

· 讲座 ·

乳腺癌易感基因 1/2 的研究进展

邓云特 王国平

乳腺癌易感基因(breast cancer susceptibility gene, BRCA)1 是世界上第一个被发现的家族性乳腺癌抑癌基因。BRCA1 分离出 1 年以后,研究者又鉴定和克隆出第二个乳腺癌抑癌基因 BRCA2^[1-2]。在多数遗传性乳腺癌中广泛存在 BRCA1/2 的突变^[3-4]。而散发性乳腺癌患者常见 BRCA1 基因突变,罕见 BRCA2 基因突变^[5]。有其中一种基因功能缺失性突变的妇女约 85% 在 70 岁时罹患乳腺癌^[6]。在这些乳腺癌患者中, BRCA1 和 BRCA2 的一个等位基因发生种系突变,而另一个等位基因在癌变过程中突变或丢失,因此, BRCA1 和 BRCA2 被认为是抑癌基因。除乳腺癌外, BRCA1 和 BRCA2 基因的遗传突变与卵巢癌、前列腺癌和胰腺癌的发生也有关^[3,7-8]。随着研究的不断深入, BRCA1/2 基因复杂的作用机制得到了更加广泛的认识。

1 BRCA1、BRCA2 基因及编码蛋白的结构

BRCA1 基因于 1994 年被分离和克隆,定位于染色体 17q21 位点,含有 22 个编码蛋白的外显子和 2 个非编码外显子,在染色体上跨度约 100 kb,编码区约 55.5 kb。BRCA1 基因编码的多功能区核蛋白由 1863 个氨基酸组成。氨基末端含有指环结构,羧基末端含有两个 BRCA1 C 末端功能区(BRCA1 C-terminus, BRCT)^[9]。这两个保守功能区内发生突变与肿瘤的发生密切相关。BRCA1 的第 11 号外显子最大,编码的蛋白最多,多种蛋白可以与这个区域相结合,如 P53、c-Myc 等。第 11 号外显子中部分区段还可以非特异性地与 DNA 结合,在 DNA 损伤修复中起作用^[10]。

BRCA2 基因定位于 13q12, 编码的蛋白由

3418 个氨基酸组成。BRCA2 蛋白有多个功能区,包括 C 端核定位信号, N 端转录激活区和 8 个 BRC 重复序列(BRC repeats)(图 1)。

2 BRCA1、BRCA2 与 DNA 损伤修复及转录调控

造成 DNA 损伤的体内因素有很多,如体内代谢产生的自由基、紫外线、放射线和自发性 DNA 复制异常等。DNA 损伤后修复对于机体意义重大,能维持基因组的稳定,避免基因突变,从而减少肿瘤发病率。

BRCA1 与细胞中多种负责 DNA 损伤修复的蛋白有相互作用,如 DNA 修复蛋白 RAD50、增殖细胞核抗原(Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、BRCA2、减数分裂重组 11(MRE11)、毛细血管扩张性共济失调突变基因(ATM)、抗凝血酶受体(ATR)等。当 DNA 出现损伤时, BRCA1 募集到损伤处,与 DNA 断裂处结合。随后,与修复相关蛋白进行相互作用,修复损伤的 DNA^[9, 11]。BRCA2 蛋白与乳腺癌易感基因 2 相关因子 35(BRCA2 associated factor 35, BRAF35)形成的复合物可能在 DNA 损伤修复中起一定作用。BRAF35 能识别 DNA 损伤部位的特定 DNA 结构,协助 BRCA2 到达损伤部位。在 DNA 双链断裂的刺激下,一个包括 BRCA2 在内的多蛋白复合物能够启动 DNA 修复。双链 DNA 断裂诱导这个复合物通过与 PCNA 结合而到达损伤部位^[12]。

