

21 基因 RS 在早期乳腺癌治疗决策中的应用研究*

卢卫国,何伟业,谢在春

(广州中医药大学第一附属医院检验科,广州 510405)

摘要:目的 探讨雌激素受体(ER)阳性、淋巴结阴性、人表皮生长因子受体(HER)2 阴性的早期乳腺癌患者 21 基因复发评分(RS)与临床病理特征的关系,及其在治疗方案制订中的作用。方法 收集 120 例早期乳腺癌患者肿瘤组织标本,利用分支 DNA 液相芯片技术检测 21 基因 RS 及 TUBB3、TYMS、TOP2A mRNA 表达水平,比较不同风险分级患者的临床病理特征,并根据 RS 及 TUBB3、TYMS、TOP2A mRNA 表达水平制订治疗方案。结果 乳腺癌 RS 风险评分,低风险组(RS<18 分)为 61.7%;中风险组(RS 为 18~<31 分)为 26.7%,高风险组(RS≥31 分)为 11.7%。RS 风险分组例数在不同组织分级、孕激素受体(PR)状态、Ki67 状态上差异均有统计学意义($P<0.05$)。根据 RS 分组,51.6%的患者治疗决策发生改变,其中 48.3%的患者免于化疗。中位随访时间为 22 个月,3 位患者出现局部复发,未出现远处复发。结论 21 基因 RS 与早期乳腺癌组织分级、PR 表达、Ki67 表达有关,RS 有助于治疗决策制订,降低患者化疗率。

关键词:乳腺癌; 21 基因复发评分; 化疗

中图分类号:R739.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)09-1228-04

Application of 21-gene Recurrence Score in therapeutic decision-making for early breast cancer*

LU Weiguo, HE Weiye, XIE Zaichun

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Chinese Traditional Medicine Hospital, Guangzhou, Guangdong 510405, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between 21-gene Recurrence Score (RS) and clinic pathological features and the effect of RS on treatment programme making in the early breast cancer patients with estrogen receptor (ER) positive, lymph node negative and human epidermal growth factor receptor (HER)2 negative. **Methods** The expression levels of TUBB3, TYMS, TOP2A and 21 genes in 120 cases of breast cancer tissue detected by branch-DNA liquid chip technology. The relationship between the expression of the above 21-gene RS and the clinical and pathological characteristics of breast cancer were analyzed. Develop treatment protocols based on the RS score and mRNA expression. **Results** Among the 120 patients, 61.7% had a low RS that less than 18 scores, 26.7% had an intermediate RS that from 18 to less than 31 scores, and 11.7% had a high RS that equal or more than 31 scores. Cases with RS stases on different characteristics of histological grade, progesterone receptor(PR) and Ki-67 were statistically different ($P<0.05$). Treatment decisions were changed in 51.6% patients in 120 patients. 48.3% patients avoided chemotherapy. The median follow-up time was 22 months. Only 3 cases had recurrence. No distal metastasis was reported. **Conclusion** The 21-gene RS is closely related to the histological grade, PR and Ki-67, RS reduces chemotherapy use in early breast cancer patients.

Key words: breast cancer; 21-gene Recurrence Score; chemotherapy

乳腺癌是女性发病率最高的恶性肿瘤。2015 年中国女性乳腺癌新发病例达 268 000 例^[1]。手术联合放疗、内分泌治疗和辅助化疗等多种治疗手段能明显提升乳腺癌的治疗效果,降低复发率,改善患者生存质量。我国乳腺癌术后接受辅助化疗的治疗方案比较普遍,大约有 81.4%的浸润性乳腺癌患者接受辅助化疗^[2]。但对于激素受体阳性、淋巴结阴性的早期乳

腺癌患者能否从辅助化疗中获益尚不明确。随着基因组学的发展,通过检测患者肿瘤组织中相关基因的 mRNA 表达水平制订治疗方案,已在临床实践中被广泛使用。本研究以 120 例淋巴结阴性、雌激素受体(ER)阳性、人表皮生长因子受体(HER)2 阴性的早期乳腺癌患者为研究对象,检测 21 基因,以及 TYMS、TUBB3 和 TOP2A 3 个与化疗药物敏感性相关基因

