

肿瘤内分泌

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002312

雌激素受体阳性乳腺癌内分泌治疗疗效预测标志物研究进展

赵健洁, 张晓华, 郝 帅, 罗东林

(陆军军医大学大坪医院野战外科研究所乳腺甲状腺外科, 重庆 40042)

【摘 要】乳腺癌是全球范围内女性最常见的恶性肿瘤,极大地威胁广大患者的健康。新辅助治疗不仅能增加保乳手术的比例,还能对治疗的有效性进行体内敏感性测试。尤其是在三阴性和 Her2 过度表达的亚型中,病理完全缓解是患者长期预后良好的重要预测指标。然而,对于雌激素受体阳性乳腺癌,虽然大多数这种癌症亚型患者的总体预后良好,但因缺乏准确而便捷的疗效预测标志物,临床医生在新辅助内分泌治疗和新辅助化疗之间的决策缺乏可靠的依据。为减少盲目化疗所致的不必要副反应,亟需寻找新的新辅助内分泌治疗预测标志物。本文回顾了现有新辅助内分泌治疗雌激素受体阳性乳腺癌预后标志物的应用和局限性,以及新生物标记物的研究现状。

【关键词】乳腺癌;雌激素受体;新辅助内分泌治疗;预测因子

【中图分类号】R581.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-06-20

Progress in predictive markers of neoadjuvant endocrine therapy for ER⁺ breast cancer

Zhao Jianjie, Zhang Xiaohua, Hao Shuai, Luo Donglin

(Department of Breast and Thyroid Surgery, Research Institute of Surgery, Daping Hospital, Army Medical University)

【Abstract】Breast cancer is the most common malignant tumor of women in the world, which greatly threatens patients' health. Neoadjuvant therapy can not only increase the proportion of breast conserving surgery, but also can test internal sensitivity of treatments' efficacy. Especially in triple negative and Her-2 overexpression subtypes, pathological complete response is an important predictor of long-term prognosis. However, the overall prognosis of most patients with estrogen receptor(ER) positive breast cancer is good, but clinicians lack reliable evidence for decision-making between neoadjuvant endocrine therapy and neoadjuvant chemotherapy due to the lack of accurate and convenient predictors. In order to reduce side effects caused by unnecessary chemotherapy, it is urgent to find new predictive markers for neoadjuvant endocrine therapy. This paper reviewed applications and limitations of prognostic markers in current neoadjuvant endocrine therapy to treat ER⁺ breast cancer, and the current status of new biomarkers.

【Key words】breast cancer; estrogen receptor; neoadjuvant endocrine therapy; predictive markers

1 背 景

乳腺癌是一种异质性疾病,有着不同的临床、组织学和预后特征^[1]。75%的乳腺癌是雌激素受体(estrogen receptor, ER)和(或)孕酮受体(progesterone receptor, PR)阳性。在 70

岁以上的患者中,这一比例高达 85%^[2]。新辅助治疗(neoadjuvant therapy)已成为大多数局部晚期乳腺癌患者的标准治疗方法,它不仅能增加保乳手术的比例,还可以对所选择的全身治疗的有效性进行体内敏感性测试^[3]。新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NCT)是临床上最常用的新辅助治疗手段,它的受益根据乳腺癌亚型而不同,与 ER 阴性和 HER2 阳性肿瘤相比,ER 阳性(luminal A 型)肿瘤的病理完全缓解率(pathological complete response, pCR)较低^[3-4]。在这些患者中使用细胞毒性化学疗法仍然存在争议,因为未经选择的绝经后 ER 阳性、HER2 阴性肿瘤女性的辅助化疗绝对总体生存时间(overall survival, OS)效益不超过 3%~4%^[5]。此外基因组

作者介绍:赵健洁, Email: zhaozhuzhu@163.com

研究方向: LncRNA 在甲状腺癌中的作用研究。

通信作者: 罗东林, Email: ldl1967@sina.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81372060)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190919.1114.006.html>
(2019-09-20)

分类研究也支持这一观点,研究表明大多数 ER 阳性、HER2 阴性肿瘤患者属于低风险疾病,且单独使用新辅助内分泌治疗就可获得良好预后^[6]。这些数据强烈提示对这类 luminal A 型患者进行化疗时必须谨慎,需要权衡潜在副反应与可能的预后。特别是化疗存在一些长期的副作用,如骨髓增生异常综合征、白血病和充血性心力衰竭,对患者术后数十年的生存质量有巨大的影响^[7-8]。

