

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.02.027

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.02.027>

· 综述 ·

基因检测在乳腺癌预后研究中的进展

孔令红¹, 万智毅² 综述 刘晓刚¹ 审校

(1. 北京市垂杨柳医院病理科, 北京 100022; 2. 中国农业大学生物学院农业生物技术国家重点实验室, 北京 100193)

[摘要] 准确预测术后的复发风险, 对制定适合乳腺癌患者的治疗方案十分重要。然而传统的临床病理指标并不能准确评估患者个体化的复发风险以筛选出不需要辅助化疗的低复发风险人群。随着基因组学的发展, 已有多种基因检测方法被证实可用于乳腺癌预后, 评估更个体化更准确的复发风险。这些检测方法包括70基因检测(MammaPrint)、21基因检测(Oncotype DX)、PAM 50、EndoPredict、循环肿瘤DNA(ctDNA)检测等。

[关键词] 乳腺癌; 预后; 21基因; Oncotype DX; 70基因; MammaPrint; ctDNA

Research progress of gene test in breast cancer prognosis

KONG Linghong¹, WAN Zhiyi², LIU Xiaogang¹

(1. Department of Pathology, Beijing Chuiyangliu Hospital, Beijing 100022; 2. State Key Laboratory for Agrobiotechnology, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract Accurate prediction of recurrence risk is of vital importance for formulating suitable therapeutic plan for individual breast cancer patients. However, conventional clinicopathological criteria are not accurate enough to select subsets of patients who are at sufficiently low risk of recurrence to be spared adjuvant chemotherapy. With the development of genomics, several gene assays have been confirmed to accurately assess the individual recurrence risk for breast cancer prognosis. These assays include MammaPrint, Oncotype DX, PAM 50, EndoPredict, circulating tumor DNA (ctDNA), etc.

Keywords breast cancer; prognosis; 21-gene; Oncotype Dx; 70-gene; MammaPrint; ctDNA

乳腺癌是一种高度异质性的疾病, 即使临床分期及病理分级相同的患者, 其对治疗的反应及术后复发风险均不相同。术后复发风险高的患者, 应该接受辅助化疗以降低肿瘤复发和转移的可能性; 复发风险低的患者, 则并不一定能从术后的辅助化疗中获益。因此, 准确预测肿瘤患者

的复发风险从而制定适合患者的治疗方案, 避免治疗不足或过度治疗, 是临床医师尤为关心的重要课题。

目前大多数临床医师还是主要根据传统的临床病理学的指标进行预后。然而, 这些传统临床病理指标往往不够标准化, 重复性差, 不能准确

收稿日期 (Date of reception): 2017-11-15

通信作者 (Corresponding author): 刘晓刚, Email: chinalark@163.com

基金项目 (Foundation item): 北京市垂杨柳医院硕博基金 (2015-02)。This work was supported by Master & Doctor Fund of Beijing Chuiyangliu Hospital, China (2015-02).

地评估患者个体化的复发风险。比如一些标志物(ER, PR, HER2, Ki67)的免疫组织化学结果,不同的医师对其表达水平会有不同的判断。根据临床病理指标判断的复发高风险患者中实际上有70%~80%的患者不需要做辅助化疗^[1]。即使根据Adjuvant! Online系统评估的复发高风险患者之中,实际上也有46%的患者不需要辅助化疗^[2]。随着基因组学技术的发展,越来越多的研究证实基因检测能提供更个体化更准确的预后信息。本文主要回顾基因检测在乳腺癌预后研究中的进展。

1 多基因表达检测与乳腺癌预后

目前,已有多个方法通过检测乳腺癌组织基因mRNA表达水平来评估患者个体化的复发风险,比如MammaPrint(70基因),Oncotype DX(21基因),BCI,PAM 50,EndoPredict等(表1)。其中Oncotype DX 21基因检测已经成为美国临床肿瘤协会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)及美国国立综合癌症网(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南唯一推荐使用的基因检测项目。而MammaPrint是首个经美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于临床的多基因检测系统。目前,这两种基因检测方法在国外已经得到比较普遍的临床应用。另外,

