

## 乳腺癌组织长链非编码 RNA UCA1 和 BCAR4 表达与辅助化疗效果的相关性研究\*

王 碧<sup>1</sup>, 吉茂礼<sup>2</sup> (1. 陕西省核工业二一五医院检验科, 陕西咸阳 712000;  
2. 商洛市中心医院检验科, 陕西商洛 726000)

**摘要:**目的 探讨乳腺癌组织长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) 尿路上皮癌相关 1(urothelial carcinoma-associated 1, UCA1) 和乳腺癌雌激素耐受基因 4(breast cancer anti-estrogen resistance 4, BCAR4) 表达与辅助化疗效果的相关性。方法 回顾性分析 2016 年 12 月~2018 年 12 月在陕西省核工业二一五医院和陕西省商洛市中心医院接受辅助化疗的 30 例局部晚期乳腺癌患者的临床资料, 依据化疗效果分为有效组(20 例)和无效组(10 例)。应用实时逆转录-聚合酶链反应(real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 技术检测乳腺癌组织 lncRNA UCA1 和 BCAR4 的表达, 采用电化学发光技术检测血清糖类抗原(carbohydrate antigen, CA)153 水平, 比较分析以上指标的变化与乳腺癌辅助化疗效果的相关性。结果 在有效组和无效组中, UCA1 和 BCAR4 的表达分别为  $0.37 \pm 0.15$ ,  $0.91 \pm 0.26$ ,  $0.41 \pm 0.17$  和  $0.96 \pm 0.29$ ; 两标志物的异常率分别为 23.3%, 66.6%, 20.0% 和 70.0%。在有效组和无效组中, 血清 CA153 的水平分别为  $22.7 \pm 15.9$ ,  $57.2 \pm 23.2$  ng/ml, 其异常率分别为(13.3%和 46.6%)。与无效组比较, 有效组组织 UCA1, BCAR4 表达和血清 CA153 水平显著降低, 有效组三标志物的异常率也显著降低。以上比较的差异均有统计学意义( $t=23.73 \sim 31.67$ ,  $\chi^2=15.39 \sim 17.39$ , 均  $P < 0.01$ )。乳腺癌患者辅助化疗的有效率为 66.6%, 在乳腺癌辅助化疗无效组中, 组织 UCA1 和 BCAR4 表达呈正相关性( $r=0.839$ ,  $P < 0.01$ )。两标志物分别与血清 CA153 水平有正相关性( $r=0.817 \sim 0.832$ , 均  $P < 0.01$ )。组织 UCA1 表达与乳腺癌患者的年龄无明显相关( $\chi^2=1.148$ ,  $P > 0.05$ ), 而与肿瘤组织学分级和淋巴结转移具有相关性( $\chi^2=7.500 \sim 8.103$ , 均  $P < 0.05$ )。BCAR4 表达与乳腺癌患者的年龄和肿瘤组织学分级无相关性( $\chi^2=1.200 \sim 1.975$ , 均  $P > 0.05$ ), 而与乳腺癌的淋巴结转移有相关性( $\chi^2=6.531$ ,  $P < 0.05$ )。结论 UCA1 和 BCAR4 与乳腺癌辅助化疗的耐药机制有关, 下调 UCA1 和 BCAR4 表达可以促进辅助化疗的效果并有效缓解肿瘤的进展。

**关键词:** 乳腺癌; 辅助化疗; 有效; 无效; 长链非编码 RNA; 尿路上皮癌相关 1(UCA1); 乳腺癌雌激素耐受基因 4(BCAR4); 糖类抗原 153(CA153)

中图分类号: R737.9; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)05-077-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.05.019

## Correlational Research on the Expression of Long-Chain Non-Coding RNA UCA1 and BCAR4 in Breast Cancer Tissues for the Effect of Adjuvant Chemotherapy

WANG Bi<sup>1</sup>, JI Mao-li<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, 215 Hospital of Nuclear Industry of Shaanxi Province, Shaanxi Xianyang 712000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Central Hospital of Shangluo City of Shaanxi Province, Shaanxi Shangluo 726000, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the correlation on the expression of long non-coding RNA(lncRNA) Urothelial carcinoma-associated 1 (UCA1) and breast cancer anti-estrogen resistance 4 (BCAR4) gene in breast cancer tissues for the effect of adjuvant chemotherapy. **Methods** The clinical data of 30 patients with locally advanced breast cancer who received neoadjuvant chemotherapy in 215 Hospital of Nuclear Industry and the Central Hospital of Shangluo City of Shaanxi Province from December 2016 to December 2018 were retrospectively analyzed. According to the effect of chemotherapy, they were divided into effective group (20 cases) and ineffective group (10 cases). Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the expression of long non-coding RNA (lncRNA) UCA1 and BCAR4 in tissues. The serum carbohydrate antigen (CA) 153 level was detected by electrochemiluminescence technique. The correlation between the changes of the above indexes and the efficacy of adjuvant chemotherapy for breast cancer was compared and analyzed. **Results** In the effective group and the ineffective group, the expressions of UCA1 and BCAR4 were  $0.37 \pm 0.15$ ,  $0.91 \pm 0.26$  and  $0.41 \pm 0.17$ ,  $0.96 \pm 0.29$ , respectively, and their abnormal rates were 23.3%, 66.6% and 20.0%, 70.0%, respectively. The ser-

