

2015 年圣安东尼奥乳腺癌研讨会回顾: 导管原位癌

付丽¹ 李崖青¹ 石爱平²

【摘要】 在 2015 年圣安东尼奥国际乳腺癌研讨会上,乳腺早期病变和 DCIS 的诊治进展仍是讨论的热点之一。本文中,笔者选取了美国贝勒大学医学院李毅教授关于 DCIS 相关研究的报告进行较详尽的回顾,主要内容包括 DCIS 的分子网络机制及其向浸润性癌转化的过程。

【关键词】 乳腺肿瘤; 不典型增生; 原位癌

【中图法分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

Review of 2015 San Antonio Breast Cancer Symposium: ductal carcinoma in situ Fu Li¹, Li Yaqing¹, Shi Aiping². ¹Department of Breast Cancer Pathology, Cancer Institute and Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China; ²Breast Disease Center, First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China

Corresponding author: Fu Li, Email: fulijyb@hotmail.com

【Abstract】 In the San Antonio Breast Cancer Symposium in 2015, the diagnosis and treatment of early breast lesions and ductal carcinoma in situ (DCIS) remained one of hot topics. In this article, we reviewed the report on DCIS presented by Professor Li Yi from Baylor College of Medicine, USA, in this symposium, mainly focused on molecular network mechanism of DCIS and its progression to invasive cancer.

【Key words】 Breast neoplasms; Atypical hyperplasia; Carcinoma in situ

由美国德克萨斯大学健康科学中心癌症治疗研究中心(Cancer Therapy and Research Center, CTRC)、美国癌症研究协会(American Association for Cancer Research, AACR)和贝勒医学院(Baylor College of Medicine)共同主办的第 38 届圣安东尼奥乳腺癌研讨会(San Antonio Breast Cancer Symposium, SABCS),于 2015 年 12 月 8~12 日在美国圣安东尼奥市顺利召开。在本次研讨会中,乳腺的早期病变和 DCIS 的诊治进展仍是讨论的热点之一。在此,笔者选取了美国贝勒大学医学院李毅教授关于乳腺早期病变和 DCIS 的诊治进展等相关研究的报告进行较详尽的回顾,与大家分享。

目前,乳腺癌已经成为威胁女性身心健康的常见恶性肿瘤之一,其发生、发展是乳腺上皮细胞在多种致癌因素的作用下发生基因突变和异常增殖的结

果。在乳腺癌的发生、发展过程中,一般遵循着从“正常乳腺导管—增生—不典型增生(包括导管上皮不典型增生、小叶不典型增生、平坦型上皮不典型性)—DCIS—浸润性癌”这一乳腺癌发展的经典模式。其中,不典型增生(atypical hyperplasia)是病变从良性进展到恶性,量变演变成质变的关键点。DCIS 则被认为是浸润性癌(invasive carcinoma)的前驱病变(precursor lesion)。这一模式可能过于简单,病变的发展可能是循序渐进的,可能是跳跃式的,也可能终止于某些环节,甚至可能会发生逆转而恢复正常。因此,对乳腺癌的前驱病变(如不典型增生和 DCIS)这一重要的病理阶段应给予足够的重视。

一、形成 DCIS 的分子网络机制

1. 乳腺癌发生启动阶段的抗癌屏障

在女性的乳腺组织中,一系列的基因突变在逐渐积累,进而形成早期病变,如乳腺腺上皮细胞增生和不典型增生。在美国,每年乳腺活组织检查结果显示良性的 100 万人中,有 10% 的患者被证实伴有乳腺不典型增生^[1]。在乳腺癌经典模式中,不典型增生为介于良性与恶性之间的病变,由于其具有部

