

Tumeurs triple négatives du sein : facteurs pronostiques et prédictifs

S. ZILBERMAN *, M. BALLESTER, C. BEZU, E. DARAI, R. ROUZIER
(Paris)

Résumé

Les cancers du sein « triple négatifs » représentent environ 17 % des cancers du sein et constituent un groupe hétérogène caractérisé par l'absence de récepteurs hormonaux aux œstrogènes et à la progestérone et l'absence de surexpression du facteur de croissance HER-2 en immunohistochimie. Ce sous-type de cancers du sein est associé à un profil clinique défavorable avec un haut risque de rechute métastatique précoce du fait du caractère agressif de ces tumeurs, de leur réponse partielle à la chimiothérapie et du manque actuel de thérapies ciblées utilisées en pratique clinique. L'identification précise des facteurs pronostiques de ce sous-type de cancers, ainsi que des facteurs prédictifs de la réponse tumorale aux différents traitements, et l'apport des thérapies ciblées sont des pistes susceptibles d'améliorer la prise en charge et la survie des patientes atteintes par ces cancers au pronostic péjoratif.

Mots clés : cancer du sein triple négatif, facteurs pronostiques et prédictifs, classification moléculaire, cancer du sein basal-like

Hôpital Tenon - APHP - Service de gynécologie-obstétrique - CancerEst - GRC-UPMC 6 -
Université Pierre et Marie Curie Paris VI - 4 rue de la Chine - 75020 Paris

* Correspondance : sonia.zilberman@tnn.aphp.fr

Déclaration publique d'intérêt

Je soussignée, Sonia Zilberman, déclare ne pas avoir d'intérêt direct ou indirect (financier ou en nature) avec un organisme privé, industriel ou commercial en relation avec le sujet présenté.

INTRODUCTION

Le cancer du sein est une maladie hétérogène tant du point de vue clinique qu'histopathologique et biologique avec des pronostics et des réponses aux différentes thérapeutiques très variés.

Les cancers du sein triple négatifs (CSTN), ainsi nommés car ils n'expriment ni les récepteurs aux œstrogènes (RO), ni les récepteurs à la progestérone (RP) et ni le récepteur HER2, surviennent le plus souvent chez des femmes jeunes, non ménopausées, et sont associés à un risque plus élevé de récurrences précoces, de métastases viscérales et de décès, plus particulièrement dans les 5 premières années du suivi [1, 2].

Ainsi, bien que ne représentant que 17 % des cancers du sein, les CSTN sont responsables d'une proportion élevée des décès par cancer du sein [1, 3] et ont fait l'objet depuis la première mention du terme « triple négatif » de très nombreuses études. Les CSTN, qui forment eux-mêmes un sous-groupe hétérogène, ont permis de mettre en évidence que la biologie tumorale primait sur la masse tumorale en termes de réponse aux traitements.

Encore inaccessibles à un traitement ciblé et semblant plus agressifs que les autres sous-types de cancer du sein, les CSTN sont aujourd'hui un enjeu majeur pour les oncologues, les anatomopathologistes et les généticiens.

Dans cette revue nous étudierons les données récentes de la littérature permettant d'identifier cette entité particulière afin de définir ses implications thérapeutiques et la mise en évidence de facteurs pronostiques et prédictifs de réponse au traitement.

I. DÉFINITION DES TUMEURS TRIPLE NÉGATIVES

I.1. Description immunohistochimique : tumeurs triple négatives/tumeurs *basal-like*

Le terme tumeur « triple négative » (TN) est une définition immunohistochimique correspondant à l'absence d'expression des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone et à l'absence d'expression du récepteur HER2, et il est utilisé en pratique clinique.

En France, les seuils de négativité retenus sont de moins de 10 % de cellules marquées pour les récepteurs hormonaux (RH), et un marquage membranaire d'HER2 de score 0 ou 1+ ou bien 2+ mais sans amplification en FISH pour ERBB2. Cependant, il paraît important de rappeler ici, à l'instar des recommandations de plusieurs groupes internationaux [4], que la définition retenue pour les CSTN correspond bien à une parfaite négativité des RH (absence de toute cellule marquée) et à l'absence d'expression ou d'amplification de HER2.

I.1.a. Tumeurs *basal-like* (BL)

Les tumeurs BL sont habituellement RO-négatives, RP-négatives et HER2-négatives et expriment un ou plusieurs des marqueurs spécifiques basaux (CK5/6, CK14, CK17 et EGFR) [5]. Les tumeurs ainsi identifiées comme BL par l'immunohistochimie constituent un groupe très hétérogène et il faut distinguer 2 sous-groupes :

- les BL de phénotype BL pur exprimant les cytokératines basales,
- les BL de phénotype myoépithélial exprimant la P63, l'actine muscle lisse ou la PS100.

En pratique les tumeurs BL sont souvent assimilées aux CSTN et sélectionnées à partir de ce groupe, or ces 2 groupes ne sont pas synonymes [6]. En effet, il semble plus exact de dire que la majorité, et non la totalité, des tumeurs TN ont un phénotype BL et que la majorité, et non la totalité, des tumeurs BL ont un phénotype TN. Les études extrapolant les résultats et les conclusions portant sur des CSTN

aux tumeurs BL ou inversement sont maintenant perçues comme inexactes.

Les derniers chiffres de la littérature internationale montrent que 80 % des tumeurs TN ont un phénotype BL [7], qu'environ 80 % des tumeurs BL sont des tumeurs TN [8] et qu'au moins 20 % des tumeurs BL expriment les RO ou surexpriment HER2, ces chiffres pouvant aller de 18 % à 40 % [9].

1.1.b. Tumeurs de phénotype apocrine

Si un CSTN n'exprime ni les cytokératines de haut poids moléculaire, ni EGFR, ni c-KIT, on retient un phénotype apocrine [10] se définissant par une positivité aux récepteurs aux androgènes (RA).

1.2. Description morphologique

Le cancer du sein triple négatif ne correspond pas à une maladie mais à un statut immunohistochimique commun à un ensemble de tumeurs avec une carte d'identité tumorale et une évolution clinique différentes.

Ainsi, si ces tumeurs, environ 17 % des cancers du sein, sont majoritairement constituées de carcinomes canauxaires infiltrants classiques de haut grade, on y retrouve aussi une concentration importante de types rares de cancer du sein dont le pronostic est moins péjoratif comme les carcinomes sécrétants juvéniles, les carcinomes adénoïdes kystiques, les carcinomes médullaires, les carcinomes métaplasiques et dans une moindre mesure les carcinomes apocrines [11].

