

文章编号:1000-5404(2012)10-1006-05

乳腺癌分子分型与外周血循环肿瘤细胞相关性探讨

李世超,姜军,杨新华,张毅,范林军,张帆,刘静,孙鹏,王明浩 (400038 重庆,第三军医大学西南医院乳腺疾病中心)

[摘要] 目的 探讨乳腺癌分子分型与外周血循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)的相关性。方法 抽取116例乳腺癌及20例乳腺纤维腺瘤患者外周静脉血5 ml,利用密度梯度离心法富集单个核细胞,通过荧光定量PCR技术检测所获单个核细胞中细胞角蛋白(cytokeratin, CK)19 mRNA表达阳性的CTC,分析乳腺癌分子分型与CTC的关系。结果 116例乳腺癌患者中CTC阳性率为31%(36/116),20例乳腺纤维腺瘤患者均未检测出CTC。36例CTC阳性患者的中位CTC水平为1.65(1.18, 2.87)个MCF-7细胞/2 μg总RNA;116例乳腺癌患者中各分子亚型(luminal型、HER-2过表达型、basal-like型)所占比例分别为62.1%(72/116)、17.2%(20/116)、20.7%(24/116);各亚型(luminal型、HER-2过表达型、basal-like型)CTC阳性率分别为27.8%(20/72)、35%(7/20)、37.5%(9/24),差异无统计学意义($P=0.615$),各亚型(luminal型、HER-2过表达型、basal-like型)CTC阳性患者的中位CTC水平分别为2.1(1.18, 3.9)、1.37(1.12, 2.12)、1.53(1.32, 2.64)个MCF-7细胞/2 μg总RNA,差异有统计学意义($P=0.046$)。结论 乳腺癌各分子亚型间CK-19 mRNA阳性CTC水平存在差异,提示各亚型间临床异质性可能与患者CTC水平相关。

[关键词] 乳腺肿瘤;分子亚型;循环肿瘤细胞

[中图分类号] R181.3;R730.43;R737.9

[文献标志码] A

Correlation between molecular subtypes and circulating tumor cells in breast cancer

Li Shichao, Jiang Jun, Yang Xinhua, Zhang Yi, Fan Linjun, Zhang Fan, Liu Jing, Sun Peng, Wang Minghao (Center of Breast Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between molecular subtypes and circulating tumor cells (CTCs) in breast cancer. **Methods** The peripheral blood samples were collected from 116 patients with breast cancer and 20 patients with breast fibroadenoma (5 ml of each patient). The mononuclear cells in the blood samples were enriched by density gradient centrifugation, and then were tested by quantitative real-time PCR (qPCR) to detect cytokeratin (CK) 19 mRNA-positive CTCs. The correlation between molecular subtypes and CTCs in breast cancer was analyzed. **Results** The positive rate of CTC in the breast cancer patients was 31% (36/116), while no CTC was detected in the patients with breast fibroadenoma. The median of CK-19 mRNA-positive CTC (expressed as MCF-7 cell equivalents/2 μg total RNA) in the 36 CTC-positive patients was 1.65 (1.18, 2.87). The proportion of luminal type, HER-2 type and basal-like type in the 116 breast cancer patients were 62.1% (72/116), 17.2% (20/116) and 20.7% (24/116), respectively. The positive rates of CTC in these molecular subtypes were 27.8% (20/72), 35% (7/20) and 37.5% (9/24), respectively, and no significant difference was observed ($P=0.615$). The medians of CK-19 mRNA-positive CTC (expressed as MCF-7 cell equivalents/2 μg total RNA) of the three subtypes were 2.1 (1.18, 3.9), 1.37 (1.12, 2.12) and 1.53 (1.32, 2.64), respectively, and there was significant difference between the different subtypes ($P=0.046$). **Conclusion** There was significant difference of CK-19 mRNA-positive CTC level between different molecular subtypes of breast cancer, indicating the relationship between the CTC level and the clinical heterogeneity of molecular subtypes in patients with breast cancer.

