



· 论 著 ·

血浆长链非编码RNA H19对乳腺癌新辅助治疗效果的预测价值

陈安莉¹, 沈浩元², 阳仕雄³, 邓春燕⁴, 胡超华², 刘汉忠⁵, 王 舒¹, 钱 芳¹

1. 锦州医科大学孝感市中心医院研究生培养基地, 湖北 孝感 432000;
2. 武汉科技大学附属孝感医院(孝感市中心医院) 甲状腺乳腺外科, 湖北 孝感 432000;
3. 武汉科技大学附属孝感医院(孝感市中心医院) 中心实验室, 湖北 孝感 432000;
4. 武汉科技大学附属孝感医院(孝感市中心医院) 儿科, 湖北 孝感 432000;
5. 武汉科技大学附属孝感医院(孝感市中心医院) 病理科, 湖北 孝感 432000

[摘要] 背景与目的: 长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 在肿瘤的发生、发展、远处转移及耐药过程中充当重要角色, 且lncRNA H19在乳腺癌组织及血浆中均有较高的表达, 但其表达水平在乳腺癌新辅助治疗中的动态变化以及与相关临床病理学特征的关系尚未见报道。本研究探讨lncRNA H19对乳腺癌新辅助治疗效果的预测价值。方法: 前瞻性选取2019年6月—2021年12月武汉科技大学附属孝感医院(孝感市中心医院) 甲乳外科收治的45例行新辅助治疗的乳腺癌患者为研究对象。所有病例根据其病理学类型及一般情况选择相应的治疗方案及周期, 均采用实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR) 动态检测新辅助治疗前, 新辅助治疗2、4、6个周期后及手术后外周血lncRNA H19的表达水平及变化情况, 对比分析在新辅助治疗不同时间段以及不同分子分型乳腺癌lncRNA H19表达量的差异及动态变化, 并于手术后根据病理学特征评估新辅助治疗的效果。结果: 所有研究对象均可在外周血血浆中检测到lncRNA H19的表达。入组的45例乳腺癌患者在新辅助治疗后有20例 (44.4%) 患者达到病理学完全缓解 (pathological-complete-response, pCR), 25例 (55.6%) 患者未达到病理学完全缓解 (non-pathological-complete-response, non-pCR), 且达到pCR的患者新辅助治疗前H19水平显著高于non-pCR患者 ($P < 0.05$); pCR组的H19表达随着新辅助治疗的进行均有明显下降的趋势 ($P < 0.05$), 而 non-pCR组的H19表达水平在新辅助治疗后无明显下降趋势; 在新辅助治疗动态变化中, lncRNA H19的表达量在新辅助治疗2、4和6个周期后及手术后较基线均有明显下降 ($P < 0.05$); 人表皮生长因子受体2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 阳性乳腺癌患者新辅助治疗前血浆H19表达量显著高于三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) ($P < 0.05$), 但与激素受体阳性乳腺癌相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而TNBC患者显著低于激素受体阳性型 ($P < 0.05$); 在新辅助治疗动态变化中, lncRNA H19的表达量在新辅助治疗2、4和6个周期后及手术后均明显下降 ($P < 0.05$); 乳腺肿瘤大小、淋巴结状态及TNM分期与lncRNA H19表达量差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而新辅助治疗后肿瘤残余负荷与lncRNA H19表达量差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析结果显示, H19的曲线下面积 (area under curve, AUC) 为0.70, 灵敏度为100%, 特异度为50%。结论: HER2⁺乳腺癌患者血浆H19表达量显著高于其他亚型, 血浆中的lncRNA H19表达量在新辅助治疗后均有显著下降, 且下降更明显的患者更容易达到pCR, 因此血浆H19可作为预测不同分子亚型新辅助治疗效果的潜在预测因子。

[关键词] 乳腺癌; 新辅助治疗; 长链非编码RNA; lncRNA H19; 病理学完全缓解

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2022.08.008

中图分类号: R737.9 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2022)08-0727-09

Predictive value of plasma long non-coding RNA H19 in neoadjuvant therapy for breast cancer CHEN Anli¹, SHEN Haoyuan², YANG Shixiong³, DENG Chunyan⁴, HU Chaohua², LIU Hanzhong⁵, WANG Shu¹, QIAN Fang¹ [1.

基金项目: 湖北省卫生健康委员会联合基金 (WJ2019H246)。

第一作者: 陈安莉 (ORCID: 0000-0002-5979-6010), 硕士研究生在读, E-mail: 864293812@qq.com

通信作者: 沈浩元 (ORCID: 0000-0003-2611-5546), 副主任医师, 硕士研究生导师, E-mail: shhfxgy7679@sina.com

Postgraduate Training Base of Xiaogan Central Hospital of Jinzhou Medical University, Xiaogan 432000, Hubei Province, China; 2. Department of Thyroid and Breast Surgery, Affiliated Hospital of Wuhan University of Science and Technology (Xiaogan Central Hospital), Xiaogan 432000, Hubei Province, China; 3. Department of Central Laboratory, Affiliated Hospital of Wuhan University of Science and Technology (Xiaogan Central Hospital), Xiaogan 432000, Hubei Province, China; 4. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Wuhan University of Science and Technology (Xiaogan Central Hospital), Xiaogan 432000, Hubei Province, China; 5. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Wuhan University of Science and Technology (Xiaogan Central Hospital), Xiaogan 432000, Hubei Province, China]

Correspondence to: SHEN Haoyuan, E-mail: shhfxgy7679@sina.com.

