

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2014.10.007

• 临床研究 •

血浆miR-221的表达与乳腺癌患者新辅助化疗疗效的相关性

赵瑞华, 李向柯, 张伟杰

Plasma miR-221 Expression could Predict Chemosensitivity to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer Patients

ZHAO Ruihua, LI Xiangke, ZHANG Weijie

Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University Institute of Clinical Medicine, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China



Abstract: Objective To explore the possibility of plasma miR-221 as a biomarker for chemosensitivity to neoadjuvant chemotherapy(NAC) in breast cancer patients. **Methods** The expression levels of circulating plasma miR-221 in 32 healthy individuals and 93 breast cancer patients who received NAC were assessed by QRT-PCR method. The correlation between miR-221 expression levels and clinical pathological features and chemosensitivity were also analysed. **Results** miR-221 expression levels in the plasma of breast cancer patients(1.453±0.065) were significantly higher than those in healthy individuals (1.114±0.093)($P=0.007$). miR-221 expression level was significantly associated with hormone receptor(HR) status ($P=0.008$). Patients with higher plasma miR-221 levels tended to be with HR-negative. Patients with different miR-221 levels had significant differences in overall response rate (ORR), not complete response (pCR) rate (ORR: $P=0.044$; pCR: $P=0.477$). **Conclusion** Plasma miR-221 expression may be a predictive biomarker for chemosensitivity to NAC in breast cancer patients.

Key words: miR-221; Breast cancer; Neoadjuvant chemotherapy

摘要: 目的 探讨血浆中miR-221的表达是否可以作为乳腺癌患者对以紫杉类和蒽环类药物为主的新辅助化疗疗效的预测指标。**方法** 应用QRT-PCR方法检测以紫杉类和蒽环类为主的新辅助化疗的93例乳腺癌患者和32名健康志愿者血浆miR-221的表达水平, 并分析miR-221的表达水平与乳腺癌患者临床病理特征及化疗疗效的关系。**结果** (1)与健康志愿者(1.114±0.093)相比, 乳腺癌患者血浆miR-221平均水平(1.453±0.065)明显增高($P=0.007$)。(2)miR-221表达与患者HR状态显著相关, 高miR-221表达的患者倾向于HR表达阴性。(3)miR-221高表达组和低表达组相比, ORR差异有统计学意义, 但pCR率差异无统计学意义(ORR: $P=0.044$; pCR: $P=0.477$)。**结论** miR-221表达水平可能作为对以紫杉类和蒽环类为主的新辅助化疗耐药的预测指标。

关键词: miR-221; 乳腺癌; 新辅助化疗

中图分类号: R737.9 文献标识码: A

0 引言

新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NAC)在乳腺癌的综合治疗中发挥越来越多的作用。虽然与传统的辅助化疗相比NAC不能改变乳腺癌患者的总生存期(overall survival, OS)和无疾病进展生存期(progression free survival, PFS),

但研究已证实NAC可增加乳腺癌患者的保乳手术(breast conserving surgery, BCS)率^[1]。获得病理完全缓解(pCR)是接受NAC治疗的患者长期预后良好的有力指标^[2-4]。研究发现不同亚型乳腺癌的pCR率有很大差异, 其中基底细胞类型(Basal-like)和HER2阳性表达的乳腺癌患者比腔细胞样型(Luminal-like)和正常细胞样型(Normal-like)的患者对以紫杉类和蒽环类为主的化疗方案更敏感^[5-6]。目前, 尽管一些临床病理及分子指标如激素受体(hormone receptor, HR)状态、HER2的表达、肿瘤大小、淋巴结分期、组织学分级和核分级以及应用基因芯片所做的基因分型可

收稿日期: 2013-08-23; 修回日期: 2014-01-10

基金项目: 郑州大学第一附属医院院内青年基金资助项目(00165)

作者单位: 450052 郑州, 郑州大学第一附属医院肿瘤科 河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室

作者简介: 赵瑞华(1983-) 女, 博士, 主治医师, 主要从事乳腺癌及食管癌的内科治疗及基础研究

以初步预测乳腺癌患者对NAC的反应^[7-9]，但目前我们仍未能有效预测哪些患者将从NAC中受益，特别是易发生耐药的HR阳性患者^[10]。

miRNAs是一类长约22 bp的单链小分子非编码RNA，大量证据表明，miRNAs在人类肿瘤中多异常表达，不同miRNAs表达谱与不同来源的人类肿瘤以及同一肿瘤的不同表型和生物学特性相关^[10-11]。最近的一些研究发现，人类血清和血浆中存在着一些异常表达的miRNAs，或许可以成为肿瘤及其他疾病诊断及治疗的一种新的无创性监测手段^[12-14]。

