据的新疆克州地区居民最主要健康问题及其影响因素研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39(7): 1016-1020.

[16] 岳峰. 乙醇摄入与男性胰岛功能的相关性研究[D]. 济南: 山东大学, 2012.

(收稿日期: 2020-12-30　修回日期: 2021-05-13)

·短篇论著·

ER 阳性/ HER2 阴性/LN 阴性乳腺癌的病理特征与 21 基因表达的关系*

谢光琴[1], 刘　强[2△], 赵景锋[2]

重庆市大足区人民医院: 1. 病理科; 2. 普外科, 重庆 402360

摘　要: 目的　探讨淋巴结阴性雌激素受体阳性乳腺癌患者的 21 基因复发评分(ODx RS)与病理特征之间的关系。**方法**　收集 2017 年 1 月至 2020 年 9 月于该院接受治疗的雌激素受体(ER)阳性/人表皮生长因子受体 2 (HER2)阴性/淋巴结(LN)阴性乳腺癌女性患者病理资料, 回顾性分析 ODx RS 与病理特征之间的关系。**结果**　共纳入 344 例患者, 根据年龄分为年轻组(<50 岁)133 例和老年组(≥50 岁)211 例。年轻组和老年组的平均 ODx RS 分别为(17.9±8.1)分和(19.4±9.7)分, 差异无统计学意义($P>0.05$)。比较两组患者 ODx RS 与临床病理指标的关系, 结果显示 ODx RS 与 Ki67 表达和组织学分级呈低度正相关($P<0.001$); ODx RS 与 ER、孕激素受体(PR)表达呈低度负相关($P<0.001$), 两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。分别以 Ki67≥14%和≥20%作为年轻组和老年组乳腺癌的划分标准, 两者的 ODx RS 较为一致($P>0.05$)。在 PR 和病理特征相似的年轻和老年患者中, ODx RS 差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论**　病理特征与 ODx RS 之间具有相关性, 而与年龄之间无相关性。因此, 预测 ODx RS 的模型可能与年龄无关。

关键词: 淋巴结阴性乳腺癌;　雌激素受体阳性;　Oncotype Dx 复发评分;　辅助化疗

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.20.026　　**中图法分类号:** R737.9

文章编号: 1673-4130(2021)20-2548-04　　**文献标志码:** A

乳腺癌在全球女性癌症发病率中居首位, 死亡率则位居第二, 且发病率以每年 2%～3%的速度增长[1]。大多数患者早期乳腺癌可通过早期筛查以及自我检查被发现。21 基因复发评分(ODx RS)是一种基于逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)的检测方法, 可评估 5 个参考基因, 以及涵盖雌激素受体(ER)、人表皮生长因子受体 2(HER2)和 Ki-67 等 16 个肿瘤相关基因的表达水平[2]。对于 ER 阳性/HER2 阴性/淋巴结(LN)阴性的乳腺癌患者, 可使用 ODx RS 评估复发风险, 并为乳腺癌辅助化疗的选择提供证据支持[3]。ODx RS 可根据分值将 LN 阴性/ER 阳性乳腺癌患者划分为低危(≤17 分)、中危(18～<31 分)或高危(≥31 分)。既往个体化治疗研究证实, 仅使用内分泌治疗的 ER 阳性/HER2 阴性/LN 阴性乳腺癌以及 ODx RS(≤17 分)的患者的 5 年复发率非常低, 除内分泌治疗外, ODx RS 为 18～30 分的中危风险患者可能不适合进行辅助化疗[4]。一项针对 50 岁以下女性的探索性分析表明, ODx RS 为 16～25 分的女性乳腺癌患者辅助化疗效果并不理想, ODx RS 为 16～25 分且年龄 26～50 岁的患者更适合进行辅助化疗[5]。ODx RS 与临床病理指标具有相关性, 且 ODx RS 可借助于病理指标进行推断[6]。值得注意的是, 年轻女性更易于患上侵袭性疾病, 但已有关于 ODx RS 的研究中, 涉及年轻女性 ER 阳性/HER2 阴性/LN 阴性乳腺癌患者数据量非常少。鉴于此, 本研究探讨了年龄<50 岁和年龄≥50 岁的 ER 阳性/HER2 阴性/LN 阴性的乳腺癌患者 ODx RS 与病理指标的关系。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选取 2017 年 1 月至 2020 年 9 月于本院收治的 ER 阳性/HER2 阴性/LN 阴性的乳腺癌女性患者 344 例。根据年龄将患者分为年轻组(<50 岁)133 例和老年组(≥50 岁)211 例。年轻组年龄 29～49 岁, 中位年龄 45 岁, 其中浸润性导管癌 112 例, 其他浸润性癌 13 例; TNM 临床分期: Ⅰ期 108

