

桂西地区 109 例乳腺癌患者 TOP2A 基因变异的临床病理意义分析

朱晓莹, 王兴枝子, 杨洁, 黄云美, 黄小英, 黄炳臣, 龙喜带

(右江民族医学院临床病理诊断与研究中心, 广西 百色 533000)

摘要:目的 研究桂西地区乳腺癌患者 TOP2A 基因变异的临床病理意义。方法 收集来自右江民族医学院附属医院的乳腺癌患者病理标本 109 例, 用荧光原位杂交法检测乳腺癌组织样本 TOP2A 与 HER2 基因的变异情况, 而乳腺癌其他临床病理分子标志物 HER2 蛋白、ER、PR、Ki67 等通过免疫组织化学方法检测, 通过 χ^2 检验等方法分析 TOP2A 基因变异与这些分子标志物等临床病理特征的相关性。结果 109 例患者中有 26 例 TOP2A 与 HER2 共扩增病例, 4 例 TOP2A 缺失 HER2 扩增, 1 例 TOP2A 缺失 HER2 未扩增 ($P < 0.05$), TOP2A 基因变异与淋巴结转移、组织分级相关 ($P < 0.05$); 但与患者年龄、肿瘤大小、乳腺癌分子分型无关 ($P > 0.05$)。结论 乳腺癌 TOP2A 基因变异与 HER2 基因变异密切相关。TOP2A 基因变异是乳腺癌患者预后不良的指标。

关键词: 乳腺肿瘤; TOP2A 基因; 变异; 临床病理特征

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2019)06-0618-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2019.06.005

Analysis of clinicopathological significance of TOP2A gene variation in 109 patients with breast cancer in western Guangxi

Zhu Xiaoying, Wang Xingzhizi, Yang Jie, Huang Yunmei, Huang Xiaoying,
Huang Bingchen, Long Xidai

(Center for Clinicopathological Diagnosis and Research, Youjiang Medical
University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To study the clinicopathological significance of TOP2A gene variation in patients with breast cancer in western Guangxi. **Methods** Pathological specimens of 109 breast cancer patients from the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities were collected and the variation of TOP2A and HER2 genes in breast cancer tissue samples were detected by fluorescence in situ hybridization (FISH). Other clinicopathological molecular markers of breast cancer, such as HER2 protein, ER, PR and Ki67, were detected by immunohistochemistry. The correlation between TOP2A gene variation and these molecular markers was analyzed by Chi-square test and other methods. **Results** Among the 109 patients, there were 26 cases with co-amplification of TOP2A and HER2, 4 cases with TOP2A deletion and HER2 amplification, and 1 case with TOP2A deletion and no amplification of HER2 ($P < 0.05$). TOP2A gene variation was related to lymph node metastasis and tissue grading ($P < 0.05$). However, it was not related to the patient's age, tumor size and breast cancer molecular typing ($P > 0.05$). **Conclusion** The variation of TOP2A gene in breast cancer is closely related to the variation of HER2 gene. TOP2A gene variation is an indicator of poor prognosis in breast cancer patients.

Key words: breast neoplasms; TOP2A gene; variation; clinicopathological characteristics

第一作者简介: 朱晓莹(1981—), 女, 在读博士研究生, 高级实验师, 研究方向: 肝癌的基础研究, E-mail: 417343600@qq.com

通讯作者简介: 龙喜带(1973—), 男, 医学博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 肝癌的基础与临床综合研究、肝癌的早期预警模型研究, E-mail: sjtulongxd@263.net

乳腺癌是我国女性发病率首位的恶性肿瘤,死亡率较高,近年来我国乳腺癌的发病呈上升趋势并伴有低龄化的特征。随着精准医学的发展,癌症的诊疗已经进入分子诊断与个体化治疗时代。TOP2A基因定位于17号染色体17q11.2-22区,编码人类拓扑异构酶II α (topoisomerase II alpha, TOP2A),在DNA复制过程中发挥重要作用。TOP2A基因变异包括基因扩增和基因缺失。蒽环类药物是乳腺癌常用化疗药物之一, TOP2A基因扩增的乳腺癌患者对含蒽环类化疗方案更敏感。在HER2和TOP2A基因共扩增的患者中蒽环类药物疗效显著^[1]。