*miR-221*定位于X染色体上，通过靶向p27^{Kip1}影响癌细胞的增殖潜力^[15]。在乳腺癌中，*miR-221*可以特异性靶向雌激素受体 α (ER α)的3'-UTR，其表达升高导致乳腺癌细胞对他莫昔芬的耐药^[16]。另外，与MCF-7细胞相比，*miR-221*在阿霉素耐药株MCF-7/ADR细胞表达显著升高^[17]。为了探讨血浆中*miR-221*的表达是否可以作为接受NAC治疗的乳腺癌患者对紫杉类和蒽环类药物治疗反应性的预测指标，本研究采用从血浆中直接反转录和PCR扩增的方法测定在中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤医学部接受NAC治疗的93例乳腺癌患者和32名健康志愿者血浆中*miR-221*的表达，比较乳腺癌患者与健康志愿者中*miR-221*的表达水平，同时分析*miR-221*的表达与乳腺癌患者临床病理特征和预后的关系。

1 资料和方法

1.1 资料

1.1.1 乳腺癌血标本 93例全血标本取自于2008年10月—2010年4月在中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤医学部经粗针穿刺活检后确诊的I~III期非转移性乳腺癌并拟接受以紫杉类和蒽环类为基础的NAC治疗的乳腺癌患者。本项目通过中山大学孙逸仙纪念医院医学研究伦理委员会的批准和许可，所有研究对象均签署了在本研究中使用她们血液样本的知情同意书。

1.1.2 健康志愿者 来源于同时期在中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤医学部接受乳腺普查并签署了在本研究中使用她们血液样本知情同意书的健康妇女。

1.2 方法

1.2.1 患者的治疗和评估 所有患者均接受了以表柔比星 (90 mg/m²) 和多西紫杉醇 (75 mg/m²) 或紫杉醇 (150 mg/m²) 为基础的每21 d为一周期的NAC治疗，至少4个疗程；所有HER2阳性患者

均未在NAC治疗过程中接受赫赛汀治疗；所有患者在化疗疗程结束后14~28 d接受手术治疗，并在NAC治疗前后行超声检查其原发肿瘤的大小和腋窝淋巴结情况；在接受NAC治疗前对所有患者的原发肿瘤进行粗针穿刺活检，如果伴随临床可触及的腋窝淋巴结肿大则同时行腋窝淋巴结穿刺活检。应用RESCIST标准评估患者对治疗的反应：完全缓解 (CR：所有目标病灶完全消失)、部分缓解 (PR：基线病灶长径总和缩小 $\geq 30\%$)、疾病稳定 (SD：基线病灶长径总和缩小但未达PR或增加未达PD) 和疾病进展 (PD：基线病灶长径总和增加 $\geq 20\%$ 或出现新的病灶)。将pCR定义为病理检测判定为治疗后原发部位无浸润性癌残留。其中pCR和PR的患者被认为是NAC治疗有效 (overall response rate, ORR)，而PD和SD的患者视为对化疗耐药^[18]。

中山大学孙逸仙纪念医院病理科对治疗前原发灶标本常规行免疫组织化学 (IHC) 检测ER、PR、Ki-67以及拓扑异构酶 II (Topo II) 蛋白表达情况，采用荧光原位杂交法 (FISH) 或IHC检测HER2的表达。ER和PR阳性定义为 $\geq 10\%$ 肿瘤细胞核内染色；HER2阳性标准为IHC(+++)或FISH阳性； $\geq 30\%$ 肿瘤细胞核染色被认为是Ki-67阳性，Topo II 阳性标准为 $\geq 10\%$ 肿瘤细胞核内染色；采用Elston-Ellis核分级法对肿瘤进行核分级评估^[19]。

1.2.2 血标本的收集和制备 采集接受NAC治疗前的患者以及健康志愿者的外周血5 ml，放置于含肝素的抗凝管中。在采集后2 h内2 000 r/min离心15 min分离成血浆和细胞成分，血浆储存在-80℃冰箱备用。