1.3. Description moléculaire et tumeurs de type *basal-like* et *claudin-low*

L'apparition de la classification intrinsèque moléculaire des cancers du sein basée sur leur profil d'expression génique, issu d'études sur puces à ADN, décrite pour la première fois par l'équipe de Perou et Sorlie en 2000 [12] et explicative de la classification phénotypique, a permis de dégager des profils différents, au-delà des critères classiques décrits précédemment. Elle a ainsi aidé à mieux comprendre les différentes formes de présentation clinique et profils de rechute, de métastases ou de survie.

La classification initiale distingue cinq sous-groupes :

- profil luminal A : caractérisé par une très forte expression de tous les gènes associés aux récepteurs aux œstrogènes (RO) et par une stabilité du génome ;
- profil luminal B : expression plus faible des gènes précédents, le génome tumoral est plus instable, on peut retrouver quelques amplifications (dont HER2) et délétions et mutations (comme P53) ;
- profil HER2 « enrichi » : ERBB2 est amplifié, de nombreuses autres amplifications et délétions sont retrouvées en *array* CGH (aCGH) ;
- profil *basal-like* (BL) : n'exprime ni RO, ni HER2, présente quasiment toujours des altérations de P53, une grande instabilité génétique, une forte prolifération et l'expression variable de EGFR, du récepteur aux androgènes supposant des sous-groupes biologiques ;
- profil *normal-like* : il correspond au profil d'expression de gènes non épithéliaux. Il s'agit en fait d'un artefact lié à l'étude génétique de tumeurs paucicellulaires dont les gènes tumoraux ont été dilués par les gènes du stroma. Il n'a aucune signification clinique.

Ainsi cette nouvelle classification des cancers mammaires est basée sur l'expression par la tumeur de nombreux gènes impliqués dans la prolifération et la différenciation. Ces gènes sont, avant tout, régulés différemment selon l'expression ou non d'ESR1, le gène codant pour les récepteurs aux œstrogènes et ensuite selon la surexpression ou non du gène ERBB2 codant pour les récepteurs HER2. Ces 2 gènes sont des gènes majeurs de la carcinogénèse mammaire [12]. Dans ces profils d'expression, on retrouve également les gènes différenciant les 2 principales couches cellulaires du tissu mammaire normal, d'une part les cellules luminales, et d'autre part les cellules basales/myoépithéliales et des gènes de la prolifération cellulaire.

1.3.a. Tumeurs de type BL

Les tumeurs BL, issues des cellules basales/myoépithéliales, se caractérisent par :

- la sous-expression de gènes de la signature luminale correspondant aux gènes des RO ou des RP ainsi qu'une sous-expression des gènes GATA3, LIV1 ou BCL2 ;
- l'absence de surexpression du gène HER2 ;
- une forte expression des gènes des CK de haut poids moléculaire, dites basales (CK5/6, 14 et 17), des gènes EGFR, CKIT, FABP7, cavéolines 1 et 2. Le gène de la P-cadhérine est également fortement exprimé ;

– l’expression forte de gènes de prolifération comme STK6, BUB1 et TOPOIsomérase 2alpha.

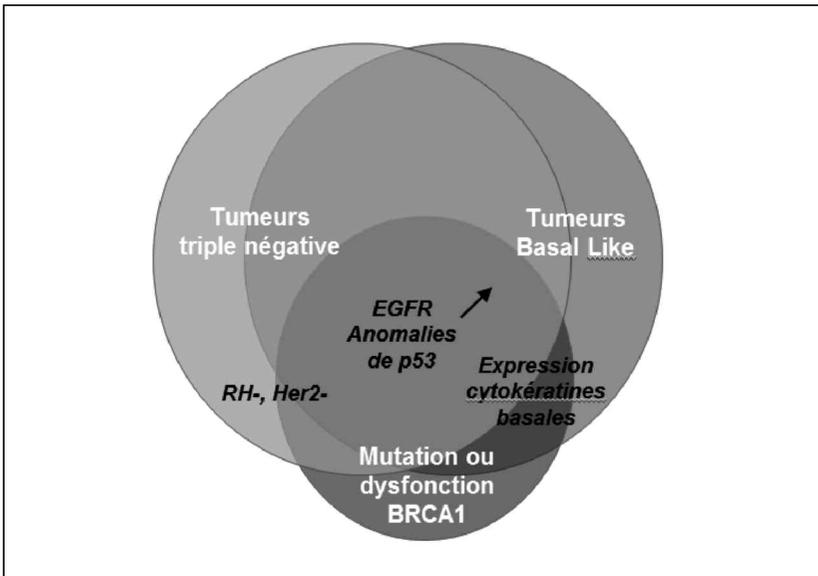
Du point de vue génomique, une mutation de P53 est mise en évidence dans 95 à 100 % des carcinomes BL [13]. Il existe aussi très souvent des pertes d’expression ou des altérations du gène PTEN avec activation de la voie AKT/mTOR [14]. Les analyses par puces d’hybridation génomique comparative (aCGH) ont montré des remaniements du génome très variés et nombreux, représentés par des anomalies de nombres des chromosomes liés à des gains ou des pertes mais peu d’amplifications géniques majeures [15].

La figure 1 représente le recouvrement entre les formes BL et TN de cancer du sein.

1.3.b. Tumeurs de type claudin-low

Très récemment, un nouveau sous-groupe moléculaire bas en claudine a été mis en évidence, appelé *claudin-low* [16]. Les tumeurs de type *claudin-low* expriment faiblement les protéines des jonctions intercellulaires et se caractérisent par une expression basse ou absente des marqueurs de différenciation luminaire [16]. Par ailleurs, elles expriment fortement les marqueurs de transition épithélio-mésenchymateuse, les

Figure 1 - Recouvrement des formes de cancer du sein TN, BL et BRCA1



gènes de la réponse immunitaire et les marqueurs des cellules souches cancéreuses (ALDH1...). Il s'agit du sous-type moléculaire le moins fréquent (12-14 %) avec des tumeurs typiquement de haut grade [17] souvent richement infiltrées par des lymphocytes. La plupart des tumeurs *claudin-low* sont des carcinomes canauxaux infiltrants auxquels s'ajoutent de fréquents carcinomes médullaires et métaplasiques [16].

Finalement, au sein des CSTN, les deux sous-types moléculaires les plus fréquemment identifiés seraient d'une part le type *claudin-low*, proche du phénotype des cellules souches, correspondant à la première étape de différenciation d'une cellule tumorale, et d'autre part le type BL, plus tardif dans la carcinogénèse, secondaire à l'altération du gène BRCA1. Ce groupe récent *claudin-low* n'est pas admis par tous et est encore largement discuté.