[**Abstract**] **Background and purpose:** Long noncoding RNA (LncRNA) plays an important role in the development of distant metastasis and drug resistance of tumors, and it is highly expressed in breast cancer tissues and plasma of breast cancer patients. However, the dynamic changes of its expression level in neoadjuvant therapy (NAT) for breast cancer and its relationship with relevant clinicopathological features have not been reported. This study aimed to investigate the predictive value of dynamic changes of plasma long lncRNA H19 in NAT for different molecular types of breast cancer. **Methods:** Forty-five breast cancer patients undergoing NAT were prospectively selected from January 2021 to December 2021 in the Department of Gynecology, Xiaogan Central Hospital, Wuhan University of Science and Technology. The corresponding treatment plan and cycle were selected for all cases according to their pathological types and general conditions. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RTFQ-PCR) was used to dynamically detect the expression levels and changes of lncRNA H19 in peripheral blood before NAT, after treatment with NAT for 2, 4 and 6 cycles, and after surgery. The differences and dynamic changes of lncRNA H19 expression levels in different periods of NAT and different molecular types of breast cancer were compared and analyzed, and the efficacy of NAT was evaluated according to pathological features after surgery. **Results:** LncRNA H19 expression was detected in peripheral blood plasma of 45 breast cancer patients treated with NAT. Among them, 20 patients (44.4%) achieved pathological complete response (pCR), 25 patients (55.6%) did not achieve pCR, and the level of H19 before NAT in patients who achieved pCR was significantly higher compared with non-pCR patients ($P<0.05$). The expression of H19 in pCR group decreased significantly with the progress of NAT ($P<0.05$), while H19 expression level in non-pCR group showed no significant downward trend after NAT. In the dynamic changes of NAT, the expression of lncRNA H19 decreased significantly from baseline after 2, 4 and 6 cycles of NAT and after surgery ($P<0.05$); plasma H19 expression level in human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) positive breast cancer patients was significantly higher compared with triple-negative breast cancer (TNBC) patients ($P<0.05$), but there was no significant difference compared with hormone receptor-positive breast cancer patients ($P>0.05$), while H19 expression level in TNBC patients was significantly lower compared with patients with hormone receptor-positive type ($P<0.05$). In the dynamic changes of NAT, the expression level of lncRNA H19 decreased significantly after 2, 4 and 6 cycles of NAT and after surgery ($P<0.05$). There was no significant difference in tumor size, lymph node status, TNM stage and lncRNA H19 expression between patients with different types of breast cancer ($P>0.05$), and there were significant differences in tumor residual load and lncRNA H19 expression after NAT ($P<0.05$). Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis showed that the area under curve (AUC) of H19 was 0.70, the sensitivity was 100%, and the specificity was 50%. **Conclusions:** Plasma H19 expression level in patients with HER2 positive breast cancer is significantly higher compared with other subtypes. Plasma lncRNA H19 expression level is significantly decreased after NAT, and patients with more obvious decline are more likely to achieve pCR. Therefore, plasma H19 can be used as a potential predictor of NAT efficacy for different molecular subtypes.

[**Key words**] Breast cancer; Neoadjuvant therapy; Long non-coding RNA; LncRNA H19; Pathological complete response

根据国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 2020年全球癌症统计, 乳腺癌的发病率 (11.7%) 已经超过肺癌 (11.4%) 而成为全球最常见的恶性肿瘤, 同样也是女性人群中主要的癌症死因^[1]。乳腺癌新辅助治疗由于可增加降期、保乳、保腋窝的概率, 同时还可筛选高危人群、获得药物敏

感性的信息指导后续用药, 因此新辅助治疗已成为早期乳腺癌的重要治疗策略^[2]。即使随着新辅助治疗、内分泌治疗、分子靶向治疗的进展, 部分早期乳腺癌患者的预后获得了明显改善, 但复发、转移及耐药等一系列预后不良的因素成为了乳腺癌死亡率高的原因。因此, 深入研究乳腺癌早期诊断方法, 探寻更准确的新辅助治疗的生

物标志物用于乳腺癌早期诊断及后续治疗药物的选择已成为目前亟待解决的问题。部分乳腺癌患者对新辅助治疗并不敏感^[3]，寻找在新辅助治疗前可以预测新辅助治疗效果的因素对于乳腺癌治疗有着非常重要的意义。

乳腺癌的发生、发展过程中常伴随着遗传及表观遗传学的变化，近年来研究^[4-6]表明长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 在肿瘤的发生、发展、远处转移及耐药过程中充当重要角色，可以在基因组表观遗传、转录及转录后水平等多个层面发挥调控作用，H19是常见的肿瘤相关lncRNA，目前已证实lncRNA H19在乳腺癌组织及乳腺癌患者血浆中均有较高的表达^[7-9]。lncRNA H19参与乳腺肿瘤形成的过程受到缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF) -1 α 、p53、E2F1 等因素调节，影响细胞周期进程，促进细胞增殖与转移^[10]。基于lncRNA H19与乳腺癌新辅助治疗具有一定相关性，本研究通过动态检测乳腺癌患者新辅助治疗前，新辅助治疗2、4和6个周期，以及手术后外周血lncRNA H19的表达水平及变化情况，分析血浆lncRNA H19的动态变化对不同分子分型乳腺癌新辅助治疗效果的预测及患者预后的影响。

