胚系基因 *BRCA*1/2 突变及其相关临床病理特征

李辉斌 吴坤河 凌月仙 张江宇*
(广东省妇幼保健院 病理科,广东 广州 511400)

【摘要】 目的 探讨胚系基因 *BRCA*1/2 突变携带者突变类型、突变位点,及其与相关临床病理特征。**方法** 回顾性分析 2017 年 1 月至 2019 年 3 月广东省妇幼保健院通过高通量测序确定携带胚系基因 *BRCA*1/2 突变的患者情况,并收集患者相关年龄、组织学分级、淋巴结状态以及 ER、PR、HER-2 状态等临床病理资料。**结果** 在 16 例胚系基因 *BRCA*1/2 突变携带者中,检测到 *BRCA*1 突变位点 9 个,*BRCA*2 突变位点 8 个。检测到 *BRCA*1 基因 c. 5335delC 位点致病移码突变 1 个,*BRCA*2 基因 c. T5836C意义不明点突变 1 个,其余错义突变及点突变均为良性突变。16 例 *BRCA*1/2 基因突变携带者平均年龄 43.68 岁,50%患者年龄<40 岁。9 例乳腺浸润性癌患者同时携带有 *BRCA*1 和 *BRCA*2 基因突变 7 例,单一携带 *BRCA*2 突变 2 例,其中 1 例 *BRCA*2 意义不明点突变者为双侧乳腺浸润癌,另 1 例 *BRCA*1 致病移码突变者为三阴乳腺癌。**结论** 胚系基因 *BRCA*1/2 突变以良性突变为主,但非良性突变,可能与乳腺癌恶性程度高存在一定联系。

【关键词】 乳腺肿瘤;卵巢肿瘤;胚系基因;*BRCA*1/2 突变;高通量测序
【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To investigate the mutation types, mutation sites and relevant clinicopathological characteristics of *BRCA*1/2 germline mutation. **Method** Retrospective analysis was performed on patients with *BRCA*1/2 mutation confirmed by high-throughput sequencing in Guangdong women and children hospital from January 2017 to March 2019. The related clinicopathological data were collected, including age, histological grade, lymph node status, ER, PR and HER-2 expression. **Results** 9 *BRCA*1 mutation sites and 8 *BRCA*2 mutation sites were detected in 16 cases of *BRCA*1/2 mutation carriers. We detected 1 frameshift mutation at the *BRCA*1 gene c. 5335delC sites, and 1 undefined point mutation at the *BRCA*2 gene c. t5836c sites, and the other missense mutations and point mutations were benign mutations. The mean age of 16 *BRCA*1/2 gene mutation carriers was 43.68 years old, and 50% of the patients were younger than 40 years old. 9 patients with invasive breast cancer had both *BRCA*1 and *BRCA*2 gene mutations in 7 patients, and 2 patients with *BRCA*2 mutation alone. One case of *BRCA*2 mutation with unknown significance was bilateral invasive breast cancer, and the other case of *BRCA*1 mutation with pathogenic frameshift was triple-negative breast cancer. **Conclusions** The germline *BRCA*1/2 mutation is mainly benign mutation, but non-benign mutation may be associated with the high degree of malignancy of breast cancer.

【Key words】 Breast neoplasma; Ovarian neoplasma; Germline gene; *BRCA*1/2 mutation; High throughput sequencing

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2019.04.012
* 通信作者:张江宇,E-mail:Superchina2000@foxmail.com

乳腺癌易感基因(breast cancer susceptibility gene,*BRCA*)是重要的抑癌基因,包括 *BRCA*1 和 *BRCA*2。*BRCA*1/2 基因是评估乳腺癌、卵巢癌和其他相关癌症的重要生物标志物,也是影响患者个体化治疗方案选择的生物标志物,所以 *BRCA* 基因检测具有重要临床意义[1]。本研究以二代测序为技术手段,分析 16 例胚系基因 *BRCA*1/2 突变情况及其不同的临床病理特征。

1　材料与方法

1.1　临床资料　本研究为回顾性分析,选择 2017 年 1 月至 2019 年 3 月广东省妇幼保健院通过高通量测序检测确定携带胚系基因 *BRCA*1/2 突变患者 16 例,并收集患者相关年龄、组织学分级、淋巴结状态以及 ER、PR、HER-2 状态等临床病理资料。所有患者均签署知情同意书。

