

三阴性乳腺癌 HER2(0/1 +) 和 HER2(2 +) 的相关基因表达差异

许增祥¹, 谢 闵², 黄小梅¹, 周芳芳¹, 卢林明¹

(1. 皖南医学院 病理学教研室, 安徽 芜湖 241002; 2. 芜湖市第二人民医院 病理科, 安徽 芜湖 241000)

【摘要】目的: 探讨三阴性乳腺癌(TNBC) HER2(0/1 +) 和 HER2(2 +) 两组中 CK5/6、EGFR、VEGF、COX-2 和 TOP II α 的表达差异及其临床意义。方法: 收集 2010 年 1 月~2014 年 12 月 TNBC 患者 HER2(0/1 +) 组 30 例, HER2(2 +) 组 15 例, 采用免疫组织化学方法检测 CK5/6、EGFR、VEGF、COX-2 和 TOP II α 的表达。结果: 与 HER2(2 +) 组比较, HER2(0/1 +) 组中 CK5/6、EGFR、VEGF、COX-2 和 TOP II α 的表达均偏高, 但不具有统计学差异($P > 0.05$); 且与患者年龄、肿瘤大小、病理学类型及分级、淋巴结转移、脉管侵犯均无相关性($P > 0.05$)。结论: TNBC HER2(0/1 +) 和 HER2(2 +) 两者存在一些基因表达差异, 可能为临床靶向治疗药物的选择提供理论依据。

【关键词】三阴性乳腺癌; HER2; 表达; 差异

【中图分类号】R 737.9 **【文献标识码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2016.01.007

Gene expression difference between HER2(0/1 +) and HER2(2 +) in the triple-negative breast cancers

XU Zengxiang, XIE Min, HUANG Xiaomei, ZHOU Fangfang, LU Linming

Department of Pathology, Wannan Medical College, Wuhu 241002 China

【Abstract】Objective: To investigate the expression difference of CK5/6, EGFR, VEGF, COX-2, TOP II α genes and their clinical significance between HER2(0/1 +) and HER2(2 +) in the triple-negative breast cancers(TNBC). **Methods:** Thirty cases of TNBC with HER2(0/1 +) and 15 with HER2(2 +) were included. Immunohistochemistry was performed to detect the expression of CK5/6, EGFR, VEGF, COX-2 and TOP II α in the tissue specimens obtained from the TNBC cases. **Results:** Up-regulated expression of CK5/6, EGFR, VEGF, COX-2 and TOP II α was observed in cases of HER2(0/1 +), yet the difference was not statistically significant, and expression of these genes was not correlated with the patient's ages, tumor size, type of pathology, histology grade, lymph node metastasis and vascular invasion($P > 0.05$). **Conclusion:** Expression of HER2(0/1 +) appears somewhat different from that of in TNBC, and this biological marker may be an important theoretical support to molecular target therapy for TNBC.

【Keywords】triple-negative breast cancer; HER2; expression; differences

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TN-BC) 是一种特殊分子类型的乳腺癌, 其特点是雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR) 以及人类表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 表达均呈阴性。由于 TNBC 病人内分泌治疗和抗 HER2 靶向治疗均无效, 可选择的药物作用靶点和治疗手段相对较少, 因而 TNBC 患者预后较差^[1]。有研究报道, 与 HER2(1 +) 相比, HER2(0) 的 TNBC 中 CK5/6 或 EGFR 表达明显较高, 表现出更像基底细胞样乳腺癌(basal-like breast carcinoma, BLBC) 特征^[2]。本研究通过采用免疫组织化学方法, 检测 TNBC 患者 HER2(0/1 +) 和 HER2(2 +)

两组内 CK5/6、表皮生长因子受体(epithelial growth factor, EGFR)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、环氧化酶 2(cyclooxygenase 2, COX-2) 和 DNA 拓扑异构酶 II α(topoisomerase, TOP II α) 的表达情况, 并分析其差异和临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料 随机选择 2010 年 1 月~2014 年 12 月在皖南医学院附属弋矶山医院和芜湖市第二人民医院行手术并病理确诊的乳腺癌病人标本 45 例。患者年龄 29~75 岁, 中位年龄 52 岁, 均无其他恶性肿瘤史。所有病例 ER、PR 和 HER2 均经本实

