

• 实验研究 •

散发性乳腺癌 BRCA1 和 BRCA2 基因突变分析

鲁培荣 谭敏 宾晓农 钟蔼鸾 陈韵微 何洁莹

【摘要】 目的 探讨散发性乳腺癌患者 BRCA1 及 BRCA2 基因突变与健康人的差异。**方法** 应用聚合酶链反应-单链构象多态性(PCR-SSCP)分析方法,对 83 例散发性乳腺癌患者(乳腺癌组)与 86 例健康人(健康对照组)的血液标本,针对 BRCA1 和 BRCA2 基因,选择 4 个突变发生率较高的外显子[BRCA1 中的第 5、11(11A、11B)、18 外显子, BRCA2 中的第 11 外显子]共 5 对引物进行突变检测,并应用限制性片段长度多态性(RFLP)方法对具有单核苷酸多态的碱基位点作单核苷酸多态性定性分析。成组设计的定性资料比较采用 χ^2 检验。**结果** 部分散发性乳腺癌患者和健康人 BRCA1 基因第 5 外显子的 cDNA 273 和 287(C→G 和 A→T),第 11 外显子的 2430、2532、2630、2685、3191、3232 和 3667、3876(T→C、T→C、T→G、T→C、C→G、A→G、A→G 和 C→A)以及第 18 外显子的 5206 和 5214(T→A 和 C→T)碱基位点处存在单个碱基的变化,散发性乳腺癌患者的 BRCA1 基因突变率高于健康人(14.5%比 2.3%, $P<0.05$);应用 RFLP 方法证实 cDNA 2430、2630(T→C、T→G)碱基位点的变化为单核苷酸多态(SNP);散发性乳腺癌患者与健康人 2430(T→C)碱基位点等位基因频数分布不相同,但差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 散发性乳腺癌患者 BRCA1 基因突变较常见,而 BRCA2 的突变十分罕见。

【关键词】 散发性乳腺癌;BRCA1 基因;BRCA2 基因;单链构象多态性;单核苷酸多态;DNA 测序;限制片段长度多态性

【中图分类号】 R739.9;R73-31

【文献标识码】 A

Analysis of mutations of BRCA1 and BRCA2 genes in sporadic breast cancer patients

LU Pei-rong, TAN Min, BIN Xiao-nong, ZHONG Ai-luan, CHEN Yun-wei, HE Jie-ying. Department of General Surgery, Liwan Hosipital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510180, China

【Abstract】 Objective To explore the mutations of BRCA1 and BRCA2 genes in sporadic breast cancer patients and their differences between breast cancer patients and healthy people. **Methods** Single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) was used to detect mutations of BRCA1 (exons 5, 11 (11A and 11B) and 18) and BRCA2 (exon 11) genes in the blood samples from 83 sporadic breast cancer patients and 86 healthy people (as the normal control). RFLP (restriction fragment length polymorphism) was used for quantitative analysis of single nucleotide polymorphism for the basic site with single nucleotide polymorphism. Chi-square test was used for qualitation data comparison. **Results** Single base changes on the base site of BRCA1

基金项目:广东省社会发展领域科技计划项目(53054);广州市荔湾区科技计划项目(20061207035)

作者单位:510180 广州,广州医学院荔湾医院外科(鲁培荣、钟蔼鸾、陈韵微、何洁莹);510120 广州,广东省中医院病理科(谭敏);510182 广州,广州医学院化学致癌研究所(宾晓农)

通讯作者:宾晓农, E-mail: gzbxn@163.com

exons 5 [cDNA 273 and 287(C→G and A→T)], 11[(2430, 2532, 2630, 2685, 3191, 3232 and 3667, 3876(T→C, T→C, T→G, T→C, C→G, A→G, A→G and C→A)], and 18 [5206 and 5214(T→A and C→T)] were found in some sporadic breast cancer patients and normal controls. The rate of BRCA1 gene mutation in the sporadic breast cancer patients was higher than in the normal controls (14.5% vs 2.3%, $P < 0.05$). RFLP showed that base site changes [cDNA 2430, 2630(T→C, T→G)] was SNP; the distribution of the base site [2430(T→C)] allele frequency was different between the sporadic breast cancer patients and the normal controls, but without statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusions** BRCA1 gene mutation occurs more often in sporadic breast cancer, but BRCA2 gene mutation seldom happens.