* 基金项目:广东省中医药局建设中医药强省科研项目(201511194)。

作者简介:卢卫国,男,副主任技师,主要从事临床分子诊断及男性不育相关研究。

的 mRNA 表达情况,分析不同复发评分(RS)风险分级患者的临床病理特征,根据 RS 及临床病理特征综合制订治疗方案,探讨 RS 在乳腺癌患者治疗中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 广州中医药大学第一附属医院 2013 年 1 月至 2016 年 12 月经影像学检查、手术病理证实的浸润性乳腺癌患者 120 例,患者年龄 24~78 岁,中位数为 55 岁,均为女性。

1.2 检测方法 21 基因及 TYMS、TUBB3 和 TOP2A 3 个与化疗药物敏感性基因的 mRNA 表达水平采用 SurPlex™ 基因表达检测技术(分支 DNA 液相芯片法)进行检测。根据 21 基因 mRNA 表达水平计算 RS,再根据 RS 进行分组,其中 RS<18 分为低危组,18≤RS<31 分为中危组,RS≥31 分为高危组。TYMS、TUBB3 和 TOP2A 基因 mRNA 表达水平可分别反映 5-FU 类、紫杉类和蒽环类化疗药物疗效。TYMS 的 mRNA 表达水平与 5-FU 类化疗药物疗效呈负相关;TUBB3 的 mRNA 表达水平与紫杉类化疗药物疗效呈负相关;TOP2A 的 mRNA 表达水平与蒽环类化疗药物疗效呈正相关。

1.3 治疗分组 根据肿瘤大小、组织病理分级、ER/孕激素受体(PR)等信息,制订初步治疗方案。随后根据 RS 对治疗方案进行优化调整。RS≥31 分的高风险组,应用内分泌联合化疗方案;RS<18 分的低风险组,使用内分泌治疗方案;18≤RS<31 分的中风险组结合临床病理特征,制订综合治疗方案。对于计划接受辅助化疗的患者,则结合化疗药物敏感性基因的 mRNA 表达水平选择相应的化疗药物,若 TYMS 为中低表达,选择 5-FU 类化疗药物;TUBB3 为中低表达,选择紫杉类化疗药物;TOP2A 为中高表达,选择蒽环类化疗药物。

1.4 随访 电话和门诊随访,随访时间截至 2017 年 1 月 1 日,以任一部位局部复发或远处转移定义为阳性事件。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计分析,计数资料以例数或百分率表示,多组间比较采用 χ^2 检验,多组间中的 2 组比较采用 Fisher 确切概率法检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般病理资料分析结果 120 例研究对象中肿瘤病理类型为导管型 106 例,小叶型 11 例,其他类型 3 例。肿瘤直径为 0.5~<2.0 cm 的患者共 68 例,≥2.0 cm 为 52 例。按照 TNM 分期系统, I 期患者为 49 例, II 期患者为 71 例。组织分级为 1 级的为 29 例,2 级为 86 例,3 级为 5 例。免疫组化检测结果显示 ER 阳性(ER+)120 例;PR 阳性(PR+)113 例, PR 阴性(PR-)7 例;Ki67 阳性(≥14%)86 例,阴性

(<14%)34 例;HER2 均为阴性。

2.2 21 基因 RS 风险分组与患者临床病理的关系 乳腺癌 RS 风险评分,低风险组(RS<18 分)为 61.7%;中风险组(RS 为 18~<31 分)为 26.7%,高风险组(RS≥31 分)为 11.7%。按 21 基因 RS 标准分组后,用 Fisher 确切概率法统计分析不同 RS 风险分组的病理特征,结果表明 RS 风险分组例数在不同组织分级、PR 状态、Ki67 状态上差异均有统计学意义($P<0.05$),在年龄、肿瘤大小、TNM 分期、病理类型上差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 RS 风险分级与病理特征的关系(n)

