

血清 VitD、FA 水平与三阴乳腺癌患者 新辅助化疗敏感性关系

王一, 廖宏伟, 宋扬

唐山市人民医院, 河北 唐山 063000

摘要: **目的** 分析血清维生素 D (VitD)、叶酸 (FA) 水平与三阴乳腺癌 (TNBC) 患者新辅助化疗敏感性的关系。 **方法** 以接受新辅助化疗后病理结果为残留癌 (RD) 的 235 例患者观察组, 以接受新辅助化疗后达到病理完全缓解 (pCR) 的 235 例患者为对照组。回顾性收集患者一般特征、瘤体大小、TNM 分期、淋巴结、组织 Ki-67 表达和基底标志情况等; 采用酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 检测血清 VitD、FA 水平; 用 logistic 回归、受试者工作特征曲线 (ROC) 分析法等分析血清 VitD、FA 水平与三阴乳腺癌患者新辅助化疗敏感性的关系。 **结果** 单因素分析显示观察组 VitD 和 FA 水平低于对照组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 观察组中瘤体为 T3/4、Ki-67 为低表达、基底标志标记为阳性、VitD 和 FA 具有显著降低趋势的人数比率显著高于对照组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 但两组年龄水平、TNM 分期和淋巴结情况方面比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); logistic 回归分析显示瘤体为 T3/4 ($OR = 4.122, 95\% CI: 2.768 \sim 7.502$)、组织 Ki-67 低表达 ($OR = 4.193, 95\% CI: 1.967 \sim 8.880$)、基底阳性 ($OR = 3.459, 95\% CI: 1.884 \sim 80.30$)、VitD ($OR = 2.689, 95\% CI: 1.656 \sim 4.306$) 和 FA ($OR = 2.005, 95\% CI: 1.470 \sim 3.436$) 有降低趋势与新辅助化疗效果不佳有关; ROC 分析显示血清 VitD 预测 TNBC 患者新辅助化疗效果不佳的灵敏度 0.782、特异度 0.899; FA 预测 TNBC 患者新辅助化疗效果不佳的灵敏度 0.775、特异度 0.862; 两者联合预测敏感性为 0.856、特异性 0.908。 **结论** 血清 VitD、FA 水平降低可增加 TNBC 患者新辅助化疗效果不佳风险, 二者水平降低可作为预测新辅助化疗敏感性有效的指标。

关键词: 维生素 D; 叶酸; 乳腺癌; 新辅助化

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1006-3110(2018)04-0405-04 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.04.006

Relationship between serum vitamin D, folic acid and the sensitivity of neoadjuvant chemotherapy in patients with triple-negative breast cancer

WANG Yi, LIAO Hong-wei, SONG Yang

The People's Hospital of Tangshan City, Tangshan, Hebei 063000, China

Abstract: **Objective** To analyze the relationship between serum vitamin D (VitD) and folic acid (FA) levels and sensitivity of neoadjuvant chemotherapy in patients with triple-negative breast cancer (TNBC). **Methods** After receiving neoadjuvant chemotherapy, 235 TNBC patients pathologically diagnosed with residual cancer were selected as the observation group, while 235 TNBC patients diagnosed with pathological complete response served as the control group. The patients' general characteristics, tumor size, TNM staging, lymph node, Ki-67 expression and basal marker condition were retrospectively collected, and the levels of serum VitD and FA were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The relationship between serum VitD and FA levels and sensitivity of neoadjuvant chemotherapy in all the TNBC patients after neoadjuvant chemotherapy was analyzed by logistic regression and receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Single factor analysis indicated that serum VitD and FA levels were lower in the observation group than in the control group, showing statistically significant differences (both $P < 0.05$). The proportions of patients with a tumor size T3/4, Ki-67 low-expression, positive basal marker and having a decreasing trend in serum VitD and FA levels in the observation group were significantly higher than those of the control group, with statistically significant differences (all $P < 0.05$). However, no statistically significant differences were found in age, TNM staging and lymph node status between the two groups (all $P > 0.05$). Logistic regression analysis showed that a tumor size T3/4 ($OR = 4.122, 95\% CI: 2.768 \sim 7.502$), Ki-67 low-expression ($OR = 4.193, 95\% CI: 1.967 \sim 8.880$), positive basal marker ($OR = 3.459, 95\% CI: 1.884 \sim 80.30$) and having a decreasing trend in serum levels of VitD ($OR = 2.689, 95\% CI: 1.656 \sim 4.306$) and FA