将 BRCA1、BRCA2 与转录调控联系起来是基于发现 BRCA1 和 BRCA2 的 C 末端富含保守的具有转录活性的酸性氨基酸,将 BRCA1 C-末端(1528 ~ 1863 aa)与半乳糖凝集素 4(galectin 4, GAL4) DNA 结合区融合后, GAL4 依赖的启动子转录被激活^[13]。但到目前为止, BRCA1 只能非特异性结合 DNA 序列,它的转录激活特性依赖于特异性结合 DNA 的转录因子^[14-15]。BRCA1 还与负责细胞周期监控点调节的许多重要因子相互作用,因此 BRCA1 还介导了 DNA 损伤修复和细胞周期调

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2013.05.013

作者单位:430079 武汉,湖北省肿瘤医院病理科(邓云特);
430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所
(王国平)

通信作者:王国平, Email: wanggp@hotmail.com

控^[16-17]。BRCA2 能与 BRCA1、修复蛋白 RAD51、转录调节子 P53、转录共激活子 p300/CBP 相关因子、有丝分裂监测点激酶 hBUBR1 以及参与细胞周期进程的 BRAF35 等相互作用^[18]。

p53 作为抑癌基因已获得一致公认,多种肿瘤的发生与 p53 缺失相关。BRCA1 的 BRCT 结构域以及 11 号外显子上有 p53 结合位点,结合后能激活 p53 及下游基因转录,而过多的 p53 又能抑制 BRCA1 的表达,这样就形成一个负反馈调控^[19]。BRCA1 还能够稳定 P53 蛋白,通过抑癌基因 p14/ARF 增强 P53 的活性^[20]。p53 的转录调节靶基因 p21 最初被鉴定为 G₁ 期的细胞周期依赖性蛋白激酶(CDK)的抑制子,是在细胞老化过程中聚积的生长抑制子。在人结肠癌细胞中表达野生型 BRCA1 能激活 p21 启动子的转录,从而引起细胞 G₁ 期阻滞。而肿瘤相关的 BRCA1 突变体不能激活 p21 启动子^[21-22]。

另外,p27 具有肿瘤抑制因子的作用,是乳腺肿瘤发生过程中细胞周期异常调节的靶基因^[23]。对 Ashkenazi 犹太妇女原发性侵袭性乳腺癌的研究发现,BRCA1 和 BRCA2 突变与 p27 的低表达有关^[24]。

3 BRCA1、BRCA2 与细胞的增殖及凋亡

研究发现,BRCA1 具有重要的细胞增殖抑制作用,并能诱导细胞凋亡^[25]。病毒载体介导的 BRCA1 过表达能抑制乳腺癌和卵巢癌的细胞增殖,而用基因沉默的方法减少 BRCA1 表达能导致细胞增殖活性上调^[25]。另外,BRCA1 能激活细胞周期抑制子 p21 并引起生长抑制 Gadd45 基因转录,通过 p21 和 Gadd45 介导其发挥生长抑制作用^[26]。BRCA1 的生长抑制作用还依赖于视网膜细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein, Rb)的正常功能,BRCA1 通过 C 末端的转录活化区(TAD)功能区和 N 末端 300~400 氨基酸之间的区域直接与 Rb 进行相互作用,Rb/130 和 BRCA1 可通过调节转录共抑制复合物 CtIP/CtBP 的活性从而调节基因的表达^[27]。

与 BRCA1 相反,外源性表达 BRCA2 蛋白能够协同 Rad51 共同下调 p53 的转录活性^[28]。因此,BRCA2 是联系 DNA 修复通路和细胞周期调控的纽带。体外实验证明,BRCA2 能够与有丝分裂监测点激酶 hBUBR1 结合,并被其磷酸化^[29]。

BRCA2 还能与特异性识别十字结构的蛋白 BRAF35 形成复合物,这种复合物在重组修复时形成,可能有利于 BRAF35 蛋白将 BRCA2 带到 DNA 损伤位点^[30]。

BRCA1 还参与细胞因子、生长因子和激素介导的调控凋亡和细胞存活的信号途径。在 γ -干扰素的刺激下,BRCA1 能够协同信号传递和转录活化因子 1(Stat1)调节 γ -干扰素的应激反应基因(如 p21)。

