

即刻早期反应基因-1 在乳腺癌新辅助化疗后表达的变化及对预后的意义

王波¹, 董小林²

1. 湖北医药学院附属东风医院器官移植乳腺外科, 湖北 十堰 442000;

2. 湖北医药学院附属人民医院健康管理中心, 湖北 十堰 442000

摘要: **目的** 探讨即刻早期反应基因-1 (IEX-1) 在乳腺癌新辅助化疗 (NCT) 后表达的变化及在预后判断中的意义。**方法** 选取 2012 年 1 月至 2017 年 1 月首诊首治并接受 NCT 的 110 例乳腺癌女性患者作为研究对象进行回顾性研究, 采用二步法免疫组化方法检测 NCT 前后乳腺癌组织中 IEX-1 表达的变化, 采用 Kaplan-Meier 和 Log-rank 法分析其对无病生存期 (DFS) 及总生存期 (OS) 的影响。**结果** NCT 前乳腺癌组织中 IEX-1 蛋白均阴性; NCT 后, IEX-1 蛋白阳性表达 45 例 (40.9%), 阴性 65 例。生存分析显示, IEX-1 蛋白阳性表达组患者的 DFS、OS 均低于 IEX-1 蛋白阴性表达组 (P 均 < 0.01)。多因素 Cox 比例风险回归模型分析发现, IEX-1 蛋白阳性表达为乳腺癌预后的独立风险因素 [$HR = 4.921, 95\% CI = (1.273 \sim 19.018), P = 0.021$]。**结论** 乳腺癌 NCT 前后检测 IEX-1 有助于预后判断, IEX-1 可能成为乳腺癌 NCT 疗效的预后指标。

关键词: 即刻早期反应基因-1; 乳腺癌; 新辅助化疗; 预后

中图分类号: R 737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)01-0006-04

Expression of IEX-1 and its prognostic significance in patients with breast cancer after neoadjuvant chemotherapy

WANG Bo*, DONG Xiao-lin

* Department of Organ Transplantation and Breast Surgery, Affiliated Dong Feng Hospital of Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China

Corresponding author: DONG Xiao-lin, E-mail: newestway@163.com

Abstract: Objective To investigate the expression changes of immediate early response gene X-1 (IEX-1) and its prognostic significance in patients with breast cancer after neoadjuvant chemotherapy (NCT). **Methods** A retrospective study was performed in 110 female patients with breast cancer treated with NCT from January 2012 to January 2017. The expressions of IEX-1 were detected by two-step immunohistochemical method before and after NCT, and its influences on DFS and OS were analyzed by Kaplan-Meier and Log-rank method. **Results** The expression of IEX-1 protein was negative in all breast cancer tissues before NCT and was positive in 45 cases (40.9%) and negative in 65 cases after NCT. Survival analysis showed that DFS and OS of patients with positive IEX-1 protein were statistically lower than those with negative IEX-1 protein (all $P < 0.01$). Multivariate Cox proportional hazard regression model analysis showed that positive expression of IEX-1 protein was an independent risk factor for prognosis of patients with breast cancer [$HR = 4.921, 95\% CI (1.273 - 19.018), P = 0.021$]. **Conclusions** The detection of IEX-1 before and after NCT is helpful to the assessment of prognosis of breast cancer. IEX-1 may be an indicator in evaluating the efficacy of NCT for breast cancer.

Key words: Immediate early response gene X-1; Breast cancer; Neoadjuvant chemotherapy; Prognosis

在世界范围内, 乳腺癌发病率、死亡率仍居女性恶性肿瘤首位^[1-2], 尤其在我国, 乳腺癌的发病率、死亡率呈逐年上升趋势, 并且发病年龄较欧美国家年轻, 严重影响女性的健康。新辅助化疗 (new adjuvant chemotherapy, NCT) 是针对部分局部晚期乳腺癌患

者, 在进行手术或放疗前实施的化疗, 以达到可手术或可保乳的目的^[3]。但相关研究证实, 即使 NCT 的疗效达到病理完全缓解, 远期仍会有复发、转移的可能^[4], 充分说明, 乳腺癌是高度异质性全身性疾病, 除了进行规范、合理、个体化的治疗外, 积极探索与乳