1.2　方法　采集患者外周静脉血 5ml,使用乙二胺四乙酸抗凝管低温(4℃)运输并在 4 天内进行基因检测。标本采用全自动核算提取仪进行 DNA 提取。取 1μl DNA 进行 Illumina 标准文库构建,形成可进行高通量测序的文库,经检测合格后采用 Roche NimbleGen 杂交捕获技术进行 *BRCA*1、*BRCA*12 基因目标序列捕获,捕获所得的外显子文库通过实施荧光定量核酸扩增检测系统(real-time quantitative PCR,QPCR)进行文库精确定量,然后进行上机测序。其中全自动核酸提取仪和 DNA 抽提试剂盒购自美国 KAPA 公司,高通量测序仪 Nextseq 500 购自美国 Illumina 公司。

2　结果

2.1　*BRCA*1/2 基因突变位点及突变类型　本研究 16 例胚系基因 *BRCA*1/2 突变的患者,共检测到 *BRCA*1 突变位点 9 个,其中 c.4837A>G、c.3548A>G、c.3113A>G、c.2612C>T 这 4 个位点错义突变最为常见,其次是同样 4 个位点 c.C2612T、c.A3113G、c.A3548G、c.A4837G 点突变,这 4 个位点上的两种突变类型均为良性突变,以及 1 个 c.5335delC位点的移码突变,该突变为致病突变。检测到 *BRCA*2 突变位点 8 个,包括 c.7397T>C、c.1114A>C、c.865A>C、c.2971A>G、c.10234A>G 错义突变和 c.T7397C、c.A1114C、c.T5836C 点突变,其中 c.7397T>C 位点错义突变频率最高,c.T5836C 点突变是一个意义不明的突变,其余突变均为良性突变(表 1)。

表 1　16 例胚系基因 BRCA1/2 突变位点及突变类型

基因	突变位点	突变频率(次)	突变类型	意义
*BRCA*1	c.4837A>G	8	错义突变	良性
	c.3548A>G	8	错义突变	良性
	c.3113A>G	8	错义突变	良性
	c.2612C>T	8	错义突变	良性
	c.C2612T	3	点突变	良性
	c.A3113G	3	点突变	良性
	c.A3548G	3	点突变	良性
	c.A4837G	3	点突变	良性
	c.5335delC	1	移码突变	致病
*BRCA*2	c.1114A>C	3	错义突变	良性
	c.7397T>C	9	错义突变	良性
	c.865A>C	1	错义突变	良性
	c.2971A>G	1	错义突变	良性
	c.10234A>G	1	错义突变	良性
	c.A1114C	1	点突变	良性
	c.T7397C	4	点突变	良性
	c.T5836C	1	点突变	意义不明

2.2　*BRCA*1/2 基因突变携带者临床相关病理学特征　16 例 *BRCA*1/2 基因突变携带者,其中 3 例确诊为卵巢肿瘤,3 例乳腺导管原位癌,9 例乳腺浸润性癌,另有 1 例因存在乳腺癌家族史进行 *BRCA*1/2 基因突变检测。9 例乳腺浸润性癌中同时携带有 *BRCA*1 和 *BRCA*2 基因突变患者 7 例,携带单一 *BRCA*2 突变患者 2 例,其中 1 例双侧乳腺浸润癌,发现 *BRCA*2 意义不明点突变,另 1 例三阴乳腺癌,发现 *BRCA*1 致病移码突变(表 2)。

3　讨论

*BRCA*1 和 *BRCA*2 作为肿瘤抑制蛋白,在细胞周期、DNA 损伤修复、转录调控和细胞凋亡相关信号通路中发挥着重要作用。*BRCA*1/2 功能的缺失,会影响正常基因组的稳定性,进而增加乳腺癌发生的概率[1]。目前,研究表明 5%~10%的乳腺癌和 15%~22%卵巢癌是由于 *BRCA*1/2 突变导致的[4]。*BRCA*1/2 基因致病突变,使女性发生乳腺癌

风险提高 5 倍,发生卵巢癌风险提高 10～30 倍[5]。本研究利用高通量测序技术检测 16 例 *BRCA*1/2 基因突变,研究胚系基因 *BRCA*1 和 *BRCA*2 突变位点及其相关临床病理特征,为乳腺癌、卵巢癌等相关癌症临床诊断与治疗提供一定的依据。