为了明确桂西地区妇女乳腺癌TOP2A变异与相关临床病理特征的关系,探讨TOP2A基因作为乳腺癌预后判断指标的临床应用价值,本文对桂西地区109例乳腺癌病例开展TOP2A基因变异及其临床病理特征分析,为临床开展乳腺癌个体化诊疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集右江民族医学院附属医院腺体外科2017年1月—2019年8月收治的109例乳腺浸润性导管癌病例。患者年龄25~70岁,中位年龄48.4岁,术前均未进行过放化疗或分子靶向治疗。标本均于离体后30 min内经10%中性福尔马林固定、脱水、石蜡包埋、切片及HE染色,由2名病理医生(职称均为主治医师及以上)阅片确诊为浸润性乳腺癌。

1.2 试剂与探针 免疫组化(Immunohistochemistry, IHC)检测ER、PR、Ki-67和HER-2/neu使用福州迈新生物科技有限公司试剂(ER克隆号:SP1,批号1903200501b;PR克隆号:SP2,1907030502e;Ki-67克隆号:MX006,批号1905080672e;HER-2/neu克隆号EP3,批号19042590c)。荧光原位杂交检测(Fluorescence in situ hybridization, FISH)使用广州安必平医药科技股份有限公司HER2/neu(17q12)/TOP2A(17q21)/CSP17多色检测试剂盒(批号201812002)。

1.3 方法

1.3.1 FISH法 玻片常规脱蜡复水,纯水100℃水浴20 min,蛋白酶消化10 min,85℃变性37℃杂交过夜,DAPI染核,封片,荧光显微镜下观察结果。

1.3.2 IHC法 取玻片常规脱蜡复水,抗原修复,一抗孵育4℃过夜,二抗孵育室温30 min, DAB显色,苏木精复染,脱水透明,封片,显微镜下观察结果(注:染色过程同时设立阴性和阳性对照)。

1.4 判读标准 TOP2A判读标准采用试剂盒推荐标准,计数30个肿瘤细胞,统计Ratio值(Ratio值=30个细胞核中绿信号总数/青信号总数);TOP2A扩增标准:①TOP2A信号点呈点簇状或簇状;②TOP2A/CSP17比值 ≥ 2.0 。TOP2A缺失标准:

TOP2A/CSP17比值 ≤ 0.8 。HER-2的IHC与FISH检测采用中国乳腺癌HER2检测指南(2019版)判读标准^[2]。ER、PR的IHC结果判读依据采用《乳腺癌雌、孕激素受体免疫组织化学检测指南(2015版)》^[3]。分子分型依据2013年St Gallen会议专家共识^[4]分为Luminal A型(ER+和/或PR+、HER2-、Ki67 $< 14\%$);Luminal B型(分2种:一种是ER+和/或PR+、Ki67 $\geq 14\%$;另一种是ER+和/或PR+、HER2+);HER-2过表达型(ER-、PR-、HER2+、Ki67高表达);基底细胞型(ER-、PR-、HER2-)。

1.5 统计学方法 采用SPSS 24.0软件进行分析,计量资料用Spearman行相关性分析,计数资料组间比较以 χ^2 检验或Fisher精确概率法进行率的比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌TOP2A基因变异与HER2基因相关性分析 桂西地区109例乳腺癌患者中TOP2A基因扩增26例,变异率23.85%(26/109),缺失5例,变异率4.59%,总变异病例数31例,总变异率为28.44%(31/109)。HER2和TOP2A基因共扩增26例,有5例TOP2A基因缺失而HER2基因扩增的现象,另有23例TOP2A基因无变异表达病例中存在HER2基因扩增;HER2基因变异率高于TOP2A基因。TOP2A基因变异与HER2基因变异有相关性($r = 0.614, P = 0.00$);TOP2A基因变异与HER2蛋白变异有相关性($r = -0.312, P = 0.001$),见表1、图1。

