

DOI: 10.13376/j.cbls/20210123

文章编号: 1004-0374(2021)09-1111-14

三阴性乳腺癌精准诊疗的挑战与展望

蒙玉华, 周仁钰, 陈炫兆, 陆元志*

(广东医科大学附属医院病理诊断与研究中心, 湛江 524023)

摘要: 三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 是高度异质性与侵袭性的乳腺癌亚型, 由于目前缺乏较为明确的治疗靶点, 化疗依然是 TNBC 的主要治疗手段, 但病变易复发、转移, 临床预后差。近年来, 多组学新技术的应用与发现, 尤其是蛋白质基因组学、单细胞组学等研究及个体化临床试验取得的新进展, 为 TNBC 精准化和个体化诊疗带来新的曙光。该文就当前 TNBC 分子分型和精准治疗新进展等进行综述。

关键词: 三阴性乳腺癌; 分子分型; 多组学; 靶向治疗; 免疫治疗; 同源重组缺陷

中图分类号: R737.9 文献标志码: A

Challenges and perspectives for the precise and personalized therapies of triple negative breast carcinoma

MENG Yu-Hua, ZHOU Ren-Yu, CHEN Xuan-Zhao, LU Yuan-Zhi*

(Pathological Diagnosis and Research Center, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China)

Abstract: Triple negative breast cancer (TNBC) is a highly heterogenous and aggressive subtype of breast carcinoma, characterized by lack of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2). Chemotherapy remains as standard therapeutic regimens for patients with TNBC due to lack of recognizedly actionable targets. However, treatment resistance, local relapse and metastasis are still the extreme challenges in clinical practice of TNBC. Recent discoveries from clinical multi-omics and advancement of clinical trials including proteogenomics, single cell omics and metabolomics lead to the development of novel therapeutic regimens for TNBC, including combination of chemotherapy or targeting therapies with immune checkpoint inhibitors. Rapid advancement of cancer molecular subtyping and precision oncology will shed novel light on the precise and personalized therapies for TNBC. This review summarizes new insights into molecular subtype and personalized treatment of TNBC.

Key words: triple negative breast cancer (TNBC); molecular subtype; multi-omics; targeting therapy; immunotherapy; homologous recombination deficiency (HRD)

乳腺癌是目前威胁女性健康和生命的恶性肿瘤之一, 其发病率在全球范围内都出现加快的趋势, 且趋于年轻化^[1-3]。三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 是一组缺乏雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 和人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER-2) 表达的乳腺癌, 其临床进程、形态学及分子谱特征呈高度异质性^[4]。TNBC 发病年龄早, 有高度侵袭转移性, 临床预后差, 占

乳腺癌新发病例的 15%~20%^[4-5]。TNBC 患者对标准化疗反应差异巨大, 目前缺乏通用的靶向治疗方案, 是乳腺癌临床实践面临的巨大挑战。

近年来, 随着癌症基因组图谱 (The Cancer Genome

收稿日期: 2021-03-08; 修回日期: 2021-04-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81372298, 81572606); 广东省“扬帆计划”引进紧缺拔尖人才项目 (201433007)

*通信作者: E-mail: Yuanzhi.lu@jnu.edu.cn

Atlas, TCGA)、泛癌症图谱 (Pan-Cancer Atlas)、泛癌全基因组分析 (Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes, PCAWG) 的完成和乳腺癌多组学大数据的积累^[6-10], 人们从基因组学、转录组学、蛋白质组学、免疫微环境及代谢组学等方面加深了对 TNBC 的认识。基于 TNBC 的生物学特性及其演化分子机制对其进行分型, 将有助于临床决策, 确定治疗新靶点。本文将对 TNBC 分子分型进展及其精准治疗新策略进行综述。

1 TNBC分子分型

1.1 TNBC基因组变异特征

2012年, TCGA 计划发表了乳腺癌重要基因组图谱大数据, 这项研究含 825 例乳腺癌样本, 其中 93 例 TNBC, 占 11% 左右。结果显示, 与腔型 A (luminal A)、腔型 B (luminal B) 和 HER2⁺ 乳腺癌不同, 约 80% 的 TNBC 存在 TP53 突变。此外, *RBI*、*BRCA1*、*PTEN* 和 *INPP4B* 失活或丢失在 TNBC 中亦很常见。最常见的扩增基因包括 *MYC*、*PIK3CA*、*CCNE1* 和 *MDM2* 等。可见 TP53 信号通路及细胞周期检测点调控异常在 TNBC 中极为常见, 而这些改变在很大程度上与高级别卵巢浆液性囊腺癌基因变异谱较为相似, 提示 TNBC 的生物学行为及临床治疗策略可能存在较为相似之处^[7], 如都表现为 TP53 高频突变, *BRCA1*、*RBI* 失活, *AKT3* 过表达, *MYC* 和 *CCNE1* 扩增等。这些基因改变提示 TNBC 和浆液性卵巢癌可能存在类似的驱动力量, 且对一些常用的化疗和靶向药物如铂类药物、PARP 抑制剂等有共同的反应特征^[11]。

基于拷贝数变异特征的乳腺癌聚类分析发现^[12], 所有原发性乳腺癌大致可以分为 10 个亚类, 其中聚类 4 (IntCluster4) 和 10 (IntCluster10) 与 PAM50 分型中的基底细胞样乳腺癌较为吻合, 提示它们可能代表了 TNBC 的拷贝数变化特征。然而, 这两亚类的基因组和染色体组稍有不同, 聚类 4 未存在明显的基因组不稳定性及拷贝数变化, 且伴有明显的淋巴细胞浸润及 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 基因重排, 预后相对较好。聚类 10 基底样细胞乳腺癌存在明显的基因组不稳定及拷贝数改变, 最为常见的为 5q 染色体丢失以及 8q、10p、12p 的增加, 同时这一组乳腺癌中富集高频的 TP53、*FLG* 和 *FAT* 基因突变, 患者预后差。相反, *PIK3CA* 和 *AKT* 突变主要见于预后较好的聚类 4 中。

TNBC 形态学的异质性提示了其病变演化过程

的复杂性。肿瘤患者来源的异体移植瘤模型 (patient-derived xenograft, PDX) 及单细胞测序研究发现, TNBC 获得性突变明显增加^[13-14]。TNBC 中常常出现 RAS-RAF-MEK 信号通路关键基因扩增, 如 *PIK3CA* (49%)、*KRAS* (32%)、*BRAF* (30%) 和 *EGFR* (23%) 等, 但这些基因却罕见突变; 其他受体酪氨酸蛋白激酶 (RTK) 相关基因, 如 *FGFR1*、*FGFR2*、*IGF1R*、*KIT*、*MET*、*PDGFRA* 等, 基因扩增亦极为常见^[7]。与 TCGA 数据相比, 国内复旦大学对 465 例原发 TNBC 进行多组学研究^[9], 发现 *TP53*、*PIK3CA*、*KMT2C*、*PTEN* 突变在中国 TNBC 患者中更为常见, 而 *PIK3CA*、*PTEN* 和 *PIK3R1* 突变是国人 TNBC 常见分子事件。

研究已发现, 转移性 TNBC 中 *TP53* 突变频率明显升高, 达 90% 左右。从突变位点看, TNBC 原发灶以 *TP53* p.R248Q 较常见, 但复发 TNBC 中的 *TP53* 突变主要见于以下位点: p.H179R、p.R282W、p.R248Q、p.Y220C、p.R213X、p.R342X、p.Y163C 和 p.C176Y^[10]。*PIK3CA*、*PIK3R1*、*RBI* 和 *PTEN* 常处于低频突变状态, 提示 *TP53* 突变可能是 TNBC 早期分子事件, 而且常见癌驱动基因点突变可能不是 TNBC 克隆进化的关键力量^[15-17]。相反, 基因拷贝数增加在复发 TNBC 中更为常见, 如 *MDM2/4*、*FGFR1*、*CCND1*、*PDGFRA* 等。这些扩增常涉及以下信号通路: (1) 细胞周期调控, 如 *CDK4*、*CDK6*、*CCND1*、*CCND2*、*CCND3*、*CCNE1* 和 *AURKA*, 并伴有 *CDKN2A*、*CDKN2B* 和 *RBI* 丢失; (2) PI3K/AKT/mTOR 通路异常激活, 如 *AKT1*、*AKT2*、*AKT3*、*PIK3CA*、*PIK3R1*、*RAPTOR*/*RICTOR* 扩增伴 *PTEN* 功能丢失和 *TSC1* 截短突变; (3) 生长因子受体通路相关的基因扩增, 如 *EGFR*、*MET*、*KIT*、*FGFR1/2/4*、*IGF1R*、*KRAS*、*BRAF*/*RAF1* 扩增及 *NF1* 截短突变^[18]。事实上, 约 10%~20% 的 TNBC 患者存在同源重组缺陷 (homologous recombination deficiency, HRD), 而这些缺陷可伴有或无 *BRCA1/2* 胚系突变, 仅 3%~5% 的患者存在 *BRCA1/2* 体细胞突变^[19]。已证实, *BRCA1/2* 野生型的 TNBC 同样存在 HRD, 主要因调控 HRD 相关分子的基因组或表观遗传学调控异常所致, 如 *RAD51*、*PALB2*、*ATR*、*CHK1*、*CDK12*、*WEE1* 和 *PLK1* 突变等^[20-21]。但 TNBC 中未出现明显的微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI), 0.9%~1.53% 不等^[22-23]。除了 HRD 和 MSI 外, TNBC 中的肿瘤突变负荷 (tumor mutational burden, TMB) 目前研究结果尚不一致, 一些研究认为在存在 HRD 的 TNBC 中, 病变存在高 TMB, 但仍需要进一步

