

· 论 著 ·

乳腺癌患者人表皮生长因子受体 2 基因扩增状态与临床病理特征的关系



扫码阅读电子版

赵甜甜 张新东

山东省滕州市中心人民医院病理科 277500

通信作者:张新东, Email: tzzxd1969@126.com

【摘要】 目的 探讨乳腺癌患者人表皮生长因子受体 2 (HER2) 基因的扩增状态与患者临床病理特征相关性, 并分析乳腺癌患者腋窝淋巴结转移的影响因素。**方法** 收集 2016 年 1 月至 2019 年 3 月在滕州市中心人民医院病理科做常规病理检查且 HER2 免疫组织化学 (IHC) 结果为 ++ 的 262 例乳腺癌患者病理资料, 包括年龄、肿瘤长径、组织学分级、病理类型、是否有淋巴结转移、肿瘤数量、肿瘤部位; 用 IHC 法检测石蜡标本 p53、Ki-67、雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 的表达结果; 用荧光原位杂交 (FISH) 法检测 HER2 基因的扩增状态; 分析 HER2 基因扩增是否与上述临床病理特征相关, 以及腋窝淋巴结转移是否与上述特征相关。**结果** 262 例乳腺癌患者有 69 例 HER2 扩增阳性, 阳性扩增率为 26.3%; HER2 基因扩增与 Ki-67 增殖指数和 ER、PR 的表达状态相关, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 13.27$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 34.97$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 38.31$, $P < 0.01$); 与年龄、肿瘤长径等其余临床病理特征均无关 (均 $P > 0.05$)。262 例乳腺癌患者中发生腋窝淋巴结转移 106 例 (40.5%); 淋巴结转移与肿瘤长径显著相关 ($\chi^2 = 29.10$, $P < 0.01$), 与其余临床病理特征均无相关 (均 $P > 0.05$)。**结论** 乳腺癌 HER2 基因扩增状态与 Ki-67 增殖指数和 ER、PR 的表达相关, 肿瘤大小为影响乳腺癌患者腋窝淋巴结转移的因素, 准确判断上述指标能更好地指导乳腺癌患者的治疗和评估预后。

【关键词】 乳腺肿瘤; 人表皮生长因子受体 2; 基因扩增; 淋巴结转移; 病理学, 临床

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2020.02.007

Relationship between gene amplification status of human epidermal growth factor receptor 2 and clinicopathological features in breast cancer

Zhao Tiantian, Zhang Xindong

Department of Pathology, Tengzhou Central People's Hospital, Tengzhou 277500, China

Corresponding author: Zhang Xindong, Email: tzzxd1969@126.com

【Abstract】 Objective To explore the relationship between gene amplification status of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) and its clinicopathological features in breast cancer, and to analyze the affecting factors of axillary lymph node metastasis in breast cancer. **Methods** The clinicopathological data of 262 patients with breast cancer at Tengzhou Central People's Hospital between January 2016 and March 2019 were collected, including age, tumor diameter, histological grade, pathological type, lymph node metastasis, tumor number, tumor location. The patients had routine pathology examination and the immunohistochemistry (IHC) result of HER2 was ++. The expressions of p53, Ki-67, estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) were detected by using IHC. The gene amplification status of HER2 was detected by using fluorescence in situ hybridization (FISH). The relationship between gene amplification status of HER2 and clinicopathological features, the relationship between axillary lymph node metastasis and clinicopathological features was respectively analyzed. **Results** HER2 gene amplification-positive was detected in 69 cases of 262 breast cancer patients, and the positive amplification rate was 26.3%. The gene amplification status of HER2 was correlated with Ki-67 proliferation index and the expression of ER as well as PR, and the differences were statistically significant ($\chi^2 = 13.27$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 34.97$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 38.31$, $P < 0.01$). There was no correlation with age, tumor diameter and other clinicopathological features (all $P > 0.05$). Among 262 cases of breast cancer, 106 (40.5%) cases had axillary lymph node metastasis. Lymph node metastasis was correlated with tumor diameter ($\chi^2 = 29.10$, $P < 0.01$), and there was no correlation with other clinicopathological features (all $P > 0.05$). **Conclusions** HER2 gene amplification of breast cancer is

associated with Ki-67 proliferation index, the expression of ER and PR. The tumor diameter is a factor for affecting axillary lymph node metastasis. Accurate judgment of the above indicators can better guide the treatment and evaluate the prognosis of breast cancer.