[Key words] breast neoplasms; molecular subtypes; neoplastic cells, circulating

Corresponding author: Jiang Jun, Tel: 86-23-68754160, E-mail: jcbd@medmail.com.cn

乳腺癌在肿瘤演进及治疗效果等方面均存在明显的临床异质性,基于肿瘤分子表达差异的分子分型系

统能更准确反映肿瘤的生物行为,为乳腺癌患者的个体化治疗及预后判断提供依据^[1-2]。乳腺癌患者外周血出现循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)是发生远处转移的前提和基础,对疾病早期诊断、预后

及疗效实时监测都具有重要意义^[3-4]。Fehm等^[5]发现人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)表达阴性的乳腺癌患者CTC检出率较阳性患者高,我科前期研究也发现激素受体表达阴性的乳腺癌患者其CTC检出率较阳性患者偏高^[6]。鉴于这些分子正是区分乳腺癌各分子亚型的基础,有必要进一步研究、分析乳腺癌各亚型中CTC的入血概率及数目是否存在差异,各亚型中CTC水平差异对其迥然的预后结局是否具有提示作用等问题。结合荧光定量PCR(quantitative real-time reverse transcription-PCR, qPCR)技术检测外周血细胞角蛋白(cytokeratin, CK)19 mRNA表达状态为目前检测CTC的常用方法之一^[7]。本研究抽取116例乳腺癌患者外周静脉血,利用密度梯度离心法富集单个核细胞,通过qPCR技术检测所获单个核细胞中CK-19 mRNA表达阳性的CTC,初步探讨乳腺癌分子分型与外周血CTC的相关性。

1 材料与方法

1.1 一般资料

第三军医大学西南医院乳腺疾病中心2010年2月至2011年5月收治可手术治疗乳腺癌患者116例,入组患者同时参加1项检测乳腺癌CTC在早期诊断乳腺癌复发、转移的前瞻性临床研究(ChiCTR-OCH-10000859),均为女性,中位年龄48(27~75)岁。专人取腋窝淋巴结,空心针穿刺或手术切除标本均经规范病理检查,免疫组化S-P法检测雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)和HER-2表达情况,依据美国临床肿瘤学会和美国病理学家学会最新公布的乳腺癌ER/PR免疫组化检测指南^[8]评估ER和PR状况,HerceptTest评分系统^[9]评估HER-2过表达状况。按照国际抗癌联盟(American Joint Commission on Cancer, AJCC)(2002年第6版)乳腺癌临床分期标准对患者行TNM分期。临床病理资料见表1。以同期手术治疗的20例乳腺纤维腺瘤患者静脉血作为阴性对照。患者取外周血标本前均签署知情同意书,本研究方案获得西南医院伦理委员会批准。

1.2 免疫组织化学分子分型的标准

根据Carey等^[10]的标准将乳腺癌分成4种分子亚型:腔上皮型乳腺癌(luminal)A型[ER(+)(或)PR(+)(或)HER-2(-)]、腔上皮型乳腺癌(luminal)B型[ER(+)(或)PR(+)(或)HER-2(+)]、HER-2过表达型[ER(-),PR(-)(或)HER-2(+)]、基底细胞样(basal-like)型[ER(-),PR(-)(或)HER-2(-)]。

1.3 主要试剂与仪器

人淋巴细胞分离液为天津灏洋生物公司产品,TRNzol全血RNA提取液[北京天根生化科技有限公司(DP405-01)],Rever Tre Ace-a-逆转录试剂盒(日本TOYOBO公司),2×Taq PCR Master Mix(北京天根生化科技有限公司),SYBR Green Mix(日本TOYOBO公司)。低温超速离心机(德国Eppendorf公司),PCR扩增仪(美国Applied Biosystems公司, GeneAmp PCR Sys-

tem 9700),实时荧光qPCR仪(美国Applied Biosystems公司, Real time PCR System 7500),数字凝胶成像分析系统(美国Bio-Rad公司),电泳仪(美国Bio-Rad公司)。