证实^[15,17]。

近年发展起来的蛋白质基因组学 (proteogenomics) 新技术为 TNBC 功能基因组研究和分子分型提供了新的思路和技术平台。结合 TCGA 数据, 通过整合蛋白质组和磷酸化蛋白质组学研究发现, TNBC 中常见的 5 号染色体长臂 (5q) 顺式缺失导致 *CETN3* 和 *SKP1* 丢失而上调了 *EGFR* (epidermal growth factor receptor) 表达, 同时 *SKP1* 丢失增加了非受体酪氨酸激酶 SRC 活性。进一步对激酶相关基因扩增与表达进行分析发现, *PRKDC* 和 *SPEG* 两个蛋白在 TNBC 中出现活性改变, 其中 *PRKDC* 磷酸化水平增加, 该蛋白为非同源末端连接因子, 常被 ATM 磷酸化。而 *SPEG* 激酶是首次被发现与乳腺癌相关的激酶^[24]。以上这些结果在近年来的蛋白质基因组学研究中得到进一步印证; 此外, 还发现 *MAP4K4* 磷酸化水平亦明显增高^[25]。更重要的是, 在 *ARID1A* 突变的乳腺癌中, *TRAF2*、*NCK* 相互作用激酶 (*TNIK*) 磷酸化水平明显增高, 而 *TNIK* 参与 WNT 信号通路且在结肠癌中亦是靶向的靶点。有趣的是, 细胞核内蛋白质乙酰化增加亦是 TNBC 的重要特征, 这些乙酰化蛋白主要参与 DNA 损伤修复的各种信号通路如碱基切除 (base excision repair, BER)、核苷酸切除 (nucleotide excision repair, NER)、双链断裂修复 (double-strand break repair, DSB)R)、单链断裂修复 (single-strand break repair, SSB)R)、同源重组 (homologous recombination, HR) 和范可尼贫血 (Fanconi anemia, FA) 通路。这些结果提示, TNBC 尤其是进展性病变, 将可能伴随明显的基因组不稳定性, 而 TNBC 基因组不稳定性除了与 *BRCA1/2* 等 DNA 损伤修复关键基因突变等变异密切相关外, 参与 DNA 损伤修复的各种信号通路相关蛋白质翻译后修饰尤其是乙酰化修饰也扮演重要角色^[25], 这些数据将为 TNBC 精准诊疗提供新的线索。

1.2 转录组学分型

早期基于 mRNA 芯片研究结果将乳腺癌分为五个自然亚型: 腔型 A、腔型 B、HER2 富集型 (HER2-enriched)、基底细胞样型 (basal-like) 和正常乳腺样亚型 (normal breast-like)^[26]。临床以免疫组化法检测 ER、PR、HER2 和 Ki67 (IHC-4) 大致可以区分以上 5 个乳腺癌亚型。然而, 大约仅 50%~75% 的 TNBC 具有基底样细胞亚型表型, 约 80% 左右的基底样细胞亚型乳腺癌是三阴性表型 (ER、PR、HER2 阴性), 提示并非所有的三阴性乳腺癌都具备基底样细胞特征^[27-29]。Lehmann 等^[30] 率先对多个 TNBC

转录组数据 (587 例) 进行综合分析聚类, 将 TNBC 分为 7 种亚型: 包括基底样 1/2 (basal-like 1/2, BL1/BL2)、免疫调节型 (immunomodulatory, IM)、间充质型 (mesenchymal, M)、间充质干性 (mesenchymal stem-like, MSL) 和腔性雄激素受体腔型 (luminal androgen receptor, LAR) 及未分类型 (unstable, UNS)。其中, BL1 亚型的细胞周期调控和 DNA 损伤反应通路基因发生改变, 并伴有高频 *TP53* 突变 (92%), *MYC*、*CDK6*、*CCNE1*、*MDM2* 扩增, 以及 *BRCA2*、*PTEN* 和 *RBI* 缺失^[31], 而 BL2 亚型表达高水平的生长因子并发生代谢通路改变, 同时常表达肌上皮性标志物。IM 型富含免疫细胞分子及免疫通路活化特征, 如 JAK/STAT、TNF 和 NF- κ B 通路活化。尽管 M 型和 MSL 亚型表现出相似的特征, 如聚集细胞运动和上皮间质化 (EMT) 相关基因, 但 MSL 亚型细胞生长相关基因表达低而聚集更多的间质干细胞样基因。LAR 亚型具有大多数腔型乳腺癌的基因表达谱特征, 如表达 *FOXA1*、*GATA3*、*SPDEF* 和 *XBP1* 等, 只是表现为 AR 阳性而 ER 阴性, 而且这类 TNBC 常伴有以下基因突变: *PIK3CA* (55%)、*KMT2C* (19%)、*CDH1* (13%)、*NF1* (13%) 和 *AKT1* (13%)^[31]。鉴于基因表达谱分型中 IM 和 MSL 亚型的转录本可能含较多肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL) 和肿瘤相关基质细胞成分, Lehmann 等^[32] 的后续研究中将 7 种 TNBC 亚型修改为 4 种 (BL1、BL2、M 和 LAR), 且发现这些分型与临床化疗反应性密切相关。国内 Jiang 等^[9] 根据 465 例中国人 TNBC 基因组特征将原发 TNBC 分为 4 个 mRNA 亚型: 雄激素受体腔型 (LAR)、免疫调节型 (IM)、基底样免疫抑制型 (BLIS) 和间质样型 (MES)。这一分型与 Lehmann 分型有一定交叉, 但与 Burstein 等^[33] 的 TNBC 分型高度重叠, 总体上都体现了 TNBC 中基底样型 (BL1/2) 的独特性, 但更体现了亚洲人群中 TNBC 的分子特征, 如 *PIK3CA* 高频突变。总体上, 这些基于混合细胞群体 mRNA 表达谱的 TNBC 分子分型在一定程度上反映了各亚型 TNBC 对化疗的反应性, 尤其是 BL1 和 LAR 型对于化疗呈现截然不同的反应: BL1 对铂类或紫杉醇类化疗更为敏感, 65.6% 的患者达到病理完全缓解 (pathologic complete response, pCR), 而仅 21.4% 的 LAR 型患者出现缓解^[34]。

基于 mRNA 表达谱的 TNBC 分型仍存在一定局限性, 而单细胞组学分型或许可提供更多的 TNBC 精细分层信息。2018 年, Karaayvaz 等^[35] 通过对 6 个主要 TNBC 亚型超过 1 500 个细胞进行单

细胞 RNA 测序, 证实大多数原发 TNBC 肿瘤中存在多种亚型, 而且各亚型间的差异性与 TNBC 克隆进化中基因组拷贝数密切相关, 提示肿瘤异质性及其各个亚群的基因表型差异性由基因组变异驱动; 同时还发现, TNBC 中一个独特的糖脂代谢异常亚型与多种肿瘤治疗抵抗及转移基因标签有关。这些发现提示, 通过单细胞组学精细分析深入阐明癌细胞的演化过程, 不同癌细胞间和相同癌细胞间及其与正常细胞间的相互作用, 不仅为 TNBC 治疗提供精确分层信息, 而且可能为预后提供更多线索, 或许是未来 TNBC 分子分型研究的重要方向之一。

1.3 免疫微环境分型

免疫炎症微环境是肿瘤十大特征之一^[36], 许多研究显示, 机体免疫功能对 TNBC 预后与结局至关重要。早期 TNBC 新辅助和辅助治疗临床试验结果显示, 通过评估肿瘤组织内和间质中的浸润淋巴细胞 (iTILs/sTILs), 可预测肿瘤对治疗的反应, 同时亦显示较高的 sTIL 评分与较好的预后相关^[37-38]。一项分析 TNBC 间质相关成分基因的转录组学研究结果显示, TNBC 可以呈现四个间质亚型, 分别为富集 T 细胞 (T) 型、B 细胞 (B) 型、上皮标记物 (E) 型和纤维增生 (D) 型。根据这些特征, 采用生信分析工具 STROMA4 (<http://bioconductor.org/packages/devel/bioc/html/STROMA4.html>) 分别分析不同的 TNBC 数据集, 并在所有这些数据集上组合三个类别 (低、中、高), 赋予每个患者的间质特征一个评分, 从而对患者进行亚型细分。进一步分析发现, B、T 和 E 亚型评分的预后受 D 型评分的控制。与之前发表的 TNBC 亚型分型方案 (TNBC type) 相比^[30], STROMA4 方法更好地捕捉了肿瘤的异质性, 并预测患者从提高的敏感性治疗中获益^[39]。Xiao 等^[40]对 386 例多组学 TNBC 数据集进行广泛的免疫基因组聚类分析, 将 TNBC 分为三个免疫微环境亚型: (1) “免疫沙漠”型, 即微环境中低免疫细胞浸润; (2) “先天免疫失活”型, 伴有静息性先天免疫细胞, 间质中无免疫细胞浸润; (3) “免疫炎症”型, 富含先天和后天性免疫细胞浸润。他们通过病理切片和 TCGA 数据集 (METABRIC 队列) 验证了这一微环境分型具有良好的预后价值; 同时发现, *MYC* 扩增与 I 型低免疫细胞浸润有关, 临床上应考虑首先将这类“冷肿瘤”转变为“热肿瘤”才能对免疫治疗产生反应。而免疫检查点抑制剂可能对“免疫炎症”型肿瘤更有效。He 等^[41]基于 29 个免疫特征的免疫基因组图谱对 TNBC 进行分类, 将 TNBC 分为