腺癌治疗、预后相关的因素,探索潜在的、可能的预后预测因子,针对高危患者采用积极的治疗,对提高乳腺癌的治疗效果、改善预后,有积极的临床意义。

即刻早期反应基因-1 (immediate early response gene X-1, IEX-1) 为即刻早期基因家族之一,研究证实,其在多种刺激因素作用下,能快速表达,并参与调控细胞信号传导、细胞生长及增殖^[5],并在胰腺癌、卵巢癌等多种恶性肿瘤中高表达^[6]。但 IEX-1 基因在乳腺癌 NCT 前后表达的变化及与远期预后的关系未见相关报道。本研究分析湖北医药学院附属东风医院器官移植乳腺外科收治的乳腺癌患者 NCT 前后 IEX-1 的表达变化及其与预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取我院 2012 年 1 月至 2017 年 1 月、有完整病历信息及完整随访资料的、NCT 后进行手术治疗的乳腺癌女性患者 115 例进行回顾性研究,年龄 35 ~ 71 岁,中位年龄 51 岁。所有患者均签署知情同意文书,并经我院伦理委员会批准。

1.2 乳腺癌临床病理指标及随访 乳腺癌临床病理指标由我院电子病历系统获取,详细记录包括年龄、组织学分级、肿瘤大小、TNM 分期、淋巴结转移、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人表皮生长因子受体-2(HER-2)、增殖指数(Ki-67)等指标数据。随访方式为定期住院、门诊复诊或者电话随访。纳入标准:临床病理资料记录完整;既往无放、化疗病史,无其他恶性肿瘤病史。排除标准:NCT 后未行手术治疗;非乳腺原发性恶性肿瘤;炎性乳腺癌;有远处转移者;拒绝在我院随访、复查;有明确的恶性肿瘤家族史。115 例患者,失访 5 例,最终入选 110 例首诊并首治的乳腺癌患者,病理类型均为浸润性导管癌。

1.3 治疗方案 所有患者均行空芯针穿刺活检,明确病理诊断及免疫组织化学分型。结合患者病情和患者及其家属意愿,NCT 方案为 TEC 方案(4 个周期):多西他赛(T)75 mg/m²(齐鲁制药)+多柔比星(E)90 mg/m²(海正辉瑞制药)+环磷酰胺(C)600 mg/m²(山西普德药业);或者 EC×4,序贯 T×4:多柔比星 90 mg/m²+环磷酰胺 600 mg/m²共 4 次,序贯多西他赛 75 mg/m²4 次。NCT2 次后评估疗效,若疗效为稳定或者无效,立即行手术治疗,手术后调整化疗方案;若疗效为有效,则继续行 NCT 后行手术治疗。术前化疗疗程未完成者,术后继续完成化疗;术前已完成化疗疗程者,术后不再行化疗,根据免疫组织化学指标,术后行内分泌治疗或赫赛汀靶向治疗,需要放疗者,手术后接受放疗治疗。手术方式均

为乳腺癌改良根治术+腋窝淋巴结清扫术。

1.4 免疫组织化学检测 对收集的 110 例 NCT 前穿刺活检的乳腺癌石蜡包埋组织标本及对应的 NCT 后行改良根治术切除的乳腺癌标本,进行连续 4 μm 切片备用。用二步法免疫组织化学检测,兔抗人 IEX-1 多克隆抗体,购自美国 Gibco 公司,用 PBS 做阴性对照,余 ER、PR、HER-2、Ki-67 等指标的检测由我院病理检测中心进行标准检测。

1.5 IEX-1 在乳腺癌组织中表达结果的判定 IEX-1 在乳腺癌中的表达主要见于细胞质,出现棕黄色或褐色颗粒细胞为阳性细胞,根据阳性细胞染色强度及阳性细胞所占比例,并结合相关文献进行结果判定^[7],随机选取 4 个区域,在 400 倍视野下观察染色强度:不着色为 0 分,浅着色为 1 分,中等程度着色为 2 分,强着色为 3 分;观察阳性细胞所占比例:<1% 为 0 分,1%~10% 以下为 1 分,10%~50% 为 2 分,>50% 为 3 分。综合结果判定:细胞染色强度和阳性细胞所占比例得分相乘<4 分为 IEX-1 阴性表达,≥4 分为 IEX-1 阳性表达。

1.6 预后评价 本研究无病生存期(DFS)定义为接受治疗日开始至出现复发、转移或死亡的时间。总生存期(OS)定义为接受治疗日开始至死亡的时间,随访截止时仍生存为删失数据。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。IEX-1 蛋白表达与临床病理指标的关系用 χ^2 检验;用 Kaplan-Meier 绘制生存曲线,行 Log-rank 检验;用 Cox 比例风险回归模型进行多因素预后分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IEX-1 在 NCT 前后乳腺癌组织中的表达 NCT 前 110 例乳腺癌组织中,IEX-1 蛋白表达均阴性。NCT 后 110 例乳腺癌组织中,IEX-1 蛋白阳性表达 45 例(40.9%);IEX-1 阴性 65 例(59.1%)。见图 1。