新辅助内分泌治疗(neoadjuvant endocrine therapy, NET)是 ER 阳性乳腺癌患者 NCT 的合理替代品,因为它具有良好的耐受性,服药方便,并且效果良好。NET 的潜力正在得到越来越多的认可,不仅可以提高保乳率,而且可作为一种科学研究工具,寻找生物标志物来预测患者预后和辅助治疗的效果^[9]。尽管目前可用的内分泌药物通常效果和耐受性良好,但并非所有患者均能获益,只有 50%~70% 的 ER+ 患者临床上对新辅助内分泌治疗有反应^[10-11],同时多达 40%~50% 对内分泌治疗有效的患者在辅助治疗后出现复发^[12]。因此,临床亟需能够预测内分泌治疗敏感性的标志物,这不仅能使 ER+ 乳腺癌的治疗方法更加个体化,更加精准,还能帮助我们更好地理解乳腺癌异质性的特征及对内分泌治疗的抵抗机制^[13],也对新疗法的开发至关重要。

2 传统预测方法

新辅助化疗中最强的预后因素之一在于是否已达到 pCR。在 HER2 阳性和三阴性乳腺癌中,pCR 的诊断被认为与良好的预后有关^[14]。但这种相关性最近受到质疑,讨论主要集中在两个方面:一方面,pCR 仅是局部反应的参数,并不一定代表远处转移。另一方面,未达到 pCR 的患者仍可能有良好的预后^[15]。众所周知,pCR 不仅发生频率较低,而且对 ER 阳性 HER2 阴性病例的预后意义也有限^[16],因为 3~4 个月的 NET 实际上难以产生 pCR^[17],因此限制了其作为该亚型乳腺癌患者长期预后的标志物的用途。这些都说明需要进一步寻找其他标志物来预测新辅助内分泌治疗的长期疗效。同时,体内敏感性测试的性质意味着理想的标记物必须是动态的,在有限的治疗时间能预测长期治疗结果。

通过免疫组织化学检测的抗原 Ki67 是目前用于估计肿瘤细胞增殖的最常用标记物^[18]。由于抗雌激素疗法主要诱导细胞周期停滞,因此可使用肿瘤细胞增殖的标志物来测量这些药物的作用。Ki67 在增殖组织中除 G0 期以外的细胞周期均有表达,在静止期的细胞中不表达,并且与其他增殖标志物如 S 期分数,有丝分裂指数和溴脱氧尿苷的体内摄取密切相关^[19]。已有研究证实 NET 导致 Ki67 明显降低,其抑制程度与 ER 表达水平相关,且 NET 之后的 Ki67 水平已被证明有预后预测作用^[20]。IMPACT 试验证明 NET 后 2 周的高 Ki67 表

达水平与较差的无复发生存率相关。DeCensi 及其同事发现,经过 4 周的治疗,Ki67 是无复发生存率和总生存率的良好预测指标,与 Ki67 低于 20% 的患者相比,服药后 Ki67 大于或等于 20% 的患者死亡风险高 5.5 倍^[21]。目前,正在进行的 POETIC 实验,旨在验证在芳香化酶抑制剂(aromataseinhibitor, AI)治疗 2 周后 Ki67 或基因表达的变化是否可预测长期结果,并可能帮助选择可能需要进一步辅助化疗的患者^[22]。

术前内分泌预后指数(preoperative endocrine prognostic index, PEPI)由 P024 研究得出,这是一种预后生物标志物,可区分敏感性和耐药性疾病与复发风险的关系^[23]。在 P024 研究中,除 Ki67 外,其他肿瘤特征如肿瘤大小、腋窝淋巴结数量和 NET 后手术标本中测量的 ER 状态一并用于新辅助内分泌治疗的预测。新辅助内分泌治疗后手术标本的 PEPI 评分可将患者分为 3 个风险组:PEPI 评分为 0 的低风险组、PEPI 评分为 1~3 的中等风险组和 PEPI 评分大于 4 的高风险组。PEPI 评分为 0 (pT1/2, pN0, Ki67 ≤ 2.7%, ER+) 的患者单独使用内分泌治疗的复发风险非常低(5 年时 < 4%)^[23]。而 PEPI 评分为 4 或更高的患者预后不良,表明内分泌治疗的反应较差,需要化疗^[24]。