*　**基金项目:** 重庆市科委科技计划基金项目(DZKJ, 2014ACC1056)。

△　**通信作者**, E-mail: l_qiang@sina.com。

本文引用格式: 谢光琴, 刘强, 赵景锋. ER 阳性/ HER2 阴性/LN 阴性乳腺癌的病理特征与 21 基因表达的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(20): 2548-2551.

例，Ⅱ期 24 例，Ⅲ期 1 例。老年组年龄 50～78 岁，中位年龄 60 岁，其中浸润性导管癌 161 例，其他浸润性癌 39 例；TNM 临床分期：Ⅰ期 134 例，Ⅱ期 69 例，Ⅲ期 8 例。患者接受治疗的方式包括手术治疗、化疗和放疗等。排除标准：(1)男性；(2)缺少 ODx RS 评分的患者；(3)ER 阴性乳腺癌患者；(4)LN 阳性乳腺癌患者；(5)HER2 阳性乳腺癌患者。

1.2　临床资料　收集患者的临床资料，包括 ER、孕激素受体(PR)、Ki67、HER2、组织学分级和 LN 状态，以及性别、肿瘤大小、乳腺手术类型、放疗和辅助化疗等相关信息。根据 AJCC 第七版标准行病理诊断和组织学分级[7]。其中 ER、PR、HER2 状态行免疫组织化学(IHC)检测。根据中国乳腺癌雌、孕激素受体免疫组织化学检测指南(2015 版)[8]，ER 阳性定义为检测标本中细胞核染阳性的肿瘤细胞数量≥1%，P53/ PR 阳性定义为细胞核染阳性的肿瘤细胞数量≥10%，HER2 阳性定义为免疫组化 3＋或荧光原位杂交(FISH)阳性，LN 阳性定义为腋窝淋巴结转移。

1.3　21 基因检测及 ODx RS　选取乳腺癌患者肿瘤组织的石蜡包埋标本并行石蜡切片，取 3 个 10 μm 厚的切片置入 EP 管，采用 Qiagen 公司的 RNeasy FFPE 抽提 RNA。取 1.5 μL RNA 在紫外分光光度仪(Nanodrop 2000)上测定其浓度和纯度。然后取 2 μg RNA，采用 Omniscript RT 逆转录试剂盒(Qiagen 公司)将其逆转录成 c DNA。使用 ABI 7500 PCR 仪(美国应用生物系统公司)实时定量检测 21 个基因的 Ct 值。21 个基因分别是 HER2 相关的 GRB7 和 HER2 基因，激素相关的 ESR1、PGR、BCL-2 和 SCUBE2 基因，增殖相关的 CCNB1、MKI67、MYBL2、STK15 和 BIRC5 基因，侵袭相关的 CTSL2 和 MMP11 基因，独立基因 CD68、GSTM1 和 BAG1，参考基因 ACTB、GAPDH、RPLP0、GUS 和 TFRC。设定每个基因的权重并计算 5 个参考基因的 Ct 均值，分别求出此均值与其余 16 个基因的差值，然后进一步计算 21 基因复发风险评分值[9]。按照评分进行风险分组：ODx RS 评分≤17 分为低危组，ODx RS 评分 18～<31 分为中危组，ODx RS 评分≥31 分为高危组。

1.4　统计学处理　采用 SPSS25.0 统计学软件进行分析。采用描述性方法分析相关病理指标在所统计的乳腺癌患者中的分布情况。在采用 t 检验比较组间的 ODx RS 评分。采用精确概率法比较患者临床病理指标的差异及辅助化疗的选择差异。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　ODx RS 评分与临床病理指标的关系　年轻组和老年组的 ODx RS 评分分别为(17.9±8.1)分和(19.4±9.7)分，两组数据差异无统计学意义($P=0.13$)。PR 和组织学分级对 ODx RS 评分均有显著影响($P<0.000\ 1$)。在两个年龄组中，不同 ODx RS 风险分组患者的分布相似($P=0.19$)。但年轻组中，PR 阳性乳腺癌患者比例较大($P=0.007$)，且肿瘤更小($P=0.002$)。尽管年轻组和老年组的手术治疗差异无统计学意义($P=0.18$)，但年轻组中接受放疗的患者比例较小($P=0.02$)。其他临床病理指标差异无统计学意义($P>0.05$)，见表 1。