1 资料和方法

1.1 一般资料

前瞻性选取2020年1月—2021年12月武汉科技大学附属孝感医院（孝感市中心医院）甲乳外科收治的45例行新辅助治疗的乳腺癌患者为研究对象。年龄34~61岁，平均年龄（47.00 \pm 8.07）岁，均为女性患者，所纳入的病例新辅助治疗前均在彩色超声下行空芯针穿刺活检明确病理学类型，肿瘤负荷大小及临床分期根据美国癌症联合会（American Joint Cancer Committee, AJCC）第8版TNM分期，T₂期有25例，T₃~T₄期有20例。确诊后治疗方案根据患者的分子分型及TNM分期等状态进行个体化选择，包括蒽环类、紫杉类及铂类药物的方案联合或序贯治疗，人表皮生长因子受体2（human epidermal growth factor receptor

2, HER2）阳性患者给予抗HER2治疗。

1.2 纳入及排除标准

纳入标准：① 初治女性乳腺癌患者，组织病理学检查结果为乳腺癌；② 年龄20~70岁；③ 符合新辅助治疗指征且至少完成6个周期新辅助治疗；④ 具备完整的临床信息；⑤ 既往未因乳腺癌接受过任何治疗。排除标准：① 合并严重脏器功能障碍；② 合并精神类疾病；③ 不符合新辅助治疗适应证；④ 中途放弃新辅助治疗者；⑤ 有远处器官转移者；⑥ 一般情况差，不能耐受治疗及手术者。

1.3 标本收集

所有患者分别在新辅助治疗前、新辅助治疗2、4和6个周期及手术后以促凝管留取患者空腹血4 mL，2 000 r/min、离心半径10 cm、离心15 min，吸取上层血清至1.5 mL无酶离心管中，使用前均保存于-80℃超低温冰箱。本研究收集样本均取得患者知情同意，并获得武汉科技大学附属孝感医院（孝感市中心医院）伦理委员会批准。

1.4 实时荧光定量聚合酶链反应（real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR）测定乳腺癌外周血血浆中lncRNA H19的表达

采用QIAzol Lysis Reagent提取血浆中的RNA（具体见试剂盒说明书）。利用SYBR Green 荧光染料试剂盒、StepOnePlus™ Q-PCR仪进行RTFQ-PCR（购自美国ABI公司）以检测lncRNA表达水平。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH）作为内参，反应条件按照说明书进行。H19上游引物为5'-GAGTCGGCACA CACTATGGCT-3'，下游引物为5'-GCTGGGTAGCACCATTCTTTC-3'；GAPDH上游引物为5'-AGCCTCGCCTTTGCCGA-3'，下游引物为5'-GCGCGGCGATATCATCATC-3'。2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算lncRNA相对表达水平，其中 Δ Ct=CtLncRNA-CtGAPDH。

1.5 新辅助治疗后疗效评价

① 依据世界卫生组织制定的实体瘤疗效

评价标准 (response evaluation criteria in solid tumors, RECIST) 1.1版本进行疗效评估: 完全缓解 (complete response, CR) 为所有靶病灶消失, 无新病灶出现, 且肿瘤标志物正常, 至少维持4周; 部分缓解 (partial response, PR) 为靶病灶最大径之和减少 $\geq 30\%$, 至少维持4周; 疾病进展 (progressive disease, PD) 为靶病灶最大径之和增加 $\geq 20\%$ 或者出现新病灶; 疾病稳定 (stable disease, SD) 为靶病灶最大径之和缩小未达PR, 或者增大未达PD。②在本研究中, 病理学完全缓解 (pathological-complete-response, pCR) 被定义为乳腺及腋窝淋巴结内无浸润性癌成分。病理学不完全缓解 (non-pathological-complete-response, non-pCR) 定义为由于部分肿瘤反应, 任何阳性淋巴结或浸润性癌残留在乳腺中。

1.6 观察指标

① 乳腺癌患者外周血血浆中lncRNA H19的表达水平; ② 乳腺癌患者新辅助治疗前, 治疗2、4及6个周期, 以及手术后外周血血浆中lncRNA H19表达量的动态变化; ③ 新辅助治疗的疗效与新辅助治疗前及2个周期后血浆中lncRNA H19的表达水平的关系; ④ 不同分子分型乳腺癌患者新辅助治疗前血浆中lncRNA H19的表达量的差异; ⑤ 乳腺癌患者血浆中lncRNA H19的表达水平与肿瘤负荷及残余肿瘤负荷、淋巴结状态及TNM分期的关系; ⑥ 血浆中lncRNA H19评估新辅助疗效的价值。

1.7 统计学处理

采用SPSS 26.0和Graphpad prism 9.0统计学软件进行统计分析。采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 评估lncRNA H19在新辅助治疗过程中的动态变化; 多因素采用多因素方差分析 (Two-way ANOVA) 进行检验; 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用样本 t 检验。根据lncRNA H19的表达水平及新辅助治疗是否有效绘制受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者基线特征

纳入患者均为女性, 年龄34~67岁, 平均49.9岁。绝经前25例, 绝经后20例。临床分期中, T₂期19例, T₃₋₄期26例; N₀期15例, N₁期25例, N₂期5例; TNM分期中, II A期6例, II B期17例, III A期17例, III B期5例。分子分型中, 激素受体阳性型 (luminal型)、HER2阳性型和TNBC各15例 (表1)。

