doi:10.11659/jjssx.07E018024

·临床研究·

21 基因检测对 ER 阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者术后复发转移的指导价值

顾玉琴[1],华燕艳[2] (1.扬州友好医院肿瘤科,江苏 扬州 225009;2.江南大学附属医院肿瘤科,江苏 无锡 214062)

[摘 要] **目的** 探讨21基因检测在ER阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者术后复发转移中的指导价值。**方法** 选取2014年2月至2018年2月扬州友好医院及江南大学附属医院的ER阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者172例,根据患者术后是否发生复发转移分为复发转移组($n=43$)和未复发转移组($n=129$)。所有患者均行手术治疗,根据AJCC第7版标准诊断患者的组织学分级,免疫组化法检测患者的癌转移抑制基因(PR)、细胞增殖核抗原Ki67(Ki67)、P53基因(P53)、基底细胞角蛋白CK5/6(CK5/6)、拓扑异构酶Ⅱα(TOPⅡα)以及表皮生长因子受体(EGFR)等指标。采用实时荧光聚合酶链反应(PCR)检测21基因(包括16个乳腺癌相关基因及5个参考基因)表达,计算21基因复发风险评分;对于复发转移患者查阅病历资料,记录并统计患者年龄、肿瘤直径、组织分型、Ki67、P53、TOPIIα、EGFR及CK5/6表达水平,分析不同病理组织下21基因复发风险评分,并进行单因素及多因素Logistic回归分析。**结果** 所有ER阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者均经病理结果最终确诊,确诊率为100.0%,病理结果中43例发生复发转移。2组患者均顺利完成21基因检测,复发转移组21基因检测评分为(37.93±6.83)分,高于未复发转移组(21.48±3.25)分,差异有统计学意义($t=12.193$,$P<0.05$);单因素及多因素结果表明,乳腺癌不同病理组织下21基因检测评分与年龄、病理类型、组织分级、P53、TOPIIα、EGFR、CK5/6、手术方式差异无统计学意义($P>0.05$);乳腺癌不同病理组织下21基因检测评分与肿瘤直径、Ki67、PR具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 将21基因检测用于ER阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者术后复发转移中效果理想,有助于评估患者预后,为临床诊疗提供依据和参考。

[关键词] 乳腺癌;21基因;ER阳性、淋巴结阴性;复发;转移

[中图分类号] R655.8 [文献标识码] A [收稿日期] 2018-07-13

Guiding value of 21-gene recurrence score assay in postoperative recurrence and metastasis of ER positive and lymph node-negative breast cancer patients

GU Yu-qin[1],HUA Yan-yan[2] (1.Department of Oncology,Yangzhou Friendship Hospital,Yangzhou Jiangsu 225009,China;2.Department of Oncology,Affiliated Hospital of Jiangnan University,Wuxi Jiangsu 214062,China)

Abstact: Objective To investigate the guiding value of 21-gene recurrence score assay in the recurrence and metastasis of patients with ER-positive and lymph node-negative breast cancer. **Methods** From February 2014 to February 2018,172 patients with ER-positive and lymph node-negative breast cancer were enrolled. According to whether the patient had recurrence or metastasis,the patients were divided into recurrence and metastasis group ($n=43$) and non-recurrence and metastasis group ($n=129$). All patients underwent surgery. The

[通信作者] 华燕艳,E-mail:huayanyan222@163.com

[17] 段立伟,张 晟,林兆奋.以logistic回归模型构建联合预测因子对脓毒症诊断及预后判断的临床运用[J].中华危重病急救医学,2017,29(2):139-144. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.02.009.

[18] 董 嫚,汪丽萍.Body-Jet水动力行自体脂肪颗粒填充面部的围手术期护理[J].局解手术学杂志,2014,23(6):658-659. doi:10.11659/jjssx.1672-5042.201406036.

[19] 郎劲松.自体脂肪隆胸术吸脂方法的比较及临床疗效影响因素的分析[D].大连:大连医科大学,2015.

[20] 程立新,朱慧茹,周著祖.脂肪干细胞辅助的自体脂肪移植隆乳术[J].中国医疗美容,2014(5):6-7.

