

## 二代测序技术在乳腺癌精准治疗中的应用

于鑫森 金锋

**【摘要】** 二代测序技术推动了乳腺癌精准医疗的发展。在乳腺癌基因组学方面,二代测序技术可以识别乳腺癌驱动基因,发现新的易感基因及突变类型,有助于乳腺癌发病风险评估和管理。在乳腺癌个体化治疗方面,二代测序技术可以检测和分析乳腺癌相关治疗靶点及信号通路,指导靶向药物和治疗方案的选择,实现精准用药。二代测序结合液体活组织检查技术,在乳腺癌动态监测方面也有着重要的临床意义。笔者总结了二代测序技术在乳腺癌精准治疗方面的研究进展,有助于更全面深入地探究乳腺癌的本质,最终实现精准医疗。

**【关键词】** 乳腺肿瘤; 高通量核苷酸测序; 精准治疗

**【中图分类号】** R737.9 **【文献标志码】** A

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,发病率居女性恶性肿瘤首位<sup>[1]</sup>。全球乳腺癌发病率自20世纪70年代末开始一直呈上升趋势,而中国乳腺癌发病率远远高于全球平均水平,截止2008年,中国乳腺癌发病例数是169 452例,中国乳腺癌新确诊人数占全球的12.2%<sup>[2]</sup>。如何更加精准、有效地对乳腺癌进行防治,是全球共同面临的问题。然而,在全球乳腺癌发病率持续上升的同时,病死率却呈现出下降的趋势<sup>[3]</sup>,主要原因在于一是乳腺癌早期筛查理念的普及和筛查工作的开展;二是乳腺癌诊断和综合治疗技术的进步。总体而言,随着基础和临床研究的不断发展,乳腺癌的诊疗模式正从临床病理因素指导下的传统治疗演变为分子分型指导下的综合治疗。

精准医疗(precision medicine)是以个体化医疗为基础,伴随着蛋白质组、转录组、基因组等测序技术的快速进步,将生物信息与大数据进行充分的交叉应用,以期达到最佳的治疗效果。基因检测技术经历了低通量的第一代测序(Sanger测序法)到高通量的二代测序技术(next-generation sequencing),再到如今正在研究及完善的单分子第三代测序。Sanger测序法尽管是基因检测的金标准,但因成本高、耗时长、样本要求高等缺点,其应用具有一定的局限性,而二代测序技术具备速度快、通量高及敏感度高等优势,很好的弥补了一代测序的不足<sup>[4]</sup>。二代测序技术加深了对乳腺癌发生、发展的认识,让科学研究从实验室延伸到临床,能够在分子水平检测到肿瘤易感基因、驱动基因、耐药基因及信号通路等,从而探索肿瘤的致病机制,区别个体遗传信息的差异,指导肿瘤的早期预防,监测肿瘤进展及对治疗的反应,给

予患者更加精准的个体化治疗。笔者将从二代测序及其在驱动基因识别、易感基因筛查、治疗指导、进展监测等几方面,综合阐述二代测序技术对乳腺癌精准治疗的指导意义。

### 一、识别乳腺癌驱动基因

乳腺癌的病因尚未完全清楚。2012年,随着二代测序技术的推广和多项重磅研究的发布,乳腺癌基因组学研究取得了重大进展。至今,已有超过90个风险基因位点被证实与乳腺癌有关,但仍有大量的基因位点未被识别<sup>[5-8]</sup>。Stephens等<sup>[5]</sup>发现了和乳腺癌相关的9个新的驱动基因:AKT2、ARID1B、CASP8、CDKN1B、MAP3K1、MAP3K13、NCOR1、SMARCD1和TBX3。这些基因在细胞增殖、DNA损伤修复和转录调节等方面都扮演着重要的角色。来自the Cancer Genome Atlas(TCGA)数据库的研究结果显示,超过10%的患者存在以下3个基因的突变:TP53、PIK3CA和GATA3<sup>[6]</sup>。相对于其他亚型,基底细胞样和HER-2过表达型乳腺癌具有最高的突变率,80%的基底细胞样乳腺癌存在TP53基因突变<sup>[6]</sup>。Banerji等<sup>[7]</sup>的研究分析了来自墨西哥和越南的多种不同亚型乳腺癌,不仅确认了已知PIK3CA、TP53、AKT1、GATA3和MAP3K1常见基因突变,并且识别出CBFB基因中的复发性突变及其伙伴基因RUNX1的缺失,同时发现三阴性乳腺癌中富含的一种复发性MAGI3-AKT3基因融合。2016年,Nik-Zainal等<sup>[8]</sup>通过全基因组测序,在560个乳腺癌中鉴定出93个乳腺癌相关基因,除此之外还发现了其他一些非编码区的突变。Curtis等<sup>[9]</sup>对995个原发性乳腺癌基因组及转录组的测序结果验证了一些癌基因的驱动突变:PPP2R2A、MTAP和MAP2K4基因的碱基缺失。二代测序技术应用于识别乳腺癌驱动基因的意义在于通过测序获得患者基因组和转录组信息,为患者选择适合的治疗手段提供一定的理论基础。随着二代测序技术的进一步发展和成本的逐渐降低,在乳腺癌基础研究中的大规模应用正在逐渐成为现实。