基金项目: 河北省卫计委医学项目 (20150973)

作者简介: 王一 (1981-), 女, 河北唐山人, 硕士, 主管检验师, 研究方向: 乳腺癌诊治。

($OR=2.005$, $95\%CI:1.470-3.436$) were associated with poor effects of neoadjuvant chemotherapy. ROC analysis revealed that the prognostic sensitivity and specificity of poor effects of neoadjuvant chemotherapy separately predicted by serum VitD and FA were 0.782 and 0.899, 0.775 and 0.862 respectively, while the sensitivity and specificity predicted by VitD in combination with FA were 0.856 and 0.908 respectively. **Conclusions** The decrease of serum VitD and FA levels can increase the risk of poor response to neoadjuvant chemotherapy in patients with TNBC, and both can be used as the effective indexes for evaluating the sensitivity of neoadjuvant chemotherapy.

Key words: vitamin D; folic acid; breast cancer; neoadjuvant chemotherapy

新辅助化疗是乳腺癌的系统治疗手段之一,在降低肿瘤分期、增强瘤组织化疗反应、减小手术造成的创伤方面效力显著^[1-2];经新辅助化疗后达到病理完全缓解(pathological complete response, pCR)的患者的无病生存期更高。来自临床的数据显示三阴乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)患者更易获得 pCR,但新辅助化疗的 TNBC 患者若未获得 pCR,其预后非常不佳,其复发和转移几率甚至高于未获得 pCR 的非 TNBC 患者^[3],因此寻找便捷的预测 TNBC 患者新辅助化疗敏感性因子成为研究的热点。近年来维生素 D(vitamin D, VitD)、叶酸(folic acid, FA)在乳腺癌方面的作用备受瞩目, VitD 和或 FA 缺乏可增加乳腺癌疾病发病风险;增加血液中 VitD 和或 FA 水平对乳腺癌的治疗有一定辅助作用^[4-5]。但二者水平变化与新辅助化疗敏感性的关系尚不确定。本研究通过病例对照研究分析 VitD 和或 FA 水平变化与 TNBC 患者新辅助化疗敏感性的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象 以 2015 年 1 月-2017 年 1 月,本院新辅助化疗后经组织病理学检查确定未达到 pCR(原发肿瘤及淋巴结无浸润性病灶残留为病理完全缓解)的 235 例三阴乳腺癌患者为观察组,以同期接受新辅助化疗组织病理学检查确定达到 pCR 的 235 例三阴乳腺癌患者为对照。观察组纳入标准:(1)经空芯针活检获得病理组织,免疫组化方法或结合荧光原位杂交法确定雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)和(human epidermal growth receptor, Her-2)受体表达阴性;(2)既往未接受化疗及放射治疗;(3)化疗前行腹部超声、头颅和胸部 CT 以及全身骨扫描检查未发现远处转移;(4)肿瘤分期无远处转移者;(5)新辅助化疗后经手术病检未达到 pCR 者;(6)非妊娠/哺乳期女性;(7)无其他恶性肿瘤病史;无心、肝、肾功能严重损害;各项检查无化疗禁忌证;(8)有完整病理资料;(9)化疗前签署知情同意书。对照组纳入标准:(1)化疗期间出现病情进展或新辅助化疗后经组织病理学检查确定达到 pCR 者;

(2)其他同观察组。排除标准:(1)非三阴乳腺癌患者;(2)病理资料不完整,或由于各种原因未按要求进行化疗治疗者;(3)乳腺癌晚期或放疗后不适宜手术者。

1.2 新辅助化疗方案 新辅助化疗方案主要采用 AC(阿霉素联合环磷酰胺)、EC(表阿霉素联合环磷酰胺)、或紫杉类药联合 AC 方案(TAC)或紫杉类药联合 EC(TEC)。每 21 d 为 1 个周期,共 4 个周期;未出现疾病进展者在最后 1 个周期新辅助化疗结束后 2~3 周内后进行手术,术后标本均行常规病理检查。手术标本中无肿瘤病灶残留或仅有原位癌残留视为 pCR。

