بروز ژن PTEN و مقاومت به درمان با تاموکسیفن در بیماران سرطان پستان با گیرنده استروئیدی مثبت، یک مطالعه مقطعی طی سال ۹۵-۱۳۸۵

فرشته محمدی دلویی[۱]، دکتر نوریه شریفی[۲*]، دکتر فاطمه همائی شاندیز[۳]، دکتر لیدا جراحی[۴]

۱. دستیار تخصصی بالینی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. استاد گروه آسیب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. دانشیار گروه رادیوتراپی و انکولوژی، مرکز تحقیقات سرطان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۴. دانشیار گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۹/۰۲/۰۹

خلاصه

مقدمه: مسیر PI3K/Akt/mTOR در ایجاد مقاومت به درمان هورمونی بیماران مبتلا به سرطان پستان از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. یکی از اجزای تنظیم‌کننده این مسیر، ژن PTEN می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف مقایسه بروز ژن PTEN در بیماران سرطان پستان با گیرنده استروئیدی مثبت در دو گروه بیماران حساس و مقاوم به تاموکسیفن انجام شد.

روش‌کار: این مطالعه مقطعی و گذشته‌نگر بر روی ۸۰ نفر از بیماران مبتلا به سرطان پستان هورمون مثبت که طی بازه زمانی ۹۵-۱۳۸۵ به درمانگاه‌های انکولوژی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مشهد مراجعه کرده بودند، انجام گرفت. نمونه بافتی بیماران حساس و مقاوم به درمان به تاموکسیفن (وقوع عود/متاستاز طی ۵ سال اول درمان هورمونی ادجوانت) توسط ایمونوهیستوشیمی از نظر وجود بیان PTEN بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون‌های تی مستقل، یو من ویتنی و کای‌اسکوئر انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در این مطلعه ۸۰ بیمار در دو گروه حساس و مقاوم به تاموکسیفن وارد شدند. بروز PTEN در بیماران حساس و مقاوم به تاموکسیفن به‌ترتیب ۹۷/۵٪ و ۲۷/۵٪ بود (p=۰/۰۰۱). در بیماران با وضعیت درگیری گره‌های لنفاوی پیشرفته‌تر، میزان بروز PTEN به‌طور معناداری کاهش یافته بود (p=۰/۰۰۱)، در حالی‌که در بررسی بین بروز PTEN با سایز تومور (p=۰/۱۹)، گرید تومور (p=۰/۱۴) و بروز Her2/neu (p=۰/۸۵) ارتباط معناداری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: بین فقدان بروز PTEN و مقاومت به درمان با تاموکسیفن همراهی وجود دارد.

کلمات‌کلیدی: تاموکسیفن، رسپتور استروئیدی مثبت، سرطان پستان، مقاومت به درمان هورمونی، PTEN

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر نوریه شریفی؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. **تلفن:** ۰۵۱-۳۸۴۰۰۰۰۰؛ **پست الکترونیک:** SharifiN@mums.ac.ir

مقدمه

سرطان پستان، شایع‌ترین بدخیمی زنان در ایران و جهان است که مهم‌ترین علت مرگ ناشی از سرطان را به خود اختصاص داده است (۴-۱). این بیماری از زیرگروه‌های مولکولی مختلفی تشکیل شده که در بین آنها اغلب ضایعات بدخیم از نوع لومینال A[1] می‌باشند که ویژگی مولکولی آنها بروز گیرنده‌های هورمونی (گیرنده استروژن با یا بدون گیرنده پروژسترون) و فقدان افزایش بروز/افزایش تعداد کپی‌های ژنی Her2/neu (به‌طور خلاصه ER+ HER2/NEU−) می‌باشد که بالغ بر ۷۰٪ بیماران را تشکیل می‌دهند (۵). درمان اندوکرین و هورمونی از اجزای اصلی درمان بیماران مبتلا به سرطان پستان با گیرنده هورمونی مثبت می‌باشد که در صورت تجویز آن بعد از جراحی با یا بدون شیمی‌درمانی با کاهش معنادار خطر عود و مرگ ناشی از سرطان همراهی دارد (۶، ۷). تاکنون گزینه‌های درمانی متفاوت با مکانیسم‌های مختلف جهت درمان سرطان پستان با گیرنده هورمونی مثبت به تأیید رسیده‌اند (۶). رخداد مقاومت به درمان‌های اندوکرین در طی روند درمان بدخیمی پستان، یکی از مهم‌ترین مشکلات درمانی می‌باشد که اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. شواهد اصلی در خصوص وقوع مقاومت به درمان اندوکرین در بیماران سرطان پستان با متاستاز سیستمیک نشان داده شده است؛ به‌طوری‌که این گروه از بیماران در ابتدا شروع درمان پاسخ مناسبی به درمان هورمونی داده، ولی به‌تدریج و با گذشت نسبت به آن مقاوم و پیشرفت بیماری رخ می‌دهد (۸).

اغلب بیماران مبتلا به سرطان پستان تحت درمان با تاموکسیفن که در طی زمان به درمان با آن مقاومت پیدا می‌کنند، همچنان گیرنده ER آلفا را بروز می‌دهند که حضور این گیرنده بیانگر این موضوع می‌باشد که فقدان آن عاملی در مسیر ایجاد مقاومت به درمان با تاموکسیفن نمی‌باشد (۹). مکانیسم همراه با مقاومت به درمان با تاموکسیفن به‌خوبی شناخته شده نمی‌باشد، ولی به‌نظر می‌رسد که در مسیر رخداد مقاومت هورمونی ممکن است که تغییرات ژنتیکی در سلول‌های بدخیم اثرگذار باشد.

پروتئین PTEN[2] یک فسفاتاز لیپیدی می‌باشد که دارای اثرات مهاری بر مسیر PI3K و همچنین رشد سلول می‌باشد (۱۳-۱۰). کاهش فعالیت PTEN با افزایش فعالیت PI3K همراهی دارد که با اتصال محصولات این مسیر به مسیر PK-B/Akt فعال شده در سلول‌ها سبب ایجاد وضعیت بقاء و پایداری می‌شود (۱۴، ۱۵). مطالعات اخیر مطرح کننده نقش احتمالی مسیرهای ژنی همچون عدم بیان PTEN و مسیر PI3K/AKT/mTOR در ایجاد مقاومت به درمان‌های انکولوژیک به‌خصوص درمان با تاموکسیفن در بیماران مبتلا به بدخیمی پستان بوده‌اند (۱۸-۱۶). مطالعه اولیه که نشان‌دهنده افزایش احتمال شکست درمان با تاموکسیفن در حضور بروز کمتر PTEN بود، توسط شومن و همکاران (۲۰۰۵) انجام پذیرفت (۱۶). در مطالعه بعدی تانیک و همکاران (۲۰۱۲) بافت سالم و تومورال ۴۹ بیمار مبتلا به سرطان پستان هورمون مثبت از نظر بروز PTEN با استفاده از ایمنوهیستوشیمی و همچنین تغییرات ژنتیکی بر روی DNA و ارزیابی LOH[3] ژن PTEN مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد که مکانیسم اصلی در فقدان و یا کاهش بیان PTEN در واقع LOH می‌باشد که این موضوع با کاهش اثرات درمانی تاموکسیفن و کاهش بقای بیماران همراهی دارد (۱۹).

لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی بروز موتاسیون ژن PTEN در بیماران سرطان پستان به‌عنوان مارکر بیانگر مقاومت دارویی به هورمون تاموکسیفن (هورمون اصلی مورد استفاده در سرطان پستان) انجام شد و در نهایت درصورتی‌که بروز کم این ژن در بیماران سرطان پستان که مقاومت دارویی دارند، مشاهده گردد، پیشنهاد شود قبل از شروع درمان هورمونی برای ارزیابی این موضوع، بروز این مارکر مانند بقیه مارکرهای پروگنوستیک مورد ارزیابی قرار گیرد.

[1] Luminal A

[2] phosphatase and tensin homolog

[3] loss of heterozygosity

روش‌کار

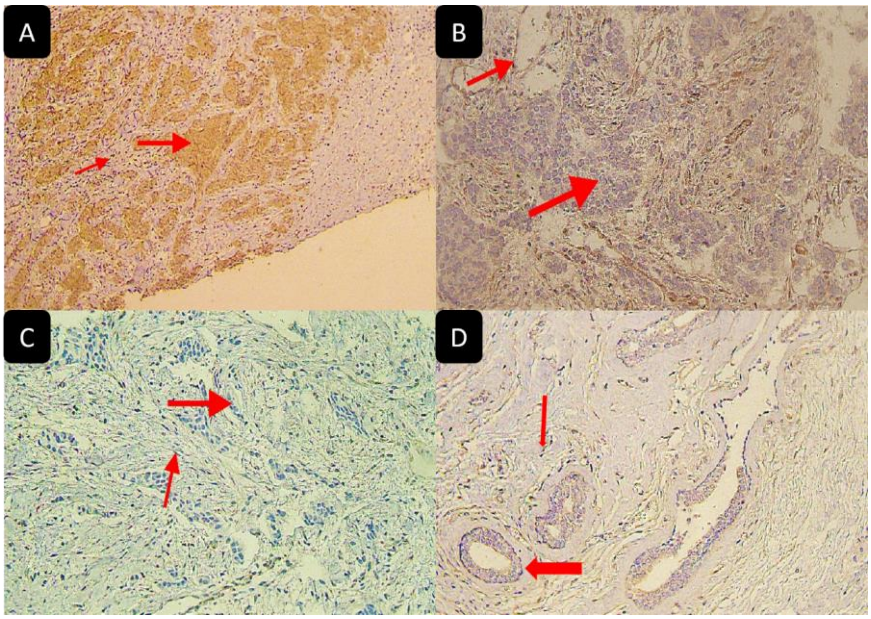
این مطالعه مقطعی به‌صورت گذشته‌نگر در طی سال‌های ۹۵-۱۳۸۵ بر روی مبتلایان به سرطان پستان هورمون مثبت در کلینیک انکولوژی و دپارتمان آسیب‌شناسی بیمارستان‌های آموزشی امام رضا (ع)، قائم (عج) و امید که وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مشهد بودند و کلینیک خصوصی انکولوژی شهر مشهد (کلینیک انکولوژی فراز) پس از تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد (IR.MUMS.MEDICAL.REC.1397.099) انجام پذیرفت.

جامعه مورد مطالعه بیماران مبتلا به سرطان پستان بودند. معیارهای ورود به مطالعه شامل: گیرنده استروژن و یا پروژسترون مثبت، وجود بافت کافی جهت انجام رنگ‌آمیزی از نظر PTEN و شروع درمان با تاموکسیفن به‌عنوان خط اول درمان هورمونی بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل: وجود متاستاز دوردست در بدو تشخیص بود. در این مطالعه بروز بیشتر و یا مساوی ۱٪ از ER و یا PR در رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی سلول‌های بدخیم به‌عنوان سرطان پستان رسپتور هورمونی مثبت در نظر گرفته شد (۲۰). بلوک پارافینی ۸۰ بیمار که برحسب پاسخ به درمان با تاموکسیفن به دو گروه حساس به تاموکسیفن (۴۰ نفر) و مقاوم به تاموکسیفن (۴۰ نفر) تقسیم شده بودند، از نظر بیان PTEN مورد بررسی قرار گرفت. در صورت بروز متاستاز در طی ۵ سال اول درمان با تاموکسیفن، بیمار مقاوم به تاموکسیفن در نظر گرفته شد. جهت طبقه‌بندی بیماران از ویرایش هفتم سیستم طبقه‌بندی AJCC TNM[1] استفاده گردید. با توجه به اینکه سیستم جدید طبقه‌بندی اخیراً ارائه شده و مطالعات انجام شده در حال حاضر بر اساس سیستم قبلی طبقه‌بندی می‌باشند، لذا بر اساس توافق محققین، از ویرایش قبلی آن استفاده شد.

جهت بررسی بیان PTEN از منوکلونال آنتی‌بادی موشی[2] IgG2a/k ضدکلون‌های PTEN انسانی ساخت شرکت اسپانیایی Master Diagnóstica (ready-to-use, Master Diagnóstica, Granada, Spain) استفاده شد. در ابتدا برش‌های ۳ تا ۴ میکرونی از بلوک‌های پارافینی تهیه گردید. پس از ارزیابی کمی و کیفی کانون‌های تومورال (سرطان پستان) و نشان‌دار کردن کانون درگیری، نمونه‌های برش خورده به‌مدت ۳۵ دقیقه در فور ۶۰ درجه (یا یک روز کامل در دمای محیط) نگهداری شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها ابتدا در سه ظرف حاوی گزیلول هرکدام به‌مدت ۱۳ دقیقه و سپس در سه ظرف حاوی الکل هرکدام به‌مدت ۷ دقیقه نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها تحت شست‌وشو قرار گرفته و در یک ظرف آب مقطر به‌مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. در مرحله بعد نمونه‌های تهیه شده به‌مدت ۳۵ دقیقه در محلول رتریوال ۱۰٪ داخل بن‌ماری در حال جوش قرار داده شدند. بعد از سرد شدن نمونه‌ها، شست‌وشو با آب مقطر به‌مدت ۵ دقیقه انجام گرفت و سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در داخل ظرفی حاوی پراکسیداز ۵٪ نگهداری شدند. بعد از شست‌وشوی نهایی با آب مقطر، نمونه‌ها در معرض آنتی‌بادی اولیه قرار گرفتند.