## 二、乳腺癌遗传风险筛查

遗传因素被认为是乳腺癌发病的重要因子,这在家族性/遗传性乳腺癌患者中表现得更加突出。BRCA 是早期发现的乳腺癌相关基因,能够调节细胞周期、参与 DNA 损伤修复及维持基因组稳定, BRCA 突变会显著增加乳腺癌发病风险<sup>[10]</sup>。2017年,中华医学会病理学分会发布《BRCA 数据解读中国专家共识》,旨在指导与规范 BRCA 基因检测数据的解读,推动 BRCA 检测在中国的临床应用<sup>[11]</sup>。D'Argenio 等<sup>[12]</sup>的研究结果显示,与传统的 Sanger 测序法相比,二代测序技术在 BRCA1/2 突变基因检测的实时性和敏感性方面具有一定优势。

研究发现导致遗传性乳腺癌发生的基因不仅包括 BRCA1/2,还包括已知的乳腺癌相关基因和大量未知基因<sup>[13]</sup>。已知的乳腺癌相关基因如 TP53 基因胚系突变会导致李-佛美尼综合征(Li-Fraumeni syndrome, LFS),而乳腺癌则是女性家族性 LFS 患者最常罹患的恶性肿瘤;PTEN 基因的胚系突变会引起 Cowden 综合征(Cowden syndrome, CS)或多发性错构瘤综合征,CS 女性患者的乳腺癌患病风险高达 50%,并且发病年龄明显年轻;SKT11 基因突变与 Peutz-Jeghers 综合征或家族性黏膜皮肤色素沉着胃肠道息肉病有关,同样表现为女性患者乳腺癌患病风险显著升高且发病年龄较轻;CDH1 基因突变与遗传性弥漫性胃癌综合征有关,患者家族中女性的乳腺小叶癌表型较多;CHEK2 基因的 110delC 突变类型使乳腺癌风险提高 2~3 倍;ATM 基因的纯合突变会引起共济失调性毛细血管扩张综合征,导致包括乳腺癌在内的多种恶性肿瘤患病风险增加;PALB2 和 BRIP1 基因与范科尼贫血症有关,是乳腺癌易感基因,在非 BRCA1/2 基因突变的家族性乳腺癌中显著增加患病风险;同样,RAD51C 也可能是非 BRCA1/2 基因突变遗传性乳腺癌/卵巢癌易感基因<sup>[13]</sup>。2017年,Sun 等<sup>[14]</sup>通过使用二代测序技术对 8 085 例乳腺癌患者进行 62 个肿瘤遗传相关基因全外显子深度测序,研究发现 9.2% 的患者检查到基因突变,包括 BRCA-1/2、PALB2、TP53、RAD51D、ATM 基因等,其中 BRCA-1/2 的突变频率为 5.3%。

已知的易感基因并不能完全解释和评估癌症的遗传风险,这意味着乳腺癌家族遗传还涉及到更多的易感基因,高通量测序有助于发现新的易感基因,这将有助于在未来指导高危乳腺癌患者的筛查及健康管理。同时,也有助于在未来开展降低乳腺癌风险的临床干预。

