

## A progesteronreceptor kifejeződésének kórjóslati értéke a HER2-negatív Luminalis-B altípusú emlődaganatokban

SELMECI TÍMEA DR.<sup>1+</sup>, TÖKÉS ANNA-MÁRIA DR.<sup>2+</sup>, RÓNA ÁGNES DR.<sup>1</sup>, MOLNÁR BÉLA ÁKOS DR.<sup>3</sup>, KENESSEY ISTVÁN DR.<sup>1</sup>, SZÉKELY BORBÁLA DR.<sup>1</sup>, SZÁSZ A. MARCELL DR.<sup>1</sup>, KULKA JANINA DR.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem II. Sz. Patológiai Intézet, Budapest

<sup>2</sup>MTA-SE Daganatprogressziós Kutatócsoport, II. Sz. Patológiai Intézet, Budapest

<sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, I. Sz. Sebészeti Klinika, Budapest

\*A szerzők egyenlő mértékben járultak hozzá a közleményhez.

E-posta: janinakulka@gmail.com

### ■ ÖSSZEFOGLALÁS

Háttér. Microarray-alapú osztályozásokkal az emlődaganatok új felosztása vált ismertté. Az ösztrogén receptor- (ER) pozitív csoportján belül további alosztályok azonosíthatók, amelyek közül a Her2-negatív, fokozott proliferációs aktivitású (Her2 negatív Luminalis-B-szerű, LUMB1) emlődaganatokat vizsgáltuk meg klinikopatológiai jellemzőik és a progesteronreceptor (PgR) kifejeződése szempontjából.

Betegek és módszerek. 2000 és 2010 közötti időszakban ER-pozitív, Ki67  $\geq$  15%, Her2-negatív emlőrakkal diagnosztizált 158 beteg patológiai és klinikai adatait elemeztük visszatekintő módon. Vizsgáltuk a betegek életkorát, a daganatok differenciáltsági fokát, a TNM-státuszát és az ER-, PgR-, Her2- és Ki67-kifejeződést immunhisztokémiai módszerrel. A PgR-kifejeződés függvényében elemeztük a patológiai és a klinikai jellemzőket.

Eredmények. A betegek átlagéletkora 57,51 év volt (28–75 év). A 40 év alatti betegek aránya 8,86%. Rövidebb áttétmentes túlélést figyeltünk meg a 40 évnél fiatalabb betegeknél ( $P=0,044$ ). A patológiai T-stádium megoszlása a következő volt: T1 – 42,55%, T2 – 41,48%, T3 – 6,38% és T4 – 9,56%. A nyirokcsomó-érintettség a következők szerint alakult: N0 – 43,05%, N1 – 43,05%, N2 – 11,11% és N3 – 2,77%. Jellemzően a grade (G) 2-es és a G3-daganatok előfordulása volt gyakoribb (46,87% és 45,32%), a daganatok csupán 7,81%-a volt jól differenciált. A vizsgálati csoportban a Ki67-mutató mediánértéke 30% volt. Daganatküülulás az esetek harmadában lépett fel, amely során a csont- és májátét jelentkezett leggyakrabban (55%, illetve 30%). Többszörös áttét az esetek 19,35%-ában volt kimutatható. PgR-kifejeződés alapján 10%-os küszöbértéknél tudtuk szétválasztani a betegeket egy jobb és egy rosszabb kórjóslatú alcsoportra: jobb volt a túlélés az erősen PgR-pozitív daganatok eseteiben. A daganatméret, a nyirokcsomók érintettsége, az érettség (G) és az életkor tekintetében nem találtunk meghatározó különbséget PgR-t erősen és gyengén kifejező daganatok között.

Következtetések. A LUMB1-altípust a G2- és a G3-daganatok gyakoribb előfordulása, a magas Ki67 proliferációs index (átlagosan 30%-os), valamint a távoli áttétek gyakori kialakulása jellemzi. Ezen belül a PgR-t gyengén kifejező LUMB1-emlőrak valószínűleg rosszabb kórjóslatú csoportot alkot, ezt további nagy esetszámú vizsgálatok erősíthetik meg.