1.2.3 qRT-PCR检测 应用PrimeScript™反转录试剂盒 (Takara Bio Inc, Kyoto, Japan) 直接对血浆标本进行反转录合成cDNA。其中RT混合反应液如下：5×PrimeScript缓冲液 4 μ l；PrimeScript反转录混合酶 I 1 μ l；*miR-221*反转录引物 (62.5 nmol) 2 μ l；血浆 1 μ l；DEPC水至总体积20 μ l。*miR-221*引物为：5'-GTC GTA TCC AGT GCA GGG TCC GAG GTA TTC GCA CTG GAT ACG ACG AAA CC-3'。在PCR扩增仪进行RT反应，反应条件如下：42℃ 15 min；85℃ 15 s；反应结束后，将合成的cDNA样品用蒸馏水稀释至400 μ l置于冰上待用或-20℃保存，然后进行Real-time PCR反应。应用Hairpin-it miRNAs荧光定量PCR试剂盒 (吉玛, 中国上海) 和罗氏LightCycler 480检测系统。20 μ l体系配制如下：*miR-221*正向和反向引物 (5 μ M) 各

1 μ l; cDNA产物 2 μ l; Taq DNA聚合酶 (5 u/ μ l) 0.2 μ l; 2 \times Real-time PCR缓冲液 10 μ l; dNTP (2.5 mM) 1 μ l; 加水至总体积为20 μ l。*miR-221*的引物为5'-CCG CAG CTA CAT CTG GCT ACT G-3' 和 5'-GTG CAG GGT CCG AGG T-3' [20]。进行PCR反应, 扩增45个循环, 每个循环包括95 $^{\circ}$ C 30 s和60 $^{\circ}$ C 1 min。设定统一的Ct阈值分析实验结果, 取3次实验的平均值。由于血浆中缺乏有效的对照, 我们采用健康者中位Ct值作为标准对照, 患者和健康志愿者血浆*miR-221*相对表达水平采用公式 $2^{-\Delta Ct}$ 计算, 其中 $\Delta Ct = Ct_{患者或健康志愿者} - Ct_{对照}$ [12], 分别计算乳腺癌患者和健康志愿者血浆*miR-221*的表达。

1.3 统计学方法

采用卡方检验比较患者和健康志愿者*miR-221*表达水平及与临床病理特征的关系。采用单因素方差分析和多因素方差分析检测包括血浆*miR-221*水平在内的多种临床病理特征对ORR的影响。*P*值为双向性检验, 检验水准为 $\alpha = 0.05$, 所有数据采用SPSS16.0和GraphPad Prism 5.01软件进行分析。

2 结果

2.1 乳腺癌患者的临床特征

本研究中93例患者的临床特征见表1。所有患者均接受了以蒽环类和紫杉类为基础的NAC治疗。诊断时患者的中位年龄为47岁 (25~73岁)。多数患者为浸润性导管癌。一半以上的患者为T2期同时伴有腋窝淋巴结阳性。大约1/5的患者伴有脉管浸润, 绝大多数患者HR阳性。治疗后大约15%的患者达到pCR, 整体有效率 (ORR=pPR+pCR) 为84.94%。

2.2 乳腺癌患者中血浆*miR-221*的表达

比较乳腺癌患者和健康志愿者血浆*miR-221*的表达水平, 结果表明乳腺癌患者组血浆*miR-221*的平均表达水平明显高于健康志愿者组 [分别为 (1.453 \pm 0.065)、(1.114 \pm 0.093), $P=0.007$], 见图1。

2.3 血浆*miR-221*表达水平与患者临床病理特征之间的关系

根据患者中位表达水平分为*miR-221*高表达组和低表达组。血浆*miR-221*表达水平与患者临床病理特征的关系, 见表2。结果显示血浆*miR-221*的表达仅与患者HR状态显著相关 ($P=0.008$), 而与其他临床病理特征如患者年龄、淋巴结状态、HER2状态、Ki-67水平、Topo II水平、病理类型、组织学分级、肿瘤大小、脉管浸润等无关。高*miR-221*表达组的患者倾向于HR表达阴性。

