

血清肝细胞生长因子对Ⅱ/Ⅲ期乳腺癌新辅助化疗疗效及预后的影响

赵华洲¹ 王婷² 张心慧¹ 刘瑞军¹ 曹志宇¹ 杨波¹ 何建苗¹

【摘要】 目的 探讨血清肝细胞生长因子(HGF)与乳腺癌临床病理特征及新辅助化疗(NAC)疗效间的关系。**方法** 回顾性收集2010年1月至2015年1月168例于解放军第309医院因Ⅱ/Ⅲ期乳腺癌行新辅助化疗的患者资料,采用ELISA法检测患者血液样本中HGF浓度,统计分析血清HGF水平中位值,将血清HGF高于中位值患者设为高水平(H)组($n=84$),血清HGF低于中位值患者设为低水平(L)组($n=84$)。依据实体瘤治疗疗效评价(RECIST)标准评估患者接受NAC的疗效。患者术后随访时间2~68个月,制作患者生存曲线。采用 χ^2 检验比较2组患者临床分期、肿瘤直径、淋巴结转移、ER、PR及HER-2状态间的差异,采用 t 检验比较2组患者组织多肽特异性抗原(TPSA)、糖链抗原(CA)15-3、Ki67间的差异,采用Kaplan-Meier法分析血清HGF水平与NAC疗效、5年累积生存率及5年DFS的差异的关系,采用Cox比例风险回归模型分析影响5年累积生存率的风险因素。**结果** 患者血清HGF中位值为825 pg/ml。H组淋巴结转移率为48.8%(41/84),血清TPSA为(60.6±26.8) U/L,高于L组的30.9%(26/84)($\chi^2=5.586, P=0.018$)和(49.8±20.9) U/L($t=-2.930, P=0.004$)。Kaplan-Meier法提示H组化疗有效率为69.0%(58/84),5年DFS为65.5%,5年累积生存率分别为69.0%,低于L组的84.5%(71/84)($\chi^2=5.643, P=0.018$)、81.9%($\chi^2=4.957, P=0.046$)和89.9%($\chi^2=4.849, P=0.044$)。Cox比例风险回归模型分析提示血清HGF水平、临床分期及NAC疗效是影响5年累积生存率的风险因素($HR=7.0, 95\% CI=1.28 \sim 47.62, P=0.037$; $HR=8.5, 95\% CI=3.55 \sim 29.79, P=0.006$; $HR=4.8, 95\% CI=1.84 \sim 7.99, P=0.024$)。**结论** 血清HGF水平与乳腺癌淋巴结转移、NAC疗效及预后密切相关,可作为预测NAC疗效和预后的指标。

【关键词】 肝细胞生长因子; 乳腺肿瘤; 抗肿瘤联合化疗方案新辅助化疗; 淋巴转移; 无病生存

【中图法分类号】 R737.9

【文献标志码】 A

Impact of serum hepatocyte growth factor on response to neoadjuvant chemotherapy and prognosis in patients with stage II/III breast cancer

Zhao Huazhou¹, Wang Ting², Zhang Xinhui¹, Liu Ruijun¹, Cao Zhiyu¹, Yang Bo¹, He Jianmiao¹. ¹Department of General Surgery, No. 309 Hospital of PLA, Beijing 100091, China; ²Department of Medical Affairs, Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China

Corresponding author: He Jianmiao, Email: hjm66858@sina.com

【Abstract】 Objective To explore the relationship of serum hepatocyte growth factor (HGF) with the efficacy of neoadjuvant chemotherapy (NAC) and clinicopathological characteristics in patients with stage II/III breast cancer. **Methods** Totally 168 patients with stage II/III breast cancer who underwent neoadjuvant therapy between January 2010 and January 2015 in No. 309 Hospital of PLA were enrolled for a retrospective study. They were divided into 2 groups, including low HGF level (L) group ($n=84$) and high HGF level (H) group ($n=84$) according to the median value of serum HGF, which was detected by ELISA and calculated by statistical analysis. The efficacy of NAC was assessed according to the RECIST criteria. The patients were followed up for 2–68 months and the survival curves were drawn. The differences in clinical stage, tumor size, lympho node metastasis, ER, PR and HER-2 expression between two groups were analyzed