表1 临床病理特征与CTC检测的关系

临床病理因素	病例数 (%)	CTC 阳性例数 (%)	χ^2	P 值
患者总数	116	36(31.0)		
月经状态			0.187 ^a	0.666 ^a
绝经前	74(63.8)	24(32.4)		
绝经后	42(36.2)	12(28.6)		
原发肿瘤大小			3.41 ^c	0.328 ^c
T1	42(36.2)	10(23.8)		
T2	65(56.0)	24(36.9)		
T3	7(6.0)	1(14.3)		
T4	2(1.7)	1(50.0)		
淋巴结转移状态			3.292 ^c	0.354 ^c
N0	55(47.4)	13(23.6)		
N1	32(27.6)	11(34.4)		
N2	22(19.0)	9(40.9)		
N3	7(6.0)	3(42.9)		
TNM 分期			3.956 ^b	0.047 ^b
I	24(20.7)	3(12.5)		
II	61(52.6)	21(34.4)		
III	31(26.7)	12(38.7)		
ER 状态			1.012 ^a	0.314 ^a
阳性	66(56.9)	18(27.3)		
阴性	50(43.1)	18(36.0)		
PR 状态			0.016 ^a	0.901 ^a
阳性	59(50.9)	18(30.5)		
阴性	57(49.1)	18(31.6)		
HER-2 状态			1.427 ^a	0.232 ^a
-- +	78(67.2)	27(34.6)		
++ ~ +++	38(32.8)	9(23.7)		

a: 皮尔逊 χ^2 检验; b: 线性趋势 χ^2 检验; c: Fisher 确切概率法

1.4 实验方法

1.4.1 密度梯度离心法富集 CTC 取患者第1次住院健侧上肢浅静脉抗凝全血5 ml,等量Hanks液稀释混匀,缓慢加至人淋巴细胞分离液(5 ml)层面上。水平离心机室温下4 000 r/min离心20 min。吸取环状乳白色单个核细胞层,加入5 ml Hanks液洗涤2次(每次2 000 r/min,10 min,室温),置于液氮罐保存待统一检测。

1.4.2 荧光定量PCR检测CK-19 mRNA表达阳性的CTC 依据试剂说明使用TRNzol试剂提取全血总RNA, RNA处理过程保证无RNA酶条件,提取好的RNA保存在-80℃备用。根据紫外分光光度计读取260 nm及280 nm吸光度的比值以确定RNA的纯度并定量。使用PCR仪进行RNA逆转录,依据试剂盒说明将2 μg RNA作为模板全部逆转录成cDNA。采用SYBR Green-1染料法的荧光定量PCR技术定量检测CK-19 mRNA的表达情况。所有样本重复检测3次,结果取均值,同时检测内参基因β-actin以保证PCR反应效率。目的基因CK-19引物用Primer5.0软件设计,由上海生工公司合成,内参基因β-actin引物为购买试剂盒中提供。CK-19 mRNA上游引物5'-CCC GCGACTACAGCCACTACTA-3',下游引物5'-ATGAGCGTG-GAGGCCGAC-3'; β-actin上游引物5'-ACCCCGTGCTGCTGAC-CGAG-3',下游引物5'-TCCCGGCCAGCCAGGTCCA-3'。荧光定量PCR反应体系总量为20 μl,包括2 μl模板cDNA,上游引物0.5 μl,下游引物0.5 μl,2×SYBR Premix Ex TaqTM(包括SYBR Green I, Taq酶, Mg²⁺, dNTP)10 μl, ddH₂O 7.0 μl。反应

条件经优化最后确定为:94℃ 预变性 5 min,循环过程为:94℃ 变性 30 s,63℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,循环 30 次。每次反应结束后进行溶解曲线分析以检验扩增特异性及引物二聚体是否存在(60~95℃,0.1℃/s)。为了对 CK-19 mRNA 荧光定量 PCR 反应结果进行定量分析,提取 1×10^4 个人乳腺癌 MCF-7 细胞相应的总 RNA,依据试剂盒说明将 2 μg RNA 作为模板逆转录成的 cDNA 并作 10 倍梯度稀释(即 1~10 000 个乳腺癌 MCF-7 细胞相应的 cDNA),取各梯度 cDNA 2 μl 为模板制作标准曲线。以每 2 μg 总 RNA 对应的 MCF-7 细胞数代替表达每份标本中 CK-19 mRNA 阳性的 CTC 数目;本研究中此方法的检测下限为对应 0.9/2 μg,即以 $\geq 0.9/2 \mu\text{g}$ 为 CTC 检测的阳性判断标准^[11]。(图 1)。