2.2 不同时期乳腺癌患者lncRNA H19表达量的变化

入组的乳腺癌患者新辅助治疗前后的各个时间段血浆lncRNA H19的表达水平均有差异, 分析血浆H19的表达水平在新辅助治疗过程中的动态变化时, 结果显示绝大多数乳腺癌患者在新辅助治疗第2个周期后血浆H19水平有明显下降, 且新辅助治疗2及4个周期后、手术前及手术后的表达较新辅助治疗前均有显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中45例乳腺癌患者中在新辅助治疗第2个周期后有29例患者较新辅助治疗前下降, 而16例患者反而有上升的趋势。同时, 本研究也显示新辅助治疗可降低大多数乳腺癌患者血浆H19的表达 (图1)。

2.3 乳腺癌患者不同情况下与血浆中lncRNA H19的表达量的关系

本研究结果显示, 肿瘤负荷大的乳腺癌患者血浆lncRNA H19的表达水平较肿瘤负荷小者稍高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 同样对比新辅助治疗后残余肿瘤负荷与血浆H19的表达可见, 肿瘤残余大小 ≤ 2 cm的患者血浆H19表达量显著高于 > 2 cm患者, 差异有统计学意义 ($P = 0.001$)。术后残余肿瘤大小与新辅助治疗前血浆中H19相对表达量呈负相关, 淋巴结状态N₀和N₁患者血浆H19表达量均显著高于N₂患者, 这可能都预示着血浆H19表达高的患者更能获益。从TNM分期中可见II A期与II B期 ($P < 0.001$)、II B期与III A期 ($P = 0.048$) 及III A期与III B期 ($P < 0.001$) 差异均有统计学意义 (图2)。

表1 患者新辅助治疗前基线特征

Tab. 1 Baseline characteristics of patients before neoadjuvant therapy

Characteristic	Number (n=45)	Percentage/%	Characteristic	Number (n=45)	Percentage/%
Age/year			HER2		
<40	4	8.89	Negative	26	57.78
41-55	26	57.78	Positive	19	42.22
>55	15	33.33	Ki-67/%		
Menstrual status			<30	23	51.11
No menopause	25	55.56	≥30	22	48.89
menopause	20	44.44	TNM stage		
Tumor size (T stage)			II A	6	13.33
T ₂	19	42.22	II B	17	37.78
T ₃	24	53.33	III A	17	37.78
T ₄	2	4.44	III B	5	11.11
Lymph node status (N stage)			Molecular subtypes		
N ₀	15	33.33	Luminal	15	33.33
N ₁	25	55.56	HER2 positive	15	33.33
N ₂	5	11.11	TNBC	15	33.33
ER			Neoadjuvant treatments		
Negative	23	51.11	EC × 4-Nab-P × 4	25	55.56
Positive	22	48.89	(Nab-P+DDP) × 6-EC × 2	5	11.11
PR			(Nab-P+DDP) × 4+HP	10	22.22
Negative	30	66.67	(T+DDP) × 6+H	5	11.11
Positive	15	33.33			

E: Epirubicin; C: Cyclophosphamide; Nab-p: Albumin-bound paclitaxel; DDP: Cisplatin; T: Docetaxel; H: Trastuzumab; P: Partozumab.

2.4 不同分子分型乳腺癌患者血浆中lncRNA H19的表达量的差异

对比不同分子分型乳腺癌患者血浆中lncRNA H19表达水平的动态变化时,发现HER2⁺和激素受体阳性(luminal型)乳腺癌患者在新辅助治疗后lncRNA H19表达均有下降的趋势,而TNBC大多数患者在新辅助治疗第2个周期后不降反升;

此外,本研究发现新辅助治疗前HER2⁺乳腺癌患者血浆H19表达量显著高于TNBC($P=0.003$),较激素受体阳性乳腺癌有数值上提高,但差异无统计学意义($P>0.05$)。对不同分子分型患者在新辅助治疗前H19水平进行两两比较时发现,TNBC患者显著低于luminal型($P=0.037$)。在新辅助治疗2个周期后有16例患者的血浆H19水