\* 作者简介: 王 碧(1984-), 女, 大学本科, 主管检验师, 研究方向: 乳腺癌的基因诊断, E-mail: 3432936789@qq.com。

通讯作者: 吉茂礼(1982-), 男, 大学本科, 主管检验师, 研究方向: 肿瘤的基因诊断, E-mail: 3435077084@qq.com。

um levels of CA153 in the effective group and the ineffective group was  $22.7 \pm 15.9$  and  $57.2 \pm 23.2$  ng/ml, and its abnormal rate was 13.3% and 46.6%, respectively. The expressions and abnormal rates of UCA1, BCAR4 and CA153 in the effective group were significantly lower than those in the ineffective group, and the differences were statistically significant ( $t = 23.73 \sim 31.67$ ,  $\chi^2 = 15.39 \sim 17.39$ , all  $P < 0.01$ ). The overall effective rate of adjuvant chemotherapy for breast cancer patients was 66.6%. In the effective group of adjuvant chemotherapy for breast cancer, the expression of UCA1 and BCAR4 was positively correlated ( $r = 0.839$ ,  $P < 0.01$ ). The two markers were positively correlated with serum CA153 level ( $r = 0.817 \sim 0.832$ ,  $P < 0.01$ ). There was no significant correlation between UCA1 expression and age of breast cancer patients ( $\chi^2 = 1.148$ ,  $P > 0.05$ ), but significant correlation with histological grade and lymph node metastasis ( $\chi^2 = 7.500 \sim 8.103$ , all  $P < 0.05$ ). The expression of BCAR4 was not correlated with age and histological grade of breast cancer ( $\chi^2 = 1.200 \sim 1.975$ , all  $P > 0.05$ ), but was correlated with lymph node metastasis of breast cancer ( $\chi^2 = 6.531$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** UCA1 and BCAR4 were related to the drug resistance mechanism of adjuvant chemotherapy in breast cancer. Downregulation of UCA1 and BCAR4 expression can promote the effect of adjuvant chemotherapy and effectively alleviate the progress of cancer.

**Keywords:** breast cancer; adjuvant chemotherapy; effective; ineffective; lncRNA; UCA1; BCAR4; CA153

辅助化疗可以使一部分乳腺癌患者获得病理学完全缓解,延长患者的生存期<sup>[1]</sup>。研究表明,长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)尿路上皮癌相关 1(urothelial carcinoma-associated 1, UCA1)和乳腺癌雌激素耐受基因 4(breast cancer anti-estrogen resistance 4, BCAR4)与乳腺癌化疗的耐药机制有关<sup>[2]</sup>。本研究采用实时逆转录-聚合酶链反应(real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)技术分析 30 例乳腺癌患者组织 UCA1 和 BCAR4 的表达,旨在探讨两基因标志物与乳腺癌辅助化疗效果的相关性。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2016 年 12 月~2018 年 12 月在陕西省核工业二一五医院和陕西省商洛市中心医院接受辅助化疗的局部晚期乳腺癌穿刺或活检标本 30 例进行分析。年龄 39~74 岁,中位年龄 52 岁。依据化疗效果分为有效组(20 例)和无效组(10 例)。所有患者均经病理组织学诊断为原发性乳腺癌,患者白细胞  $> 3\ 000 \times 10^9/L$ ,符合辅助化疗标准。排除标准:并发高血压、糖尿病等慢性疾病,并发血液病或其他恶性肿瘤。本研究经陕西省核工业二一五医院和陕西省商洛市中心医院医学伦理委员会审核批准,并得到所有患者的知情同意。

1.2 试剂和仪器 RT-PCR 引物以及 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒以及 PCR 试剂盒均购自广州复能基因有限公司。血清 CA153 水平检测采用罗氏 Modular<sup>®</sup>P800 生化分析仪。

