

循环肿瘤 DNA 预测激素受体阳性晚期乳腺癌患者内分泌治疗耐药的临床分析

易宗毕¹ 马飞¹ 远丽芳² 李春晓³ 管彦芳⁴ 管秀雯¹ 黎立喜¹ 王佳玉¹ 徐兵河¹

【摘要】 目的 探讨多基因联合检测预测激素受体阳性晚期乳腺癌患者内分泌治疗耐药的临床应用价值。**方法** 采用回顾性病例分析方法,收集 2015 年 1 月至 2016 年 8 月中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院收治的 30 例激素受体阳性晚期乳腺癌患者的临床资料。于患者治疗前采集其外周血 10 ml,利用目标区域捕获测序技术检测循环肿瘤 DNA(ctDNA)突变情况。根据患者是否存在耐药相关基因(TP53、PIK3CA、mTOR、ERBB2、ESR1、FGFR1)突变,将其分为基因突变组和非基因突变组。分析内分泌治疗耐药与基因突变的关系。采用 Kaplan-Meier 法绘制 2 组患者的无进展生存(PFS)曲线,用 Log-rank 检验比较两者之间的差异。并用 χ^2 检验比较基因突变组与非基因突变组患者发生原发耐药的差异。**结果** 在 30 例患者中,基因突变组与非基因突变组患者分别有 20 例和 10 例。随访 1~19 个月,中位随访时间为 3 个月,2 组患者中位 PFS 分别为 3 个月和 5 个月,并且,基因突变组患者 6 个月 PFS 率明显低于非基因突变组(10%比 50%, $\chi^2=8.328$, $P=0.004$)。20 例基因突变组患者中,原发耐药者 18 例,继发耐药者 2 例,而 10 例非基因突变组患者中原发耐药者 5 例,继发耐药者 5 例;基因突变组原发耐药者比非基因突变组多($\chi^2=5.963$, $P=0.026$)。**结论** 联合检测多个耐药相关基因的 ctDNA,能够预测晚期乳腺癌患者内分泌治疗耐药。

【关键词】 乳腺肿瘤; 受体,雌激素; 药物疗效; 循环肿瘤 DNA

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

Circulating tumor DNA predicting resistance to endocrine therapy in hormone receptor positive advanced breast cancer Yi Zongbi¹, Ma Fei¹, Yuan Lifang², Li Chunxiao³, Guan Yanfang⁴, Guan Xiuwen¹, Li Lixi¹, Wang Jiayu¹, Xu Binghe¹. ¹Department of Medical Oncology, ³National Key Laboratory of Molecular Oncology, National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China; ²Department of Medical Oncology, Huanxing Cancer Hospital, Beijing 100122, China; ⁴Geneplus-Beijing, Beijing 100096, China

Corresponding author: Ma Fei, Email:mafei2011@139.com

【Abstract】 Objective To evaluate the feasibility of serial gene-panel circulating tumor DNA (ctDNA) sequencing in predicting resistance to endocrine therapy of hormone receptor (HR) positive advanced breast cancer. **Methods** We retrospectively analyzed the clinical data of 30 patients with HR positive advanced breast cancer in the Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College from January 2015 to August 2016. Blood sample of 10 ml was collected from these patients before endocrine therapy. ctDNA mutation was assayed by gene-panel target-capture next-generation sequencing. Based on the existence of drug resistance-related gene mutation (TP53, PIK3CA, mTOR, ERBB2, ESR1 and FGFR1), all samples were further subdivided into two groups: mutant group and non-mutant group. The relationship between resistance to endocrine therapy and gene mutation was analyzed. Survival curves of progression-free survival (PFS) were estimated using the Kaplan-Meier method and comparison of these estimates was performed using log-rank test. χ^2 test was used to compare the primary drug resistance rates between mutant group and non-mutant group. **Results** In all 30 patients, there were