表1 TOP2A基因变异与HER2基因表达相关性分析

| TOP2A 基因 | n | HER2基因 | | HER2蛋白 | | | |
|-------------|----|--------|-----|--------|----|----|----|
| | | 扩增 | 无扩增 | 0 | 1+ | 2+ | 3+ |
| 扩增 | 26 | 26 | 0 | 1 | 3 | 8 | 14 |
| 缺失 | 5 | 4 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| 正常 | 78 | 23 | 55 | 3 | 18 | 43 | 14 |
| r | | 0.614 | | -0.312 | | | |
| P | | 0.00 | | 0.001 | | | |

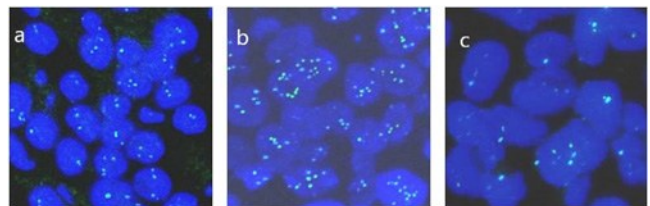


图1 TOP2A基因表达的FISH检测结果图
注:a为TOP2A基因未扩增;b为TOP2A基因扩增;c为TOP2A基因缺失

2.2 TOP2A基因变异与临床病理特征的关系

TOP2A 基因变异与患者年龄、肿瘤大小的表达无统计学意义 ($P > 0.05$); 淋巴结转移、组织学分级, 在 TOP2A 基因扩增、缺失、正常构成比上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。TOP2A 基因变异与淋巴结转移状态和组织学分级相关 (r 分别为 -0.276、-0.242, P 为 0.04、0.01)。

表 2 TOP2A 变异与乳腺癌临床病理特征的关系 ($n, \%$)

| 项目 | TOP2A 基因 | | | χ^2 | P |
|------------------|-----------|---------|-----------|----------|-------|
| | 扩增 | 缺失 | 正常 | | |
| 年龄(岁) | | | | 2.261 | 0.32 |
| ≤48 | 13(11.93) | 4(3.67) | 35(32.11) | | |
| >48 | 13(11.93) | 1(0.92) | 43(39.45) | | |
| 肿瘤直径(cm) | | | | 1.143 | 0.528 |
| <2 | 2(1.83) | 1(0.92) | 10(9.17) | | |
| 2~5 | 12(11.00) | 2(1.83) | 54(49.54) | | |
| >5 | 12(11.00) | 2(1.83) | 14(12.84) | | |
| 淋巴结(个) | | | | 9.49 | 0.031 |
| 0 | 1(0.92) | 1(0.92) | 15(13.76) | | |
| 1~4 | 19(17.43) | 2(1.83) | 56(51.38) | | |
| >4 | 6(5.50) | 2(1.83) | 7(6.42) | | |
| 组织学分级($n, \%$) | | | | 9.468 | 0.030 |
| I | 2(1.83) | 1(0.92) | 18(16.51) | | |
| II | 18(16.51) | 2(1.83) | 54(49.54) | | |
| III | 6(5.50) | 2(1.83) | 6(5.50) | | |

2.3 TOP2A 基因在不同乳腺癌分子分型中的变异情况 TOP2A 基因在 Luminal A 型和基底细胞型病例中低表达, 在 HER2 过表达型和 Luminal B 型病例中高表达, TOP2A 基因变异与乳腺癌临床分子分型无关 ($r = -0.182, P = 0.059$)。见表 3。

表 3 TOP2A 基因在不同乳腺癌分子分型中的变异情况

| 分子分型 | n | TOP2A 基因 | | |
|-------------|-----|----------|----|----|
| | | 扩增 | 缺失 | 正常 |
| Luminal A 型 | 15 | 0 | 1 | 14 |
| Luminal B 型 | 65 | 17 | 1 | 47 |
| HER2 过表达型 | 23 | 9 | 3 | 11 |
| 基底细胞型 | 6 | 0 | 0 | 6 |