1.3 方法 血清 CA153 水平检测采用电化学发光技术,参考值为 0~25 ng/ml。组织 UCA1 和 BCAR4 表达检测应用 RT-PCR 技术。

1.3.1 乳腺癌辅助化疗:所有患者均行 DA 方案

化疗:多西他赛  $75\text{ mg}/\text{m}^2$ , 1 次/3 周,吡柔阿霉素  $50\text{ mg}/\text{m}^2$ , 1 次/3 周,环磷酰胺  $600\text{ mg}/\text{m}^2$ , 1 次/3 周,共化疗 6 周。依据辅助化疗的疗效行保乳手术或乳房切除术。乳腺癌辅助化疗疗效评价标准<sup>[3]</sup>,完全缓解:肿瘤完全消失,包括腋窝淋巴结;部分缓解:最长的肿瘤直径减少 30%;疾病进展:最长的肿瘤增长 20%或出现新的肿瘤转移灶;无变化:所有情况无变化。完全缓解和部分缓解者被纳入有效组,疾病进展和无变化者被纳入无效组。

1.3.2 标本收集与处理:所有患者于辅助化疗后采集空腹静脉血 4 ml,分离血清于一  $80^\circ\text{C}$  保存,用于 CA153 水平检测。收集辅助化疗后的穿刺或活检标本,用于 UCA1 和 BCAR4 表达检测。

1.3.3 RT-PCR:按照 miRVana miRNA 分离试剂盒说明书操作,提取乳腺癌组织的总 RNA。引物采用 ABI 公司 Primer Express Software v2.0 设计,由华大基因公司合成。以 U6 作为内参照。BCAR4 引物序列: F5'-CTGGTGTCTGTTGGA GTCGGCAATTCAGTGA-3', R5'-GACCC AAI-ACGAGTCGGCAATTCAACT-3'。UCA1 引物序列: F5'-CAAGGTTTCATGACACTTGC-3'。R5'-GTCAATCCWCGCTGTAGCA-3'。U6 引物序列: F5'-ACTTCTGAATGAGTGCTTCAG-3', R5'-UGAAGCGCCTGGTGTTTAAACG-3'。PCR 反应条件:预变性  $95^\circ\text{C}$  10 s,  $95^\circ\text{C}$  10 s,  $60^\circ\text{C}$  20 s,  $72^\circ\text{C}$  10 s 共 40 个循环。以  $2^{-\Delta\text{Ct}}$  求得 UCA1 和 BCAR4 的相对表达量,  $\Delta\text{Ct}$  = 目的基因循环数 - U6 的循环数。

1.4 统计学分析 资料采用 SPSS21.0 软件进行分析。UCA1, BCAR4 和 CA153 的异常率分析以及乳腺癌临床病理特征分析采用  $\chi^2$  检验, UCA1, BCAR4 和 CA153 的表达或水平分析采用  $t$  检验。相关性分析采用 Person 法。以  $P < 0.05$  为差异有

统计学意义。

## 2 结果

2.1 乳腺癌组织 UCA1, BCAR4 及血清 CA153 分析结果比较 见表1。与无效组比较,有效组组

织 UCA1, BCAR4 表达和血清 CA153 水平显著降低,有效组三标志物的异常率也显著降低。以上比较的差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ )。乳腺癌辅助化疗的有效率为 66.6%。

表1 乳腺癌组织 UCA1, BCAR4 及血清 CA153 分析结果比较

组别	UCA1		BCAR4		CA153	
	表达	异常率(%)	表达	异常率(%)	水平	异常率(%)
有效组(n=20)	0.37±0.15	23.3	0.41±0.17	20.0	22.7±15.9	13.3
无效组(n=10)	0.91±0.26	66.6	0.96±0.29	70.0	57.2±23.2	46.6
$\chi^2/t$	29.37	15.39	31.67	17.21	23.73	17.39
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.2 相关分析 见表2。在乳腺癌辅助化疗无效组中,组织 UCA1 和 BCAR4 表达呈正相关性( $r=0.839$ ,  $P < 0.01$ ),两标志物分别与血清 CA153 水平呈正相关性( $r=0.817 \sim 0.832$ , 均  $P < 0.01$ )。组织 UCA1 表达与乳腺癌患者的年龄无相关性( $P$

$> 0.05$ ),而与肿瘤组织学分级和淋巴结转移具有显著相关性(均  $P < 0.05$ )。BCAR4 表达与乳腺癌患者的年龄和肿瘤组织学分级无相关性(均  $P > 0.05$ ),而与乳腺癌的淋巴结转移有相关性( $P < 0.05$ )。