分肿瘤细胞必备的特点,通常被认为是一种癌前病变(precancerous lesion)^[24]。但研究发现,大多数不典型增生进展缓慢,而且不一定会进展成为 DCIS 或浸润性导管癌,即使发展为乳腺癌,也要经历一个多阶段且缓慢的过程^[5]。不典型增生的“惰性”生物学行为可能与其在肿瘤演变过程中,肿瘤促进因素与抗癌屏障的平衡密切相关。肿瘤促进因素包括原癌基因的激活、细胞的异常增生及其诱导的 DNA 等,但这些因素又会启动乳腺癌包括毛细血管扩张性共济失调症突变蛋白(ataxia telangiectasia-mutated, ATM)-细胞周期检验点激酶 2(cell cycle checkpoint kinase 2, CHK2)-p53 及毛细血管扩张性共济失调症突变 Rad3 相关蛋白(ataxia telangiectasia and Rad3-related, ATR)-细胞周期检验点激酶 1(cell cycle checkpoint kinase 1, CHK1)等途径在内的多种分子途径介导的抗癌屏障,从而抑制肿瘤的发生。DNA 损伤后,ATM 和 ATR 是应激反应的中心,作为 DNA 损伤的感应器,两者的启动既可以直接磷酸化 p53,也可以通过磷酸化 MDM2(mouse double minute 2)基因并诱导其降解来解除 MDM2 对 p53 的抑制作用^[6]。此外,癌基因活化所导致的复制性压力也可以通过激活 ARF 基因来解除 MDM2 对 p53 的抑制作用,进而激活 p53^[7]。p53 被激活后可以活化周期蛋白依赖性激酶抑制物(cyclin-dependant kinase inhibitors, CDKIs)家族中的抑癌因子 p16、p21,通过介导 p53/p21/pRB/E2F 及 p16/pRB/E2F 信号转导途径来诱导短暂的细胞周期阻滞、衰老及促进细胞凋亡等,从而阻止 DNA 损伤后的细胞继续增殖,为 DNA 损伤修复赢得时间^[8]。因此,在肿瘤启动阶段的抗癌屏障(包括 DNA 损伤修复反应和细胞周期调控)的存在在细胞维持基因组稳定,减少基因突变,降低不典型增生向乳腺癌发展的概率等方面发挥着重要的作用。

2. 抗癌屏障的破坏

(1) 乳腺癌启动阶段早期:基因突变和 DNA 损伤

2012 年,WHO 的乳腺肿瘤分类提出,不典型增生存在进展为浸润性癌的风险^[9]。那么,是何种分子机制破坏了上述抗癌屏障,促进不典型增生发展为癌的呢?在乳腺癌形成的癌前病变期,DNA 损伤诱导的基因突变是诱发肿瘤形成的内在因素,DNA 损伤修复反应则是维护基因组稳定的保障。例如抑癌基因 p53 或其重要调节因子(如 ATM、ARF 等)发生突变,转变成癌基因或 DNA 损伤修复途径功能不

全时,基因组则陷入不稳定状态,并失去对细胞生长、凋亡和 DNA 修复的调控作用,这时,细胞凋亡机制将被启动,从而避免肿瘤发生^[10]。然而,在肿瘤发生的早期阶段,凋亡激活途径常受到抑制,导致细胞凋亡功能丧失。研究发现,MDM2 是 p53 的转录靶基因,在抑制 p53 活性的过程中发挥关键作用,MDM2 的过表达会导致 p53 的失活,破坏抗癌屏障,导致细胞失去凋亡功能,进而促进不典型增生向癌的发展^[11]。

来自普林斯顿大学的研究人员于 2014 年公布了一项研究成果,即异黏蛋白(metadherin)与葡萄球菌核酸酶结构域蛋白 1(staphylococcal nuclease domain-containing protein 1, SND1)相互作用后,能够增加 SND1 蛋白的稳定性,进而促进人乳腺祖细胞群的持续增殖和存活^[12]。这是乳腺癌早期发生过程中,癌细胞耐受应激压力的一个十分重要的生存因素。

(2) 乳腺癌启动阶段后期:细胞凋亡障碍

信号转导子与转录激活因子 5(signal transducer and activator of transcription 5, STAT5)最初被称为泌乳素诱导的乳腺因子(mammary gland factor, MGF),在乳腺上皮细胞的增殖与分化中发挥重要作用。STAT5 能够在 Janus 蛋白激酶(JAK)的作用下磷酸化,STAT5 不仅在乳腺癌的肿瘤组织及细胞系中呈持续活化状态,在约 20% 的不典型增生组织中也有所表达,通过调控其下游靶基因 Bcl-2 与 Caspase 家族成员,发挥抗细胞凋亡的作用,进而加速乳腺的癌前病变如不典型增生向乳腺癌发展的进程^[13]。JAK/STAT 信号转导通路细胞的增殖、分化及凋亡密切相关,该通路过度激活也可导致细胞的异常增殖和恶性转化。此外,高龄初孕女性在妊娠后期和泌乳早期阶段,STAT5 的磷酸化状态有明显的提升,且具有较高的不典型增生发病率,进一步阐明了关于高龄初孕女性增加罹患乳腺癌风险的分子机制^[14]。STAT5 的表达、活化与乳腺癌的早期启动密切相关。因此,阻断肿瘤细胞中 STAT5 信号转导通路可能起到预防和治疗乳腺癌的作用。