3 讨论

乳腺癌是一种具有高度异质性的肿瘤, 一方面表现在不同类型的肿瘤之间, 或同一肿瘤内部之间的差异; 另一方面, 在组织病理分型、免疫组化特征的分型和基因表达谱的分子分型上也有不同。根据患者分子标志物指导的乳腺癌个体化治疗已成临床的共识。TOP2A 基因与 HER2 基因均位于 17 号染色体上, TOP2A(17q 21-22), HER2(17q12-21) 位置相互毗邻, 基因状态存在密切联系。Hicks DG 等^[5]研究发现

HER2 阳性的乳腺癌患者中有 89%~90% 的患者发生 TOP2A 基因扩增或缺失, 而在 HER2 正常的患者中鲜有 TOP2A 基因变异。因此认为这两个基因是协同变异, HER2 基因扩增后染色体重排, 导致 TOP2A 基因扩增或缺失。在 HER2 基因正常的乳腺癌患者中也会出现 TOP2A 基因变异, Kim 等^[6]在 HER2 基因正常的样本中 TOP2A 基因扩增和缺失分别 6.6% 和 3.7%, 但在 HER2 扩增的样本中 TOP2A 基因扩增和缺失分别为 26.4% 和 24%, 因此认为 TOP2A 基因变异在 HER2 扩增的样本中更容易发生。TOP2A 基因表达的拓扑异构酶(Topoisoemerase)是 DNA 复制和转录过程所需的关键核酶。TOP2A 基因变异的患者预后较差, 生存期短, 尤其是 TOP2A 基因缺失的患者预后更差^[7-9]。

本研究通过对桂西地区 109 例乳腺癌患者进行 TOP2A 基因、HER2 基因、HER2 蛋白、组织分型、分子分型等临床病理特征相关性分析, 结果显示 TOP2A 基因总变异率为 28.44%, 这与国内文献报道相似^[10-11]。TOP2A 基因扩增与 HER2 基因的扩增及其蛋白过表达密切相关, 多集中在 HER2 基因扩增的患者中, 仅有 1 例 TOP2A 基因缺失发生在 HER2 未扩增的情况下。此外, TOP2A 基因变异与转移淋巴结和组织分级也密切相关; TOP2A 基因变异与乳腺癌的分子分型密切无关, 在 Luminal A 型、基底细胞型中 TOP2A 基因变异率低, Luminal B 型和 HER2 过表达型中变异率高。TOP2A 基因变异集中在分化差的肿瘤中, 这提示 TOP2A 基因变异与乳腺癌患者预后不良相关, TOP2A 是乳腺癌预后预测指标。

新辅助化疗已经成为临床治疗乳腺癌的常用手段, 但这些指标可以预测新辅助化疗的效率尚未形成统一的观点。有研究表明^[13-15], 存在 TOP2A 基因扩增的患者在接受新辅助化疗后, 有较好的总生存率(OS)和无病生存率(DFS)。而 TOP2A 基因缺失的机制其临床应用的意义尚未阐明, 这是我们下一步研究的方向, 以期今后临床开展个体化治疗, 提高临床治疗效果, 提供参考依据。

参考文献:

- [1] Press MF, Sauter G, Buyse M, et al. Alteration of topoisomerase II-alpha gene in human breast cancer: association with responsiveness to anthracycline-based chemotherapy[J]. J Clin Oncol, 2011, 29 (7): 859-867.
- [2] 汤小江, 周瑜辉, 张伟, 等. TOP2A 基因表达与乳腺癌 HER2 通路的相关性[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2015, 36(4): 519-522.