表2 乳腺癌临床病理特征分析(%)

类别	n	UCA1				BCAR4			
		异常	正常	$\chi^2$	P	异常	正常	$\chi^2$	P
年龄(岁)	≤60	11	54.5	45.5	1.148	54.5	45.5	1.975	$> 0.05$
	>60	19	73.6	26.4		78.9	21.1		
组织学分级	I~II	20	50.0	50.0	7.500	60.0	40.0	1.200	$> 0.05$
	III	10	100.0	0		80.0	20.0		
淋巴结转移	是	14	92.8	7.2	8.103	92.8	7.2	6.531	$< 0.05$
	否	16	43.7	56.3		50.0	50.0		

3 讨论 辅助化疗可以使乳腺癌患者获得病理学缓解,但仍然有一部分的患者面临进展的风险,并可能因此失去保乳手术的机会<sup>[4]</sup>。研究表明 lncRNA 中的 BCAR4 和 UCA1 与乳腺癌化疗的耐药机制密切相关。VAN AGTHOVEN 等<sup>[1]</sup>研究认为 BCAR4 的高表达可能促进雌激素依赖型乳腺癌细胞的生长,上调组织 BCAR4 表达可以增加乳腺癌细胞对雌激素的敏感性,促进乳腺癌细胞对化疗药物的抵抗。研究表明,人类表皮生长因子受体(ErbB)是一种原癌基因,其在许多肿瘤组织中呈现高表达。组织中高表达的 ErbB2 和 ErbB3 可以刺激肿瘤细胞增殖,增强肿瘤细胞的侵袭性<sup>[5]</sup>。研究发现,上调人乳腺癌 ZR-75-1 细胞株内的 BCAR4 表达可以促进 ErbB2 和 ErbB3 的磷酸化,增强肿瘤细胞对雌激素的依赖作用,进而刺激肿瘤细胞的增殖<sup>[6]</sup>。有研究采用 RT-PCR 技术分析 80 例乳腺癌患者的结果显示,BCAR4 在乳腺癌组织中的表达显著高于癌旁组织,而沉默 BCAR4 表达则可以抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭<sup>[7]</sup>。本研究

结果显示乳腺癌辅助化疗有效组中 BCAR4 的基因表达较无效组显著降低,BCAR4 在有效组的异常率也显著降低( $P < 0.01$ )。提示辅助化疗可能降低乳腺癌细胞对雌激素的敏感性,促进乳腺癌细胞的凋亡。目前,有关 BCAR4 在乳腺癌辅助化疗中的研究甚少,有待进一步地深入研究。

最近的研究证实 UCA1 对乳腺癌呈现明显的促癌作用,并且调控多种肿瘤细胞如非小细胞肺癌、乳腺癌及肝癌细胞的化疗敏感性。研究表明 UCA1 是乳腺癌的原癌基因,其在雌激素受体阳性及阴性的乳腺癌细胞中均呈现较高的表达<sup>[8]</sup>。LIU 等<sup>[9]</sup>研究发现 UCA1 表达与乳腺癌的病理分级和死亡率呈正相关性。他们的研究认为 UCA1 通过调节 Wnt 信号通路影响肿瘤细胞的化疗敏感性,在他莫昔芬耐药的肿瘤细胞中 Wnt 信号活性和 UCA1 表达明显增加。最近的报道认为,不均一核糖核蛋白 I 可以促进乳腺癌细胞中 UCA1 的过表达,其作用机制可能为乳腺癌细胞中过表达的 UCA1 与 p27 竞争性结合不均一核糖核蛋白 I,导

致 p27 表达受到抑制,进而促进乳腺癌细胞的生长<sup>[10]</sup>。LIU 等<sup>[9]</sup>采用 RT-PCR 方法评估乳腺癌患者组织 UCA1 的表达,他们发现抑制 UCA1 表达则增强了乳腺癌细胞对化疗药物的敏感性并诱导更多的癌细胞凋亡,提示 UCA1 可能与乳腺癌化疗的耐药机制有关。本研究分析 30 例乳腺癌患者的结果显示,有效组 UCA1 的基因表达和异常率与无效组比较显著下调( $P<0.01$ )。提示辅助化疗可以使乳腺癌患者获得部分缓解或完全缓解,进而延长患者的生存期。