I.4. Mutation de BRCA1 et tumeurs BL/TN

En plus du phénotype BL, il existe un recouvrement entre tumeurs TN et mutations germinales de BRCA1. Ainsi parmi les tumeurs survenant chez des patientes porteuses de mutations germinales de BRCA1, 80 % sont des CSTN et 80 à 90 % sont des tumeurs BL. Parmi les CSTN, 10 % sont diagnostiqués chez des patientes présentant des mutations germinales de BRCA1 [18].

Un lien très fort est donc décrit entre la voie BRCA1 et les cancers du sein TN ou BL.

I.5. Tumeurs BL/TN sporadiques

Les cancers du sein BL sporadiques et ceux survenant chez des patientes porteuses de mutation BRCA1 ont des profils génétiques moléculaires proches mais ils diffèrent par l'absence de mutations BRCA1 dans le groupe des tumeurs BL sporadiques. Cependant, il existe dans ces tumeurs un important dysfonctionnement de BRCA1 par d'autres mécanismes qu'une mutation germinale. Un dysfonctionnement de la voie BRCA1 est présent dans la majorité des cancers du sein BL sporadiques. Un niveau d'expression significativement plus faible de la protéine BRCA1 est retrouvé dans les tumeurs de phénotype BL, mais aussi dans les tumeurs de haut grade (SBR3) ou n'exprimant pas les récepteurs hormonaux [19].

Les tumeurs BL sporadiques ont une inactivation somatique (c'est-à-dire intratumorale, acquise) de BRCA1. Concernant les mécanismes

d'inactivation de BRCA1 dans les tumeurs sporadiques, des hypothèses de sous-régulation médiée par des mécanismes épigénétiques ont été envisagées [20] à type de méthylation de gènes promoteurs et/ou de transcription silencieuse de BRCA1. Les mutations de BRCA1 entraînent la perte de la fonction de réparation, et une grande instabilité génomique (perte d'hétérozygotie, mutation de gènes tels que P53...) au sein de la tumeur [21].

L'ensemble des similitudes morphologiques, immunophénotypiques et moléculaires entre les carcinomes des patientes porteuses de mutations BRCA1 et les carcinomes BL sporadiques pourrait presque inciter à parler de « carcinomes *BRCA1-like* » [22].

En pratique clinique, le phénotype BL ou TN d'un cancer du sein doit faire évoquer la possibilité d'une mutation du gène BRCA1 surtout s'il s'agit d'une patiente jeune avec des antécédents familiaux ; une enquête oncogénétique doit être à envisager.

II. FACTEURS PRONOSTIQUES DES CANCERS TRIPLE NÉGATIFS

Les différents consensus internationaux, dont le plus récent est le consensus de St Gallen 2009 [23], ont identifié plusieurs facteurs pronostiques dans le cancer du sein : l'âge, la taille tumorale, l'atteinte ganglionnaire, l'infiltration lymphovasculaire, le degré de différenciation selon Scarff Bloom et Richardson (grades I à III), la présence des récepteurs hormonaux aux œstrogènes et à la progestérone, et la surexpression de HER2. Les facteurs histopronostiques, en particulier l'hormonosensibilité et le statut HER2 de la tumeur, sont devenus les déterminants de l'attitude thérapeutique au détriment de l'ancienne classification TNM [24]. Ils permettent une approche individualisée dans le traitement du cancer du sein en sélectionnant le traitement le plus efficace correspondant à un type particulier de cancer mammaire.

II.1. Pronostic des CSTN

Les CSTN ont un pronostic péjoratif par comparaison aux tumeurs hormonosensibles ou avec surexpression d'HER2 [1, 25].

Les CSTN se déclarent chez des patientes plus jeunes, le plus souvent non ménopausées [26]. Lors du diagnostic, les CSTN sont

habituellement de haut grade avec des tumeurs plus volumineuses et avec un profil plus agressif : faible expression de BCL2 (tumeurs BL), forte expression de p53 et Ki67 élevé.

Dans ce sous-groupe, contrairement aux autres sous-types tumoraux, il existerait une relative indépendance du risque d'atteinte ganglionnaire vis-à-vis de la taille tumorale [1].

II.1.a. Risque de récurrence locorégionale

La corrélation entre le statut TN et une augmentation du risque de récurrences locorégionales reste débattue. Cependant, même si certains auteurs tel qu'Haffty [2] ne constatent pas de majoration du risque de récurrences locorégionales mais bien un sur-risque d'évolution métastatique, un faisceau croissant de données cliniques évoque le contraire (étude réalisée sur 482 cancers du sein, dont 117 cancers du sein triple négatifs avec un suivi médian de 7,9 années).

Tan *et al.* en 2008 [27], sur 245 cancers du sein TN et BL, ne retrouvent pas non plus d'impact sur la rechute locorégionale mais ne précisent pas le type de traitement local.

Kyndi *et al.* [28] ont rapporté, sur une population de 1 000 patientes, un moins bon taux de contrôle locorégional après radiothérapie adjuvante, tant chez les tumeurs TN ($p = 0,002$) que les tumeurs RH-/HER2+ ($p = 0,0003$). Un résultat similaire était retrouvé chez 519 patientes dans l'étude de Solin *et al.* [29], avec des taux d'échec local à 8 ans de 8 % contre 4 % dans le reste de la population ($p = 0,041$). Il est intéressant de noter que dans l'étude de Voduc *et al.* [30], ce sur-risque semble concentré sur les BL alors que les autres tumeurs TN ne présentaient pas d'augmentation du risque de récurrence locorégionale.

II.1.b. Risque de métastase à distance

Dans l'étude de cohorte de Toronto ayant étudié le devenir de 1 601 patientes atteintes d'un cancer du sein, 180 patientes étaient atteintes d'un cancer TN [1]. Comparativement aux autres sous-types tumoraux, elles présentaient un plus fort risque de récurrences métastatiques (HR 2,6 ; IC 2,0-4,5, $p < 0,0001$) et de décès (HR 3,2 ; IC 2,3-4,5, $p < 0,001$). En revanche, ce sur-risque était maximal dans les 5 premières années du suivi. Le groupe des TN présentait un pic de récurrences dans les 3 premières années, risque qui ensuite déclinait rapidement, alors que dans le reste de la population ce risque de récurrences, quoique plus faible, persistait dans le temps. Cette donnée est confirmée dans les études de Nofech-Mozes et d'Esserman [25, 31].

Ainsi, si on compare le taux de survie à 3 ans entre un groupe de tumeurs TN et un groupe de tumeurs non-TN, il est respectivement de 76,8 % *versus* 93,5 % ($p < 0,0001$), de même, si on compare des carcinomes BL et non-BL, le taux de survie à 3 ans est respectivement de 77,4 % *versus* 93,4 % ($p < 0,0001$) [32].