【Key words】 Breast neoplasms; BRCA1 gene; BRCA2 gene; Single strand conformation polymorphism; Single nucleotide polymorphism; DNA sequencing; Restriction fragment length polymorphism

乳腺癌是发达国家妇女最常见的恶性肿瘤之一,在英国每 12 位妇女中就有一位可能得乳腺癌^[1]。中国近年来乳腺癌发病率高居女性恶性肿瘤的首位,并以 3% 以上的速度逐年递增,保守估计全国每年有 4 万多妇女死于本病^[1-2]。但其发病机制目前尚不清楚,主要归纳为遗传易感性、内分泌失调、通过哺乳传染病毒颗粒等^[2]。研究者认为大约 5% 的乳腺癌是由于基因突变引起的,其中肿瘤抑制基因 BRCA1 和 BRCA2 与乳腺癌发病的关系较为密切。对 BRCA1 和 BRCA2 的研究主要见于国外的报道,国内的研究较为少见^[2-3]。本研究拟对 BRCA1 和 BRCA2 基因的部分外显子(BRCA1 基因第 5、11、18 外显子, BRCA2 基因第 11 外显子)在散发性乳腺癌患者和健康人群中的突变情况作初步探讨。

1 材料与方法

1.1 标本收集

83 例女性散发性乳腺癌患者(乳腺癌组)外周静脉血分别由广州医学院附属荔湾医院、广东省中医院和广州医学院附属肿瘤医院提供。患者均为汉族,年龄 32~73 岁,平均年龄 50.2 ± 11.3 岁,均经组织病理学诊断为乳腺癌,并排除家族遗传性原因,其中 85.5%(71/83)为乳腺导管上皮细胞癌,14.5%(12/83)为乳腺浸润癌。86 例女性健康人(健康对照组)外周血来源于广州血库和广州市第一人民医院。健康人均为汉族,年龄 33~70 岁,平均年龄为 50.3 ± 10.6 岁。外周血标本保存于 -20°C 冰箱中。

1.2 基因组 DNA 的提取

采用常规的酚氯仿方法提取基因组 DNA,经定量测定后稀释为 $50 \text{ ng}/\mu\text{l}$ 备用,操作按美国 Promega 公司生产的外周血基因组 DNA 提取试剂盒说明进行。

1.3 DNA 体外扩增聚合酶链反应(PCR)

所有 PCR 引物由上海生物工程公司合成,引物序列及退火温度见表 1。

PCR 试剂盒购于 Promega 公司。检测范围涵盖 BRCA1 基因第 5、11 外显子的 cDNA 第 789~4230 碱基, BRCA1 基因第 18 及 BRCA2 第 11 外显子, 共为 5 对引物(表 1)。反应总体积为 25 μ l, 含 100~600 ng 模板 DNA、0.3 μ mol/L 两端引物、200 μ mol/L 三磷酸脱氧核糖核苷(dNTP)、2.0 mmol/L $MgCl_2$ 、1.0 U Taq DNA 聚合酶和相应的缓冲液。循环条件为: 94.5 $^{\circ}C$ 预变性 5 min; 94.5 $^{\circ}C$ 变性 45 s、55 $^{\circ}C$ 退火 45 s(不同引物退火温度稍有不同, 可根据引物的解链温度值而定)、72 $^{\circ}C$ 延伸 45 s, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}C$ 延伸 10 min。

表 1 BRCA1 和 BRCA2 各外显子的引物序列及片段在全长基因上的位置

外显子	位置	5'端引物序列	3'端引物序列	解链温度($^{\circ}C$)
BRCA1				
5	(29429)254~(29506)331	5'-CTCTTAAGGGCAGTTGTGAG-3'	5'-ATGGTTTATAGGAACGCTAIG -3'	55
11A	(41102)789~(41218)907	5'-CTCTCAGGAAAGTAACTCGTT-3'	5'-GAGTAATGAGTCCAGTTTGGT-3'	52
11B	(41102)789~(44527)4215	5'-CTGAGTGACAAGGAATTGGT-3'	5'-AAAGCATAAACATTTAGCTCAC -3'	55
18	(72011)5194~(72088)5273	5'-GGCTCTTTAGCTTCTTAGGAC-3'	5'-CTCAGACTCAGCATCAGC-3'	54
BRCA2				
11	2137~7068	5'-GGGAAGCTTCATAAGTCAGTC-3'	5'-TTGTAAIGAAGCATCTGAAC -3'	55