جهت بررسی ایمونوراکتیویتی PTEN در این مطالعه، از روش نیمه کمی که توسط تانیک و همکاران (۲۰۱۲) معرفی شده بود، استفاده گردید (۱۹)؛ بدین‌ترتیب که ایمنوراکتیویتی هسته‌ای و سیتوپلاسمی سلول‌های تومورال از نظر شدت و وسعت رنگ‌پذیری در ۱۰۰ سلول بدخیم مورد ارزیابی قرار گرفت. نحوه امتیازبندی بدین‌صورت بود که در صورت عدم رنگ‌پذیری امتیاز صفر، در صورت رنگ‌پذیری خوب (در مقایسه با سلول غیربدخیم بافت پستان که به‌عنوان کنترل مورد ارزیابی قرار گرفت) امتیاز ۱، در صورت رنگ‌پذیری متوسط امتیاز ۲ و در صورت رنگ‌پذیری شدید امتیاز ۳ در نظر گرفته شد.

[1] American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM staging system
[2] Mouse Monoclonal



شکل ۱- ارزیابی ایمنوهیستوشیمی در مطالعه حاضر

A) برشی از بافت پستان تومورال با رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی مارکر PTEN (x200): ایمونوراکتیویتی مثبت سیتوپلاسمی جزایر سالید تومورال (فلش پهن) به همراه راکتیویتی مثبت سلول‌های استرومال (فلش نازک) قابل مشاهده است. B) نمای میکروسکوپی با رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی مارکر PTEN (x200): جزایر سلول‌های تومورال سرطان پستان بدون راکتیویتی برای مارکر PTEN (فلش پهن). سلول‌های استرومال، میواپیتلیال و اندوتلیال (فلش نازک) که راکتیویتی مثبت سیتوپلاسمی را نشان می‌دهند که اغلب به‌عنوان کنترل در نمونه‌های بررسی شده برای مارکر PTEN مورد استفاده قرار می‌گیرد. C) بررسی ایمونوهیستوشیمی با تومور مارکر PTEN (x200) در سرطان لوبولار پستان مقاوم به تاموکسیفن: ایمونوراکتیویتی منفی سلول‌های تومورال (فلش پهن) و ایمونوراکتیویتی مثبت ضعیف سلول‌های استرومال (فلش نازک)، میواپیتلیال و اندوتلیال مشهود می‌باشد. D) نمونه بافت پستان غیر تومورال: ایمونوهیستوشیمی مارکر PTEN (x200): ایمونوراکتیویتی مثبت سیتوپلاسمی سلول‌های داکتال نرمال (فلش پهن) و استرومال نرمال (فلش نازک) مشهود است

هدف مطالعه حاضر، مقایسه بروز ژن PTEN در بیماران سرطان پستان در دو گروه بیماران حساس و مقاوم به تاموکسیفن بود، لذا حجم نمونه بر اساس فرمول مقایسه دو نسبت یک صفت کیفی بر اساس بروز ژن PTEN در دو گروه، با استفاده از مقاله لیندبرگ و همکاران (۲۱) و با در نظر گرفتن α=۰/۰۵، β=۰/۰۲، p1=۰/۸۲ و p2=۰/۵۹، ۴۰ نفر در هر گروه تعیین شد. داده‌ها پس از گردآوری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در ابتدا با استفاده از آنالیز توصیفی شامل میانگین، انحراف معیار و فراوانی/درصد نمای کلی از بیماران و مشخصات پایه‌ای آنها ارائه شد. جهت مقایسه میانگین متغیرهای مورد بررسی بین دو گروه بیماران حساس و مقاوم به تاموکسیفن از آزمون یو من ویتنی و یا تی مستقل و جهت مقایسه فراوانی‌ها بین دو گروه از آزمون کای اسکوئر /دقیق فیشر استفاده شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۸۰ بیمار در دو گروه حساس و مقاوم به تاموکسیفن مورد بررسی قرار گرفتند. بین دو گروه از نظر سن، وزن، شاخص توده بدنی، وضعیت عادت ماهانه، وضعیت بروز Her2/neu و هیستولوژی تومور اختلاف آماری معناداری وجود نداشت (به‌ترتیب p=۰/۸۱، p=۰/۵۶، p=۰/۷۱، p=۰/۷۹، p=۰/۴۹ و p=۰/۳۶). تومورها در گروه مقاوم با گرید بالاتر (p=۰/۰۱)، سایز بزرگ‌تر (p=۰/۰۲) و با درگیری نودال وسیع‌تر همراه بودند (p=۰/۰۰۱) (جدول ۱). در بیماران گروه مقاوم، ۲ نفر (۵٪) دچار عود موضعی و ۳۸ نفر (۹۵٪) دچار متاستاز دوردست در هنگام پیشرفت بیماری شدند. در

بیماران دارای متاستاز، بیشترین محل درگیری به‌ترتیب استخوان (۳۲/۵٪)، کبد (۲۵٪) و ریه (۱۲/۵٪) بود. میانگین زمان پیدایش شواهد پیشرفت بیماری از شروع درمان با تاموکسیفن در این گروه از بیماران ۱۸/۹۳±۳۱/۴۳ ماه با میانه ۳۰ ماه (حداقل ۲ و حداکثر ۵۹ ماه) بود.

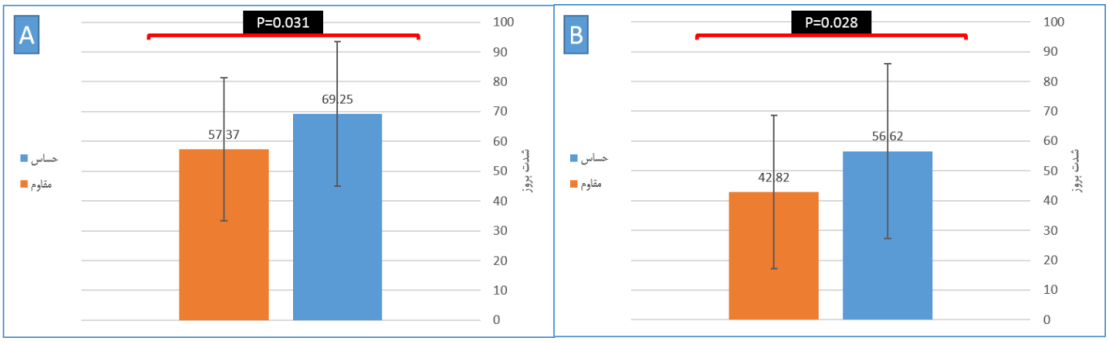
جدول ۱- مقایسه اطلاعات زمینه‌ای در بیماران مقاوم و حساس به تاموکسیفن