免疫力高、免疫力中等和免疫力低 3 个亚组, 并通过数据集验证了这种分类方法是可靠和具有预测效能的, 提示基于 TNBC 的免疫特征分类可能有助于 TNBC 患者的分层, 以识别那些对免疫治疗有反应的患者, 对 TNBC 治疗具有潜在的临床意义。

近年来, 随着机器学习 (machine learning) 和人工智能 (artificial intelligence, AI) 在病理图像分析中的应用, 数字图像分析逐步应用于肿瘤微环境的空间结构。通过空间解析单细胞分布与功能, 确定肿瘤和间质细胞的表型, 并可直接从组织病理学图像评估肿瘤的微环境和预测预后^[42-44]。Keren 等^[45]通过多重离子束成像证明了肿瘤免疫微环境中的组织结构, 将 TNBC 分为冷 (无浸润)、混合 (免疫细胞与肿瘤细胞混合) 和间隔 (免疫细胞与肿瘤细胞在空间上分离) 亚型, 并且发现这 3 种亚型与预后相关。可见, 空间转录组学结合影像组学分析将可能更好地揭示 TNBC 的内部和外部免疫微环境, 有助于实现 TNBC 的个体化免疫治疗, 但仍需要大规模临床试验验证。

1.4 代谢组学分型

癌细胞代谢重编程亦是肿瘤的十大特征之一^[36], 研究已发现, 无论是有氧还是无氧环境, 癌细胞都通过有氧糖酵解途径获取能量 (Warburg 效应), 癌细胞代谢重编程主要是为了维持癌细胞生物合成所需的中间产物如乳酸, 同时减少因为氧化磷酸化过程产生的活性氧 (reactive oxygen species, ROS)。癌细胞之所以改变其代谢特征, 主要是由于参与能量及其相关代谢的一些关键基因变异或异常表达, 包括糖酵解过程相关的酶和转运蛋白, 如葡萄糖转运体 1、3 或 4 (glucose transporter 1, 3 或 4, GLUT-1/3/4)、单羧酸转运蛋白 (monocarboxylate transporter, MCT)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、己糖激酶 (hexokinase, HK)、磷酸果糖激酶 (phospho-fructokinase 1, PFK1)、磷酸甘油酸变位酶 (phospho-glycerate mutase, PGM)、丙酮酸脱氢酶 (pyruvate dehydrogenase, PDK)、丙酮酸脱氢酶激酶 (pyruvate dehydrogenase kinase, PDK) 和谷氨酰胺酶 (glutaminase 2, GLS2) 等。已发现, TNBC 患者肿瘤组织中 GLUT-1 mRNA 水平明显高于 ER 或 HER2 阳性乳腺癌, 且与患者预后有关。体外实验也显示, 过表达 GLUT-1 促进 TNBC 细胞生长。相反, 抑制 GLUT-1 活性降低 RB1 阳性 TNBC 细胞系生长^[46]。此外, LDHA 或 AMPK 过表达与 TNBC 的 TNM 分期、远处转移、Ki67 水平及生存时间密切相关, 而

且 LDHA 和 AMPK 同时过表达的患者总体生存期 (overall survival, OS) 和无病生存期 (disease-free survival, DFS) 均明显缩短^[47]。类似的是, MCT1 过表达在 TNBC 中亦很常见, 且与预后关系密切^[48]。更重要的是, 肿瘤细胞中调控代谢相关的关键分子常常受到癌驱动基因及其信号通路的调控, 包括表皮细胞生长因子受体通路 (EGFR)、缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)、癌基因 *c-Myc* 和抑癌基因 *TP53* 等, 因为大多数代谢酶和转运蛋白都是 TP53、HIF-1 α 和 *c-Myc* 的靶基因, 如 *GLUT1*、*HK2*、*LDH-A*、*MCT4*、*PDK*、*GLS* 等。而 *c-Myc* 基因扩增、*TP53* 及 PI3K 通路关键分子突变是 TNBC 中极为常见的变异^[9, 49-51]。癌细胞代谢重塑一方面支持癌细胞自身生长、干性、侵袭与转移等恶性生物学行为, 另一方面造成缺氧及酸性微环境, 并导致肿瘤中浸润的效应 T 细胞功能耗竭, 加上微环境中调节型 T 细胞 (T_{reg}) 功能得到加强, 最终抑制肿瘤免疫和促进癌细胞免疫逃逸^[52]。基于对癌细胞代谢重编程的认识, 2021 年, 中国学者对 465 例 TNBC 进行多组学分析, 发现 TNBC 大致可以分为三个特征性的代谢亚型 (metabolic-pathway-based subtypes, MPSs)^[53]。(1) MPS1 型: 主要特征是酯类代谢占优

势伴 PI3K 和 RTK-RAS 信号通路关键分子突变, 治疗上可以考虑抑制酯类代谢。(2) MPS2 型: 以糖类及核酸代谢占优势, 伴高水平的 HRD 和明显的基因组拷贝数增加, 预后差, 但对于 LDH 抑制剂和免疫检查点抑制剂联合治疗较敏感。(3) MPS3 型: 混合型, 即兼顾了 MPS1 和 MPS2 的特征, 但机制尚未完全阐明。有趣的是, 研究发现, 肿瘤间质微环境中的细胞成分尤其是免疫细胞和成纤维细胞的代谢重编程可以独立于癌细胞代谢活动之外, 且在很大程度上影响肿瘤的演进、免疫逃逸和药物反应等^[52, 54-56]。这些发现提示: TNBC 代谢重塑过程不仅发生在癌细胞中, 更重要的是间质细胞成分同样出现代谢改变, 而且间质细胞成分的代谢改变可能在肿瘤恶性演进中扮演更为重要的角色, 尤其是参与癌细胞耐药、复发与转移等^[35]。因此, 靶向癌细胞代谢通路联合其他治疗手段如免疫检查点抑制剂的使用, 或许会为 TNBC 带来新的治疗策略, 但 TNBC 癌细胞与间质细胞成分的代谢改变存在高度异质性, 这也将为 TNBC 个体化精准治疗带来新的挑战。

TNBC 基因组学特征与分子分型研究进展总结见表 1。

表1 TNBC基因组学特征与分子分型

分类	来源	基因特征及分子分型	参考文献
基因组学变异特征(TCGA)	突变特征(TCGA)	常见突变基因: <i>TP53</i> (p.H179R、p.R282W、p.R248Q、p.Y220C、p.R342X、p.Y163C和p.C176Y) 常见丢失基因: <i>RB1</i> 、 <i>BRCA1</i> 、 <i>PTEN</i> 和 <i>INPP4B</i> 常见扩增基因: <i>MYC</i> 、 <i>PIK3CA</i> 、 <i>CCNE1</i> 和 <i>MDM2</i>	[7,10]
	拷贝数特征(TCGA)	可分10个亚型 IntCluster4: 常见突变基因 <i>PIK3CA</i> 、 <i>AKT</i> IntCluster10: 常见5q染色体丢失, 8q、10p、12p的增加, 常见突变基因为 <i>TP53</i> 、 <i>FLG</i> 和 <i>FAT</i>	[11]
	单细胞测序	常见扩增基因: <i>PIK3CA</i> 、 <i>KRAS</i> 、 <i>BRAF</i> 和 <i>EGFR</i> (RAS-RAF-MEK通路) 常见扩增基因 <i>FGFR1</i> 、 <i>FGFR2</i> 、 <i>IGFR1</i> 、 <i>KIT</i> 、 <i>MET</i> 、 <i>PDGFRA</i> (受体酪氨酸蛋白激酶)	[7,12-13]
	多组学	常见突变 <i>TP53</i> 、 <i>PIK3CA</i> 、 <i>KMT2C</i> 、 <i>PTEN</i>	[9]
	同源重组修复缺陷 蛋白质基因组学	常见突变 <i>RAD51</i> 、 <i>PALB2</i> 、 <i>ATR</i> 、 <i>CHK1</i> 、 <i>CDK12</i> 、 <i>WEE1</i> 和 <i>PLK1</i> 5q、 <i>SKP1</i> 缺失 <i>ARID1A</i> 突变	[18-20] [23-24]
转录组学改变	Perou分型(mRNA芯片)	luminal A、luminal B、HER2-enriched、basal-like和normal breast-like	[26]
	Lehmann分型	BL1/BL2、IM、M、MSL、LAR、UNS	[29]
	复旦分型	LAR、IM、BLIS、MES	[9]
免疫微环境改变	间质成分分型	T型、B型、E型、D型	[32-33]
	免疫微环境分型	“免疫沙漠”型、“先天免疫失活”型、“免疫炎性”型	
代谢组学改变	代谢组学分型	MPS1型、MPS2型、MPS3型	[52,54-56]

