doi:10.11659/jjssx.10E021076

·综 述·

BRAF 基因在乳腺癌发生发展及治疗中的研究现状

张馨予[1],包 刚[2] (1.贵州医科大学临床医学院,贵州 贵阳 550025;2.贵州医科大学附属医院乳腺外科,贵州 贵阳 550004)

[摘 要] 虽然当前的许多综合治疗方案显著改善了乳腺癌患者的预后,尤其是靶向治疗的临床应用极大地提高了患者生存率,但是近年来女性乳腺癌的发病率及病死率在国内外仍呈持续升高的趋势。随着精准医学的发展,对各个可能导致乳腺癌发生发展的基因方面的研究已然成为临床热点。我们已知表皮生长因子受体(EGFR)基因在乳腺癌中高表达标志着患者预后不良,同时也有研究表明,作为 EGFR 的下游基因,鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B1(BRAF)基因的突变与乳腺癌的发生有关。故本文对近年来国内外关于 BRAF 基因突变与乳腺癌发生发展及治疗方面的研究进展作一综述。

[关键词] 乳腺癌;鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B1;细胞学

[中图分类号] R737.9 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-10-15

Research status of BRAF gene in the occurrence, development and treatment of breast cancer

ZHANG Xin-yu[1], BAO Gang[2] (1. School of Clinical Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang Guizhou 550025, China; 2. Department of Breast Surgery, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang Guizhou 550004, China)

Abstract: Although many current comprehensive treatment schemes have significantly improved the prognosis of breast cancer patients, especially the clinical application of targeted therapy has greatly improved the survival rate of patients, the incidence and mortality of female breast cancer at home and abroad in recent years is still on the rise. With the development of precision medicine, the study of genes that may lead to the occurrence and development of breast cancer has become a clinical hot spot. It is known that high expression of the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene in breast cancer signals a poor prognosis. At the same time, it has also been suggested that mutation of v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF) gene, as a downstream gene of EGFR, is associated with the occurrence of breast cancer. Therefore, this article reviews the recent research progress on BRAF gene mutation and the occurrence, development and treatment of breast cancer.

Keywords: breast cancer; v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1; cytology

据 GLOBOCAN 2020 全球癌症统计显示,女性乳腺癌首次超过肺癌成为全球第一大癌症,2020 年全球女性乳腺癌新增病例 226 万,占女性癌症总数的 24.5%,死亡人数达 68 万,占女性癌症死亡总数的 15.5%[1]。即使通过规范化诊疗,仍有约 30% 的早期确诊患者发生疾病进展,晚期乳腺癌患者 5 年生存率仅有 20%,总体生存时间中位数为 2~3 年[2-5]。乳腺癌是一种高度异质性肿瘤,对药物的选择及敏感性差异很大[6]。因分子异质性高,即使病理性状相似的乳腺癌患者预后也可能差异较大[7]。目前临床上对于乳腺癌的治疗多采用以手术为主,放疗、化疗、内分泌治疗及靶向治疗为辅的综合治疗策略。分子靶向治疗的出现为乳腺癌的治疗提供了新的方向,其主要针对乳腺癌发生发展的有关信号通路,从细胞分子水平进行药物治疗,使癌细胞特异性死亡的同时不会损伤周围正常细胞,是一种全新的生物治疗模式[8],显著改善了乳腺癌患者的预后。基于此,近年来乳腺癌的致癌基因研究成为了学术界广议的一大热点,临床对乳腺癌的致癌基因展开研究,旨在寻找更为有效的治疗方法,从而提高患者生存率。