1.4 单链构象多态性(single strand conformation polymorphism, SSCP)分析

制备 6% 聚丙烯酰胺凝胶, 1 \times Tris-硼酸缓冲液, 200 V 电压, 预电泳 1 h。然后, 取前述 PCR 产物 10 μ l 与 3 μ l 甲酰胺, 用加样缓冲液混匀后沸水浴 10 min, 立即于冰上骤冷, 上样。在 80 V 电压下, 于 4 $^{\circ}C$ 冰箱内, 电泳 16 h, 银染染色。10% 乙醇固定 5 min; 蒸馏水洗涤 2 次, 每次 2 min; 1% HNO_3 , 5 min; 蒸馏水洗涤 2 次, 每次 2 min; 0.1% $AgNO_3$ 银染 15 min; 蒸馏水洗涤 3 次, 每次 20 s; 将凝胶放入显影液中, 使其显影至可见清晰条带为止, 约 5 min; 10% 冰乙酸 3 min, 终止反应, 封膜保存。

1.5 DNA 序列分析

异常的 SSCP 条带均进行 DNA 直接测序, 此工作委托上海基康公司完成。

1.6 限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)检测^[2]

取 BRCA1 基因 11exon PCR 产物 10 μ l, 加入 BseNI 限制性内切酶 2 U, 65 $^{\circ}C$ 水浴 3 h, 电泳检测 2430 位单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)。为探讨病例及健康人中单核苷酸多态的分布状况是否存在差异, 通过对 BRCA1 基因 2430 位 T \rightarrow C 前后碱基序列的分析, 采用可以特异识别该位点(T \rightarrow C)的核酸内切酶 BseNI, 对病例及健康对照组进行该位点单个碱基变化的酶切检测。如该碱基为 C, 则 DNA 链被切开。如该碱基为 T, 则酶切后片段为 216、66、30 bp; 如该碱基为 C, 则片段为 170、66、46、30 bp。

1.7 统计学分析方法

所有数据均应用 SPSS10.0 统计软件包进行处理分析。成组设计的定性资料比较采用 χ^2 检验, P 值取双侧 0.05 检验界值。

2 结果

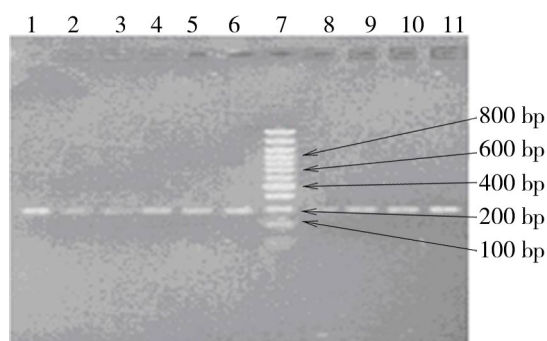
2.1 BRCA1 和 BRCA2 基因突变 PCR-SSCP 检测结果

对 83 例乳腺癌患者及 86 例健康人血液的 BRCA1 和 BRCA2 基因(共 5 对引物)进行 PCR-SSCP 检测后发现乳腺癌患者有 12 例、健康人有 2 例发生 BRCA1 基因突变(表 2, 图 1~4), 两组间 BRCA1 基因突变率的差异有统计学意义($\chi^2=8.18, P<0.05$)。BRCA2 基因检测未见异常条带。

表 2 BRCA1 和 BRCA2 基因突变的 PCR-SSCP 检测情况

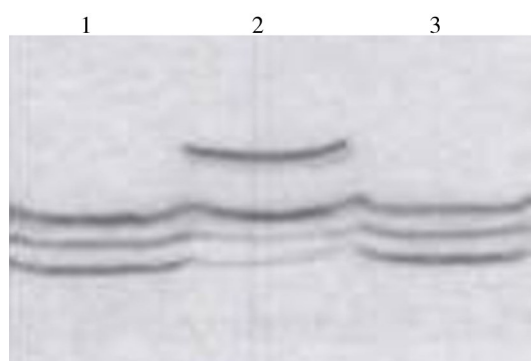
分组	n	BRCA1 突变(例)				BRCA1 基因	BRCA2 基因	BRCA2 基因
		5exon	11Aexon	11Bexon	18exon	突变率(%)	11exon 突变	11exon 突变率
乳腺癌组	83	2	4	4	2	14.5 ^a	0	0
健康对照组	86	0	1	1	0	2.3	0	0

a: $P<0.05$, 与健康对照组比较($\chi^2=8.18$)