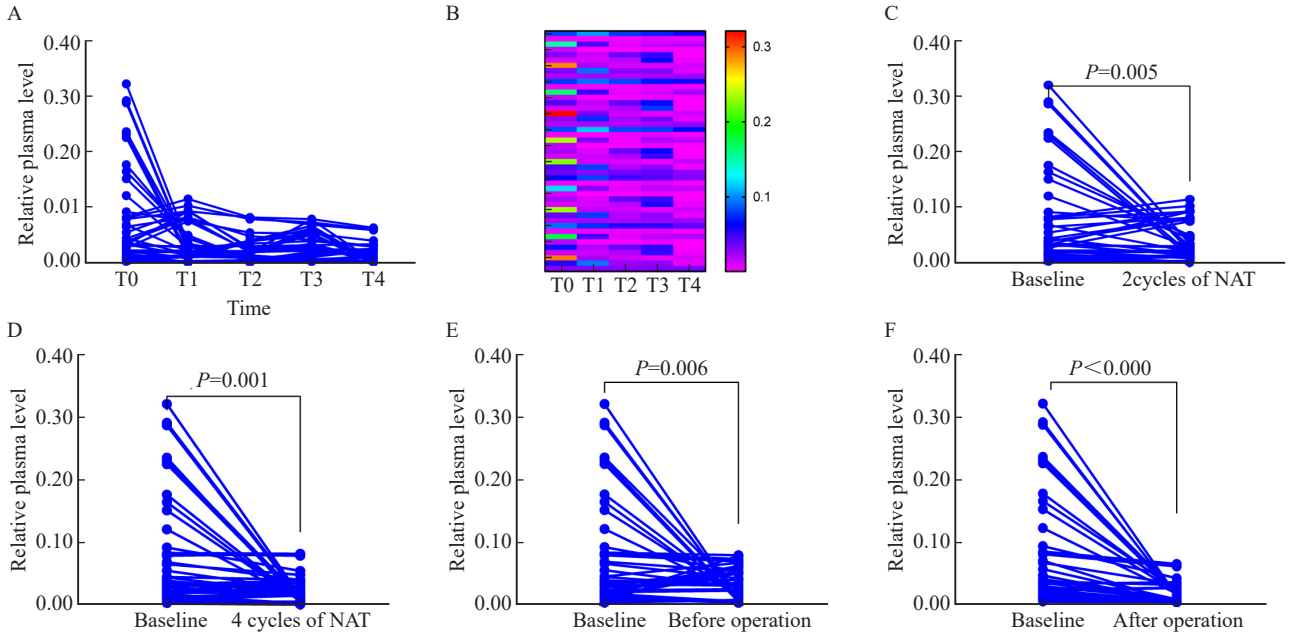


图1 lncRNA H19在不同时间段的表达差异

Fig. 1 Expression differences of lncRNA H19 in different time periods

A: Plasma lncRNA H19 expression levels in 45 breast cancer patients before neoadjuvant therapy (T0), 2 cycles (T1) and after 4 cycles after neoadjuvant therapy (T2), before (T3) and after surgery (T4). One-way ANOVA of repeated measurements showed significant difference in H19 expression between breast cancer patients and time period. B: Distribution heat maps. C: Paired *t* test of comparison 2 cycles after neoadjuvant therapy and before neoadjuvant therapy. D: Paired *t* test of comparison after 4 cycles of neoadjuvant therapy and before neoadjuvant therapy; E: Paired *t* test of comparison before surgery and before neoadjuvant therapy. F: Paired *t* test of comparison after surgery compared and before neoadjuvant therapy.

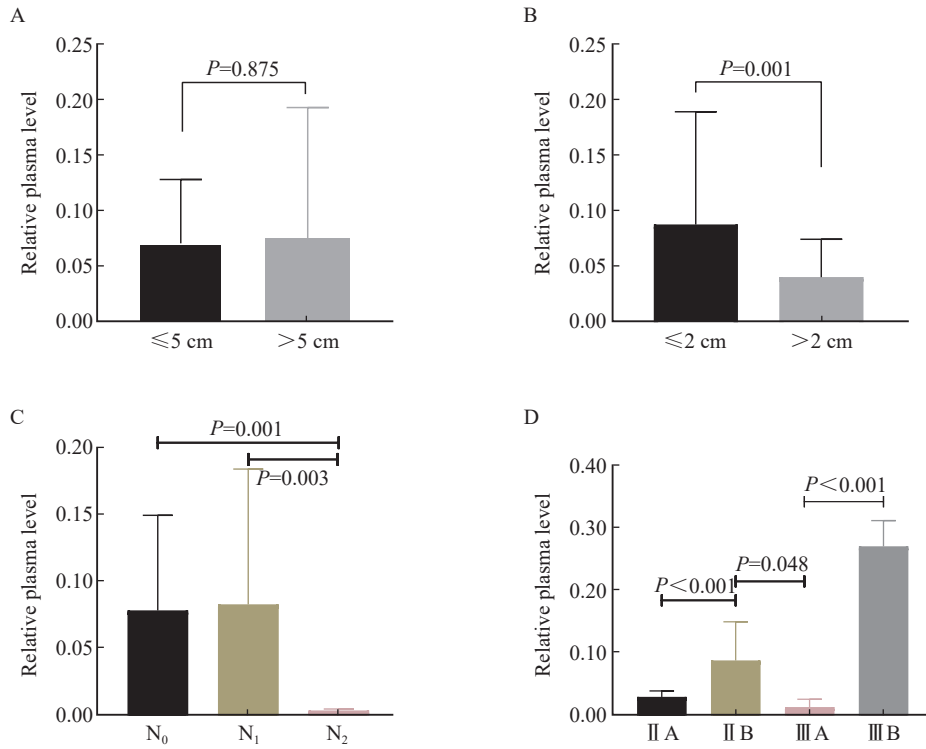


图2 lncRNA H19表达水平与乳腺癌新辅助治疗前后TNM分期的关系

Fig. 2 Relationship between lncRNA H19 expression level and TNM stage before and after neoadjuvant therapy

A: Tumor size remaining before NAT; B: Tumor size remaining after NAT; C: Comparison of different N stage; D: Comparison of stage II and III.