1.3 VitD 和 FA 检测 患者第一次化疗前、第一次和第二次化疗后采集静脉血,4℃离心,12 000 r/min,取上清,样本贮存于-80℃冰箱备用。采用酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定,取三次平均值纳入统计学分析;以第 1 次化疗前的 VitD 和 FA 的 P75 界值水平作为标准,定义第 1 次、第 2 次化疗后检测 VitD 和 FA 的平均水平<其 P75 值为有降低趋势;未能完成 2 个疗程治疗出现病情进展的,直接采取血液进行检测,记取 VitD 和 FA 数值。

1.4 统计学分析 数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行处理,采用 χ^2 检验、 t 检验、logistic 回归分析 VitD 和 FA 与三阴乳腺癌患者新辅助化疗敏感性的关系;对 VitD 和 FA 绘制受试者工作特征曲线(ROC),评估二者对三阴乳腺癌患者新辅助化疗敏感性预测价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响三阴乳腺癌患者新辅助化疗敏感性的单因素分析 观察组 VitD 和 FA 水平低于对照组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$);观察组中瘤体为 T3/4、Ki-67 为低表达,基底标志标记为阳性, VitD 和 FA 具有显著降低趋势的人数比率显著高于对照组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$);但两组年龄水平、TNM 分期和淋巴结情况方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 观察组和对照组新辅助化疗敏感性相关因素比较				
因素	对照组(<i>n</i> =235)	观察组(<i>n</i> =235)	<i>χ</i> ² 值	<i>P</i> 值
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	46.71±8.45	47.16±9.42	0.46*	0.65
VitD(ng/ml, $\bar{x}\pm s$)	36.12±10.42	29.38±9.80	6.03	0.00
FA(nmol/ml, $\bar{x}\pm s$)	8.88±3.64	5.94±2.08	8.98	0.00
肿瘤大小(<i>n</i> ,%)				
T2	141(60.0)	77(32.8)		
T3/4	94(40.0)	158(67.2)	35.04	0.00
淋巴结(<i>n</i> ,%)				
N0	136(57.8)	149(63.4)		
N1/2	95(42.2)	86(36.6)	3.474	0.06
TNM 分期(<i>n</i> ,%)				
IIA	77(32.7)	68(29.7)		
IIB	105(44.6)	110(46.8)		
IIIA	53(23.7)	57(23.5)	2.28	0.13
Ki-67 表达(<i>n</i> ,%)				
高表达(≥20%)	154(65.5)	82(34.6)		
低表达(<20%)	81(34.5)	153(65.4)	44.11	0.00
基底标志(<i>n</i> ,%)				
阴性	150(63.8)	78(35.1)		
阳性	85(36.2)	157(64.9)	44.15	0.00
VitD 降低趋势(<i>n</i> ,%)				
有	70(29.7)	153(65.4)		
无	185(70.3)	82(34.6)	49.92	0.00
FA 降低趋势(<i>n</i> ,%)				
有	92(39.1)	158(67.2)		
无	143(60.9)	157(32.8)	32.35	0.00

注:基底标志阳性指病理组免疫组化染色 CK56 阳性和或 EGFR 阳性。

2.2 影响三阴乳腺癌患者新辅助化疗敏感性的多因素 logistic 回归分析 以是否达到 pCR 为因变量,以瘤体大小(T3/4=0,T2=1)、组织 Ki-67 表达(低表达=0,高表达=1)、基底情况(阳性=0,T2=1)、VitD 和 FA 降低趋势情况(有降低趋势=0,无降低趋势=1)为自变量代入二分类 logistic 回归方程,结果显示瘤体为

