

## · 综述 ·

## 12 基因模型对乳腺导管原位癌预后预测的研究进展

唐静<sup>1,2</sup> 王先明<sup>1</sup>

【摘要】 DCIS 作为一种异质性病变,受到越来越多的关注,但传统的以病变细胞形态、结构、分级以及是否坏死存在的分型方法不能准确区分 DCIS 的亚型,不能对其治疗方式或预后做出较准确的评估与预测,难以满足精准治疗的要求。目前国内外的研究致力于在基因组学层面对 DCIS 进行深入的认识与分型,并建立完善的 DCIS 预后预测的基因模型。笔者简单介绍了与 DCIS 相关的基因检测,如乳腺癌高通量基因检测(Mammaprint)、Oncotype DX 21 基因检测、Prosigna 等,着重分析了 DCIS 12 基因模型的建立过程、评分方法、对 DCIS 预后的风险评估及其对 DCIS 精准治疗的意义,以期临床工作提供参考。

【关键词】 乳腺肿瘤; 癌,原位; 基因表达; 预后; 预测

【中图法分类号】 R737.9 【文献标志码】 A

随着乳腺 X 线摄影、超声等检查手段的普及,浸润性乳腺癌的前驱病变乳腺 DCIS 的发病率可达 20%~25%,日益引起临床重视<sup>[1]</sup>。其病理表现为导管上皮细胞增生显著,具有由轻微到显著的细胞异型性,当异质细胞突破导管上皮基底层后,即发展为浸润性乳腺癌。目前 DCIS 的治疗方式以保留乳房或乳房切除加前哨淋巴结活组织检查为主,严格控制放化疗<sup>[2]</sup>。但并非所有 DCIS 都会转变为浸润性病变。对于部分 DCIS,目前循证医学证据并未显示在术后基础上进一步治疗具有生存获益<sup>[3]</sup>,这加重了患者的心理、经济负担及造成了医疗资源的浪费。

DCIS 作为一种异质性疾病,涉及到多基因、多阶段。传统的以病变细胞形态、结构和分级以及坏死存在与否的分型方法已不能满足对 DCIS 精准治疗的要求。采用多基因分类体系,相比较传统的采用临床变量及组织形态特点进行分类,更可精确的区分 DCIS 分子亚型,对 DCIS 手术方式的选择,是否需要术后放疗、辅助内分泌治疗及预后评估等方面也更具有指导意义<sup>[4]</sup>。DCIS 的 12 基因检测目前已被证实比传统分类方法和临床病理指标更能对单纯 DCIS 患者的远处复发转移风险进行预测。该检测同时还能对患者的术后放疗、化疗及内分泌治疗的获益情况进行预后评估。笔者就 DCIS 的 12 基因检测的背景、内容、验证研究及其在临床实践中的运用等方面作一综述。

#### 一、乳腺癌基因的主要检测方法

##### 1. 乳腺癌高通量基因检测(Mammaprint)

Mammaprint 作为被 FDA 批准的第 1 个多基因检测产品 2007 年在美国上市,它是 2002 年由荷兰肿瘤研究所运用高通量 DNA 检测技术对 78 例早期乳腺癌患者进行基因测序,

运用系统聚类统计手段,筛选出 70 个与乳腺癌预后相关基因,组成的乳腺癌多基因检测系统<sup>[5]</sup>。研究结果显示 Mammaprint 对淋巴结阴性/阳性、不同雌/孕激素水平、绝经前/后的患者及新辅助化疗、辅助化疗疗效的预后预测均有意义<sup>[5]</sup>。

