

乳腺癌分子分型与新辅助化疗效果的关系

朱坤兵¹ 徐灿² 李晓霞³ 刘启龙¹ 张仁亚³ 马姝¹ 石朋¹

【摘要】 目的 研究乳腺癌分子分型与新辅助化疗效果的关系。**方法** 回顾性分析 2008 年 6 月至 2013 年 6 月在济宁医学院附属医院乳腺甲状腺外科确诊的 136 例原发性乳腺癌并行新辅助化疗的患者资料,以多西他赛+吡柔比星+环磷酰胺(TAC)方案为新辅助化疗方案。分析基于免疫组织化学的乳腺癌分子分型、临床病理特点与新辅助化疗效果的关系。影像学疗效评价采用实体瘤疗效评价标准(RECIST)1.1。不同年龄、腋窝淋巴结状态、Ki67 表达水平、分子分型组间的 pCR 率比较采用 χ^2 检验,不同肿瘤大小组间的 pCR 率比较采用 Fisher 精确概率法。多因素分析采用 Logistic 回归分析。**结果** 新辅助化疗后临床总体缓解率为 84.6% (115/136),其中 pCR 率为 16.2% (22/136),疾病进展(PD)率为 2.9% (4/136)。luminal A 型、luminal B 型、HER-2 过表达型、三阴性乳腺癌的 pCR 率分别为 5.4% (3/56)、10.0% (3/30)、30.0% (9/30)、35.0% (7/20),差异有统计学意义($\chi^2 = 15.132, P = 0.002$),其中 HER-2 过表达型及三阴性乳腺癌新辅助化疗 pCR 率显著高于 luminal A 型($\chi^2 = 9.880, 11.333, P$ 均 <0.008)。单因素分析显示,年龄、分子分型、Ki67 表达水平与新辅助化疗 pCR 率有关($\chi^2 = 15.648, 15.132, 6.278, P$ 均 <0.050)。多因素 Logistic 回归分析显示,年龄和分子分型与新辅助化疗 pCR 率有关($OR = 0.025, 95\% CI: 0.005 \sim 0.136, P < 0.001; OR = 3.644, 95\% CI: 1.851 \sim 7.174, P < 0.001$)。**结论** 乳腺癌新辅助化疗效果与基于免疫组织化学的乳腺癌分子分型有关,三阴性和 HER-2 过表达型乳腺癌新辅助化疗更易获得 pCR。

【关键词】 乳腺肿瘤; 药物疗法,联合; 分子分型; Ki67 抗原

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

Correlation between molecular subtypes and efficacy of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients Zhu Kunbing¹, Xu Can², Li Xiaoxia³, Liu Qilong¹, Zhang Renya³, Ma Shu¹, Shi Peng¹.

¹Department of Breast and Thyroid Surgery, ²Medical Examination Center, ³Department of Pathology, Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining 272029, China

Corresponding author: Zhu Kunbing, Email: zkb8321@163.com

【Abstract】 Objective To explore the correlation between the immunohistochemistry-based molecular subtypes and the efficacy of neoadjuvant chemotherapy in primary breast cancer patients. **Methods** We retrospectively studied the records of 136 patients with primary breast cancers who received neoadjuvant chemotherapy (TAC: docetaxel + pirarubicin + cyclophosphamide) in Department of Breast and Thyroid Surgery, Affiliated Hospital of Jining Medical College from June 2008 to June 2013. The correlation of the immunohistochemistry-based molecular subtypes, clinicopathological characteristics with efficacy of neoadjuvant chemotherapy was analyzed. The response of neoadjuvant chemotherapy was comprehensively evaluated based on Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) 1.1. The pCR rate in groups of different ages, axillary node status, Ki67 expressions and molecular types were processed using χ^2 test and the pCR rate in groups of different tumor diameters were using Fisher exact test. Multivariate analysis was performed using Logistic regression analysis. **Results** After neoadjuvant chemotherapy, the overall response rate was 84.6% (115/136), including pCR in 22 patients (16.2%, 22/136) and disease progression in 4 patients (2.9%, 4/136). The pCR rates of luminal A, luminal B, HER-2 overexpression and triple-negative subtype were 5.4% (3/56), 10.0% (3/30), 30.0% (9/30) and 35.0% (7/20) respectively, indicating a significant difference among them ($\chi^2 = 15.132, P = 0.002$). The pCR rate of HER-2 overexpression or triple-negative