表 2 16 例胚系基因 *BRCA*1/2 突变携带者相关病理学特征

病理及临床诊断	年龄(岁)	WHO 分级	ER	PR	HER-2	淋巴结是否转移	*BRCA* 基因突变类型
卵巢内膜样腺癌	36	\	+	+	\	否	*BRCA*1/2 良性突变
卵巢内膜样腺癌	48	\	+	+	\	是	*BRCA*2 良性突变
恶性卵黄囊瘤	34	\	+	+	\	是	*BRCA*2 良性突变
双侧乳腺浸润性癌	52	Ⅲ级	+	<1%+	+	是	*BRCA*1/2 意义不明
三阴乳腺癌	53	Ⅲ级	−	−	−	是	*BRCA*1/2 致病突变
乳腺浸润性癌	47	Ⅲ级	<1%+	<1%+	−	否	*BRCA*2 良性突变
乳腺浸润性癌	67	Ⅱ级	<1%+	<1%+	++	否	*BRCA*1/2 良性突变
乳腺浸润性癌	32	Ⅱ级	−	−	+++	是	*BRCA*1/2 良性突变
乳腺浸润性癌	39	Ⅱ级	+	+	−	否	*BRCA*2 良性突变
乳腺浸润性癌	66	Ⅱ级	<1%+	<1%+	+++	否	*BRCA*1/2 良性突变
乳腺浸润性癌	50	Ⅱ级	+	+	+	否	*BRCA*1/2 良性突变
乳腺浸润性癌	35	Ⅱ级	+	+	−	否	*BRCA*1/2 良性突变
乳腺导管原位癌	35	\	+	+	++	否	*BRCA*2 良性突变
乳腺导管原位癌	35	\	+	+	−	否	*BRCA*1/2 良性突变
乳腺导管原位癌	44	\	+	+	−	否	*BRCA*1/2 良性突变
乳腺癌家族史	26	\	\	\	\	\	*BRCA*1/2 良性突变

注:"\"代表未分级;"+"代表阳性;"−"代表阴性

*BRCA*1/2 基因突变类型包括移码突变、无义突变、错义突变、同义突变及剪切突变 5 种类型。其中移码突变、无义突变和剪切突变 3 种类型,其共同特点为提前终止蛋白质编码合成[6]。针对 *BRCA*1/2 基因,一般情况下错义突变或者同义突变均不会影响 RNA 的转录和蛋白功能。本研究发现 16 例 *BRCA*1/2 基因突变携带者中,突变类型主要以错义突变和点突变为主,为良性突变,仅发现 1 个明确致病移码突变和 1 个意义不明点突变。本研究发现 c.4837A>G、c.3548A>G、c.3113A>G、c.2612C>T 4 个位点为 *BRCA*1 基因的常见突变位点,而 c.7397T>C 位点为 BRCA2 基因的常见突变位点。

乳腺癌是我国女性发病率最高的恶性肿瘤,且具有年轻化趋势,中国乳腺癌患者平均发现年龄为 48.7 岁。早发性乳腺癌较普通乳腺癌具有更广的胚系突变频谱和更高的突变。胚系基因 BRCA1/2 突变与遗传性乳腺癌密切相关[7]。但 BRCA 突变只能解释 20%～40%的家族性乳腺癌,而且在不同人种间存在差异。乳腺癌的危险因素还包括月经初潮早、初产年龄晚、未哺乳、停经晚、未婚育、高脂饮食、饮酒、吸烟、长期激素替代治疗、体重指数超标、环境辐射、乳腺良性疾病史等。研究发现,*BRCA*1、*BRCA*2 胚系突变的携带者平均发病年龄比无 *BRCA* 突变携带者提前 7 年,且同时携带 *BRCA*1 和 *BRCA*2 突变的发病年龄较单一 *BRCA*1 或 *BRCA*2 突变的发病年龄提前[8,9]。与年老乳腺癌相比,遗传性乳腺癌发病年龄较早,受环境因素影响相对较小,遗传因素起着更为重要的作用。本研究发现,在 9 例乳腺浸润性癌患者中,同时携带有 *BRCA*1 和 *BRCA*2 基因突变患者 7 例,携带单一 BRCA2 突变患者 2 例,因样本量少,二者发病年龄并无明显差异。本研究中的两例 *BRCA* 基因非良性突变,1 例 *BRCA*2 意义不明点突变为双侧乳腺浸润癌,另 1 例 *BRCA*1 致病移码突变为三阴乳腺癌,推测胚系基因 *BRCA*1/2 非良性突变,可能与乳腺癌恶性程度密切相关。

卵巢癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤,早起卵巢癌多无明显症状,一旦发现多为晚期,是妇科恶性肿瘤死亡的主要原因。*BRCA* 基因突变在卵巢癌中的发生率为 5.8%～24.8%,*BRCA*1 和 *BRCA*2 基因突变携带者在 70 岁时卵巢癌的发生风险分别为 18.0%～54.0%和 2.4%～19.0%[10]。本研究