Oncotype DX 是一种基于逆转录聚合酶链反应的多基因分析,可预测 ER 阳性、淋巴结阴性乳腺癌患者的复发率。它由 21 个基因组成,包括 16 个癌相关基因和 5 个管家基因(增殖:Ki67、STK15、survivin、cyclin B1 和 MYBL2;侵袭:stromolysin 3 和 cathepsin L2;HER2:GRB7 和 HER2;雌激素:ER、PR、Bcl-2 和 SCUBE2;其他:GSTM1、CD68 和 BAG1;参考基因:β-actin、GAPDH、RPLPO、GUS 和 TFRC)。本检测的累计结果为复发评分(0~100),分为低风险组(得分 < 18)、中风险组(得分 18~30)和高风险组(得分 > 31)^[25]。在 1 项使用 OncTypeDX[®] 确定的复发评分的前瞻性试验中,低风险和中等风险复发评分能够预测 24 周新辅助依西美坦治疗在临床反应和保乳手术率方面的优异反应。这些研究数据强调了 OncotypeDX[®] 作为预测因素的可能价值,但治疗前和治疗后评分具有相关性,使其并不能成为动态测试的候选方法^[26]。

残余癌症负担(residual cancer burden, RCB)指数是对新辅助化疗反应的另一种生物标志物,越来越多地用于 NET 研究。RCB 指数评估 5 个治疗后变量:2 维瘤床、细胞构成、原位癌的百分比、转移淋巴结的数量和最大淋巴结转移的直径。它将手术标本分为 4 类:RCB-0 (pCR)、RCB-I (微小残留病灶)、RCB-II (中度残留病灶)和 RCB-III (广泛残留病灶)。RCB 能够预测新辅助化疗后复发的风险,RCB III 最高(53.6%),而 RCB-0 和 RCB-I 相似(分别为 2.4% 和 5.4%)^[27-28]。将 Ki67 加入 RCB 可以进一步提高预测能力^[29]。尽管如此,将 Ki67 和 ER 状态纳入 RCB 需要进一步研究。

3 探索预测新方法

尽管分析单次或连续的乳腺肿瘤活检样本有助于在开始治疗前评估个体的反应性,但这种方法不太可能预测持续反应或出现耐药性。在诊断时对肿瘤取样的另一个问题是,取样部分可能不能反映肿瘤内异质性^[30],而这恰恰是成功的个体化癌症治疗的主要挑战。利用循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)的可重复性和非侵入性采样和分析,有助于通过监测高危的乳腺癌患者的药物反应来实施个性化治疗。

有学者提出,耐药亚克隆可能在诊断时出现,也可能在治疗过程中出现导致乳腺癌转移^[31]。在最近的一些研究中已经证明 ER+乳腺癌肿瘤内异质性与功能相关。在 ER+转移性乳腺癌患者中,检测到转移灶 ER 的配体结合结构域内的两个体细胞突变,并且在原发性或治疗敏感性肿瘤中未检测到这些突变,表明突变是在内分泌治疗期间出现的^[32]。无论它们是在诊断时出现还是在治疗压力下出现,抗性克隆都需要进入循环以引起疾病进展。基于此,监测最终将导致复发的 CTC 和循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)可能有助于通过找出抗性克隆来克服治疗失败。

3.1 循环肿瘤细胞

最近,通过收集 1 944 例患者和 20 项研究的数据,分析了 CTC 计数在乳腺癌转移患者预后中的临床应用^[33]。基线 CTC 计数和治疗开始后 3~5 周的下降均有较高的预测生存率,证实 CTC 计数对无进展生存率和总生存率的独立预后作用。除了其预后价值外,CTC 计数也被认为是转移性乳腺癌患者化疗和内分泌治疗疗效的指标^[34]。通过监测 CTC 计数的实时变化得出,无论使用何种药物,都可以确定治疗反应。

除了 CTC 计数外,CTC 的分子分析可能为乳腺癌患者提供预测因子。使用不同的分子分析(如全基因组分析)对 CTC 进行分型,可以揭示肿瘤的异质性和耐药现象^[35]。然而,在将其作为临床工具引入之前,还需要克服一些局限性。除了缺乏标准化的采集方法外,另一个局限性是,用于分离血浆中浓度较低的 CTC 的一些表面标记物,如 E-钙黏蛋白,在乳腺癌上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程中被证明是下调的^[36],使提高它们的检出率非常困难。此外,与原发肿瘤相比,间充质细胞在 CTC 中高度富集^[37],表明在转移性乳腺癌的治疗随访中需要重点考虑 CTC 的异质性。目前基于上皮标记物的 CTC 捕获方法由于不能检测到恶性间充质 CTC,其临床价值可能有限。唯一经 FDA 批准的 CTC 检测系统 CellSearch®CTC 测试仅计算上皮(epcam 阳性)CTC,表明需要具有改进的临床实用性的新技术,允许检测和分类不同 CTC 亚群,如 EMT 中的 CTC^[38]。从同一乳腺癌患者中分离出的 CTC 突变状态的异质性也表明在单细胞