Comparativement aux autres sous-types tumoraux, les tumeurs TN donnent plus fréquemment des métastases viscérales, notamment hépatiques et cérébrales, peut-être moins de métastases osseuses (mais cette donnée n'est pas retrouvée dans l'étude de Dent [33]) et très peu de métastases séreuses [33-35]. Ici aussi, certaines modulations peuvent être faites si l'on considère les tumeurs BL comparativement aux autres tumeurs TN non-BL. Ainsi, Kennecke rapporte dans une série de 3 726 patientes que les tumeurs BL présentent un taux plus important de métastases cérébrales, pulmonaires et ganglionnaires, mais avec significativement moins de métastases osseuses et hépatiques, alors que les tumeurs TN non-BL présentent un profil relativement similaire, mais avec des taux plus importants de métastases hépatiques [36]. Pour ce qui est du risque de développer des métastases cérébrales, il resterait inférieur à celui des tumeurs HER2+, mais cependant nettement plus élevé que celui des tumeurs RH+ [37].

Le pronostic des métastases cérébrales est plus sombre dans les cancers du sein TN que pour les autres tumeurs mammaires [38, 39].

Après cette période de 3 à 5 ans, le risque de rechute diminue rapidement et les rechutes à plus de 10 ans après le diagnostic initial sont exceptionnelles. Au final, les survivantes à long terme (au-delà de 10 ans) dans la population TN ou BL pourraient avoir une survie comparable à la population non-TN ou non-BL [32].

Il apparaît donc qu'en tant que groupe, les tumeurs TN et BL ont un pronostic péjoratif ; cependant, le pronostic devrait être évalué au sein des différents sous-types répondant à la définition de CSTN.

II.2. Facteurs pronostiques histologiques : un ensemble de sous-groupes aux pronostics différents

Les CSTN forment un groupe hétérogène. L'étude histologique permet d'isoler des tumeurs triple négatives rares, mais à excellent pronostic : tumeur adénoïde cystique, tumeur apocrine, tumeur sécrétoire et tumeur médullaire [40-42].

Il est indispensable d'individualiser ces sous-types à meilleur pronostic auxquels des chimiothérapies agressives pourraient être épargnées et, au contraire, de bien cibler les patientes au pronostic

sombre chez qui un traitement systémique est indispensable. Ainsi les tumeurs de profil moléculaire apocrine définies en IHC par l'expression des récepteurs aux androgènes (RA) sont associées à une survie relativement meilleure parmi celles n'exprimant pas les RO [43]. Les cancers médullaires, quant à eux, sont souvent de type BL et partagent leur taux élevé de mutation de p53 et certaines altérations génomiques ainsi que leur pronostic péjoratif [44-46] (Tableau 1).

Tableau 1 - Pronostic des sous-types histologiques des tumeurs triple négatives

Mauvais pronostic	Bon pronostic
Carcinome canalaire infiltrant de haut grade	Carcinome apocrine bas grade
Carcinome lobulaire infiltrant de haut grade	Carcinome médullaire
Carcinome métaplasique haut grade	Carcinome métaplasique bas grade
Carcinome myoépithélial	Carcinome sécrétant juvénile
Carcinome neuro-endocrine haut grade	Carcinome adénoïde kystique

II.3. Facteurs pronostiques « traditionnels » liés à la masse tumorale

Des facteurs pronostiques cliniques traditionnels sont aussi retrouvés pour ces tumeurs TN. Une atteinte ganglionnaire axillaire et une taille tumorale importante sont des facteurs de mauvais pronostic [47].

II.3.a. Taille tumorale

Les tumeurs BL et TN ont tendance à être de plus grande taille, souvent > 2 cm, que les autres sous-types de cancers mammaires [1, 48]. Ceci pourrait être lié à une croissance rapide et une incidence relativement élevée de ces tumeurs chez de jeunes patientes chez qui la détection mammographique est plus difficile.

II.3.b. Statut ganglionnaire

Concernant l'extension locorégionale, les carcinomes BL seraient plus souvent indemnes de métastases ganglionnaires que les autres sous-types tumoraux [49]. Contrairement aux carcinomes TN non BL, les tumeurs de phénotype BL auraient un risque de récurrences locales plus élevé que les cancers RO+ [30].

II.4. Facteurs pronostiques liés à la biologie tumorale

II.4.a. Tumeur basal-like : un pronostic sombre

L'expression des cytokératines 5/6 et du récepteur à l'EGF (HER1) en immunohistochimie, définissant le groupe de tumeurs BL, a un pronostic particulièrement péjoratif [49]. Les tumeurs BL sont le plus souvent plus volumineuses [26, 44, 46], de grade tumoral élevé (75-100 % sont de grade 3) [45, 50, 51], et avec une faible différenciation.

Différentes études ont ainsi montré que l'expression des marqueurs basaux (CK5/6, CK14, CK17 ou EGFR) était associée à un plus mauvais pronostic quelle que soit l'expression des RH. Carey *et al.* [26] ont montré que les tumeurs BL avaient le pronostic le plus péjoratif en termes de survie spécifique comparé à tous les autres sous-groupes de cancers du sein pour les patientes N+ et N-. Van de Rijn *et al.* [52] ont, eux, observé que l'expression des cytokératines CK 15 et/ou CK 5/6 était un facteur de mauvais pronostic indépendant de la taille tumorale et du grade seulement pour les patientes N- mais pas pour les patientes N+, alors que pour Nielsen *et al.* [53], la présence des cytokératines basales est associée à un mauvais pronostic seulement chez les patientes N+.

Le pronostic des tumeurs BL serait encore plus péjoratif au sein du groupe des CSTN [5, 32]. L'association de mutations de BRCA1 et du phénotype BL est maintenant bien décrite [54]. Il a été suggéré que la présence d'une mutation BRCA1 serait un facteur de bon pronostic pour ces tumeurs [55] car pourvoyeuse d'une plus grande chimiosensibilité.

II.4.b. Taux de Ki67

Une forte expression de Ki67 permettrait d'isoler un sous-groupe de plus mauvais pronostic [56]. Dans une étude sur 105 patientes atteintes d'une tumeur du sein TN et bénéficiant d'une chimiothérapie néoadjuvante, Keam *et al.* [56] montraient qu'un Ki67 supérieur à 10 %, bien qu'associé à un taux plus élevé de réponses complètes à la chimiothérapie (pCR), était significativement associé à des survies sans récurrence et des survies globales plus courtes ($p = 0,005$, $p = 0,019$).

II.4.c. p53, BCL2 et récepteur aux androgènes

Plusieurs études ont mis en évidence une valeur pronostique péjorative de la surexpression de p53.