by χ^2 test. The differences in tissue polypeptide specific antigen (TPSA), carbohydrate antigen (CA) 15-3, Ki67 were analyzed by t test. Kaplan-Meier method was used to analyze the relationship of serum HGF level with efficacy of NAC, 5-year DFS and 5-year cumulative survival. Risk factors associated with 5-year cumulative survival were processed in Cox's proportional hazards regression model. **Results** Serum HGF level had a median value of 825 pg/ml. The rate of lymph node metastasis in H group was 48.8% (41/84), significantly higher than 30.9% (26/84) in L group ($\chi^2=5.586, P=0.018$). Serum TPSA level in H group was (60.6±26.8) U/L, significantly higher than (49.8±20.9) U/L in L group ($t=-2.93, P=0.004$). The efficacy of NAC, 5-year DFS and 5-year cumulative survival in H group was 69.0% (58/84), 65.5% and 69.0% respectively, significantly lower than 84.5% (71/84), 81.9% and 89.9% in L group ($\chi^2=5.643, P=0.018; \chi^2=4.957, P=0.046; \chi^2=4.849, P=0.044$). Serum HGF level, clinical stage and NAC response were risk factors of 5-year cumulative survival ($HR=7.0, 95\% CI=1.28-47.62, P=0.037; HR=8.5, 95\% CI=3.55-29.79, P=0.006; HR=4.8, 95\% CI=1.84-7.99, P=0.024$). **Conclusion** Serum HGF level is closely associated with lymph node metastasis, response to NAC and prognosis in patients with breast cancer, which can be used as a predictive index for NAC efficacy and patients' prognosis.

【Key words】 Hepatocyte growth factor; Breast neoplasms; Antineoplastic combined chemotherapy protocols; Lymphatic metastasis; Disease-free survival

新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NAC)是治疗临床Ⅱ/Ⅲ期乳腺癌的重要手段,大部分患者经治疗后缓解,获得可手术甚至保留乳房手术的机会。但少部分患者对NAC无反应,治疗期间发生进展,甚至失去手术的机会^[1]。因此,寻找能准确预测NAC疗效的因素,减少不必要的NAC,及时选择其他有效的治疗方案,对乳腺癌的治疗有重要意义。肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)是间质-上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET)的唯一受体^[2]。前期研究表明,MET在多种肿瘤组织中表达增高,乳腺癌约20%~30%,这类患者恶性程度高,预后差^[3]。但血清HGF水平与NAC疗效是否相关的报道鲜见,笔者回顾性研究了168例乳腺癌患者的病理资料,探讨两者之间的联系。

资料与方法

一、研究对象

回顾性收集2010年1月至2015年1月于解放军第309医院经穿刺活检组织检查诊断为浸润性乳腺癌患者共168例为研究对象,其中排除住院资料及随访资料不完整患者、男性乳腺癌患者、I期及IV期患者、死亡原因非肿瘤转移相关患者;入选患者均为女性,年龄35.0岁~67.0岁,平均(44.7±6.3)岁;临床分期均为Ⅱ或Ⅲ期(根据美国癌症联合委员会分期^[4]方法),其中Ⅱ期52例,Ⅲ期116例;ER阳性102例,PR阳性92例,HER-2阳性40例,三阴性乳腺癌30例;病理类型:浸润性导管癌121例,浸润性小叶癌30例,乳头状癌4例,髓样癌7例,黏液癌6例。患者入院后行NAC,其中以蒽环类为主方案106例,

蒽环类与紫杉类联合方案62例,完成≥2个周期后根据实体瘤治疗疗效评价(response evaluation criteria in solid tumor, RECIST)标准^[5]评估情况选择手术或完成6~8个周期后手术。患者出院后进行电话随访或门诊随访至死亡或2015年9月为止。患者术后随访2~68个月。本研究已通过伦理委员会批准,并获得患者的知情同意。

