

Ki-67 : Rôle dans le diagnostic, le pronostic et le suivi après traitement des cancers du sein

Ki-67: Role in diagnosis, prognosis and follow-up after treatment of breast cancers

Houda El Benna¹, Aref Zribi¹, Soumaya Laabidi¹, Abderrazek Haddaoui², Mouna Mlika³, Hela Skhiri⁴, Mahdi Afrit¹, Khaled Rahal⁵, Hammouda Boussen¹.

1-Service de carcinologie médicale- hôpital Abderrahman Mami Ariana

2-Service de carcinologie médicale- hôpital militaire de Tunis

3-Service d'anatomie et de cytologie pathologique- hôpital Abderrahman Mami Ariana

4-Cabinet privé

5-Service de chirurgie carcinologique institut Salah Azaiez Tunis

RÉSUMÉ

Buts : Evaluer les données de la littérature concernant l'intérêt diagnostique, pronostique et le rôle dans l'évaluation de la réponse au traitement du Ki-67 dans les cancers du sein(CS).

Méthodes : Une revue systématique a été réalisée en se référant au moteur de recherche de la National Library of Medicine (PubMed) entre janvier 2015 et mars 2015 en utilisant les mots clés: Breast cancer , Ki-67 , pronostic , prolifération , chemotherapy, adjuvant, neoadjuvant, hormonotherapy

Résultats : Le Ki-67, évalué par immunohistochimie (IHC), est utilisé en routine comme marqueur de l'activité proliférative des CS pour la classification immunohistochimique, essentiellement pour différencier les luminaux A et B avec un cut-off de 14%, intervenant dans les indications ou non de la chimiothérapie adjuvante. Il a également un rôle dans l'évaluation de la réponse aux thérapies médicales néoadjuvantes par chimio, hormonothérapie et ou thérapie ciblée. Une expression élevée du Ki-67 supérieure à 20%, plus fréquente en cas de CS her 2 + ou triple négatif, traduit un moins bon pronostic mais également un taux de réponse complète clinique/histologique (pCR) plus élevé après chimiothérapie

Conclusion: L'évaluation IHC du taux de Ki-67 reste pratiquée dans les pays sans plateformes bimoléculaires et aide aux indications de traitements médicaux adjuvants et néoadjuvants, bien qu'elle souffre d'insuffisances techniques.

Mots-clés

Cancer, sein, histologie, immunohistochimie, Ki 67, expression, taux, pronostic, indications, chimiothérapie, adjuvante, néoadjuvante, hormonothérapie

SUMMARY

Aim : To evaluate the literature data about diagnostic value, prognosis value and interest in follow-up of Ki-67 antibody after treatment for breast cancer.

Methods: We performed a literature search in pubmed using the keywords : Ki-67, anti-Ki-67, breast cancer, prognosis, proliferation, chemotherapy, hormone therapy.

Results: Ki-67 is routinely used as a static marker of proliferative activity and in follow-up-monitoring before and after treatment by chemotherapy and more recently hormonotherapy. Ki-67 was also used at a cut-off of 14% to differentiate between luminal A and B breast cancers. A high Ki-67 expression is probably related to a poorer prognosis but also a better response to neoadjuvant chemo and/or targeted therapy. More recently, genomic analysis is more reliable to classify the molecular breast cancer subtypes avoiding the possible cases of discordant Ki-67 rate. Ki-67 is also interesting in predicting histological response to neoadjuvant chemo and hormone therapy.

Conclusion: Ki-67 evaluated by immunohistochemistry is important in routine in countries without bimolecular platforms despite technical insufficiencies. When available, genomic grading is better to classify molecular subtypes and determine breast cancer prognosis in adjuvant and neoadjuvant setting.

Key - words

Ki67 antibody, breast cancer, prognosis, proliferation, chemotherapy, hormone therapy, targeted therapy.