凋亡是细胞死亡的自然生理过程,对于生物体维持基因组稳定、避免肿瘤发生意义重大。在某些应激刺激下(如 DNA 损伤、染色体异常、缺氧等),p53 的转录激活功能被激活,诱导细胞周期抑制基因、凋亡诱导基因和 DNA 修复基因的表达。在损伤不能被修复的情况下,p53 能启动细胞凋亡,清除未被修复的损伤细胞。与 p53 相似,BRCA1 也参与细胞凋亡的信号通路^[31]。1996 年就有文献报道,增加 BRCA1 的表达能够诱导人乳腺癌细胞、小鼠成纤维细胞(NIH3T3 细胞)发生凋亡^[32]。在 NIH3T3 细胞中持续表达 BRCA1 的反义 RNA,能促进细胞转化,对抗细胞凋亡的发生。还有文献报道,增加 BRCA1 的表达可以促进 Gadd45 表达,进而启动 JNK/SPAK 依赖的细胞程序性死亡^[33]。BRCA1 还能通过 p53 介导激活 Bax 凋亡基因的转录,导致细胞发生凋亡^[34]。临床研究发现,存在 BRCA1 突变的乳腺癌同时存在 Bcl-2 表达下降,而 Bcl-2 是一种凋亡抑制基因^[35]。以上研究表明,BRCA1 与细胞凋亡调控关系密切,BRCA1 基因突变以后,可能导致细胞凋亡机制发生缺陷,从而引起肿瘤发生^[36]。

4 BRCA1/2 与乳腺癌、卵巢癌等肿瘤的研究进展

BRCA1 的种系突变与遗传性乳腺癌、卵巢癌的关系已经得到广泛认识。最新研究发现,三核苷酸重复 9(TNRC9)通过与野生型 BRCA1 启动子和 cAMP 应答元件结合蛋白(CREB)复合体结合而改变其启动子的甲基化状态,进而下调 BRCA1 表达,从而可能促进散发性乳腺癌的发生^[37]。而对于具有乳腺癌家族史的患者,如果 BRCA1/2 基因没有发生突变,与普通人群相比,其发生卵巢癌的概率并不增加^[38]。

BRCA1 突变在不同组织学及分子类型的乳腺癌间存在差异,其较常见于三阴性乳腺癌(不表

达 ER、PR 和 HER-2)^[39]。更重要的是,由于 BRCA1 或 BRCA2 突变导致 DNA 的修复功能缺损,使得癌细胞对损伤 DNA 的化疗药物更加敏感。临床前研究和一些临床证据显示这种细胞可能对紫杉烷类耐药^[40],但临床研究(主要是回顾性和一些前瞻性研究)已经表明,利用这一特征可以选择个体化的化疗药物方案^[41]。

随着 BRCA1/2 等基因研究不断取得新的进展,相关遗传学风险分析模型的制定和应用也越来越受到广泛的重视。研究者对乳腺癌患者进行标准的 BRCA1 遗传学检测时发现,诊断时的年龄、犹太血统以及父母双亲的家族病史是显著的预测因素^[42]。近年来,陆续有研究对多种遗传学风险评估模型进行对比分析,以期寻找最佳的预测模型。一项研究纳入了德国的 7352 个遗传性乳腺癌和卵巢癌家庭,评估了乳腺癌遗传风险模型 BOADICEA、IBIS、BRCAPRO 和 eClaus 对 BRCA1/2 突变的预测价值,最终推荐使用 BRCAPRO 和 BOADICEA,而不推荐使用 eCLAUS^[43]。英国针对 978 例 BRCA1 和 909 例 BRCA2 突变基因携带者进行了一项前瞻性风险研究,发现在 BRCA2 突变基因携带者中联合检测常见的乳腺癌易感性等位基因,可以预测其患乳腺癌的风险^[44],这一结论与回顾性研究结果一致。