## 三、各分子亚型乳腺癌的治疗

乳腺癌曾被认为是一种单一性疾病,但随着研究的深入,乳腺癌的异质性逐步得到认识。2011 年的 St. Gallen 共识<sup>[15]</sup>首先将乳腺癌分为不同的亚型,乳腺癌进入了分子分型的时代,不管是 2013 年<sup>[16]</sup>或 2015 年<sup>[17]</sup>,还是最新的 2017 年 St. Gallen 共识<sup>[18]</sup>都强调了基因检测技术的重要性。应用免疫组织化学方法检测 ER、PR 和 Ki67 表达情况,用免疫组织化学或原位杂交方法检测 HER-2 蛋白表达或基

因扩增情况,将乳腺癌分为 luminal A 型、luminal B 型、HER-2 过表达型和三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)。这些亚型不仅与不同的分子标志物有关,在治疗反应和预后等方面也存在显著差异,也是现阶段乳腺癌个体化精准治疗的基础。

### 1. 激素受体阳性乳腺癌

内分泌治疗是激素受体阳性乳腺癌的主要治疗方法,然而,ER 阳性患者对内分泌治疗的反应却存在明显差异。通过对内分泌治疗无效的 ER 阳性乳腺癌患者进行基因检测发现,导致治疗无效的原因可能是 ESR1 基因突变,该基因主要编码 ER $\alpha$ ,其突变位点主要位于 ER 的配体结合区。ESR1 基因突变可激活非配体依赖性 ER 活性,从而促进肿瘤发生、发展和内分泌治疗耐药,尤其是获得性内分泌耐药<sup>[19]</sup>。Toy 等<sup>[20]</sup>通过基因检测在 80 例 ER 阳性转移性乳腺癌患者中发现 14 例 ESR1 基因突变,主要突变位点为 T537S、T537A 和 A538G,位于配体结合结构域,其引起的 ER 异常激活导致芳香化酶抑制剂(aromatase inhibitor, AI)疗效降低,而选择性雌激素受体下调剂如氟维司群治疗可能有效。Robinson 等<sup>[21]</sup>对 11 例 ER 阳性的晚期乳腺癌患者进行全外显子和转录组测序发现 6 例患者存在 ESR1 基因突变,新发现的 6 个编码配体结合结构域突变位点为 L535G、T537S、T537C、T537A 和 A538G。另外,一项分析乳腺癌基因突变与 AI 新辅助疗效之间关系的全基因组测序研究发现了 8 个相关的突变基因(RUNX1、CBFB、MYH9、MLL3、SF3B1、MAP3K1、TP53 和 GATA3),这些突变与肿瘤的组织学分级、增殖速度和对治疗的反应有特定关联性<sup>[22]</sup>。因此,通过二代测序技术分析内分泌治疗相关基因突变情况,可以预测内分泌治疗疗效,从而指导用药。

### 2. HER-2 过表达型乳腺癌

HER-2 过表达是影响乳腺癌预后的独立因素,也是目前研究的热点,HER-2 基因与乳腺癌的发生、发展及转移有密切关系。约 25% 的原发性乳腺浸润性癌中存在 HER-2 过表达,虽然曲妥珠单抗应用极大地改善了 HER-2 阳性乳腺癌患者的生存,但仍有部分患者对曲妥珠单抗抗体产生原发性或继发性耐药<sup>[23]</sup>。曲妥珠单抗抗体可能的耐药机制包括 PTEN 基因表达缺失和 PIK3CA 基因突变参与的上调细胞内信号传导、增加血管生成及免疫因素等。Pogue-Geile 等<sup>[24]</sup>通过二代测序技术、免疫组织化学和 Sanger 法对来自 BOLERO-1 和 BOLERO-3 试验的部分病例进行检测,发现 HER-2 阳性乳腺癌患者中 PIK3CA 基因激活和 PTEN 基因失活较常见,其导致的 PI3K 通路激活占 40%~50%,疾病进展风险分析提示 PIK3CA 基因激活和 PTEN 基因失活的 HER-2 阳性乳腺癌患者可能从依维莫司治疗中获益。

### 3. TNBC

TNBC 约占全部乳腺癌的 15%~20%<sup>[25]</sup>。尽管 TNBC 是一类乳腺癌的统称,但其仍具有高度的异质性。Shah 等<sup>[26]</sup>通过基因组测序技术对 104 例原发性 TNBC 患者的基