subtype was significantly higher than that of luminal A subtype ($\chi^2 = 9.880, 11.333$, both $P < 0.008$). Univariate analysis showed that pCR rate of patients after neoadjuvant chemotherapy was correlated with patients' age, molecular subtype and Ki67 expression ($\chi^2 = 15.648, 15.132, 6.278$, all $P < 0.050$). In multivariate Logistic regression analysis, pCR rate of patients after neoadjuvant chemotherapy was correlated with patients' age and molecular subtype ($OR = 0.025, 95\% CI: 0.005-0.136, <0.001$; $OR = 3.644, 95\% CI: 1.851-7.174, P < 0.001$). **Conclusion** The efficacy of neoadjuvant chemotherapy is correlated with immunohistochemistry-based molecular subtype, and the patients with triple-negative and HER-2 overexpression breast cancer are more likely to obtain pCR after neoadjuvant chemotherapy.

【Key words】 Breast neoplasms; Drug therapy, combination; Molecular typing; Ki67 antigen

目前对于可手术乳腺癌的新辅助化疗研究较多,新辅助化疗优势:(1)可以检测肿瘤细胞对化疗药物的敏感性;(2)获得 pCR,患者可能获得更好的预后^[1]。乳腺癌是一种高度异质性肿瘤,2013 年 St. Gallen 国际乳腺癌研讨会共识根据基因分析或者免疫组织化学结果将乳腺癌分为不同亚型。luminal A 型:ER、PR 阳性,HER-2 阴性,增殖细胞核抗原 Ki67 $<14\%$;luminal B 型分为 luminal B HER-2 阴性型,即 ER 阳性和 HER-2 阴性、且 PR $\leq 20\%$ 或 Ki67 $\geq 15\%$ 以及 luminal B HER-2 阳性型,即 ER 阳性和 HER-2 阳性,无论 PR 和 Ki67 状态;HER-2 过表达型:HER-2 过表达,ER 和 PR 阴性;三阴性:ER 和 PR 阴性,HER-2 阴性^[2]。临床上基于免疫组织化学检测 ER、PR、HER-2、Ki67 的乳腺癌分子分型对乳腺癌的综合治疗有重要的指导作用。此次分型修改 luminal A、B 型的范围,进一步扩大了乳腺癌辅助治疗的适用范围。本研究旨在探究最新乳腺癌分子分型与新辅助化疗效果的关系。

资料与方法

一、一般资料

回顾性分析 2008 年 6 月至 2013 年 6 月在济宁医学院附属医院乳腺甲状腺外科门诊行空芯针穿刺活检组织检查诊断为浸润性乳腺癌的 136 例患者资料。患者均为女性,年龄 24~65 岁,中位年龄 50 岁。II_A 期 10 例、II_B 期 56 例、III 期 70 例。入组患者临床及辅助检查除外远处转移;无新辅助化疗禁忌证;既往未接受肿瘤相关治疗;患者全部签署新辅助化疗知情同意书。住院患者接受多西他赛 75 mg/m²+吡柔比星 40 mg/m²+环磷酰胺 500 mg/m² (TAC)方案 2~6 个周期新辅助化疗^[3]。本研究获得医学伦理委员会批准。

二、方法

1. 免疫组织化学检测

对 136 例患者新辅助化疗前空芯针穿刺组织蜡

块切片行免疫组织化学染色,采用 MaxVision 两步法,所用抗体 HER-2(克隆号:EP3)、ER(克隆号:SP1)、PR(克隆号:SP2)、Ki67 均为福州迈新生物技术开发有限公司即用型产品,试剂盒选用 MaxVision 即用型快速免疫组织化学自动检测系统。每种免疫标记均设阳性或阴性对照观察。