Biganzoli *et al.* montrent, sur une série de 1 709 patientes issues de 2 centres différents, que la recherche de l'expression de p53 permet d'identifier 2 groupes au pronostic significativement différent en termes de survie globale et de survie sans récurrence [57]. Cette étude conforte

les résultats de Chae *et al.* [58] sur 135 patientes atteintes d'un cancer du sein et ayant bénéficié d'une chimiothérapie adjuvante par anthracyclines. Chez les patientes TN, l'expression de p53 apparaît comme un facteur pronostique péjoratif avec une survie sans récurrence et une survie globale significativement diminuées ($p = 0,013$ et $p = 0,049$, respectivement).

La faible expression de Bcl2 et l'absence d'expression du récepteur aux androgènes sont aussi identifiées comme des facteurs de mauvais pronostic [47].

II.5. Réponse à la chimiothérapie néoadjuvante

En situation néoadjuvante, il apparaît de plus en plus clairement que c'est précisément la réponse au traitement qui constitue le facteur pronostique le plus important. Ainsi, il est bien démontré que la réponse histologique complète (pCR) à la chimiothérapie néoadjuvante est un facteur pronostique indépendant concernant la survie [59-61].

Cependant, de nombreuses études ont montré que les CSTN avaient un taux de pCR plus élevé que les autres tumeurs du sein mais un pronostic plus sombre [3, 62, 63].

Dans l'étude de Liedtke *et al.* [3], sur 1 118 patientes, celles présentant un CSTN avaient un taux de réponses histologiques complètes significativement plus important que les autres patientes (22 % contre 11 %). Les patientes TN avec une réponse complète avaient une excellente survie, cependant les patientes avec de la maladie résiduelle après chimiothérapie néoadjuvante avaient un pronostic significativement moins bon que les autres patientes ($p < 0,0001$), particulièrement dans les trois premières années.

Ces facteurs pronostiques doivent cependant être affinés. En effet, le bénéfice du traitement n'est pas le même pour toutes les patientes, et ce malgré des facteurs pronostiques identiques.

À l'heure actuelle, il paraît important de définir des facteurs prédictifs de la réponse tumorale à un traitement donné.

III. FACTEURS PRÉDICTIFS DES TUMEURS TRIPLE NÉGATIVES

Un facteur prédictif est un facteur associé à une sensibilité ou à une résistance à un traitement spécifique.

La chimiothérapie conventionnelle est le traitement standard des CSTN. Dans la littérature, les taux de réponses complètes à la chimiothérapie néoadjuvante conventionnelle basée sur l'association anthracycline/taxane varient entre 13 et 45 % [3].

Les tumeurs du sein TN sont caractérisées par une prolifération élevée, un taux important de mutations de p53, une mutation ou un dysfonctionnement de BRCA, des anomalies de la réparation de l'ADN, une dérégulation de l'apoptose, une angiogenèse importante...

De telles caractéristiques pourraient constituer des facteurs prédictifs de réponse à certains traitements. D'autres pistes, afin d'identifier des facteurs prédictifs potentiels, non limitées aux TNBC incluent la surexpression de la topoisomérase II cible des anthracyclines, ou l'analyse de l'augmentation de la sensibilité aux taxanes chez les patientes mutées p53.

III.1. Anomalies de la réparation de l'ADN

Les dysfonctions dans la réparation de l'ADN des CSTN mises en évidence par leur haute instabilité génomique peuvent rendre ces tumeurs plus sensibles aux thérapies favorisant les lésions de l'ADN. Ainsi, l'évaluation des anomalies de réparation de l'ADN pourrait nous permettre d'identifier les patientes plus à même de bénéficier de thérapies ciblant l'ADN comme les anthracyclines, les sels de platine et les inhibiteurs de PARP.

Le test Comète (*Single Cell Gel Electrophoresis test*) utilise une technique simple et sensible pour la détection des lésions de l'ADN au niveau de la cellule. La longueur de la queue de la comète sur le gel d'électrophorèse est proportionnelle au nombre et à la fréquence des cassures de l'ADN [64]. La technique standard permet d'identifier les cellules tumorales comportant de nombreuses cassures de l'ADN. Cette technique, couplée à des techniques d'hybridation *in situ* avec des sondes marquées, peut même donner des informations plus précises sur les types d'altérations de l'ADN et sur les processus de réparation de l'ADN mis en œuvre par la cellule [65].

Un modèle de profil de réparation d'ADN, basé sur 4 gènes, a été créé et validé sur TMA comme outil pronostique à partir de 143 biopsies de tumeurs TN [66]. Le groupe identifié comme à haut risque avait un risque de récurrence plus important et survie sans récurrence plus courte.

III.2. BRCA1/mutation/dysfonctionnement

La mutation ou le dysfonctionnement de la voie BRCA1 n'est probablement pas seulement un marqueur pronostique mais aussi un marqueur prédictif de réponse à la chimiothérapie. Des études précliniques et des analyses cliniques exploratoires montrent un gain de bénéfices aux chimiothérapies altérant l'ADN, les anthracyclines et les sels de platine, en présence de dysfonctionnement de la voie BRCA1 [67, 68].

Une signature génétique (panel de gènes), identifiée chez des patientes avec une mutation familiale délétère du gène BRCA1, a été recherchée chez 12 patientes atteintes d'un CSTN sporadique localement avancé afin d'identifier les tumeurs présentant un dysfonctionnement de la voie BRCA1 et de rechercher une corrélation à la réponse aux anthracyclines. L'expression de la signature génétique BRCA1 était significativement associée à un taux plus élevé de réponses complètes à la chimiothérapie [69].

Les données pour tenter de corréler le statut BRCA1 et la réponse aux taxanes sont encore limitées et controversées à l'heure actuelle [70, 71].

III.3. Signatures génétiques

On peut imaginer qu'un biomarqueur seul ne puisse être suffisant dans la prédiction d'une réponse à la chimiothérapie. Pour faire face à la diversité biologique des tumeurs, un panel de gènes prédictifs ou signature génétique peut être nécessaire.

De façon intéressante, une étude comparant des taux de réponses à la chimiothérapie néoadjuvante a montré que, malgré l'équivalence de taux de pCR (réponse complète) entre les sous-groupes *basal-like* et « Her2-positif », il n'y avait aucun chevauchement entre les gènes associés à la pCR pour les deux groupes. Ceci suggère que les mécanismes sous-tendant la chimiosensibilité ne sont pas les mêmes pour les différents sous-groupes moléculaires de cancer du sein et

qu'une signature génétique prédictive de la réponse à la chimiothérapie pourrait être un « sous-groupe » spécifique [72].