表1 93例乳腺癌患者的临床病理特征

Table1 Clinicopathological characteristics of 93 breast cancer patients

Characteristics	n (%)
Age (years)	
<45	31 (33.33)
≥ 45	62 (66.67)
Tumour sizes (cm)	
T1	4 (4.3)
T2	61 (65.59)
T3	19 (20.43)
T4	9 (9.68)
Lymph node status	
Negative	32 (34.41)
Positive	61 (65.59)
Histological grades	
1-2	60 (64.52)
3	33 (35.48)
ER status	
Positive	60 (64.52)
Negative	33 (35.48)
PR status	
Positive	45 (48.39)
Negative	48 (51.61)
HER2 status	
Positive	27 (29.03)
Negative	66 (70.97)
ER/PR/HER2 status	
Triple negative	15 (16.13)
Not triple negative	78 (83.87)
Pathological types	
Ductal carcinoma	83 (89.25)
Lobular carcinoma	5 (5.38)
Others	5 (5.38)
Lymphovascular involvement	
Yes	19 (20.43)
No	74 (79.57)
Pathological response	
CR	14 (15.05)
PR	65 (69.89)
SD	14 (15.05)
PD	0 (0)
Ki-67	
Low	37 (39.78)
High	56 (60.22)
Topo II	
Low	40 (43.01)
High	53 (56.99)

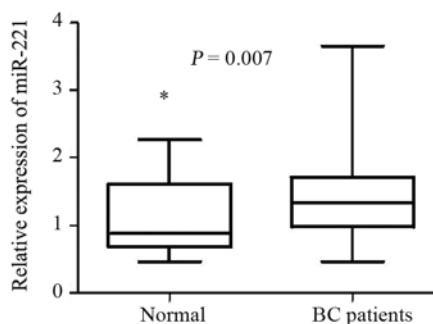


图1 乳腺癌患者中血浆*miR-221*的表达

Figure1 Plasma *miR-221* expression levels in breast cancer (BC) patients

表2 血浆miR-221的表达与患者临床病理特征的关系

Table2 Correlation of clinicopathological characteristics with plasma miR-221 expression

Characteristics	miR-221 expression		P
	Low [n (%)]	High [n (%)]	
Age (years)			
<45	20(41.7)	12(26.7)	0.128
≥45	28(58.3)	33(73.3)	
Tumour sizes (cm)			
>5	11(22.9)	11(24.4)	0.862
≤5	37(77.1)	34(75.6)	
Lymph node status			
Negative	17(35.4)	15(33.3)	0.833
Positive	31(64.6)	30(66.7)	
Histological grades			
1-2	32(66.7)	28(62.2)	0.654
3	16(33.3)	17(37.8)	
HR status			
ER or/and PR positive	38(79.2)	24(53.3)	0.008
ER and PR negative	10(20.8)	21(46.7)	
HER2 status			
Positive	12(25)	15(33.3)	0.376
Negative	36(75)	30(66.7)	
Pathological types			
Ductal carcinoma	42(87.5)	41(91.1)	0.574
Others	6(12.5)	4(8.9)	
Lymphovascular involvement			
Yes	9(18.8)	10(22.2)	0.678
No	39(81.2)	35(77.8)	
Ki-67			
Low	22(45.8)	15(33.3)	0.218
High	26(54.2)	30(66.7)	
Topo II			
Low	21(43.8)	19(42.2)	0.882
High	27(56.2)	26(57.8)	

Notes: Low: group with lower miR-221 expression than the median level; High: group with miR-221 expression equal to or higher than the median level

2.4 血浆miR-221表达水平与化疗耐药的关系

对miR-221高表达组和低表达组进行比较时发现两组中ORR差异有统计学意义 (P=0.044), 但pCR率差异无统计学意义, 见表3。进一步采用单因素方差分析的方法来分析临床病理因素、血浆miR-221表达水平与ORR的相关性, 发现与ORR相关的因素包括病理分级、HR状态、HER2表达、Ki-67的表达、Topo II水平和血浆miR-221的表达高低, 见表4。多因素分析结果显示HR状态、HER2表达、Topo II水平和血浆miR-221的表达高低均为独立的化疗反应预测因素。HR阳性、血浆miR-221高表达、HER2阴性、Topo II低表达的患者更易对NAC治疗耐药, 而Ki-67表达水平则未能作为独立的NAC耐药预测指标, 见表5。