(下转第 637 页)

- static medication[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84(4):1229-1233.
- [15] 刘苑红, 蒋宁一. 24 小时甲状腺摄碘率对甲亢患者¹³¹I 治疗效果的相关性研究[J]. *中国医药科学*, 2018, 8(13): 231-233.
- [16] 王越. 甲状腺 24h RAIU 与¹³¹I 治疗 Graves 甲亢疗效相关性研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2015.
- [17] Alexander EK, Larsen PR. High dose of (¹³¹)I therapy for the treatment of hyperthyroidism caused by Graves' disease[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(3): 1073-1077.
- [18] Al-Kaabi JM, Hussein SS, Bukheit CS, et al. Radioactive iodine in the treatment of Graves' disease[J]. *Saudi Med J*, 2002, 23(9): 1049-1053.
- [19] 唐真武, 肖国有. 甲状腺自身抗体在¹³¹I 治疗甲亢中的作用[J]. *右江民族医学院学报*, 2016, 38(2): 223-224, 227.
- [20] 江勇. 影响¹³¹I 碘治疗甲亢疗效的因素分析[J]. *中国卫生产业*, 2012, 9(26): 87.
- [21] Szumowski P, Abdelrazek S, Kociura Sawicka A, et al. Radioiodine therapy for Graves' disease-retrospective analysis of efficacy factors[J]. *Endokrynol Pol*, 2015, 66(2): 126-131.
- [22] 张峰. 影响¹³¹I 碘治疗甲亢的因素分析[J]. *保健文汇*, 2017(11): 141.
- 收稿日期: 2019-07-13; 修回日期: 2019-08-05
-
- (上接第 620 页)
- [3] 《乳腺癌 HER2 检测指南(2019 版)》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南(2019 版) [J]. *中华病理学杂志*, 2019, 48(3): 169-175.
- [4] Nadia Harbeck, Christoph Thomssen, Michael Gnantz. St. Gallen 2013: Brief Preliminary Summary of the Consensus Discussion [J]. *Breast Cancer (Basel)*, 2013, 8(2): 102-109.
- [5] Hicks DG, Yoder BJ, Pettay J, et al. The incidence of topoisomerase II-alpha genomic alterations in adenocarcinoma of the breast and their relationship to human epidermal growth factor receptor-2 gene amplification: a fluorescence in situ hybridization study [J]. *Hum Pathol*, 2005, 36(4): 348-356.
- [6] Kim A, Shin HC, Bae YK, et al. Multiplication of Chromosome 17 Centromere Is Associated with Prognosis in Patients with Invasive Breast Cancers Exhibiting Normal HER2 and TOP2A Status [J]. *J Breast Cancer*, 2012, 15(1): 24-33.
- [7] 帅萍. 乳腺癌组织中 HER2 和 Topo II α 的表达及其临床意义[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2016, 41(11): 1143-1147.
- [8] 孟辉, 李文才, 王留兴, 等. 拓扑异构酶 II a 表达与乳腺癌患者生存的相关性[J]. *中华肿瘤杂志*, 2011, 33(5): 363-365.
- [9] 蒋奕, 叶洪涛, 姬逸男, 等. 乳腺癌组织 TOP2A 和 HER2/neu 扩增与临床病理因素相关性研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(1): 30-33.
- [10] 侯俊杰, 康丽花, 邵飞飞, 等. FISH 技术检测乳腺癌患者 17 号染色体与 HER2 基因和 TOP2A 基因相关性分析[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(32): 5609-5611.
- [11] 乔江华, 焦得闯, 王丽娜, 等. TOP2A 与乳腺癌临床特征及新辅助化疗效果的关系研究[J]. *癌症进展*, 2018, 16(4): 488-491.
- [12] 郑少秋, 朱文标, 陈勇, 等. TOP2a 在梅州地区乳腺癌中的表达及意义研究[J]. *黑龙江医药*, 2017, 30(3): 482-485.
- [13] O'Malley FP, Chia S, Tu D, et al. Topoisomerase II alpha and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101(9): 644-650.
- [14] Wang J, Xu B, Yuan P, et al. TOP2A amplification in breast cancer is a predictive marker of anthracycline based neoadjuvant chemotherapy efficacy [J]. *Breast-Cancer Res Treat*, 2012, 135(2): 531-537.
- [15] 蒋奕, 叶新青, 廖晓明, 等. 乳腺癌 TOP2A 基因表达与含蒽环类药物新辅助化疗效果的关系[J]. *中国医药导报*, 2016, 13(35): 16-19, 封 3.
- 收稿日期: 2019-11-01; 修回日期: 2019-11-12