2.2 随访结果 完整随访 110 例乳腺癌患者,随访时间 2012 年 1 月至 2017 年 1 月,中位随访 51 个月。随访期间,复发转移 18 例,死亡 16 例。

2.3 NCT 后 IEX-1 蛋白表达与乳腺癌患者临床病理指标的关系 NCT 后,IEX-1 蛋白表达与乳腺癌患者的年龄、肿瘤大小、组织学分级、TNM 分期及有无淋巴结转移无关联性(P 均 > 0.05);IEX-1 蛋白表达与 ER、PR、HER-2 及 Ki-67 值有关联性($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。

2.4 IEX-1 蛋白表达与乳腺癌患者预后的关系 IEX-1 蛋白阳性表达组 45 例中,复发、转移 13 例,死

亡 13 例; IEX-1 蛋白阴性表达组 65 例中, 复发、转移 5 例, 死亡 3 例。Kaplan-Meier 生存分析显示, IEX-1 蛋白阳性表达组的 DFS、OS 均低于 IEX-1 蛋白阴性表达组 ($\chi^2 = 18.650, P = 0.001; \chi^2 = 7.116, P = 0.008$), 差异有统计学意义。见图 2。预后影响因素的单因素分析发现, IEX-1 蛋白不同表达、ER、PR、

表 1 IEX-1 蛋白表达与乳腺癌患者临床病理指标的关联性

临床病理指标	IEX-1 蛋白表达例 (%)		χ^2 值	P 值
	IEX-1 蛋白表达			
	阴性表达 (n=65)	阳性表达 (n=45)		
年龄 (岁)				
<60	39(60.0)	21(46.7)	1.907	0.167
≥60	26(40.0)	24(53.3)		
肿瘤直径 (cm)				
≤2	31(47.7)	16(35.6)	1.650	0.438
2~5	19(29.2)	17(37.8)		
>5	15(23.1)	12(26.7)		
组织学分级				
I 级	22(33.8)	15(33.3)	0.013	0.994
II 级	22(33.8)	15(33.3)		
III 级	21(32.3)	15(33.3)		
淋巴结转移				
无	46(70.8)	26(57.8)	1.985	0.159
有	19(29.2)	19(42.2)		
TNM 分期				
I + II	34(52.3)	26(57.8)	0.321	0.571
III + IV	31(47.7)	19(42.2)		
ER				
阴性	19(29.2)	22(48.9)	4.395	0.036
阳性	46(70.8)	23(51.1)		
PR				
阴性	40(61.5)	38(84.4)	6.764	0.009
阳性	25(38.5)	7(15.6)		
HER-2				
阴性	45(69.2)	22(48.9)	4.621	0.032
阳性	20(30.8)	23(51.1)		
Ki-67				
<14%	49(75.4)	20(44.4)	4.395	0.036
≥14%	16(24.6)	25(55.5)		

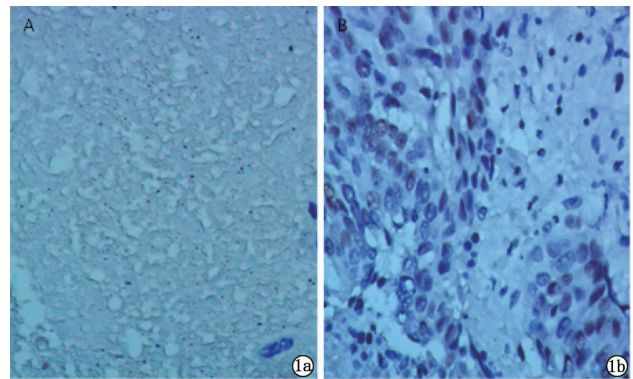
HER-2、Ki-67 等与乳腺癌的预后相关 ($P < 0.05, P < 0.01$), 见表 2; 多因素 Cox 比例风险回归模型分析发现, IEX-1 蛋白阳性表达与乳腺癌的预后相关, 为影响预后的独立风险因素 [$HR = 4.921, 95\% CI = (1.273 \sim 19.018), P = 0.021$]。见表 3。