3 讨论

NAC在乳腺癌中的有效性已经在既往研究中

表3 血浆miR-221的表达与治疗疗效的关系

Table3 Relationship between plasma miR-221 expression and curative effects

Parameters	miR-221 expression		P
	Low [n (%)]	High [n (%)]	
pCR			
Yes	6 (12.5)	6 (17.8)	0.477
No	42 (87.5)	42 (82.2)	
ORR			
Yes	38 (79.2)	27 (60)	0.044
No	10 (20.8)	18 (40)	

Notes: ORR: overall response rate; ORR=pPR+pCR

表4 单因素方差分析乳腺癌患者临床病理特征与ORR的关系

Table4 Univariate analysis of clinicopathological features and ORR in breast cancer patients

Characteristics	ORR		P
	HR	95% CI	
Age(years)	1.156	0.451-2.966	0.763
Lymph node status	1.156	0.451-2.966	0.763
Tumour sizes	1.457	0.53-4.004	0.465
Histological grades	0.384	0.137-1.074	0.068
HR status	4.263	1.326-13.706	0.015
HER2 status	0.205	0.056-0.752	0.017
Pathological types	0.548	0.109-2.762	0.466
Lymphovascular involvement		0.69-5.585	0.206
Ki-67	0.288	0.114-0.724	0.008
Topo II	0.284	0.112-0.719	0.008
Plasma miR-221 expression	10.488	2.39-46.024	0.002

Notes: HR: hazard ratio; CI: confidence interval

表5 应用多因素回归分析方法分析在单因素方差分析中与ORR有显著相关的因素与ORR的相关性

Table5 Multivariate logistic regression analysis of clinicopathological factors that related to ORR in univariate analysis and ORR in breast cancer patients

Characteristics	ORR		P
	HR	95%CI	
Histological grades	0.944	0.245-3.637	0.933
HR status	6.607	1.318-33.135	0.022
HER2 status	0.200	0.045-0.899	0.036
Ki-67	0.490	0.145-1.656	0.251
Topo II	0.202	0.058-0.709	0.013
Plasma miR-221 expression	6.871	1.967-23.997	0.003

得到证实^[2]。目前NAC已经广泛地用于对局部晚期或早期乳腺癌患者的治疗。然而, 乳腺癌是一种异质性疾病, 不同患者对治疗的反应存在显著差异。一些患者在NAC治疗后可以达到pCR, 然而有些患者却表现出对化疗明显耐药。因此, 为了明确哪些患者可以从NAC中获益而哪些患者可以避免不必要的NAC治疗从而制定有效合理的个体化治疗方案, 在治疗前预测每一位患者对NAC治疗的反应性非常重要。

本研究采用Pu等^[20]之前报道的方法直接从乳腺癌患者和健康志愿者血浆样品中反转录并进行

PCR扩增检测*miR-221*的表达, 结果证实应用该方法可以高效快速地检测乳腺癌患者和健康志愿者血浆中*miR-221*的表达。

*miR-221*作为一种癌基因在多种肿瘤如结直肠癌和甲状腺乳头状癌中的表达明显增加^[20-21]。同样, 本研究通过比较乳腺癌患者和健康志愿者之间*miR-221*的表达水平, 表明乳腺癌患者血浆*miR-221*的表达水平显著高于健康志愿者($P=0.007$)。尽管只有少量接受NAC治疗的患者(93例)和健康志愿者(32例)被纳入本研究, 但数据亦表明在乳腺癌中*miR-221*是一种癌基因。本研究通过分析血浆中*miR-221*的表达水平与乳腺癌患者临床病理特征之间的关系, 发现*miR-221*表达水平与原发灶HR状况呈负相关($P=0.008$), 与下列研究结果一致。有研究发现*miR-221*在ER阴性乳腺癌细胞株和原发肿瘤标本中高表达, 提示*miR-221*可能参与了ER α 蛋白的负调控^[22]。还有研究证实ER α 可以抑制*miR-221*和*miR-222*的表达, 因此*miR-221*和ER之间或许存在一个负反馈环, 可以促使乳腺癌细胞从ER阳性向阴性的转化, 从而有利于增强乳腺癌细胞的增殖和迁移能力^[23]。尽管有一些研究证实*miR-221*能够通过调控其靶基因如p27Kip1的表达而促进肿瘤的生长、维持细胞的增殖^[20-21], 但本研究中并没有观察到血浆*miR-221*表达水平与其他临床病理因素如Ki-67的表达、肿瘤大小、淋巴结状态之间的关系, 因此本研究仍未能明确*miR-221*表达水平与乳腺癌增殖和转移能力之间的关系。