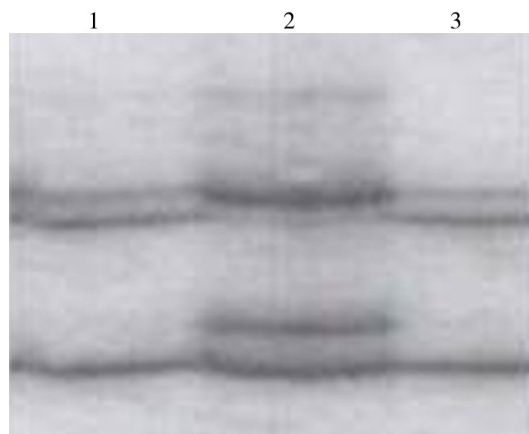
1—6, 8—11: BRCA1 基因 11B 外显子 PCR 产物; 7: 标记条带; BRCA1 基因 11B 外显子 PCR 产物在琼脂糖凝胶电泳检测均显示单一条带, 与 DNA 标记条带的相应片段长度一致, 表明 BRCA1 基因 11B 外显子在所检测的片段上没有明显的插入或缺失。

图 1 BRCA1 基因第 11B 外显子部分标本的 PCR 产物



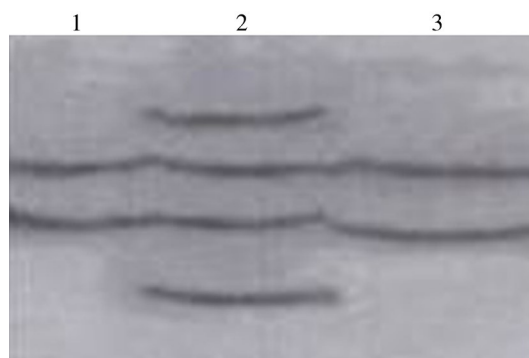
1, 3: 正常条带; 2: 异常条带

图 2 BRCA1 基因第 5 外显子的 SSCP 检测结果



1,3:正常条带;2:异常条带

图 3 BRCA1 基因第 11 外显子的 SSCP 检测结果



1,3:正常条带;2:异常条带

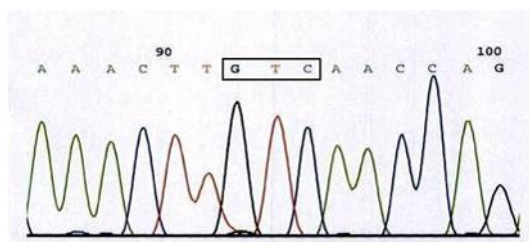
图 4 BRCA1 基因第 18 外显子的 SSCP 检测结果

2.2 DNA 测序分析

将 PCR-SSCP 检测有突变条带的 14 例样本回收、纯化进行 DNA 直接测序后,发现 12 例乳腺癌患者分别在 BRCA1 基因第 5 外显子的 cDNA 273 和 287(C→G 和 A→T), 11 外显子的 cDNA 2430、2532、2630、2685、3199、3232、3667 和 3876(T→C、T→C、T→G、T→C、C→G、A→G、A→G 和 C→A), 18 外显子的 cDNA 5206 和 5214(T→A 和 C→T) 碱基位点处存在单个碱基的变化,并且 cDNA 第 2430、2630 位分别存在一个 T→C、T→G 的转换,均属同义突变,为多态性表现;而 2 例健康对照者在 11 外显子的 cDNA 2430、2630 (T→C、T→G) 各发生一例同义突变,亦为多态性表现(图 5~16)。

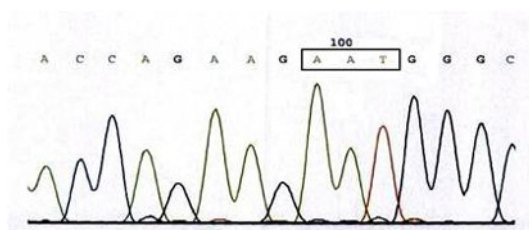
2.3 BRCA1 基因 2430 位与 2630 位显示为 T/C 或 T/G 单核苷酸多态

由 DNA 测序图 7、9 所示:BRCA1 基因 2430 位点与 2630 位点单个碱基的变化并未导致氨基酸的变化,即 TTG、CTG 均为亮氨酸的密码子,GTT、GTG 均为缬氨酸的密码子,此为同义点突变或称单核苷酸多态。病例及健康



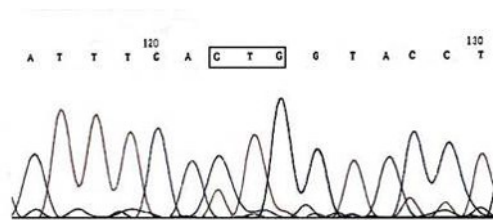
5Exon 第 273 位碱基上“C”被“G”取代, 第 52 位密码子编码的亮氨酸被缬氨酸替代, 属错义突变。