参数	n	低风险组	中风险组	高风险组	P
年龄(岁)					
>55	58	35	14	9	0.454
≤55	62	39	18	5	
肿瘤大小(cm)					
0.5~<2.0	68	41	20	7	0.683
≥2.0	52	33	12	7	
TNM 分期					
I	49	31	13	5	0.962
II	71	43	19	9	
组织分级					
1	29	20	4	5	0.002
2	86	54	26	6	
3	5	0	2	3	
PR 状态					
阳性	113	72	30	11	0.030
阴性	7	2	2	3	
病理类型					
导管型	106	68	26	12	0.293
小叶型	11	5	4	2	
其他类型	3	1	2	0	
Ki67(%)					
≥14	86	59	21	6	0.017
<14	34	15	11	8	

2.3 21 基因 RS 对治疗策略制订的影响 根据肿瘤大小、病理特征等临床病理特征先制订辅助治疗方案,包括内分泌治疗或内分泌治疗联合化疗。进行 21 基因 RS 后,根据评分结果,重新制订治疗方案。对比使用 RS 前后治疗方案的改变情况,检测前有 36 例拟采用内分泌治疗,有 84 例拟采用内分泌联合化疗方案,化疗率为 70%。根据 RS 调整治疗方案后,采用内分泌治疗的患者为 90 例,内分泌联合化疗的患者为 30 例,化疗率为 25%。在方案改变组中,有 4 例患者由内分泌治疗方案改变为内分泌联合化疗,58 例患者由内分泌联合化疗改变为内分泌治疗。见表 2。

表 2 21 基因 RS 对治疗决策的影响[n(%)]

治疗决策	检测前	检测后	例数及构成比
方案改变	ET	ET+CT	4(3.3)
	ET+CT	ET	58(48.3)
维持原方案	ET	ET	32(26.7)
	ET+CT	ET+CT	26(21.7)
合计	120	120	120(100.0)

注: ET 为内分泌治疗; CT 为化疗

2.4 预后 中位随访时间为 22 个月, 无 1 例发生远处转移, 3 例出现局部复发, 2 例为中风险(RS 分别为 24、28 分), 均行内分泌治疗。1 例为高风险(RS 为 45 分), 复发时间为 31 个月, 治疗方案为内分泌联合多柔比星和环磷酰胺。

3 讨论

不同亚型的乳腺癌患者术后化疗敏感性存在差异, 通过分子检测技术对肿瘤组织中的多个相关基因进行检测, 从而选择合适的治疗药物, 制订个性化的治疗方案, 已成为肿瘤精准治疗的必然趋势。

21 基因是指与乳腺癌相关的 16 个相关基因和 5 个参考基因, 包括 5 个增殖相关的基因(Ki-67、STK15、Survivin、CyclinB1、MYBL2), 2 个侵袭相关基因(Stromolysin3、Cathepsin L2), 2 个 HER 相关基因(GRB7、HER2), 4 个激素相关基因(ER、PR、BCL-2、SCUBE2), 3 个其他类型基因(GSTM1、BAG1、CD68)和 5 个参考基因(Beta-actin、GAPDH、RPL-PO、GUS、TFRC)。

NSABP B-14 和 B-20 的试验结果表明, 根据 21 个基因的 mRNA 表达水平计算得到 RS, 可预测激素受体阳性、HER2 阴性的乳腺癌患者复发风险和化疗获益程度。21 基因 RS 与现有的根据 TNM 分期系统制订治疗方案相比, 可以更加精准地制订个体化的治疗方案, 降低化疗的使用率, 提高患者生活质量。目前, 21 基因检测 RS 系统已经被共同推荐用于制订乳腺癌患者的治疗方案^[3-6]。MAMOUNAS 等^[7] 在经他莫西芬治疗的患者中发现, 局部复发风险与 RS 风险存在显著相关($P < 0.05$)。PAIK 等^[8] 的研究结果发现, 乳腺癌患者通过单独使用他莫西芬治疗和他莫西芬联合化疗的 RS 可预测化疗获益度, 其中 $RS \geq 31$ 分的高风险患者 10 年内无远处转移, 生存率明显提高, 为 $(27.6 \pm 8.0)\%$, 从化疗中获益较多, 而 $RS < 18$ 分的低风险患者 10 年内无远处转移的生存率变化仅为 $(-1.1 \pm 2.2)\%$, 显示从化疗中获益极微。SPAR-ANO 等^[9] 和 GLUZ 等^[10] 两项前瞻性研究也均证实低风险组患者不能从辅助化疗中获益。