平较治疗前有所升高，其中12例为TNBC，4例为HER2⁺型，对比3种分子分型在新辅助治疗2个周期后H19的变化情况，结果差异无统计学意义（ $P>0.05$ ，图3、4）。

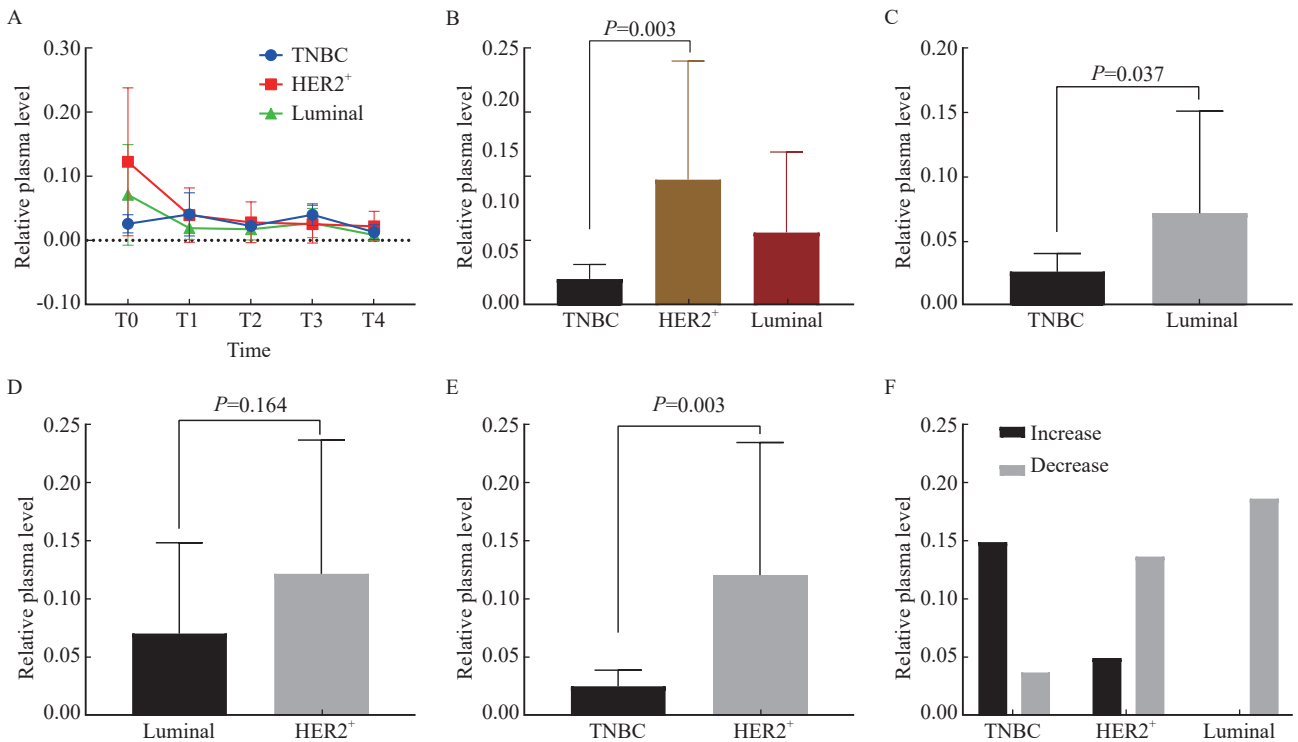


图3 不同分子分型乳腺癌lncRNA H19的表达差异

Fig. 3 Expression differences of lncRNA H19 in different molecular types of breast cancer

A: Dynamic changes of plasma lncRNA H19 expression levels in breast cancer patients with different molecular types before neoadjuvant therapy (T0), after 2 cycles of neoadjuvant therapy (T1), after 4 cycles of neoadjuvant therapy (T2), before surgery (T3) and after surgery (T4); B: One-way ANOVA was used to compare the expression levels of lncRNA H19 before neoadjuvant therapy for different molecular types of breast cancer; C: The level of H19 before in TNBC patients was significantly lower than that in luminal patients; D: The level of H19 before neoadjuvant therapy in HER2⁺ patients was higher than that in luminal patients; E: The level of pre-neoadjuvant therapy H19 in TNBC patients was significantly lower than that in HER2⁺ patients; There was no statistical difference in the changes of H19 after 2 cycles of neoadjuvant therapy among the 3 molecular types.

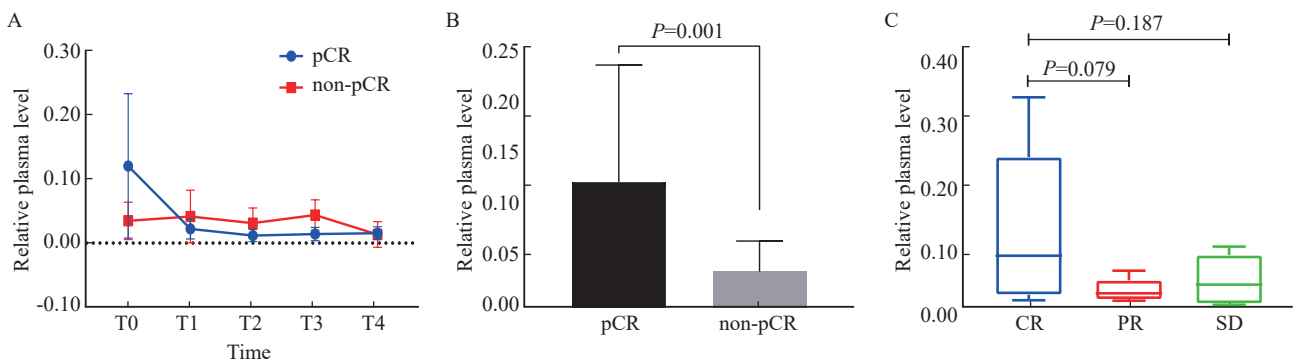


图4 新辅助治疗后疗效与lncRNA H19表达水平的关系

Fig. 4 Relationship between therapeutic effect and lncRNA H19 expression level after neoadjuvant therapy