【Key words】 Breast neoplasms; Human epidermal growth factor receptor 2; Gene amplification; Lymph node metastasis; Pathology, clinical

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2020.02.007

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤中的一种。研究表明人表皮生长因子受体 2 (HER2) 基因的扩增和 HER2 蛋白的过表达可导致乳腺癌的发病及病情进展^[1-2]。乳腺癌是一种内分泌相关性肿瘤,雌激素受体(ER)和孕激素受体(PR)的表达状态已被广泛应用于指导患者的治疗和评估其预后。Ki-67 主要被应用在判断细胞的增殖活性,其增殖指数的高低与肿瘤的分化程度、浸润转移和预后密切相关。p53 是一种抑癌基因,该基因的突变和缺失可导致乳腺癌的发生和发展。本研究通过荧光原位杂交(FISH)法确定 HER2 基因的扩增状态,探讨其是否与乳腺癌患者的临床病理特征有相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2016 年 1 月至 2019 年 3 月在滕州市中心医院病理科做常规病理检查且 HER2 免疫组织化学结果为 ++ 的 262 例乳腺癌患者病理资料,所有患者均经常规病理确诊,均为女性,中位年龄 49 岁(27~80 岁)。本研究使用乳腺癌患者手术切除的石蜡组织标本进行相关检测,所有检测均符合我院医学伦理委员会的相关要求。

1.2 试剂与仪器

全自动免疫组织化学染色机 Leica BOND-MAX; 一抗 p53 (鼠抗人单克隆抗体,克隆号:DO-7)、ER (兔抗人单克隆抗体,克隆号:SP1)、PR (兔抗人单克隆抗体,克隆号:SP2)、Ki-67 (鼠抗人单克隆抗体,克隆号:MIB-1)均购自福州迈新生物技术公司;二抗免疫显色试剂购自上海徕卡生物系统公司。荧光原位杂交仪 Thermo Brite、HER2 基因扩增检测试剂盒购自北京金菩嘉医疗科技公司;荧光显微镜 Nikon ECLIPSE 80i;FISH 图像分析采集系统 FISH imstar。

1.3 检测方法

肿瘤标本采用 10% 中性甲醛溶液固定 12~24 h,经脱水、石蜡包埋、切片,然后行免疫组织化学染色和 FISH 染色。采用免疫组织化学染色法将肿瘤标本蜡块做连续切片,切片厚度为 4~5 μm ,裱贴于 APES 处理过的黏附载玻片上,将玻片置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱 30 min

后,上机染色,染色程序结束后,脱水透明封固。更换不同批次抗体染色均设有阳性对照和阴性对照。采用 FISH 法将烤好的石蜡切片经脱蜡、脱水、变性、酶消化后,向组织上滴加适量 HER2 探针,橡皮胶封边后置于原位杂交仪上杂交 14~16 h,杂交过程结束后用洗液清洗,加 DAPI 染色,在荧光显微镜上观察结果。操作依据 HER2 试剂盒说明书进行。

1.4 结果判读

Ki-67 阳性结果为表达于细胞核的棕褐色颗粒,判读值是依据阳性细胞数占肿瘤细胞总数的比例;p53 蛋白阳性表达结果为细胞核内出现棕黄色颗粒着色,当阳性细胞数占肿瘤细胞总数的 > 10% 时结果判读为阳性,否则为阴性;ER 和 PR 判读标准依据文献[3];FISH 结果判读标准依据文献[4]。