[21] 康 泰,张 宇,吴景东.针灸对于机体内超氧化物歧化酶(SOD)影响研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2017(6):110-112.

[22] 刘 锋,王 娜,石 恒,等.离心法与过滤吸附法处理脂肪组织对脂肪细胞活性影响的比较[J].中国美容整形外科杂志,2017,28(1):43-45. doi:10.3969/j.issn.1673-7040.2017.01.012.

[23] 王庭刚,卢海滨.外周血CD64指数对创伤手术后脓毒症病情严重程度及预后的评估价值[J].局解手术学杂志,2017,26(4):260-263. doi:10.11659/jjssx.07E016013.

[24] 安 然,孙家明,王介聪.不同纯化方式对脂肪细胞活性的影响[J].中华整形外科杂志,2018(1):58-63. doi:10.3760/cma.j.issn.1009-4598.2018.01.014.

[25] 魏国茜,孙 音,顾洛莎,等.不同获取纯化方法影响脂肪细胞活性的理论研究与应用进展[J].中国组织工程研究,2017,21(28):4563-4569. doi:10.3969/j.issn.2095-43442017.28.022.

(编辑:左艳芳)

histological grades of the patients were classified according to the 7th edition AJCC staging system. The cancer metastasis suppressor gene (PR), cell proliferating nuclear antigen Ki67 (Ki67), P53 gene (P53), basal cytokeratin CK5/6 (CK5/6), topoisomerase Ⅱα (TOP Ⅱα) and epidermal growth factor receptor (EGFR) were detected by immunohistochemistry. Real-time fluorescent polymerase chain reaction (PCR) was used to detect the expression of 21 genes (including 16 breast cancer related genes and 5 reference genes), and the 21 gene recurrence score was calculated. For patients with recurrence and metastasis, clinical data were obtained to record the age, tumor diameter, tissue typing, Ki67, P53, TOP Ⅱα, EGFR and CK5/6 expression levels. Risk scores of 21 gene recurrence in different pathological tissues were analyzed, and single factor and multivariate logistic regression analysis were performed. **Results** All patients with ER-positive and lymph node-negative breast cancer were diagnosed by pathological diagnosis. The diagnosis rate was 100.0%. Among the pathological results, 43 cases had recurrence and metastasis. The 21-gene recurrence score assay were successfully performed in both groups. The score of 21 genes in the recurrence and metastasis group was (37.93 ± 6.83), which was higher than that in the non-recurrence and metastasis group (21.48 ± 3.25) ($t = 12.193$, $P < 0.05$). Single factor and multi-factor results showed that there was no significant difference in 21-gene recurrence score and age, pathological type, tissue grade, P53, TOP Ⅱα, EGFR, CK5/6 and surgical methods in different pathological tissues of breast cancer ($P > 0.05$). The 21-gene recurrence score and tumor diameter, Ki67 and PR in different pathological tissues of cancer were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The 21-gene recurrence score assay is effective in the treatment of postoperative recurrence and metastasis of patients with ER-positive and lymph node-negative breast cancer. It is helpful to evaluate the prognosis of patients and provide evidence and reference for clinical diagnosis and treatment.

Keywords: breast cancer; 21 gene; ER-positive; lymph node-negative; recurrence; metastasis