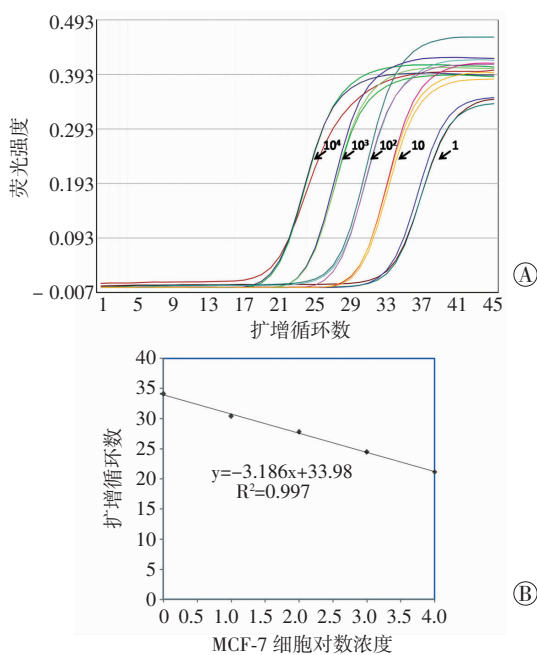


图 1 标准品(MCF-7 细胞)CK-19 mRNA 扩增曲线及标准曲线

1.5 统计学方法

采用 PASW Statistics 18 软件,非正态分布的计量资料采用 Mann-Whitney 检验或 Kruskal - Wallis 检验,计数资料采用 χ^2 检验,当 1/5 以上格子的理论频数小于 5 时采用 Fisher 确切概率法。统计结果以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 循环肿瘤细胞检出情况

20 例乳腺纤维腺瘤患者外周血 CK-19 mRNA 表达均为阴性,116 例乳腺癌患者外周血中有 36 例 CK-19 mRNA 表达呈阳性(图 2),阳性率为 31.0%,两组相比差异有统计学意义($\chi^2 = 8.441, P = 0.004$)。36 例 CTC 阳性患者的中位 CTC 水平为 1.65(1.18,2.87)/2 μg。分析 116 例乳腺癌患者 CTC 检测结果与常规临床病理因素的相关性,CTC 阳性率与患者月经状态、原发肿瘤大小、淋巴结转移状态均不相关,仅与肿瘤 TNM 分期相关,分期越晚,CTC 检测阳性率越高($P = 0.047$)。不同 ER、PR、HER-2 表达状态 CTC 阳性率相比差异无统计学意义。见表 1。

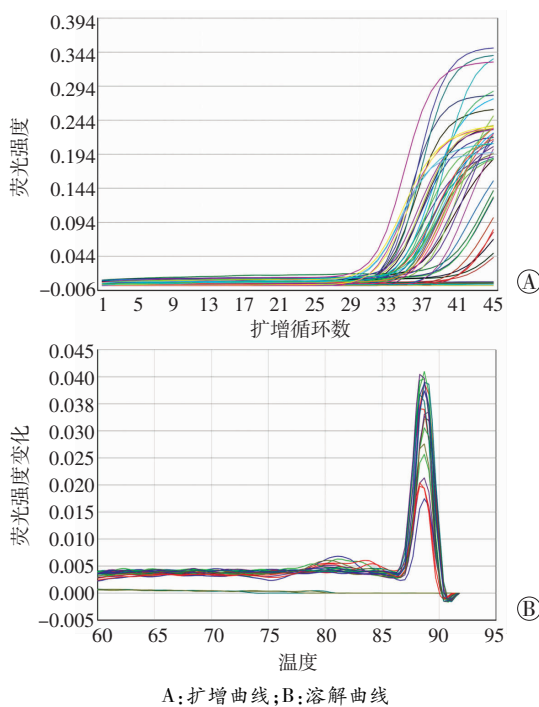


图 2 外周血标本 CK-19 mRNA 扩增曲线及溶解曲线

2.2 不同分子亚型的分布

纳入的 116 例乳腺癌患者各分子亚型的分布情况:luminal 型 62.1% (72/116)、HER-2 过表达型 17.2% (20/116)、basal-like 型 20.7% (24/116),其中 luminal A 型 46.6% (54/116)、luminal B 型 15.5% (18/116),见表 2。