2. 检测结果判读

由本院病理科两位医师进行独立判读。免疫组织化学结果阳性判定标准:(1)ER、PR 表达于肿瘤细胞核内,以细胞核内有棕色颗粒为阳性;每张切片选择 10 个高倍视野,每个视野观察 100 个肿瘤细胞,计算其中平均阳性的细胞比例,无阳性细胞或者阳性细胞 $<1\%$ 为阴性,阳性细胞 1%~25% 为弱阳性(+),26%~50% 为阳性(++), $>50\%$ 为强阳性(+++)。(2)HER-2 阳性判定标准 HER-2 定位于细胞膜。阴性:存在 $\leq 10\%$ 的不完整细胞膜染色,或者无浸润性癌细胞的染色;1+: $>10\%$ 的浸润性癌细胞呈现不完整的、微弱的细胞膜染色;2+:有两种情况,第一种为 $>10\%$ 的浸润癌细胞呈现不完整和/或弱至中等强度的细胞膜染色,第二种为 $\leq 10\%$ 的浸润癌细胞呈现强而完整的细胞膜染色;3+: $>10\%$ 的浸润癌细胞呈现强而完整的细胞膜染色^[4]。(3)Ki67 表达于肿瘤细胞核内,细胞核呈棕黄色为阳性。每张切片随机数 5 个高倍视野,每个视野计数 200 个细胞,共计数 1 000 个细胞,计算每张切片阳性细胞百分率,无阳性细胞为阴性(-),阳性细胞数 $<10\%$ 为弱阳性(+),10%~30% 为中度阳性(++), $>30\%$ 为强阳性(+++)。由于未对 HER-2(++)患者行 FISH 检查,本研究排除了 HER-2(++)患者入组。

3. 临床疗效评价

按照国际抗癌联盟实体瘤疗效评价标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST) 1.1 标准:完全缓解(complete response, CR);部分缓解(partial response, PR);疾病稳定(stable disease, SD);疾病进展(progressive disease, PD)。完全缓解包括临床完全缓解(clinical

complete response, cCR) 和 pCR^[3]。本研究主要观察指标为 pCR。病理评价: pCR 定义为术后肿瘤原发灶未见浸润性癌残留, 腋窝淋巴结未见癌累及^[5]。

4. 治疗方法

136 例患者均接受 TAC 方案化疗。2 个周期化疗后行彩色超声、乳腺 X 线摄影及磁共振评价新辅助治疗效果^[3]。评价结果为 SD 和 PD 者终止化疗, 行手术治疗。术后更改化疗方案, 以长春瑞滨、吉西他滨、卡铂二线化疗方案行辅助化疗。化疗评价为 CR、PR 者继续新辅助化疗, 完成 4~6 个周期化疗行手术治疗。本组 9 例患者行乳腺癌保留乳房手术, 5 例拟行乳腺癌保留乳房手术, 因术中切缘阳性改行乳腺癌改良根治术, 其余患者均行乳腺癌改良根治术。根据术后病理结果及新辅助化疗前制订方案实施术后综合治疗方案。HER-2 过表达的新辅助化疗患者由于费用原因未行赫赛汀靶向治疗。

5. 统计学分析

应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。不同年龄、腋窝淋巴结状态、Ki67 表达水平、分子分型组间的 pCR 率比较采用 χ^2 检验, 不同肿瘤大小组间的 pCR 率比较采用 Fisher 精确概率法。多因素分析采用 Logistic 回归分析, 以 $P < 0.050$ 为差异有统计学意义。多组间两两比较, 检验水准调整为 0.008。Logistic 回归分析的变量赋值见表 1。

表 1 多因素 Logistic 回归分析变量赋值表

变量	变量分类及赋值
年龄	≤ 50 岁 = 0, > 50 岁 = 1
Ki67	阴性 = 0, 阳性 = 1
分子分型	luminal A = 1, luminal B = 2, HER-2 过表达 = 3, 三阴性 = 4
化疗反应性	非 pCR = 0, pCR = 1