因表达谱进行分析发现最常见的抑癌/癌基因拷贝数变化为 PARK2 (6%)、RB1 (5%)、PTEN (3%) 和 EGFR (5%), TP53 为最常见的体细胞基因突变,其他依次为 USH2A、MYO3A、PTEN 和 RB1。Lehmann 等<sup>[27]</sup>根据 386 例 TNBC 患者的基因表达谱将 TNBC 分为 7 个亚型:基底样 1 型、基底样 2 型、免疫调节型、间充质型、间充质干细胞型、雄激素受体型和不稳定亚型,不同亚型对治疗药物的敏感性不同。BRCA1/2 突变与 TNBC 具有一定的相关性,针对携带 BRCA1/2 突变的乳腺癌患者应用聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶 1 抑制剂和铂类药物的临床试验也取得了一定的进展<sup>[28]</sup>。Jiang 等<sup>[29]</sup>对紫杉醇耐药的 TNBC 患者进行外显子测序结果显示 TEKT4 突变的富集与 TNBC 患者紫杉类药物耐药有关。另一项对 14 例转移性 TNBC 患者进行全外显子和转录组测序发现,几乎所有患者都存在 RAS/RAF/MEK/ERK 和 PI3K/AKT/mTOR 通路的异常突变,这提示以上通路的特异性抑制剂可能有效<sup>[30]</sup>。

#### 四、循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)辅助诊断

ctDNA 是由肿瘤细胞释放到血浆中的携带肿瘤基因组特征的 DNA 片段,ctDNA 含量在全部循环游离 DNA 中的比例<1%<sup>[31]</sup>。二代测序技术的应用为 ctDNA 的检测和研究提供了保障。ctDNA 的敏感性、均质性、实时性等优点,使其在肿瘤的复发预测、耐药监测及用药指导方面具有重要应用。

2013 年,Dawson 等<sup>[32]</sup>利用二代测序技术检测 30 例转移性乳腺癌治疗期间 PIK3CA 和 TP53 等相关基因的动态变化,评估 ctDNA 对疗效的反应,同时比较血液中的 ctDNA、癌抗原 15-3 及循环肿瘤细胞之间的敏感度,结果证明 ctDNA 敏感度均优于癌抗原 15-3 和循环肿瘤细胞,可以有效反映乳腺癌治疗疗效。另一项研究纳入 18 例 HER-2 阳性转移性乳腺癌患者,利用二代测序技术分析他们在抗 HER-2 药物治疗期间的 ctDNA 动态变化情况,结果耐药患者中 TP53/PIK3CA/mTOR/PTEN 通路相关耐药基因新发突变或者突变频率增幅大于 20%,提示 ctDNA 能有效反映治疗耐药情况<sup>[33]</sup>。研究者通过数字 PCR 和原发性肿瘤体细胞突变标志物监测 55 例早期乳腺癌患者手术前后及化疗过程中 ctDNA 的变化,结果发现治疗后 ctDNA 检测呈阳性的乳腺癌患者肿瘤复发率显著高于阴性患者<sup>[34]</sup>。该研究还发现在临床确诊复发前 7.9 个月就可以检测到患者血液中的 ctDNA。Olsson 等<sup>[35]</sup>对 20 例乳腺癌的回顾性研究也证实 ctDNA 能提前预测复发转移,早于传统影像学确认复发 11 个月。因此,ctDNA 可以作为手术切除后残留病灶的潜在标志物,在肿瘤监测和用药指导方面具有重要的参考价值。

#### 五、结语

二代测序技术开启了乳腺癌精准医疗研究的新篇章,有助于更全面深入探索乳腺癌的本质。2017 年,中华医学会儿科学分会和中国抗癌协会肿瘤病理专委会发布了《临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识》<sup>[36]</sup>,旨在规范二

代测序技术的操作流程、数据处理、结果解读等,推动其临床应用。

随着二代测序技术的快速发展,未来的研究可以着力于以下几个方面:一是开展大样本多中心基因组学研究,运用高通量技术平台绘制中国人群乳腺癌基因组学全景图,识别更多的乳腺癌易感基因、驱动基因和预后分子标志物,进行基因组学分析与功能验证,发掘出更有价值的乳腺癌遗传信息;二是以大规模队列数据为前提,共享肿瘤遗传数据,多开展有利于临床应用的科学研究,加快临床研究的转化过程,让基因大数据真正服务于患者。总而言之,寻找乳腺癌发生、发展的关键基因,并在此基础上,加快临床应用产品的研发,开发出更多针对性强的靶向药物应用于临床,指导个性化精准医疗,让更多患者获益是二代测序技术的最终目标。