PAM 50(商品名:Prosigna)和EndoPredict也有一些商业化的临床应用。

1.1 Oncotype DX(21 基因)

乳腺癌21基因检测由美国Genomic Health公司研发,针对ER阳性、HER2阴性、淋巴结阴性的早期乳腺癌患者,定量检测其肿瘤组织中一组特异性基因的表达水平,进而给出一个复发评分(recurrence score, RS)来评估肿瘤患者的复发风险。这21个基因包括16个肿瘤相关基因及5个参考基因(图1)。根据评分复发风险可分为高(RS \geq 31)、中(18 \leq RS<31)、低(RS<18)3组,3组10年远期复发比分别为30.5%(高),14.3%(中)及6.8%(低)^[4]。另外,低风险患者术后只需要接受内分泌治疗,高风险患者需接受内分泌治疗结合辅助化疗,对于中风险的患者辅助化疗的有效性仍有待验证^[8]。

2015年发表的大规模前瞻性临床试验TAILORx^[9]的结果发现:对于RS<11的仅接受内分泌治疗的患者而言,5年内无远处转移的概率为99.3%。表明对于ER阳性、HER2阴性、淋巴结阴性且符合现行指南推荐术后辅助化疗的乳腺癌患者,如果RS评分为11以下,单独使用他莫昔芬治疗就可以使复发率非常低,可以考虑免去辅助化疗^[9]。

表1 检测多基因表达评估乳腺癌术后复发风险的方法

Table 1 Multi-gene expression assays proposed for predicting outcome in breast cancer postoperative patients

检测名称	发表时间	基因数	适用人群			样本类型	方法	风险分组
			ASCO	NCCN	ESMO			
MammaPrint ^{a[3]}	2002年	70	NR	NR	LN-/LN+	新鲜组织/FFPE	Microarray	2组
Oncotype DX ^[4]	2004年	21	LN-	LN-/LN+	LN-/LN+	FFPE	RT-PCR	3组
BCI ^[5]	2004年	11	LN-	NR	NR	FFPE	RT-PCR	2组
PAM 50 ^{a[6]}	2009年	50	LN-	NR	LN-/LN+	FFPE	RT-PCR	3组
EndoPredict ^[7]	2011年	12	LN-	NR	LN-/LN+	FFPE	RT-PCR	2组

a: NCCN指南讨论了MammaPrint和PAM 50,但没有专门推荐。LN-:淋巴结阴性;LN+:淋巴结阳性(1~3枚淋巴结);NR:未推荐;FFPE:甲醛固定的石蜡包埋样本。

a: NCCN guidelines discuss MammaPrint and Prosigna but do not specifically recommend either test. LN-: lymph node-negative; LN+: lymph node-positive (refers to 1-3 metastatic lymph nodes); NR: not recommended; FFPE: Formalin Fixed Paraffin-Embedded,