20 patients in mutant group and 10 patients in non-mutant group respectively. The median follow-up was 3 months (range 1–19 months). The median PFS was 3.0 months in the mutant group and 5.0 months in non-mutant group respectively. The 6-month PFS in mutant group was significantly lower than that in non-mutant group (10% vs 50%, $\chi^2 = 8.328$, $P = 0.004$). In mutant group (20 patients), 18 patients had primary resistance to endocrine therapy and 2 patients had secondary resistance. In non-mutant group (10 patients), 5 patients had primary resistance to endocrine therapy and 5 patients had secondary resistance. The primary resistance rate in mutant group was significantly higher than that in non-mutant group ($\chi^2 = 5.963$, $P = 0.026$). **Conclusion** The combined detection of ctDNA in multiple drug resistance-related genes can predict the resistance to endocrine therapy in HR positive advanced breast cancer patients.

【Key words】 Breast neoplasms; Receptors, estrogen; Drug response; Circulating tumor DNA

乳腺癌是威胁全球女性健康的第一大恶性肿瘤,其中约 70% 的乳腺癌患者 ER 和/或 PR 阳性^[1]。内分泌治疗是激素受体阳性乳腺癌患者综合治疗的重要组成部分。尽管大部分激素受体阳性的乳腺癌患者能从内分泌治疗中获益,但长期的内分泌治疗后耐药发生率较高^[1-2]。目前临床上对于耐药的判定主要以连续影像学检查作为参考,然而影像学往往不能及时准确地判断疗效。因此寻找新的能实时监测内分泌治疗耐药的生物标志物显得尤为重要。

循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 作为液态活组织检查(活检)的一种靶标已经被研究多年^[3]。随着测序技术的发展,ctDNA 因为其创伤小、方便获取、能实时监测等特点已成为精准医学领域研究的热点^[4]。通过检测 ctDNA 基因突变信息,可以追踪肿瘤整个治疗过程中内在的基因突变事件。诸多研究表明,检测 ctDNA 特定的耐药相关基因在预测药物疗效方面有着重要的价值^[5-6]。然而单个基因并不能很好的预测乳腺癌内分泌治疗耐药。可能原因有耐药是多种机制共同作用的结果^[7-9],而且在治疗过程中肿瘤基因的突变谱也不断发生着变化。本研究采用二代测序技术检测激素受体阳性晚期乳腺癌患者 ctDNA 突变情况,探讨多基因联合检测对于预测乳腺癌内分泌治疗耐药的临床应用价值。

资料与方法

一、一般资料

采用回顾性病例分析方法,收集 2015 年 1 月至 2016 年 8 月在中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院接受内分泌治疗的 30 例激素受体阳性晚期乳腺癌女性患者的临床资料。

纳入标准:(1)患者经病理确诊为浸润性乳腺癌;(2)穿刺或手术切除标本免疫组织化学染色结果为激素受体阳性;(3)标本采集在内分泌治疗前 1 个月内进行;(4)治疗前已采集 10 ml 外周血行目标区域捕获测序检测 ctDNA 突变情况。排除标准:

(1)乳腺转移性肿瘤;(2)早期乳腺癌患者;(3)内分泌治疗联合化疗或靶向治疗的患者。

所有研究材料均得到中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院医学伦理委员会(批准文号:16-038/1117)和患者的许可,并且患者均签署知情同意书。

二、内分泌治疗疗效评价标准

患者内分泌治疗期间,采用实体瘤的疗效评价标准 1.1 版^[10] 每 2~3 个月进行 1 次临床疗效评估,直至疾病进展。根据疗效评价结果可分为完全缓解、部分缓解、疾病稳定和疾病进展。既往化疗和内分泌治疗临床疗效评价也采用该标准。

三、乳腺癌内分泌治疗耐药的界定^[11]

临床上定义原发性内分泌治疗耐药为:术后辅助内分泌治疗 2 年内出现复发转移,或转移性乳腺癌内分泌治疗 6 个月内出现疾病进展。继发性内分泌治疗耐药定义为:术后辅助内分泌治疗 2 年后出现复发转移,或在完成辅助内分泌治疗 12 个月内出现复发转移,或转移性乳腺癌内分泌治疗超过 6 个月出现进展。