二、血清标本采集、检测、分组及观察指标

所有患者在接受NAC前1d清晨空腹抽取静脉血5 ml, 3 000 r/min离心(离心机半径10 cm)15 min后取上层血清,保存于-80℃冰箱,待标本集齐后统一检测。采用ELISA检测血清HGF水平,试剂盒购自美国R&D公司,实验方法及步骤按照其说明书严格操作。

检测并统计分析血清HGF水平的中位值,将血清HGF高于中位值患者设为高水平(H)组($n=84$),血清HGF低于中位值患者设为低水平(L)组($n=84$)。L组患者年龄37.0~67.0岁,平均(44.9±6.6)岁;H组患者年龄35.0~66.0岁。观察并记录2组患者的临床分期、肿瘤大小、淋巴结情况、组织多肽特异性抗原(tissue polypeptide-specific antigen, TPSA)、糖链抗原15-3(carbohydrate antigen 15-3, CA15-3)、化疗疗效(根据美国癌症联合委员会分类^[6])、ER及HER-2状态、5年累积生存率、5年DFS等。

三、统计学分析

数据统计分析采用SPSS 18.0统计软件。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验比较2组患者年龄、血清CA15-3、TPSA、Ki67之间的差异;采用 χ^2 检验比

较 2 组患者在临床分期、肿瘤直径、淋巴结转移、ER、PR、HER-2 等之间的差异; Kaplan-Meier 法分析血清 HGF 水平与 NAC 疗效及预后的关系; 生存分析采用 Cox 比例风险回归模型, 将 HGF>825 pg/ml、临床分期>Ⅱ期及 NAC 疗效无效假设为潜在危险因素(危险因素赋值见表 1), 以 $P<0.050$ 为差异有统计学意义。

表 1 影响乳腺癌患者 5 年累积生存率的危险因素赋值表

变量	变量分类及赋值
血清 HGF 水平	≤ 825 pg/ml=0, >825 pg/ml=1
临床分期	Ⅱ期=0, Ⅲ期=1
NAC 疗效	有效=0, 无效=1

注: HGF 表示肝细胞生长因子; NAC 表示新辅助化疗

结 果

一、血清 HGF 水平与乳腺癌临床特征的关系

本研究中血清 HGF 平均水平为 (857 ± 328) pg/ml, 中位值为 825 pg/ml。H 组中淋巴结转移 41 例 (48.8%), 高于 L 组的 26 例 (30.9%) ($\chi^2 = 5.586$, $P = 0.018$)。H 组血清 TPSA 为 (60.6 ± 26.8) U/L, 高于 L 组的 (49.8 ± 20.9) U/L ($t = -2.930$, $P = 0.004$) (表 2)。2 组患者间年龄、TNM 分期、肿瘤大小、CA15-3、Ki67、ER、PR、HER-2 及是否为三阴性乳腺癌方面的差异均无统计学意义(表 3)。

表 2 不同血清 HGF 水平分组乳腺癌患者检测指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	检测指标			
		年龄(岁)	CA15-3(U/ml)	TPSA(U/L)	Ki67(%)
L 组	84	44.9±6.6	27.3±15.4	49.8±20.9	48.5±25.9
H 组	84	44.6±6.0	26.8±13.7	60.6±26.8	44.0±23.3
t 值		0.318	0.210	-2.930	1.180
P 值		0.751	0.834	0.004	0.240

注: CA15-3 表示糖链抗原 15-3; TPSA 表示组织多肽特异性抗原; HGF 表示肝细胞生长因子; L 组为 HGF 水平低表达组; H 组为 HGF 水平高表达组

二、血清 HGF 水平与 NAC 疗效及预后的关系

L 组中 NAC 有效者占 84.5% (71/84), 高于 H 组的 69.0% (58/84), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.643$, $P = 0.018$)。L 组随访时间为 (2~68) 个月, 中位时间为 29 个月, H 组为 (6~68) 个月, 中位时间为 28 个月。L 组 5 年 DFS 为 81.9%, 5 年累积生存率为 89.9%, 高于 H 组的 65.5% 和 69.0% ($\chi^2 =$