综上所述,BRCA1/2 与家族性乳腺癌、卵巢癌高度相关。除此之外,近年来的几项研究结果也证明,BRCA1 突变可能还与某些其他类型的癌症如结肠癌、胰腺癌、前列腺癌等有关^[45-46]。但 BRCA1 基因突变导致其他恶性肿瘤如结肠癌和前列腺癌等的绝对风险似乎不大。为查明 BRCA1 基因突变对其他类型癌症风险的影响,英国剑桥大学的 Antoniou 等^[47]分析了 11 847 例有乳腺癌或卵巢癌家族史且家族成员中至少有一人携带 BRCA1 突变的患者资料,结果显示,BRCA1 基因突变携带者其胰腺癌或子宫癌的患病风险为非携带者的 2 倍,而宫颈癌的患病风险更是比非携带者高了将近 4 倍。对于年龄低于 65 岁的男性而言,BRCA1 突变与前列腺癌风险增加有关^[48]。在另一项研究中,来自美国费城宾夕法尼亚大学的 Brose 等^[49]分析了 483 例经临床检查确认为乳腺癌或卵巢癌高危人群的 BRCA1 突变携带者的资料。与普通人群相比,携带 BRCA1 突变的这些妇女罹患结肠癌的风险为普通人群的 2 倍,胰腺

癌为普通人群的 3 倍,胃癌为 4 倍,输卵管癌为 120 倍^[49]。这项研究为临床医师了解 BRCA1 基因突变引起其他类型癌症的风险提供了重要信息。这项研究表明,与 BRCA1 基因突变有关的其他类型癌症的风险实际上相当小。但该研究的结论提示 BRCA1 基因突变对癌症风险的影响主要限于女性,可能是与研究所选择的调查对象有关。携带 BRCA1/2 基因突变的男性罹患其他肿瘤的情况尚不清楚,因此,BRCA1/2 基因突变与乳腺/卵巢癌以外的其他肿瘤的相关性还有待更进一步研究。

5 结语

BRCA1/2 在细胞生长、细胞凋亡、细胞周期调控、转录调控和 DNA 损伤修复等方面都发挥着重要的生理作用。一旦出现 BRCA1/2 基因突变,就会导致细胞周期调控异常,细胞失控性生长,或者 DNA 损伤后得不到修复,这些均会增加肿瘤发生的可能性。因此,进一步探索 BRCA1/2 在肿瘤中的作用意义重大,也可能成为肿瘤基因治疗的一个有效靶点。

【关键词】 乳腺肿瘤; 基因

【中图法分类号】 R73 【文献标志码】 A

参考文献

- [1] Black D. Familial breast cancer. BRCA1 down, BRCA2 to go [J]. *Curr Biol*, 1994, 4(11): 1023-1024.
- [2] Bishop DT. BRCA1, BRCA2, BRCA3... a myriad of breast cancer genes [J]. *Eur J Cancer*, 1994, 30A(12): 1738-1739.
- [3] Barnes DR, Antoniou AC. Unravelling modifiers of breast and ovarian cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: update on genetic modifiers [J]. *J Intern Med*, 2012, 271(4): 331-343.
- [4] Metcalfe K, Lynch HT, Ghadirian P, et al. Risk of ipsilateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 127(1): 287-296.
- [5] 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.
- [6] Easton DF, Ford D, Bishop DT. Bishop, Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium [J]. *Am J Hum Genet*, 1995, 56(1): 265-271.
- [7] Verna EC, Hwang C, Stevens PD, et al. Pancreatic cancer screening in a prospective cohort of high-risk patients: a comprehensive strategy of imaging and genetics [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(20): 5028-5037.
- [8] De Luca P, Vazquez ES, Moiola CP, et al. BRCA1 loss induces GADD153-mediated doxorubicin resistance in prostate

- cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2011,9(8): 1078-1090.
- [9] Roy R, Chun J, Powell SN. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011,12(1): 68-78.
- [10] Weber BL, Abel KJ, Couch FJ, et al. Transcript identification in the BRCA1 candidate region[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1995,33(2): 115-124.
- [11] Foulkes WD. Traffic control for BRCA1[J]. *N Engl J Med*, 2010,362(8): 755-756.
- [12] Huber LJ, Chodosh LA. Dynamics of DNA repair suggested by the subcellular localization of Brca1 and Brca2 proteins[J]. *J Cell Biochem*, 2005,96(1): 47-55.
- [13] Nadeau G, Boufaied N, Moisan A, et al. BRCA1 can stimulate gene transcription by a unique mechanism[J]. *EMBO Rep*, 2000,1(3): 260-265.
- [14] De Siervi A, De Luca P, Byun JS, et al. Transcriptional autoregulation by BRCA1[J]. *Cancer Res*, 2010,70(2): 532-542.
- [15] Nguyen D, Zajac-Kaye M, Rubinstein L, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition enhances p53-dependent and -independent DNA damage responses induced by DNA damaging agent[J]. *Cell Cycle*, 2011,10(23): 4074-4082.
- [16] Privat M, Aubel C, Arnould S, et al. AKT and p21 WAF1/CIP1 as potential genistein targets in BRCA1-mutant human breast cancer cell lines[J]. *Anticancer Res*, 2010,30(6): 2049-2054.
- [17] 李波, 华彬. 乳腺癌 BARD1 基因研究的现状[J/CD]. *中华乳腺癌杂志; 电子版*, 2010,4(5): 554-557.
- [18] Gudmundsdottir K, Ashworth A. The roles of BRCA1 and BRCA2 and associated proteins in the maintenance of genomic stability[J]. *Oncogene*, 2006,25(43): 5864-5874.
- [19] Tercyak KP, Peshkin BN, Brogan BM, et al. Quality of life after contralateral prophylactic mastectomy in newly diagnosed high-risk breast cancer patients who underwent BRCA1/2 gene testing[J]. *J Clin Oncol*, 2007,25(3): 285-291.
- [20] Xie ZM, Li LS, Laquet C, et al. Germline mutations of the E-cadherin gene in families with inherited invasive lobular breast carcinoma but no diffuse gastric cancer[J]. *Cancer*, 2011,117(14): 3112-3117.
- [21] No authors listed. Sitting up and taking notice [J]. *Nat Biotechnol*, 2010,28(5): 381.
- [22] Lee LJ, Alexander B, Schnitt SJ, et al. Clinical outcome of triple negative breast cancer in BRCA1 mutation carriers and noncarriers[J]. *Cancer*, 2011,117(14): 3093-3100.
- [23] Loman N, Borg A. Improving surveillance and quality of life of BRCA mutation carriers[J]. *J Clin Oncol*, 2010,28(22): e376-377.
- [24] Chappuis PO, Kapusta L, Bégin LR, et al. Germline BRCA1/2 mutations and p27(Kip1) protein levels independently predict outcome after breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2000,18(24): 4045-4052.
- [25] Deng CX. BRCA1: cell cycle checkpoint, genetic instability, DNA damage response and cancer evolution[J]. *Nucleic Acids Res*, 2006,34(5): 1416-1426.
- [26] Korde LA, Mueller CM, Loud JT, et al. No evidence of excess breast cancer risk among mutation-negative women from BRCA mutation-positive families[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011,125(1): 169-173.
- [27] Chen Y, Lee WH, Chew HK. Emerging roles of BRCA1 in transcriptional regulation and DNA repair[J]. *J Cell Physiol*, 1999,181(3): 385-392.
- [28] Diamond JR, Borges VF, Eckhardt SG, et al. BRCA in breast cancer: from risk assessment to therapeutic prediction[J]. *Drug News Perspect*, 2009,22(10): 603-8.
- [29] Futamura M, Arakawa H, Matsuda K, et al. Potential role of BRCA2 in a mitotic checkpoint after phosphorylation by hBUBR1[J]. *Cancer Res*, 2000,60(6): 1531-1535.
- [30] Marmorstein LY, Kinev AV, Chan GK, et al. A human BRCA2 complex containing a structural DNA binding component influences cell cycle progression[J]. *Cell*, 2001,104(2): 247-257.
- [31] Mavaddat N, Pharoah PD, Blows F, et al. Familial relative risks for breast cancer by pathological subtype: a population-based cohort study[J]. *Breast Cancer Res*, 2010,12(1): R10.
- [32] Rao VN, Shao N, Ahmad M, et al. Antisense RNA to the putative tumor suppressor gene BRCA1 transforms mouse fibroblasts[J]. *Oncogene*, 1996,12(3): 523-528.
- [33] Harkin DP, Bean JM, Miklos D, et al. Induction of GADD45 and JNK/SAPK-dependent apoptosis following inducible expression of BRCA1[J]. *Cell*, 1999,97(5): 575-586.
- [34] Buck M. A novel domain of BRCA1 interacts with p53 in breast cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2008,268(1): 137-145.
- [35] Laulier C, Barascu A, Guirouilh-Barbat J, et al. Bcl-2 inhibits nuclear homologous recombination by localizing BRCA1 to the endomembranes[J]. *Cancer Res*, 2011,71(10): 3590-3602.
- [36] Einbeigi Z, Enerbäck C, Wallgren A, et al. BRCA1 gene mutations may explain more than 80% of excess number of ovarian cancer cases after breast cancer-a population based study from the Western Sweden Health Care region[J]. *Acta Oncol*, 2010,49(3): 361-367.
- [37] Shan J, Dsouza SP, Bakhru S, et al. TNRC9 downregulates BRCA1 expression and promotes breast cancer aggressiveness[J]. *Cancer Res*, 2013,73(9): 2840-2849.
- [38] Ingham SL, Warwick J, Buchan I, et al. Ovarian cancer among 8005 women from a breast cancer family history clinic: no increased risk of invasive ovarian cancer in families testing negative for BRCA1 and BRCA2[J]. *J Med Genet*, 2013,50(6): 368-372.
- [39] Anders CK, Zagar TM, Carey LA. The management of early-stage and metastatic triple-negative breast cancer: a review[J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2013,27(4): 737-749.