*Kulcsszavak:* emlőrak, progesteronreceptor, ösztrogénreceptor, HER2, Luminalis-B, Luminalis-C

### ■ ABSTRACT

Background: With the advent of microarray based techniques a new era of breast carcinoma classification has emerged. In the estrogen receptor (ER)-positive group further subtypes can be identified, among them the Her2-negative luminal B-like (LUMB1) tumors, which we have examined for their clinicopathological characteristics and progesterone receptor (PgR) expression.

Patients and methods: During the period of 2000 and 2010 one hundred and fifty-eight ER-positive and Her2-negative breast carcinomas with Ki67-index of more than 15% have been diagnosed. These patients and their samples have been examined for clinicopathological characteristics (age, tumor size, grade, TNM) and immunohistochemical profile (ER, PgR, Her2, Ki67). We have focused on the expression of PgR and its relation to the mentioned factors.

Results: The average age of patients was 57,51 year (range: 28–75). The women younger than 40 years were 8,86% of all cases, and we have noticed a shorter metastasis-free survival for this group ( $P=0,044$ ). Tumor sizes varied in all patients: T1 – 42,55%, T2 – 41,48%, T3 – 6,38% and T4 – 9,56%. Lymph node involvement in all patients was the following: N0 – 43,05%, N1 – 43,05%, N2 – 11,11% and N3 – 2,77%. The tumors were

more likely to be of high grade (grade 2 and 3 being 46,87% and 45,32%, respectively), and only 7,81% were well differentiated. The median Ki67 index was 30%. During progression, which occurred in one third of all cases, liver and bone metastases were the most frequent locations (55% and 30%, respectively). Multiplex metastases were identified in 19,35%. Based on PgR expression the best cut-off value for prediction of prognosis was determined: tendency for better outcome was noted for patients with tumors expressing PgR higher than 10%. Tumor size, nodal status, grade, age did not differ between the low and high PgR expressing breast carcinomas.

**Conclusion:** The LUMB1 breast carcinomas represent a subgroup with distinct clinicopathological characteristics (high grade tumors, high Ki67 index) and poor prognostic features (development of frequent distant metastases). Among them the low PgR expressing (threshold: 10%) tumors tend to display even worse prognosis which could be confirmed using larger patient cohort in the future.

**Keywords:** breast cancer, progesterone receptor, estrogen receptor, luminal B and C

## ■ BEVEZETÉS

Az emlődaganatok nagyfokú különbözőségének hátterében többek között a morfológiájukban tükröződő génkifejeződési mintázatok eredményeként kialakuló szöveti változottság áll. Az eltérő génkifejeződésű daganatok eltérő klinikai megjelenést és viselkedést is mutatnak. A microarray-alapú osztályozások megjelenése óta számos molekuláris csoportosítás vált ismertté. A molekuláris alcsoportok leírása *Perou és munkatársai* (1–2) nevéhez fűződik, akik 2000-ben cDNS-microarray-k segítségével elemeztek emberi emlődaganatokat, és létrehozták ezek „molekuláris portréját”. Ma a hormonreceptor-pozitív emlőrákok kezelésében a hormonkezelés alapvető jelentőségű. Megfigyelték azonban, hogy míg a betegek nagy részében a kiújulás és a halálozás esélye csökkent az endokrinkezelés hatására, az esetek egy jelentős része eleve nem válaszol vagy ellenállást fejleszt ki a kezelésre, és emiatt rosszabb a kimenetel (3–4). Ebből arra lehetett következtetni, hogy az ER-pozitív csoporton belül még további alcsoportok állíthatók fel. *Sorlie és munkatársai* (5) génkifejeződési vizsgálat alapján az ER-pozitív csoportot felosztották Luminalis-A, -B és -C csoportra. A Luminalis-A csoportnál volt a legnagyobb az ER $\alpha$ -képződés. A Luminalis-B és -C csoportnál az ER-rel szabályozott gének visszafogottabban működtek. Azóta számos vizsgálat eredménye alapján a 2013-as St. Gallen-i nemzetközi szakértői egyeztetés (6–10) a következő alcsoportokat állította fel az ER-, a PgR-, a Her2- és a Ki67-fehérjeképződés alapján.