Des résultats prometteurs ont récemment été rapportés pour l'utilisation d'une puce à ADN utilisant 50 gènes de cancers mammaires (PAM50) [73] qui, en plus d'identifier précisément le sous-type de cancers, participerait à la prédiction de réponses à la chimiothérapie (FAC/taxanes).

Contrairement aux tumeurs hormonosensibles, la réponse immunitaire à la prolifération tumorale semble être un des mécanismes moléculaires intimement associés au pronostic dans les CSTN. Ainsi, certaines signatures génétiques de gènes liés à l'immunité ont été rapportées comme associées à un bon pronostic chez les patientes porteuses de tumeurs RH-négatives et triple négatives [74-76].

De nouvelles thérapies ciblant les mécanismes de réponse immunitaire utilisant des signatures de gènes de l'immunité comme outils prédictifs pourraient améliorer le pronostic des patientes porteuses d'un CSTN.

III.4. Topo-isomérase II alpha

Une des principales cibles des anthracyclines, traitement adjuvant de référence des CSTN, est la topo-isomérase II alpha (topoIIa) qui contrôle la structure topologique de l'ADN et dont l'expression est influencée par la prolifération cellulaire.

L'isoforme active de la topoIIa est donc la cible idéale à identifier et quantifier afin de prédire la chimiosensibilité aux anthracyclines. Une analyse quantitative automatisée par immunofluorescence (AQUA) est capable d'identifier et de quantifier la topoIIa [77]. Cet outil pourrait permettre de corrélérer la quantité de topoIIa présente à la sensibilité aux anthracyclines et ainsi être utilisé comme outil prédictif majeur.

Ainsi, la recherche de facteurs prédictifs est particulièrement développée dans le cancer du sein, plus que dans les autres domaines de l'oncologie, et pourrait permettre de mieux individualiser les traitements. Des marqueurs prédictifs pourraient guider l'utilisation de chimiothérapie par l'identification de sous-populations de patientes TN ayant une maladie chimiosensible, ou prévoir plus spécifiquement la sensibilité ou la résistance aux différentes molécules de chimiothérapie. Cependant, actuellement il n'y a aucun outil clinique pour recommander ou proscrire l'utilisation de chimiothérapies spécifiques, et les choix thérapeutiques se basent alors davantage sur les facteurs pronostiques.

CONCLUSION

Les CSTN représentent un sous-groupe hétérogène de cancers du sein associé à un mauvais pronostic. À l'heure actuelle, ils sont définis en immunohistochimie par l'absence d'expression des récepteurs aux œstrogènes, à la progestérone et à HER2.

En l'absence de marqueurs immunohistochimiques ou de signature moléculaire disponibles en routine capables de définir des sous-groupes plus précis, les décisions thérapeutiques, et notamment l'introduction d'une chimiothérapie conventionnelle, sont basées sur ce statut « triple négatif » alors même que seule une faible proportion des patientes atteintes d'un CSTN ont une maladie très chimiosensible et un pronostic excellent.

Il apparaît nécessaire aujourd'hui de se doter de stratégies thérapeutiques plus agressives et surtout plus adéquates et de développer des outils prédictifs capables de nous guider dans le choix des traitements : que ce choix s'oriente vers la molécule de chimiothérapie la plus adaptée à la biologie tumorale ou vers de nouvelles thérapies ciblées comme les très prometteurs inhibiteurs de PARP.

Une telle approche ne peut être réalisée sans une caractérisation biologique optimale, permettant de comprendre la complexité de ce sous-groupe de tumeurs, et nécessite une collaboration internationale dans des essais cliniques impliquant anatomopathologistes, oncologues et chercheurs fondamentaux.

Bibliographie

- [1] Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, Lickley LA, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007;13(15 Pt 1):4429-4434.
- [2] Haffty BG, Yang Q, Reiss M, Kearney T, Higgins SA, Weidhaas J, Harris L, Hait W, Toppmeyer D. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24(36):5652-5657.
- [3] Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, Andre F, Tordai A, Mejia JA, Symmans WF, Gonzalez-Angulo AM, Hennessy B, Green M *et al.* Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(8):1275-1281.
- [4] Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thurlimann B, Senn HJ. 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. *Ann Oncol* 2011;22(8):1736-1747.
- [5] Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Paish EC, Lee AH, Ellis IO. Breast carcinoma with basal differentiation: a proposal for pathology definition based on basal cytokeratin expression. *Histopathology* 2007;50(4):434-438.
- [6] Rakha EA, Tan DS, Foulkes WD, Ellis IO, Tutt A, Nielsen TO, Reis-Filho JS. Are triple-negative tumours and basal-like breast cancer synonymous? *Breast Cancer Research* 2007;9(6):404; author reply 405.
- [7] Weigelt B, Reis-Filho JS. Molecular profiling currently offers no more than tumour morphology and basic immunohistochemistry. *Breast Cancer Research* 2010;12(4):S5.
- [8] Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *The New England Journal of Medicine* 2010;363(20):1938-1948.
- [9] Bertucci F, Finetti P, Cervera N, Birnbaum D. Prognostic classification of breast cancer and gene expression profiling. *Medecine sciences* 2008;24(6-7):599-606.
- [10] Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, Tubiana-Hulin M, Fumoleau P, Larsimont D, Macgrogan G, Bergh J, Cameron D, Goldstein D *et al.* Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene* 2005;24(29):4660-4671.
- [11] Yerushalmi R, Hayes MM, Gelmon KA. Breast carcinoma-rare types: review of the literature. *Ann Oncol* 2009;20(11):1763-1770.
- [12] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA *et al.* Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406(6797):747-752.
- [13] Manie E, Vincent-Salomon A, Lehmann-Che J, Pierron G, Turpin E, Warcoï M, Gruel N, Lebigot I, Sastre-Garau X, Lidereau R *et al.* High frequency of TP53 mutation in BRCA1 and sporadic basal-like carcinomas but not in BRCA1 luminal breast tumors. *Cancer Res* 2009;69(2):663-671.
- [14] Marty B, Maire V, Gravier E, Rigault G, Vincent-Salomon A, Kappler M, Lebigot I, Djelti F, Tourdes A, Gestraud P *et al.* Frequent PTEN genomic alterations and activated phosphatidylinositol 3-kinase pathway in basal-like breast cancer cells. *Breast Cancer Research* 2008;10(6):R101.
- [15] Bergamaschi A, Kim YH, Wang P, Sorlie T, Hernandez-Boussard T, Lonning PE, Tibshirani R, Borresen-Dale AL, Pollack JR. Distinct patterns of DNA copy number alteration are associated with different clinicopathological features and gene-expression subtypes of breast cancer. *Genes, Chromosomes & Cancer* 2006;45(11):1033-1040.
- [16] Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, He X, Perou CM. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Research* 2010;12(5):R68.
- [17] Prat A, Perou CM. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Molecular Oncology* 2011;5(1):5-23.
- [18] Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL, Domchek SM, Eccles D, Nevanlinna H, Ramus SJ, Spurdle A, Robson M, Sherman M *et al.* Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers

of BRCA1/2 (CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21(1):134-147.