##### 2. Oncotype DX 21 基因检测

2004 年,Paik 等<sup>[6]</sup>对 NSABP B-14 试验研究中的经他莫昔芬治疗后的淋巴结阴性、ER 阳性乳腺癌患者的组织蜡块用 RT-PCR 技术进行基因筛选,选出了 21 个与远期复发转移相关的基因。这 21 个基因包括增殖相关基因 Ki67、STK15、survivin、cyclin B1、MYBL2,侵袭相关基因 stromelysin 3、cathepsin L2;HER-2 相关基因 GRB7、HER-2,激素相关基因 ER、PR、Bcl-2、SCUBE2、GSTM1、BAG1 等 16 个肿瘤相关基因及 5 个管家基因  $\beta$ -actin、GAPDH、RPLPO、GUS、TFRC。NSABP B-14 研究根据复发分值(recurrence score, RS)评估将患者分为高、中或低复发风险组,其中低风险(RS<18)的患者比例为 51%,中度风险(18≤RS<31)患者比例为 22%,高度风险(RS≥31)的患者比例为 27%,高、中、低风险组 10 年内的远处复发率分别是 30.5%、14.3%和 6.8%,高复发风险组远处复发率明显高于低复发风险组( $P<0.001$ )。对于预测及预后的情况,5 年内 3 组高、中度复发风险评分的患者里面有接近 2/3 的患者有复发转移,而低复发风险评分的患者里面只有 1/3 出现复发转移。这种 RS 评分的评估结果显示,对于乳腺癌复发转移的预后预测,其决定因素并不在于患者年龄以及肿瘤大小。虽然目前临床治疗中仍普遍采用病理指标作为依据来预测患者的远期复发转移情况,但 RS 分析作为独立预后因素的作用( $P<0.001$ ),优于以年龄和肿瘤大小作为预后因素。由此证明 RS 比传统的临床病理指标更能准确预测临床结果,RS 还可作为量化指标对经内分泌治疗后的淋巴结阴性、ER 阳性乳腺癌患者进行远处复发转移的评估。

Oncotype DX 检测在 Mammaprint 全基因测序的基础上

筛选出 21 个与 ER 阳性浸润性乳腺癌复发转移相关基因,成为第一个采用 PCR 分子检测手段来对浸润性乳腺癌进行预后预测及相关治疗进行指导的基因模型。该检测方法不仅可节约大量医疗资源,而且避免对低风险评分患者过度治疗。

### 3. Prosigna 等其他基因检测方法

Prosigna 是通过 FDA 认证的基因检测方法,产品名为 PAM50,它从肿瘤组织蜡块中提取出 RNA,对其中 50 个与乳腺癌预后相关的基因进行检测,根据其表达程度,将患者分为远期远处复发的高危、中危和低危组<sup>[7]</sup>。随访结果显示,应对高危患者进行长期辅助治疗,但无证据表明低危患者能从中获益<sup>[7]</sup>。此外,近年来研发的乳腺癌指数(breast cancer index)、EndoPredict 基因检测方法也能对 ER 阳性乳腺癌患者的迟发性复发风险进行评估,并预测该类患者能否从长期辅助激素治疗中获益<sup>[8-9]</sup>。

## 二、DCIS 12 基因模型的建立

### 1. DCIS 12 基因模型

Oncotype DX 检测首先在淋巴结阴性、激素受体阳性的乳腺癌患者中验证了它对复发风险的预测<sup>[10]</sup>,进而指导辅助化疗策略<sup>[11-13]</sup>。相比之下,占非浸润性乳腺癌最大比例的 DCIS,关于其复发风险预测模型的研究远远滞后于浸润性乳腺癌<sup>[14-16]</sup>。这主要由于 DCIS 的总体发病率低于浸润性癌,以 DCIS 作为研究对象,尤其是治疗模式为单纯保留乳房没有后续放射治疗的研究更少,从而难以获得足够的组织标本来进行研究并验证<sup>[16-19]</sup>。

Solin 等<sup>[20]</sup> 2013 年建立基于 12 基因的 Oncotype DX DCIS 评分系统实现了这一领域的突破。通过测定 Oncotype DX 21 个基因中的 12 个基因[7 个相关基因 Ki67、STK15、survivin、cyclinB1、MYBL2、PR、GSTM1,5 个管家基因 ACTB( $\beta$ -actin)、GAPDH、RPLPO、GUS、TFRC]表达水平,对 ECOG E5914 研究中患者的 DCIS 评分结果进行临床验证,把患者分为低、中和高局部复发风险组,从而为这些患者手术后是否需要进一步辅助治疗的决策提供参考。Oncotype DX DCIS 评分可以预测 DCIS 患者 10 年包括总体复发、浸润癌及非浸润性癌复发在内的各项风险,为 DCIS 提供独立和个性化风险预测<sup>[19-20]</sup>。

### 2. DCIS 12 基因评分检测的 RS 计算方法

DCIS 12 基因模型通过 4 个步骤将 12 个基因的表达检测结果进行标化评分,并预设范围为 0~100 分。首先,7 个相关基因与 5 个管家基因的表达息息相关,以其 RNA 的双倍扩增表达量为单位,确定其检测结果为 2~15 分。其次,增殖组评分为 5 个增殖基因的平均分:增殖组评分 = (Ki67 + STK15 + survivin + CCNB1 + MYBL2)/5<sup>[20]</sup>。DCIS 评分  $\mu$  (未校正评分) =  $0.31 \times \text{增殖组评分} - 0.08 \times \text{PR} - 0.09 \times \text{GSTM1}$ ,最后进行校验得出:DCIS 评分 =  $(66.7 \times \text{DCIS 评分 } \mu) + 10.0$ <sup>[20]</sup>。