恶性肿瘤的发生是由于控制细胞增殖和凋亡的基因发生突变,其主要特征是不可控的细胞分裂和无限增殖。癌症基因组图谱数据显示,GATA3、PIK3CA 和 TP53 是乳腺癌中最常见的突变基因[9],除此之外,一些罕见的突变基因也逐渐引起了人们的重视。鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B1(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)已被证实是致癌基因[10],该基因突变存在于许多肿瘤类型中,包括皮肤恶性黑色素瘤(50%)、甲状腺乳头状癌(20%~50%)、结肠直肠癌(10%)、非小细胞肺癌(2%~4%)、毛细胞白血病(90% 以上)和慢性肾病(18%)[10-11],且与乳腺癌的发生发展有关[12]。故本文就目前 BRAF 基因在乳腺癌中的研究进展及其临床意义进行综述。

[通信作者] 包 刚,E-mail:18984846632@189.cn

1 BRAF 基因结构及其蛋白功能

BRAF 基因是 RAF 基因家族中的一个重要成员，于 1998 年由 Ikawa 等[13]首次在人类尤因肉瘤中发现。其位于染色体 7q34，长度约 190 kb，含 18 个外显子，编码 766 个氨基酸，其编码的蛋白是位于 RAS/RAF/MEK/ERK 信号通路的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，通过 MEK 及 ERK 将细胞表面受体和 RAS 蛋白同细胞核内的转录因子相连接，从而调控细胞的生长、增殖、分化和凋亡[14]。研究证明，BRAF 基因突变可引起 MEK/ERK 信号传导通路紊乱，致使细胞不断增殖，从而导致恶性肿瘤的发生[15]。目前越来越多的证据表明，RAS/RAF 信号通路在乳腺癌（特别是三阴性乳腺癌）中发挥重要作用，提示靶向该通路可提高治疗效果[16]。

据统计，有 7% ~8% 的人类恶性肿瘤发生了 BRAF 基因突变[10,17]，通常是体细胞点突变激活，最常见的突变形式为第 15 外显子第 1 799 列核苷酸 T-A 的突变（GTG 突变为 GAG），即 V600E 突变，约占 80%，该单一突变可显著增加 BRAF 基因的活性，其余 20% 左右的突变也多发生在第 11 外显子或第 15 外显子附近。有研究表明，在 43 种癌细胞系中，所有可能的致癌 BRAF 体细胞突变都发生在第 11 外显子或第 15 外显子中[10]。杨兴宇等[18]在 60 例乳腺癌标本切片中检测到 1 例 BRAF 基因的第 15 外显子出现 T599P 突变，该位置与 V600E 为相邻氨基酸，这也提示该区为突变高发区。Hollestelle 等[19]的研究显示，人类癌症中 RAS/RAF/MEK/ERK 信号通路的激活主要是由 RAS 和 BRAF 基因的突变导致，从而使其下游的 MEK/ERK 信号通路持续激活，引起肿瘤细胞增殖和迁移。突变的 BRAF 基因是各种恶性肿瘤抑制剂的主要靶点[20]。