图 5 BRCA1 基因外显子 5 的 cDNA 273 位碱基突变



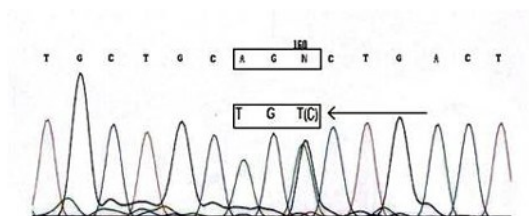
5Exon 第 287 位碱基上“A”被“T”取代, 第 56 位密码子编码的赖氨酸被天酰氨酸替代, 属错义突变。

图 6 BRCA1 基因外显子 5 的 cDNA 287 位碱基突变



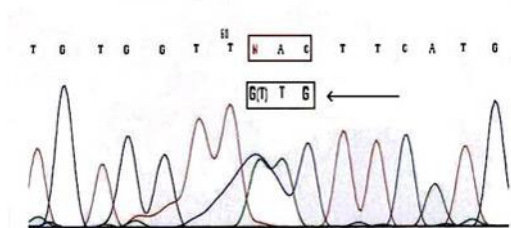
11 Exon 第 2430 位碱基上氨基酸“T”被“C”取代, 但第 771 位密码子编码的亮氨酸没有改变, 属同义突变, 为多态性。

图 7 BRCA1 基因外显子 11 的 cDNA 2430 位碱基突变



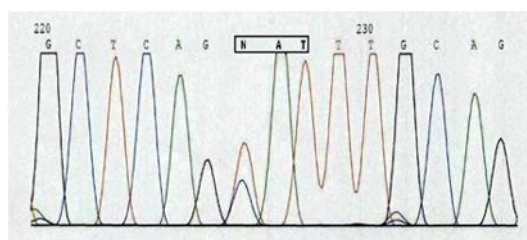
11Exon 第 2532 位碱基上“T”被“C”取代, 从而使第 805 位密码子编码的半光氨酸被丝氨酸替代, 为错义突变。

图 8 BRCA1 基因外显子 11 的 cDNA 2532 位碱基突变



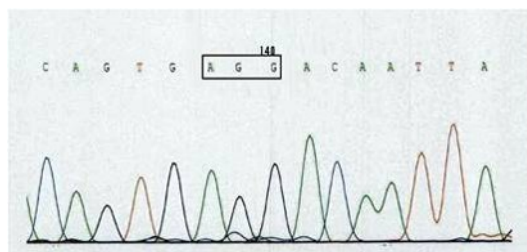
11Exon 第 2630 位碱基上“T”被“G”取代,但第 837 位密码子编码的
 缬氨酸没有改变,属同义突变,为多态性。

图 9 BRCA1 基因外显子 11 的 cDNA 2630 位碱基突变



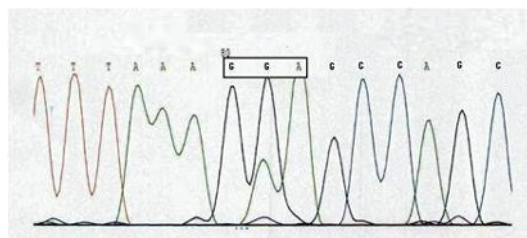
11 Exon 第 2685 位碱基上“T”被“C”取代,从而使第 856 位密码子编码的
 酪氨酸被组氨酸替代,为错义突变。

图 10 BRCA1 基因外显子 11 的 cDNA 2685 位碱基突变



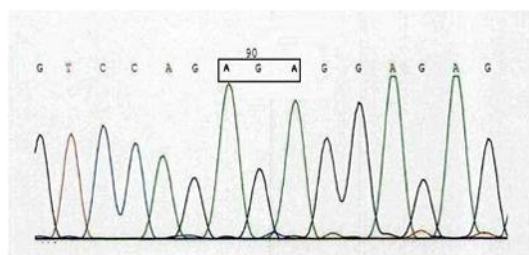
11 Exon 第 3191 位碱基上“C”被“G”取代,从而使第 1024 位密码子编码的
 丝氨酸被精氨酸替代,为错义突变。

