprotein，P-gp）、多药耐药相关蛋白（multidrug resistance-related protein，MRP）的表达无相关性，提示BCRP的耐药机制与P-gp、MRP存在差异^[6-7]。因此，检测可手术晚期乳腺癌患者BCRP的表达情况，对选择新辅助化疗亦或手术治疗具有重要的

临床指导意义。

本实验84例原发性乳腺癌患者组织中 BCRP 的阳性表达率为71.43%，BCRP 的表达与患者年龄、月经、临床分期无相关性。乳腺癌是一类分子水平上具有高度异质性的恶性肿瘤，组织学形态、临床分期相同，其分子遗传学改变也不尽一致，从而导致肿瘤化疗反应和预后的差别。颜红柱等^[8]研究报道浸润性乳腺癌中 BCRP 的表达与ER呈负相关，本研究虽然发现HER2+型有效率高于Luminal型及三阴型，但未发现HER2+型患者BCRP的表达水平高于Luminal型及三阴型，同样未证实BCRP的表达水平与 ER、PR、p53 及 Ki67 表达水平存在相关性。此外，BCRP的表达水平还与新辅助化疗的疗效和组织学反应呈现一定关系。刘新兰等^[9]研究显示，多耐药基因MDR1编码的P-gp、肺耐药蛋白（lung resistance protein，LRP）和 BCRP 均参与了乳腺癌多药耐药的形成，并且 BCRP 阳性表达率与腋窝淋巴结转移呈正相关，P-gp和BCRP的表达水平可以预测乳腺癌的预后。孙宇萍等^[10]检测60例乳腺癌患者BCRP的表达情况，发现阳性表达率为35%，腋窝淋巴结阳性或免疫组织化学激素受体阳性者BCRP的表达水平要明显高于腋窝淋巴结阴性和免疫组织化学激素受体阴性者（ $P<0.05$ ）。张桂香等^[11]研究发现乳腺癌组织中BCRP mRNA的表达与腋窝淋巴结状况呈正相关（ $r = 0.355$ ， $P<0.05$ ）。本研究中同样发现，BCRP的表达水平与术后腋窝残余阳性淋巴结个数呈正相关，具有统计学差异，与上述研究一致，表明BCRP与乳腺癌的侵袭转移有关，高表达者易发生淋巴结转移。通过新辅助化疗后病理组织学评估，发现乳腺癌组织BCRP的表达水平与临床化疗敏感度有关，组织学显著反应组患者BCRP的表达水平明显低于组织学非显著反应组，表明

BCRP表达水平可以预测化疗效果。

治疗可手术的局部晚期乳腺癌患者，选择合适的治疗方案至关重要，选择不当，患者有可能失去了尽早获得有效治疗的机会，延误了病情。本研究表明BCRP的表达可以作为预测新辅助化疗效果和预后的重要参考指标。高表达者建议尽早进行手术治疗，避免新辅助化疗无效或效果不佳导致的疾病进展，实现新辅助化疗的个体化，提高患者的生存率和生存质量，因此，检测局部晚期乳腺癌患者BCRP的表达，具有重要指导意义。

参考文献：

[1] Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, *et al.* A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998,95(26):15665-70.

[2] Rocchi E, Khodjakov A, Volk EL, *et al.* The product of the ABC half-transporter gene ABCG2 (BCRP/MXR/ABCP) is expressed in the plasma membrane[J]. Biochem Biophys Res Commun,2000, 271(1):42-6.

[3] Ni Z, Bikadi Z, Rosenberg MF, *et al.* Structure and function of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) [J]. Curr Drug Metab,2010,11(7): 603-17.

[4] Chen YX, Li LH, Yang XL, *et al.* Expressions of CK5, CK8 and BCRP in the lesions of mammary gland and its significance[J]. Zhong Liu,2010,30(6):510-4.[陈颖欣,李连宏,杨晓丽,等. CK5、CK8和BCRP在人乳腺病变组织中的表达及其意义[J].肿瘤, 2010,30(6):510-4.]

[5] Zhang Q, Tan XJ, Zheng GP, *et al.* Correlation between the expression of breast cancer resistance protein BCRP and chemotherapy drugs sensitivity[J].Zhongguo Yi Yao Ke Xue, 2012,2(11):12-3,18.[张琼,谭小军,郑国沛,等. 乳腺癌耐药蛋白BCRP表达与化疗药物敏感性的关系[J]. 中国医药科学,

2012,2(11):12-3,18.]

[6] van den Heuvel-Eibrink MM,van der Holt B,Burnett AK, *et al.* CD34-related coexpression of MDR1 and BCRP indicates a clinically resistant phenotype in patients with acute myeloid leukemia (AML) of older age[J].Ann Hematol.2007,86(5):329-37.

[7] Zhang CN, Liu XQ, Han Y, *et al.* Reveral effects of pulsed magnetic fields on breast cancer cell line MCF-7/ADR *in vitro* and *in vivo*[J]. Zhongguo Zhong Liu Lin Chuang,2008,35 (21):1241-3.[张翠宁,刘晓秋,韩英,等.脉冲磁场逆转乳腺癌细胞多药耐药性的作用研究[J].中国肿瘤临床,2008,35 (21):1241-3.]

[8] Yan HZ, Yu HY, Liu HM, *et al.* Expression of drug-resistant protein MRP1 and BCRP in breast cancer and its clinical significance[J]. Di Er Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2011,32(2):216-9. [颜红柱,余宏宇,刘会敏,等. 浸润性乳腺癌中耐药基因蛋白MRP1和BCRP 的表达及临床病理意义[J].第二军医大学学报,2011,32(2):216-9.]

[9] Liu XL, Ge J, Chen P, *et al.* Expression of drug resistance related proteins in breast cancer tissues and its relationship with ER, PR, C- erbB -2 and Prognosis[J]. Ningxia Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2011,33(7):632-5.[刘新兰,葛建,陈萍,等. 乳腺癌组织中耐药相关蛋白的表达与雌激素、孕激素及原癌基因和预后关系探讨 [J].宁夏医科大学学报,2011,33(7): 632-5.]

[10] Sun YP, Wang SB, Chen YX. The prognostic significance of breast cancer resistance protein (BCRP) expression in primary breast carcinoma[J]. Zhongguo Ai Zheng Za Zhi,2004,14(2):123-6.[孙宇萍,王树滨,陈亦欣,等.乳腺癌耐药蛋白在乳腺癌组织中的表达及其与预后的关系[J].中国癌症杂志,2004,14(2):123-6.]

[11] Zhang GX, Liu XL Li JP. Expressions of MDR1, BCRP and LRP genes in breast cancer tissues and their significance[J]. Xi'an Jiao Tong Da Xue Xue Bao(Yi Xue Ban),2012,33(1):79-83.[张桂香, 刘新兰, 李金平. MDR1、BCRP和LRP基因在乳腺癌组织中的表达及其意义[J]. 西安交通大学学报(医学版),2012,33(1):79-83.]

[编辑：周永红；校对：安 凤]