目前已经证实,STAT5 上游激酶 JAK 的抑制剂 ruxolitinib 在小鼠模型里具有能够间接介导细胞凋亡,抑制肿瘤细胞生长,减少乳腺癌早期病灶负荷,并降低乳腺癌发病风险的作用^[14]。并且,与选择性雌激素受体调节剂(selective estrogen receptor modulators, SERMs)和芳香化酶抑制剂(aromatase inhibitors, AIs)两大类绝经后乳腺癌内分泌治疗药物相比,

JAK 抑制剂使用更方便,毒性更低,且同样适用于 ER 阳性和阴性的乳腺癌患者,因此有望替代两者成为新的乳腺癌内分泌治疗药物。

二、DCIS 向浸润性癌演化的过程

DCIS 是组织学上真正的早期乳腺癌,即 0 期乳腺癌。DCIS 是一种肿瘤性导管内病变,常累及多个导管,但肿瘤细胞外侧常被肌上皮细胞层包裹,且尚未突破基底膜,无间质浸润。WHO 的乳腺肿瘤分类将其界定为浸润性癌的前驱病变。在 1980 年,DCIS 的诊断率不足乳腺癌的 5%^[15]。近年来,随着医学影像学技术的发展,DCIS 的诊断率明显提高,在美国 DCIS 诊断率达到同年乳腺癌新增病例的 20%~25%^[15]。然而,DCIS 究竟是真正的癌症,还是高级别的不典型增生?目前还颇有争议^[16]。有研究者认为,一些特定的 DCIS 患者在未接受治疗的情况下,有 53% 的概率发展成为浸润性癌^[17],但大多数 DCIS 具有“惰性”的生物学特征,极少会进展成为浸润性癌,并不需要采取治疗措施。因此,如何界定 DCIS 的参数特征,进而准确鉴别“惰性”或“进展性”DCIS 就成为早期乳腺癌诊治的关键问题。

首先,要了解 DCIS 的存在如何增加浸润性癌发生的风险。这可能涉及以下几个方面:(1) 大量异常增殖的细胞为进一步成为浸润性癌提供了一个自发的基因(和表观遗传学)改变的细胞池;(2) 外侧肌上皮细胞层的改变可能会允许上皮肿瘤细胞的逃逸;(3) 间质和免疫细胞的改变也可能在上皮性肿瘤细胞逃离乳腺导管的过程中扮演了重要角色。

其次,哪种潜在的因素驱动了 DCIS 向浸润性癌的进展?研究证实,DCIS 与相同组织学类型的浸润性导管癌具有相同的基因、表观遗传学和表达的改变^[18-20]。Volinia 等^[21]发现 DCIS 向浸润性癌的发展是乳腺癌进展的重要节点,一些微小 RNA (microRNA) 在此过程中发挥着重要的调节作用。此外,通过激光捕获显微技术 (laser capture microscopy, LCM)-蛋白质组学研究发现,乳腺癌进展中的蛋白表达可能会存在关键性差异^[22]。

就上述问题,李毅教授报告了新的乳腺癌驱动基因的研究概况。在乳腺癌启动阶段,Rb 基因作为经典的抑癌基因,其编码的 Rb 蛋白一方面可以与 E2F 转录因子家族结合,进而调控细胞周期功能,决定细胞周期的进程;另一方面 Rb 蛋白可以调节 p16 的转录,一旦 Rb 基因缺失,就会导致 p16 基因编码的蛋白高表达,并同时削弱抗癌屏障的效用,导致细胞分裂。Gauthier 等^[23]对比了 p16 高表达/ Ki67 高