图 11 BRCA1 基因外显子 11 的 cDNA 3191 位碱基突变



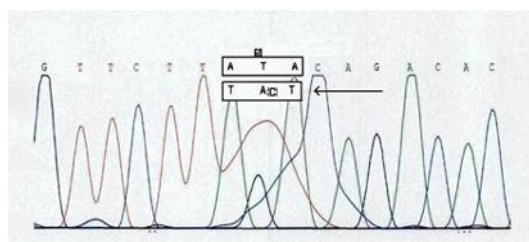
11Exon 第 3232 位碱基上“A”被“G”取代,从而使第 1038 位密码子编码的
 谷氨酸被甘氨酸替代,为错义突变。

图 12 BRCA1 基因外显子 11 的 cDNA 3232 位碱基突变



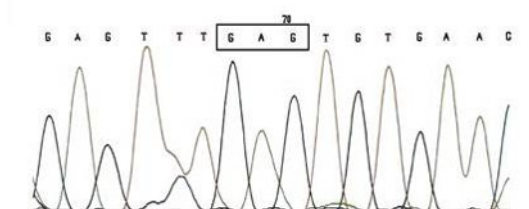
11 Exon 第 3667 位碱基上“A”被“G”取代,从而使第 1183 位密码子编码的赖氨酸被精氨酸替代,为错义突变。

图 13 BRCA1 基因外显子 11 的 cDNA 3667 位碱基突变



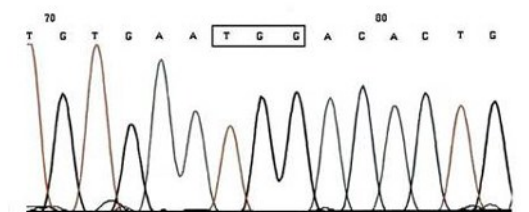
11Exon 第 3876 位碱基上“C”被“A”取代,从而使第 1253 位密码子编码的丝氨酸被酪氨酸替代,为错义突变。

图 14 BRCA1 基因外显子 11 的 cDNA 3876 位碱基突变



18Exon 第 5206 位碱基上“T”被“A”取代,从而使第 1696 位密码子编码的缬氨酸被谷氨酸替代,为错义突变。

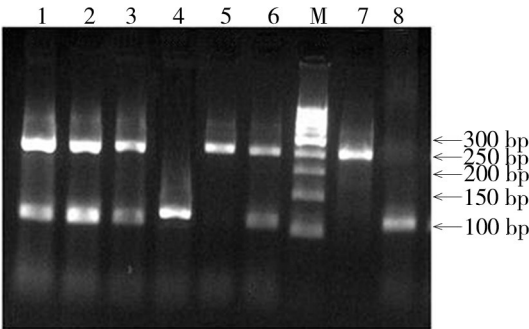
图 15 BRCA1 基因外显子 18 的 cDNA 5206 位碱基突变



18Exon 第 5214 位碱基上“C”被“T”取代,从而使第 1699 位密码子编码的精氨酸被色氨酸替代,为错义突变。

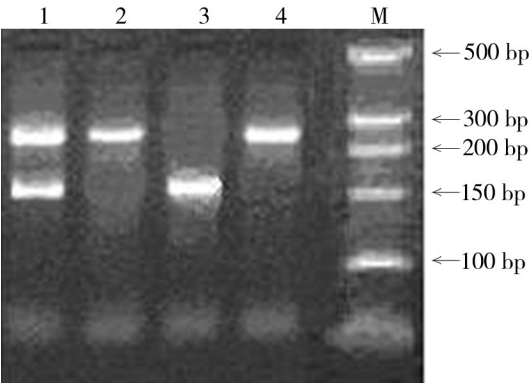
图 16 BRCA1 基因外显子 18 的 cDNA 5214 位碱基突变

对照进行 BRCA1 基因 2430 位点单个碱基变化的酶切检测结果见图 17~18;cDNA 2430 碱基 T→C 单个碱基变化在乳腺癌组及健康对照组中的分布见表 3,4。结果显示,BseN I 位点 C 等位基因分布在乳腺癌组和健康对照组中分别为 7.8%和 4.5%,频率均高于 1%,即该单个碱基的变化应为单核苷酸多态;C 等位基因在乳腺癌组中的频率高于健康对照组,但差异无统计学意义($\chi^2=0.54,P=0.46$);乳腺癌组 BseN I 位点基因型分布与健康对照组比较亦无统计学意义($\chi^2=0.39,P=0.82$)。