- Luminalis-A-szerű (LUMA): ER-pozitív és PgR-pozitív, alacsony Ki67-index, HER2-negatív, a „kiújulási veszély” alacsony, Her2-negatív

- Luminalis-B-szerű (LUMB1): ER-pozitív és Her2-negatív, és a következők közül legalább egy teljesül: magas Ki67, PgR negatív/csökkent, a „kiújulási veszély” fokozott; HER2-pozitív
- Luminalis-C-szerű (LUMB2): ER-pozitív és Her2-pozitív, bármely PgR, bármely Ki67, Her2-pozitív
- Nem Luminalis: ER-negatív, PgR-negatív, Her2-pozitív
- Hármás negatív: ER-negatív, PgR-negatív, Her2-negatív

Újabbban egyre több vizsgálat foglalkozik a PgR kórjóslati és az esetleges előrejelző szerepével. A Luminalis-daganatok között a PgR csökkent képződése az erőszakosan növekvő és a hormonokra kevésbé érzékeny daganatcsoportra jellemző. Az ilyen daganatokban alacsonyabb ER-szintet, nagyobb daganatméretet, fokozott sejtburjánzást, több hónalj nyirokcsomóáttétet, aneuploid DNS-állományt és a növekedési faktor-receptorok fokozott képződését találták (11). *Cancello és munkatársai* (12) a PgR szerepét vizsgálták a kiújulás szempontjából az eleve kedvezőtlenebb kilátásúnak tartott Luminalis-B típusú daganatokban. A Luminalis-B tumorokat négy további alcsoportra osztották a Her2- és PgR-képződés alapján: ER+/PgR+/Her2-; ER+/PgR-/Her2-; ER+/PgR-/Her2+ és ER+/PgR+/Her2+, és azt a következtetést vonták le, hogy a PgR-kifejeződés hiánya rövidebb áttétmentes és teljes túlélési idővel jár mind a Her2-pozitív, mind a Her2-negatív csoportban. Figyelembe véve, hogy a LUMB1- emlőrákok kezelése igen nehéz, így számos kutatás folyik újabb kezelési célpontok felfedezésére. Jelen munkában a LUMB1- emlődaganatokat vizsgáltuk többek között a PgR kifejeződése szempontjából is. A PgR-képződés mértékét klinikopatológiai faktorokkal és betegkövetési adatainkkal vetettük össze.

## ■ BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

2000 és 2010 között intézetünkben ER-pozitív, Her2-negatív és Ki67-index  $\geq 15\%$  emlőrákkal diagnosztizált betegeink patológiai és klinikai adatait elemeztük utólagosan. A követési adatokat az egyetem MedSolution rendszeréből, míg a patológiai adatokat a II. Sz. Patológiai Intézet leleteiből gyűjtöttük ki a területi etikai bizottság engedélyével (SE-IKEB 77/2007). Az össztúlélési adatokat az Országos Népegészségügyi Intézet szolgáltatta. Vizsgálatunkban elemeztük a betegek életkorát, a daganat differenciáltsági fokát, TNM-státuszt és az ER-, PgR-, Her-2 és Ki67-képződését. A betegek korcsoportjainak kialakítását az elsődleges daganat megállapításakor feljegyzett életkor szerint végeztük. Tanulmányunkban elemeztük az életkor lehetséges kórjóslati szerepét a távoliáttétmentes és teljes túlélési adatok tükrében a 35 éves, a 40 éves és 45 éves korhatárnál egyaránt. A daganatok szövettani differenciáltság szerinti besorolása az Elston/Ellis által módosított Bloom–Richardson-módszer (Nottingham grade) (13), míg a TNM-felosztás az „American Joint Committee on Cancer” és az „International Union for Cancer Control” (AJCC-UICC) 7. kiadásának ajánlása alapján történt (14). Meghatároztuk