4.957, 4.849, $P = 0.046, 0.044$) (图 1、2)。

三、影响乳腺癌新辅助化疗后 5 年累积生存率的相关因素

经 Cox 风险比例模型分析结果显示, 血清高水平 HGF、高临床分期及对 NAC 不敏感是降低 5 年累积生存率的风险因素, 提示预后不良(表 4)。

表 3 血清 HGF 水平与乳腺癌临床特征的关系(例)

临床特征	L 组(n=84)	H 组(n=84)	检验值	P 值
临床分期				
Ⅱ	25	27	$\chi^2 = 0.111$	0.739
Ⅲ	59	57		
肿瘤直径				
≤ 5 cm	44	46	$\chi^2 = 0.096$	0.757
>5 cm	40	38		
淋巴结转移				
无	58	43	$\chi^2 = 5.586$	0.018
有	26	41		
ER				
阳性	53	49	$\chi^2 = 0.399$	0.527
阴性	31	35		
PR				
阳性	48	44	$\chi^2 = 0.384$	0.535
阴性	36	40		
HER-2				
阳性	22	18	$\chi^2 = 0.525$	0.469
阴性	62	66		
三阴性乳腺癌				
是	16	14	$\chi^2 = 0.162$	0.687
否	68	70		

注: CA15-3 表示糖链抗原 15-3; TPSA 表示组织多肽特异性抗原; HGF 表示肝细胞生长因子; L 组为 HGF 水平低表达组; H 组为 HGF 水平高表达组

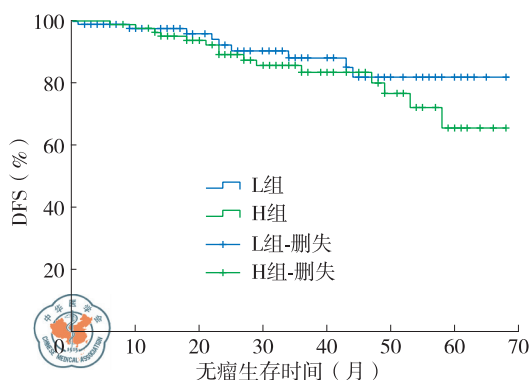
表 4 影响乳腺癌患者 5 年累积生存率的 Cox 风险比例回归模型

变量	回归系数	标准误	Wald 值	P 值	HR 值	95% 置信区间
血清 HGF 水平	0.084	0.039	4.603	0.037	7.0	1.28~47.62
临床分期	0.459	0.159	5.459	0.006	8.5	3.55~29.79
NAC 疗效	0.097	0.075	4.841	0.024	4.8	1.84~7.99

注: HGF 表示肝细胞生长因子; NAC 表示新辅助化疗

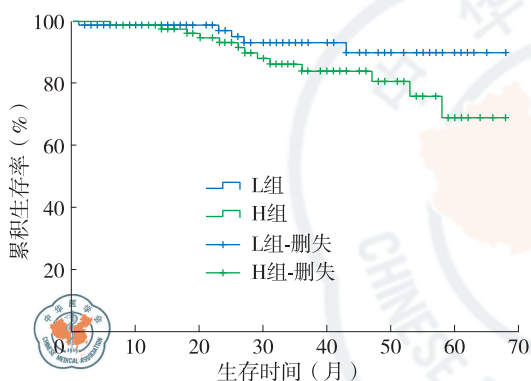
讨 论

乳腺癌 NAC 的目的是减少或消除微转移灶, 防止远处转移, 降低 TNM 分期, 便于切除肿瘤或争取



注: L 组为肝细胞生长因子水平低表达组; H 组为肝细胞生长因子水平高表达组; $\chi^2 = 4.957, P = 0.046$; DFS 表示无瘤生存率