Le cancer du sein (CS) est la première tumeur maligne chez la femme, avec un nombre de cas incidents recensés dans le monde de 1 million 400000 en 2012 et de 2000 cas en Tunisie (1-2). Dans notre pays, l'incidence standardisée a doublé depuis 1994, passant de 16,7/100000 à plus de 30/100000 actuellement, avec des prédictions de doublement dans les 15 ans à venir. (3)

Si le pronostic s'est nettement amélioré dans les pays occidentaux du fait de la prédominance de cas infracliniques / infracentimétriques générés par le dépistage, la majorité des cas détectés en Tunisie le sont à des stades de tumeurs palpables avec une taille moyenne clinique supérieure à 3cm (2). La taille tumorale clinique/histologique est un des maillons essentiels avec le grade histologique, l'envahissement ou non des ganglions axillaires et le statut de l'oncogène Her 2 neu, pour indiquer les traitements adjuvants/néoadjuvant par chimiothérapie (CT) / hormonothérapie (HT) (1). Le Ki-67 comme marqueur de la prolifération cellulaire, fait partie de la batterie figurant dans le compte-rendu anatomopathologiste d'un CS (1). Ce travail se propose d'analyser l'apport du Ki-67 dans le diagnostic initial, la classification moléculaire, la prédiction de la réponse aux traitements médicaux par CT, HT ou thérapies ciblées et le pronostic.

DÉFINITION ET HISTORIQUE

Le Ki-67 est un gène codant pour une protéine nucléaire non-histone de 395 KD (numéro d'accension P46013), décrit en 1983 par Gerdes à partir d'un modèle monoclonal d'immunisation de souris par injection de noyaux de cellules tumorales d'une maladie de Hodgkin (4). L'expression du Ki-67, variable en fonction des différentes phases du cycle cellulaire, est nulle en G0, faible lors des phases S, G1 et G2 et plus élevée en avec un pic en M (4). Bridger et al (5) ont attribué son rôle prolifératif à sa localisation au niveau de sites extranucléaires au cours de la phase précoce de G1 alors que Mac-Callum et al (6) suggèrent plutôt un rôle structural du Ki-67 dans le nucléole basé sur sa capacité à interagir avec d'autres protéines et à se lier à l'ARN et l'ADN.

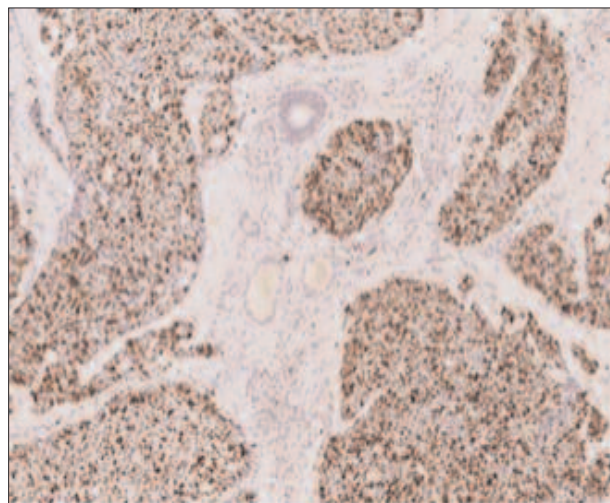
MÉTHODES DE MESURE DU KI-67

Le niveau d'expression cellulaire du Ki-67 est détectable par des méthodes d'immunohistochimie (IHC) (figure 1) et d'immunofluorescence (IF), l'IHC étant la plus utilisée en routine. Les mesures sont faites à partir du MIB-1, relativement ancien, et plus récemment en utilisant le SP6, du fait de son applicabilité directe pour l'analyse de l'image (7). En routine, le Ki-67 est recherché sur coupes paraffinées avec l'anticorps MIB-1 et son taux calculé en évaluant le pourcentage du marquage nucléaire de 1000 cellules tumorales, soit 100 cellules/10 Grands Champs (GC), avec un seuil de positivité supérieur à 5%. Les difficultés techniques du grading du Ki-67 sont représentées par la nécessité d'avoir une surface de 2 mm² correspondant à 10 GC pour estimer l'index mitotique, cet examen devenant plus délicat sur des prélèvements biopsiques.

De plus, la taille des champs est variable selon les oculaires des microscopes. Dans les CS, ce facteur limitant a été contrôlé par des critères d'ajustement (8). Toutefois, la mesure de l'indice du Ki-67 peut paraître subjective, lecteur-dépendante et peu reproductible, ayant

conduit certains auteurs à utiliser des outils informatisés de mesure qui restent trop coûteux pour l'usage en routine.