متغیر		گروه حساس تعداد (درصد)	گروه مقاوم تعداد (درصد)	سطح معنی‌داری
سن (میانگین ± انحراف معیار)		۴۵/۸۵±۷/۳۵	۴۲/۳۲±۱۰/۲۵	p=۰/۸۱*
وزن (میانگین ± انحراف معیار)		۷۰/۵۷±۱۲/۴	۷۲/۲۵±۱۳/۶۳	p=۰/۵۶*
شاخص توده بدنی (میانگین ± انحراف معیار)		۲۸/۰۸±۴/۴۳	۲۸/۴۷±۵/۱۶	p=۰/۷۱*
وضعیت عادت ماهانه	پره‌منوپوز	۳۰ (۷۵)	۲۹ (۷۲/۵)	p=۰/۷۹ †
	منوپوز	۱۰ (۲۵)	۱۱ (۲۷/۵)	
سمت درگیر	یک طرفه	۳۸ (۹۵)	۴۰ (۱۰۰)	p=۰/۲۳ †
	دو طرفه	۲ (۵)	۰ (۰)	
وضعیت HER2/neu	مثبت	۱۴ (۳۵)	۱۱ (۲۷/۵)	p=۰/۴۹ †
	منفی	۲۶ (۶۵)	۲۹ (۷۲/۵)	
هیستولوژی	داکتال	۳۹ (۹۷/۵)	۳۹ (۹۷/۵)	p=۰/۳۶ †
	لوبولار	۰ (۰)	۱ (۲/۵)	
	توبولولوبولار	۱ (۲/۵)	۰ (۰)	
گرید	یک	۱۲ (۳۰)	۴ (۱۰)	p=۰/۰۰۳ ††
	دو	۲۳ (۱۰)	۲۱ (۵۲/۵)	
	سه	۵ (۱۲/۵)	۱۵ (۳۷/۵)	
سایز تومور (T)	یک	۱۰ (۲۵)	۱ (۲/۵)	p=۰/۰۱۶ ††
	دو	۲۱ (۵۲/۵)	۲۵ (۶۲/۵)	
	سه	۷ (۱۷/۵)	۹ (۲۲/۵)	
	چهار	۲ (۵)	۵ (۱۲/۵)	
درگیری گره لنفاوی (N)	صفر	۲۸ (۷۰)	۶ (۱۵)	p=۰/۰۰۱ ††
	یک	۶ (۱۵)	۱۵ (۳۷/۵)	
	دو	۵ (۱۲/۵)	۱۲ (۳۰۳۰/۸)	
	سه	۱ (۲/۵)	۷ (۱۷/۵)	

* آزمون تی تست، † آزمون کای اسکوئر، †† آزمون یو من‌ویتنی

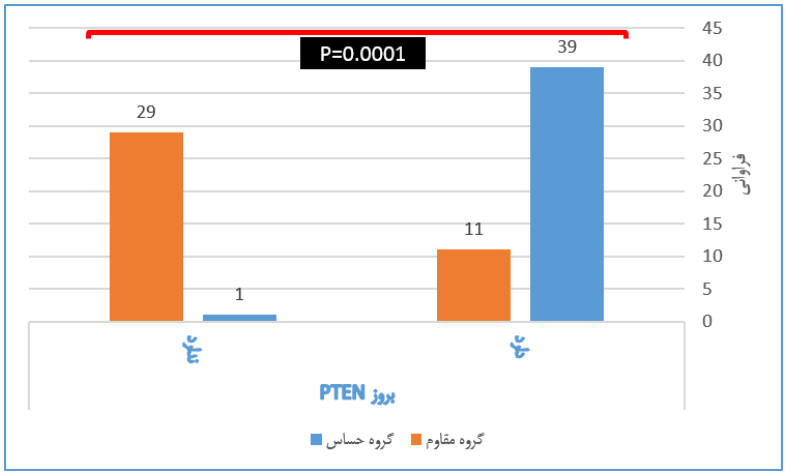
در مقایسه شدت بروز گیرنده استروژن و پروژسترون در بیماران گروه حساس و مقاوم بر حسب سیستم امتیازدهی آلرد[1]، بیماران مقاوم به‌طور معناداری از شدت بروز کمتر در هر دو گیرنده برخوردار بودند (به‌ترتیب p=۰/۰۳۱، p=۰/۰۲۸) (نمودار ۱).

[1] Allred scoring system



نمودار ۱- مقایسه میانگین شدت ER (A) و PR (B) در دو گروه مورد مطالعه (اعداد نشان‌دهنده درصد فراوانی هستند)

در مقایسه بروز و توزیع فراوانی PTEN در دو گروه مورد مطالعه، بروز PTEN در ۳۹ نفر (۹۷/۵٪) بیماران گروه حساس به تاموکسیفن قابل گزارش بود، درحالی که در بیماران گروه مقاوم صرفاً در ۱۱ نفر (۲۷/۵٪) بیماران بروز PTEN گزارش شد که این اختلاف از نظر آماری معنادار بود (p=۰/۰۰۱) (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه بروز PTEN در بیماران حساس و مقاوم به تاموکسیفن (اعداد نشان‌دهنده فراوانی هستند)