图 1 L 组和 H 组乳腺癌患者 5 年 DFS 的比较



注: L 组为肝细胞生长因子水平低表达组; H 组为肝细胞生长因子水平高表达组; $\chi^2 = 4.849, P = 0.044$

图 2 L 组和 H 组乳腺癌患者 5 年累积生存率的比较

保留乳房机会^[7]。NAC 疗效的不确定性给临床诊治带来一定的困难,因此,寻找 NAC 疗效的预测因子有重要的临床意义。HGF 由间叶组织来源的基质细胞产生,由一条 α 链和一条 β 链通过二硫键连接而成。 β 链与散射因子由统一基因编码,具有同源性^[8],这是其促细胞运动作用的基础。HGF 促使 MET 的酪氨酸磷酸化来促进器官、组织及细胞的发生、退化和修复等^[2]。同时, HGF-MET 也可作为肿瘤增殖的信号通路,在多种肿瘤的发生、发展中起到重要作用。

本研究结果显示,血清 HGF 水平与患者年龄、临床分期及肿瘤直径无关,但 H 组淋巴结转移比例高于 L 组 ($\chi^2 = 5.586, P = 0.018$)。淋巴结转移与 HGF 增加肿瘤侵袭力有关,其机制可能包括以下几点^[9-11]: (1) 通过丝氨酸/苏氨酸激酶磷酸化发挥抗凋亡作用; (2) 诱导黏着斑激酶磷酸化,激活 Ets 等转化因子,上调基质金属蛋白酶-1、9、14 等多种金属蛋白酶,降解紧密连接的内皮蛋白,增加了血管

内皮细胞的通透性,促进肿瘤细胞穿过血管内皮屏障侵入周围组织; (3) HGF 是强效的血管生成因子,促进血管内皮细胞移动和增殖,这种现象在低氧环境下更明显; (4) 激活 Na^+/H^+ 转运蛋白,造成细胞外 pH 值降低,促进肿瘤细胞生长,抑制正常细胞生长; (5) 激活磷酸化肌醇激酶和 Rho A 三磷酸鸟苷磷酸酶等激酶级联信号通路,引起细胞内组织蛋白酶 B 调节的溶酶体边集,加强细胞外基质蛋白水解、侵袭和转移。

HGF 高表达与化疗敏感性有关^[12]。这是由于 HGF-MET 信号通路促进结缔组织增生、粘连形成,组织缺血、缺氧降低了病灶部位的药物有效浓度,产生耐药。同时低氧诱导产生低氧诱导因子-1 α 又激活 HGF-MET 信号通路,加剧黏连^[13],因此血清 HGF 越高,药物疗效越差。本研究中 L 组 NAC 疗效优于 H 组,与之相符。

CA15-3、TPSA、Ki67、ER、PR 及 HER-2 是常用的预后预测因子。本研究中 H 组血清 TPSA 水平高于 L 组 ($t = -2.930, P = 0.004$), L 组的 5 年 DFS 和 5 年累积生存率分别为 81.9% 和 89.9%, 均高于 H 组的 65.5% 和 69.0%。TPSA 是上皮恶性肿瘤标志物,其检测乳腺癌复发、评价 NAC 疗效优于 CA15-3^[14],本研究统计结果证实了上述观点。Yamashita 等^[15]认为肿瘤组织内高 HGF 水平患者的无复发生存期和累积生存率较低水平的短(低),肿瘤组织内 HGF 水平预测无复发生存期和累积生存率较淋巴结转移更可靠,2 组间 CA15-3、Ki67、ER、PR 及 HER-2 等预测因子差异无统计学意义 ($P < 0.050$)。但有研究认为, HGF 高表达与 ER、PR 及 HER-2 有关。Shattuck 等^[16]认为 HGF 高表达发生在大约 25% 的 HER-2 阳性患者中,另有研究认为, HGF 高表达多发生在三阴性乳腺癌^[17]。因此,需要加大样本进行后续研究。

Cox 风险比例回归模型结果提示,血清 HGF 水平高,临床分期晚及化疗效果差均是降低 5 年生存率的风险因素。尽管手术或药物治疗可暂时改善病情,大约 44% 乳腺癌患者最终会复发和远处转移^[18],这是患者死亡的主要原因。Pagani 等^[19]发现,单器官单转移灶的患者通过多学科联合治疗可获得长期的临床缓解。因此,笔者认为针对血清 HGF 水平高、临床分期晚及化疗效果差的患者应实行更为严格的随访、复查方案,及时发现并治疗早期转移灶。