A: Forty-five breast cancer patients were divided into pCR group and non-pCR group, and the dynamic changes of plasma lncRNA H19 relative expression levels at 5 time periods: before neoadjuvant therapy (T0), after 2 cycles of neoadjuvant therapy (T1), after 4 cycles of neoadjuvant therapy (T2), before surgery (T3) and after surgery (T4). B: The relative expression level of lncRNA H19 in plasma in the pCR group was significantly higher than that in the non-pCR group before neoadjuvant therapy. C: The level of H19 before neoadjuvant therapy in CR group was higher than that in PR group and SD group.

2.5 乳腺癌患者血浆中LncRNA H19的表达量与新辅助治疗效果的相关性

乳腺癌患者新辅助治疗后, pCR为20例(44.4%), non-pCR为25例(55.6%)。在观察血浆中LncRNA H19的表达量与新辅助治疗的预后关系时, pCR组的H19表达随着新辅助治疗的进行均有明显下降的趋势($P < 0.05$), 而non-pCR组的H19表达水平在新辅助治疗后又升高, 且随着新辅助治疗的进行H19表达水平波动起伏不定, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。pCR组在新辅助治疗前血浆中LncRNA H19的相对表

达量显著高于non-pCR组($P = 0.001$); 此外, 达到CR组患者新辅助治疗前H19水平高于PR组($P = 0.079$)和SD组($P = 0.187$, 图4)。

2.6 血浆中LncRNA H19评估新辅助疗效价值的评估

根据乳腺癌患者血浆LncRNA H19表达水平绘制ROC曲线, 确定约登指数(灵敏度+特异度-1), 用于确定截断值。ROC曲线分析结果显示, 在区分新辅助治疗是否达到pCR, H19的曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.70, 灵敏度为100%, 特异度为50%(图5)。

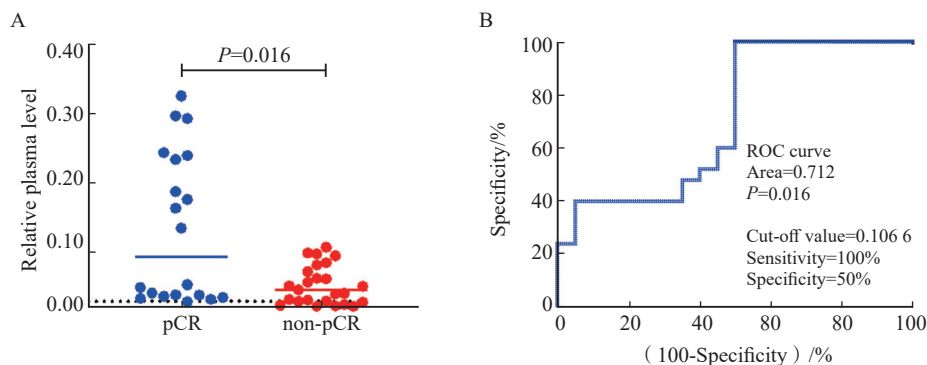


图5 LncRNA H19预测新辅助疗效的ROC曲线

Fig. 5 ROC curve of LncRNA H19 to predict neoadjuvant efficacy

A: In ROC curve, the relative expression level of LncRNA H19 in plasma of the pCR group before neoadjuvant therapy was significantly higher than that of the non-PCR group; B: ROC curve of serum LncRNA H19 to predict the efficacy of neoadjuvant therapy for breast cancer.

3 讨 论

新辅助治疗已经成为早期乳腺癌及局部晚期乳腺癌最佳治疗模式, 以及大多数II、III期TNBC与HER2阳性乳腺癌的优选治疗模式。研究表明新辅助治疗后达到pCR的患者可比未达到pCR者获得更长的生存期, 提前观察到肿瘤细胞对治疗药物的敏感性, 可能使患者避免无效的药物治疗, 有利于后续的手术治疗及减少术后的复发^[11]。然而, 部分患者在接受新辅助治疗后预后不佳, 甚至失去了局部治疗的机会, 因此, 寻找可以预测新辅助治疗效果的生物标志物可以有效地提高乳腺癌患者的预后及生存率。

人类基因组中经转录而成的RNA中仅有2%具有编码蛋白质功能, 而不具有编码蛋白质功能的RNA称为非编码RNA(non-coding RNA,

ncRNA)^[12]。LncRNA是近年来发现的一类长度大于200 nt的RNA分子, 其在肿瘤的发生、发展、转移及耐药过程中充当重要角色, 并在许多恶性肿瘤中表现出较高的组织特异性^[10, 13]。研究^[14-15]表明, 许多LncRNA的表达谱与乳腺癌的不良预后、治疗及靶向治疗耐药、生存率和疾病复发相关。LncRNA在乳腺癌中的表达水平有望用于预测新辅助治疗效果, 也有望作为乳腺癌的生物标志物, 可能有助于早期乳腺癌的诊断和提高疾病治疗效果。