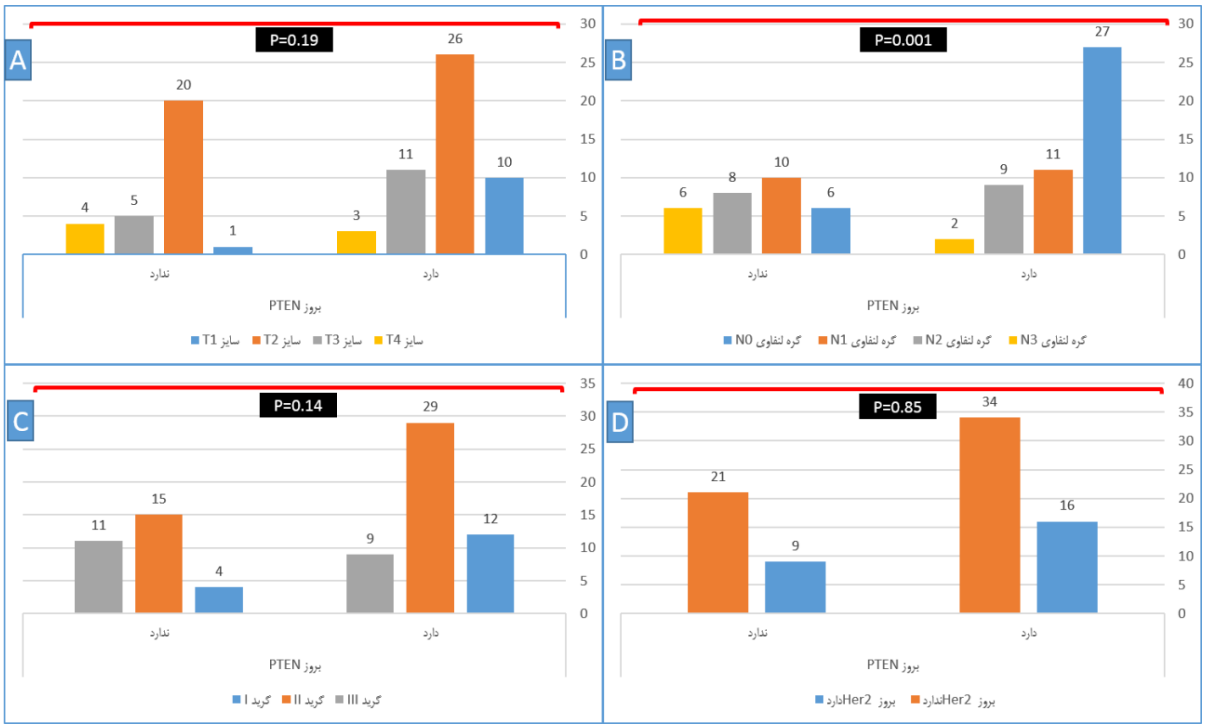
در بررسی شدت بروز PTEN در بیماران با مقاومت و حساسیت به تاموکسیفن، اغلب بیماران مبتلا به سرطان پستان که به تاموکسیفن مقاوم بودند، دارای بیان ضعیف و منفی PTEN (مجموعاً ۹۰٪) بودند و در مقابل بیماران حساس به تاموکسیفن، اغلب دارای بیان متوسط و شدید PTEN (مجموعاً ۷۰٪) بودند که اختلاف مشاهده شده از نظر آماری معنادار بود (p=۰/۰۴۹).

جدول ۲- مقایسه شدت بیان PTEN در بیماران حساس و مقاوم به تاموکسیفن

متغیر / گروه		گروه حساس فراوانی (درصد)	گروه مقاوم فراوانی (درصد)	سطح معنی‌داری
شدت بروز PTEN	شدید	۱ (۲/۵)	۰ (۰)	*p=۰/۰۰۱
	متوسط	۲۷ (۶۷/۵)	۴ (۱۰)	
	ضعیف	۱۱ (۲۷/۵)	۸ (۲۰)	
	عدم بروز	۱ (۲/۵)	۲۸ (۷۰)	

* آزمون یو من‌ویتنی

در بررسی ارتباط بین بروز PTEN با سایز تومور (p=۰/۱۹)، گرید تومور (p=۰/۱۴) و بروز Her2/neu (p=۰/۸۵) ارتباط معناداری مشاهده نشد، درحالی که در بیماران با وضعیت درگیری گره‌های لنفاوی پیشرفته‌تر، میزان بروز PTEN به‌طور معناداری کاهش یافته بود (p=۰/۰۰۱) (نمودار ۳).



نمودار ۳- تعیین ارتباط بروز PTEN با سایز تومور (A)، وضعیت درگیری گره‌های لنفاوی (B)، گرید تومور (C) و بروز Her2/neu (D) (اعداد نشان دهنده فراوانی هستند)

بحث

این مطالعه با هدف تعیین فراوانی بروز ژن PTEN در بیماران سرطان پستان با گیرنده استروئیدی مثبت و ارتباط آن با بروز مقاومت به تاموکسیفن انجام گرفت. جهت بررسی این موضوع، بیماران مبتلا به سرطان پستان هورمون مثبت در دو گروه حساس و مقاوم به درمان به تاموکسیفن توسط ایمونوهیستوشیمی از نظر وجود بیان PTEN بررسی و مقایسه شدند. در این مطالعه معیار مقاومت به تاموکسیفن وقوع عود/متاستاز طی ۵ سال اول درمان هورمونی ادجوانت در نظر گرفته شد. بین بیماران گروه حساس و مقاوم به تاموکسیفن از نظر سن، وزن، شاخص توده بدنی، وضعیت عادت ماهانه، وضعیت بروز Her2/neu و هیستولوژی تومور اختلاف معناداری مشاهده نشد، در حالی‌که گرید تومورها در گروه مقاوم بالاتر، سایز آن‌ها بزرگ‌تر و درگیری نودال در آنها وسیع‌تر بود. یافته اصلی مطالعه حاضر این بود که بروز PTEN در بیماران مقاوم به تاموکسیفن به‌طور معناداری کمتر از بیماران حساس بود. البته بین بروز PTEN و مشخصات تومور بجز در مورد درگیری گره‌های لنفاوی ارتباط معناداری مشاهده نشد؛ به‌صورتی‌که در بیماران با وضعیت درگیری گره‌های لنفاوی پیشرفته‌تر میزان بروز PTEN به‌طور معناداری کاهش یافته بود.

در مطالعه حاضر از بین ویژگی‌های مختلف کلینیکوپاتولوژیک مختلف تومور، صرفاً بین درگیری گره‌های لنفاوی و فقدان PTEN ارتباط معناداری وجود داشت و چنین ارتباطی بین وضعیت PTEN و سایز تومور، درجه بدخیمی (گرید) تومور و بروز HER2/neu مشاهده نشد.

مطالعات اولیه در خصوص نقش بروز مهارکننده تومور PTEN در سرطان پستان بر تأثیر فقدان آن بر پیش‌آگهی بیماران تمرکز کرده بودند. مطالعه دیوفسکی و همکاران (۲۰۰۱) جزء اولین مطالعات انجام شده در این حیطه می‌باشد که با استفاده از ایمنوهیستوشیمی به