1.5 统计学方法

应用 GraphPad 6 软件对所有数据进行统计分析,计数资料的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HER2 基因扩增与临床病理特征的关系

262 例患者中,69 例 HER2 基因扩增阳性,阳性扩增率 26.3%。HER2 基因扩增与 Ki-67 增殖指数和 ER、PR 的表达相关,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$),而与其他指标无相关性(均 $P > 0.05$)(表 1)。

2.2 淋巴结转移与临床病理特征的关系

262 例患者中腋窝淋巴结转移 106 例(40.5%)。淋巴结转移与肿瘤长径差异有统计学意义($P < 0.01$),与其他指标均无明显相关(均 $P > 0.05$)(表 2)。

3 讨论

HER2 是一种原癌基因,在正常的乳腺组织中 HER2 参与细胞生长发育的信号转导过程,在乳腺癌患者的肿瘤细胞中,一旦 HER2 基因出现扩增,将会加速肿瘤的形成和增长,并刺激癌细胞发生远处转移^[5]。但影响 HER2 基因扩增的因素有哪些,目前尚无定论。周国江等^[6]的研究结果显示肿瘤大小与 HER2 基因的表达存在正相关关系,与 Ki-67 增殖指数无明

表 1 乳腺癌患者临床病理特征与人表皮生长因子受体 2 (HER2) 基因扩增的相关性 [例 (%)]

临床病理特征	例数	HER2 扩增阳性	χ^2 值	P 值
年龄 (岁)				
≤35	16	5 (0.313)	1.038	0.595
36~60	198	54 (0.273)		
≥61	48	10 (0.208)		
肿瘤长径 (cm)			2.182	0.336
≤2	133	33 (0.248)		
>2 且 <4	114	34 (0.298)		
≥4	15	2 (0.133)		
组织学分级			3.886	0.143
I	22	2 (0.091)		
II	127	37 (0.291)		
III	112	30 (0.268)		
病理类型			5.706	0.058
浸润性导管癌	243	68 (0.280)		
浸润性小叶癌	4	1 (0.250)		
其他特殊类型	15	0		
淋巴结转移 (枚)			1.779	0.620
0	156	37 (0.237)		
1~3	49	14 (0.286)		
4~9	32	11 (0.344)		
≥10	25	7 (0.280)		
肿瘤数量			3.267	0.071
单个	244	61 (0.250)		
多个	18	8 (0.444)		
p53			0.060	0.807
阳性	204	53 (0.260)		
阴性	58	16 (0.276)		
Ki-67			13.270	0.001
≤20%	84	10 (0.119)		
>20%	178	59 (0.331)		
肿瘤部位			2.818	0.244
左侧	156	41 (0.263)		
右侧	105	27 (0.257)		
胸壁	1	1 (1.000)		
雌激素受体			34.970	<0.01
-	62	30 (0.484)		
+	51	19 (0.373)		
++	82	16 (0.195)		
+++	67	4 (0.060)		
孕激素受体			38.310	<0.01
-	100	46 (0.460)		
+	65	16 (0.246)		
++	56	4 (0.071)		
+++	41	3 (0.073)		

显相关性,张明帅等^[7]的研究显示 p53 表达阳性、肿瘤直径 > 2 cm 是预测 HER2 基因扩增的独立因素, Ki-67 增殖指数与 HER2 基因扩增无明显关系。本研究结果显示 HER2 基因扩增与 ER、PR 的表达状态

表 2 乳腺癌患者临床病理特征与淋巴结转移的相关性 [例 (%)]