2 BRAF 基因突变诱导乳腺癌的发生机制进展

表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）是位于人类 7p13-q22 染色体上的酪氨酸蛋白激酶受体，与 HER-2 同属于 HER 家族，其主要通过引起 RAS/RAF、PIK3CA/AKT、JAK/STAT 等信号通路传导，使信号从细胞外传至细胞内，进而调控细胞增殖、代谢等活动[21]。EGFR 信号通路通常处于关闭状态，各正常组织中的 EGFR 基因也呈低表达，而当其呈高表达，或 EGFR 基因本身或下游基因发生突变时，都有可能促进细胞异常增殖、分化，从而引起肿瘤的发生。据统计，EGFR 在约 50% 的基底样乳腺癌中发生扩增，在约 10% 的三阴性乳腺癌中出现突变[22]。早在 1987 年国外研究就提出 EGFR 的异常表达与乳腺癌早期复发和预后不良有关，对预测乳腺癌的潜在恶性程度有至关重要的作用[23]。BRAF 基因为 EGFR 的下游信号转导子，Hollestelle 等[19]的研究显示，40 个乳腺癌细胞系中有 4 个具有杂合子 BRAF 突变，该研究对 40 个人类乳腺癌细胞系中来自 PI3K 和 RAS 信号通路的 6 个主要癌症基因进行了突变分析，确定了 26 个独特的突变，其中 9 个在 PTEN，7 个在 PIK3CA，5 个在 KRAS，3 个在 BRAF，1 个在 HRAS，1 个在 NRAS。戴欣[24]通过对 26 例女性乳腺癌标本进行 DNA 提取及基因 PCR 扩增、测序发现，26 例乳腺癌标本中有 5 例发生 BRAF 基因突变，其突变率达 19%，突变位点均位于 BRAF 基因热点突变区域第 15 外显子 G1808C，而 10 例对照样本均未发现 BRAF 基因的突变。Davies 等[10]研究发现，45 例乳腺癌标本中有 1 例发生 BRAF 基因突变。一项对我国青海地区妇女与乳腺癌发生关系的研究指出，在 25 例乳腺癌患者中 PIK3CA、BRAF 和 KRAS 基因突变率分别为 32%、16% 和 20%[25]。2018 年，国际乳腺癌研究小组使用质量阵列系统 OncoCarta 面板 v1.0 对三阴性乳腺癌进行了基因突变分析，结果显示在 135 例患者中 PIK3CA 是最常见的突变基因（18/135，13.3%），其次是 BRAF（4/135，3.0%）、KIT（4/135，3.0%）、PDGFRA（4/135，3.0%）和 AKT1（3/135，2.2%）[26]。据此可推测，BRAF 基因突变与乳腺癌的发生具有一定的相关性。

国外一项研究对 10 428 例转移性乳腺癌患者的综合基因组图谱进行分析，确定了 135 例（1.3%）BRAF 基因改变，分别为扩增（0.6%）、突变（0.5%）和重排（0.2%）[27]。2016 年一项基因组筛选项目的数据分析显示，在 215 例转移性乳腺癌患者中，KRAS、NRAS 和 BRAF 基因的突变率分别为 12.06%、5.67% 和3.18%[16]。但值得一提的是，Tong 等[28]利用高通量质谱癌症基因突变分析平台检测了我国 120 例乳腺癌患者的 PIK3CA、AKT1、BRAF、EGFR、HRAS 和 KRAS 基因的 22 个突变，结果未检测到 BRAF 基因突变，这可能与 BRAF 基因在乳腺癌中的突变率低有关。

流行病学研究表明，饮酒量与乳腺癌的发生风险呈正相关[17,29]。国外研究通过应用分子、遗传和基因组学方法分析发现，原癌基因 BRAF 是一种新的促进乳腺癌细胞增殖的乙醇反应基因，其转录水平与患者的生存率及内分泌治疗效果呈负相关，在预后不良的患者中呈高表达，即使在没有雌激素的情况下，酒精也能促进饮酒女性体内 BRAF 的持续表达，从而可能增

强雌激素在增加乳腺癌风险方面的作用[30]。这一发现不仅强调了酒精在乳腺癌中的作用机制,而且可能有助于在乳腺癌的研究和治疗中发现新的致癌途径和标志物。

乳腺腺样囊性癌是一种特殊的乳腺癌,其发生率占乳腺癌的0.1% ~1%,通常是一种三阴性乳腺癌,同时也是一种惰性肿瘤,当局限于乳腺时具有良好的预后[31-32]。有报道显示,在该类型乳腺癌中,BRAF基因突变率较高,根据《癌症中的体细胞突变目录》数据库,乳腺腺样囊性癌中BRAF基因突变率为10.7%,明显高于常见类型乳腺癌中BRAF基因的突变率(1.1%)[33]。

从以上数据分析可知,尽管乳腺癌中BRAF基因的突变率非常低,很少被DNA测序检测到,但在乳腺癌细胞系中发现了此类突变[19],表明乳腺癌包含了BRAF基因的小突变亚群,并且无法通过癌症DNA测序准确检测及评估出该突变,这也可能促进了乳腺癌的发生发展。并且Oikonomou等[34]指出,BRAF基因突变与肿瘤转移高度相关,可能导致患者总生存率降低,预后不良。