2 TNBC精准治疗探索

2.1 靶向PI3K/AKT通路

如前所述, TNBC 患者存在高频 *PIK3CA* 突变, 尤其在转移性的 BL 和 LAR 亚型中, *PIK3CA* 突变频率更高, 加上 45% 左右的 TNBC 患者存在 *PTEN* 和 *INPP4B* 失活, 提示 TNBC 中 PI3K/AKT/mTOR 信号通路异常激活极为常见, 靶向这一异常通路将可能使 TNBC 患者获益^[57-58]。Buparlisib 是 PI3K 泛抑制剂, I 期临床试验显示 Buparlisib 安全性和耐受性良好, 初步显示其具有抗肿瘤活性^[59]。2020 年公布的 Buparlisib 治疗转移性 TNBC II 期临床试验结果显示, 部分患者可从中获益, 并观察到 PI3K 通路关键分子下调^[60]。然而, 在一项 II / III 期临床试验 (BELLE-4) 中, 采用 Buparlisib 或安慰剂联合紫杉醇治疗无既往化疗的 HER2 阴性局部晚期或转移性乳腺癌患者, 中期结果显示 Buparlisib 联合紫杉醇导致晚期 TNBC 患者的无进展生存期 (progression-free survival, PFS) 变差, 而 *PIK3CA* 突变或 *PTEN* 缺失的患者则未显示出获益^[61]。Ipatasertib 是一种具有高度选择性的 AKT 抑制剂^[62], 一项 II 期 LOTUS 临床试验以 Ipatasertib 联合紫杉醇作为转移性三阴性乳腺癌的一线治疗方案, 结果显示 Ipatasertib 可以延长入组人群无进展生存期, 在 *PTEN* 低表达的患者中也表现出类似的结果, 这是首个支持 AKT 靶向治疗三阴性乳腺癌的结果^[63]。在另一项针对早期 TNBC 的临床试验中, Ipatasertib 与紫杉醇联合应用的总有效率更高, 且发现 Ipatasertib 可以提高 PIK3CA/AKT1/*PTEN* 变异患者的客观缓解率 (objective remission rate, ORR)^[64]。Capiasertib 是另一种 AKT 抑制剂, 一项临床试验结果显示, Capiasertib 加紫杉醇组 (5.9 个月) 对比安慰剂加紫杉醇组 (4.2 个月) 中位 PFS 延长, Capiasertib 加紫杉醇的中位 OS 为 19.1 个月, 而安慰剂加紫杉醇的中位 OS 为 12.6 个月, 并且发现在 PIK3CA/AKT1/*PTEN* 变异的患者中, 使用 Capiasertib 后 PFS 改善了 3.7~9.3 个月^[65]。此外, 另一种 AKT 高选择性抑制剂 MK-2206 单药治疗对 PIK3CA/AKT1 或 *PTEN* 突变或 *PTEN* 丢失的晚期乳腺癌患者临床疗效有限。在一定程度上, 这可能是由于在 PI3K/AKT 通路过度激活的患者中, 在可耐受剂量下单药靶向抑制作用不足, 加上缺乏特异性标记物及肿瘤异质性, 给患者分层带来挑战^[66]。mTOR 是 PI3K 通路的下游分子, 其在 TNBC 中的异常激活频率明显高于其他亚型, 并常与预后

不良相关^[67]。研究显示, mTOR 抑制剂雷帕霉素类似物依维莫司已经应用于 TNBC 的临床治疗, 并且能显著抑制 TNBC 细胞的生长^[68]。这些结果提示了靶向 PI3K/AKT/mTOR 通路的可行性, 但不同变异位点抑制剂临床疗效差异较大, 仍需要更多临床研究探索新型 PI3K 通路抑制剂联合其他药物治疗 TNBC。

2.2 靶向sMAPK通路

TNBC 中 MAPK 信号通路关键分子如 *BRAF*、*KRAS*、*MEK1/2* 突变频率较低 (<2%), 但 EGFR 过表达较为常见, 同时存在 MAPK 通路的负调控因子异常变异^[7]。EGFR 过表达将激活 Ras/MAPK 信号级联反应, 有望成为 TNBC 新的治疗靶点^[69]。目前靶向 EGFR 的单克隆抗体 (mAb) 和酪氨酸激酶抑制剂 (TKIs) 在进行 II / III 期临床试验, 但尚未显示明显获益结果^[70-72], 这一现象可能是由于 TNBC 中存在其他致癌信号通路异常激活并出现交互作用, 以致于单纯靶向 EGFR 信号难以抑制肿瘤细胞生长。类似的是, 一项 II 期临床试验 (COLET 试验) 显示, 单纯靶向 MAPK 通路关键分子 MEK 的抑制剂考比替尼 (Cobimetinib) 或一线联合紫杉醇治疗亦未能改善 TNBC 患者的中位无进展生存期 (median progression-free survival, mPFS), 但 Cobimetinib 显著增加了 TNBC 微环境中免疫细胞的浸润^[73-74]。基于这些发现, COLET 研究中进一步联合使用 Cobimetinib 和白蛋白紫杉醇及阿特丽珠单抗治疗 PD-L1 阳性 TNBC 患者, 尽管最终统计学趋势不明显, 但紫杉醇治疗时联合使用 Cobimetinib 仍使患者 PFS 或 ORR 获益。Cobimetinib + Atezolizumab 和紫杉醇似乎没有增加 ORR。这些结果提示, 联合 MEK 抑制剂、化疗和免疫治疗在这一难治性 TNBC 人群中可能具有一些潜在活性, 但需要更多研究证实^[75]。更重要的是, 至少 40% 的 TNBC 患者存在 *c-MYC* 扩增或过表达^[9], 而 *MYC* 异常表达与 MAPK 通路交互作用进一步加强了 MAPK 通路活性, 促进了癌细胞生长。然而, 迄今直接靶向 *MYC* 的药物尚未取得成功, 主要是因为作为转录因子的 *MYC* 蛋白定位于细胞核内, 加上其蛋白分子缺乏小分子药物结合的“口袋”结构^[76], 目前大多选择非直接靶向 *MYC* 策略抑制 *MYC* 过表达肿瘤生长^[77]。因此, 靶向 MAPK 通路或许有助于抑制 *MYC* 过表达的 TNBC 生长。2017 年, 一项 II a 期临床试验显示: 在治疗难治性实体瘤 (NCT02583542) 时, 尽管联合使用 MEK1/2 抑制剂司美替尼 (Selumetinib) 和 mTORC1/2

抑制剂 Vistusertib 未能观察到 ORR, 但在包括 TNBC 在内的各种肿瘤患者中, 病情稳定超过 16 周^[78]。此外, 临床前研究发现, 联合使用 BET (bromodomain and extraterminal motif, BET) 和 MEK 抑制剂能有效抑制 MYC 过表达的 TNBC 生长^[79]。这些临床前或临床试验结果提示, 联合靶向 MAPK 通路将可能为 TNBC 精准治疗提供新的策略。

2.3 靶向AR通路

雄激素受体 (androgen receptor, AR) 阳性的 TNBC 是一个独特的乳腺癌亚型, 约占总体 TNBC 的 10%~15%。Choi 等^[80]对 492 例 TNBC 进行分析, AR 阳性表达率为 17.7%, 单因素及多因素分析显示 AR 是 OS 预后不良的指标, 并且临床转归不良。然而, Wang 等^[81]进行的一项 Meta 分析纳入了 13 个研究共 2 826 例 TNBC 患者, 结果显示 AR 阳性患者比 AR 阴性患者 DFS 更高, 复发率更低, 提示 AR 作为 TNBC 预后指标仍存在争议。一项使用比卡鲁胺片 (Bicalutamide) 治疗 AR 阳性 TNBC 的 II 期临床试验并未显示明显获益, 该研究入组患者为经过治疗后的转移性 TNBC 患者, 免疫组织化学 (IHC) 检测 AR 表达基线为 10%, 结果发现 mPFS 仅为 12 周。然而 AR 抑制剂获得性耐药机制较为复杂, 包括胞质内和核内 AR 相关通路的激活。另一项使用恩杂鲁胺 (Enzalutamide) 的 II 期临床试验结果显示: 恩杂鲁胺在晚期 AR 阳性 TNBC 患者中具有良好的临床活性和耐受性^[82], 临床获益率 (clinical benefit rate, CBR) 和 mPFS 分别为 25% 和 2.9 个月。同时, AR 抑制剂醋酸阿比特龙 (Abiraterone) 和泼尼松达 (Prednisone) 得到了类似的效果, 6 个月时可获得 20% 的 CBR, 治疗效果呈现类似疗效趋势^[83-84]。尽管单纯阻断 AR 信号对 AR 阳性 TNBC 具有潜在临床获益, 但目前尚未达到明显的临床试验终点, 这或许是 AR 阳性 TNBC 中其他信号通路如 PI3K/AKT 通路相关基因突变和细胞周期调控异常紊乱所致。因此, 联合靶向 AR 及其他异常激活通路或许能实现明显的临床获益。

2.4 靶向HRD通路

研究发现, 约 10% 的 TNBC 患者伴有 BRCA1/2 胚系突变 (gBRCAm)。BRCA1/2 蛋白是 DNA 损伤同源重组修复通路的关键分子, 其突变将使细胞 DNA 损伤同源重组修复 (homologous recombination repair, HRR) 功能发生缺陷从而依赖其他修复机制以维持基因组完整性。带有 HRR 的 TNBC 常表现出基底样细胞型乳腺癌表型, 此类癌细胞对聚二磷