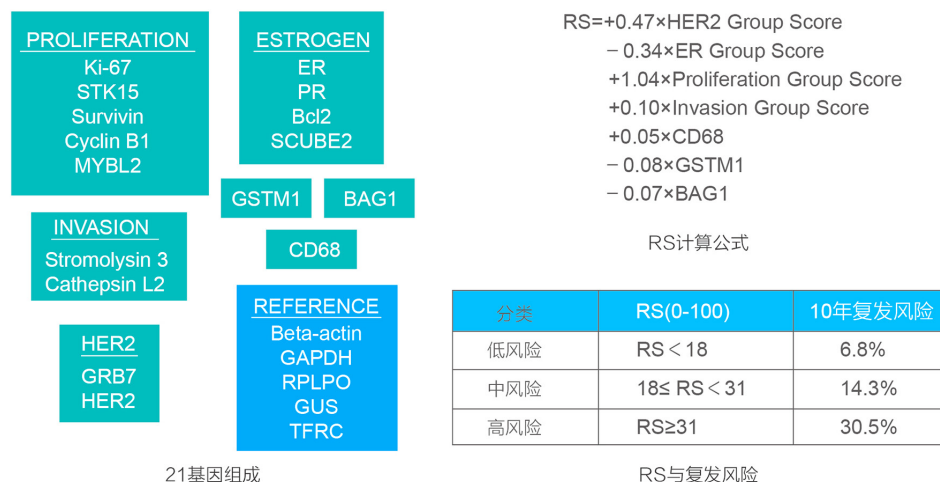


图1 21基因组成与复发得分算法

Figure 1 Panel of 21 genes and the recurrence-score algorithm

目前, 参与21基因检测研究的患者人数超过6.3万名, 获得广泛的临床认可, 并于2008年开始得到NCCN指南推荐。然而, 该检测系统在临床实践中仍存在一些不足: 1) 适应症范围相对较小。目前仅限于激素受体阳性, HER2阴性并且未出现腋淋巴结转移的患者, 对于出现淋巴结转移的患者, 目前仍没有足够的证据来判断。根据美国癌症协会2015年的统计数据, 激素受体阳性, HER2阴性的乳腺癌患者只占整个乳腺癌患者的74%^[10], 考虑到淋巴结转移的情况, 适合21基因检测的患者会更少。2) 检出的无法明确化疗是否受益的患者(中危患者)较多。根据Carlson等^[11]的研究, 有39%的患者(患者总数为4 156)为中危人群; 而根据前瞻性临床试验TALORx的结果, 把中危人群的RS定义调整为11~26, 将有67.3%的患者无法决策(患者总数为10 253)^[9]。3) 缺乏中国人群的临床试验数据。目前中国人群中关于21基因的研究还很少。根据Sun等^[12]的研究, 对ER阳性淋巴结阴性的乳腺癌患者进行21基因检测, 3组10年远期复发率分别为79.2%(高), 57.0%(中)及42.1%(低)。低危患者复发风险远远高于西方人群(6.8%)。当然这一研究使用的样本量少, 也没有区分HER2状态, 无法完整评价21基因检测在中国人群的适用性。

1.2 MammaPrint(70 基因)

MammaPrint是一种由荷兰癌症研究院于2002年开发的用于淋巴结阴性的乳腺癌患者(后扩展到1~3枚淋巴结阳性)术后预后的多基因检测

系统^[3,13]。其运用ctDNA微阵列技术检测肿瘤冰冻组织(后扩展到FFPE样本)中基因mRNA表达水平, 通过系统聚类统计方法, 筛选出与预后最相关的70个基因, 组成MammaPrint检测系统。根据基因表达与临床结果的相关性, 将患者分为预后高复发风险组(10年复发风险49.4%)及低复发风险组(10年复发风险14.8%), 其分层效果显著优于NIH标准或St. Gallen共识^[3,14]。

Knauer等^[15]的研究结果表明70基因分层的高危患者能从术后辅助化疗中获益, 而低复发风险患者是否会从术后辅助化疗中获益呢? 2006年开展的大型前瞻性随机3期临床试验MINDACT解答了这个问题^[2]。该试验的结果于2016年8月发表, 研究发现对于70基因分层的低复发风险患者并不会从辅助化疗中受益。并且相对于临床病理标准的高复发风险患者(3 356例)而言, 采用70基因检测指导化疗, 将减少46.2%(1 550例)的化疗使用率^[2]。

2007年, FDA批准MammaPrint可以在美国用于检测所有年龄的淋巴结阴性的乳腺癌患者, 而不用考虑ER状态。目前, 参与MammaPrint检测临床试验的患者人数超过1.2万名。

1.3 PAM 50

PAM50最初用于乳腺癌的组织分型^[6], 后来发展用于术后复发风险分层^[16]。PAM50复发得分(PAM50 ROR)根据50个基因的表达谱和肿瘤病理大小计算得出^[17], 把复发风险分为低、中、高3组。PAM50 ROR适用于FFPE样本, 并在2013年获

得FDA批准。研究^[18]表明：与Oncotype DX相比，二者术后5年复发风险预测能力基本相同。另有研究^[17]结果表明PAM50 ROR得分可以有效地对术后5年和15年的复发风险进行分层，并且可以预测绝经后患者内分泌治疗后的远期复发风险。然而，PAM50预测辅助化疗疗效的能力还有待证实。

1.4 EndoPredict

EndoPredict(EP)是针对ER阳性、HER2阴性乳腺癌患者的复发风险预测模型，通过qRT-PCR检测11个基因的表达水平，计算风险得分(EP)，然后结合患者的肿瘤大小和淋巴结状况评估综合的风险得分(EPclin)，并以此把患者分为高、低风险两组^[7]。另外，有研究^[19]表明EPclin对内分泌治疗5年后的长期预后有价值。Buus等^[20]的研究对比EP、EPclin和Oncotype DX在预测10年远处转移发生风险上的价值，患者为ER阳性、接受内分泌治疗的早期乳腺癌患者。该研究发现在所有的时间窗和亚组分析中，除5年内LN阴性组，EPclin的预后效能均优于EP。术后5年内，EP与Oncotype DX预后效能相似，而在5~10年，EPclin和EP的预后效能均优于Oncotype DX。EP预后效能的前瞻性随机试验正在进行，作为临床试验UNIRAD(NCT01805271)的一部分，其预测化疗疗