2.2　两组患者 ODx RS 与临床病理指标的关系　两组中，ODx RS 与 Ki67 表达和组织学分级呈正相关($P<0.001$)；ODx RS 与 ER、PR 表达($P<0.001$)呈负相关，其相关性均有统计学意义(图 1)。两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

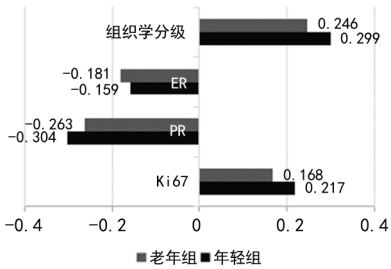
表 1　两组患者临床病理特征比较[n(%)]

临床病理特征	年轻组	老年组	P	临床病理特征	年轻组	老年组	P
ODx RS 风险分组(分)				PR			
低危组(≤17)	24(18.0)	33(15.6)	0.190	阳性	125(94.0)	178(84.4)	0.007
中危组(18～<31)	91(68.4)	133(63.0)		阴性	8(6.0)	33(15.6)	
高危组(≥31)	18(13.5)	45(21.3)		ER(%)			
病理类型				≤50	86(64.7)	140(66.4)	0.061
浸润性导管癌	112(84.2)	168(79.6)	0.060	>50	47(35.3)	71(33.6)	
浸润性小叶癌	15(11.3)	36(17.1)		Ki67(%)			
其他	6(4.5)	7(3.3)		<14	78(58.6)	127(60.2)	0.530
TNM 分期				14～<20	31(23.3)	32(15.2)	
T1	106(80.0)	134(63.5)	0.002	≥20	24(18.0)	52(24.6)	
T2	24(18.0)	69(32.7)		乳腺手术类型			

续表 1　两组患者临床病理特征比较[n(%)]

临床病理特征	年轻组	老年组	P	临床病理特征	年轻组	老年组	P
T3	3(2.2)	8(3.8)		乳腺全切除	45(33.8)	57(27.0)	0.180
组织学分级				乳腺部分切除	88(66.2)	154(73.0)	
Ⅰ	41(30.8)	49(23.2)	0.290	内分泌治疗	123(92.5)	191(90.5)	0.750
Ⅱ	76(57.1)	132(62.6)		辅助化疗	40(30.1)	71(33.6)	0.470
Ⅲ	16(12.0)	30(14.2)		放疗	74(55.6)	143(67.8)	0.020

注：ER、Ki67 数值指免疫组化检测中细胞核染阳性肿瘤细胞所占的百分比；－表示无数据。



注：图中所标示数字为 ODx RS 与两组患者各临床病理指标之间的相关系数。

图 1　两组患者 ODx RS 与病理指标(Ki67、ER、PR 和组织学分级)的相关性

2.3　两组患者 ODx RS 与不同 Ki67 划分标准的关系　以 14.0%作为 Ki67 表达阳性率的临界值(luminal B)，分别对两组患者进行分类。年轻组中，18 例(18.5%)为低危 ODx RS，25 例(25.8%)为高危 ODx RS；老年组中，131 例 (82.4%)为中/高危 ODx RS。若以 20.0%作为 Ki67 阳性表达率的临界值(luminal B)，结果显示，年轻组中 16 例(18.6%)为低危 ODx RS，21 例(25.8%)为高危 ODx RS；老年组中 120 例(82.4%)为中/高危 ODx RS。综上所述，以 14.0%和 20.0%作为 Ki67 表达阳性率的临界值，对年轻组和老年组乳腺癌进行划分，结果显示两组的 ODx RS 较一致，差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4　年轻组和老年组患者 ODx RS 与 PR 表达强度的关系　根据 PR 不同表达强度将两组患者各分为 4 项。在 PR 和病理特征相似的年轻和老年患者中，ODx RS 评分差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2　两组患者 ODx RS 与 PR 表达强度的关系