az áttétmentes túlélést (distant-metastasis free survival, DMFS), amely az elsődleges daganat kórismézésétől az első távoli áttét megjelenéséig eltelt időt jelenti hónapban megadva. Emellett meghatároztuk a teljes túlélést is (overall survival, OS), amely a betegség megállapításától a daganatnövekedés miatti halál időpontjáig eltelt idő, hónapban számolva. Esetenként egyes patológiai és klinikai mutatók nem álltak rendelkezésre.

Az ER, PgR, Her2 és Ki67 immunhisztokémiai meghatározását az 1. táblázatban bemutatott ellenanyagokkal és hígításokkal végeztük.

1. táblázat. A négy protein kimutatására használt antitestek, gyártói és alkalmazott hígításai

Antigén	Forgalmazó	Antitest	Hígítás
ER	Novocastra	6F11	1:200
PgR	Novocastra	312	1:200
HER2	Novocastra	CB11	1:150
Ki67	DAKO	MIB1	1:100

Hormonreceptor-pozitívnak tekintettük a daganatokat, ha a ráksejtek >1%-a pozitívan jelölődött (az ASCO/CAP ajánlás alapján) (15). A PgR tekintetében a statisztikai számításoknál csökkent és fokozott kifejeződési csoportokat állítottunk fel a receptorképződés mértéke alapján („PgR-low” és „PgR-high”). Mivel kevés irodalmi adat áll rendelkezésre a PgR-képződés szerepéről, jelen vizsgálatban két határértéket teszteltünk (5%-os és 10%-os küszöbvel). A Ki67-indexet a daganat reprezentatív metszetében becsléssel meghatározott pozitívan festődő ráksejtmagok százalékos arányában adtuk meg. A Her2-státusz meghatározása a vizsgált időszakban érvényes ASCO/CAP ajánlás szerint történt (16). Így ezen feltételeknek megfelelően összesen 158 beteg adatait elemeztük.

**STATISZTIKAI SZÁMÍTÁS**

A túlélések elemzését a Kaplan–Meier-módszerrel végeztük; a log-rank eljárás jellemezte a kórjósati csoportok túlélése közötti statisztikai különbséget. A kategorikus adatokat a khi-négyzet-próba és Fischer-féle egzakt teszt segítségével elemeztük. Statisztikailag szignifikánsnak tekintettük a különbséget azokban az esetekben, ahol  $p < 0,05$ . A statisztikai analízist Statistica 11.0 szoftverrel végeztük (StatSoft, Tulsa, OK, USA)

**EREDMÉNYEK**

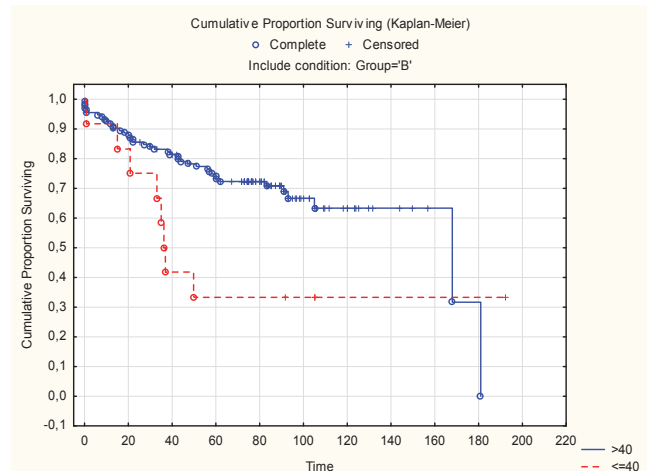
A 158 beteg klinikopatológiai jellemzőit a 2. táblázatban ismertetjük.