水平上鉴定 CTC 的必要性^[39]。

3.2 循环肿瘤细胞 DNA

筛选从垂死的肿瘤细胞释放到血流中的 ctDNA 是监测癌症进展的另一种潜在的、非侵入性的方法。ctDNA 和 CTC 的敏感性不同;ctDNA 被认为是转移性患者反应预测的一种更敏感的指标^[40]。此外,在没有检测到任何 CTC 的患者血浆中可以检测到 ctDNA 的存在,并且在半数局限性乳腺癌患者中也可检测到 ctDNA^[41]。另一方面,ctDNA 和 CTC 能提供关于原发性和转移性肿瘤细胞的不同信息,CTC 提供 RNA、DNA 和蛋白质水平的癌细胞整体信息,而通过分析 ctDNA,可以检测包括获得性癌症 DNA 突变在内的遗传和表观遗传变化。

正在进行的 PIKTAM 研究在 buparlisib 联合他莫昔芬治疗的过程中监测 ctDNA 突变,验证其疗效预测的敏感性和特异性,这可能有助于确立 ctDNA 的临床作用。实验使用连续随访 ctDNA 样本进行突变追踪可以识别具有高复发风险的早期乳腺癌患者,以及使用残留肿瘤的这些遗传信息来定制辅助治疗方案^[42]。使用 ctDNA 监测 ESR1 突变可停用或替换其他内分泌治疗并预防出现转移^[43]。例如,对转移患者 ctDNA 的系列分析显示,在 AI 治疗后检测到 ESR1 突变,这表明在治疗期间出现了选择性突变克隆。但如果 PIK3CA 突变在用药前已经存在^[44],则可能有助于选择特定转移患者进行 ESR1 突变靶向治疗。BOLERO-2 试验表明,ESR1 突变通过促进配体非依赖性受体激活和对内分泌治疗的抵抗,在来自 AI 治疗的 ER+转移患者的基线血浆样本的 ctDNA 中普遍存在,并且与较短的总体存活率相关^[45]。与依西美坦相比,使用氟维司群治疗的基线 ESR1 突变的晚期乳腺癌患者的预后有所改善^[46]。然而,在最近的 1 项回顾性研究中,ctDNA 的连续分析未发现在氟维司群治疗期间 ESR1 突变积累,并且 ESR1 突变患者的 PFS 也没有差异^[47]。需要进一步的研究来确定不同药物治疗后 ESR1 突变的异质性和潜在的临床意义,以便更好地分层晚期疾病患者。

除突变外,ctDNA 的甲基化状态可能有助于监测乳腺癌的治疗效果。虽然目前还没有新辅助内分泌治疗的数据,但许多研究报道了 ctDNA 在监测新辅助化疗反应中的作用。在新辅助化疗患者中,BRCA1(breast cancer 1)、六氧甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(0-6-methylguanine DNA methyltransferase, MGMT)、谷胱甘肽硫转移酶 P1 (glutathione S-transferase pi-1, GSTP1)、层积蛋白(stratifyn)和多重耐药基因 1 (multi-drug resistance gene, MDR1)五个基因组的总甲基化水平与肿瘤体积减少显著相关^[48]。此外,在治疗前 RAS 相关域家族 1A(RAS association domain family protein 1, RASSF1A)启动子区域甲基化的患者中,对治疗有反应者在新辅助化疗后甲基化的 ctDNA 水平降低,但无反应者有持续较高的甲基

化水平^[49-50]。从转移开始前获得的循环血液生物标志物数据比转移性肿瘤中的数据更有价值,因为在不同部位检测和分析具有转移潜力的 CTC 和 ctDNA 将提供更全面的实时数据。因此,除转移性患者的个体化治疗外,CTC 和 ctDNA 还有可能用于预防疾病复发。虽然它们在乳腺癌中的临床相关性尚未确定,但仍有大量正在进行的临床试验,并且越来越多的证据支持它们在个性化治疗决策中的作用。目前临床上的药物主要是抗增殖和抑制亚克隆的增殖。使用血液生物标志物可以为转移性疾病提供新的、更有效的治疗方法。