PR	年轻组		老年组		OR	95%CI	P
	ODx RS 评分($\bar{x}\pm s$，分)	n(%)	ODx RS 评分($\bar{x}\pm s$，分)	n(%)			
＋	14.40±5.00	40(30.1)	14.30±5.70	59(28.0)	0.13	0.27～2.51	0.92
＋＋/＋＋＋	18.30±8.00	85(63.9)	19.50±9.60	119(56.4)	1.16	1.18～3.50	0.33
－	22.00±6.00	1(0.7)	18.67±6.60	9(4.3)	3.33	12.70～19.40	0.64
－－/－－－	32.00±10.00	7(5.3)	27.58±10.70	24(11.4)	4.42	4.89～13.72	0.34

注：PR 表达强度不同分级标准根据细胞核染阳性的肿瘤细胞数量的百分占比进行划分，定义阳性细胞数＜1%为“－－－”，1.0%～＜5.0%为“－－”，5.0%～＜10.0%为“－”，10.0～＜25.0%为“＋”，25.0%～＜75.0%为“＋＋”，≥75.0%为“＋＋＋”。

3　讨　论

在 ER 阳性/HER2/阴性乳腺癌患者中，本文根据 PR 和组织学分级证明，两组患者的 ODx RS 具有相似的肿瘤生物学特征。本文还证明了乳腺癌不良预后相关的病理特征与较高的 ODx RS 相关($P<0.05$)，而与年龄无关。

年龄、临床症状、合并症等因素是化疗的参考依据，病理因素也可以帮助判断患者是否适合化疗，因此判断哪些 ER 阳性/HER2 阴性/LN 阴性乳腺癌患者需要测试 ODx RS，以做出有关辅助化疗的决定，是目前需要解决的关键问题。一项 MINDACT 研究表明，经标准病理检测和临床分期确诊的临床低危疾病患者，无论其基因组风险如何，均未从化疗中受益，提示这些患者可能不需要基因组检测[10-12]。如前所述，ODx RS 与标准病理标志物密切相关。高(＞25 分)和低(≤25 分)ODx RS 可使用 ER、PR、Ki-67 和 Elston 等级的百分比进行预测[13-14]。本研究数据表明，ODx RS 可能同时适用于年轻和老年患者，因为无论年龄大小，肿瘤病理学与 ODx RS 的关系都是相似的[15]。尽管如此，年轻患者中患有较小的肿瘤($P=0.002$)和 PR 阳性乳腺癌($P=0.007$)的比例较大。相关研究表明年轻患者更可能具有更高的 ODx RS，本研究也发现了类似的 ODx RS 分布[16-17]。

Ki67 表达阳性率检测方法目前未能达成统一，区分 Ki67 高、低表达的临界值从 3.5%～34.0%均见于相关研究报道[17]。在 2013 年 St. Gallen 国际乳腺

癌会议中，有关专家推荐将肿瘤细胞核染阳性率≥20.0%作为乳腺癌 Ki67 高表达判定标准[18]。但考虑到 Ki67 表达阳性率检测方法的差异，可能造成结果的不同，进而造成本可能在化疗受益的乳腺癌患者治疗不足，故采用较低的临界值定义 Ki67 高表达，或采纳多基因表达检测结果，相对而言更具有可取性。目前，10.0%～20.0%是最常用的 Ki67 表达阳性率临界值范围。2016 年，美国国立综合癌症网络建议，对于肿瘤直径＞0.5 cm、LN 阴性或微转移、HR 阳性/HER2 阴性的乳腺癌患者，均应行 21 基因检测以评估复发风险，并由此选择是否接受辅助化疗[19]。与病理特征相比，虽然 ODx RS 能更有效地帮助专家评估患者预后及治疗方法，但仍然有必要正确地理解临床病理指标与 ODx RS 的关系。准确的临床病理指标评估及免疫组化学检测是乳腺癌的诊治的依据，这已成为绝大多数临床研究者和专家对患者预后及疗效进行判断、由此制定手术和辅助治疗方法的共识[20]。

总之，本研究证明了 ODx RS 与标准病理学特征之间的相关性，而与年龄之间的无相关性。虽然临床上为年轻患者推荐辅助化疗的门槛可能较低，但不论患者年龄大小，临床肿瘤医生通过参考标准病理学分析对患者进行辅助化疗的推荐，具有更充分的合理性。

参考文献

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.