2. táblázat. A vizsgálat betegeinek, valamint tumorainak patológiai és klinikai jellemzői, illetve azok százalékos eloszlása a LUMBI csoportban

Vizsgált paraméterek	N	%
T1	40	25,31%
T2	39	24,68%
T3	6	3,79%
T4	9	5,69%
Nincs adat	64	40,50%

Vizsgált paraméterek	N	%
N0	31	19,62%
N1	31	19,62%
N2	8	5,06%
N3	2	1,26%
Nincs adat	86	54,43%
Grade 1	10	6,32%
Grade 2	60	37,97%
Grade 3	58	36,71%
Nincs adat	30	18,98%
Metasztázis:		
Nincs	105	66,45%
Szoliter	20	12,65%
Multiplex	30	18,98%
Nincs adat	3	1,89%
Kezelést kapott:		
Hormon- és/vagy kemoterápia	101	63,92%
Anti-HER2 terápia	–	–
Nem kapott kezelést	3	1,90%
Nincs adat	54	34,18%
Életkor:		
45 év alatt	26	16,45%
45 év felett	132	83,54%
Összesen	158	

A betegek átlagéletkora 57,51 év volt a daganat felismerésének idején (28–75 év). A 35 év alatti betegek aránya 5/158 (3,16%). 40 éves korhatárnál a 40 év alattiak és felettek százalékos aránya 14/158 (8,86%) és 142/158 (91,14%). Az életkor kórjósati szerepét elemezve szignifikánsan rosszabb áttétmentes túlélést figyeltünk meg a 40 évesnél fiatalabbaknál, szemben a 40 év felettekkel ( $p = 0,044$ ) (1. ábra).



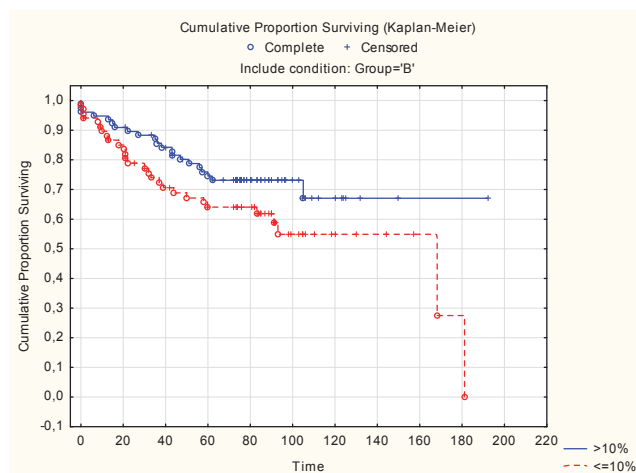
1. ábra. Metasztázismentes túlélés az életkor függvényében ( $p = 0,044$ )

A daganatméret 94 esetben volt ismert. Ezek százalékos megoszlása a következő volt: T1 – 40/94 (42,55%), T2 – 39/94 (41,48%), T3 – 6/94 (6,38%) és T4 – 9/94 (9,56%). A nyirokcsomók érintettségéről 72 esetben rendelkezünk megbízható adatokkal; az eloszlás a következő volt: N0 – 31/72 (43,05%),

N1 – 31/72 (43,05%), N2 – 8/72 (11,11%) és N3 – 2/72 (2,77%). Differenciáltsági fok: a G2-es (60/128) és a G3-as (58/128) rákok előfordulása volt gyakoribb (46,87% és 45,32%), míg a daganatok csupán 7,81%-a (10/128) volt besorolható a G1-es csoportba. A Ki67-index mediánértéke 30%. 155 beteg sorsáról voltak adataink. A betegek 32,25%-ban (50/155) alakult ki távoli áttét a vizsgált időszakban. Az egyedüli áttéteknél vizsgáltuk ezek elhelyezkedését: a csont- (28/50) és májjátét (15/50) volt a leggyakoribb távoli áttét (55%, illetve 30%). Többes áttét az esetek 19,35%-ában volt kimutatható.