临床病理特征	例数	淋巴结转移	χ^2 值	P 值
年龄 (岁)				
≤35	16	7 (0.438)	0.263	0.877
36~60	198	81 (0.409)		
≥61	48	18 (0.375)		
肿瘤长径 (cm)			29.100	<0.01
≤2	133	37 (0.278)		
>2 且 <4	114	55 (0.482)		
≥4	15	14 (0.933)		
组织学分级			1.244	0.537
I	22	7 (0.318)		
II	127	50 (0.394)		
III	112	49 (0.438)		
病理类型			1.704	0.427
浸润性导管癌	243	101 (0.416)		
浸润性小叶癌	4	1 (0.250)		
其他特殊类型	15	4 (0.267)		
肿瘤数量			3.422	0.064
单个	244	95 (0.389)		
多个	18	11 (0.611)		
p53			0.590	0.442
阳性	204	80 (0.392)		
阴性	58	26 (0.448)		
Ki-67			1.807	0.179
≤20%	84	29 (0.345)		
>20%	178	77 (0.433)		
肿瘤部位			3.294	0.193
左侧	156	68 (0.436)		
右侧	105	37 (0.352)		
胸壁	1	1 (1.000)		
雌激素受体			1.829	0.609
-	62	23 (0.371)		
+	51	18 (0.353)		
++	82	34 (0.415)		
+++	67	31 (0.463)		
孕激素受体			2.196	0.533
-	100	40 (0.400)		
+	65	30 (0.462)		
++	56	23 (0.411)		
+++	41	13 (0.317)		

明显相关,并且 ER 和 PR 表达阴性相比较其他不同程度的阳性组更易导致 HER2 基因的扩增,这与已有研究结果一致^[6-7];同时 HER2 基因扩增与 Ki-67 增殖指数显著相关,当 Ki-67 增殖指数 > 20% 时, HER2 基因扩增概率增加,而与其余指标无明显相关性。ER 和 PR 存在于正常乳腺上皮细胞的细胞核内,调节细胞的分裂增殖。当乳腺癌的 ER 和 PR 表达阳

性时,一般癌的分化程度较高,恶性程度低,并且发展慢,预后较好;当 ER 和 PR 表达阴性时,乳腺癌的分化较差,侵袭性强,恶性程度高,预后差^[8]。可见 ER 表达阴性、PR 表达阴性、HER2 表达阳性同为乳腺癌预后差的评估指标,并且 HER2 基因的表达受到 ER、PR 表达的影响,其相互作用机制有待进一步探讨。

本研究结果同时还显示出乳腺癌患者出现淋巴结转移与肿瘤长径 ≥ 4 cm 相关。既往也有研究显示随着乳腺癌肿块体积变大,将增加腋窝淋巴结转移的概率^[9];另有研究表明腋窝淋巴结的转移与肿瘤大小无明显关系^[10]。2019 年版乳腺癌诊治指南与规范指出有淋巴结转移和(或)激素受体阴性的患者被列为有高危复发风险,对于 HER2 阳性的患者还需要辅助帕妥珠单抗与曲妥珠单抗双靶向治疗联合化疗^[11]。因此明确影响淋巴结转移和 HER2 基因阳性表达的因素,可更加准确的评估患者预后,甚至对这些影响因素进行及早干预,将会有有效的提高患者的总生存期和生命质量。