酸腺苷核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 抑制剂及 DNA 双链损伤药物如烷化剂、铂类、哌环类、拓扑异构酶类化疗药敏感, 从而诱导细胞周期阻滞和细胞凋亡。一项 III 期临床试验结果显示, 在 gBRCAm TNBC 患者中, 与多西他赛 (Docetaxel) 相比, 卡铂 (carboplatin) 能显著提高 TNBC 的总体 ORR (68% vs. 33.3%, $P = 0.03$) 和 PFS (6.8 vs. 4.4 months, $P = 0.002$)^[85]。此外, 在 TNBC 新辅助治疗的临床试验中, 铂类化疗显著提高了带有 BRCA 基因胚系突变 TNBC 的 pCR (61%~65%)^[86]。2019 年, 一项临床研究 (OlympiAD) 显示, PARP 抑制剂奥拉帕利 (Olaparib) 等治疗 BRCA 相关的转移性 TNBC 取得显著效果, 不仅显著改善患者的 OS 和 PFS, 还提高患者生活质量^[87]。类似的临床研究 (EMBRACA) 采用一种新型 PARP 抑制剂他唑来膦 (Talazoparib) 治疗转移性 TNBC, 中期结果显示良好疗效, 但在延长观察时间后发现其疗效与化疗之间差异不显著^[88-89]。这些结果提示, 带有 gBRCAm 的 TNBC 患者对不同的 PARP 抑制剂可能存在不同反应。尽管如此, gBRCAm 是目前被 FDA 批准为使用 PARP 抑制剂如奥拉帕利的唯一生物标志物; 而以奥拉帕利为代表的 PARP 抑制剂作为 TNBC 术后辅助治疗药物正在开展临床研究 (OlympiA, NCT02032823)。更重要的是, 其他 DNA 修复相关基因功能缺陷, 如 ATR 及其下游相关分子 CHEK1、WEE1、ARUKA、PLK1 等功能缺陷, 也可能引起散发性 TNBC HRD 样改变, 这些改变统称为 “BRCAness” 表型。理论上, 存在 HRD 的 TNBC 能从 DNA 损伤类化疗药物及 PARP 抑制剂单药或联合用药中获益。一项 TNBC 新辅助治疗 III 期临床试验 (BrightTness trial, NCT02032277) 结果显示, 与单纯使用紫杉醇的患者相比, PARP 抑制剂维利帕尼 (Veliparib) 联合卡铂及紫杉醇能改善 TNBC 患者的 pCR 且并未增加毒性, 但这一结果并未与卡铂联合紫杉醇组的患者进行比较^[90]。随后报道的另一项 III 期临床试验 (BROCADE3, NCT02163694) 也显示 Veliparib 联合卡铂及紫杉醇明显使 gBRCAm 晚期乳腺癌患者获益^[91]。然而, 在伴有高 HRD 的早期乳腺癌新辅助临床试验 (GeparOLA, NCT027-89332) 中, 与卡铂加紫杉醇相比, 尽管奥拉帕利联合紫杉醇更能体现联合用药的耐受性, 但并未显示出明显的 pCR 优势^[92]。这些结果提示, BRCAness 表型概念扩展了 HRD 的应用范围, 并为 PARP 抑制剂联合用药提供了新的依据, 只是 HRD 通路与

其他癌驱动信号通路之间存在复杂交互作用,许多联合用药仍在探索中,包括PI3K/ATK通路抑制剂及免疫检查点抑制剂等^[93],但也需要探索HRD以外的生物标志物以指导联合用药的临床试验设计尤其是免疫检查点抑制剂的应用。

2.5 靶向特异蛋白的抗体-药物偶联物(ADC)治疗

抗体偶联细胞毒性药物旨在利用癌细胞表面过表达的特异性癌蛋白特异性将药物传递给特定目标靶细胞,通过细胞内吞作用及细胞自身内在加工机制将毒性药物释放从而达到特异杀伤肿瘤细胞作用。癌细胞表面过表达的特异性癌蛋白的鉴定是加速抗体-药物偶联物(antibody-drug conjugates, ADC)开发的基本条件。目前在TNBC中最为成功的ADC是针对滋养层细胞表面抗原(trophoblast cell-surface antigen, Trop2)的抗体偶联药物(sacituzumab govitecan)。Trop2分子是一类细胞跨膜糖蛋白,又称为上皮糖蛋白-1(epithelial glycoprotein-1)、胃肠道抗原733-1(gastrointestinal antigen 733-1)、膜成分表面标记-1(membrane component surface marker-1)或肿瘤相关钙离子信号转导子-2(tumor-associated calcium signal transducer-2),由TACSTD2(Trop2)基因编码。已发现约90%的TNBC过表达Trop2,提示该蛋白可能是TNBC的靶点。Sacituzumab-govitecan(IMMU-132, SG; Trodelvy®)是一种靶向TROP2抗体偶联伊立替康前体物SN-38的偶联药物,临床试验显示,在预处理的转移性TNBC患者中,IMMU-132的ORR达30%,mPFS和OS分别为6.0和16.6个月。在108例TNBC患者中,其总体ORR达33.3%,mPFS延长至5.5个月,主要不良反应为骨髓毒性反应^[94]。由于这一突出的临床试验数据,FDA于2020年4月加速批准该药用于转移性TNBC。不仅如此,SG在难治性HR⁺/HER2⁻乳腺癌中也呈现良好的效果^[95],且III期临床试验(TROPiCS-02, NCT01631552)正在进行中。此外,约40%的TNBC过表达糖蛋白NMB(gpNMB)[免疫组化(immunohistochemical, IHC)≥25%的肿瘤上皮细胞],临床试验显示,针对该分子的单抗偶联药物(CDX-011)可以达到40%的ORR^[96]。而作为锌转运蛋白LIV-1,亦发现其在68%的转移性TNBC中过表达,针对该蛋白的ADC(SGNLIV1A)在转移性TNBC患者I期临床试验中产生25%的ORR,mPFS为11个月^[97]。因此,进一步筛选鉴定TNBC中高表达且具有生物活性的膜蛋白分子,将有助于ADC设计及可能受益人群的筛选。

2.6 免疫治疗及其联合治疗

部分TNBC患者癌组织中存在广泛淋巴细胞浸润,提示免疫治疗或许为TNBC带来新希望。2016年,PD-1抑制剂派姆单抗(Pembrolizumab, Keytruda)的多中心I b期临床试验(KEYNOTE-12)结果显示疾病控制率为25.9%,开辟了PD-L1阳性复发难治的TNBC免疫治疗的初步探索^[98]。在随后的II期临床试验(KEYNOTE-086)研究中,Pembrolizumab单药疗法在先前治疗过的转移性TNBC以及PD-L1阳性的转移性TNBC中显示出持久的抗肿瘤活性,安全性可控,且可作为一线治疗方案^[99-100]。2020年公布的III期临床研究(KEYNOTE-522)结果显示,在早期TNBC患者中,接受Pembrolizumab联合新辅助化疗的患者pCR明显高于接受安慰剂加新辅助化疗的患者^[101]。2018年,在一项国际多中心、随机、双盲、III期临床试验(IMpassion130)研究中,阿替利珠单抗(Atezolizumab, Tecentriq)联合白蛋白紫杉醇对比安慰剂联合白蛋白紫杉醇一线治疗局部晚期或转移性TNBC患者,结果显示Atezolizumab联合白蛋白紫杉醇在PD-L1阳性人群中获得更长的PFS,并在意愿治疗(intention-to-treat, ITT)人群和PD-L1阳性肿瘤患者人群中均观察到这种效应^[102]。随后,2019年公布的OS二次分析结果提示,PD-L1阳性状态可以预测Atezolizumab联合白蛋白紫杉醇的临床疗效:在此研究中TNBC患者的中位OS达到25个月,尽管总体上其与对照组之间差异不明显,但在间质浸润炎性细胞PD-L1阳性超过1%的患者中其具有显著差异性,提示间质PD-L1阳性炎性细胞可能是TNBC免疫治疗的重要生物标志物。此外,针对CTLA-4的抑制剂,Ipilimumab和Tremelimumab,在乳腺癌患者中单独用药或联合用药未存在安全问题,且Ipilimumab联合乳腺癌术前冷冻消融治疗具有潜在的免疫效应,提示该策略有可能诱导和协同抗肿瘤免疫^[103-104]。然而,免疫检查点抑制剂在TNBC中的应用仍存在许多矛盾的结果,如2020年9月公布的IMpassion131临床试验(ESMO Virtual Congress 2020. Abstract LBA15)结果显示:TNBC患者在阿替利珠单抗联合白蛋白紫杉醇治疗中未获益。同时,在早期TNBC新辅助治疗(NeoTRIPaPDL1, NCT02620280)中,卡铂联合阿替利珠单抗亦未给患者带来额外获益^[105]。因此,FDA重新修订了基于IMpassion130结果的批文信息,提示目前TNBC免疫治疗效果尚未确定。这或许是由于不同免疫检查点抑制剂联合不同的化疗药