CA153 已被公认为乳腺癌的相关肿瘤标志物,其在乳腺癌组织中的表达明显增高,并且在转移病灶中也具有较高的异常率<sup>[11]</sup>。本研究的分析结果发现乳腺癌辅助化疗有效组血清 CA153 水平及异常率较无效组显著降低( $P<0.01$ )。进一步地分析显示 UCA1 和 BCAR4 表达有正相关性,且 UCA1 和 BCAR4 表达与 CA153 水平均有正相关性( $P<0.01$ )。UCA1 表达与肿瘤组织学分级和淋巴结转移具有显著相关性( $P<0.05$ )。BCAR4 表达与乳腺癌的淋巴结转移有相关性( $P<0.05$ )。以上提示 UCA1 和 BCAR4 可能参与了乳腺癌的发生和发展,其在乳腺癌组织中的差异性表达可以监测辅助化疗的效果。

综上所述,UCA1 和 BCAR4 表达可能与乳腺癌辅助化疗的耐药机制有关,下调 UCA1 和 BCAR4 表达可以促进辅助化疗的效果并有效缓解肿瘤的进展。

#### 参考文献:

- [1] VAN AGTHOVEN T, DORSSERS L C, LEHMANN U, et al. Breast cancer anti-estrogen resistance 4 (BCAR4) drives proliferation of IPH-926 lobular carcinoma cells [J]. PLoS One, 2015, 10 (8): e0136845.
- [2] HAYES E L, LEWIS-WAMBI J S. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer; an overview of the proposed roles of noncoding RNA [J]. Breast Cancer Res, 2015, 17(1): 40.
- [3] 宋洋, 胡燕萍, 王锐. sFas 和 sFasL 在乳腺癌辅助化疗过程中的表达及意义[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(12): 183-185.  
SONG Yang, HU Yanping, WANG Rui. The expression and significance of sFas and sFasL in adjuvant chemotherapy of breast cancer[J]. Chinese Journal of Biochemical Medicine 2016, 36(12): 183-185.
- [4] MASOOD S. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancers[J]. Womens Health (Lond), 2016, 12(5): 480-491.
- [5] 杨伟斌, 刘志毅, 曹宽, 等. 表皮生长因子受体家族特点及与肿瘤关系的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(2): 346-350.
- [6] YANG Weibin, LIU Zhiyi, CAO Kuan, et al. Research progress on the characteristics of epidermal growth factor receptor family and its relationship with tumors[J]. Journal Modern Oncology, 2019, 27(2): 346-350.
- [6] 葛晗, 王水. lncRNA 对乳腺癌化疗耐药作用研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(22): 1611-1614.  
GE Han, WANG Shui. Progress of research on the mechanism of lncRNA in chemoresistance of breast cancer[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2017, 24(22): 1611-1614.
- [7] 张建波, 宋魏, 王媛媛, 等. miR-133 通过 Notch1 信号通路调控 BCAR4 对乳腺癌迁移和侵袭的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24 (7): 733-741.  
ZHANG Jianbo, SONG Wei, WANG Yuanyuan, et al. MiR-133 manages effect of BCAR4 on migration and invasion of the breast cancer cells through Notch1 signaling pathway [J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2017, 24(7): 733-741.
- [8] 李秀楠, 刘爱蕙, 唐欣, 等. 尿路上皮癌相关 1 基因通过竞争性抑制 miR-18a 增强乳腺癌细胞的他莫昔芬治疗耐药性[J]. 北京大学学报(医学版), 2017, 49 (2): 295-302.  
LI Xiunan, LIU Aihui, TANG Xin, et al. Urothelial carcinoma-associated 1 enhances tamoxifen resistance in breast cancer cells through competitively inhibiting microRNA-18a [J]. Journal of Peking University (Health Sciences), 2017, 49(2): 295-302.
- [9] LIU Hongying, WANG Gang, YANG Lili, et al. Knockdown of long non-coding RNA UCA1 increases the tamoxifen sensitivity of breast cancer cells through inhibition of wnt/ $\beta$ -catenin pathway[J]. PLoS One, 2016, 11(12): e0168406.
- [10] 赵义, 张行行, 徐岷. 长非编码 RNA UCA1 在肿瘤中的表达及作用[J]. 国际肿瘤学杂志, 2015, 42(7): 519-521.  
ZHAO Yi, ZHANG Xingxing, XU Min. Expressions and roles of long non-coding RNA UCA1 in tumors [J]. International Journal of Oncology, 2015, 42(7): 519-521.
- [11] 李娜, 赵晓娟, 苏晓明. 乳腺组织中 SMG-1mRNA 和 SOX4mRNA 检测在乳腺癌监测中的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(2): 35-39.  
LI Na, ZHAO Xiaojuan, SU Xiaoming. Application of detection of SMG-1 mRNA and SOX4 mRNA in breast tissues in surveillance for breast cancer [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34 (2): 35-39.