TYMS 基因编码蛋白是 5-FU 类药物发挥细胞毒作用的目标酶, 该蛋白的 mRNA 表达水平与 5-FU 类药物疗效呈显著负相关^[11-12]。TUBB3 的 mRNA 表达水平与紫杉类药物疗效呈显著负相关^[13]。

TOP2A 基因编码的 DNA 拓扑异构酶 II a 能引导 DNA 解旋, TOP2A 的 mRNA 表达水平与蒽环类药物疗效呈显著正相关^[14-15]。本研究采用分支 DNA 液相芯片法检测乳腺癌患者肿瘤组织中 21 基因及 TYMS、TUBB3 和 TOP2A 3 个化疗药物疗效敏感性基因的 mRNA 表达水平, 分析不同风险分级患者的临床病理特征, 探讨 21 基因 RS 在早期乳腺癌患者化疗决策中的应用价值。对拟接受化疗的患者, 根据化疗药物敏感性基因表达水平, 选择合适的化疗药物, 从而实现个体化精准治疗。

本研究结果显示 120 例研究对象中 RS 低风险组 74 例(61.7%), 中风险组 32 例(26.7%), 高风险组 14 例(11.7%)。与其他研究相比, 本研究中高风险患者所占比例较低, 这可能与本研究为单中心研究, 入组样本量小, 且伴有不良预后的患者, 故存在一定的偏倚^[8,16]。RS 风险分组例数在不同组织分级、PR 状态、Ki67 状态上差异均有统计学意义($P < 0.05$), 与国外相关研究结果一致^[17-20]。初步证实在中国乳腺癌患者人群中, 21 基因 RS 同样适用。RS 风险分组例数在不同年龄、肿瘤大小、TNM 分期和病理类型上差异无统计学意义($P > 0.05$)。通过 RS 优化后的治疗方案, 可使 48.3% 的患者避免化疗, 并同时达到了良好的治疗效果, 提示通过 21 基因 RS 进行风险分级, 有助于制订更精准的治疗方案, 避免过度化疗。对于拟接受辅助化疗的患者, 根据患者肿瘤组织基因的表达情况, 可以制订个体化化疗方案。本研究中仅有 1 例患者出现局部复发, 结果提示基于化疗药物相关基因表达水平而制订的化疗方案, 可提高化疗的有效率。但本研究样本量小, 且随访时间有限, 21 基因检测 RS 在评估早期乳腺癌治疗决策中的应用效果尚需进一步的深入研究。

参考文献

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] FAN L, STRASSER-WEIPPL K, LI J J, et al. Breast cancer in China[J]. Lancet Oncol, 2014, 15(7): e279-e289.
- [3] JEANETTE M, KELLEY M K N, LYNN H. Associations between metabolic syndrome, breast cancer recurrence, and the 21-gene recurrence score assay[J]. Breast Cancer Res Treat, 2016, 157(3): 597-603.
- [4] HARRIS L, FRITSCHE H, MENNEL R, et al. American society of clinical oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(33): 5287-5312.
- [5] JOSEE-LYNE E, EITAN A. The role of the 21-gene recurrence score in breast cancer treatment[J]. Mol Diagn Ther, 2016, 20: 307-313.