表 2 影响乳腺癌患者预后的单因素分析

临床病理因素	单因素分析		
	HR	95% CI	P 值
IEX-1	0.270	0.096 ~ 0.759	0.008
ER	0.502	0.417 ~ 0.725	0.018
PR	3.837	1.486 ~ 9.907	0.005
HER2	0.670	0.152 ~ 0.825	0.025
Ki-67	0.109	0.084 ~ 0.522	0.040

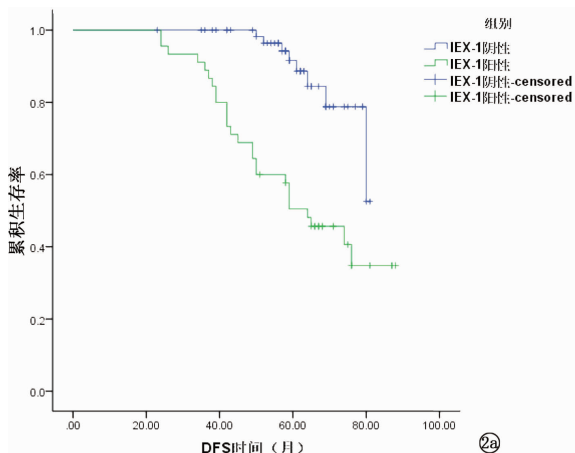
表 3 影响乳腺癌患者预后的多因素 Cox 回归分析

临床病理因素	Cox 回归分析		
	HR	95% CI	P 值
IEX-1	4.921	1.273 ~ 19.018	0.021
ER	0.402	0.148 ~ 1.089	0.073
PR	0.456	0.098 ~ 2.133	0.319
HER2	1.771	0.711 ~ 4.411	0.220
Ki-67	1.323	0.539 ~ 3.249	0.541



注: 1a: IEX-1 在 NCT 前阴性表达; 1b: IEX-1 在 NCT 后阳性表达。

图 1 IEX-1 在 NCT 前后乳腺癌组织表达的病理图 (免疫组化, ×400)



注: 2a: IEX-1 蛋白表达与乳腺癌患者 DFS 的关系; 2b: IEX-1 蛋白表达与乳腺癌患者 OS 的关系。

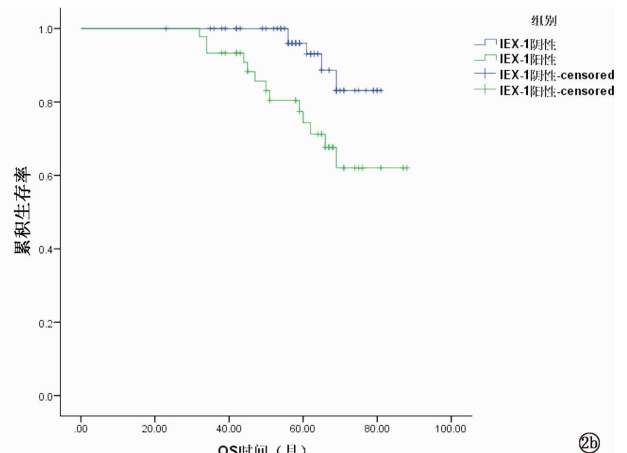


图 2 IEX-1 蛋白表达与乳腺癌患者预后的关系

3 讨论

乳腺癌的 NCT 是其手术治疗或放射治疗前的全身化疗^[8],主要用于局部晚期的乳腺癌患者,可降低临床 T 分期,提高保乳率或可手术率,筛选敏感的化疗药物、化疗方案^[9]。NCT 的近期疗效可通过临床查体、乳腺超声检查等进行评估^[10]。NCT 的远期疗效,目前较为确切的评估指标为病理完全缓解,但相关研究发现,乳腺癌 NCT 的病理完全缓解率低^[11]。因此,有必要探索乳腺癌 NCT 远期预后的指标,对高危患者加强随访、强化治疗,改善其预后。

IEX-1 基因在人体多种器官、组织的上皮细胞中高表达,具有包括 P53 在内的多个转录因子结合位点^[12],在缺氧、X 线照射、细胞毒性药物等刺激下可快速表达^[13],生物学效应上扮演着双重角色,IEX-1 基因的高表达,可抑制细胞生长、促进凋亡,也可促进细胞生长、抑制凋亡^[14],这种双重角色的表现,与细胞的类型、所接受的刺激种类及涉及到的细胞信号通路密切相关^[15]。本研究显示,NCT 前 IEX-1 在乳腺癌组织中阴性表达,而在 NCT 后 IEX-1 阳性表达率为 40.9%,正是在细胞毒性化疗药物刺激下,IEX-1 “双重角色”生物学效应的体现。