Figure 1 : Immunomarquage ki67



Evaluation du Ki-67 sur pièces de micro-biopsie mammaire

Une corrélation significative a été établie entre le taux de cellules positives exprimant le Ki-67 et l'index mitotique en histologie de routine. Le Ki-67 a une valeur prédictive élevée, du fait de son expression au cours de toutes les phases actives du cycle cellulaire ; supérieure aux autres marqueurs de prolifération sur les microbiopsies chez les patientes traitées par chimiothérapie néoadjuvante (9-10-11). La détermination du Ki-67 est plus fiable sur les biopsies mammaires que sur les pièces opératoires en raison des phénomènes ischémiques et des dommages hypoxiques induits par l'apoptose cellulaire elle-même induite par la chirurgie sur la pièce de résection (12)

Valeur diagnostique et pronostique du Ki-67 dans les cancers du sein Les CS exprimant un niveau de Ki-67 >5% sont réputés de plus mauvais pronostic avec un risque plus élevé de rechute et de décès, d'après 2 méta-analyses récentes ayant porté sur 12 000 et plus de 32 000 patientes (13-14). Des niveaux élevés de marqueurs biomoléculaires indiquant une prolifération tumorale rapide sont ainsi considérés comme des facteurs aggravants le pronostic d'un CS (15-16-17). Ces études ont démontré une corrélation statistiquement significative entre le taux de cellules positives au Ki-67, le grade nucléaire, le taux de mitoses et les survies globale et sans maladie (DFS) en analyse uni et multivariée (15). De même, les CS avec Ki-67 > 14% au niveau des cellules tumorales ont un risque de récurrence locale ou de métastases plus élevé, impactant sur les survies globale et sans progression (18). Ce cut-off de 14% a conduit à la discrimination entre CS moléculaires luminaux A et B par Chang et al qui ont utilisé la combinaison du taux de Ki-67, de l'expression des récepteurs hormonaux et du statut HER 2 neu (19). Cette classification IHC distingue selon le taux de Ki-67, deux catégories de CS hormonodépendants :

* Le sous-type luminal A (CSLA) est caractérisé par une expression élevée des récepteurs aux œstrogènes et un Ki 67 <14%.

* Le Sous-type luminal B (CSLB) est caractérisé par une expression faible ou modérée des récepteurs aux œstrogènes et un Ki-67 > 14%. Ce sous- type présente a un taux plus élevé de mutations du gène p53 et peut avoir ou non une surexpression de l'oncogène Her 2 neu.

Les CSLA et B Her 2 (-) ont des chances plus élevées de guérison, avec cependant une différence pronostique entre les 2 catégories, fixée par le cut-off du Ki-67 différent, liée a des taux de réponse différents aux traitements médicaux et une indolence des CSLA (19). Les scores de rechute, disponibles dont celui du National Surgical Adjuvant Breast Project (NSABP), validé sur de grandes séries multicentriques, précise mieux la différence pronostique entre CSLA à faible risque et B à risque plus élevé (20). En pratique, un risque faible pour les CSLA peut parfaitement justifier une HT seule en adjuvant, alors que les CSLB recevront souvent en adjuvant une association de CT et HT. Le Ki-67 a été inclus depuis 2009 dans le panel des marqueurs de prolifération des guidelines de Saint Gallen en considérant les CS plus agressifs, en cas de taux >14% (21). Lors de la conférences de St Gallen de 2011, 69% des experts ont retenu l'indication d'une CT adjuvante dans un CS sans atteinte ganglionnaire axillaire en cas de Ki-67 >14% (22). Les algorithmes de calculs de risque comme Adjuvant Online 1 et la classification de Saint-Gallen, basés sur les facteurs histopronostiques classiques sont à la disposition du clinicien pour calculer le bénéfice d'un traitement adjuvant mais ils sont aussi pris en défaut dans certaines situations, notamment en ne discriminant pas au sein du groupe des patientes à faible risque.