物对免疫微环境的影响有差异, 更重要的, 除了PD-L1外, 目前尚缺乏较为肯定的生物标志物以实现患者精细分层。这也将是未来需要深入探讨的科学问题。

部分 TNBC 新药临床研究进展总结见表 2。图 1 展示了 TNBC 常见的癌驱动信号通路, 以及针对这些通路异常激活正在开展临床研究的抑制剂。

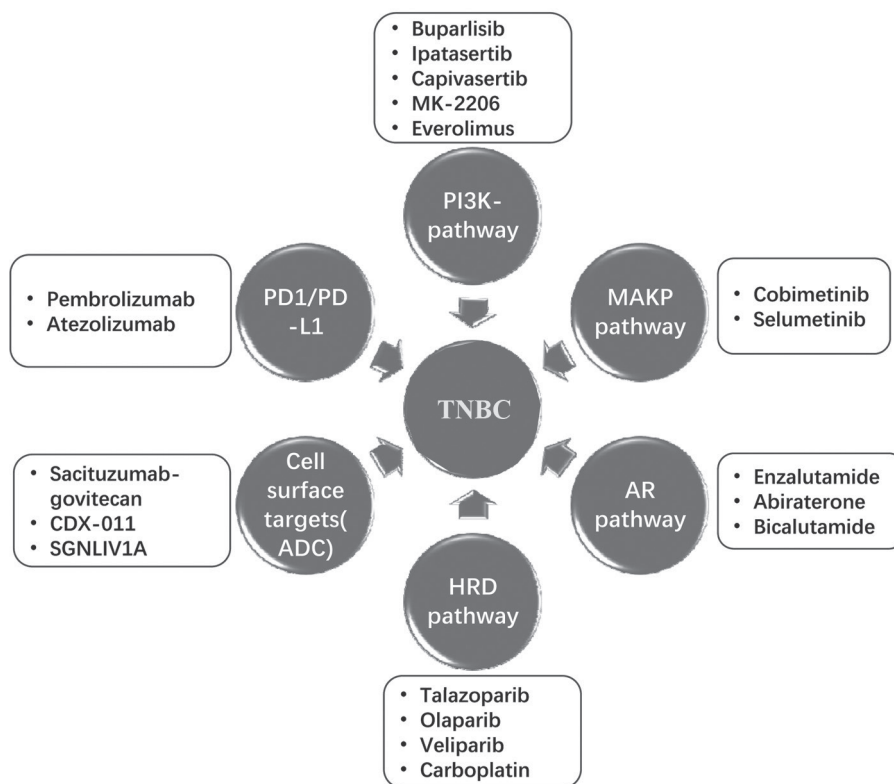
3 展望

TNBC 是生物学上高度异质性和侵袭性的乳腺癌亚型, 其基因变异谱复杂和分散, 癌细胞信号网络之间亦存在复杂交互作用, 且微环境高度异质性。尽管 TNBC 多组学研究及其分子分型已取得一定进展, 但目前仍存在许多科学问题待解决。(1) TNBC 基因组常呈现出高度扩增等复杂变异如 c-Myc 扩增等, 但在药物压力及其自然进化过程中, 癌细胞如何获得这些复杂变异目前尚未完全清楚, 因此难以完全根据基因组变异信息对所有 TNBC 患者进行分层。(2) 尽管基于转录组变异谱的 Lehmann 和复旦分型相对明晰 (Lehmann 分型为 7 个亚型, 复旦分型包括 4 个亚型)^[9, 30], 但这些分型的应用仍需更多

大型临床研究加以验证。(3) 由于癌细胞自身和间质细胞成分存在复杂代谢重塑, 加上 TNBC 免疫微环境中各种免疫细胞分布空间异质性明显, 免疫细胞功能耗竭亦是常见表型, 但机制尚未完全阐明。(4) TNBC 自身癌细胞存在复杂交互作用驱动信号网络, 加上微环境共进化与异质性, 目前单独靶向、联合靶向、化疗或靶向联合免疫检查点抑制剂等治疗疗效仍存在矛盾或不确定性, 甚至出现无应答反应。可见, 针对生物学机制高度复杂的 TNBC, 临床上开展个体化精准诊疗仍面临极大挑战。2019 年, 基于综合基因组图谱分析 (comprehensive genomic profiling, CGP) 的临床试验 (篮子试验和伞式试验) 设计 (I-PREDICT, NCT02534675) 为 TNBC 精准诊疗提供了新的方向^[106]。一项基于 TNBC 转录组分型和基因组特征的 I b/ II 期伞式临床试验 (NCT03805399) 显示: 在 7 个 ITT 患者分组中, 白蛋白紫杉醇联合 PD-1 抗体治疗组 (C 组) 显示出较好的 ORR, 而这组患者对应转录组分型的 IM 亚型。此外, 联合抗血管生成治疗组 (E 组) 显示患者获益的同时副作用增加, 这组患者对应基底样免疫抑制型但不伴 BRCA1/2 功能缺失变异 (basal-like immune-suppressed,

表2 部分TNBC的新药临床研究进展

治疗方向	药物类型	药物名称	临床试验进展	临床试验编号
靶向PI3K/AKT通路	PI3K泛抑制剂	Buparlisib	II	NCT01629615
		Ipatasertib	II/III	NCT03337724
	AKT抑制剂	Capivasertib	III	NCT03997123
		MK-2206	II	NCT01277757
	mTOR抑制剂	Everolimus	上市	
靶向MAPK通路	EGFR的单克隆抗体(mAb)	Lapatinib	上市	
		Cetuximab	II	NCT01097642
	MEK抑制剂	Cobimetinib	II	NCT02322814
		Selumetinib	II a	NCT02583542
靶向AR通路	AR抑制剂	Bicalutamide	II	NCT03055312
		Enzalutamide	II	NCT01889238
		Abiraterone	II	NCT01842321
靶向HRD通路	PARP抑制剂	Talazoparib	III	NCT01945775
		Olaparib	III	NCT02000622
		Veliparib	III	NCT02163694
		铂类	Carboplatin	III
靶向ADC治疗	ADC	Sacituzumab-govitecan	上市	
		Glembatumumab Vedotin(CDX-011)	II	NCT01997333
		SGNLIV1A	I / II	NCT03424005
免疫治疗	免疫检查点抑制剂	Pembrolizumab	III	NCT02555657
		Atezolizumab	III	NCT04177108
	CTLA-4的抑制剂	Ipilimumab	II	NCT03818685
		Tremelimumab	II	NCT03606967



根据目前TNBC多组学信息, TNBC中异常活化的癌相关信号通路主要是PI3K-AK通路、MAPK通路、AR通路、同源重组修复缺陷(HRD)通路、PD-1/PD-L1通路及癌细胞表面异常表达分子(TROP2)(分别为图中的圆圈部分), 针对这些通路异常激活正在开展临床研究的抑制剂小结于图中的方框内。

图1 TNBC常见癌驱动信号通路及部分新药临床试验进展

BLIS)。其他单药或联合靶向药物如雄激素受体抑制剂、CDK4/6 抑制剂、mTOR 抑制剂等尚未显示很理想的效果^[107]。类似的是, 在其他瘤种中开展CGP 指导的临床试验时也存在类似现象, 即部分患者未能找到高度匹配的方案。其原因除了癌细胞自身复杂分子机制未完全阐明外, 药物可及性、临床试验入组条件及患者自身状况等因素都对治疗决策及患者临床获益产生影响。尽管如此, 基于临床CGP 应用的肿瘤精准诊疗仍是充满希望的肿瘤诊疗新模式与新方向^[107-108]。这些结果提示: 未来TNBC 临床实践中仍需加强多组学标志物的深度挖掘与理解, 需要在强化现有多学科诊疗模式(multi-disciplinary team, MDT) 的同时, 充分发挥肿瘤分子诊断专家团队(molecular tumor board, MTB) 作用, 合理地深度解读 TNBC 多组学数据, 采取多对一策略(N-of-One) 制定个体化精准诊疗方案或临床试验^[109]。相信未来随着多技术平台及人工智能的应用, 通过整合并深入理解基因组学、蛋白质基因组学、转录组学、表观组学、代谢组学、免疫组

学等多组学信息, 结合患者实际情况, 探索建立新的 TNBC 临床实践模式, 尤其是在相关共识指南基础上加强以篮子试验和伞式试验为基础的真实世界临床研究^[110-111], 将为以机制指导的 TNBC 个体化精准诊疗带来新的曙光。

[参 考 文 献]

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115-32
- [2] DeSantis CE, Siegel RL, Sauer AG, et al. Cancer statistics for African Americans, 2016: progress and opportunities in reducing racial disparities. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 290-308
- [3] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68: 394-424
- [4] Brown M, Tsodikov A, Bauer KR, et al. The role of human epidermal growth factor receptor 2 in the survival of women with estrogen and progesterone receptor-negative, invasive breast cancer: the California Cancer Registry, 1999-2004. *Cancer*, 2008, 112: 737-47
- [5] Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative

- breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 4429-34
- [6] Ding L, Ellis M, Li S, et al. Genome remodelling in a basal-like breast cancer metastasis and xenograft. *Nature*, 2010, 464: 999-1005
- [7] Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 2012, 490: 61-70
- [8] Lawrence R, Perez E, Hernández D, et al. The proteomic landscape of triple-negative breast cancer. *Cell Rep*, 2015, 11: 630-44
- [9] Jiang Y, Ma D, Suo C, et al. Genomic and transcriptomic landscape of triple-negative breast cancers: subtypes and treatment strategies. *Cancer Cell*, 2019, 35: 428-40.e5
- [10] Lang G, Jiang Y, Shi J, et al. Characterization of the genomic landscape and actionable mutations in Chinese breast cancers by clinical sequencing. *Nat Commun*, 2020, 11: 5679
- [11] Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*, 2011, 474: 609-15
- [12] Curtis C, Shah S, Chin S, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature*, 2012, 486: 346-52
- [13] Eirew P, Steif A, Khattra J, et al. Dynamics of genomic clones in breast cancer patient xenografts at single-cell resolution. *Nature*, 2015, 518: 422-6
- [14] Lawson D, Bhakta N, Kessenbrock K, et al. Single-cell analysis reveals a stem-cell program in human metastatic breast cancer cells. *Nature*, 2015, 526: 131-5
- [15] Razavi P, Chang M, Xu G, et al. The genomic landscape of endocrine-resistant advanced breast cancers. *Cancer Cell*, 2018, 34: 427-38.e6
- [16] Serikawa T, Spanos C, von Hacht A, et al. Comprehensive identification of proteins binding to RNA G-quadruplex motifs in the 5' UTR of tumor-associated mRNAs. *Biochimie*, 2018, 144: 169-84
- [17] Angus L, Smid M, Wilting S, et al. The genomic landscape of metastatic breast cancer highlights changes in mutation and signature frequencies. *Nat Genet*, 2019, 51: 1450-8
- [18] Balko J, Giltmane J, Wang K, et al. Molecular profiling of the residual disease of triple-negative breast cancers after neoadjuvant chemotherapy identifies actionable therapeutic targets. *Cancer Discov*, 2014, 4: 232-45
- [19] Belli C, Duso B, Ferraro E, et al. Homologous recombination deficiency in triple negative breast cancer. *Breast*, 2019, 45: 15-21
- [20] Hoppe M, Sundar R, Tan D, et al. Biomarkers for homologous recombination deficiency in cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110: 704-13
- [21] Byrum A, Vindigni A, Mosammamaparast N. Defining and modulating 'BRCAness'. *Trends Cell Biol*, 2019, 29: 740-51
- [22] Ojala K, Meretoja T, Mattson J, et al. Surgical treatment and prognosis of breast cancer in elderly - a population-based study. *Eur J Surg Oncol*, 2019, 45: 956-62
- [23] Lin P, Chen M, Tsai L, et al. Using next-generation sequencing to redefine BRCAness in triple-negative breast cancer. *Cancer Sci*, 2020, 111: 1375-84
- [24] Mertins P, Mani D, Ruggles K, et al. Proteogenomics connects somatic mutations to signalling in breast cancer. *Nature*, 2016, 534: 55-62
- [25] Krug K, Jaehnig E, Satpathy S, et al. Proteogenomic landscape of breast cancer tumorigenesis and targeted therapy. *Cell*, 2020, 183: 1436-56.e31
- [26] Perou C, Sørlie T, Eisen M, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 2000, 406: 747-52
- [27] Dai X, Li T, Bai Z, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *Am J Cancer Res*, 2015, 5: 2929-43
- [28] Tang P, Tse G. Immunohistochemical surrogates for molecular classification of breast carcinoma: a 2015 update. *Arch Pathol Lab Med*, 2016, 140: 806-14
- [29] Kim H, Park K, Kim Y, et al. Discordance of the PAM50 intrinsic subtypes compared with immunohistochemistry-based surrogate in breast cancer patients: potential implication of genomic alterations of discordance. *J Korean Cancer Res Assoc*, 2019, 51: 737-47
- [30] 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 Clin Invest*, 2011, 121: 2750-67
- [31] Bareche Y, Venet D, Ignatiadis M, et al. Unravelling triple-negative breast cancer molecular heterogeneity using an integrative multiomic analysis. *Ann Oncol*, 2018, 29: 895-902
- [32] Lehmann BD, Jovanović B, Chen X, et al. Refinement of triple-negative breast cancer molecular subtypes: implications for neoadjuvant chemotherapy selection. *PLoS One*, 2016, 11: e0157368
- [33] Burstein M, Tsimelzon A, Poage G, et al. Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 1688-98
- [34] Jiang Y, Liu Y, Xiao Y, et al. Molecular subtyping and genomic profiling expand precision medicine in refractory metastatic triple-negative breast cancer: the FUTURE trial. *Cell Res*, 2020, 31: 178-86
- [35] Karaayvaz M, Cristea S, Gillespie SM, et al. Unravelling subclonal heterogeneity and aggressive disease states in TNBC through single-cell RNA-seq. *Nat Commun*, 2018, 9: 1-10
- [36] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144: 646-74
- [37] Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol*, 2010, 28: 105-13
- [38] Adams S, Gray RJ, Demaria S, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J Clin Oncol*, 2014, 32: 2959
- [39] Saleh SM, Bertos N, Grusos T, et al. Identification of

- interacting stromal axes in triple-negative breast cancer. *Cancer Res*, 2017, 77: 4673-83
- [40] Xiao Y, Ma D, Zhao S, et al. Multi-omics profiling reveals distinct microenvironment characterization and suggests immune escape mechanisms of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2019, 25: 5002-14
- [41] He Y, Jiang Z, Chen C, et al. Classification of triple-negative breast cancers based on immunogenomic profiling. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37: 327
- [42] Saltz J, Gupta R, Hou L, et al. Spatial organization and molecular correlation of tumor-infiltrating lymphocytes using deep learning on pathology images. *Cell Rep*, 2018, 23: 181-93.e7
- [43] Kather JN, Krisam J, Charoentong P, et al. Predicting survival from colorectal cancer histology slides using deep learning: a retrospective multicenter study. *PLoS Med*, 2019, 16: e1002730
- [44] Jackson HW, Fischer JR, Zanotelli VR, et al. The single-cell pathology landscape of breast cancer. *Nature*, 2020, 578: 615-20
- [45] Keren L, Bosse M, Marquez D, et al. A structured tumor-immune microenvironment in triple negative breast cancer revealed by multiplexed ion beam imaging. *Cell*, 2018, 174: 1373-87.e19
- [46] Wu Q, Ba-Alawi W, Deblois G, et al. GLUT1 inhibition blocks growth of RB1-positive triple negative breast cancer. *Nat Commun*, 2020, 11: 4205
- [47] Huang X, Li X, Xie X, et al. High expressions of LDHA and AMPK as prognostic biomarkers for breast cancer. *Breast*, 2016, 30: 39-46
- [48] Johnson J, Cotzia P, Fratamico R, et al. MCT1 in invasive ductal carcinoma: monocarboxylate metabolism and aggressive breast cancer. *Front Cell Dev Biol*, 2017, 5: 27
- [49] Hoxhaj G, Manning B. The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20: 74-88
- [50] Sun X, Wang M, Wang M, et al. Metabolic reprogramming in triple-negative breast cancer. *Front Oncol*, 2020, 10: 428
- [51] Hay N. Reprogramming glucose metabolism in cancer: can it be exploited for cancer therapy? *Nat Rev Cancer*, 2016, 16: 635-49
- [52] Watson M, Vignali P, Mullett S, et al. Metabolic support of tumour-infiltrating regulatory T cells by lactic acid. *Nature*, 2021, 591: 645-51
- [53] Gong Y, Ji P, Yang Y, et al. Metabolic-pathway-based subtyping of triple-negative breast cancer reveals potential therapeutic targets. *Cell Metab*, 2021, 33: 51-64.e9
- [54] Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16: 582-98
- [55] Leone R, Powell J. Metabolism of immune cells in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20: 516-31
- [56] Reinfeld B, Madden M, Wolf M, et al. Cell-programmed nutrient partitioning in the tumour microenvironment. *Nature*, 2021, 593: 282-8
- [57] LoRusso PM. Inhibition of the PI3K/AKT/mTOR pathway in solid tumors. *J Clin Oncol*, 2016, 34: 3803
- [58] Pascual J, Turner N. Targeting the PI3-kinase pathway in triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*, 2019, 30: 1051-60
- [59] Bendell JC, Rodon J, Burris HA, et al. Phase I, dose-escalation study of BKM120, an oral pan-class I PI3K inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol*, 2012, 30: 282-90
- [60] Garrido-Castro AC, Saura C, Barroso-Sousa R, et al. Phase 2 study of buparlisib (BKM120), a pan-class I PI3K inhibitor, in patients with metastatic triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2020, 22: 1-13
- [61] Martín M, Chan A, Dirix L, et al. A randomized adaptive phase II/III study of buparlisib, a pan-class I PI3K inhibitor, combined with paclitaxel for the treatment of HER2-advanced breast cancer (BELLE-4). *Ann Oncol*, 2017, 28: 313-20
- [62] Umemura S, Yoshida S, Ohta Y, et al. Increased phosphorylation of Akt in triple-negative breast cancers. *Cancer Sci*, 2007, 98: 1889-92
- [63] Kim SB, Dent R, Im SA, et al. Ipatasertib plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel as first-line therapy for metastatic triple-negative breast cancer (LOTUS): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 2017, 18: 1360-72
- [64] Oliveira M, Saura C, Nuciforo P, et al. FAIRLANE, a double-blind placebo-controlled randomized phase II trial of neoadjuvant ipatasertib plus paclitaxel for early triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*, 2019, 30: 1289-97
- [65] Schmid P, Abraham J, Chan S, et al. Capivasertib plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel as first-line therapy for metastatic triple-negative breast cancer: the PAKT trial. *J Clin Oncol*, 2020, 38: 423-33
- [66] Xing Y, Lin NU, Maurer MA, et al. Phase II trial of AKT inhibitor MK-2206 in patients with advanced breast cancer who have tumors with PIK3CA or AKT mutations, and/or PTEN loss/PTEN mutation. *Breast Cancer Res*, 2019, 21: 78
- [67] Walsh S, Flanagan L, Quinn C, et al. mTOR in breast cancer: differential expression in triple-negative and non-triple-negative tumors. *Breast*, 2012, 21: 178-82
- [68] Bahrami A, Khazaei M, Hasanzadeh M, et al. Therapeutic potential of targeting PI3K/AKT pathway in treatment of colorectal cancer: rational and progress. *J Cell Biochem*, 2018, 119: 2460-9
- [69] Duncan J, Whittle M, Nakamura K, et al. Dynamic reprogramming of the kinome in response to targeted MEK inhibition in triple-negative breast cancer. *Cell*, 2012, 149: 307-21
- [70] Di Leo A, Gomez H, Aziz Z, et al. Phase III, double-blind, randomized study comparing lapatinib plus paclitaxel with placebo plus paclitaxel as first-line treatment for metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*, 2008, 26: 5544-52
- [71] Finn R, Press M, Dering J, et al. Estrogen receptor, progesterone receptor, human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), and epidermal growth factor receptor expression and benefit from lapatinib in a randomized trial of paclitaxel with lapatinib or placebo as first-line