- [40] Kennedy RD, Quinn JE, Mullan PB, et al. The role of BRCA1 in the cellular response to chemotherapy[J]. J Natl Cancer Inst, 2004,96(22): 1659-1668.
- [41] Chalasani P, Livingston R. Differential chemotherapeutic sensitivity for breast tumors with "BRCAness": a review[J]. Oncologist, 2013,18(8):909-916.
- [42] Vig HS, McCarthy AM, Liao K, et al. Age at diagnosis may trump family history in driving BRCA testing in a population of breast cancer patients[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2013,22(10):1778-1785.
- [43] Fischer C, Kuchenbäcker K, Engel C, et al. Evaluating the performance of the breast cancer genetic risk models BOADICEA, IBIS, BRCAPRO and Claus for predicting BRCA1/2 mutation carrier probabilities: a study based on 7352 families from the German Hereditary Breast and Ovarian Cancer Consortium[J]. J Med Genet, 2013,50(6): 360-367.
- [44] Mavaddat N, Peock S, Frost D, et al. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE[J]. J Natl Cancer Inst, 2013,105(11):812-822.
- [45] Suchy J, Cybulski C, Górski B, et al. BRCA1 mutations and colorectal cancer in Poland[J]. Fam Cancer, 2010,9(4): 541-544.
- [46] Greer JB, Whitcomb DC. Role of BRCA1 and BRCA2 mutations in pancreatic cancer[J]. Gut, 2007,56(5): 601-605.
- [47] Antoniou AC, Beesley J, McGuffog L, et al. Common breast cancer susceptibility alleles and the risk of breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: implications for risk prediction[J]. Cancer Res, 2010,70(23): 9742-9754.
- [48] Castro E, Goh C, Olmos D, et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer[J]. J Clin Oncol, 2013,31(14): 1748-1757.
- [49] Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA, et al. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program[J]. J Natl Cancer Inst, 2002,94(18): 1365-1372.
- (收稿日期:2013-01-06)
(本文编辑:罗承丽)

邓云特,王国平. 乳腺癌易感基因 1/2 的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版,2013,7(5):374-378.