**A PgR-KIFEJEZŐDÉS ÉS A KÓRJÓSLATI TÉNYEZŐK KÖZÖTTI ÖSSZEFÜGGÉS**  
A PgR-képződés függvényében elemeztük a patológiai és a klinikai jellemzőket. Mivel kevés irodalmi adat áll rendelkezésre a PgR-kifejeződés szerepéről és mértékéről, jelen vizsgálatban az 5 és a 10%-os küszöbértékekkel számoltunk. A 158 vizsgált eset közül a daganatok 39,87%-ában (63 eset) 0–5% közötti, míg 44,93%-ában (71 eset) 0–10% közötti PgR-képződés volt kimutatható.

Jelen vizsgálati csoportban a 10%-os küszöbértéknél tudtuk szétválasztani a betegeket egy jó és egy rosszabb prognózisú alcsoportra: a PgR-t fokozottan képző daganatok esetében kedvezőbb a túlélési arány (2. ábra). A daganatnagyság, a nyirokcsomó-érintettség, a daganatérlettség, az életkor tekintetében viszont nem találtunk meghatározó különbséget összehasonlítva a csökkent és a fokozott PgR-t képző (0–10%, illetve >10%) betegcsoportokat ( $p=0,311$ ;  $p=0,315$ ;  $p=0,927$  és  $p=0,433$ ).



2. ábra. Metasztázismentes túlélés a PgR-expresszió függvényében a vizsgált LUMB1 alcsoporton belül – 10%-os határértékekkel számolva ( $p=0,07$ )

## MEGBESZÉLÉS

Az eredmények alapján a Her2-negatív Luminalis-B csoportban a G2-es és 3-as daganatok vannak többségben. Ezt támasztja alá Park és munkatársainak (17) vizsgálata is, amelyben a Luminalis-B csoportban a magasabb grade-ű daganatok gyakoribb előfordulását találták. A Ki67-index előrejelző

és kórjóslati értéke számos vizsgálat tárgyát képezi, a „cut-off” értékében azonban még nem született egységes álláspont. Egyes tanulmányok 10, 14 vagy 20%-ot, míg mások az átlag vagy medián értékét alkalmazzák határértéknek (18). A vizsgálok közötti különbözőség ellenére bizonyossá vált, hogy a nagyobb Ki67-index rosszabb kimenetelt jelent. Azambuja és munkatársai (19) 68 tanulmányt elemző metaanalízis alapján megerősítették, hogy a nagy Ki67-index a kiújulások nagyobb kockázatát és rövidebb túlélési időt von maga után. Cheang és munkatársai (18) vizsgálatukban 13,25%-os értéket határoztak meg, amelynek segítségével a Luminalis-A és a Luminalis-B csoport a legmegfelelőbbben különíthető el egymástól. Cserni és munkatársai (20) több központból származó emlőrákot elemezve azt találta, hogy a Ki67 képződésének középértéke az ER-pozitív, Her2-negatív csoportban 14% volt. Ezen érték pontos meghatározása az IHC-eredmények pontos kiszámításának nehézségei miatt azonban esetleges, ezért az alcsoportok elkülönítésekor a 15%-os határértékkel dolgoztunk a jelen vizsgálatunkban. Az általunk elemzett betegcsoportban a Ki67 mediánértéke 30% volt.

Az áttétek helyét tekintve a HER2-negatív Luminalis-B emlődaganatok esetén az önálló áttétek több mint felét (55%) a csontáttétek alkották. Ezt támasztja alá Kennecke és munkatársai (21) tanulmánya is, amelyben a molekuláris alcsoportok áttétmintázatát vizsgálták: a Luminalis-B daganatoknál a csontáttétek előfordulása volt a leggyakoribb.