T3/4、组织 Ki-67 阴性、基底阳性、VitD 和 FA 有降低趋势与新辅助化疗效果不佳有关(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 影响三阴乳腺癌新辅助化疗效果的多因素 logistic 回归分析结果						
因素	β	SE	Wald χ^2 值	<i>P</i> 值	OR 值	95%CI
瘤体(T3/4)	1.412	0.639	4.882	0.028	4.122	2.768~7.502
Ki-67 表达(低)	1.430	0.641	5.538	0.019	4.193	1.967~8.880
基底情况(阳性)	1.244	0.592	7.497	0.000	3.459	1.884~8.030
VitD 降低趋势(有)	0.950	0.460	5.022	0.020	2.689	1.656~4.306
FA 降低趋势(有)	0.796	0.455	4.408	0.031	2.005	1.470~3.436
常量	-3.987	1.585	6.329	0.012	0.019	-

2.3 血清 VitD 和 FA 水平三阴乳腺癌患者新辅助化疗敏感性的 ROC 曲线分析结果 血清 VitD 水平预测新辅助化疗效果不佳的 ROC 曲线下面积为 0.858,与 0.5(无效假设)相比,差异有统计学意义(*P*<0.05);以约登指数中最大的一点为临界值,得出 VitD 为 21.8 ng/ml 时约登指数最大,其灵敏度为 0.782,特异度为 0.899。FA 预测新辅助化疗效果不佳的 ROC 曲线下面积为 0.844,与 0.5(无效假设)相比,差异有统计学意义(*P*<0.05),以约登指数中最大的一点为临界值,得出 FA 为 3.4 nmol/ml 时约登指数最大,其灵敏度为 0.775,特异度为 0.862;两者联合预测新辅助化疗效果不佳的灵敏度 0.856,特异性 0.908。见表 3。

表 3 血清 VitD 和 FA 水平预测新辅助化疗效果的 ROC 曲线分析结果					
指标	临界值	曲线下面积	灵敏度	特异度	约登指数
VitD	21.8ng/ml	0.858	0.782	0.899	0.720
FA	3.4nmol/ml	0.844	0.775	0.862	0.662
VitD + FA		0.892	0.856	0.908	0.784

3 讨论

临床报道 TNBC 患者对新辅助化疗表现为化疗抗拒的比率高达 20% 以上,这部分患者不易获得 pCR,其预后非常不佳^[6]。有报道研究显示瘤体大小、组织 Ki-67 表达、基底情况以及 TNM 分期与新辅助化疗效果相关,瘤体越小、组织 Ki-67 表达高、基底标志阴性的 TNBC 患者对新辅助化疗较敏感,容易获得 pCR^[7-9]。但上述指标中例如组织 Ki-67 表达、基底情况对新辅助化疗的预测作用尚有争议;且受到多种原因限制,在对所有乳腺癌患者均实施检测的可能不大;

因此积极寻找便捷有效的血清学预测指标有较强的临床现实意义。本研究单因素与多因素 logistic 分析发现瘤体大、组织 Ki-67 表达阴性、基底标志阳性与新辅助化疗效果的 $OR(95\% CI)$ 值分别为 4.122 (2.768~7.502)、4.193 (1.967~8.880)、3.459 (1.884~8.030);说明三者可直接影响患者新辅助化疗的敏感性,与上述研究结果有一定的相似性^[7-9]。本研究未发现 TNM 分期以及淋巴转移情况与新辅助化疗敏感性的关系,可能与本组入选时排除了晚期癌症患者有关。

VitD 和 FA 与乳腺癌的关系近年来备受关注。来自人群的数据显示外周血 VitD 和 FA 越低,乳腺癌的发病风险越高^[10]。研究认为 VitD 可通过抑制促细胞存活通路如 PI3K,调控细胞周期 Cyclin D1、CDK4 表达,从而诱导细胞凋亡、抑制肿瘤侵袭性和血管发生的作用。而 FA 主要是通过影响 DNA 合成和甲基化参与肿瘤的病理进程^[11-12]。最近也有部分研究报道 VitD 或和 FA 及其类似物可作为抗肿瘤辅助治疗药物,抑制肿瘤生长,提高化疗效果。例如鲍健等^[4]报道 VitD 联合塞来昔布抑制乳腺癌细胞生长;刘利等^[14]报道亚叶酸钙联合多西他赛等治疗晚期乳腺癌。本研究观察组放疗后 VitD 和 FA 平均水平显著低于对照组,观察组二者降低趋势的人数更多,将二者和临床相关病理影响因素纳入进多因素方程分析,结果显示 VitD、FA 水平显著降低者新辅助化疗效果不佳的风险显著增加, OR 值分别为 2.689 (1.656~4.306)、2.005 (1.470~3.436),说明 VitD 和 FA 水平与 TNBC 患者新辅助放疗敏感性有关。研究显示提高 VitD 和 FA 水平,有助于促进细胞自噬、影响体内半胱氨酸的合成,抑制细胞的增殖来影响癌细胞对放化疗时的效果^[13-14]。为明确二者 VitD、FA 水平对新辅助化疗效果评估意义,绘制 ROC 曲线,发现二者的特异性和灵敏度都较高,说明二者能较好反映患者新辅助放疗的效果;二者联合预测预后的特异性和灵敏度有增高趋势,提示临床上应联合观察二者的变化,以便早期判断出 TNBC 患者对新辅助放疗的敏感性,指导新辅助化疗的调整。