结 果

136 例乳腺癌患者中, luminal A 型占 41% (56/136), luminal B 型占 22% (30/136), HER-2 过表达型 22% (30/136), 三阴性乳腺癌占 15% (20/136)。本研究患者新辅助化疗临床总体缓解率为 84.6% (115/136), 其中 pCR 率为 16.2% (22/136), PR 率为 68.4% (93/136), SD 率 12.5% (17/136), PD 率 2.9% (4/136)。单因素分析显示: 年龄、分子分型、Ki67 表达水平与新辅助化疗 pCR 率有关(表 2)。将年龄、分子分型、Ki67 表达三个因素纳入多因素 Logistic 回归分析, 结果显示年龄和分子分型与新辅

助化疗 pCR 率有关, 而 Ki67 表达水平与新辅助化疗 pCR 率无关(表 3)。

表 2 136 例乳腺癌患者临床病理因素与新辅助化疗效果的关系

临床病理因素	例数	化疗反应性(例)		χ^2 值	<i>P</i> 值
		pCR	非 pCR		
年龄					
≤50 岁	65	19	46	15.648	<0.001
>50 岁	71	3	68		
肿瘤大小					
T ₁	4	1	3	0.585 ^a	
T ₂	81	14	67		
T ₃	21	4	17		
T ₄	30	3	27		
腋窝淋巴结					
阴性	23	3	20	0.200	0.654
阳性	113	19	94		
Ki67					
阴性	82	8	74	6.278	0.012
阳性	54	14	40		
分子分型 ^b					
luminal A	56	3	53	15.132	0.002
luminal B	30	3	27		
HER-2 过表达	30	9	21		
三阴性	20	7	13		

注: ^a Fisher 精确概率法; ^b 多组间两两比较结果显示, luminal A 型乳腺癌患者 pCR 率显著低于 HER-2 过表达和三阴性乳腺癌患者, $\chi^2 = 9.880, 11.333, P$ 均 < 0.008 , 其他组间比较, 差异均无统计学意义, P 均 > 0.008 。

表 3 136 例乳腺癌患者临床病理因素与新辅助化疗效果的多因素 Logistic 回归分析

临床病理因素	回归系数	标准误	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄	-3.685	0.862	18.300	<0.001	0.025	0.005~0.136
Ki67	0.971	0.636	2.332	0.127	2.642	0.759~9.191
分子分型	1.293	0.346	13.995	<0.001	3.644	1.851~7.174

讨 论

乳腺癌分子分型是以肿瘤的基因表达谱系为分类的金标准, 但由于检测费用高, 限制了在临床中的应用。尽管与基因芯片检测有差异, 以免疫组织化学检测(ER、PR、HER-2、Ki67)来预测乳腺癌分子分型逐步被临床认可^[6-8]。本研究是基于免疫组织化学检测来确定乳腺癌分子分型。乳腺癌新辅助化疗后获得 pCR 可使患者具有更好的预后, 这使乳腺癌

的治疗更趋合理^[1]。本研究结果显示,三阴性和 HER-2 过表达型乳腺癌患者新辅助化疗后更易获得 pCR,三阴性乳腺癌患者新辅助化疗获得 pCR 率高,这与周怡君和 Yoo 等^[9-10]的报道一致。但 Bonnefoi 等^[1]的研究显示,HER-2 过表达型乳腺癌患者新辅助化疗 pCR 率最高,达 36%,这可能由于免疫组织化学检测方法的差异所致。周怡君等^[10]的研究提示,新辅助化疗效果与肿瘤大小有关。本研究结果显示,肿瘤大小、患者年龄与新辅助化疗效果有关,与分子分型有关,提示年轻患者、分子分型为三阴性或 HER-2 过表达型更易获得 pCR,更易从新辅助化疗中获益。

2013 年 St. Gallen 国际乳腺癌研讨会共识乳腺癌分子分型指南中调整了 luminal A、B 型的范围,缩小了 luminal A 型的范围,扩大了 luminal B 型的范围,扩大了乳腺癌辅助治疗范围^[2]。但本组研究结果显示,luminal B 型的新辅助化疗 pCR 率与 luminal A 型差异无统计学意义,三阴性和 HER-2 过表达型 pCR 率与 luminal B 型相比亦差异无统计学意义。此结果需要大样本数据进一步证实。