乳腺癌是发生在乳腺腺上皮的恶性肿瘤,99.0%患者为女性,男性发病率仅占1.0%[1]。由于乳腺并非人体生命重要器官,因此原位乳腺癌并不致命,但是随着癌细胞的不断增殖、生长,乳腺癌将会丧失正常细胞特性,导致细胞与细胞之间的黏附性下降,造成细胞脱落。当癌细胞发生脱落后,游离的癌细胞将会随着血液、淋巴结散播到全身,形成转移癌,威胁患者生命。乳腺癌发病机制复杂,普遍认为生物学因子改变及基因相关水平改变是促进乳腺导管上皮细胞、小叶上皮细胞恶变的主要原因。目前,临床上对于乳腺癌以手术治疗为主,通过手术切除病灶组织,延缓病情发展。21基因检测属于一种微创检测方法,多用于ER阳性、腋窝淋巴结阴性早期乳腺癌复发风险检测中,包括16个肿瘤相关基因与5个参考基因,从而计算出复发分数(recurrence score, RS)。研究表明将21基因检测用于ER阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者术后复发转移的分析中效果理想,能评估患者预后,指导临床治疗,但是该结论仍有待进一步验证[2-3]。因此,本研究选择2014年2月至2015年2月以ER阳性、淋巴结阴性的乳腺癌患者172例,探讨21基因检测在ER阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者术后复发转移中的指导价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2014年2月至2018年2月扬州友好医院及江南大学附属医院的ER阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者172例,根据患者术后是否发生复发转移分为复发转移组和未复发转移组。复发转移组43例,年龄22~60岁,平均(38.49 ± 5.98)岁;病程2~9年,平均(4.59 ± 1.21)年。未复发转移组129例,年龄23~61岁,平均(39.11 ± 6.03)岁;病程2~10年,平均(4.62 ± 1.23)年。纳入标准:①符合ER阳性、淋巴结阴性乳腺癌临床诊断标准,并经过手术病理组织检查确诊;②原发肿瘤最长径超过1 cm;③对患者的检查、诊断均在医嘱下完成;④患者知情同意。排除标准:①炎性乳腺癌;②合并其他恶性肿瘤;③患者处于妊娠哺乳期;④伴有精神异常或难以配合检查。2组患者临床资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 病理诊断 所有患者均行手术治疗,根据AJCC第7版标准诊断患者的组织学分级,采用免疫组化SP法染色及基因检测,对患者的癌转移抑制基因(PR)、细胞增殖核抗原Ki67(Ki67)、P53基因(P53)、基底细胞角蛋白CK5/6(CK5/6)、拓扑异构酶Ⅱα(TOPⅡα)以及表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)等指标进行检测。细胞膜无着色为(-);不完整着色或者着色细胞数量低于10%为(+);着色细胞数量超过10%或者是细胞膜完整着色为(++);超过10%的细胞膜一致完整着色为(+++)。(-)和(+)判断结果为阴性,(+++)判断结果为阳性,(++)需要进一步检测FISH,存在基因扩增判断结果为阳性,反之为阴性。P53、TOPⅡα、CK5/6:阳性细胞占比大于1%判断结果为阳性[4-5]。

1.2.2 21基因检测及复发评分 取术中获得的病

灶组织,制备 3 μm 病灶切片,采用实时定量 PCR 仪对 96 孔板进行实时荧光定量 PCR 反应,利用 SurPlexTM 基因 mRNA 表达液相芯片技术检测肿瘤 21 基因,基因类型包括:ER、PR、Bcl-2、SCUBE2、HER-2、GRB7、MMP11、BAG1、CTSL2、GUS、RPL90、TFRC、Ki67、Survivin、CCNB1、MYBL2 及 CD68 等 mRNA 表达水平。RS 评分法:将 5 个参考基因 Ct 值取平均值,通过参考基因 Ct 均值计算 16 个基因的评分。将结果代入 RS 计算公式中。RS = 20 × (RSu - 6.7)。公式中,RSu 为未校正的 RS 评分。对于 RS 评分 < 18 分为低危者;RS > 18 分为高危者。

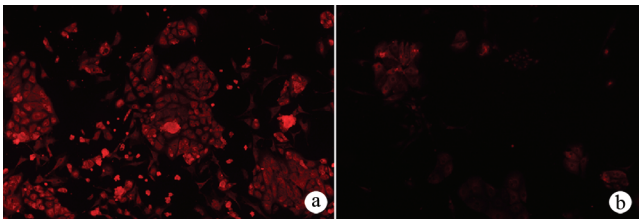
1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件处理,计数资料行 χ^2 检验,采用例(%)表示,计量资料行 t 检验,采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组 21 基因检测评分比较