ارزیابی تغییرات PTEN در ۱۵۱ زن مبتلا به سرطان پستان پرداخت و نتایج مطالعه آنها نشان داد که فقدان بیان PTEN با درگیری گره‌های لنفاوی منطقه‌ای ارتباط داشته، ولی بین بیان این ژن با گرید و سایز تومور ارتباط مشخصی وجود نداشت (۲۲). در مطالعه شومن و همکاران (۲۰۰۵) در خصوص ارتباط بین بروز PTEN با مشخصات تومور نیز نتایج مطالعه حاضر و مطالعه دیوفسکی و همکاران (۲۰۰۱) به تأیید رسید (۱۶). شومن و همکاران در مطالعه خود به بررسی بروز PTEN در ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان تحت درمان با تاموکسیفن پرداختند که بین بیان PTEN و سایز تومور، بروز HER2/neu و گرید ارتباطی وجود نداشت، در حالی‌که بین درگیری گره‌های لنفاوی و فقدان PTEN ارتباط معناداری وجود داشت (۱۶). در نگاهی وسیع‌تر، در مطالعه سال و همکاران (۲۰۰۵) که به ارزیابی ارتباط بین جهش PIK3CA و فقدان PTEN و مشخصات تومور پرداختند، جهش PIK3CA (یکی از جهش‌های اصلی در مسیر انکوژن PI3K/AKT/mTOR) با کاهش PTEN و افزایش درگیری گره‌های لنفاوی ارتباط معناداری داشت (۲۳). مطالعه خان و همکاران (۲۰۰۴) نیز از نظر ارتباط بین گسترش تومور با بیان PTEN با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (۲۴). مطالعه پیکارسکی و همکار (۲۰۰۶) نشان داد که از دست دادن بیان PTEN با افزایش احتمال درگیری گره‌های لنفاوی در بیماران مبتلا به سرطان پستان همراهی دارد (۲۵) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. آنها در مطالعه خود ۸۸ نمونه از ۴۴ زن مبتلا به سرطان پستان دوطرفه را با استفاده از ایمنوهیستوشیمی از نظر مارکرهای مختلف از جمله PTEN مورد بررسی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که کاهش بیان PTEN با افزایش احتمال درگیری گره‌های لنفاوی و کاهش بیان گیرنده استروژن همراهی دارد (۲۵). در مطالعه وانگ و همکاران (۲۰۱۷) که به ارزیابی بروز PTEN در بیماران مبتلا به سرطان پستان با و بدون درگیری گره‌های لنفاوی پرداختند، در بیماران مبتلا به سرطان پستان با درگیری گره‌های لنفاوی بروز PTEN به‌طور معناداری کاهش یافت و کاهش بیان PTEN یک فاکتور خطر مستقل در پیش‌بینی رخداد متاستاز گره‌های لنفاوی در این بیماران می‌باشد (۲۶). البته مطالعاتی نیز احتمال وجود ارتباط بین تهاجم و درجه بدخیمی بدخیمی‌های پستان و از دست دادن بیان PTEN را گزارش کرده‌اند (۲۷). از سوی دیگر مطالعاتی نیز وجود دارد که نقشی برای PTEN در تعیین پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سرطان پستان قائل نشده و نتایج آنها بین بیان و یا عدم بیان PTEN و مشخصات تومور ارتباطی را نشان نداده‌اند (۲۸).

همچنین در مطالعه حاضر بروز PTEN در بیماران مقاوم به تاموکسیفن به‌طور معناداری کمتر از بیماران حساس به تاموکسیفن بود. به بیانی دیگر فقدان بیان این مسیر سرکوب کننده تومور با افزایش احتمال مقاومت به تاموکسیفن همراهی داشت. نتایج مطالعه شومن و همکاران (۲۰۰۵) نیز همراستا با نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فقدان بیان PTEN در بیماران مبتلا به سرطان پستان با گیرنده هورمونی مثبت تحت درمان با تاموکسیفن با بقای بدون بیماری کمتر و افزایش مقاومت به درمان با تاموکسیفن همراهی دارد (۱۶). این یافته‌ها در مطالعه آزمایشگاهی که اخیراً توسط فونگ و همکاران انجام شده است نیز به تأیید رسیده است؛ به‌طوری‌که در مطالعه آنها در سلول‌های سرطانی که مقاومت به تاموکسیفن داشتند، بیان PTEN کاهش یافته بود. در مطالعه تانیک و همکاران (۲۰۱۲) بافت سالم و تومورال ۴۹ بیمار مبتلا به سرطان پستان هورمون مثبت از نظر بروز PTEN با استفاده از ایمنوهیستوشیمی و همچنین تغییرات ژنتیکی بر روی DNA و ارزیابی LOH[1] ژن PTEN مورد بررسی قرار گرفت که نتایج این مطالعه نشان داد که مکانیسم اصلی در فقدان و یا کاهش بیان PTEN در واقع LOH می‌باشد که این موضوع با کاهش اثرات درمانی تاموکسیفن و کاهش بقای بیماران همراهی دارد (۱۹). در مطالعه میلووانوویک و همکاران (۲۰۱۱) که به ارزیابی بیماران مبتلا به سرطان پستان تحت درمان با تاموکسیفن پرداختند، میزان عود در بیماران با فقدان PTEN بیشتر و بقای بدون بیماری این بیماران کمتر بود که مجموع این یافته‌ها به‌عنوان مقاومت به درمان با تاموکسیفن در نظر گرفته شده است (۲۹) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت.

[1] loss of heterozygosity

مطالعاتی نیز وجود دارند که کاهش بیان PTEN را صرفاً یکی از عوامل دخیل در مقاومت به تاموکسیفن مطرح کرده‌اند. برای مثال دروری و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که علت اصلی رخداد مقاومت به تاموکسیفن، کاهش بروز گیرنده استروژن و همچنین افزایش بروز HER2/neu بوده و کاهش بیان PTEN در درصد اندکی از بیماران گزارش شده است (۳۰). مطالعه دروری و همکاران (۲۰۱۱) جزء معدود مطالعاتی می‌باشد که نشان داد کاهش بروز PTEN نقش حداقلی در ایجاد مقاومت به درمان با تاموکسیفن دارد. در مقابل مطالعه میلر و همکاران (۲۰۰۹) محدوده اثرگذاری کاهش بیان PTEN را نه‌تنها در بروز مقاومت به درمان با تاموکسیفن مطرح کرده‌اند، بلکه این کاهش بیان را با رشد مستقل از هورمون سلول‌ها بدخیم و مقاومت احتمالی به درمان با سایر درمان‌های هورمونی موجود همچون فولوسترانت و مهارکننده‌های آروماتاز مرتبط دانسته‌اند (۳۱).