本研究结果发现, 血浆*miR-221*的表达水平与ORR有关, 但与pCR无关, 因此*miR-221*表达增高可以作为预测乳腺癌患者对NAC治疗耐药的一项预测指标。虽然*miR-221*的表达水平与HR的表达呈负相关, 但本研究应用单因素和多因素Cox回归分析的方法证实血浆中*miR-221*的表达水平是不依赖HR状态的一个独立的预测化疗耐药的因子。在前期研究中发现与亲本MCF-7细胞株相比*miR-221*在阿霉素耐药株MCF-7/ADR中表达显著升高^[18], 结合目前研究结果, 提示*miR-221*可能是紫杉类和蒽环类耐药的有效预测指标。此外, 在Rao等^[24]研究中发现*miR-221/222*过度表达通过调节多种信号通路导致乳腺癌对氟维司群耐药。综合这些数据, 推测*miR-221*可以作为一个有希望的治疗靶点来治疗对选择性雌激素受体调节剂或化疗耐药的乳腺癌患者。

与其他研究结果一致的是, 多因素回归分析中

同样发现其他因素如HR状况、HER2状态和Topo II的表达水平等都是对NAC治疗耐药的独立预测因素^[25-28]。尽管其他研究结果表明Ki-67同样作为一个有效的预测NAC反应的指标, 但本研究中未能证实Ki-67为独立的NAC耐药的预测指标^[29-30], 这种差异可能是由于对Ki-67表达水平的界定以及本研究中样本量较小有关。

本研究尚存在一定的局限性。首先, 由于种种原因限制, 纳入的乳腺癌患者和健康志愿者的样本量较小, 需要扩大样本量进一步验证。其次, 该研究仅是一项单中心的回顾性研究。第三, 由于血浆中缺乏明确的对照, 本研究只能根据健康志愿者的中位表达水平计算患者和健康志愿者血浆*miR-221*的相对表达水平, 并且未能建立一个确切的界值, 因此, 在进一步的研究中需要确定一个敏感度和特异性较高的*miR-221*值, 从而才有可能真正进入到临床应用。

本研究表明, 与健康志愿者相比乳腺癌患者血浆中*miR-221*的表达增加, 同时*miR-221*的表达水平与乳腺癌患者HR的表达呈负相关, *miR-221*表达增高的患者易出现对紫杉类和蒽环类为主的NAC治疗耐药。基于本研究结果, 认为血浆*miR-221*表达水平可能作为一个预测乳腺癌对NAC治疗反应的指标。然而, 仍需要更多研究来进一步证实*miR-221*在接受NAC治疗前的应用价值。

(致谢: 该研究所需标本及病例资料来源于中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤中心, 在此表示感谢。)

参考文献:

- [1] Fisher B, Brown A, Mamounas E, et al. Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18[J]. J Clin Oncol, 1997,15(7):2483-93.
- [2] Wolmark N, Wang J, Mamounas E, et al. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18[J]. J Natl Cancer Inst Monogr, 2001,(30):96-102.
- [3] Kuerer HM, Newman LA, Smith TL, et al. Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy[J]. J Clin Oncol, 1999,17(2):460-9.
- [4] Pierga JY, Mouret E, Diéras V, et al. Prognostic value of persistent node involvement after neoadjuvant chemotherapy in patients with operable breast cancer[J]. Br J Cancer, 2000,83(11):1480-7.
- [5] Colleoni M, Bagnardi V, Rotmensz N, et al. Increasing steroid hormone receptors expression defines breast cancer subtypes non