所有 ER 阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者均经病理结果最终确诊,确诊率为 100.0%,病理结果中 43 例发生复发转移。2 组患者均顺利完成 21 基因检测,复发转移组 21 基因检测评分为(37.93 ± 6.83)分,高于未复发转移组的(21.48 ± 3.25)分,2 组比较差异有统计学意义($t = 12.193$,$P < 0.05$),见图 1。



a:复发转移组实时荧光 PCR 结果;b:未复发转移组实时荧光 PCR 结果

图 1 2 组实时荧光 PCR 结果(×200)

2.2 21 基因检测评分单因素分析

单因素结果表明:乳腺癌不同病理组织下 21 基因检测评分与年龄、病理类型、组织分级、P53、TOPⅡα、EGFR、CK5/6、手术方式无相关性($P > 0.05$);乳腺癌不同病理组织下 21 基因检测评分与肿瘤直径、Ki67、PR 相关($P < 0.05$),见表 1。

2.3 21 基因检测评分多因素 Logistic 回归分析

多因素 Logistic 回归分析结果表明:乳腺癌不同病理组织下 21 基因检测评分与肿瘤直径、Ki67、PR 具有相关性($P < 0.05$),见表 2。

表 1 乳腺癌不同病理组织下 21 基因检测评分单因素分析

临床病理资料		复发转移组	未复发转移组	t	P
年龄	≥45 岁	38.39 ± 2.43	23.24 ± 2.33	1.114	>0.05
	<45 岁	35.04 ± 2.46	21.94 ± 2.32		
肿瘤直径	>2 cm	44.39 ± 3.41	32.59 ± 3.59	8.934	<0.05
	≤2 cm	19.54 ± 2.32	20.21 ± 3.25		
病理类型	浸润性导管癌	33.59 ± 2.35	23.41 ± 2.95	0.558	>0.05
	浸润性小叶癌	34.05 ± 2.41	25.09 ± 3.23		
	其他	39.11 ± 2.43	22.18 ± 2.49		
组织分级	1 级	35.59 ± 2.52	23.20 ± 2.58	1.873	>0.05
	2 级	37.67 ± 2.57	20.84 ± 2.49		
	3 级	39.30 ± 2.49	21.58 ± 2.22		
Ki67	阴性	43.59 ± 2.41	20.22 ± 2.41	7.935	<0.05
	阳性	23.43 ± 2.26	29.58 ± 3.53		
P53	阴性	24.69 ± 3.38	22.41 ± 2.35	1.028	>0.05
	阳性	39.51 ± 4.65	24.39 ± 2.43		
TOPⅡα	阴性	38.49 ± 5.62	24.20 ± 2.39	2.381	>0.05
	阳性	36.43 ± 5.61	21.06 ± 1.57		
EGFR	阴性	38.11 ± 5.53	21.21 ± 1.89	1.258	>0.05
	阳性	37.09 ± 5.46	24.68 ± 2.11		
CK5/6	阴性	35.68 ± 4.69	23.09 ± 2.21	0.894	>0.05
	阳性	38.53 ± 5.12	20.39 ± 1.89		
手术方式	保乳手术	36.39 ± 3.63	19.58 ± 1.58	1.083	>0.05
	单纯切除	37.31 ± 3.65	20.52 ± 1.98		
	改良根治术	38.95 ± 4.01	22.12 ± 2.25		
PR	阳性	45.69 ± 5.69	30.39 ± 2.41	6.893	<0.05
	阴性	32.42 ± 3.88	19.95 ± 1.33		

表 2 乳腺癌不同病理组织下 21 基因检测评分多因素 Logistic 回归分析

影响因素	β	*S. E*	*Wald*	P	*OR*	95% *CI*
肿瘤直径	1.395	0.426	14.592	0.036	5.593	3.492 ~ 8.831
Ki67	1.231	0.495	10.385	0.031	8.241	3.213 ~ 9.085
PR	1.115	0.331	11.241	0.044	4.005	2.394 ~ 7.514
常数项	0.593	0.836	14.851	0.029	4.895	1.294 ~ 8.482