参 考 文 献

[1] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南

- 与规范(2013 版)[J]. 中国癌症杂志, 2013, 23(8): 637-693.
- [2] Gherardi E, Birchmeier W, Birchmeier C, et al. Targeting MET in cancer: rationale and progress[J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(2):89-103.
- [3] Kemik O, Purisa S, Kemik AS, et al. Increase in the circulating level of hepatocyte growth factor in pancreatic cancer patients[J]. Bratisl Lek Listy, 2009, 110(10):627-629.
- [4] 薛卫成. 介绍乳腺癌 TNM 分期系统(第 7 版)[J]. 诊断病理学杂志, 2010, 17(4):241-244.
- [5] Gherardi E, Birchmeier W, Birchmeier C, et al. Targeting MET in cancer: rationale and progress[J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(2): 89-103.
- [6] Keam B, Im SA, Lim Y, et al. Clinical usefulness of AJCC response criteria for neoadjuvant chemotherapy in breast cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2013, 20(7):2242-2249.
- [7] 李卉, 廖传贵, 何小梅. 晚期乳腺癌新辅助化疗的临床报告[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2004, 11(1):20-21.
- [8] 董薇. 肝细胞生长因子及其临床应用研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2001, 29(3):87-91.
- [9] Watanabe S, Kishimoto T, Yokosuka O. Hepatocyte growth factor inhibits anoikis of pancreatic carcinoma cells through phosphatidylinositol 3-kinase pathway. [J]. Pancreas, 2011, 40(4): 608-614.
- [10] Matsumura A, Kubota T, Taiyoh H, et al. HGF regulates VEGF expression via the c-Met receptor downstream pathways, PI3K/Akt, MAPK and STAT3, in CT26 murine cells[J]. Int J Oncol, 2013, 42(2):535-542.
- [11] Steffan JJ, Williams BC, Welbourne T, et al. HGF-induced invasion by prostate tumor cells requires anterograde lysosome trafficking and activity of Na⁺-H⁺ exchangers[J]. J Cell Sci, 123(Pt 7): 1151-1159.
- [12] 刘涛, 冯雪华, 任志国, 等. c-Met 在乳腺癌组织中的表达及其临床价值[J]. 外科理论与实践, 2011, 16(1):42-44.
- [13] Kitajima Y, Ide T, Ohtsuka T, et al. Induction of hepatocyte growth factor activator gene expression under hypoxia activates the hepatocyte growth factor/c-Met system via hypoxia inducible factor-1 in pancreatic cancer[J]. Cancer Sci, 2008, 99(7):1341-1347.
- [14] 蒋显勇, 易艳军, 徐克前, 等. 联合检测外周血端粒酶活性及组织多肽特异性抗原对乳腺癌临床价值的探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(20):3162-3164.
- [15] Yamashita J, Ogawa M, Yamashita S, et al. Immunoreactive hepatocyte growth factor is a strong and independent predictor of recurrence and survival in human breast cancer[J]. Cancer Res, 1994, 54(7):1630-1633.
- [16] Shattuck DL, Miller JK, Carraway KL 3rd, et al. Met receptor contributes to trastuzumab resistance of Her2-overexpressing breast cancer cells[J]. Cancer Res, 2008, 68(5):1471-1477.
- [17] Yan S, Jiao X, Zou H, et al. Prognostic significance of c-Met in breast cancer: a meta-analysis of 6010 cases[J]. Diagn Pathol, 2015, 10:62.
- [18] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013[J]. Ca A Cancer J Clin, 2013, 63(1):11-30.
- [19] Pagani O, Senkus EW, Wood W, et al. International guidelines for management of metastatic breast cancer: can metastatic breast cancer be cured? [J]. J Natl Cancer Inst, 2010, 102(7):456-463.

(收稿日期:2016-03-08)

(本文编辑:宗贝歌)

赵华洲, 王婷, 张心慧, 等. 血清肝细胞生长因子对Ⅱ/Ⅲ期乳腺癌新辅助化疗疗效及预后的影响[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2016, 10(6):353-357.