效的能力也有待验证。目前，EP的诊断试剂盒已在欧洲上市，尽管该检测尚未被NCCN指南推荐。

2 ctDNA 检测与乳腺癌预后

上述检测方法均是检测组织中基因的表达水平，循环肿瘤DNA(ctDNA)检测技术的发展和运用为我们提供了新角度评估个体化的术后复发风险与监测肿瘤复发(图2)。ctDNA是由肿瘤细胞释放到血液中的DNA片段，携带有肿瘤基因组的突变信息。许多研究^[21-23]表明ctDNA是高灵敏性、高特异性的肿瘤标志物，在肿瘤防治的各阶段有广泛的应用。目前已有研究^[24-27]在乳腺癌、结直肠癌、非小细胞肺癌中通过ctDNA检测进行预后评估和复发监测。患者术后有无ctDNA与复发风险高度相关，如果术后ctDNA检测为阳性，则为复发高风险；如果术后ctDNA检测为阴性，则为复发低风险。

具体在乳腺癌中，Garcia-Murillas等^[25]对43名乳腺癌患者术前、术后的ctDNA进行监测，发现术前ctDNA不能用于复发风险分层，而术后ctDNA可以有效地进行复发风险分层，连续监测可以显著提高分层的准确性，整体达到80%灵敏性，96%特异性。另外，Olsson等^[26]对20名乳腺癌患者ctDNA进行监测评估复发，整体达到93%灵敏度，100%特异性。

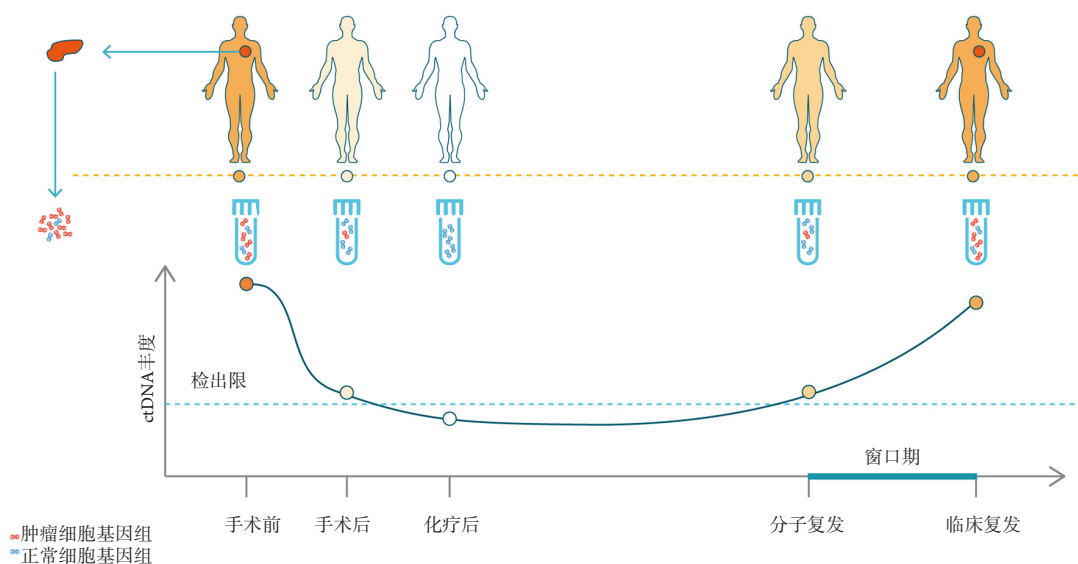


图2 ctDNA监测肿瘤复发

Figure 2 Monitoring tumour-specific aberrations to detect recurrence using ctDNA

尽管目前乳腺癌中研究术后ctDNA评估复发风险的样本量较少, 还无法完整评估其适用性。然而, 其理论逻辑与已经展示出来的良好数据表明这一方法在术后复发风险评估中有着非常远大前景。该方法直接检测肿瘤细胞来源的ctDNA进行复发风险分层, 适用人群更广, 不需要考虑ER和HER2受体状态; 2分法没有中间人群; 理论上基本不受人群遗传或环境背景的影响。目前而言, 尤其适合对不符合乳腺癌21基因检测要求的患者, 以及乳腺癌21基因检测中的中危患者, 进行临床试验评估术后ctDNA在预后分层及复发监测中的价值。