3 讨论

乳腺癌是分子层面上有着高度异质性的一种肿瘤,是临床上常见的一种女性恶性肿瘤[6]。相同组织形态学的肿瘤患者当中,因为分子遗传学的区别,往往治疗方案以及预后质量也存在显著的不同。乳腺癌的分子分型是将分子表达差异当作基础,为肿瘤分期、预后判断以及个性化治疗提供参考,一方面能够评估患者的预后质量,另一方面还能够预测患者对于治疗的反应[7-8]。目前,临床上仍然沿用肿瘤大小、组织学分级、淋巴结状态以及免疫组化结果等方面的指标,判断患者是否需要辅助化疗并且评估患者的复发风险,但是部分患者的化疗效果不佳,错误评估容易诱发过度治疗问题[9]。

21 基因检测是临床上应用比较广泛的复发风险评估方法,用来评估乳腺癌 ER 阳性以及淋巴结阴性患者的化疗获益状况,已经得到 FDA 以及 NCCN 批

准,对于避免低复发风险乳腺癌患者的过度治疗有重要价值,并且 RS 优于肿瘤大小、年龄等成为独立的预后判断因素[10-11]。近年来,21 基因检测在乳腺癌患者复发转移指导中得到应用,且效果理想。本研究中,所有 ER 阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者均经病理结果最终确诊,确诊率为 100.0%,2 组患者均顺利完成 21 基因检测,复发转移组 21 基因检测评分高于未复发转移组。由此看出,21 基因检测评分在乳腺癌复发转移中异常升高,能评估患者预后,指导临床治疗。本研究中,多因素 Logistic 回归分析结果表明:乳腺癌不同病理组织下 21 基因检测评分与肿瘤直径、Ki67、PR 具有相关性。由此看出,21 基因检测与乳腺癌患者病理表达存在紧密的联系,能够为患者的临床治疗提供指导。研究人员对进行紫杉醇联合多柔比星辅助治疗的 ER 阳性、淋巴结阴性早期乳腺癌患者进行基因检测,提示 RS 评分同病理学缓解呈正相关,也就是患者的 RS 评分越高,越能够从化疗当中获益,这表明 21 基因检测有利于避免乳腺癌患者的过度治疗,减轻患者的治疗成本[12-13]。换言之,应用 21 基因检测可以指导患者进行个体化治疗,避免浪费医疗资源。21 基因检测低风险患者在短时间内出现复发的风险比较低,化疗效果较为理想[14-15]。21 基因检测 ER 阳性、淋巴结阴性早期乳腺癌患者还需要进一步改进:①RS 评分对预后评估以及复发风险评估的准确性仍然需要循证医学方面的证据;②RS 评分属于中低风险的患者,术后未实施辅助化疗是否会使部分患者因为缺乏化疗而导致病情进展仍需进一步研究;③对高 RS 评分的乳腺癌患者而言,选用何种化疗药物能够最大限度改善治疗效果仍需进一步研究;④21 基因检测的步骤繁琐,要求严格,同时价格较高,仍然无法在临床上得到普遍的应用[16-20]。

综上所述,将 21 基因检测用于 ER 阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者术后复发转移中效果理想,有助于评估患者预后,为临床诊疗提供依据和参考,值得推广应用。

[参考文献]

[1] 曾梓涵,赵 攻,彭 华,等. microRNA-21、microRNAlet-7a 在三阴性乳腺癌与 ER 阳性、淋巴结阴性早期乳腺癌血清中的表达差异[J]. 实用医学杂志,2015,31(21):3499 - 3501. doi:10.3969/j.issn.1006 - 5725.2015.21.012.

[2] García FA, Chabrera C, García FM, et al. Differential patterns of recurrence and specific survival between luminal A and luminal B breast cancer according to recent changes in the 2013 St Gallen immunohistochemical classification[J]. Clin Translat Oncol, 2015, 17(3):238 - 246. doi: 10.1007/s12094 - 014 - 1220 - 8.

[3] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国进展期乳腺癌共识指南(CABC2015)[J]. 癌症进展,2015,13(3):223 - 245.

[4] 田沛琦,孙亚冬,张崇建,等. ER 阳性、淋巴结阴性早期乳腺癌腋窝淋巴结转移的高危因素分析[J]. 中国妇幼保健,2015,30(19):3239 - 3242.