3 BRAF基因在乳腺癌治疗中的研究进展

在人类黑色素瘤中,最常见的激活突变发生在BRAF V600E,而BRAF V600E突变蛋白的特异性抑制剂已在临床上广泛用于黑色素瘤的治疗,且效果显著[35]。由于BRAF V600E在乳腺癌中的突变率低,目前相关研究较少,因此其靶向药物在乳腺癌的治疗中鲜少应用。国外有个案报道,1例合并多种原发性恶性肿瘤的女性患者因BRAF突变型黑色素瘤接受了维罗非尼(一种BRAF抑制剂)治疗,然而却使既往得到控制的乳腺癌病灶增大,立即停用维罗非尼后乳腺癌病灶迅速缩小[36],这提示BRAF抑制剂和乳腺癌进展之间存在因果关系,临床对患有多种原发性恶性肿瘤的患者选择BRAF抑制剂治疗时应谨慎。但这种突变对BRAF抑制剂的潜在反应还有待进一步研究确定。Seo等[37]对首例存在BRAF V600E突变的乳腺癌患者接受BRAF基因突变抑制剂治疗的情况进行了报道,该患者在开始使用达布芬尼和曲马替尼2周后,复查相关影像学检查提示乳腺癌原发灶明显缩小,尽管后期病情出现进展,患者在接受达布芬尼和曲马替尼治疗12周后死亡,但在最初使用药物后病灶明显缩小,预示着靶向治疗BRAF基因突变具有潜在的可能性。

分子靶向治疗目前已在临床广泛应用,针对大部分癌症的分子靶向治疗可能会为缺乏靶点的少量癌细胞亚群增殖创造机会,从而导致癌症进展和复发。目前在临床上BRAF基因抑制剂鲜少在乳腺癌患者中使用,针对BRAF基因突变患者可以考虑选择特异性的BRAF基因抑制剂进行治疗,从而达到抗肿瘤的效果。该假设可以考虑作为治疗乳腺癌的新手段,但后期还需要大量的研究来更好地了解BRAF突变乳腺癌患者对BRAF靶向治疗的反应和耐药性。

4 总结与展望

目前,精准医学已成为医学发展的新趋势,对于癌症基因组的研究也成为了热点。尽管BRAF基因在乳腺癌中的表达并不常见,但其突变与乳腺癌的发生、进展关系密切,尤其在三阴性乳腺癌中有较高的突变率,但其在乳腺癌中的作用机制还有待进一步研究,且基于目前临床上BRAF基因突变检测技术的局限性,该技术的应用受到了一定的限制,种种问题尚待解决,后期仍需进一步研究。

[参考文献]

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, 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. doi: 10.3322/caac.21660.

[2] Cronin KA, Lake AJ, Scott S, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, part I: national cancer statistics[J]. Cancer, 2018, 124(13): 2785 - 2800. doi: 10.1002/cncr.31551.

[3] DeSantis CE, Ma J, Gaudet MM, et al. Breast cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(6): 438 - 451. doi: 10.3322/caac.21583.

[4] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国晚期乳腺癌临床诊疗专家共识(2018版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(9): 703 - 713. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253 - 3766.2018.09.013.

[5] Feng RM, Zong YN, Cao SM, et al. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics? [J]. Cancer Commun (Lond), 2019, 39(1): 22. doi: 10.1186/s40880 - 019 - 0368 - 6.

[6] Shigematsu H, Ozaki S, Yasui D, et al. Overexpression of topoisomerase II alpha protein is a factor for poor prognosis in patients with luminal B breast cancer[J]. Oncotarget, 2018, 9(42): 26701 - 26710. doi: 10.18632/oncotarget.25468.

[7] Sun N, Gao P, Li Y, et al. Screening and identification of key common and specific genes and their prognostic roles in different molecular subtypes of breast cancer[J]. Front Mol Biosci, 2021, 8(11): 619110. doi: 10.3389/fmolb.2021.619110.