[19] Abd El-Rehim DM, Ball G, Pinder SE, Rakha E, Paish C, Robertson JF, Macmillan D, Blamey RW, Ellis IO. High-throughput protein expression analysis using tissue microarray technology of a large well-characterised series identifies biologically distinct classes of breast cancer confirming recent cDNA expression analyses. *International Journal of Cancer* 2005;116(3):340-350.

[20] Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple-negative tumours: a critical review. *Histopathology* 2008;52(1):108-118.

[21] Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell* 2002;108(2):171-182.

[22] Vincent-Salomon A, Macgrogan G, Charaffe-Jauffret E, Jacquemier J, Arnould L. Identification of basal-like carcinomas in clinical practice: "triple zero/BRCA1-like" carcinomas. *Bulletin du Cancer* 2010;97(3):357-363.

[23] Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann Oncol* 2009;20(8):1319-1329.

[24] Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann Oncol* 2007;18(7):1133-1144.

[25] Nofech-Mozes S, Trudeau M, Kahn HK, Dent R, Rawlinson E, Sun P, Narod SA, Hanna WM. Patterns of recurrence in the basal and non-basal subtypes of triple-negative breast cancers. *Breast Cancer Research and Treatment* 2009;118(1):131-137.

[26] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, Karaca G, Troester MA, Tse CK, Edmiston S *et al.* Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006;295(21):2492-2502.

[27] Tan DS, Marchio C, Jones RL, Savage K, Smith IE, Dowsett M, Reis-Filho JS. Triple negative breast cancer: molecular profiling and prognostic impact in adjuvant anthracycline-treated patients. *Breast Cancer Research and Treatment* 2008;111(1):27-44.

[28] Kyndi M, Sorensen FB, Knudsen H, Overgaard M, Nielsen HM, Overgaard J. Estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and response to postmastectomy radiotherapy in high-risk breast cancer: the Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol* 2008;26(9):1419-1426.

[29] Solin LJ, Hwang WT, Vapiwala N. Outcome after breast conservation treatment with radiation for women with triple-negative early-stage invasive breast carcinoma. *Clinical Breast Cancer* 2009;9(2):96-100.

[30] Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol* 2010;28(10):1684-1691.

[31] Esserman LJ, Moore DH, Tsing PJ, Chu PW, Yau C, Ozanne E, Chung RE, Tandon VJ, Park JW, Baehner FL *et al.* Biologic markers determine both the risk and the timing of recurrence in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 2011;129(2):607-616.

[32] Tischkowitz M, Brunet JS, Begin LR, Huntsman DG, Cheang MC, Akslen LA, Nielsen TO, Foulkes WD. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC Cancer* 2007;7:134.

[33] Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 2009;115(2):423-428.

[34] Smid M, Wang Y, Zhang Y, Sieuwerts AM, Yu J, Klijn JG, Foekens JA, Martens JW. Subtypes of breast cancer show preferential site of relapse. *Cancer Res* 2008;68(9):3108-3114.

[35] Sihto H, Lundin J, Lundin M, Lehtimäki T, Ristimäki A, Holli K, Sailas L, Kataja V, Turpeenniemi-Hujanen T, Isola J *et al.* Breast cancer biological subtypes and protein expression predict for the preferential distant metastasis sites: a nationwide cohort study. *Breast Cancer Research* 2011;13(5):R87.

[36] Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MC, Voduc D, Speers CH, Nielsen TO, Gelmon K. Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2010;28(20):3271-3277.

[37] Heitz F, Rochon J, Harter P, Lueck HJ, Fisseler-Eckhoff A, Barinoff J, Traut A, Lorenz-Salehi F, du Bois A. Cerebral metastases in

- metastatic breast cancer: disease-specific risk factors and survival. *Ann Oncol* 2011;22(7):1571-1581.
- [38] Anders CK, Deal AM, Miller CR, Khorram C, Meng H, Burrows E, Livasy C, Fritchie K, Ewend MG, Perou CM *et al.* The prognostic contribution of clinical breast cancer subtype, age, and race among patients with breast cancer brain metastases. *Cancer* 2011;117(8):1602-1611.
- [39] Lin NU, Claus E, Sohl J, Razzak AR, Arnaout A, Winer EP. Sites of distant recurrence and clinical outcomes in patients with metastatic triple-negative breast cancer: high incidence of central nervous system metastases. *Cancer* 2008;113(10):2638-2645.
- [40] Azoulay S, Lae M, Freneau P, Merle S, Al Ghuzlan A, Chnecker C, Rosty C, Klijanienko J, Sigal-Zafrani B, Salmon R *et al.* KIT is highly expressed in adenoid cystic carcinoma of the breast, a basal-like carcinoma associated with a favorable outcome. *Mod Pathol* 2005;18(12):1623-1631.
- [41] Japaze H, Emina J, Diaz C, Schwam RJ, Gercovich N, Demonty G, Morgenfeld E, Rivarola E, Gil Deza E, Gercovich FG. 'Pure' invasive apocrine carcinoma of the breast: a new clinicopathological entity? *Breast* 2005;14(1):3-10.
- [42] Orlando L, Renne G, Rocca A, Curigliano G, Colleoni M, Severi G, Peruzzotti G, Cinieri S, Viale G, Sanna G *et al.* Are all high-grade breast cancers with no steroid receptor hormone expression alike? The special case of the medullary phenotype. *Ann Oncol* 2005;16(7):1094-1099.
- [43] Agoff SN, Swanson PE, Linden H, Hawes SE, Lawton TJ. Androgen receptor expression in estrogen receptor-negative breast cancer. Immunohistochemical, clinical, and prognostic associations. *American Journal of Clinical Pathology* 2003;120(5):725-731.
- [44] Bertucci F, Finetti P, Cervera N, Esterni B, Hermitte F, Viens P, Birnbaum D. How basal are triple-negative breast cancers? *International Journal of Cancer* 2008;123(1):236-240.
- [45] Calza S, Hall P, Auer G, Bjohle J, Klaar S, Kronenwett U, Liu ET, Miller L, Ploner A, Smeds J *et al.* Intrinsic molecular signature of breast cancer in a population-based cohort of 412 patients. *Breast Cancer Research BCR* 2006;8(4):R34.
- [46] Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California Cancer Registry. *Cancer* 2007;109(9):1721-1728.
- [47] Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007;109(1):25-32.
- [48] Tischkowitz MD, Foulkes WD. The basal phenotype of BRCA1-related breast cancer: past, present and future. *Cell Cycle* 2006;5(9):963-967.
- [49] Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, Perou CM, Nielsen TO. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* 2008;14(5):1368-1376.
- [50] Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, Perou CM. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 2006;19(2):264-271.
- [51] Rakha EA, Ellis IO. Triple-negative/basal-like breast cancer: review. *Pathology* 2009;41(1):40-47.
- [52] Van de Rijn M, Perou CM, Tibshirani R, Haas P, Kallioniemi O, Kononen J, Torhorst J, Sauter G, Zuber M, Kochli OR *et al.* Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *The American Journal of Pathology* 2002;161(6):1991-1996.
- [53] Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, Hernandez-Boussard T, Livasy C, Cowan D, Dressler L *et al.* Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10(16):5367-5374.
- [54] Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, Begin LR, Goffin JR, Wong N, Trudel M, Akslen LA. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2003;95(19):1482-1485.
- [55] Gonzalez-Angulo AM, Timms KM, Liu S, Chen H, Litton JK, Potter J, Lanchbury JS,