Tableaux (1 et 2)

Tableau 1: Classification des soutypes selon Saint Gallen 2013 (21)

INTRINSIC SUBTYPE	CLINIC-PATHOLOGIC SURROGATE DEFINITION
Luminal A	<p>Luminal A-like All of : ER and PgR positive HER2 negative Ki-67 "low" Recurrence risk "low" based on Multi gene expression assay (if available)</p>
Luminal B	<p>Luminal B-like (HER2 negative) ER positive HER2 negative And at least one of: Ki-67 "high" PgR "negative or low" Recurrence risk "high" based on Multi gene expression assay (if available)</p> <p>Luminal B-like (HER2 positive) ER positive HER2 over expressed or amplified Any Ki-67 Any PgR</p>
Erb-B2 overexpression	<p>"HER2 positive (non luminal)" HER2 over expressed or amplified ER and PgR absent</p>
Basal like	<p>Triple negative (ductal) ER and PgR absent HER2 negative</p>

Tableau 2: Les recommandations thérapeutiques selon Saint Gallen 2013 (21)

SUBTYPE	Type of therapy
Luminal A-like	Endocrine therapy is the most critical intervention and is often used alone
Luminal B-like (HER2 negative)	Endocrine therapy for all patients, cytotoxic therapy for most
Luminal B-like (HER2 positive)	Cytotoxics+ anti HER2+endocrine therapy
HER2 positive (non luminal)	Cytotoxics+ anti HER2
Triple negative (ductal)	Cytotoxics
Special histological types	
A. Endocrine responsive	Endocrine therapy
B. Endocrine non responsive	Cytotoxics

Ki-67 et évaluation de la réponse aux thérapies néoadjuvantes

Le Ki-67 a été testé pour évaluer la réponse aux traitements médicaux néoadjuvants par CT(CNA) et ou TC et son rôle prédictif et pronostique. Une récente étude rétrospective a analysé l'évolution du taux de Ki 67 après CNA pour des CS localement avancés. La persistance d'un Ki-67 élevé semble être un facteur pronostique négatif pour la survie sans progression en analyse univariée (23). Une autre étude (24) ayant porté sur 220 patientes ayant un CS de stade II-III a mis en évidence la valeur pronostique favorable d'une baisse du taux de Ki-67 sous CNA. La valeur initiale du Ki-67 était marginalement associée à la survie sans progression et non corrélée avec la survie globale.

L'étude des facteurs biologiques tissulaires a permis d'évaluer la sensibilité tumorale au traitement médical. Le Ki-67 qui est actuellement l'un des principaux facteurs prédictifs de la sensibilité à la chimiothérapie et à l'hormonothérapie. (9-10-11). La CNA peut induire une réponse histologique complète dans les tumeurs primitives du sein et les ganglions lymphatiques axillaires dans environ 15% des patients inopérables. Seule la réponse histologique complète confère un avantage de survie (25-26) d'où l'importance d'une détection ou de la prédiction rapide d'une résistance à la chimiothérapie néoadjuvant. C'est dans ce contexte que la diminution du Ki-67 constitue un biomarqueur prédictif témoin de l'efficacité thérapeutique notamment au décours de la chimiothérapie néoadjuvante vu qu'il a été démontré qu'une activité proliférative importante est corrélée à une meilleure réponse à la chimiothérapie néoadjuvante. Une étude française réalisée par Petit et al publiée en 2003 (27) a évalué la valeur prédictive du grade SBR, des récepteurs hormonaux; de la prolifération des cellules tumorales évaluées par le Ki-67, HER-2 et de la topoisomérase II alpha chez 119 patientes suivies pour un cancer du sein traité par chimiothérapie néo-adjuvante à base d'anthracyclines. En analyse multivariée, le Ki-67 >20% et l'absence d'expression des RH étaient des facteurs prédictifs d'une réponse complète clinique et histologique. Un haut grade SBR de la tumeur

était un facteur prédictif d'une réponse complète histologique. La surexpression ou l'amplification de HER2 et la positivité de la topoisomérase II alpha ne sont pas prédictives de la réponse. Une autre étude Néerlandaise réalisée en 2003 par Faneyte (28) a conclu que seul la baisse d'expression du Ki-67 était un indicateur de l'efficacité de la chimiothérapie à base d'antracyclines. Une étude multicentrique publiée par Penault-Llorca en 2009 (9) a rapporté la valeur prédictive de la réponse à la CT adjuvante comportant du docétaxel du Ki-67, avec une survie meilleure chez les patientes RE+. Dans une autre étude ayant concerné la CNA, un meilleur taux de réponse était observé avec un cut-off à 14%. Selon une étude Japonaise (29) le taux initial de Ki-67 a une valeur prédictive du taux de pCR, surtout pour les tumeurs luminales, meilleure en cas de Ki-67 à 43 vs 28%. Parmi les 1166 patientes de l'essai de CNA Gepartrio (30) les taux de pCR étaient de 4,2% vs 12,8% vs 29% en cas de Ki-67 initial <15%, de 15-35% ou > 35%. Le risque de rechute était plus élevé en cas de Ki-67 initial avant CNA > 15% et les patientes ayant un Ki-67 bas avaient un pronostic comparable à celles ayant eu une pCR sous CNA.