3 结语

今天, 肿瘤基因组学的发展与应用已经使乳腺癌临床治疗达到一个新的时代, 从生物学特性出发揭示肿瘤本质, 实现肿瘤个体化精准治疗必将是肿瘤治疗的方向。以MammaPrint和Oncotype DX为代表的多基因检测已经在西方人群乳腺癌的预后预测中取得了巨大的成功, 而这些检测在中国人群的数据还很少。考虑到这些检测是基于基因的表达水平, 很可能受到中国人特殊遗传背景的影响, 简单照搬很可能出现问题。即使检测的这些基因是合适的, 仍需要大规模中国人群的数据来确定具体的算法和阈值。以检测患者术后ctDNA进行预后评估的研究刚刚兴起, 非常值得我们去探索研究, 尤其是对于基底型、HER2阳性的患者。

参考文献

1. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group[J]. *Lancet*, 1998, 351(9114): 1451-1467.
2. Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J, et al. 70-gene signature as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(8): 717-729.
3. van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer[J]. *Nature*, 2002, 415(6871): 530-536.
4. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(27): 2817-2826.
5. Zhang Y, Schnabel CA, Schroeder BE, et al. Breast cancer index identifies early-stage estrogen receptor-positive breast cancer patients at risk for early- and late-distant recurrence[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(15): 4196-4205.
6. Parker JS, Mullins M, Cheang MC, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(8): 1160-1167.
7. Filipits M, Rudas M, Jakesz R, et al. A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(18): 6012-6020.
8. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(23): 3726-3734.
9. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al. Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2011, 373(21): 2005-2014.
10. DeSantis CE, Fedewa SA, Goding Sauer A, et al. Breast cancer statistics, 2015: Convergence of incidence rates between black and white women[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 31-42.
11. Carlson JJ, Roth JA. The impact of the Oncotype Dx breast cancer assay in clinical practice: a systematic review and meta-analysis[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 141(1): 13-22.
12. Sun B, Zhang F, Wu SK, et al. Gene expression profiling for breast cancer prognosis in Chinese populations[J]. *Breast J*, 2011, 17(2): 172-179.
13. Mook S, Schmidt MK, Viale G, et al. The 70-gene prognosis-signature predicts disease outcome in breast cancer patients with 1-3 positive lymph nodes in an independent validation study[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 116(2): 295-302.
14. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(25): 1999-2009.
15. Knauer M, Mook S, Rutgers EJ, et al. The predictive value of the 70-gene signature for adjuvant chemotherapy in early breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 120(3): 655-661.
16. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, et al. Randomized phase II neoadjuvant comparison between letrozole, anastrozole, and exemestane for postmenopausal women with estrogen receptor-rich stage 2 to 3 breast cancer: clinical and biomarker outcomes and predictive value of the baseline PAM50-based Intrinsic Subtype—ACOSOG Z1031[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(17): 2342-2349.
17. Filipits M, Nielsen TO, Rudas M, et al. The PAM50 risk-of-recurrence score predicts risk for late distant recurrence after endocrine therapy in postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(5): 1298-1305.
18. Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, et al. Comparison of PAM50

- risk of recurrence score with oncotype DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(22): 2783-2790.
19. Dubsy P, Brase Jc, Jakesz R, et al. The EndoPredict score provides prognostic information on late distant metastases in ER+/HER- breast cancer patients[J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(12):2959-64.
 20. Buus R, Sestak I, Kronenwett R, et al. Comparison of EndoPredict and EPclin with Oncotype DX recurrence score for prediction of risk of distant recurrence after endocrine therapy[J]. *J Natl Cancer I*, 2016, 108(11): djw149.
 21. Crowley E, Di N F, Loupakis F, et al. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(8): 472-484.
 22. Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(224): 224ra24.
 23. Wan JC, Massie C, Garcia-Corbacho J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(4): 223-238.
 24. Tie J, Wang Y, Tomasetti C, et al. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(346): 346ra92.
 25. Garcia-Murillas I, Schiavon G, Weigelt B, et al. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(302): 302ra133.
 26. Olsson E, Winter C, George A, et al. Serial monitoring of circulating tumor DNA in patients with primary breast cancer for detection of occult metastatic disease[J]. *EMBO Mol Med*, 2015, 7(8): 1034-1047.
 27. Abbosh C, Birkbak NJ, Wilson GA, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early stage lung cancer evolution[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 446-451.

本文引用: 孔令红, 万智毅, 刘晓刚. 基因检测在乳腺癌预后研究中的进展[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(2): 400-405. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.02.027

Cite this article as: KONG Linghong, WAN Zhiyi, LIU Xiaogang. Research progress of gene test in breast cancer prognosis[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(2): 400-405. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.02.027