表 2 116 例乳腺癌不同分子亚型的分布及 CTC 检出情况

分子分型	例数 (%)	CTC 阳性例数 (%)	χ^2	P 值	中位 CTC 数 (MCF-7 细胞 /2 μg 总 RNA)	P 值
Luminal 型	72(62.1)	20(27.8)	0.972	0.615 ^a	2.10(1.18,3.90)	0.046 ^b
Luminal A 型	54(46.6)	18(33.3)			2.32(1.36,4.30)	
Luminal B 型	18(15.5)	2(11.1)			1.03(0.96, -)	
HER-2 型	20(17.2)	7(35.0)			1.37(1.12,2.12)	
Basal-like 型	24(20.7)	9(37.5)			1.53(1.32,2.64)	

a: 皮尔逊 χ^2 检验;b: Kruskal - Wallis 检验

2.3 不同分子亚型间循环肿瘤细胞检出情况的比较

116 例乳腺癌患者中 luminal 型(包括 luminal A 型及 luminal B 型)、HER-2 过表达型和 basal-like 型相应 CTC 检测阳性率如表 2 所示,各亚型间 CTC 阳性率比较结果无统计学意义。36 例 CK-19 mRNA 表达阳性的患者各分子亚型相应中位 CTC 数如表 2 所示,差异比较结果具有统计学意义($P = 0.046$)。

3 讨论

乳腺癌在分子水平上具有高度异质性,基于肿瘤分子表达差异的分型系统可以更加科学、准确地反映乳腺癌的临床异质性这一特点,并为肿瘤分期的判断、个体化综合治疗的选择以及患者远期预后的判断提供更为切实可靠的依据。Perou 等^[12]最先利用基因芯片技术将乳腺癌分为 4 个亚型,即管腔型、正常乳腺样型、HER-2 过表达型和基底细胞样型。此后,随着研

究的不断深入,乳腺癌的分子分型又得到进一步的细化和复杂化^[13-15]。尽管乳腺癌分子分型最先是基于欧美乳腺癌人群开展的,但 Yu 等^[16]研究发现,乳腺癌分子亚型的相似性也存在于亚洲人群,该分型系统同样适用于中国的乳腺癌患者。国内袁中玉等^[17]研究了 1 280 例乳腺癌患者的分子亚型分布后发现,basal-like 型、HER-2 过表达型和 luminal 型乳腺癌分别占 20.9%、23.2% 和 55.9%。本研究 116 例患者中各亚型所占比例为 basal-like 型 24 例(20.7%)、HER-2 过表达型 20 例(17.2%) 和 luminal 型 72 例(62.1%),其中 luminal A 型 54 例(46.6%)、luminal B 型 18 例(15.5%),与文献报道比例相近。诸多研究已印证了不同分子亚型的乳腺癌临床病理特征及对不同化疗方案的受益程度和预后均不尽相同^[18-19]。然而,目前对乳腺癌各亚型之间的分子表达差异最终引起肿瘤临床异质性的确切机制研究还不够深入。