Ki-67 et hormonothérapie néoadjuvante (HNA)

Des études récentes ont évalué le rôle prédictif du Ki-67 de la sensibilité des CS à l'HNA, Downett et al (11) ont mesuré l'expression de Ki-67 sur des biopsies de CS avant et après 2 semaines de traitement pré-opératoire par anastrozole, tamoxifène, ou combinaison des deux traitements chez 158 patientes suivies pour CS (RH+). En analyse multivariée, la présence d'un Ki-67 élevé, après 2 semaines de HNA était péjoratif pour la survie sans récurrence ($p = 0,004$), alors que le taux initial de Ki-67 n'était pas corrélé à la survie sans récurrence. L'essai IMPACT (31) qui a comparé 3 bras d'HNA par tamoxifène, anastrozole seul ou combinaison tamoxifène-anastrozole, a évalué le Ki67 après 2 puis 12 semaines de traitement. Les taux les plus bas sont observés dans le bras anastrozole seul avec une meilleure survie sans récurrence. Ces mêmes résultats ont été obtenus aussi dans l'étude ATAC (32) comparant letrozole et tamoxifène où le niveau du Ki 67 à 2 semaines était un meilleur facteur prédictif de la survie sans progression en comparaison avec les mesures du Ki-67 avant le début de l'hormonothérapie. L'option de l'HT néoadjuvante (HTNA) est intéressante chez des femmes âgées ayant des co-morbidités et un risque chirurgical. Palmieri et al ont comparé 44 patientes randomisées entre CNA par 6FEC100 et HTNA par letrozole (33). Le Ki-67 a baissé entre le deuxième et le quatrième jour et lors de la chirurgie de façon comparable. Ces données sont importantes d'une part parce qu'elles valident l'hypothèse selon laquelle l'expression du Ki-67 après deux semaines d'HNA était un marqueur intermédiaire d'efficacité du traitement suggérant son utilisation dans les études de développement de médicaments et d'études des mécanismes de résistance. D'autre part, les données indiquent aussi que la valeur pronostique de Ki-67 est peut-être meilleure après le traitement néoadjuvant.

Valeur pronostique du Ki-67

La méta-analyse de Stuart-Harris et al (14) a colligé 15790 patientes ayant eu une évaluation du Ki-67, avec un cut-off de 4 à 28,6%. L'expression du Ki-67 a un impact péjoratif sur la survie globale en univarié avec un HR à 2,09 et 1,73 en multivarié. Le même impact

pronostique péjoratif est observé pour la survie sans maladie à 2,18 en univarié et 1,7 en multivarié. L'expression du Ki-67 est également associée au risque de rechute après traitement dans les CS N+ et N(-), mais aussi dans la prédiction de l'invasion axillaire histologique. Il existe cependant un risque d'erreur dans la valeur prédictive du Ki-67 (34)

Dans la réalité et la routine oncologique Tunisienne, les CS restent classés selon le profil IHC seul en l'absence de disponibilité de plates formes génomiques, permettant une subdivision dans les 4 catégories plus précises, luminaux A et B, her 2 + et triples négatifs. Dans les structures ayant une plate-forme de biologie moléculaire, l'index de grade génomique par la technique des micro-puces d'ADN a une valeur pronostique pour la DFS, supérieure au Ki-67, au grade histologique, l'index d'activité mitotique sur une série de 204 CS traités dans le protocole Français PACS01 par CT séquentielle FEC100 et Docetaxel (35). En effet l'utilisation d'un séquençage permet d'éliminer le biais de répartition, surtout entre luminaux A et B induit par l'utilisation de l'IHC seule.