- Stemke-Hale K, Hennessy BT, Arun BK *et al.* Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. *Clin Cancer Research* 2011; 17(5):1082-1089.
- [56] Keam B, Im SA, Lee KH, Han SW, Oh DY, Kim JH, Lee SH, Han W, Kim DW, Kim TY *et al.* Ki-67 can be used for further classification of triple negative breast cancer into two subtypes with different response and prognosis. *Breast Cancer Research* 2011;13(2): R22.
- [57] Biganzoli E, Coradini D, Ambrogi F, Garibaldi JM, Lisboa P, Soria D, Green AR, Pedriali M, Piantelli M, Querzoli P *et al.* p53 status identifies two subgroups of triple-negative breast cancers with distinct biological features. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 2011;41(2):172-179.
- [58] Chae BJ, Bae JS, Lee A, Park WC, Seo YJ, Song BJ, Kim JS, Jung SS. p53 as a specific prognostic factor in triple-negative breast cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 2009;39(4):217-224.
- [59] Fisher B, Bryant J, Wolmark N, Mamounas E, Brown A, Fisher ER, Wickerham DL, Begovic M, DeCillis A, Robidoux A *et al.* Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol* 1998;16(8):2672-2685.
- [60] Kuerer HM, Newman LA, Smith TL, Ames FC, Hunt KK, Dhingra K, Theriault RL, Singh G, Binkley SM, Sneige N *et al.* Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999;17(2):460-469.
- [61] Van der Hage JA, van de Velde CJ, Julien JP, Tubiana-Hulin M, Vandervelden C, Duchateau L. Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J Clin Oncol* 2001;19(22):4224-4237.
- [62] Keam B, Im SA, Kim HJ, Oh DY, Kim JH, Lee SH, Chie EK, Han W, Kim DW, Moon WK *et al.* Prognostic impact of clinicopathologic parameters in stage II/III breast cancer treated with neoadjuvant docetaxel and doxorubicin chemotherapy: paradoxical features of the triple negative breast cancer. *BMC Cancer* 2007;7:203.
- [63] Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, Ollila DW, Sartor CI, Graham ML, Perou CM. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007;13(8):2329-2334.
- [64] Collins AR, Oscoz AA, Brunborg G, Gaivao I, Giovannelli L, Kruszewski M, Smith CC, Stetina R. The comet assay: topical issues. *Mutagenesis* 2008;23(3):143-151.
- [65] Langie SA, Knaapen AM, Brauers KJ, van Berlo D, van Schooten FJ, Godschalk RW. Development and validation of a modified comet assay to phenotypically assess nucleotide excision repair. *Mutagenesis* 2006;21(2):153-158.
- [66] Brantsaeter AL, Haugen M, Julshamn K, Alexander J, Meltzer HM. Evaluation of urinary iodine excretion as a biomarker for intake of milk and dairy products in pregnant women in the Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa). *European Journal of Clinical Nutrition* 2009;63(3):347-354.
- [67] Husain A, He G, Venkatraman ES, Spriggs DR. BRCA1 up-regulation is associated with repair-mediated resistance to cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Res* 1998;58(6):1120-1123.
- [68] Sharma VB KA, Feldman A, Ford JM. The role of BRCA1 in DNA repair in chemosensitivity. *J Clin Oncol* 2007;25 (abstract 10606).
- [69] Rodriguez AA MA, Harrison MK, *et al.* BRCA1 gene expression signature predicts for anthracycline-chemosensitivity in triple-negative breast cancer. *Cancer Research* 2009;69 (abstract 6039).
- [70] Egawa T, Kubota T, Furukawa T, Otani Y, Watanabe M, Kumai K, Kitajima M. Docetaxel enhances the cytotoxicity of tetrahydropyranlyladiamycin in a sequence-dependent manner. *Anticancer Research* 2001;21(4A):2597-2600.
- [71] Mullan PB, Quinn JE, Gilmore PM, McWilliams S, Andrews H, Gervin C, McCabe N, McKenna S, White P, Song YH *et al.* BRCA1 and GADD45 mediated G2/M cell cycle arrest in response to antimicrotubule agents. *Oncogene* 2001;20(43):6123-6131.
- [72] Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, Hess KR, Stec J, Ayers M, Wagner P *et al.* Breast cancer molecular subtypes respond differently to

preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Research* 2005;11(16):5678-5685.

[73] Parker JS, Mullins M, Cheang MC, Leung S, Voduc D, Vickery T, Davies S, Fauron C, He X, Hu Z *et al.* Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol* 2009;27(8):1160-1167.

[74] Desmedt C, Haibe-Kains B, Wirapati P, Buyse M, Larsimont D, Bontempi G, Delorenzi M, Piccart M, Sotiriou C. Biological processes associated with breast cancer clinical outcome depend on the molecular subtypes. *Clin Cancer Res* 2008;14(16):5158-5165.

[75] Teschendorff AE, Miremadi A, Pinder SE, Ellis IO, Caldas C. An immune response

gene expression module identifies a good prognosis subtype in estrogen receptor negative breast cancer. *Genome Biology* 2007;8(8):R157.

[76] Rody A, Holtrich U, Pusztai L, Liedtke C, Gaetje R, Ruckhaeberle E, Solbach C, Hanker L, Ahr A, Metzler D *et al.* T-cell metagene predicts a favorable prognosis in estrogen receptor-negative and HER2-positive breast cancers. *Breast Cancer Research* 2009;11(2):R15.

[77] Camp RL, Chung GG, Rimm DL. Automated subcellular localization and quantification of protein expression in tissue microarrays. *Nature Medicine* 2002;8(11):1323-1327.