A PgR-képződés jelentőségét az utóbbi időben egyre több tanulmány vizsgálja, és ezek azt mutatják, hogy az alacsony PgR-szint okaként az ER és a Her2 jelátviteli utak közötti kapcsolat fokozott aktivitása jellemző. Ennek következtében a PgR képződése csökken (22). A PgR immunhisztokémiai kimutatása releváns határértékének megadásához azonban jelenleg nincsenek egységes ajánlások az irodalomban. Prat és munkatársai (23) vizsgálatukban 20%-nál adták meg ezt az értéket statisztikai elemzés alapján. A teljes túlélést és a betegségmentes túlélést vizsgálva azt találtuk, hogy a PgR-képződés függvényében – 10%-os határértékkel számolva – a DMFS időszaka hosszabb volt a PgR-t fokozottan képző daganatos betegeknél, bár a különbség a statisztikai szignifikanciaszintet nem éri el. Bardou és munkatársai (24) univariáns elemzéssel azt figyelték meg, hogy az ER+/PgR+ daganatok hosszabb 5 éves betegségmentes túlélést (82,5%) mutattak, mint az ER+/PgR- rákok (73,8%). Ezt az irányít látták az 5 éves teljes túlélést tekintve is. Multivariáns analíziseket is végeztek, amelynek eredményeként azt figyelték meg, hogy a visszaesés és a halálozás viszonyított kockázatát tekintve az ER+/PgR+ és az ER+/PgR- daganatok jobb kórjóslatúak, mint az ER-/PgR- rákok, ebben az esetben azonban az ER+/PgR+ és az ER+/PgR- daganatok között a látható különbség ellenére nem kaptak szignifikáns eredményt (24).

2013-ban Ciriello és munkatársai (25) nagy esetszámú Luminalis-A típusú emlődaganatok genetikai mintázatát vizsgálták, és azt találták, hogy legalább négy altípus különíthető el



a Luminalis-A alcsoporton belül, amelyeknek kórjólati jelentőségük van. A LUMB1-daganatok prognózisa számos elemzés alapján rossznak tekinthető, így bármilyen vizsgálat, amely segít elkülöníteni a várhatóan jobb vagy rosszabb kimenetelű betegcsoportokat, klinikai jelentőséggel bírhat (11, 18). Egy tanulmány szerint a TP53-gén hibája független prognosztikus faktornak bizonyult a Luminalis-B daganatok esetében (26). Jelen vizsgálatunk alapján a LUMB1-típusú daganatok rossz prognózisú csoportot képeznek a hormonreceptor-pozitív daganatok között. Ebben az altípusban a grade 2-es és grade 3-as tumorok magas előfordulása, a magas Ki67 proliferációs index (átlagosan 30%-os), valamint a távoli metasztázisok gyakori kialakulása további elemzésre sarkall, amely jobban előretehető e daganatok várható viselkedését. PgR-t alacsonyan expresszáló LUMB1-emplőcarcinomák prognosztikai szempontból valószínűleg egy kifejezetten rossz prognózisú csoportot alkotnak, ezt további nagy esetszámú vizsgálatok erősíthetik meg. Az emlőcarcinoma alcsoportjain belül azonosított eltérő prognózisú kisebb csoportok meghatározása hatékonyabb kezelést tehet lehetővé.

#### ■ KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szász A. Marcell az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával, a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között végezte munkáját.