CONCLUSION

Le Ki-67 est un marqueur de prolifération dont le rôle pronostique a été confirmé à travers la plus importante méta-analyse faite sur 12 155 patientes, en montrant une association significative entre l'expression du ki-67, la survie sans progression et la survie globale. L'estimation du ki67 figure parmi les recommandations du consensus de ST Gallen. Le Ki-67 a également un rôle prédictif de l'efficacité des traitements par chimiothérapie ou hormonothérapie vu qu'une valeur supérieure à 14% est prédictive d'une meilleure sensibilité tumorale et d'une efficacité supérieure du traitement. L'évaluation du taux de Ki-67 reste encore sujette à des limites techniques en IHC (36) La mesure du Ki-67 est corrélée au pronostic sans tenir compte des effets du traitement. Par ailleurs, l'estimation de l'expression en cours du traitement permet d'évaluer son efficacité. Ainsi, l'évaluation des facteurs pronostiques et prédictifs est passée d'une classification morphologique pure à une classification moléculaire avec un continuum entre les 2 assuré par l'immunohistochimie. La protéomique apportera certainement de nouvelles approches et l'arrivée de nouvelles thérapies orientera davantage l'usage des tests diagnostiques dont l'objectif principal est de prédire l'efficacité de ces traitements.

Références

- 1- World Health organization. International agency for research on Cancer. WORLD CANCER REPORT 2012. Globocan.
- 2- Maalej M, Hentati D, Messai T et al. Breast cancer in Tunisia in 2004: a comparative clinical and epidemiological study. *Bull Cancer* 2008; 95:5-9.
- 3- Ben Abdallah M, Zehani S, Maalej M et al. Cancer du sein en Tunisie: caractéristiques épidémiologiques et tendance évolutive de l'incidence. *Tunis Med* 2009;87:417-425.
- 4- Gerdes J, Li L, Schlueter C et al. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol* 1991; 138:867-873.
- 5- Bridger JM, Kill IR, Lichter Pand et al. Association of pKi-67 with satellite DNA of the human genome in early G1 cells. *Chromosome Res* 1998; 6:13-24.
- 6- MacCallum DE, Hall PA. The biochemical characterization of the DNA binding activity of Ki 67. *J Pathol.* 2000; 191:286-98.
- 7- Ekholm M, Beglerbegovic S, Grabau D et al. Immunohistochemical assessment of Ki67 with antibodies SP6 and MIB1 in primary breast cancer: a comparison of prognostic value and reproducibility. *Histopathology* 2014; 65:252-60.
- 8- Tsuda H, Akiyama F, Kurosumi M et al. Evaluation of the interobserver agreement in the number of mitotic figures of breast carcinoma as simulation of quality monitoring in the Japan National Surgical Adjuvant Study of Breast Cancer protocol. *Jpn J Cancer Res* 2000; 91:451-457.
- 9- F. Penault-Llorca, André F, Sagan C et al. Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 10:2809-15.
- 10- Ying M, He Y, Qi M et al. Value of pre-treatment biomarkers in prediction of response to neoadjuvant endocrine therapy for hormone receptor-positive postmenopausal breast cancer. *Chin J Cancer Res.* 2013; 25:397-404.
- 11- Dowsett M, Smith IE, Ebbs SR et al. Short-term changes in Ki-67 during neoadjuvant treatment of primary breast cancer with anastrozole or tamoxifen alone or combined correlate with recurrence-free survival. *Clin Cancer Res* 2005; 11:951-8.
- 12- Yamamoto S, Chishima T, Mastubara Y et al. Variability in measuring the ki-67 labeling index in patients with breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2015; 15:35-39.
- 13- De Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr 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: 1504-1513.
- 14- Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE et al. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast* 2008; 17: 323-334.
- 15- Keshgegian AA, Cnaan A. Proliferation markers in breast carcinoma. Mitotic figure count, S-phase fraction, proliferating cell nuclear antigen, Ki-67 and MIB-1. *Am J Clin Pathol* 1995; 104:42-9.
- 16- Li FY, Wu SG, Zhou J et al. Prognostic value of Ki-67 in breast cancer patients with positive axillary lymph nodes: A retrospective cohort study. *PLoS One* 2014; 9(2).