4 总 结

NET 可有效降低 ER 阳性肿瘤患者的分期,且毒副反应较小,但目前缺乏准确可靠的预测标志物。目前正在研究预测标志物,以期能够精确识别哪些 ER 阳性肿瘤对内分泌治疗有较好的反应,可能避免化疗;而哪些对内分泌治疗不敏感,必须进行化疗。NET 的治疗潜力将在生物标志物分析的基础上得到进一步挖掘,最终朝着个性化的癌症精准治疗方向更进一步。

参 考 文 献

- [1] Reisfilho JS, Pusztai L. Gene expression profiling in breast cancer: classification, prognostication, and prediction[J]. *Lancet*, 2011, 378(9805): 1812-1823.
- [2] Grann VR, Troxel AB, Zojwalla NJ, et al. Hormone receptor status and survival in a population-based cohort of patients with breast carcinoma[J]. *Cancer*, 2005, 103(11): 2241-2251.
- [3] Colleoni M, Viale G, Zahrieh D, et al. Chemotherapy is more effective in patients with breast cancer not expressing steroid hormone receptors: a study of preoperative treatment[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(19): 6622-6628.
- [4] Guarneri V, Broglio K, Kau SW, et al. Prognostic value of pathologic complete response after primary chemotherapy in relation to hormone receptor status and other factors[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(7): 1037-1044.
- [5] Peto R, Davies C, Godwin J, et al. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcomes among 100000 women in 123 randomised trials[J]. *Lancet*, 2012, 379(9814): 432-444.
- [6] Kwa M, Makris A, Esteva FJ. Clinical utility of gene-expression signatures in early stage breast cancer[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(10): 595-610.
- [7] Bernardmarty C, Mano M, Paesmans M, et al. Second malignancies following adjuvant chemotherapy: 6-year results from a Belgian randomized study comparing cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil (CMF) with an anthracycline-based regimen in adjuvant treatment of node-positive breast cancer patients[J]. *Ann Oncol*, 2003, 14(5): 693-698.
- [8] Abe O, Abe R, Enomoto K, et al. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials[J]. *Lancet*, 2005, 365(9472): 1687-1717.
- [9] Guerrero-Zotano AL, Arteaga CL. Neoadjuvant trials in ER+ breast cancer: a tool for acceleration of drug development and discovery[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(6): 561-574.
- [10] Miller WR, Larionov A, Renshaw L, et al. Gene expression profiles differentiating between breast cancers clinically responsive or resistant to letrozole[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(9): 1382-1387.
- [11] Colleoni M, Montagna E. Neoadjuvant therapy for ER-positive breast cancers[J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(10): 243-248.
- [12] Ma CX, Sanchez CG, Ellis MJ. Predicting endocrine therapy responsiveness in breast cancer[J]. *Oncology*, 2009, 23(2): 133-142.
- [13] Ma CX, Reinert T, Chmielewska I, et al. Mechanisms of aromatase inhibitor resistance[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2015, 15(5): 261-275.
- [14] von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(15): 1796-1804.
- [15] Rose BS, Winer EP, Mamon HJ. Perils of the pathologic complete response[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 30(33): 3959-3962.
- [16] Cortazar P, Zhang L, Untch M, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis[J]. *Lancet*, 2014, 384(9938): 164-172.
- [17] Spring LM, Gupta A, Reynolds KL, et al. Neoadjuvant endocrine therapy for estrogen receptor-positive breast cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Oncol*, 2016, 2(11): 1477-1486.
- [18] Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67[J]. *J Immunol*, 1984, 133(4): 1710-1715.
- [19] Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(28): 7212-7220.
- [20] Dowsett M, Smith IE, Ebbs SR, et al. Prognostic value of Ki67 expression after short-term presurgical endocrine therapy for primary breast cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2007, 99(2): 167-170.
- [21] DeCensi A, Guerrieri-Gonzaga A, Gandini S, et al. Prognostic significance of Ki-67 labeling index after short-term presurgical tamoxifen in women with ER-positive breast cancer[J]. *Annals of Oncology*, 2011, 22(3): 582-587.
- [22] Dowsett M, Smith I, Robertson J, et al. Endocrine therapy, new biologicals, and new study designs for presurgical studies in breast cancer[J]. *JNCI Monographs*, 2011, 2011(43): 120-123.