单个基因点突变或者拷贝数扩增,并不能很好地预测激素受体阳性晚期乳腺癌患者内分泌治疗效果,因此,本研究选取了 6 个既往文献报道的耐药相关基因 (TP53、PIK3CA、mTOR、ERBB2、ESR1、FGFR1)^[7-9] 建立联合检测多个耐药相关基因预测内分泌治疗耐药的模型。如果患者出现以下一个或多个事件将归为基因突变组,否则归为非基因突变组:(1)TP53、PIK3CA、mTOR、ESR1 其中 1 个或多个基因发生耐药相关的点突变;(2)ERBB2 基因点突变或拷贝数扩增;(3)FGFR1 基因发生拷贝数扩增。

四、患者生存指标的定义

无进展生存 (progression-free survival, PFS) 期指从治疗开始至疾病进展或死亡的时间。DFS 指从手术开始至疾病复发或死亡(因任何原因)之间的时间。未达终点时间的以末次随访时间为终点。末次随访时间为 2016 年 10 月 1 日。

五、标本采集

在患者接受后续内分泌治疗前 1 个月内,采集

外周血 10 ml 置于依地酸钠钙抗凝管中,血浆标本在 4℃ 条件下以 1 600×g 离心 10 min(离心机半径为 11.5 cm),之后取上层血浆于 4℃ 条件下以 1 600×g,离心 10 min,共 2 次,以去除残余细胞。血浆和相应的血细胞标本置于 -80℃ 冰箱冷冻储存。为了防止白细胞溶解,标本在 2 h 内进行血浆/血细胞分离。

六、ctDNA 提取检测分析

1. DNA 提取

使用循环核酸提取试剂盒(德国 Qiagen 公司)和血液 DNA 提取试剂盒(德国 Qiagen 公司),按照试剂盒说明书分别提取 ctDNA 和基因组 DNA (genomic DNA, gDNA)。通过 ctDNA 测序以检测体细胞突变, gDNA 为正常对照。

2. 目标捕获和测序

本研究检测了肿瘤相关的 368 个基因,并选取其中 6 个耐药相关基因 (TP53、PIK3CA、mTOR、ERBB2、ESR1、FGFR1) 进行分析。具体操作简述如下:使用 KAPA DNA 文库制备试剂盒(美国 Kapa Biosystems 公司)制备 ctDNA 测序文库,使用 Illumina TruSeq DNA 文库制备试剂盒(美国 Illumina 公司)推荐方法制备 gDNA 测序文库。当样本量接近最小输入需求值时,增加预捕获 PCR 循环数以产生足量产物用于杂交。文库与定制设计的生物素寡核苷酸探针(美国 Roche NimbleGen 公司)杂交。DNA 测序采用 HiSeq 3000(美国 Illumina 公司)双端测序,读取碱基的长度为 2×101 bp。

3. 测序数据分析

由经验丰富的生物信息学人员评估筛选碱基读取质量,测序序列匹配质量和测序深度等。检出变异满足以下条件者被过滤掉:低碱基质量(Phred 质量评分) < 13;测定序列突变全部在同侧链;Phred 质量评分 ≥ 30 的碱基所占百分比不达标;突变位置有效检测次数 < 3 次;突变检出位置在测出序列的两端^[12]。血浆 ctDNA 等位基因分数 = 突变的检出序列数 / (未突变检出序列数 + 突变的检出序列数) × 100%^[13]。

七、统计学分析

使用 SPSS 19.0 统计软件包对数据进行处理、分析。采用 Fisher 确切概率法比较基因突变组与非基因突变组患者临床特征的差异,用 χ^2 检验比较基因突变组与非基因突变组患者发生原发耐药的差异。并用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,用 Log-rank 检验比较基因突变组与非基因突变组及单个基因突变型与野生型患者 PFS 的差异。检验水准双侧 $\alpha = 0.050$ 。