乳腺癌细胞在肿瘤形成早期即可自原发灶脱落,直接或经淋巴系统间接进入血液循环系统。存在于循环系统、骨髓、区域淋巴结内的微转移灶是乳腺癌患者术后复发、转移的重要原因^[3,20]。以往临床试验研究发现,检测乳腺癌患者外周血 CTC 对肿瘤预后的判断具有重要参考价值。Cristofanilli 等^[21]检测 177 例 IV 期乳腺癌患者外周血 CTC,发现治疗前 CTC $\geq 5/7.5$ ml 患者的中位无疾病进展期 (progression-free survival, PFS) 和总生存期 (overall survival, OS) 均明显短于 CTC $< 5/7.5$ ml 的患者(2.7 个月 vs 7 个月;10.1 个月 vs 18 个月)。进一步统计分析提示 CTC 可作为 PFS 和 OS 的独立预测指标。Ignatiadis 等^[22]检测 I ~ III 期乳腺癌患者($n = 444$)外周血中的 CTC,结果发现与 CTC 阴性患者相比,CTC 阳性患者的局部复发率和远处转移率显著升高而无病生存期 (disease-free survival, DFS) 和 OS 显著缩短,进一步肯定了 CTC 在判断患者预后方面的价值。

本组不同 TNM 分期的乳腺癌患者 CTC 阳性率不同,分期越晚,CTC 阳性率越高,差异具有统计学意义,提示 CTC 与肿瘤 TNM 分期密切相关。而与患者月经状态、肿瘤大小、淋巴结状态、激素受体等传统临床病理因素则无显著相关性。乳腺癌具有显著的临床异质性,各分子亚型预后具有明显差别,这可能与各亚型肿瘤细胞脱落入血的概率及数目有关。基于这一假设,我们进一步分析乳腺癌分子分型同 CTC 之间的关系。结果提示 HER-2 过表达型和 basal-like 型的 CTC 阳性率均高于 luminal 型,但差异尚不具有统计学意义,后续更大样本量的研究将有助于进一步明确各亚型肿瘤细胞脱落入血概率的差异。另一方面,通过对乳腺癌各分子亚型 CTC 数目的比较发现,尽管 HER-2 过表达

型和 basal-like 型的 CTC 阳性率均高于 luminal 型,但这 2 种亚型的 CTC 数目却低于 luminal 型,且差异具有统计学意义。这 2 种亚型的肿瘤细胞恶性程度及侵袭转移能力更高,肿瘤细胞更易于从原发肿瘤脱落入血,即使脱落入血的细胞数目较少,也相对容易定殖并形成转移灶,导致患者出现远处转移和复发的风险高于其他亚型。同时因激素受体表达阴性,内分泌治疗无效,患者远期预后相对较差^[23-24],但具体分子机制有待进一步的研究。

乳腺癌具有明显的临床异质性,分子分型为患者个体化治疗方案的选择及预后的判断提供了更为可靠的依据。CTC 是乳腺癌形成远处转移灶的重要前提和基础,与预后密切相关。探讨各分子亚型 CTC 水平差异有助于加深对乳腺癌临床异质性的认识。本研究结果提示各亚型间 CTC 数目存在差异且与文献报道的各亚型预后相关。

志谢 衷心感谢第三军医大学西南医院乳腺疾病中心任林医师、陈庆秋技师在标本整理过程中给予的无私帮助。

参考文献:

- [1] Prat A, Perou C M. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer[J]. *Mol Oncol*, 2011, 5(1): 5-23.
- [2] Cianfrocca M, Gradishar W. New molecular classifications of breast cancer[J]. *CA Cancer J Clin*, 2009, 59(5): 303-313.
- [3] Pantel K, Brakenhoff R H, Brandt B. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(5): 329-340.
- [4] Cristofanilli M, Braun S. Circulating tumor cells revisited[J]. *JAMA*, 2010, 303(11): 1092-1093.
- [5] Fehm T, Hoffmann O, Aktas B, et al. Detection and characterization of circulating tumor cells in blood of primary breast cancer patients by RT-PCR and comparison to status of bone marrow disseminated cells [J]. *Breast Cancer Res*, 2009, 11(4): R59.
- [6] 齐晓伟,姜军,杨新华,等. 乳腺癌循环肿瘤细胞与原发肿瘤临床病理特征关系的初步研究[J]. *第三军医大学学报*, 2009, 31(9): 850-853.
- [7] Van-der-Auwera I, Peeters D, Benoy I H, et al. Circulating tumour cell detection: a direct comparison between the CellSearch System, the AdnaTest and CK-19/mammaglobin RT-PCR in patients with metastatic breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(2): 276-284.
- [8] Hammond M E, Hayes D F, Wolff A C, et al. American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer[J]. *J Oncol Pract*, 2010, 6(4): 195-197.
- [9] 《乳腺癌 HER2 检测指南》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南[J]. *中华病理学杂志*, 2006, 35(10): 631-633.
- [10] Carey L A, Perou C M, Livasy C A, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study[J]. *JAMA*, 2006, 295(21): 2492-2502.
- [11] Stathopoulou A, Gizi A, Perraki M, et al. Real-time quantification of CK-19 mRNA-positive cells in peripheral blood of breast cancer patients using the lightcycler system [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(14): 5145-5151.