- [23] Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, et al. Ki67 proliferation index as a tool for chemotherapy decisions during and after neoadjuvant aromatase inhibitor treatment of breast cancer: results from the American College of Surgeons Oncology Group Z1031 Trial (Alliance)[J]. *Clin Oncol*, 2017, 35(10):1061–1069.
- [24] Ellis MJ, Tao Y, Luo J, et al. Outcome prediction for estrogen receptor-positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100(19):1380–1388.
- [25] Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(27):2817–2826.
- [26] Ueno T, Masuda N, Yamanaka T, et al. Evaluating the 21-gene assay Recurrence Score® as a predictor of clinical response to 24 weeks of neoadjuvant exemestane in estrogen receptor-positive breast cancer[J]. *Int J Clin Oncol*, 2014, 19(4):607–613.
- [27] Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(28):4414–4422.
- [28] Peintinger F, Sinn B, Hatzis C, et al. Reproducibility of residual cancer burden for prognostic assessment of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy[J]. *Mod Pathol*, 2015, 28(7):913–920.
- [29] Sheri A, Smith IE, Johnston SR, et al. Residual proliferative cancer burden to predict long-term outcome following neoadjuvant chemotherapy[J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(1):75–80.
- [30] Nik-Zainal S, Van Loo P, Wedge DC, et al. The life history of 21 breast cancers[J]. *Cell*, 2012, 149(5):994–1007.
- [31] Ng CK, Schultheis AM, Bidard FC, et al. Breast cancer genomics from microarrays to massively parallel sequencing: paradigms and new insights[J]. *JNCI J Natl Cancer Institute*, 2015, 107(5):djv015.
- [32] Jeselsohn R, Yelensky R, Buchwalter G, et al. Emergence of constitutively active estrogen receptor- α mutations in pretreated advanced estrogen receptor-positive breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(7):1757–1767.
- [33] Bidard FC, Peeters DJ, Fehm T, et al. Clinical validity of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(4):406–414.
- [34] Bhat-Nakshatri P, Wang GH, Collins NR, et al. Estradiol-regulated microRNAs control estradiol response in breast cancer cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(14):4850–4861.
- [35] Polzer B, Medoro G, Pasch S, et al. Molecular profiling of single circulating tumor cells with diagnostic intention[J]. *EMBO Mol Med*, 2014, 6(11):1371–1386.
- [36] Taube JH, Herschkowitz JI, Komurov K, et al. Core epithelial-to-mesenchymal transition interactome gene-expression signature is associated with claudin-low and metaplastic breast cancer subtypes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(35):15449–15454.
- [37] Yu M, Bardia A, Wittner BS, et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition[J]. *Science*, 2013, 339(6119):580–584.
- [38] Bulfoni M, Gerrata L, Del Ben F, et al. In patients with metastatic breast cancer the identification of circulating tumor cells in epithelial-to-mesenchymal transition is associated with a poor prognosis[J]. *Breast Cancer Res*, 2016, 18(1):30.
- [39] Pestrin M, Salvianti F, Galardi F, et al. Heterogeneity of PIK3CA mutational status at the single cell level in circulating tumor cells from metastatic breast cancer patients[J]. *Mol Oncol*, 2015, 9(4):749–757.
- [40] Dawson SJ, Tsui DWY, Murtaza M, et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(13):1199–1209.
- [41] Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(224):224ra24.
- [42] 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.
- [43] Guttery DS, Page K, Hills A, et al. Noninvasive detection of activating estrogen receptor 1 (ESR1) mutations in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer[J]. *Clin Chem*, 2015, 61(7):974–982.
- [44] 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.
- [45] Chandralapaty S, Chen D, He W, et al. Prevalence of ESR1 mutations in cell-free DNA and outcomes in metastatic breast cancer: a secondary analysis of the BOLERO-2 clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2016, 2(10):1310–1315.
- [46] Friibens C, O'Leary B, Kilburn L, et al. Plasma ESR1 mutations and the treatment of estrogen receptor-positive advanced breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(25):2961–2968.
- [47] Spoerke JM, Gendreau S, Walter K, et al. Heterogeneity and clinical significance of ESR1 mutations in ER-positive metastatic breast cancer patients receiving fulvestrant[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:11579.
- [48] Sharma G, Mirza S, Parshad R, et al. DNA methylation of circulating DNA: a marker for monitoring efficacy of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients[J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(6):1837–1843.
- [49] Avraham A, Uhlmann R, Shperber A, et al. Serum DNA methylation for monitoring response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(7):E1166–1172.
- [50] Takahashi H, Kagara N, Tanei T, et al. Correlation of methylated circulating tumor DNA with response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients[J]. *Clin Breast Cancer*, 2017, 17(1):61–69. e3.

(责任编辑:唐秋姗)