结 果

一、患者基线资料

总共纳入 30 例患者,年龄为 (45.0 ± 11.3) 岁,年龄范围 24.0 ~ 68.0 岁。其中有 7 例首诊为晚期乳腺癌患者,其余患者均行了乳腺癌根治术。有 1 例患者既往未行内分泌治疗,其余患者至少接受过 1 次内分泌治疗,患者基本信息见表 1。患者中发生基因突变者 20 例(基因突变组),未发生基因突变者 10 例(非基因突变组),2 组比较,HER-2 状态、转移器官数、既往辅助内分泌治疗情况、既往内分泌治疗药物及次数的差异均无统计学意义(表 2),组间具有可比性。

二、基因检测结果

在 30 例患者中,有 20 例(67%)患者检测出耐药相关基因拷贝数变异和/或点突变(point mutation),其中,10 例(33%)患者检测出 PIK3CA 突变,6 例(20%)检出 ESR1 突变,10 例(33%)检测出 TP53 突变,3 例(10%)检出 mTOR 突变,6 例(20%)检出 ERBB2 变异(包括 4 例点突变,2 例拷贝数扩增,并且,总共 13 例初始检测 HER-2 为阳性的患者中,有 2 例 ctDNA 仍然为拷贝数扩增),4 例(13%)检出 FGFR1 拷贝数扩增。

三、耐药相关基因突变和 PFS 的关系

30 例患者均发生了疾病进展即达到了终点事件,随访时间在 1 ~ 19 个月,中位随访时间为 3 个月。基因突变组与非基因突变组患者中位 PFS 分别为 3 个月和 5 个月,基因突变组患者 6 个月 PFS 率明显低于非基因突变组(10% 比 50%, $\chi^2 = 8.328$, $P = 0.004$,图 1)。

分别比较单个基因突变型与野生型患者之间 PFS 的差别,结果显示:TP53 基因突变型与野生型患者中位 PFS 分别为 2 个月和 4 个月,突变型患者 6 个月 PFS 率明显低于野生型患者(10% 比 30%, $\chi^2 = 6.277$, $P = 0.012$,图 2a);mTOR 基因突变型与野生型患者中位 PFS 分别为 2 个月和 4 个月,突变型患者 6 个月 PFS 率明显低于野生型患者(0 比 26%, $\chi^2 = 6.891$, $P = 0.009$,图 2b)。而 ERBB2、ESR1、FGFR1、PIK3CA 突变型患者与野生型患者之间 PFS 差异均无统计学意义(图 2c ~ f)。

四、耐药相关基因突变与临床耐药的关系

30 例患者原发耐药有 23 例,继发耐药有 7 例。其中基因突变组原发耐药者 18 例(90%),继发耐药者 2 例(10%),而非基因突变组原发耐药者 5 例,继发耐药者 5 例;基因突变组原发耐药者比非基因突变组多($\chi^2 = 5.963$, $P = 0.026$)。