综上所述,各研究结果不一致的原因可能是:(1)样本量小,需要扩大样本量做深入研究;(2)病例分组不合要求,如三阴性乳腺癌恶性程度高,较容易出现淋巴结的转移,在病例资料中占有比例的不同可能会导致统计结果的不一致;(3)病例资料种类不全面,如有些年轻患者在发现自己是恶性肿瘤的情况,会选择到上级医院就诊,因此我们的病例资料中缺少这部分数据。在下一步的工作中,如果整合所有临床数据,扩大样本量,避免某一亚型过多或过少情况对统计结果的影响,是否会有一个明确的结论,还是一个未知数,仍需要进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update [J]. Arch Pathol Lab Med, 2014, 138(2): 241-256. DOI: 10.5858/arpa.2013-0953-SA.
- [2] Niikura N, Tomotaki A, Miyata H, et al. Changes in tumor expression of HER2 and hormone receptors status after neoadjuvant chemotherapy in 21,755 patients from the Japanese breast cancer registry [J]. Ann Oncol, 2016, 27(3): 480-487. DOI: 10.1093/annonc/mdv611.
- [3] 《乳腺癌雌、孕激素受体免疫组织化学检测指南》编写组. 乳腺癌雌、孕激素受体免疫组织化学检测指南 [J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(4): 237-239. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2015.04.005.
Writing Group of "guidelines for immunohistochemical detection of estrogen receptor and progesterone receptor in breast cancer". Guidelines for immunohistochemical detection of estrogen receptor and progesterone receptor in breast cancer [J]. Chin J Pathol, 2015, 44(4): 237-239. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2015.04.005.
- [4] 《乳腺癌 HER2 检测指南(2014 版)》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南(2014 版) [J]. 中华病理学杂志, 2014, 43(4): 262-267. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2014.04.012.
Writing Group of "guidelines for HER2 detection (2014 edition)". Guidelines for HER2 detection (2014 edition) [J]. Chin J Pathol, 2014, 43(4): 262-267. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2014.04.012.
- [5] Barić M, Kulić A, Sirotković-Skerlev M, et al. Circulating HER2/neu extracellular domain in breast cancer patients-correlation with prognosis and clinicopathological parameters including steroid receptor, HER2/neu receptor coexpression [J]. Pathol Oncol Res, 2015, 21(3): 589-595. DOI: 10.1007/s12253-014-9859-6.
- [6] 周国江, 杨勇, 赵子龙, 等. 乳腺癌 HER2 基因扩增与 HER2 neu 蛋白表达的一致性及其与临床病理特征的关系 [J]. 实用癌症杂志, 2018, 33(5): 728-731.
Zhou GJ, Yang Y, Zhao ZL, et al. Study on the relationship between the expression of HER2 gene and the expression of HER2 neu protein in breast cancer and its relationship with clinicopathological features [J]. Journal of Practical Cancer, 2018, 33(5): 728-731.
- [7] 张明帅, 王胃, 蒋威华, 等. 荧光原位杂交检测乳腺癌 HER2(++) 扩增状态及其与临床病理的相关性 [J]. 肿瘤防治研究, 2018, 45(9): 652-655.
Zhang MS, Wang Z, Jiang WH, et al. HER2(++) amplification in breast cancer detected by fluorescence in situ hybridization and its correlation with clinicopathological features [J]. Research on Cancer Prevention and Treatment, 2018, 45(9): 652-655.
- [8] Parise CA, Caggiano V. Risk of mortality of node-negative, ER/PR/HER2 breast cancer subtypes in T1, T2, and T3 tumors [J]. Breast Cancer Res Treat, 2017, 165(3): 743-750. DOI: 10.1007/s10549-017-4383-5.
- [9] Kondov B, Isijanovska R, Milenković Z, et al. Impact of size of the tumour, persistence of estrogen receptors, progesterone receptors, HER2Neu receptors and Ki67 values on positivity of axillary lymph nodes in patients with early breast cancer with clinically negative axillary examination [J]. Open Access Maced J Med Sci, 2017, 5(7): 825-830. DOI: 10.3889/oamjms.2017.213.
- [10] Kim M, Shin KH, Jung SY, et al. Identification of prognostic risk factors for transient and persistent lymphedema after multimodal treatment for breast cancer [J]. Cancer Res Treat, 2016, 48(4): 1330-1337. DOI: 10.4143/crt.2015.463.
- [11] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2019 年版) [J]. 中国癌症杂志, 2019, 29(8): 609-680. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2019.08.009.
Breast Cancer Committee of China Anti-cancer Association. Guidelines and norms for the diagnosis and treatment of breast cancer of the China Anti-Cancer Association (2019 edition) [J]. China Oncology, 2019, 29(8): 609-680. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2019.08.009.

(收稿日期: 2019-08-13)

(本文编辑: 张俊伟 校对: 张俊伟)