- [12] Perou C M, Sorlie T, Eisen M B, *et al.* Molecular portraits of human breast tumours[J]. *Nature*, 2000, 406(6797): 747-752.
- [13] Wiechmann L, Sampson M, Stempel M, *et al.* Presenting features of breast cancer differ by molecular subtype[J]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16(10): 2705-2710.
- [14] Parise C A, Bauer K R, Brown M M, *et al.* Breast cancer subtypes as defined by the estrogen receptor(ER), progesterone receptor(PR), and the human epidermal growth factor receptor 2(HER2) among women with invasive breast cancer in California, 1999-2004[J]. *Breast J*, 2009, 15(6): 593-602.
- [15] 陈桂秋, 卢一艳, 王丽萍, 等. 乳腺癌分子分型研究进展[J]. *中国实验诊断学*, 2011, 15(6): 1130-1133.
- [16] Yu K, Lee C H, Tan P H, *et al.* Conservation of breast cancer molecular subtypes and transcriptional patterns of tumor progression across distinct ethnic populations[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(16): 5508-5517.
- [17] 袁中玉, 王树森, 朱美琴, 等. 不同分子亚型乳腺癌的临床特征和预后[J]. *中华肿瘤杂志*, 2008, 30(6): 456-461.
- [18] Goldhirsch A, Ingle J N, Gelber R D, *et al.* Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009[J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(8): 1319-1329.
- [19] 徐兵河, 张萍. 乳腺癌的分子分型与个体化治疗[J]. *中华肿瘤杂志*, 2010, 32(9): 641-644.
- [20] Husemann Y, Geigl J B, Schubert F, *et al.* Systemic spread is an early step in breast cancer[J]. *Cancer Cell*, 2008, 13(1): 58-68.
- [21] Cristofanilli M, Budd G T, Ellis M J, *et al.* Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(8): 781-791.
- [22] Ignatiadis M, Xenidis N, Perraki M, *et al.* Different prognostic value of cytokeratin-19 mRNA positive circulating tumor cells according to estrogen receptor and HER2 status in early-stage breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(33): 5194-5202.
- [23] 连臻强, 何洁华, 王曦, 等. 乳腺癌不同分子亚型的临床特点和生存分析[J]. *中华乳腺病杂志: 电子版*, 2009, 3(2): 5-9.
- [24] Haffty B G, Yang Q, Reiss M, *et al.* Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(36): 5652-5657.

(收稿:2012-02-17;修回:2012-03-02)

(编辑 龙亮)

(上接 1005 页)

1.3 治疗方法及转归

确诊后常规予抗病毒、营养神经、改善微循环对症支持治疗。2例患者静脉滴注阿昔洛韦 0.2 g/次, 3~4次/d, 每疗程2周, 但是仍无法控制病情恶化。另3例患者使用伐昔洛韦口服 0.2 g, 1次/d, 每疗程2周, 后病情有所控制, 但失明眼无法恢复, 另一眼病情进展延缓。5例患者在确诊后1周内出院转疾控控制中心进行艾滋病专科治疗。出院后我院眼科门诊随访, 最长随访1个月, 后均失随访。随访期间仅1例患者病情进展延缓, 其他病例均无有效控制, 随艾滋病病情恶化而失访。

2 讨论

以眼底病变为首发症状的 AIDS 患者转归均较差。本组 5 例患者病情均凶险, 发病初即为 AIDS IV 期, 随访时间均不足 1 个月, 结局不明, 估计短期内死亡的可能性大。