表 1 30 例激素受体阳性晚期乳腺癌患者基本信息

编号	发病年龄 (岁)	HER-2	Ki67(%)	转移器官 (个)	是否手术	既往内分泌 治疗(次)	既往化疗 (次)	既往靶向 治疗(次)	DFS(月)	药物	PFS(月)
P1	52	阳性	5	3	是	2	3	1	14	托瑞米芬	7
P2	47	阴性	0	4	是	2	4	3	44	阿那曲唑	2
P3	31	阴性	5	3	是	2	5	3	9	托瑞米芬	3
P4	41	阳性	20	3	是	3	5	3	19	来曲唑	12
P5 ^a	58	阳性	40	3	否	3	4	4		来曲唑	2
P6	46	阴性	40	4	是	1	2	0	39	来曲唑	4
P7	45	阴性	20	4	是	1	3	1	50	来曲唑	1
P8	46	阴性	10	3	是	2	6	0	29	托瑞米芬	18
P9	44	阳性	25	1	是	1	1	0	64	来曲唑	19
P10	34	阳性	2	3	是	1	2	1	23	来曲唑	5
P11	34	阳性	30	2	是	1	1	0	50	依西美坦	3
P12	24	阳性	30	2	是	2	7	1	29	来曲唑	8
P13	26	阳性	5	4	是	1	6	6	8	氟维司群	5
P14 ^a	55	阳性	18	2	否	1	0	1		来曲唑	3
P15	32	阳性	25	3	是	2	4	3	62	托瑞米芬	2
P16 ^a	47	阳性	35	3	否	2	2	0		来曲唑	1
P17	46	阴性	25	4	是	2	4	0	49	来曲唑	1
P18 ^a	68	阳性	35	2	否	0	2	1		依西美坦	2
P19 ^a	34	阴性	60	4	否	1	2	0		托瑞米芬	3
P20	55	阴性	25	2	是	1	0	0	74	氟维司群	5
P21 ^a	68	阴性	10	3	否	3	1	0		阿那曲唑	3
P22	39	阴性	50	2	是	1	0	1	57	来曲唑	4
P23	42	阴性	30	1	是	2	2	0	83	托瑞米芬	4
P24	47	阴性	50	2	是	2	6	1	13	托瑞米芬	1
P25	64	阴性	NA	2	是	2	NA	NA	21	托瑞米芬	11
P26 ^a	42	阴性	25	4	否	1	0	0		托瑞米芬	3
P27	48	阴性	30	4	是	1	0	1	31	来曲唑	2
P28	30	阳性	70	3	是	1	0	2	21	依西美坦	7
P29	45	阴性	50	3	是	2	NA	0	37	托瑞米芬	2
P30	51	阴性	NA	4	是	2	NA	1	132	托瑞米芬	5

注:^a首诊为晚期未行手术的患者;HER-2 为人表皮生长因子受体 2;DFS 为无瘤生存;PFS 为无进展生存期;NA 代表不明确

讨 论

肿瘤的基因突变是在不断变化的,这种变化可由肿瘤的治疗诱发。激素受体阳性乳腺癌是所有乳腺癌中预后相对较好的一种亚型,内分泌治疗是其重要的治疗手段,但是,在其长期的内分泌治疗过程中,随着肿瘤基因的演变和突变,随时可能产生耐药克隆^[2]。检测肿瘤转移病灶的基因突变可以预测药物疗效,但由于该操作创伤大、有一定风险以及患者难以接受等因素导致获取转移灶组织相当困难。而通过检测外周血 ctDNA 能够获取肿瘤基因突变信息,并且,由于 ctDNA 来自于全身所有肿瘤释放的 DNA 片段,因此能更好的代表肿瘤异质性,从而避

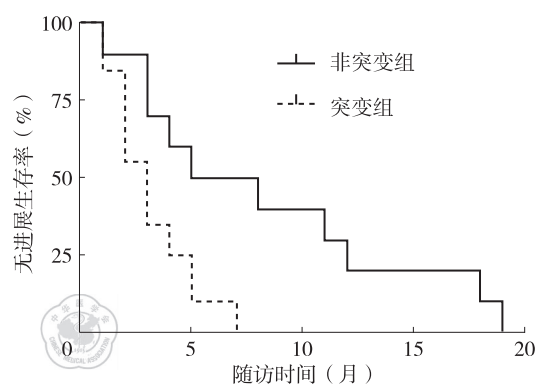
免实体瘤因肿瘤异质性造成的取样偏倚问题^[14]。本研究表明,联合检测 ctDNA 多个耐药相关基因能够预测晚期乳腺癌患者内分泌治疗耐药。

既往研究表明,内分泌治疗耐药的主要机制包括:(1)ER 结构和功能异常,如 ESR1 突变或拷贝数扩增^[7];(2)生长因子通路激活,如 ERBB2 和 EGFR 等基因突变或拷贝数扩增,以及下游信号分子 PI3K (PIK3CA、mTOR) 突变^[8-9];(3)细胞衰老或凋亡相关基因突变,如 TP53 突变^[4];(4)其他导致分子环境改变或药物代谢异常的因素^[8]。本研究选取了既往文献报道与内分泌治疗耐药明确相关的 6 个基因,包括 TP53、PIK3CA、mTOR、ERBB2、ESR1 和 FGFR1^[8-9]。TP53 突变在三阴性乳腺癌中常见,突变