中共发现 3 例携带 *BRCA*1/2 突变的卵巢肿瘤患者,在所有 *BRCA* 突变携带者中约占 18%,其中 *BRCA*2 突变频率为 3 次,*BRCA*1 突变频率仅 1 次。

目前,*BRCA*1 和 *BRCA*2 胚系突变的乳腺癌患者对多聚核糖聚合酶抑制剂和铂类为主的化疗方案较敏感[11],可用于指导化疗方案的制定和改善遗传性乳腺癌的预后。2013 年欧洲内科肿瘤学会(the European Society for Medical Oncology,ESMO)指出,*BRCA* 基因成为卵巢癌中新的研究热点。而聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶[poly(ADP-ribose)polymerase,PARP]抑制剂与 *BRCA* 基因有"合成致死性"效应(即:当两个非致死基因突变单独发生时,细胞并不发生损伤或死亡;而两个非致死基因突变同时发生时,则可以引起细胞的死亡),也使得 *BRCA* 基因突变型卵巢癌有了新的治疗方案,并已于 2014 年批准上市。国外研究还发现,*BRCA* 基因突变型卵巢癌相对 *BRCA* 基因野生型卵巢癌,具有对铂类药物高敏感性以及无病间期、总生存时间和无瘤生存时间更长的特点[12]。

综上所述,乳腺癌、卵巢癌的治疗方式仍以手术为主,药物治疗为辅,但治疗效果个体及地区差异较大,*BRCA*1 和 *BRCA*2 基因的深入研究可以为我们更好地解释生命现象,并有助于对肿瘤治疗提出新的诊断思路及治疗方案。随着精准医疗时代的到来,靶向治疗为 *BRCA* 基因突变型患者带来了新的治疗手段,与药物相匹配的伴随诊断也为其个性化治疗提供良好的指导作用。尽管 *BRCA* 基因突变型乳腺癌具体发病机制仍需进一步研究,但随着科学技术的进步,其发病机制将得到更全面的研究和解释,更多有效的靶向药物将逐渐被开发和利用,从而为 *BRCA* 基因突变型患者提供更为有效的个体化治疗。

参 考 文 献

[1] 《基于下一代测序技术的 BRCA 基因检测流程中国专家共识》编写组. 基于下一代测序技术的 BRCA 基因检测流程中国专家共识[J]. 中华病理学杂志, 2018, 47(6):401-406.

[2] Milne RL, Antoniou AC. Genetic modifiers of cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers[J]. Ann Oncol, 2011, 22 Suppl 1:i11-i17.

[3] Scully R, Livingston DM. In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2[J]. Nature, 2000, 408(6811):429-432.

[4] Campeau PM, Foulkes WD, Tischkowitz MD. Hereditary breast cancer: new genetic developments, new therapeutic avenues[J]. Hum Genet, 2008,124(1):31-42.

[5] Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance[J]. J Clin Oncol, 2007,25(11):1329-1333.

[6] Kwong A, Shin VY, Ho JC, et al. Comprehensive spectrum of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations in breast cancer in Asian countries[J]. J Med Genet, 2016,53(1):15-23.

[7] 樊菁, 吕勇刚, 王廷, 等. 易感基因突变与遗传性乳腺癌的关系[J/CD]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2014, 8(6):414-422.

[8] Heidemann S, Fischer C, Engel C, et al. Double heterozygosity for mutations in BRCA1 and BRCA2 in German breast cancer patients: implications on test strategies and clinical management[J]. Breast Cancer Res Treat, 2012, 134(3):1229-1239.

[9] Wu X, Huang H, Wang C, et al. Identification of a novel peptide that blocks basic fibroblast growth factor-mediated cell proliferation[J]. Oncotarget, 2013,4(10):1819-1828.

[10] Eccles DM, Balmana J, Clune J, et al. Selecting Patients with Ovarian Cancer for Germline BRCA Mutation Testing: Findings from Guidelines and a Systematic Literature Review[J]. Adv Ther, 2016,33(2):129-150.

[11] Livraghi L, Garber JE. PARP inhibitors in the management of breast cancer: current data and future prospects[J]. BMC Med, 2015,13:188.

[12] Eoh K J, Park HS, Park JS, et al. Comparison of clinical outcomes of BRCA1/2 pathologic mutation, variants of unknown significance, or wild type epithelial ovarian cancer patients[J]. Cancer Res Treat, 2017,49(2):408-415.

(收稿日期:2019-08-12)

编辑:宋文颖