[8] Walker SR, Liu S, Xiang M, et al. The transcriptional modulator BCL6 as a molecular target for breast cancer therapy[J]. Oncogene, 2015, 34(9): 1073 - 1082. doi: 10.1038/onc.2014.61.

[9] Kobldt DC, Fulton RS, Mclellan MD, et al. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours[J]. Nature, 2012, 490(7418): 61 - 70. doi: 10.1038/nature11412.

[10] Davies H, BignellI GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in

human cancer[J]. Nature,2002,417:949 - 954. doi:10.1038/nature 00766.

[11] Coohen Y,Xing M,Mambo E,et al. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst,2003,95(8):625 - 627. doi:10.1093/jnci/95.8.625.

[12] Liu Y,Yang B,Zhang X,et al. The gene mutation spectrum of breast cancer analyzed by semiconductor sequencing platform[J]. Pathol Oncol Res,2020,26(1):491 - 497. doi:10.1007/s12253 - 018 - 0522 - 5.

[13] Ikawa S,Fukui M,Ueyama Y,et al. B-raf,a new member of the raf family,is activated by DNA rearrangement[J]. Mol Cell Biol,1988,8(6):2651 - 2654. doi:10.1128/mcb.8.6.2651 - 2654.1988.

[14] Ikenoue T,Hikiba Y,Kanai F,et al. Functional analysis of mutations within the kinase activation segment of B-Raf in human colorectal tumors[J]. Cancer Res,2003,63:8132 - 8137. doi:10.1007/s00262 - 003 - 0421 - 8.

[15] Hussain MRM,Baig M,Mohamoud HAS,et al. BRAF gene:from human cancers to developmental syndromes[J]. Saudi J Biol Sci,2015,22(4):359 - 373. doi:10.1016/j.sjbs.2014.10.002.

[16] Cejalvo JM,Perez-Fidalgo JA,Ribas G,et al. Clinical implications of routine genomic mutation sequencing in PIK3CA/AKT1 and KRAS/NRAS/BRAF in metastatic breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat,2016,160(1):69 - 77. doi:10.1007/s10549 - 016 - 3980 - z.

[17] Key J,Hodgson S,Omar RZ,et al. Meta-analysis of studies of alcohol and breast cancer with consideration of the methodological issues[J]. Cancer Causes Control,2006,17(6):759 - 770. doi:10.1007/s10552 - 006 - 0011 - 0.

[18] 杨兴宇,张 凯,邹 宇,等.乳腺癌组织中 EGFR/KRAS/BRAF 基因突变检测与分析[J].生物技术,2020,30(2):182 - 185. doi:10.16519/j.cnki.1004 - 311x.2020.02.0030.

[19] Hollestelle A,Elstrodt F,Nagel JH,et al. Phosphatidylinositol-3-OH kinase or RAS pathway mutations in human breast cancer cell lines[J]. Mol Cancer Res,2007,5(2):195 - 201. doi:10.1158/1541 - 7786.MCR - 06 - 0263.

[20] Cantwell-Dorris ER,O'Leary JJ,Sheils OM. BRAFV600E:implications for carcinogenesis and molecular therapy[J]. Mol Cancer Ther,2011,10(3):385 - 394. doi:10.1158/1535 - 7163.MCT - 10 - 0799.

[21] Klapper LN,Kirschbaum MH,Sela M,et al. Biochemical and clinical implications of the ErbB/HER signaling network of growth factor receptors[J]. Adv Cancer Res,2000,77:25 - 79.

[22] Bessette DC,Tilch E,Seidens T,et al. Using the MCF10A/MCF10CA1a breast cancer progression cell line model to investigate the effect of active,mutant forms of EGFR in breast cancer development and treatment using gefitinib[J]. PLoS One,2015,10(5):e0125232. doi:10.1371/journal.pone.0125232.