表2 基因突变组与非基因突变组乳腺癌患者
临床特征对比(例)

临床特征	基因突变组 (n=20)	非基因突变组 (n=10)	P 值
HER-2 状态			
阳性	9	4	1.000
阴性	11	6	
转移器官数			
1~2个	4	6	0.077
3个	8	3	
4个	8	1	
既往内分泌治疗情况			
初治晚期患者	5	2	0.893
原发耐药	6	2	
继发耐药	7	5	
有效	2	1	
既往内分泌治疗次数			
0~1	10	4	0.709
≥2	10	6	
内分泌治疗药物			
SERMs	10	2	0.256
AI	9	7	
SERDs	1	1	

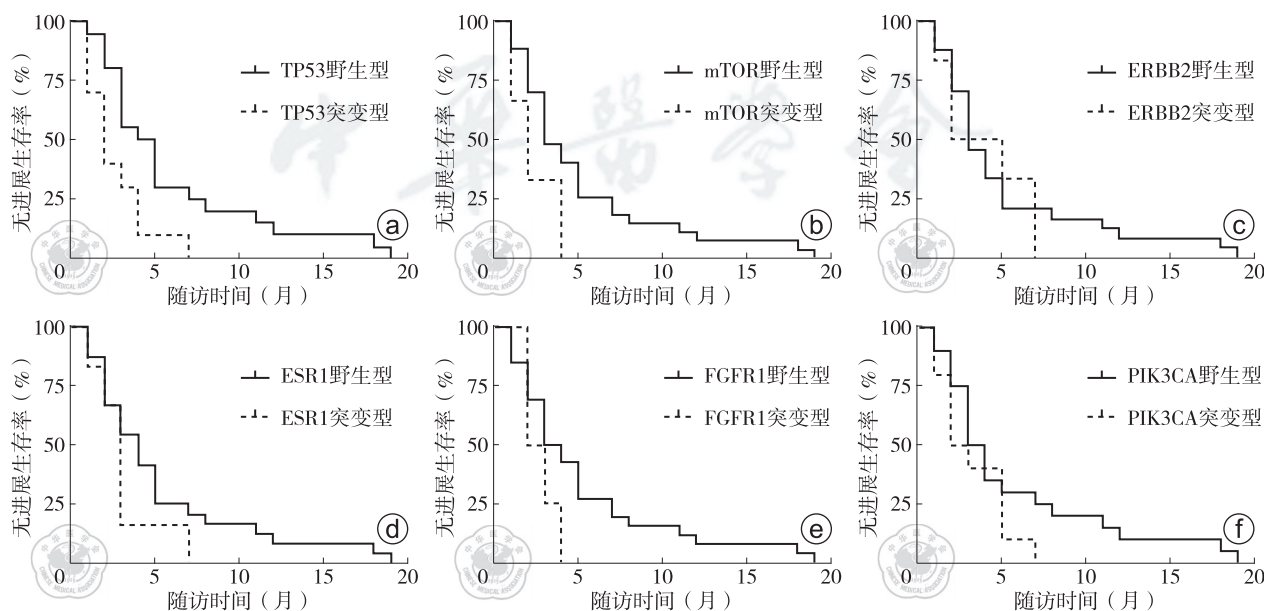
注:SERMs 为选择性雌激素受体调节剂(他莫昔芬、托瑞米芬);
SERDs 为选择性雌激素受体下调剂(氟维司群);AI 为芳香化酶抑制剂
(阿那曲唑、来曲唑、依西美坦)