综上所述,本研究发现血清 VitD、FA 水平降低可

增加 TNBC 患者新辅助化疗效果不佳风险,二者水平降低可作为预测新辅助化疗敏感性有效的指标。新辅助化疗效果关系到 TNBC 最终治疗效果,密切观察血清 VitD、FA 水平的变化趋势和水平,在 TNBC 患者新辅助化疗中有较好的应用价值。

参考文献

- [1] 王小东,薛改琴. 彩色多普勒超声在评价乳腺癌新辅助化疗疗效中的价值[J]. 中国药物与临床,2016,16(1):40-44.
- [2] 董虹亮,李显蓉. CTF 的新辅助化疗方案治疗 III 期乳腺癌 128 例临床效果观察[J]. 医学信息,2016,29(7):87-88.
- [3] 章国晶,刘兆喆,郭放,等. Ki-67 对三阴性乳腺癌新辅助化疗敏感性预测的 Meta 分析[J]. 中华肿瘤防治杂志,2012,19(13):996-999.
- [4] 鲍健,刘合波,鲍扬漪,等. 1,25-二羟维生素 D 联合塞来昔布抑制乳腺癌生长及 VEGF 表达研究[J]. 安徽医学,2013,34(12):1733-1736.
- [5] 魏凯,黄毅超. 血浆同型半胱氨酸、叶酸和维生素 B12 水平与非小细胞肺癌的关系[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(6):699-701.
- [6] 张明,高嫦娥,邹天宁,等. 不同新辅助化疗方案对三阴性乳腺癌治疗疗效临床分析[J]. 昆明医科大学学报,2015,36(1):65-68,88.
- [7] 张小飞,覃庆洪,练斌,等. 167 例 II、III 期乳腺癌新辅助化疗疗效评价及影响因素[J]. 现代肿瘤医学,2015,23(13):1823-1827.
- [8] 曹一鸣,韦长元,黄平,等. 乳腺癌新辅助化疗病理缓解绿与组织学及分子标志物相关性分析[J]. 中华肿瘤防治杂志,2015,22(18):1479-1483.
- [9] 张重建,泰丽,王璐,等. 乳腺癌新辅助化疗疗效的影响因素及预后分析[J]. 中国老年学杂志,2016,36(3):636-637.
- [10] 高翠红,高庆双,韩秀青,等. 乳腺癌患者外周血叶酸及维生素 D 的变化及临床意义[J]. 中国妇幼保健,2015,30(17):2722-2723.
- [11] Pacini S, Punzi T, Morucci G, et al. Effects of vitamin D-binding protein-derived macrophage-activating factor on human breast cancer cells[J]. Anticancer Res, 2012, 32:45-52.
- [12] Duthie SJ. Folate and cancer;how DNA damage, repair and methylation impact on colon carcinogenesis [J]. J Inher Metab Dis, 2011,34(1):101-109.
- [13] Evans SR, Shchepotin EI, Young H, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 synthetic analogs inhibit spontaneous metastases in a 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis model[J]. Int J Oncol, 2000, 16(6):1249-1254.
- [14] 刘利,杨农,邱霞,等. 叶酸及亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与乳腺癌细胞多药耐药的相关相关性分析[J]. 现代肿瘤医学,2015,23(3):306-310.

收稿日期:2017-03-22