若 DCIS 评分低于 0,则记为 0;若评分高于 100,则记为 100。每 1 例患者可以获得 0~100 之间的一个具体的分值,所以与 Oncotype DX 不同的是没有起始阈值的连续评分。根据得分预设 3 个风险等级:(1)低风险(DCIS 评分<39);

(2)中等风险(DCIS 评分=39~54);(3)高危风险(DCIS 评分 $\geq 55$ )<sup>[21]</sup>。

### 三、验证 12 基因模型对 DCIS 预后预测的评估价值

Rakovitch 等<sup>[21]</sup>报告了对加拿大安大略省 1994—2003 年 571 例单纯保留乳房、切缘阴性的导管原位癌患者进行 DCIS 评分的相关研究结果。该研究对这 571 例患者的肿瘤标本进行 DCIS 12 基因检测,根据 12 基因的表达程度计算出 DCIS 评分。评分<39 分为低危患者,共 355 例;39~54 分为中危患者,共 95 例; $\geq 55$  分为高复发风险组,计 121 例。中位随访 9.6 年,结果表明低危患者的 10 年浸润性局部复发率为 8.0%,中危患者为 20.9%,高危患者为 15.5% ( $P=0.03$ )<sup>[21]</sup>。DCIS 的 10 年原位局部复发率低风险患者为 5.4%,中危患者为 14.1%,高危患者为 13.7% ( $P=0.002$ )。该研究通过大样本量验证了 Oncotype DCIS 评分对复发的预测价值以及能否通过该评分来指导全乳放射治疗。Rakovitch 等<sup>[21]</sup>认为 Oncotype DCIS 评分低风险患者进行术后放射治疗无明显获益,同时承认该研究中中危和高危人群的结果相似,未来可能会将两组合并一组或将进一步划分高危与中危的分界值。

### 四、12 基因与 DCIS 的精准治疗

目前 DCIS 的主要治疗方法包括根据术前、术中评估以及病理结果决定采用保留乳房还是乳房切除加前哨淋巴结组织检查等手术方法,术后严格控制放疗,激素受体阴性患者可考虑给予内分泌治疗,但并非所有患者都需要术后放疗或内分泌治疗。一项对 573 例 DCIS 患者进行前瞻性、随机对照临床试验结果显示保留乳房术后加用放疗治疗可降低 50% 患者浸润性和非浸润性同侧肿瘤复发率,但未能改善患者的生存率<sup>[3]</sup>。

评价 DCIS 复发转移的危险性是基于一多因素的考虑,如年龄、肿瘤大小、成分、病理分级等。免疫组织化学的分子分型能进一步细化 DCIS 亚型,但对危险等级的分类尚缺乏数据化的统一标准,因此需要更加精确及个体化的预测手段。目前研究证明 DCIS 评分评定为高复发风险的患者能从术后放疗及内分泌治疗中极大获益,反之,诊断为低复发风险的患者存在过度治疗<sup>[22-23]</sup>。因此,用 DCIS 12 基因评分法来区分患者复发风险的高低能使术后治疗更加具有针对性,真正实现个体化精准治疗<sup>[24]</sup>。

### 五、结语

DCIS 12 基因模型适用于单纯原位癌患者,评估其原位复发与浸润性复发的风险,在基因层面上明确 DCIS 分型,并为患者提供个体化治疗方案。其益处显而易见:(1)能帮助临床工作者或患者权衡复发风险,选择最合适的治疗方案;(2)尽量减少低风险人群的过度治疗;(3)避免高危群体治疗不足<sup>[25]</sup>。在现代综合治疗模式下,将 Oncotype DCIS 评分和传统临床参考因素结合将为大势所趋<sup>[26]</sup>。

## 参 考 文 献

- [1] Poller DN. Pathology of ductal carcinoma in situ of the breast: current status [J]. Eur J Surg Oncol, 2001, 27(5):498-503.