注:基因突变组(n=20)与非基因突变组(n=10)乳腺癌患者相比, $\chi^2=8.328, P=0.004$

图1 基因突变组与非基因突变组乳腺癌患者无进展生存曲线比较

频率可达80%以上^[9],而在激素受体阳性乳腺癌中相对少见。既往文献报道,luminal A型患者中TP53基因突变者占12%,而luminal B型患者中TP53基因突变者占30%,并且,TP53突变会导致激素受体阳性乳腺癌患者内分泌治疗耐药^[5]。本研究显示,激素受体阳性乳腺癌患者TP53突变者占33%(10/30),与既往文献报道相似。PIK3CA/mTOR通路在肿瘤增殖、侵袭及转移中发挥着重要作用,70%乳腺癌患者可见该通路激活,激素受体阳性乳腺癌特别是luminal B型PIK3CA常呈现高激活状态^[15]。本研究检测出33%(10/33)患者PIK3CA基因突变,10%(3/30)患者mTOR基因突变,且同一患者



注:a图所示,TP53基因突变型(n=10)与野生型(n=20)乳腺癌患者相比, $\chi^2=6.277, P=0.012$;b图所示,mTOR基因突变型(n=3)与野生型(n=27)乳腺癌患者相比, $\chi^2=6.891, P=0.009$;c图所示,ERBB2基因突变型(n=6)与野生型(n=24)乳腺癌患者相比, $\chi^2=0.221, P=0.639$;d图所示,ESR1基因突变型(n=6)与野生型(n=24)乳腺癌患者相比, $\chi^2=1.494, P=0.222$;e图所示,FGFR1基因突变型(n=4)与野生型(n=26)乳腺癌患者相比, $\chi^2=1.863, P=0.172$;f图所示,PIK3CA基因突变型(n=10)与野生型(n=20)乳腺癌患者相比, $\chi^2=1.845, P=0.174$

图2 各基因突变型与野生型乳腺癌患者间无进展生存曲线比较

PIK3CA 基因突变可有多个亚克隆。ERBB2 基因点突变或者拷贝数扩增与乳腺癌内分泌治疗耐药相关^[16]。本研究检测出 20% (6/30) 患者 ERBB2 基因变异,其中 4 例点突变,2 例拷贝数扩增;6 例患者免疫组织化学染色均为 HER-2 过表达型。然而,总共 13 例初始检测 HER-2 为阳性的患者,只有 2 例患者 ctDNA 中仍然为拷贝数扩增,可能原因有以下几点:肿瘤存在空间异质性,原发灶与转移灶的基因突变谱存在差异;肿瘤存在时间异质性;技术原因导致检测 ctDNA 拷贝数变异敏感度差。ESR1 基因突变主要见于继发性内分泌治疗耐药的患者。既往研究表明,在接受过芳香化酶抑制剂治疗的激素受体阳性转移性乳腺癌患者中,20%~50% 存在 ESR1 基因突变^[17-19]。有文献报道,ER 阳性转移性乳腺癌患者 ESR1 基因突变频率可达 89.3%^[17]。本研究利用 ctDNA 检测激素受体阳性晚期患者 ESR1 基因突变率为 20% (6/30)。约 10% 乳腺癌患者发生 FGFR1 拷贝数扩增,并且其与患者预后不佳有关^[8]。既往研究显示,FGFR1 是细胞高度增殖、患者预后不佳的因素,也是 ER 阳性乳腺癌的重要驱动基因,可以导致内分泌治疗耐药^[8,19]。本研究中 FGFR1 基因突变率为 13% (4/30),也验证了之前的结论。

本研究中生存分析结果显示,基因突变组患者 PFS 明显短于非基因突变组,差异有统计学意义,说明联合检测这 6 个基因的 ctDNA 能很好地预测激素受体阳性晚期乳腺癌患者内分泌治疗耐药。笔者进一步分析了单基因点突变与生存的关系,发现所有突变型患者的 PFS 均较野生型患者短,其中,TP53、mTOR 基因的突变型与野生型患者之间 PFS 差异均具有统计学意义,但是,样本量小,结论有待进一步验证。笔者还分析了耐药相关基因突变与临床耐药的关系,结果发现,基因突变组患者发生原发耐药者显著高于非基因突变组,提示耐药相关基因突变可能更容易导致原发耐药。