Ki67 是一种反应细胞增殖的抗原,其功能与有丝分裂密切相关。目前多项研究证实,Ki67 表达水平与乳腺癌新辅助化疗效果有关^[11-13]。本研究单因素分析显示,Ki67 高表达组的 pCR 率高于低表达组,提示 Ki67 的高表达可能与新辅助化疗高 pCR 率有关。周怡君等^[10]亦在单因素分析中出现此结果。但在本组数据多因素 Logistic 回归分析中发现新辅助化疗 pCR 率与 Ki67 无相关性,可能和部分亚型 Ki67 的样本数较少有关,对此结果需要进一步研究证实。

由于基于基因分析的乳腺癌分子分型费用高昂,限制其在临床的应用。本研究支持以免疫组织化学为基础的乳腺癌分子分型可以作为制定临床治疗方案的依据。乳腺癌新辅助化疗效果与以免疫组织化学为基础乳腺癌分子分型有关。三阴性乳腺癌和 HER-2 过表达型乳腺癌新辅助化疗后更易获得 pCR,特别是年轻患者。

参 考 文 献

- [1] Bonnefoi H, Litière S, Piccart M, et al. Pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy is an independent predictive factor irrespective of simplified breast cancer intrinsic subtypes: a landmark and two-step approach analyses from the EORTC 10994/BIG 1-00 phase III trial[J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(6): 1128-1136.
- [2] 王新昭, 左文述, 刘琪, 等. 2013 年 St Gallen 乳腺癌会议国际专家共识荟萃[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2013, 20(23): 1859-1864.
- [3] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2013 版)[J]. *中国癌症杂志*, 2013, 23(8): 637-684.
- [4] 乳腺癌 HER2 检测指南(2014 版)编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南(2014 版)[J]. *中华病理学杂志*, 2014, 43(4): 262-267.
- [5] Mazouni C, Peintinger F, Wan-Kau S, et al. Residual ductal carcinoma in situ in patients with complete eradication of invasive breast cancer after neoadjuvant chemotherapy does not adversely affect patient outcome[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(19): 2650-2655.
- [6] Lips EH, Mulder L, de Ronde JJ, et al. Breast cancer subtyping by immunohistochemistry and histological grade outperforms breast cancer intrinsic subtypes in predicting neoadjuvant chemotherapy response[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 140(1): 63-71.
- [7] Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, 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.
- [8] Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ, et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases[J]. *Cancer*, 2010, 116(6): 1431-1439.
- [9] Yoo C, Ahn JH, Jung KH, et al. Impact of immunohistochemistry-based molecular subtype on chemosensitivity and survival in patients with breast cancer following neoadjuvant chemotherapy[J]. *J Breast Cancer*, 2012, 15(2): 203-210.
- [10] 周怡君, 英旻, 何英剑, 等. 原发性乳腺癌分子分型与新辅助化疗疗效的相关性分析[J]. *中华医学杂志*, 2013, 93(22): 1711-1714.
- [11] 程元甲, 叶京明, 徐玲, 等. 乳腺癌新辅助治疗病理完全缓解预测因素分析[J]. *中华外科杂志*, 2013, 51(4): 339-343.
- [12] Kim KI, Lee KH, Kim TR, et al. Ki-67 as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients[J]. *J Breast Cancer*, 2014, 17(1): 40-46.
- [13] Ingolf JB, Russalina M, Simona M, et al. Can ki-67 play a role in prediction of breast cancer patients' response to neoadjuvant chemotherapy[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 628 217.

(收稿日期: 2015-09-09)

(本文编辑: 宗贝歌)

朱坤兵, 徐灿, 李晓霞, 等. 乳腺癌分子分型与新辅助化疗效果的关系[J/CD]. *中华乳腺病杂志: 电子版*, 2016, 10(3): 166-169.