- 17- Li H, Han X, Liu Yand al. Ki67 as a predictor of poor prognosis in patients with triple- negative breast cancer. *Oncol Lett* 2015; 9:149-152.
- 18- Kilickap S, Kaya Y, Yucel B et al. Higher Ki67 expression is associates with unfavorable prognostic factors and shorter survival in breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15:1381-5.
- 19- Cheang MC, Chia SK, Voduc D et al. Ki67 index, HER2 status and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101:736-50.
- 20- Vachon CM, Schaid DJ, Ingle JN et al. Apolygenic risk score for breast cancer in women receiving tamoxifen or raloxifene on NSABP P-1 and P-2. *Breast Cancer Res Treat* 2015;149:517-23.
- 21- Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart ,Thürlimann B, Senn HJ; Panel members. 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.
- 22- Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members. 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; 22:1736-47.
- 23- Peter A Fasching, Katharina Heusinger, Lothar Haeberle et al. Ki67, chemotherapy response, and prognosis in breast cancer patients receiving neoadjuvant treatment. *BMC Cancer* 2011; 11:486.
- 24- Guarneri V, Piacentini F, Ficarra G et al. A prognostic model based on nodal status and Ki-67 predicts the risk of recurrence and death in breast cancer patients with residual disease after preoperative chemotherapy. *Ann Oncol* 2009; 20:1193-8.
- 25- Kim MK, Han W, Moon HG et al. Nomogram for Predicting Breast Conservation after Neoadjuvant Chemotherapy. *Cancer Res Treat* 2014; 46:374-382.
- 26- Horimoto Y, Arakawa A, Tanabe M et al. Ki67 expression and the effect of neo- adjuvant chemotherapy on luminal HER2-negative breast cancer. *BMC Cancer* 2014; 14:550.
- 27- Petit T, Wilt M, Velten M and al. Comparative value of tumour grade, hormonal receptors, Ki-67, HER-2 and topoisomerase II alpha status as predictive markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline-based chemotherapy. *Eur J Cancer* 2004; 40:205-11.
- 28- Faneyte IF, Schrama JG, Peterse JL, Remijnse PL, Rodenhuis S, van de Vijver MJ. Breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: predictive markers and relation with outcome. *Br J Cancer* 2003; 88:406-12.
- 29- Sueta A, Yamamoto Y, Hayashi M et al. Clinical significance of pretherapeutic Ki67 as a predictive parameter for response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: is it equally useful across tumor subtypes? *Surgery* 2014; 155:927-35.
- 30- Denkert C, Loibl S, Müller BM et al. Ki67 levels as predictive and prognostic parameters in pretherapeutic breast cancer core biopsies: a translational investigation in the neoadjuvant GeparTrio trial. *Ann Oncol* 2013; 24:2786-93.
- 31- Smith IE, Dowsett M, Ebbs SR et al. IMPACT Trialists Group. Neoadjuvant treatment of postmenopausal breast cancer with anastrozole, tamoxifen, or both in combination: the Immediate Preoperative Anastrozole, Tamoxifen, or Combined with Tamoxifen (IMPACT) multicenter double-blind randomized trial. *J Clin Oncol* 2005;1;23:5108-16.
- 32- Cuzick J, Sestak I, Baum M et al. ATAC/LATTE investigators. Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 10-year analysis of the ATAC trial. *Lancet Oncol* 2010;11:1135-41.
- 33- Palmieri C, Cleator S, Kilburn LS et al. NEOCENT: a randomised feasibility and translational study comparing neoadjuvant endocrine therapy with chemotherapy in ER-rich postmenopausal primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 148:581-90.
- 34- Jalava P, Kuopio T, Juntti-Patinen L, Kotkansalo T, Kronqvist P, Collan Y. Ki 67 immunohistochemistry: a valuable marker in prognostication but with a risk of misclassification: proliferation subgroups formed based on Ki67 immunoreactivity and standardized mitotic index. *Histopathology* 2006; 48:674-82.
- 35- Bertucci F, Finetti P, Roche H et al. Comparison of the prognostic value of genomic grade index, Ki 67 expression and mitotic activity index in early node-positive breast cancer patients. *Ann Oncol* 2013;24:625-32.
- 36- Yerushalmi R, Woods R, Ravdin PM, Hayes MM, Gelmon KA. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncol* 2010; 11:174-83.