- treatment in HER2-negative or unknown metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*, 2009, 27: 3908-15
- [72] Baselga J, Gómez P, Greil R, et al. Randomized phase II study of the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab with cisplatin versus cisplatin alone in patients with metastatic triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*, 2013, 31: 2586-92
- [73] Brufsky A, Miles D, Zvirbulė Z, et al. Cobimetinib combined with paclitaxel as first-line treatment for patients with advanced triple-negative breast cancer (COLET study): primary analysis of cohort I. *Cancer Res*, 2018, 78: P5-21-01
- [74] Wongchenko M, Miles D, Kim SB, et al. Exploratory biomarker analysis of first-line cobimetinib (C) + paclitaxel (P) in patients (pts) with advanced triple-negative breast cancer (TNBC) from the phase 2 COLET study. *Eur J Cancer*, 2016, 69: S148-9
- [75] Brufsky A, Kim S, Zvirbulė Ž, et al. A phase II randomized trial of cobimetinib plus chemotherapy, with or without atezolizumab, as first-line treatment for patients with locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (COLET): primary analysis. *Ann Oncol*, 2021, 32: 652-60
- [76] Duffy M, Crown J. Drugging "undruggable" genes for cancer treatment: are we making progress? *Int J Cancer*, 2021, 148: 8-17
- [77] Wolf E, Eilers M. Targeting MYC proteins for tumor therapy. *Annu Rev Cancer Biol*, 2020, 4: 61-75
- [78] Schmid P, Forster MD, Summers YJ, et al. A study of vistusertib in combination with selumetinib in patients with advanced cancers: TORCMEK phase Ib results. *J Clin Oncol*, 2017, 35: 2548
- [79] Schafer JM, Lehmann BD, Gonzalez-Ericsson PI, et al. Targeting MYCN-expressing triple-negative breast cancer with BET and MEK inhibitors. *Sci Transl Med*, 2020, 12: eaaw8275
- [80] Choi JE, Kang SH, Lee SJ, et al. Androgen receptor expression predicts decreased survival in early stage triple-negative breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22: 82-9
- [81] Wang C, Pan B, Zhu H, et al. Prognostic value of androgen receptor in triple negative breast cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*, 2016, 7: 46482-91
- [82] Traina T, Miller K, Yardley D, et al. Enzalutamide for the treatment of androgen receptor-expressing triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*, 2018, 36: 884-90
- [83] Arce-Salinas C, Riesco-Martinez MC, Hanna W, et al. Complete response of metastatic androgen receptor-positive breast cancer to bicalutamide: case report and review of the literature. *J Clin Oncol*, 2016, 34: e21-4
- [84] Lehmann BD, Abramson VG, Sanders ME, et al. TBCRC 032 IB/II multicenter study: molecular insights to AR antagonist and PI3K inhibitor efficacy in patients with AR+ metastatic triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2020, 26: 2111-23
- [85] Tutt A, Tovey H, Cheang M, et al. Carboplatin in BRCA1/2-mutated and triple-negative breast cancer BRCAness subgroups: the TNT Trial. *Nat Med*, 2018, 24: 628-37
- [86] Hahnen E, Lederer B, Hauke J, et al. Germline mutation status, pathological complete response, and disease-free survival in triple-negative breast cancer: secondary analysis of the geparsixto randomized clinical trial. *JAMA Oncol*, 2017, 3: 1378-85
- [87] Robson M, Tung N, Conte P, et al. OlympiAD final overall survival and tolerability results: olaparib versus chemotherapy treatment of physician's choice in patients with a germline BRCA mutation and HER2-negative metastatic breast cancer. *Ann Oncol*, 2019, 30: 558-66
- [88] Litton J, Rugo H, Ettl J, et al. Talazoparib in patients with advanced breast cancer and a germline BRCA mutation. *N Engl J Med*, 2018, 379: 753-63
- [89] Litton J, Hurvitz S, Mina L, et al. Talazoparib versus chemotherapy in patients with germline BRCA1/2-mutated HER2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from the EMBRACA trial. *Ann Oncol*, 2020, 31: 1526-35
- [90] Loibl S, O'Shaughnessy J, Untch M, et al. Addition of the PARP inhibitor veliparib plus carboplatin or carboplatin alone to standard neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer (BrightNESS): a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2018, 19: 497-509
- [91] Diéras V, Han H, Kaufman B, et al. Veliparib with carboplatin and paclitaxel in BRCA-mutated advanced breast cancer (BROCADE3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2020, 21: 1269-82
- [92] Fasching P, Link T, Hauke J, et al. Neoadjuvant paclitaxel/olaparib in comparison to paclitaxel/carboplatinum in patients with HER2-negative breast cancer and homologous recombination deficiency (GeparOLA study). *Ann Oncol*, 2021, 32: 49-57
- [93] Garrido-Castro A, Lin N, Polyak K. Insights into molecular classifications of triple-negative breast cancer: improving patient selection for treatment. *Cancer Discov*, 2019, 9: 176-98
- [94] Bardia A, Mayer I, Vahdat L, et al. Sacituzumab Govitecan-hziy in refractory metastatic triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*, 2019, 380: 741-51
- [95] Kalinsky K, Diamond J, Vahdat L, et al. Sacituzumab govitecan in previously treated hormone receptor-positive/HER2-negative metastatic breast cancer: final results from a phase I/II, single-arm, basket trial. *Ann Oncol*, 2020, 31: 1709-18
- [96] Yardley D, Weaver R, Melisko M, et al. EMERGE: A randomized phase II study of the antibody-drug conjugate glembatumumab vedotin in advanced glycoprotein NMB-expressing breast cancer. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 1609-19
- [97] Modi S, Pusztaí L, Forero A, et al. Phase 1 study of the antibody-drug conjugate SGN-LIV1A in patients with heavily pretreated triple-negative metastatic breast cancer. *Cancer Res*, 2018, 78: PD3-14
- [98] Nanda R, Chow L, Dees E, et al. Pembrolizumab in patients with advanced triple-negative breast cancer: phase

- Ib KEYNOTE-012 study. *J Clin Oncol*, 2016, 34: 2460-7
- [99] Adams S, Loi S, Toppmeyer D, et al. Pembrolizumab monotherapy for previously untreated, PD-L1-positive, metastatic triple-negative breast cancer: cohort B of the phase II KEYNOTE-086 study. *Ann Oncol*, 2019, 30: 405-11
- [100] Adams S, Schmid P, Rugo H, et al. Pembrolizumab monotherapy for previously treated metastatic triple-negative breast cancer: cohort A of the phase II KEYNOTE-086 study. *Ann Oncol*, 2019, 30: 397-404
- [101] Schmid P, Cortes J, Pusztai L, et al. Pembrolizumab for early triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*, 2020, 382: 810-21
- [102] Schmid P, Adams S, Rugo H, et al. Atezolizumab and nab-paclitaxel in advanced triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*, 2018, 379: 2108-21
- [103] McArthur H, Diab A, Page D, et al. A pilot study of preoperative single-dose ipilimumab and/or cryoablation in women with early-stage breast cancer with comprehensive immune profiling. *Clin Cancer Res*, 2016, 22: 5729-37
- [104] Nehra J, Bradbury P, Ellis P, et al. A Canadian cancer trials group phase IB study of durvalumab (anti-PD-L1) plus tremelimumab (anti-CTLA-4) given concurrently or sequentially in patients with advanced, incurable solid malignancies. *Invest New Drugs*, 2020, 38: 1441-7
- [105] Gianni L, Huang CS, Egle D, et al. Pathologic complete response (pCR) to neoadjuvant treatment with or without atezolizumab in triple negative, early high-risk and locally advanced breast cancer. NeoTRIPaPDL1 Michelangelo randomized study[C]. Proceedings of the 2016 San Antonio Breast Cancer Symposium, 2016
- [106] Sicklick J, Kato S, Okamura R, et al. Molecular profiling of cancer patients enables personalized combination therapy: the I-PREDICT study. *Nat Med*, 2019, 25: 744-50
- [107] Ge JY, Shu S, Kwon M, et al. Acquire resistance to combined BET and CDK4/6 inhibition in triple-negative breast cancer. *Nat Commun*, 2020, 11: 2350
- [108] Singh A, Shum E, Rajdev L, et al. Impact and diagnostic gaps of comprehensive genomic profiling in real-world clinical practice. *Cancers*, 2020, 12: 1156
- [109] Kato S, Kim K, Lim H, et al. Real-world data from a molecular tumor board demonstrates improved outcomes with a precision N-of-One strategy. *Nat Commun*, 2020, 11: 4965
- [110] Greshock J, Lewi M, Hartog B, et al. Harnessing real-world evidence for the development of novel cancer therapies. *Trends Cancer*, 2020, 6: 907-9
- [111] Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO precision medicine working group. *Ann Oncol*, 2020, 31: 1491-505