误诊原因分析: ①本组 5 例患者均以眼科病变为首发症状, 全身情况尚可。2 例有发热、消瘦, 后确诊为“急性视网膜坏死综合征”的患者也未伴发皮肤疱疹。眼科医师多无 HIV 感染患者临床诊疗实践, 故在早期眼底病灶尚不典型的情况下较难诊断为 AIDS 眼底病变。②与患者隐瞒病史有较大关系。甚至在确诊 HIV 抗体阳性后仍有患者不愿承认吸毒、冶游史。③对巨细胞病毒(cytomegalovirus)性视网膜(CMV 性视网膜)、急性视网膜坏死综合征(acute retinal necrosis syndrome, ARN)认识不足。ARN 和 CMV 均为 AIDS 的眼部机会感染性疾病。ARN 常由水痘-带状疱疹病毒或单纯疱疹病毒感染引起, 临床特点为: 周边视网膜炎、玻璃体炎和视网膜动脉炎, 伴严重的眼前段炎症反应, 病变进展迅速。CMV 性视网膜炎是 AIDS 患者最常见的眼内感染, 分为爆发型(水肿型)和颗粒型。本组 2 例均为爆发型, 表现为视乳头视网膜水肿, 视网膜渗出和出血相伴呈现典型的“比萨饼样”眼底, 可发生视网膜脱离、后极部融合性视网膜坏死, 最终盲目^[1-3]。

5 例患者均有使用激素后病情加剧的病史, 提示我们临床上使用激素应谨慎。CMV 性视网膜炎的首选更昔洛韦, 可静

脉滴注、玻璃体腔注射, 另外还有缙更昔洛韦、膦甲酸、西多福韦等药物可供选择^[4-6]。单纯疱疹病毒感染所致 ARN 用无环鸟苷; 水痘-带状疱疹病毒所致 ARN 用更昔洛韦。我们认为尽量不使用激素, 如要使用应在有效的抗病毒治疗前提下酌情使用。一旦确诊为 AIDS, 即应转相关机构(如疾病预防控制中心或传染病医院)进行专业抗艾滋病病毒治疗。

综上, 如遇青中年患者有葡萄膜炎表现, 或不明原因的视网膜水肿、坏死, 出血渗出, 应考虑 AIDS 眼底病变可能, 做 HIV 抗体血清检查排查, 切勿盲目使用激素, 以免给患者造成不可弥补的伤害。同时在临床上有一些原因不明的葡萄膜炎及眼底患者使用常规药物治疗效果不佳, 甚至病情加重时, 也应考虑此病的可能, 以免误诊、漏诊。

参考文献:

- [1] Vrabec T R. Posterior segment manifestations of HIV/AIDS[J]. *Surv Ophthalmol*, 2004, 49(2): 131-157.
- [2] Kempen J H, Min Y I, Freeman W R, *et al.* Risk of immune recovery uveitis in patients with AIDS and cytomegalovirus retinitis[J]. *Ophthalmology*, 2006, 113(4): 684-694.
- [3] Holland G N, Vaudaux J D, Jeng S M, *et al.* Characteristics of untreated AIDS-related cytomegalovirus retinitis. I. Findings before the era of highly active antiretroviral therapy (1988 to 1994)[J]. *Am J Ophthalmol*, 2008, 145(1): 5-11.
- [4] Lee S S, Hughes P M, Robinson M R. Recent advances in drug delivery systems for treating ocular complications of systemic diseases[J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2009, 20(6): 511-519.
- [5] Gupta U, Jain N K. Non-polymeric nano-carriers in HIV/AIDS drug delivery and targeting[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62(4/5): 478-490.
- [6] Jayakanthan M, Chandrasekar S, Muthukumar J, *et al.* Analysis of CYP3A4-HIV-1 protease drugs interactions by computational methods for Highly Active Antiretroviral Therapy in HIV/AIDS[J]. *J Mol Graph Model*, 2010, 28(5): 455-463.

(收稿:2012-02-17;修回:2012-03-07)

(编辑 汪勤俭)