[2] Yu-Qing Y, Lei W, Mei-Ling H, et al. Clinical significance of 21-gene recurrence score assay for hormone receptor-positive, lymph node-negative breast cancer in early stage [J]. Exp Mol Pathol, 2019, 108: 150-155.

[3] SCHWEDHELM T M, REES J R, ONEGA T, et al. Patient and physician factors associated with Oncotype DX and adjuvant chemotherapy utilization for breast cancer patients in New Hampshire, 2010-2016[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 847.

[4] PETKOV V I, MILLER D P, HOWLADER N, et al. Breast-cancer-specific mortality in patients treated based on the 21-gene assay: a SEER population-based study[J]. NPJ Breast Cancer, 2016, 2(1): 16017.

[5] WANG J, WANG J, LI Q, et al. Young breast cancer patients who develop distant metastasis after surgery have better survival outcomes compared with elderly counterparts[J]. Oncotarget, 2017, 8(27): 44851-44859.

[6] HANNA M G, BLEIWEISS I J, NAYAK A, et al. Correlation of oncotype DX recurrence score with histomorphology and immunohistochemistry in over 500 patients [J]. Int J Breast Cancer, 2017, 2017: 1257078.

[7] EDGE S B, BYRD D R, COMPTON C C, et al. AJCC Cancer Staging Manual[M]. 7th Ed. New York: Springer, 2010: 547-560.

[8] 杨文涛，步宏. 乳腺癌雌、孕激素受体免疫组织化学检测指南[J]. 中华病理学杂志，2015，61(4)：237-239.

[9] 瞿飞麟，陈小松，宗瑜，等. 乳腺癌病人的 21 基因复发风险评分与临床病理特征[J]. 外科理论与实践，2017，22(3)：240-247.

[10] 丁春兰，陈庄，李贤秋，等. PR、ER、NCOR 及 SRC-1 在高强度聚焦超声治疗外阴营养不良中的表达[J]. 中国妇幼保健，2015，30(20)：3478-3482.

[11] CARDOSO F, VAN'T VEER L J, BOGAERTS J, et al. 70-Gene signature as an aid to treatment decisions in Early-Stage breast cancer[J]. N Engl J Med, 2016, 375(8): 717-729.

[12] 刘海燕，李万婷，秦丽军，等. 99Tcm-3PRGD2 SPECT/CT 显像半定量参数与乳腺癌临床病理特征的关系[J]. 中华核医学与分子影像杂志，2018，38(12)：786-789.

[13] 安丽颖，王鹏，冯瑞刚，等. 21 个基因检测评分在乳腺癌复发中的应用效果及影响因素研究[J]. 临床输血与检验，2019，21(6)：626-630.

[14] 李颖，刘强，陈小清. PAM50 复发风险评分系统在绝经后激素受体阳性早期乳腺癌患者中的预测作用[J]. 循证医学，2019，19(3)：139-141.

[15] 于雪婷，陈志强，王墨之，等. 不同年龄女性乳腺癌临床病理特征分析[J]. 中国临床医生杂志，2018，46(8)：951-953.

[16] 白晓蓉，杨碎胜，高晨. 人表皮生长因子受体-2 和细胞增殖抗原 Ki67 与乳腺癌前哨淋巴结转移的关系分析[J]. 中国实用医药，2018，13(6)：8-9.

[17] 郭丽萍，张国淳，陈博，等. UGT1A1 基因多态性与乳腺癌临床病理特征的相关性[J]. 实用医学杂志，2020，36(1)：1-5.

[18] CHEN X, SUN L, MAO Y, et al. Preoperative core needle biopsy is accurate in determining molecular subtypes in invasive breast cancer[J]. BMC Cancer, 2013, 13: 390.

[19] GRADISHAR W J, ANDERSON B O, BALASSANIAN R, et al. NCCN clinical practice guidelines in oncology: breast cancer. version 2. 2015[J]. J Nati Compr Canc Netw, 2015, 13(4): 448-475.

[20] SILVESTRI V, BARROWDALE D, MULLIGAN AM, et al. Male breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: pathology data from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2[J]. Breast Cancer Res, 2016, 18(1): 15.

（收稿日期：2021-01-12　修回日期：2021-05-29）