[5] Jang SH,Lee JE,Oh MH,et al. High EZH2 protein expression is associated with poor overall survival in patients with luminal a breast cancer[J]. Br J Cancer,2016,19(1):53 - 60. doi:10.4048/jbc.2016.19.1.53.

[6] Montes d OR, Gurardlevin ZA, Berger F, et al. The histone chaperone HJURP is a new independent prognostic marker for luminal A breast carcinoma[J]. Molecular Oncology, 2015, 9(3):657 - 674. doi: 10.1016/j.molonc.2014.11.002.

[7] 周 琳,喻修为,陶 凯,等. ER 阳性、淋巴结阴性早期乳腺癌组织中长链非编码 RNAENST00000460164 的表达及对细胞周期的影响[J]. 基础医学与临床,2017,37(7):1037 - 1041.

[8] 江泽飞,宋三泰,姚开泰. 乳癌选择性靶向药物治疗临床应用进展[J]. 癌症进展,2016,2(4):251 - 254. doi:10.3969/j.issn.1672 - 1535.2004.04.007.

[9] 朱方清,杜风彩,陈 剑. 曲妥珠单抗在 HER2 阳性乳腺癌治疗中的心脏毒性及防治[J]. 癌症进展,2016,14(1):40 - 42. doi:10.11877/j.issn.1672 - 1535.2016.14.01.12.

[10] Grimm LJ, Zhang J, Mazurowski MA. Computational approach to radiogenomics of breast cancer: luminal A and luminal B molecular subtypes are associated with imaging features on routine breast MRI extracted using computer vision algorithms[J]. J Magnet Resonan Ima, 2015, 42(4):902 - 907. doi: 10.1002/jmri.24879.

[11] 刘 虔,孙圣荣. HER-2 阴性 LuminalB 型乳腺癌的临床病理特征研究[J]. 医学研究杂志,2016,45(11):169 - 173. doi:10.11969/j.issn.1673 - 548X.2016.11.043.

[12] 崔世恩,储 兵,凌飞海. 390 例原发乳腺癌远处转移与分子分型关联性的 10 年回顾性分析[J]. 中国癌症杂志,2015,25(10):774 - 779. doi:10.3969/j.issn.1007 - 3969.2015.10.003.

[13] 胡啸明,刘 胜. 乳腺癌肺转移的机制研究进展及其临床指导作用[J]. 癌症进展,2016,14(1):43 - 45. doi:10.11877/j.issn.1672 - 1535.2016.14.01.13.

[14] Shi YJ,Tsang JY,Ni YB,et al. FGFR1 is an adverse outcome indicator for luminal A breast cancers[J]. Oncotarget, 2016, 7(4):5063 - 5073. doi:10.18632/oncotarget.6563.

[15] 李惠平. 进展期乳腺癌治疗的思路和抉择[J]. 癌症进展,2015,13(2):105.

[16] 吴绍勇,谭 月,官泳松. 不同分子亚型乳腺癌首发肝转移患者的临床特征和预后[J]. 中华肝脏病杂志,2016,24(6):422 - 428. doi:10.3760/cma.j.issn.1007 - 3418.2016.06.006.

[17] 高军喜,郭成明,王恩芳,等. 不同病理分型乳腺癌的三维超声 VOCAL 参数比较[J]. 中国医学影像技术,2016,32(12):1886 - 1889.

[18] 刘钟芬,陈 创,姚晓莉,等. 乳腺癌不同分子分型的临床病理特点及预后分析[J]. 中华医学杂志,2016,96(22):1733 - 1737. doi:10.3760/cma.j.issn.0376 - 2491.2016.22.004.

[19] 花庆岭,张 伟,石大友,等. 通过呼气鉴定乳腺癌分子分型的可能性研究[J]. 安徽医科大学学报,2016,51(2):226 - 230.

[20] 华 彬,肖文政,王 征,等. 分子分型在老年乳腺癌患者中的临床意义探讨[J]. 中华老年医学杂志,2016,35(4):371 - 375. doi:10.3760/cma.j.issn.0254 - 9026.2016.04.007.

(编辑:左艳芳)