已有研究发现 IEX-1 在正常乳腺组织中高表达,在乳腺癌组织中表达缺失^[16]。由于 IEX-1 具有“双重角色”生物学效应,在接受细胞毒性化疗药物刺激的 NCT 后,乳腺癌组织中 IEX-1 的表达情况及与预后的关系,尚未见相关报道。本研究结果显示,IEX-1 在 NCT 前乳腺癌组织中全部阴性表达,在 NCT 后乳腺癌组织中 IEX-1 蛋白阳性表达 45 例,复发、转移 13 例,死亡 13 例,不良预后率 57.8%;IEX-1 蛋白阴性表达 65 例,复发、转移 5 例,死亡 3 例,不良预后率 12.3%;前者明显高于后者。IEX-1 蛋白阳性表达组的 DFS、OS 均低于阴性表达组,IEX-1 可能成为乳腺癌 NCT 疗效的预测指标。后期,笔者将进一步进行前瞻性研究,对这一结论加以验证。

参考文献

[1] Baeyens-Fernández JA, Molina-Portillo E, Pollán M, et al. Trends in incidence, mortality and survival in women with breast cancer from 1985 to 2012 in Granada, Spain: a population-based study[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1):781.

[2] Hafeez Bhatti AB. Discussing genetic testing with patients with breast cancer in developing countries: should we be judicious? [J]. J Clin

Oncol, 2015, 33(35):4232-4233.

[3] Seneviratne S, Campbell I, Scott N, et al. A cohort study of ethnic differences in use of adjuvant chemotherapy and radiation therapy for breast cancer in New Zealand[J]. BMC Health Serv Res, 2017, 17(1):64.

[4] Graziano V, Grassadonia A, Iezzi L, et al. Combination of peripheral neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio is predictive of pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients[J]. Breast, 2019, 44:33-38.

[5] Feldmann KA, Pittelkow MR, Roche PC, et al. Expression of an immediate early gene, IEX-1, in human tissues[J]. Histochem Cell Biol, 2001, 115(6):489-497.

[6] Li Y, Tan CY, Liu LY, et al. Significance of blood and salivary IEX-1 expression in diagnosis of epithelial ovarian carcinoma[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2018, 44(4):764-771.

[7] 韩丽萍,刘香荣. 卵巢癌组织即刻早期基因 IEX-1 的表达[J]. 第二军医大学学报, 2010, 31(3):329-331.

[8] Thill M, Pisa G, Isbary G. Targets for neoadjuvant therapy-the preferences of patients with early breast cancer[J]. Geburtshilfe Frauenheilkd, 2016, 76(5):551-556.

[9] Zhou YJ, Ouyang T, Xie YT, et al. A single-Center randomized, parallel controlled study comparing the efficacy and safety aspects of three anthracycline-based regimens as neoadjuvant chemotherapy in primary breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2016, 157(3):527-534.

[10] 戴紫企,杨奔,左文述,等. 超声与磁共振成像对乳腺癌新辅助化疗疗效评价的比较分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(12):958-963.

[11] He Y, Zhao Q, Geng YN, et al. Analysis of short-term efficacy as defined by RECIST and pathological response of neoadjuvant chemotherapy comprised paclitaxel and cisplatin followed by radical surgery in patients with locally advanced cervical cancer: a prospective observational study [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(22):e10913.

[12] Im HJ, Pittelkow MR, Kumar R. Divergent regulation of the growth-promoting gene IEX-1 by the p53 tumor suppressor and Sp1[J]. J Biol Chem, 2002, 277(17):14612-14621.

[13] Sommer SL, Berndt TJ, Frank E, et al. Elevated blood pressure and cardiac hypertrophy after ablation of the gly96/IEX-1 gene[J]. J Appl Physiol, 2006, 100(2):707-716.

[14] Wu MX. Roles of the stress-induced gene IEX-1 in regulation of cell death and oncogenesis[J]. Apoptosis, 2003, 8(1):11-18.

[15] Schilling D, Pittelkow MR, Kumar R. IEX-1, an immediate early gene, increases the rate of apoptosis in keratinocytes[J]. Oncogene, 2001, 20(55):7992-7997.

[16] Wu MX, Ustyugova IV, Han LP, et al. Immediate early response gene X-1, a potential prognostic biomarker in cancers[J]. Expert Opin Ther Targets, 2013, 17(5):593-606.