#### IRODALOM

1. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747–52.
2. Penzvalto Z, Mihaly Z, Gyorffy B. [Gene expression based multigene prognostic and predictive tests in breast cancer]. *Magy Onkol* 2009;53:351–9.
3. Bianchini G, Pusztai L, Karn T, Iwamoto T, Rody A, Kelly C, et al. Proliferation and estrogen signaling can distinguish patients at risk for early versus late relapse among estrogen receptor positive breast cancers. *Breast Cancer Res* 2013;15:R86.
4. Zhang MH, Man HT, Zhao XD, Dong N, Ma SL. Estrogen receptor-positive breast cancer molecular signatures and therapeutic potentials (Review). *Biomed Rep* 2014;2:41–52.
5. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10869–74.
6. Untch M, Gerber B, Harbeck N, Jackisch C, Marschner N, Mobus V, et al. 13th st. Gallen international breast cancer conference 2013: primary therapy of early breast cancer evidence, controversies, consensus - opinion of a german team of experts (zurich 2013). *Breast Care (Basel)* 2013;8:221–9.
7. Yanagawa M, Ikemoto K, Kawauchi S, Furuya T, Yamamoto S, Oka M, et al. Luminal A and luminal B (HER2 negative) subtypes of breast cancer consist of a mixture of tumors with different genotype. *BMC Res Notes* 2012;5:376.
8. Guiu S, Michiels S, Andre F, Cortes J, Denkert C, Di Leo A, et al. Molecular subclasses of breast cancer: how do we define them? The IMPAKT 2012 Working Group Statement. *Ann Oncol* 2012;23:2997–3006.

9. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013;24:2206–23.
10. Prat A, Parker JS, Fan C, Perou CM. PAM50 assay and the three-gene model for identifying the major and clinically relevant molecular subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012;135:301–6.
11. Creighton CJ. The molecular profile of luminal B breast cancer. *Biologies* 2012;6:289–97.
12. Cancellò G, Maisonneuve P, Rotmensz N, Viale G, Mastropasqua MG, Pruneri G, et al. Progesterone receptor loss identifies Luminal B breast cancer subgroups at higher risk of relapse. *Ann Oncol* 2013;24:661–8.
13. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & I. O. Ellis. *Histopathology* 1991; 19: 403–410. *Histopathology* 2002;41:151–2, discussion 2–3.
14. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* 2010;17:1471–4.
15. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:e48–72.
16. Hanna WM, Ruschoff J, Bilous M, Coudry RA, Dowsett M, Osamura RY, et al. HER2 in situ hybridization in breast cancer: clinical implications of polysomy 17 and genetic heterogeneity. *Mod Pathol* 2013.
17. Park S, Koo JS, Kim MS, Park HS, Lee JS, Lee JS, et al. Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry. *Breast* 2012;21:50–7.
18. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:736–50.
19. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Jr., Colozza M, Mano MS, Durbecq V, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer* 2007;96:1504–13.
20. Cserni G, Voros A, Liepniece-Karele I, Bianchi S, Vezzosi V, Grabau D, et al. Distribution pattern of the Ki67 labelling index in breast cancer and its implications for choosing cut-off values. *Breast* 2014;23:259–63.
21. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MC, Voduc D, Speers CH, et al. Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2010;28:3271–7.
22. Cui X, Schiff R, Arpino G, Osborne CK, Lee AV. Biology of progesterone receptor loss in breast cancer and its implications for endocrine therapy. *J Clin Oncol* 2005;23:7721–35.
23. Prat A, Cheang MC, Martin M, Parker JS, Carrasco E, Caballero R, et al. Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:203–9.
24. Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM, Osborne CK, Clark GM. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Oncol* 2003;21:1973–9.
25. Ciriello G, Sinha R, Hoadley KA, Jacobsen AS, Reva B, Perou CM, et al. The molecular diversity of Luminal A breast tumors. *Breast Cancer Res Treat* 2013;141:409–20.
26. Silwal-Pandit L, Moen Volland HK, Chin SF, Rueda OM, McKinney SE, Osako T, et al. TP53 mutation spectrum in breast cancer is subtype specific and has distinct prognostic relevance. *Clin Cancer Res* 2014.