به‌نظر می‌رسد که علت مقاومت به درمان هورمونی در بیماران مبتلا به سرطان پستان با سطوح PTEN کاهش یافته، برداشته شدن اثرات کنترلی منفی این پروتئین/ژن بر مسیر PI3K/Akt می‌باشد که بالطبع آن مقاومت به درمان هورمونی رخ می‌دهد (۳۲، ۳۳). در واقع مطالعات نشان داده‌اند که کاهش سطح PTEN نه‌تنها منجر به تجمع PIP3 (به‌عنوان محصول نهایی مسیر انکوژن PI3K/AKT/mTOR) می‌گردد، بلکه به‌طور مستقل سبب فعال‌سازی proto-oncogene Akt می‌شود (۱۴، ۳۴). در مطالعه توکوناگا و همکاران (۲۰۰۶) در خصوص ارتباط بین فعال شدن مسیر PI3K/Akt و کارایی درمان اندوکرین در بیماران مبتلا به سرطان پستان متاستاتیک، کارایی بالینی درمان هورمونی در بیماران با Akt فعال شده به‌طور معناداری کمتر بود که این اثر صرفاً در بیماران تحت درمان با تاموکسیفن (و نه مهارکننده‌های آروماتاز) گزارش شده است (۳۲). ارتباط تغییرات ژنی مسیر PI3K/AKT/mTOR با کارایی درمان با تاموکسیفن در مطالعه بوستنر و همکاران (۲۰۱۳) در تومور اولیه ۹۰۲ بیمار مبتلا به سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آنها نشان داد که افزایش بروز mTOR با کاهش کارایی تاموکسیفن همراهی داشته و از طرف دیگر Akt هسته‌ای با عمکلرد گیرنده استروئیدی تاموکسیفن تداخل اثر دارد که در مجموع با افزایش فعالیت مسیر PI3K/AKT/mTOR شاهد کاهش پاسخ به درمان با تاموکسیفن بودند (۳۵). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که با مهار مسیر PI3K/AKT/mTOR توسط مهارکننده‌های mTOR می‌توان بازگشت حساسیت به تاموکسیفن و از بین رفتن مقاومت به آن در بیماران مبتلا به سرطان پستان را القاء نمود (۳۶). البته باید توجه نمود که PTEN یکی از مسیرهای مؤثر بر مسیر سیگنال‌دهی PI3K/Akt می‌باشد و در کنار آن، RNA غیر کدکننده بلند[1] همچون UCA1 نیز با القای اثرات PI3K/Akt منجر بر مقاومت به درمان با تاموکسیفن می‌گردد (۳۷).

بررسی ایمنوهیستوشیمی انجام شده در مطالعه حاضر بر روی نمونه‌های هنگام تشخیص بیماران بود، در حالی‌که امکان رخداد تغییرات ژنتیکی در طی روند درمان بیماران مبتلا به بدخیمی پستان نیز وجود دارد، لذا نتایج مطالعه حاضر در خصوص ارائه چنین ارزیابی محدودیت دارد. محدودیت دیگر مطالعه حاضر رویکرد گذشته‌نگر آن می‌باشد که سبب افزایش احتمال رخداد تورش (bias) انتخاب می‌باشد، کما اینکه ممکن است علت طبقه‌بندی گروهی از بیماران در گروه بیماران مقاوم، وجود تومورهای بزرگ‌تر و با درجه بدخیمی بالاتر (و رخداد متاستاز/عود در زمینه این فاکتورها) و نه مقاومت به تاموکسیفن بوده باشد. همچنین محدودیت دیگر مطالعه حاضر این بود که بیماران مورد ارزیابی صرفاً به درمان با تاموکسیفن (و نه سایر داروهای هورمونی) مقاوم بوده، لذا نتایج این مطالعه قابل تعمیم به مقاومت در زمینه مصرف مهارکننده های آروماتاز و یا فولوسترانت نمی‌باشد.

پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی ارزیابی تغییرات احتمالی بر روی ژن PTEN (واقع بر کروموزم 10q23) در بیماران با و بدون بیان آن انجام پذیرد. همچنین با توجه به نقش احتمالی از بین رفتن هتروژنیسیتی و یا متیلاسیون ژن PTEN در فقدان بیان پروتئین

[1] Long non-coding (lnc) RNA

PTEN، پیشنهاد می‌گردد که مطالعات آتی در این خصوص متمرکز شوند. همچنین ضروری است که یافته‌های مطالعه حاضر در بررسی‌های آینده‌نگر در خصوص ارتباط بین بیان پروتئین PTEN و پیامد درمان بیماران با تاموکسیفن به‌خصوص با پیگیری پیامد درمان با خطوط درمانی هورمونی مختلف در بیماران مطالعه حاضر تأیید گردد. در کنار این موارد، محققین توصیه می‌نمایند که ارزیابی‌ها از نظر بروز PTEN و تغییرات ژنی آن بر روی نمونه‌های هنگام عود/متاستاز نیز انجام گردد.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر بروز PTEN در بیماران مقاوم به تاموکسیفن به‌طور معناداری کمتر از بیماران حساس بود. البته بین بروز PTEN و وضعیت گره‌های لنفاوی ارتباط معکوس و معناداری وجود داشت، در حالی‌که بروز این مارکر با سایر پارامترها ارتباط معناداری نداشت. بین بیماران گروه حساس و مقاوم به تاموکسیفن از نظر سن، وزن، شاخص توده بدنی، وضعیت عادت ماهانه، وضعیت بروز Her2/neu و هیستولوژی تومور اختلاف معناداری مشاهده نشد، در حالی‌که گرید تومورها در گروه مقاوم بالاتر، سایز آنها بزرگ‌تر و درگیری نودال در آنها وسیع‌تر بود.

در مجموع بین بروز PTEN و مقاومت به درمان با تاموکسیفن در بیماران مبتلا به سرطان پستان با گیرنده هورمونی مثبت همراهی وجود داشت؛ به‌طوری‌که در فقدان بروز PTEN، مقاومت به درمان هورمونی با تاموکسیفن به‌عنوان آگونیست/آنتاگونیست گیرنده استروژنی مشاهده شد. همچنین با انجام پروژه‌های تحقیقاتی بزرگ‌تر در این زمینه می‌توان از بروز PTEN به‌عنوان یک عامل پیش‌گویی‌کننده قبل از هورمون درمانی استفاده کرد و در صورت تأیید نتایج این مطالعه در مطالعات بزرگ‌تر، ممکن است بتوان از این بیومارکر همچون کنترل وضعیت Er و Pr استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه از طرف معاونت پژوهش و فناوری، مراکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی مشهد طی طرح پژوهشی به شماره گرنت ۹۶۱۲۵۹ حمایت گردید. بدین‌وسیله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، به‌خصوص از خانم دکتر پروانه دهقان و همچنین خانم محمدبیگی تشکر و قدردانی می‌گردد. از نظر تضاد منافع، در این مطالعه هیچ تضاد منافعی وجود نداشت.

منابع

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin 2018; 68(6):394-424.
2. Farhood B, Geraily G, Alizadeh A. Incidence and Mortality of Various Cancers in Iran and Compare to Other Countries: A Review Article. Iran J Public Health 2018; 47(3):309-316.
3. Ito Y, Miyashiro I, Ito H, Hosono S, Chihara D, Nakata-Yamada K, et al. Long-term survival and conditional survival of cancer patients in Japan using population-based cancer registry data. Cancer Sci 2014; 105(11):1480-6.
4. Nafissi N, Khayamzadeh M, Zeinali Z, Pazooki D, Hosseini M, Akbari ME. Epidemiology and Histopathology of Breast Cancer in Iran versus Other Middle Eastern Countries. Middle East Journal of Cancer 2018; 9(3):243-51.
5. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98(19):10869-74.
6. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, et al. Tailoring therapies--improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. Ann Oncol 2015; 26(8):1533-46.
7. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials. Lancet 2015; 386(10001):1341-52.
8. Wilson S, Chia SK. Treatment algorithms for hormone receptor-positive advanced breast cancer: applying the results from recent clinical trials into daily practice-insights, limitations, and moving forward. Am Soc Clin Oncol Educ Book 2013.
9. Johnston SR. Acquired tamoxifen resistance in human breast cancer--potential mechanisms and clinical implications. Anticancer Drugs 1997; 8(10):911-30.
10. Besson A, Robbins SM, Yong VW. PTEN/MMAC1/TEP1 in signal transduction and tumorigenesis. Eur J Biochem 1999; 263(3):605-11.
11. Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96(8):4240-5.