- [2] Rosner D, Bedwani RN, Vana J, et al. Noninvasive breast carcinoma: results of a national survey by the American College of Surgeons [J]. *Ann Surg*, 1980, 192(2):139-147.
- [3] Wapnir IL, Dignam JJ, Fisher B, et al. Long-term outcomes of invasive ipsilateral breast tumor recurrences after lumpectomy in NSABP B-17 and B-24 randomized clinical trials for DCIS [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2011, 103(6):478-488.
- [4] Gilleard O, Goodman A, Cooper M, et al. The significance of the Van Nuys prognostic index in the management of ductal carcinoma in situ [J]. *World J Surg Oncol*, 2008, 6:61.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] Jerevall PL, Ma XJ, Li H, et al. Prognostic utility of HOXB13: IL17BR and molecular grade index in early-stage breast cancer patients from the Stockholm trial [J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(11):1762-1769.
- [9] Dubsky P, Filipits M, Jakesz R, et al. EndoPredict improves the prognostic classification derived from common clinical guidelines in ER-positive, HER2-negative early breast cancer [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(3):640-647.
- [10] Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases [J]. *Cancer*, 1989, 63(1):181-187.
- [11] Skinner KA, Silberman H, Spoto R, et al. Palpable breast cancers are inherently different from nonpalpable breast cancers [J]. *Ann Surg Oncol*, 2001, 8(9):705-710.
- [12] Foulkes WD, Reis-Filho JS, Narod SA. Tumor size and survival in breast cancer--a reappraisal [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7(6):348-353.
- [13] Narod SA, Valentini A, Nofech-Mozes S, et al. Tumour characteristics among women with very low-risk breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 134(3):1241-1246.
- [14] Tavassoli FA. Breast pathology: rationale for adopting the ductal intraepithelial neoplasia (DIN) classification [J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2005, 2(3):116-117.
- [15] Partridge AH, Elmore JG, Saslow D, et al. Challenges in ductal carcinoma in situ risk communication and decision-making: report from an American Cancer Society and National Cancer Institute workshop [J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(3):203-210.
- [16] Rakovitch E, Nofech-Mozes S, Narod SA, et al. Can we select individuals with low risk ductal carcinoma in situ (DCIS)? A population-based outcomes analysis [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 138(2):581-590.
- [17] Lehtimäki T, Lundin M, Linder N, et al. Long-term prognosis of breast cancer detected by mammography screening or other methods [J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(6):R134.
- [18] Canello G, Maisonneuve P, Rotmensz N, et al. Progesterone receptor loss identifies Luminal B breast cancer subgroups at higher risk of relapse [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(3):661-668.
- [19] Cronin M, Sangli C, Liu ML, et al. Analytical validation of the Oncotype DX genomic diagnostic test for recurrence prognosis and therapeutic response prediction in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer [J]. *Clin Chem*, 2007, 53(6):1084-1091.
- [20] Solin LJ, Gray R, Baehner FL, et al. A multigene expression assay to predict local recurrence risk for ductal carcinoma in situ of the breast [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105(10):701-710.
- [21] Rakovitch E, Nofech-Mozes S, Hanna W, et al. A population-based validation study of the DCIS Score predicting recurrence risk in individuals treated by breast-conserving surgery alone [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, 152(2):389-398.
- [22] Alvarado M, Carter DL, Guenther JM, et al. The impact of genomic testing on the recommendation for radiation therapy in patients with ductal carcinoma in situ: A prospective clinical utility assessment of the 12-gene DCIS score™ result [J]. *J Surg Oncol*, 2015, 111(8):935-940.
- [23] Wood WC, Alvarado M, Buchholz DJ, et al. The current clinical value of the DCIS Score [J]. *Oncology (Williston Park)*, 2014, 28 Suppl 2: C2, 1-8, C3.
- [24] Knopfmacher A, Fox J, Lo Y, et al. Correlation of histopathologic features of ductal carcinoma in situ of the breast with the oncotype DX DCIS score [J]. *Mod Pathol*, 2015, 28(9):1167-1173.
- [25] Esserman LJ, Thompson IM Jr, Reid B. Overdiagnosis and overtreatment in cancer: an opportunity for improvement [J]. *JAMA*, 2013, 310(8):797-798.
- [26] Kondo T, Hayashi N, Ohde S, et al. A model to predict upstaging to invasive carcinoma in patients preoperatively diagnosed with ductal carcinoma in situ of the breast [J]. *J Surg Oncol*, 2015, 112(5):476-480.

(收稿日期:2015-04-14)

(本文编辑:刘军兰)

唐静,王先明. 12 基因模型对乳腺导管原位癌预后预测的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2016, 10(3): 174-176.