LncRNA H19通过多种机制参与乳腺癌的发生、发展, 包括编码miR-675、参与竞争性内源性RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)调控网络、与Myc相互作用等^[16]。一项分析结果表明, LncRNA H19在癌症检测和诊断方面具有相对中等的准确性^[7]。

Zhang等^[9]的研究显示相对于健康人群, 乳

腺癌患者外周血中的lncRNA H19表达水平更高 ($P < 0.05$), 且经手术治疗后外周血中H19水平呈显著下降的趋势 ($P = 0.001$), 这与本研究证实的手术后H19表达量较新辅助治疗前显著下降的结果相一致。此外, 有研究^[8]分析了行新辅助治疗乳腺癌患者3种lncRNA (lncRNAs H19、MALAT1和GAS5) 在血浆中的表达水平对新辅助治疗的影响, 结果仅发现H19与乳腺癌新辅助治疗效果相关, 进一步支持本研究, 且在该研究显示在新辅助治疗4个周期后血浆H19表达水平较新辅助治疗前呈下降的趋势, 这与本研究结果一致, 达到pCR的患者新辅助治疗前H19水平低于non-pCR患者 ($P = 0.040$), 不同分子分型H19表达水平差异无统计学意义。本研究发现, HER2⁺乳腺癌患者血浆H19表达量高于激素受体阳性乳腺癌和TNBC ($P = 0.020$), 且达到pCR的患者新辅助治疗前H19水平显著高于non-pCR患者 ($P < 0.05$), 这与上述研究结果有差异, 可能因为本研究发现HER2⁺型乳腺癌患者血浆H19表达量显著较高。后续我们将扩大样本量继续探索lncRNA H19在不同分子分型乳腺癌患者新辅助治疗中的动态变化及其与临床病理学特征的关系。

本研究发现, 血浆中lncRNA H19表达水平与新辅助治疗肿瘤负荷无显著相关性, 而与术后残余肿瘤负荷相关 ($P < 0.05$), 这可能也提示血浆H19水平高的患者与更好的预后有关。

HER2⁺乳腺癌患者血浆H19表达量显著高于其他亚型, 血浆中的lncRNA H19表达量与新辅助治疗有显著相关性, 且下降更明显的患者更容易达到pCR, 可作为预测不同分子亚型新辅助治疗效果的潜在预测因子。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209–249.
- [2] 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(2021年版) [J]. *中国癌症杂志*, 2021, 31(10): 954–1040.
- The Society of Breast Cancer China Anti-Cancer Association.

- Guidelines for breast cancer diagnosis and treatment by China Anti-Cancer Association (2021 edition) [J]. *China Oncol*, 2021, 31(10): 954–1040.
- [3] CAUDLE A S, GONZALEZ-ANGULO A M, HUNT K K, et al. Predictors of tumor progression during neoadjuvant chemotherapy in breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(11): 1821–1828.
- [4] LIU S W, LI J C, KANG L, et al. Degradation of long non-coding RNA-CIR decelerates proliferation, invasion and migration, but promotes apoptosis of osteosarcoma cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 349.
- [5] ZHU Y, YANG Z, LUO X H, et al. Long noncoding RNA TTN-AS1 promotes the proliferation and migration of prostate cancer by inhibiting miR-1271 level [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(3): 1165.
- [6] SHA M, LIN M, WANG J, et al. Long non-coding RNA MIAT promotes gastric cancer growth and metastasis through regulation of miR-141/DDX5 pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 58.
- [7] LIU Y H, HE A B, LIU B E, et al. Potential role of lncRNA H19 as a cancer biomarker in human cancers detection and diagnosis: a pooled analysis based on 1 585 subjects [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 9056458.
- [8] ÖZGÜR E, FERHATOĞLU F, ŞEN F, et al. Circulating lncRNA H19 may be a useful marker of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2020, 27(1): 11–17.
- [9] ZHANG K J, LUO Z L, ZHANG Y, et al. Circulating lncRNA H19 in plasma as a novel biomarker for breast cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2016, 17(2): 187–194.
- [10] ZHANG Y F, YAN J, LI C, et al. LncRNA H19 induced by helicobacter pylori infection promotes gastric cancer cell growth via enhancing NF-κB-induced inflammation [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2019, 16: 23.
- [11] JERUSS J S, MITTENDORF E A, TUCKER S L, et al. Combined use of clinical and pathologic staging variables to define outcomes for breast cancer patients treated with neoadjuvant therapy [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(2): 246–252.
- [12] ROY R, PATTNAIK S, SIVAGURUNATHAN S, et al. Small ncRNA binding protein, PIWI: a potential molecular bridge between blood brain barrier and neuropathological conditions [J]. *Med Hypotheses*, 2020, 138: 109609.
- [13] BRANNAN C I, DEES E C, INGRAM R S, et al. The product of the H19 gene may function as an RNA [J]. *Mol Cell Biol*, 1990, 10(1): 28–36.
- [14] SHEN X K, XIE B J, MA Z S, et al. Identification of novel long non-coding RNAs in triple-negative breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(25): 21730–21739.
- [15] ZHOU S Y, HE Y J, YANG S J, et al. The regulatory roles of lncRNAs in the process of breast cancer invasion and metastasis [J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(5): BSR20180772.
- [16] WANG J, SUN J Y, YANG F. The role of long non-coding RNA H19 in breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(1): 7–16.

(收稿日期: 2022-03-04 修回日期: 2022-06-20)