#### 参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017 [J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] Fan L, Strasser-Weippl K, Li JJ, et al. Breast cancer in China [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(7): e279-e289.
- [3] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. Int J Cancer, 2015, 136(5): E359-E386.
- [4] Moorcraft SY, Gonzalez D, Walker BA. Understanding next generation sequencing in oncology: A guide for oncologists [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2015, 96(3): 463-474.
- [5] Stephens PJ, Tarpey PS, Davies H, et al. The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer [J]. Nature, 2012, 486(7403): 400-404.
- [6] Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours [J]. Nature, 2012, 490(7418): 61-70.
- [7] Banerji S, Cibulskis K, Rangel-Escareno C, et al. Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes [J]. Nature, 2012, 486(7403): 405-409.
- [8] Nik-Zainal S, Davies H, Staaf J, et al. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences [J]. Nature, 2016, 534(7605): 47-54.
- [9] Curtis C, Shah SP, Chin SF, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups [J]. Nature, 2012, 486(7403): 346-352.
- [10] Yoshida K, Miki Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage [J]. Cancer Sci, 2004, 95(11): 866-871.
- [11] 《BRCA 数据解读中国专家共识》编写组. BRCA 数据解读中国专家共识 [J]. 中华病理学杂志, 2017, 46(5): 293-297.
- [12] D'Argenio V, Esposito MV, Telese A, et al. The molecular analysis of BRCA1 and BRCA2: Next-generation sequencing supersedes conventional approaches [J]. Clin Chim Acta, 2015, 446: 221-225.
- [13] Economopoulou P, Dimitriadis G, Psyrris A. Beyond BRCA: new hereditary breast cancer susceptibility genes [J]. Cancer Treat Rev, 2015, 41(1): 1-8.

- [14] Sun J, Meng H, Yao L, et al. Germline mutations in cancer susceptibility genes in a large series of unselected breast cancer patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(20): 6113-6119.
- [15] 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.
- [16] Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013 [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(9): 2206-2223.
- [17] Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, et al. Tailoring therapies--improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015 [J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(8): 1533-1546.
- [18] Curigliano G, Burstein HJ, Winer EP, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017 [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(8): 1700-1712.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] Ellis MJ, Ding L, Shen D, et al. Whole-genome analysis informs breast cancer response to aromatase inhibition [J]. *Nature*, 2012, 486(7403): 353-360.
- [23] Wong H, Leung R, Kwong A, et al. Integrating molecular mechanisms and clinical evidence in the management of trastuzumab resistant or refractory HER-2+ metastatic breast cancer [J]. *Oncologist*, 2011, 16(11): 1535-1546.
- [24] Pogue-Geile KL, Song N, Jeong JH, et al. Intrinsic subtypes, PIK3CA mutation, and the degree of benefit from adjuvant trastuzumab in the NSABP B-31 trial [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(12): 1340-1347.
- [25] Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(20): 1938-1948.
- [26] Shah SP, Roth A, Goya R, et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers [J]. *Nature*, 2012, 486(7403): 395-399.
- [27] Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(7): 2750-2767.
- [28] Telli ML, Jensen KC, Vinayak S, et al. Phase II study of gemcitabine, carboplatin, and iniparib as neoadjuvant therapy for triple-negative and BRCA1/2 mutation-associated breast cancer with assessment of a tumor-based measure of genomic instability: PrECOG 0105 [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(17): 1895-1901.
- [29] Jiang YZ, Yu KD, Peng WT, et al. Enriched variations in TEKT4 and breast cancer resistance to paclitaxel [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3802.
- [30] Craig DW, O'Shaughnessy JA, Kiefer JA, et al. Genome and transcriptome sequencing in prospective metastatic triple-negative breast cancer uncovers therapeutic vulnerabilities [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(1): 104-116.
- [31] Diaz LA, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA [J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(6): 579-586.
- [32] Dawson SJ, Tsui DW, Murtaza M, et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(13): 1199-1209.
- [33] 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.
- [34] 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.
- [35] 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.

(收稿日期:2016-12-30)

于鑫淼,金锋. 二代测序技术在乳腺癌精准治疗中的应用[J/CD]. 中华乳腺癌杂志(电子版), 2018, 12(4): 238-241.