1~3,6:T/C;4,8:CC;5,7:TT;M:标记条带

图 17 乳腺癌部分样本 BRCA1 基因第 2430 碱基位点的 BseN I 酶切结果



1:T/C;2,4:TT;3:CC;M:标记条带

图 18 健康对照组 BRCA1 基因第 2430 碱基位点的 BseN I 酶切结果

表 3 BseN 等位基因在乳腺癌和健康对照组中的分布

分组	T 等位基因数(%)	C 等位基因数(%)	合计
乳腺癌组	153(92.2)	13(7.8)	166
健康对照组	162(94.2)	10(4.5)	172
合计	315	23	338

$\chi^2=0.54,P=0.46$

表 4 乳腺癌和健康对照组中 BseN 位点的

基因型分布

(例)

分组	TT 基因型	TC 基因型	CC 基因型	合计
乳腺癌组	72	9	2	83
健康对照组	75	10	1	86
合计	147	19	3	169

$$\chi^2 = 0.39, P = 0.82$$

3 讨论

流行病学研究发现^[1-4],乳腺癌患者一级亲属的患病危险性显著高于一般人群,特别是在早年发生肿瘤的患者中危险性更高。这些证据表明存在与乳腺癌密切相关的基因。1990 年在 17 号染色体长臂(17q)发现了乳腺癌易感基因(BRCA1),此基因的突变与超过 45% 的家族性乳腺癌相关;1994 年又发现 BRCA2 基因。两基因先后被克隆^[1-2],研究提示两基因均与乳腺癌发生有关,且为患乳腺癌的高危险易感基因。其中 BRCA1 与乳腺癌和卵巢癌相关,而 BRCA2 与卵巢癌的发生无关,但 BRCA2 与有男性乳腺癌患者的家系有关。亦有研究结果显示^[4-6]:BRCA1 和 BRCA2 均属于肿瘤抑制基因,表达的蛋白与 DNA 损伤后的修复有关;它们分别位于第 17 号和第 13 号染色体上。20 世纪 90 年代后期,针对 BRCA1 和 BRCA2 的研究在世界范围内得到重视。在白人一般群体中 BRCA1 的突变基因频率大约为 0.05%~0.2%,而在乳腺癌患者中 BRCA1 基因的突变率大约为 5%,早期乳腺癌患者则为 12%^[3-4]。亚洲人群中有关乳腺癌 BRCA1 突变的研究较少。日本、新加坡和香港等有部分报道^[5-11]。对 BRCA1 的分析发现,日本乳腺癌患者中存在错义突变、缺失突变、无义突变^[7];另有学者则认为 BRCA1 中的突变以错义突变为主,白人的突变率高于日本人^[6,8]。BRCA1 基因包括 5592 个核苷酸,由 22 个外显子组成。有文献报道,BRCA1 基因可发生于多形式多位点的基因突变,种类超过 40 多种,突变可发生在整个基因的任何位置,以外显子 11(48.5%)、2(18.6%)、20(9.2%)、5(8.2%)、18(31%)和 21(3.1%)为多见^[1-10]。根据国内外研究状况,突变率比较高的 11 外显子以及国内研究较少的 5、18 外显子被选择作为本研究的主要基因。按文献提供的 BRCA1 基因碱基序列,选择 5、11A、11B、18 与 BRCA2 第 11 外显子,各设计一对引物,应用 PCR-SSCP 方法筛选和 DNA 直接测序法,检测乳腺癌患者 BRCA1 基因外显子突变及突变位置,将检测结果与 Gene Bank 中野生型 BRCA1 基因比较。结果显示:83 例乳腺癌患者中,有 12 例患者发生基因突变,分别在第 5、11 和 18 外显子上有突变;乳腺癌患者的 BRCA1 基因突变率高于健康对照者,提示在乳腺癌早期诊断具有一定临床价值。本研究中,有 4 例乳腺癌患者和 2 例健康人的 cDNA 基因突变位于 2430、2630 碱基核苷酸,为同义突变,属于多态变化。应用

RFLP 方法,采用可以特异识别该位点(T→C)的核酸内切酶 BseN I,对83 例病例及 86 名健康对照进行了该 11B 外显子 2430 位点单个碱基变化进行的定性酶切检测鉴定,结果显示,C 等位基因频率无论是在患者组(7.8%)还是在对照组(4.5%)中,均高于 1%,即该碱基的变化应为单核苷酸多态,与有关研究相似^[1]。