- [6] GOLDHIRSCH A, WOOD W C, COATES A S, et al. Strategies for subtypes: dealing with the diversity of breast cancer; highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011 [J]. *Ann Oncol*, 2011, 22 (8): 1736-1747.
- [7] MAMOUNAS E P, TANG G, FISHER B, et al. Association between the 21-gene recurrence score assay and risk of locoregional recurrence in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer; results from NSABP B-14 and NSABP B-20 [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28 (10): 1677-1683.
- [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 J A, GRAY R J, MAKOWER D F, et al. Prospective validation of a 21-Gene expression assay in breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373 (21): 2005-2014.
- [10] GLUZ O, NITZ U A, CHRISTGEN M, et al. West German study group phase III PlanB trial: first prospective outcome data for the 21-Gene recurrence score assay and concordance of prognostic markers by central and local pathology assessment [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34 (20): 2341-2349.
- [11] YASUMATSU R, NAKASHIMA T, URYU H, et al. Correlations between thymidylate synthase expression and chemosensitivity to 5-fluorouracil, cell proliferation and clinical outcome in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Chemotherapy*, 2009, 55 (1): 36-41.
- [12] KAKIMOTO M, UETAKE H, OSANAI T, et al. Thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase gene expression in breast cancer predicts 5-FU sensitivity by a histocultural drug sensitivity test [J]. *Cancer Lett*, 2005, 223 (1): 103-111.
- [13] ZHENG L I, YI Q, WEI G, et al. Predictive value of APE1, BRCA1, ERCC1 and TUBB3 expression in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) receiving first-line platinum-paclitaxel chemotherapy [J]. *Cancer Chemoth Pharm*, 2005, 223 (1): 103-111.
- [14] PRESS M F, SAUTER G, BUYSE M, et al. Alteration of topoisomerase II-alpha gene in human breast cancer; association with responsiveness to anthracycline-based chemotherapy [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29 (7): 859-867.
- [15] BRASE J C, SCHMIDT M, FISCHBACH T, et al. ERBB2 and TOP2A in breast cancer; a comprehensive analysis of gene amplification, RNA levels, and protein expression and their influence on prognosis and prediction [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16 (8): 2391-2401.
- [16] TOI M, IWATA H, YAMANAKA T, et al. Clinical significance of the 21-gene signature (Oncotype DX) in hormone receptor-positive early stage primary breast cancer in the Japanese population [J]. *Cancer*, 2010, 116 (13): 3112-3118.
- [17] WOLF I, BEN-BARUCH N, SHAPIRA-FROMMER R, et al. Association between standard clinical and pathologic characteristics and the 21-gene recurrence score in breast cancer patients: a population-based study [J]. *Cancer*, 2008, 112 (4): 731-736.
- [18] AUERBACH J, KIM M, FINEBERG S. Can features evaluated in the routine pathologic assessment of lymph node-negative estrogen receptor-positive stage I or II invasive breast cancer be used to predict the Oncotype DX recurrence score? [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2010, 134 (11): 1697-1701.
- [19] WILLIAMS D J, COHEN C, DARROW M, et al. Proliferation (Ki-67 and phosphohistone H3) and oncotype DX recurrence score in estrogen receptor-positive breast cancer [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2011, 19 (5): 431-436.
- [20] LI Y, KURIAN A W, BONDARENKO I, et al. The influence of 21-gene recurrence score assay on chemotherapy use in a population-based sample of breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 161 (3): 587-595.

(收稿日期: 2017-11-18 修回日期: 2018-01-10)

(上接第 1227 页)

- Traumato, 2015, 24 (7): 1067-1073.
- [4] MARYAM A, KAMRAN A, EBRAHIMA, et al. Epidemiology of the upper extremity trauma in a traumatic center in iran [J]. *Glob J Health Sci*, 2016, 9 (4): 97.
- [5] VAN STAA1 T P, DENNISON E M, LEUFKENET H G M, et al. The epidemiology of fractures in England and Wales [J]. *Bone*, 2001, 29 (6): 517-522.
- [6] 孙涛, 张英泽, 马信龙, 等. 2010 年至 2011 年京津唐地区成人肱骨近端骨折的流行病学调查与分析 [J]. *中华创伤骨科杂志*, 2015, 17 (7): 599-603.
- [7] COURT-BROWN C M, CAESAR B. Epidemiology of adult fractures: A review [J]. *Injury*, 2006, 37 (8): 691-697.
- [8] MICHAEL N, LAUREN P, BRETT D O, et al. Incidence of metacarpal fractures in the US population [J]. *Hand*, 2012, 7 (4): 426-430.
- [9] SUZANNE P, GIJS I T, MARTIEN J M, et al. Trends in incidence and costs of injuries to the shoulder, arm and wrist in the Netherlands between 1986 and 2008 [J]. *BMC Public Health*, 2013, 13: 531.
- [10] KEVIN O T, DAVID M K, ALPHONSUS K S, et al. Distal radius fractures: an epidemiological review [J]. *Orthopaedic Surgery*, 2013, 5 (3): 209-213.

(收稿日期: 2017-11-22 修回日期: 2018-01-14)