增殖指数组和 p16 高表达/ Ki67 低增殖指数组 DCIS 患者局部复发的规律,发现 p16 高表达/ Ki67 高增殖指数组局部复发或浸润性癌发生的概率较高。简言之,具有这种表型的 DCIS 患者存在着可能发展为浸润性癌的风险。此外,丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号转导通路在驱动 DCIS 向浸润性癌发展的过程中也发挥着重要的作用^[24-25]。p38-MAPK 在压力、炎症、生长因子等刺激下被激活,磷酸化的 p38 能够促进环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 的转录和表达,而 COX-2 可通过多种机制参与肿瘤的发生、发展^[26]。近期的研究发现 DCIS 及病变周围的正常组织的腺上皮细胞中存在 COX-2 的过表达和大量活化的磷酸化的 p38,因此 COX-2 高表达是癌症发生的早期事件^[24]。p38-MAPK 和 COX-2 已成为乳腺癌预防的新靶点,抑制剂的使用能够抑制细胞增生,诱导细胞凋亡和抑制肿瘤血管生成,从而有效阻止乳腺癌进程。此外,除了上述提到的乳腺癌驱动基因 p16 (伴有高 Ki67 增殖指数)、p38-MAPK、COX-2 和 Rb 基因失活之外,Bcl-9 和 SIM2s 基因也可能与乳腺 DCIS 的进一步演变密切相关^[27-29]。

值得注意的是,肌上皮细胞层的改变也有助于 DCIS 向浸润性癌的进展。一方面,肌上皮细胞释放的趋化因子(如 CXCL12 和 CXCL14)可能会有助于上皮细胞从密切连接的乳腺导管内逃逸^[30-31]。另一方面,肌上皮细胞分化缺陷也可能会促进浸润性癌的发生。乳腺导管内含有双向分化潜能的上皮祖细胞、肌上皮细胞和腺上皮细胞。某些情况下,这些上皮祖细胞不再分化成为肌上皮细胞,而只能分化成为腺上皮细胞,从而造成了细胞的增殖失控^[32]。

三、结语

这次圣安东尼奥乳腺癌研讨会上,李毅教授对乳腺癌早期病变的分子机制等相关内容做了详尽阐述,总结如下:抗癌屏障(包括细胞周期阻滞、衰老及促进细胞凋亡)的存在使大多数不典型增生病变处在休眠状态;在某些因素的刺激下,多种分子机制能够削弱抗癌屏障的作用;高龄初孕女性罹患乳腺癌的高风险可能是通过激活 JAK2-STAT5 信号转导途径进而使抗癌屏障失效来发生的,对这部分患者使用抗 JAK2-STAT5 的短期预防性治疗可能会减少早期病变的发生,并降低发展为乳腺癌的风险。以上成果对于了解乳腺癌发生、发展的分子机制,以及将其研究成果转化应用于临床具有重要的意义。