近年来,有关乳腺癌患者 BRCA1 基因的研究发现,多种形式的基因突变可发生于 BRCA1 基因的整个编码区,种类超过 1000 多种,而且没有明显的热点形成。有研究者在冰岛、瑞典和非洲妇女早期乳腺癌人群中检出了较高的 BRCA1 突变^[3-7],认为 BRCA1 突变的种类及频率可能与地域、人种有关。国内有关 BRCA1 的研究绝大多数都集中在第 2、11 和 20 外显子上^[8-12],结果显示 BRCA1 基因突变不局限于有卵巢癌或乳腺癌家族史的妇女,因此不能单纯根据家族史来判断有无 BRCA1 基因突变。目前,散发性乳腺癌 BRCA1 突变率的研究结果也很不一致。赖春宁等^[11-13]对 38 例散发性乳腺癌患者血中 DNA 的 BRCA1 基因突变进行了检测,突变率为 10.5%(4/38);而崔静和董秋明等^[1,14]分别对 79 例和 34 例乳腺癌患者进行 11 外显子检测,发现 2430 位点呈多态性,此结果与本研究结果一致。本研究结果显示,乳腺癌患者中 BRCA1 基因的突变率高于健康对照组;乳腺癌组 BRCA-1 基因第 11B 外显子 C 等位基因的频率和 2430 位点基因型高于对照组,但差异无统计学意义($P=0.46$),SNP 的分布与国内有研究相似^[1-2]。由于国内对 BRCA1 研究较少,没有对 BRCA1 基因编码外显子的全部序列进行检测,以及检测方法可能存在不足^[15],因此目前国内 BRCA1 基因研究与国外相比存在较大的差距,值得进行进一步研究。

参考文献

- [1] 王国丽,杜传书,林群娣. 散发性乳腺癌中 BRCA1 基因突变. 中华医学遗传学杂志,1997,12: 332-334.
- [2] 崔静,沈福民,沈坤炜,等. 华东地区乳腺癌散发病例 BRCA1、BRCA2 基因突变. 中国癌症杂志,2001,11: 441-443.
- [3] Scully R, Livingston D M. In search of the tumour suppressor functions of BRCA1 and BRCA2. Nature,2000,408: 429-432.
- [4] Szabo C I, King M C. Population genetics of BRCA1 and BRCA2. Am J Hum Genet,1997,60:1013-1020.
- [5] Sng J H, Chang J, Feroze F, *et al.* The prevalence of BRCA1 mutations in Chinese patients with early onset breast cancer and affected relatives. Br J Cancer,2000,82:538-542.
- [6] Katagiri T, Kasumi F, Yoshimoto M, *et al.* High proportion of missense mutations of the BRCA1 and BRCA2 genes in Japanese breast cancer families. J Hum Genet,1998,43:42-48.
- [7] Krainer M, Silva Arrieta S, Fitz Gerald M G, *et al.* Differential contributions of BRCA1 and BRCA2 to early onset breast cancer. N Engl J Med,1997,336:1416-1421.
- [8] Khoo U S, Ozelik H, Cheung A N, *et al.* Somatic mutations in the BRCA1 gene in Chinese sporadic breast and ovarian cancer. Oncogene,1999,18:4643-4646.
- [9] Tang N L S, Pang C P, Yeo W, *et al.* Prevalence of mutations in the BRCA1 gene among Chinese patients with breast

- cancer. J Natl Cancer Inst, 1999, 91: 882—885.
- [10] Goffin J R, Chappuis P O, Begin L R, *et al.* Impact of germline BRCA1 mutations and overexpression of p53 on prognosis and response to treatment following breast carcinoma: 10-year follow up data. Cancer, 2003, 97: 527—536.
- [11] Scully R, Puget N, Vlasakova K. DNA polymerase stalling, sister chromatid recombination and the BRCA genes. Oncogene, 2000, 19: 6176—6183.
- [12] 赖春宁, 江泽飞, 宋三泰, 等. 38 例散发性乳腺癌患者 BRCA1 基因突变检测. 癌症, 1999, 18: 389—391.
- [13] 王曦, 杨名添, 方嫵, 等. 231 例乳腺癌患者乳腺癌易感基因 BRCA1 的突变检测及分析. 癌症, 2001, 20: 916—920.
- [14] 董秋明, 姚雪梅, 赵一平, 等. 散发性乳腺癌中 BRCA1 基因突变的检测. 苏州大学学报(医学版), 2002, 22: 528—529, 536.
- [15] 丁晓曼, 郎景和. BRCA1 基因在早发性乳腺癌中的突变. 中华医学杂志, 2000, 80: 111—113.

(收稿日期: 2008-09-18)

(本文编辑: 罗承丽)

鲁培荣, 谭敏, 宾晓农, 等. 散发性乳腺癌 BRCA1 和 BRCA2 基因突变分析[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2009, 3(3): 317—328.