- responsive to preoperative chemotherapy[J]. Breast Cancer Res Treat, 2009,116(2):359-69.
- [6] Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, *et al.* Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy[J]. Clin Cancer Res, 2005,11(16):5678-85.
- [7] Precht LM, Lowe KA, Atwood M, *et al.* Neoadjuvant chemotherapy of breast cancer: tumor markers as predictors of pathologic response, recurrence, and survival[J]. Breast J, 2010,16(4):362-8.
- [8] Katz A, Saad ED, Porter P, *et al.* Primary systemic chemotherapy of invasive lobular carcinoma of the breast[J]. Lancet Oncol, 2007,8(1):55-62.
- [9] Bonnefoi H, Potti A, Delorenzi M, *et al.* Validation of gene signatures that predict the response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy: a substudy of the EORTC 10994/BIG 00-01 clinical trial[J]. Lancet Oncol, 2007,8(12):1071-8.
- [10] Fisher ER, Wang J, Bryant J, *et al.* Pathobiology of preoperative chemotherapy: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel (NSABP) protocol B-18[J]. Cancer, 2002,95(4):681-95.
- [11] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004,116(2):281-97.
- [12] Chen X, Ba Y, Ma L, *et al.* Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008,18(10):997-1006.
- [13] Mouillet JF, Chu T, Hubel CA, *et al.* The levels of hypoxia-regulated microRNAs in plasma of pregnant women with fetal growth restriction[J]. Placenta,2010,31(9):781-4.
- [14] Cortez MA, Calin GA. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases[J]. Expert Opin Biol Ther, 2009,9(6):703-11.
- [15] Galardi S, Mercatelli N, Giorda E, *et al.* miR-221 and miR-222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27kip1[J]. J Biol Chem, 2007,282(32):23716-24.
- [16] Zhao JJ, Lin J, Yang H, *et al.* microRNA-221/222 negatively regulates estrogen receptor alpha and is associated with tamoxifen resistance in breast cancer[J]. J Biol Chem, 2008,283(45):31079-86.
- [17] Cui XY, Guo YJ, Yao HR. Analysis of microRNA in drug-resistant breast cancer cell line MCF-7/ADR[J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2008,28(10):1813-5.[崔秀英, 郭运杰, 姚和瑞. 耐药乳腺癌细胞株MCF-7/ADR中microRNA的分析[J]. 南方医科大学学报, 2008,28(10):1813-5]
- [18] Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, *et al.* New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada[J]. J Natl Cancer Inst, 2000,92(3):205-16.
- [19] Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up[J]. Histopathology,1991,19(5):403-10.
- [20] Pu XX, Huang GL, Guo HQ, *et al.* Circulating miR-221 directly amplified from plasma is a potential diagnostic and prognostic marker of colorectal cancer and is correlated with p53 expression[J]. J Gastroenterol Hepatol,2010,25(10):1674-80.
- [21] He H, Jazdzewski K, Li W,*et al.* The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005,102(52):19075-80.
- [22] Zhao JJ, Lin J, Yang H, *et al.* microRNA-221/222 negatively regulates estrogen receptor alpha and is associated with tamoxifen resistance in breast cancer[J]. J Biol Chem, 2008,283(45):31079-86.
- [23] Di Leva G, Gasparini P, Piovan C, *et al.* microRNA cluster 221-222 and estrogen receptor alpha interactions in breast cancer[J]. J Natl Cancer Inst,2010,102(10):706-21.
- [24] Rao X, Di Leva G, Li M,*et al.* MicroRNA-221/222 confers breast cancer fulvestrant resistance by regulating multiple signaling pathways[J]. Oncogene, 2011,30(9):1082-97.
- [25] Ach RA, Wang H, Curry B. Measuring microRNAs: comparisons of microarray and quantitative PCR measurements, and of different total RNA prep methods[J]. BMC Biotechnol,2008,8:69.
- [26] Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ,*et al.* Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases[J]. Cancer,2010,116(6):1431-9.
- [27] Zhu L, Li YF, Chen WG,*et al.* HER2 and topoisomerase II alpha: possible predictors of response to neoadjuvant chemotherapy for breast cancer patients[J]. Chin Med J (Engl), 2008,121(20):1965-8.
- [28] Konecny GE, Pauletti G, Untch M,*et al.* Association between HER2, TOP2A, and response to anthracycline-based preoperative chemotherapy in high-risk primary breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat,2010,120(2):481-9.
- [29] Nishimura R, Osako T, Okumura Y,*et al.* Clinical significance of Ki-67 in neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer as a predictor for chemosensitivity and for prognosis[J]. Breast Cancer, 2010,17(4):269-75.
- [30] von Minckwitz G, Sinn HP, Raab G, *et al.* Clinical response after two cycles compared to HER2, Ki-67, p53, and bcl-2 in independently predicting a pathological complete response after preoperative chemotherapy in patients with operable carcinoma of the breast[J]. Breast Cancer Res,2008,10(2):R30.

[编辑: 黄园玲; 校对: 安凤]