综上所述,联合检测多个耐药相关基因的 ctDNA,能够预测晚期乳腺癌患者内分泌治疗的耐药。但是,本研究为回顾性病例分析,且样本量较小,内分泌治疗药物不统一,期望有大样本随机对照研究进一步验证该模型的临床应用价值。

参 考 文 献

[1] Robinson DR, Wu YM, Vats P, et al. Activating ESR1 mutations in

hormone-resistant metastatic breast cancer [J]. Nat Genet, 2013, 45(12):1446-1451.

- [2] Toy W, Shen Y, Won H, et al. ESR1 ligand-binding domain mutations in hormone-resistant breast cancer [J]. Nat Genet, 2013, 45(12):1439-1445.
- [3] Diaz LA Jr, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA [J]. J Clin Oncol, 2014, 32(6):579-586.
- [4] Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients [J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(6):426-437.
- [5] Misale S, Yaeger R, Hobor S, et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer [J]. Nature, 2012, 486(7404):532-536.
- [6] Ma F, Zhu W, Guan Y, et al. ctDNA dynamics: a novel indicator to track resistance in metastatic breast cancer treated with anti-HER2 therapy [J]. Oncotarget, 2016, 7(40):66 020-66 031.
- [7] Jeselsohn R, Buchwalter G, De Angelis C, et al. ESR1 mutations—a mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2015, 12(10):573-583.
- [8] Turner N, Pearson A, Sharpe R, et al. FGFR1 amplification drives endocrine therapy resistance and is a therapeutic target in breast cancer [J]. Cancer Res, 2010, 70(5):2085-2094.
- [9] Ma CX, Reinert T, Chmielewska I, et al. Mechanisms of aromatase inhibitor resistance [J]. Nat Rev Cancer, 2015, 15(5):261-275.
- [10] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(2):228-247.
- [11] 徐兵河, 江泽飞, 胡夕春. 中国晚期乳腺癌临床诊疗专家共识 2016 [J]. 中华医学杂志, 2016, 96(22):1719-1727.
- [12] Fang CH, Chang YJ, Chung WC, et al. Subset selection of high-depth next generation sequencing reads for de novo genome assembly using MapReduce framework [J]. BMC Genomics, 2015, 16 Suppl 12:S9.
- [13] Schneeberger K. Using next-generation sequencing to isolate mutant genes from forward genetic screens [J]. Nat Rev Genet, 2014, 15(10):662-676.
- [14] Chabon JJ, Simmons AD, Lovejoy AF, et al. Circulating tumour DNA profiling reveals heterogeneity of EGFR inhibitor resistance mechanisms in lung cancer patients [J]. Nat Commun, 2016, 7:13 513.
- [15] Dancy J. mTOR signaling and drug development in cancer [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2010, 4(7):209-219.
- [16] Zilli M, Grassadonia A, Tinari N, et al. Molecular mechanisms of endocrine resistance and their implication in the therapy of breast cancer [J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1795(1):62-81.
- [17] Niu J, Andres G, Kramer K, et al. Incidence and clinical significance of ESR1 mutations in heavily pretreated metastatic breast cancer patients [J]. Onco Targets Ther, 2015, 8:3323-3328.
- [18] Schiavon G, Hrebien S, Garcia-Murillas I, et al. Analysis of ESR1 mutation in circulating tumor DNA demonstrates evolution during therapy for metastatic breast cancer [J]. Sci Transl Med, 2015, 7(313):313ra182.
- [19] 廖宁. 超越过去的认知——2016 乳腺癌内分泌精准治疗 [J]. 循证医学, 2016, 16(3):136-142.

(收稿日期:2016-10-26)

(本文编辑:罗承丽)

易宗毕, 马飞, 远丽芳, 等. 循环肿瘤 DNA 预测激素受体阳性晚期乳腺癌患者内分泌治疗耐药的临床分析 [J/CD]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2017, 11(3):132-137.