12. Mutter GL. Pten, a protean tumor suppressor. Am J Pathol 2001; 158(6):1895-8.
13. Myers MP, Pass I, Batty IH, Van der Kaay J, Stolarov JP, Hemmings BA, et al. The lipid phosphatase activity of PTEN is critical for its tumor supressor function. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95(23):13513-8.
14. Stambolic V, Suzuki A, de la Pompa JL, Brothers GM, Mirtsos C, Sasaki T, et al. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. Cell 1998; 95(1):29-39.
15. Datta SR, Brunet A, Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Akts. Genes Dev 1999; 13(22):2905-27.
16. Shoman N, Klassen S, McFadden A, Bickis MG, Torlakovic E, Chibbar R. Reduced PTEN expression predicts relapse in patients with breast carcinoma treated by tamoxifen. Mod Pathol 2005; 18(2):250-9.
17. Javadinia SA, Shahidsales S, Fanipakdel A, Mostafapour A, Joudi-Mashhad M, Ferns GA, et al. The Esophageal Cancer and the PI3K/AKT/mTOR Signaling Regulatory microRNAs: a Novel Marker for Prognosis, and a Possible Target for Immunotherapy. Curr Pharm Des 2018; 24(39):4646-51.
18. Javadinia SA, Shahidsales S, Fanipakdel A, Joudi-Mashhad M, Mehramiz M, Talebian S, et al. Therapeutic potential of targeting the Wnt/beta-catenin pathway in the treatment of pancreatic cancer. J Cell Biochem 2018.
19. Tanic N, Milovanovic Z, Tanic N, Dzodic R, Juranic Z, Susnjar S, et al. The impact of PTEN tumor suppressor gene on acquiring resistance to tamoxifen treatment in breast cancer patients. Cancer Biol Ther 2012; 13(12):1165-74.
20. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. Ann Oncol 2019; 30(8):1194-1220.
21. Lindberg K, Helguero LA, Omoto Y, Gustafsson JA, Haldosen LA. Estrogen receptor beta represses Akt signaling in breast cancer cells via downregulation of HER2/HER3 and upregulation of PTEN: implications for tamoxifen sensitivity. Breast Cancer Res 2011; 13(2):R43.
22. Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. Loss of Expression of the PTEN Gene Protein Product Is Associated with Poor Outcome in Breast Cancer. Mod Pathol 2001; 14(7):672-6.
23. Saal LH, Holm K, Maurer M, Memeo L, Su T, Wang X, et al. PIK3CA mutations correlate with hormone receptors, node metastasis, and ERBB2, and are mutually exclusive with PTEN loss in human breast carcinoma. Cancer Res 2005; 65(7):2554-9.
24. Khan S, Kumagai T, Vora J, Bose N, Sehgal I, Koeffler PH, et al. PTEN promoter is methylated in a proportion of invasive breast cancers. Int J Cancer 2004; 112(3):407-10.
25. Piekarski JH, Biernat W. Clinical significance of CK5/6 and PTEN protein expression in patients with bilateral breast carcinoma. Histopathology 2006; 49(3):248-55.
26. Wang LL, Hao S, Zhang S, Guo LJ, Hu CY, Zhang G, et al. PTEN/PI3K/AKT protein expression is related to clinicopathological features and prognosis in breast cancer with axillary lymph node metastases. Hum Pathol 2017; 61:49-57.
27. Bose S, Chandran S, Mirocha JM, Bose N. The Akt pathway in human breast cancer: a tissue-array-based analysis. Mod Pathol 2006; 19(2):238-45.
28. Panigrahi AR, Pinder SE, Chan SY, Paish EC, Robertson JF, Ellis IO. The role of PTEN and its signalling pathways, including AKT, in breast cancer; an assessment of relationships with other prognostic factors and with outcome. J Pathol 2004; 204(1):93-100.
29. Milovanovic Z, Dzodic R, Susnjar S, Plesinac-Karapandzic V, Juranic Z, Tatic S. PTEN protein expression in postmenopausal steroid receptor positive early breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. J BUON 2011; 16(1):46-51.
30. Drury SC, Detre S, Leary A, Salter J, Reis-Filho J, Barbashina V, et al. Changes in breast cancer biomarkers in the IGF1R/PI3K pathway in recurrent breast cancer after tamoxifen treatment. Endocr Relat Cancer 2011; 18(5):565-77.
31. Miller TW, Pérez-Torres M, Narasanna A, Guix M, Stål O, Pérez-Tenorio G, et al. Loss of Phosphatase and Tensin homologue deleted on chromosome 10 engages ErbB3 and insulin-like growth factor-I receptor signaling to promote antiestrogen resistance in breast cancer. Cancer Res 2009; 69(10):4192-201.
32. Tokunaga E, Kimura Y, Mashino K, Oki E, Kataoka A, Ohno S, et al. Activation of PI3K/Akt signaling and hormone resistance in breast cancer. Breast Cancer 2006; 13(2):137-44.
33. Papa A, Pandolfi PP. The PTEN–PI3K Axis in Cancer. Biomolecules 2019; 9(4):153.
34. Manning BD, Toker A. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. Cell 2017; 169(3):381-405.
35. Bostner J, Karlsson E, Pandiyan MJ, Westman H, Skoog L, Fornander T, et al. Activation of Akt, mTOR, and the estrogen receptor as a signature to predict tamoxifen treatment benefit. Breast Cancer Res Treat 2013; 137(2):397-406.
36. deGraffenried LA, Friedrichs WE, Russell DH, Donzis EJ, Middleton AK, Silva JM, et al. Inhibition of mTOR activity restores tamoxifen response in breast cancer cells with aberrant Akt Activity. Clin Cancer Res 2004; 10(23):8059-67.
37. Li Z, Yu D, Li H, Lv Y, Li S. Long noncoding RNA UCA1 confers tamoxifen resistance in breast cancer endocrinotherapy through regulation of the EZH2/p21 axis and the PI3K/AKT signaling pathway. Int J Oncol 2019; 54(3):1033-42.