参 考 文 献

- [1] Hartmann LC, Degnim AC, Santen RJ, et al. Atypical hyperplasia of the breast-risk assessment and management options[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(1): 78-89.
- [2] Allred DC, Mohsin SK, Fuqua SA. Histological and biological evolution of human premalignant breast disease [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2001, 8(1): 47-61.
- [3] Santen RJ, Mansel R. Benign breast disorders[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(3): 275-285.
- [4] Bombonati A, Sgroi DC. The molecular pathology of breast cancer progression[J]. *J Pathol*, 2011, 223(2): 307-317.
- [5] Degnim AC, Visscher DW, Berman HK, et al. Stratification of breast cancer risk in women with atypia: a Mayo cohort study [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(19): 2671-2677.
- [6] Stommel JM, Wahl GM. Accelerated MDM2 auto-degradation induced by DNA-damage kinases is required for p53 activation [J]. *EMBO J*, 2004, 23(7): 1547-1556.
- [7] Ito A, Kawaguchi Y, Lai CH, et al. MDM2-HDAC1-mediated deacetylation of p53 is required for its degradation [J]. *EMBO J*, 2002, 21(22): 6236-6245.
- [8] 李小曼, 徐红德, 蔺美娜, 等. DNA 损伤修复反应的双刃剑效应在肿瘤与衰老发生发展中的作用[J]. *中国细胞生物学学报*, 2013, 35(2): 134-140.
- [9] Lakhani SR, Ellis LO, Schnitt SJ, et al. WHO classification of tumours of the breast[M]. Lyon: IARC Press, 2012:88.
- [10] Sinha VC, Qin L, Li Y. A p53/ARF-dependent anticancer barrier activates senescence and blocks tumorigenesis without impacting apoptosis[J]. *Mol Cancer Res*, 2015, 13(2): 231-238.
- [11] 李玉梅, 吴芳, 秦叔逵. MDM2 在恶性肿瘤中的研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2012, 17(3): 277-280.
- [12] Wan L, Lu X, Yuan S, et al. MTDH-SND1 interaction is crucial for expansion and activity of tumor-initiating cells in diverse oncogene- and carcinogen-induced mammary tumors[J]. *Cancer Cell*, 2014, 26(1): 92-105.
- [13] Shi A, Dong J, Hilsenbeck S, et al. The status of STAT3 and STAT5 in human breast atypical ductal hyperplasia [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132214.
- [14] Haricharan S, Dong J, Hein S, et al. Mechanism and preclinical prevention of increased breast cancer risk caused by pregnancy [J]. *Elife*, 2013, 2: e00996.
- [15] Leonard GD, Swain SM. Ductal carcinoma in situ, complexities and challenges[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004, 96(12): 906-920.
- [16] Partridge AH, Elmore JG, Saslow D, et al. Challenges in ductal carcinoma in situ risk communication and decision-making: report from an American Cancer Society and National Cancer Institute workshop [J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(3): 203-210.
- [17] Collins LC, Tamimi RM, Baer HJ, et al. Outcome of patients with ductal carcinoma in situ untreated after diagnostic biopsy: results from the Nurses' Health Study[J]. *Cancer*, 2005, 103(9): 1778-1784.
- [18] Lee RJ, Vallow LA, McLaughlin SA, et al. Ductal carcinoma in situ of the breast[J]. *Int J Surg Oncol*, 2012, 2012: 123549.
- [19] Abba MC, Gong T, Lu Y, et al. A molecular portrait of high-grade ductal carcinoma in situ[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(18): 3980-3990.
- [20] Mardekian SK, Bombonati A, Palazzo JP. Ductal carcinoma in situ of the breast: the importance of morphologic and molecular interactions [J]. *Hum Pathol*, 2016, 49: 114-123.
- [21] Volinia S. Unexpected findings of variability in microRNAs suggest roles in human genetics[J]. *Genome Med*, 2012, 4(8): 69.
- [22] Beretov J, Wasinger VC, Millar EK, et al. Proteomic analysis of urine to identify breast cancer biomarker candidates using a label-free LC-MS/MS approach [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0141876.
- [23] Gauthier ML, Berman HK, Miller C, et al. Abrogated response to cellular stress identifies DCIS associated with subsequent tumor events and defines basal-like breast tumors[J]. *Cancer Cell*, 2007, 12(5): 479-491.
- [24] Gauthier ML, Pickering CR, Miller CJ, et al. p38 regulates cyclooxygenase-2 in human mammary epithelial cells and is activated in premalignant tissue[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(5): 1792-1799.
- [25] Kerlikowske K, Molinaro AM, Gauthier ML, et al. Biomarker expression and risk of subsequent tumors after initial ductal carcinoma in situ diagnosis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102(9): 627-637.
- [26] Timoshenko AV, Chakraborty C, Wagner GF, et al. COX-2-mediated stimulation of the lymphangiogenic factor VEGF-C in human breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 2006, 94(8): 1154-1163.
- [27] Knudsen ES, Pajak TF, Queenan M, et al. Retinoblastoma and phosphate and tensin homolog tumor suppressors: impact on ductal carcinoma in situ progression[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2012, 104(23): 1825-1836.
- [28] Elsarraj HS, Hong Y, Valdez KE, et al. Expression profiling of in vivo ductal carcinoma in situ progression models identified B cell lymphoma-9 as a molecular driver of breast cancer invasion[J]. *Breast Cancer Res*, 2015, 17: 128.
- [29] Scribner KC, Behbod F, Porter WW. Regulation of DCIS to invasive breast cancer progression by Single-minded-2s (SIM2s) [J]. *Oncogene*, 2013, 32(21): 2631-2639.
- [30] Rizki A, Bissell MJ. Homeostasis in the breast: it takes a village[J]. *Cancer Cell*, 2004, 6(1): 1-2.
- [31] Allinen M, Beroukhi R, Cai L, et al. Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer[J]. *Cancer Cell*, 2004, 6(1): 17-32.
- [32] Hu M, Yao J, Carroll DK, et al. Regulation of in situ to invasive breast carcinoma transition[J]. *Cancer Cell*, 2008, 13(5): 394-406.

(收稿日期: 2016-05-31)

(本文编辑: 刘军兰)

付丽, 李崖青, 石爱平. 2015 年圣安东尼奥乳腺癌研讨会回顾: 导管原位癌. [J/CD]. *中华乳腺病杂志: 电子版*, 2016, 10(4): 200-203.