[23] Sainbury JR,Nicholson S,Angus B,et al. Epidermal growth factor receptor status of histological sub-types of breast cancer[J]. Br J Cancer,1988,58(4):458 - 460. doi:10.1038/bjc.1988.240.

[24] 戴 欣.乳腺癌组织中 PIK3CA、KRAS 及 BRAF 基因突变热点区域的序列分析[D].淮北:淮北师范大学,2014.

[25] Wang YL,Dai X,Li YD,et al. Study of PIK3CA,BRAF,and KRAS mutations in breast carcinomas among Chinese women in Qinghai[J]. Genet Mol Res,2015,14(4):14840 - 14846. doi:10.4238/2015.November.18.49.

[26] Munzone E,Gray KP,Fumagalli C,et al. Mutational analysis of triple-negative breast cancers within the International Breast Cancer Study Group (IBCSG) Trial 22-00[J]. Breast Cancer Res Treat,2018,170(2):351 - 360. doi:10.1007/s10549 - 018 - 4767 - 1.

[27] Albanell J,Elvin J,Suh J,et al. BRAF genomic alterations in breast cancer[J]. Ann Oncol,2016,27(Suppl 6):vi70. doi:10.1093/annonc/mdw365.07.

[28] Tong L,Yang XX,Liu MF,et al. Mutational analysis of key EGFR pathway genes in Chinese breast cancer patients.[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2012,13:5599 - 5603. doi:10.7314/apjcp.2012.13.11.5599.

[29] Chen WY,Rosner B,Hankinson SE,et al. Moderate alcohol consumption during adult life,drinking patterns,and breast cancer risk[J]. JAMA,2011,306(17):231 - 232. doi:10.1016/j.breastdis.2012.06.010.

[30] Candelaria NR,Weldon R,Muthusamy S,et al. Alcohol regulates genes that are associated with response to endocrine therapy and attenuates the actions of tamoxifen in breast cancer cells[J]. PLoS One,2015,10(12):e0145061. doi:10.1371/journal.pone.0145061.

[31] Canyilmaz E,Uslu GH,Memış Y,et al. Adenoid cystic carcinoma of the breast:a case report and literature review[J]. Oncol Lett,2014,7(5):1599 - 1601. doi:10.3892/ol.2014.1945.

[32] Coca-Pelaz A,Rodrigo JP,Bradley PJ,et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck:an update[J]. Oral Oncol,2015,51(7):652 - 661. doi:10.1016/j.oraloncology.2015.04.005.

[33] Bae GE,Yoon N,Cho EY,et al. Clinicopathological and molecular characteristics of mammary adenoid cystic carcinoma with adipocytic differentiation with emphasis on the identification of a novel BRAF mutation[J]. Anticancer Res,2019,39(1):369 - 374. doi:10.21873/anticanres.13121.

[34] Oikonomou E,Koustas E,Goulielmaki M,et al. BRAF *vs.* RAS oncogenes:are mutations of the same pathway equal? Differential signalling and therapeutic implications[J]. Oncotarget,2014,5(23):11752 - 11777. doi:10.18632/oncotarget.2555.

[35] Tan J,Liu R,Zhu G,et al. TERT promoter mutation determines apoptotic and therapeutic responses of BRAF-mutant cancers to BRAF and MEK inhibitors:achilles heel[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2020,117(27):15846 - 15851. doi:10.1073/pnas.2004707117.

[36] Novik AV,Protsenko SA,Baldueva IA,et al. Vemurafenib-induced progression of breast cancer:a case report and review of the literature[J]. Target Oncol,2016,11(2):235 - 238. doi:10.1007/s11523 - 015 - 0384 - 7.

[37] Seo T,Noguchi E,Yoshida M,et al. Response to Dabrafenib and Trametinib of a patient with metaplastic breast carcinoma harboring a BRAF V600E mutation[J]. Case Rep Oncol Med,2020:2518383. doi:10.1155/2020/2518383.

(编辑:魏 源)