基金项目: 皖南医学院中青年科研基金项目(WK201513)

收稿日期: 2015-05-29

作者简介: 许增祥(1980-), 男, 讲师, 硕士, (电话) 0553-3932474; (电子信箱) xuzx1980@126.com;

谢 闵(1981-), 女, 主治医师, 博士研究生, (电子信箱) 76206423@qq.com, 通讯作者。

实验室再次免疫组织化学验证,其中 HER2(0/1+) 组 30 例,HER2(2+) 组 15 例,后者并经荧光原位杂交(FISH)技术证实呈阴性。

1.2 实验方法 所有标本均用 10% 福尔马林溶液固定,石蜡包埋。根据 HE 染色切片选取癌细胞丰富区域的对应蜡块进行打孔(直径 1.2 mm),制备组织芯片。组织芯片蜡块切片厚度 4 μm,常规 HE 染色。免疫组化染色采用 SP 法,DAB 显色,技术操作严格按照国家卫计委 PQCC 要求进行病理质控。所有抗体 ER、PR、HER2、CK5/6、EGFR、VEGF、COX-2 和 TOP II α 均购自福州迈新生物技术开发有限公司和北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 结果判定 免疫组化染色结果判读分别由 3 名高年资病理医师完成,最后对判读结果进行综合分析。ER、PR 表达于细胞核,着色 < 10% 判为阴性(以周边正常乳腺导管上皮细胞作阳性对照)。HER2 判定依照 2014 版乳腺癌 HER2 检测指南进行^[3]。CK5/6、VEGF 和 COX-2 主要表达于细胞浆, TOP II α 定位于细胞核,EGFR 呈细胞膜/胞浆染色,当上述基因蛋白表达的阳性细胞 ≥ 10% 时判为阳性。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 18.0 统计软件处理数据,所有数据比较采用 χ² 检验或 Fisher 精确概率法,以 P < 0.05 作为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TNBC HER2(0/1+) 和 HER2(2+) 中基因表达差异 由表 1 可知,CK5/6、EGFR、VEGF、COX-2

和 TOP II α 在 TNBC HER2(0/1+) 中表达均高于 HER2(2+),但不具有统计学差异(P > 0.05)。

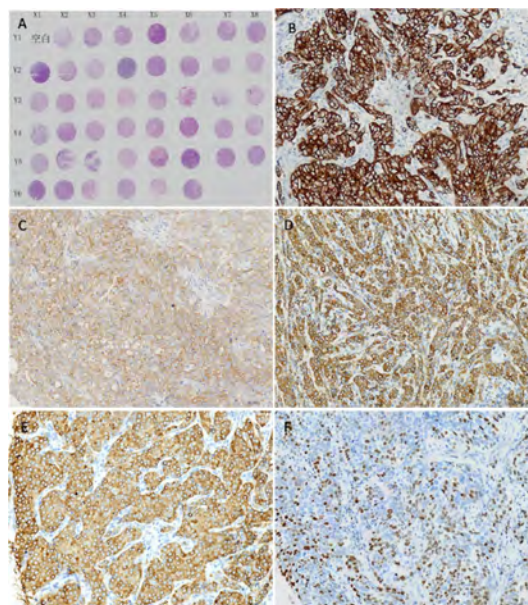


图 1 TNBC 组织芯片 HE 染色及免疫组化标记
A 示病理组织芯片扫描片(HE 染色),B ~ F 示免疫组化染色(IHC × 200):B 示 CK5/6(+),C 示 EGFR(+),D 示 VEGF(+),E 示 COX-2(+),F 示 Top II(+)

2.2 TNBC HER2(0/1+) 组和 HER2(2+) 组基因表达与临床病理特征关系 由表 2、3 可见,在 HER2(0/1+) 和 HER2(2+) 中,CK5/6、EGFR、VEGF、COX-2、Topo II α 的表达与患者年龄、肿瘤大小、病理学类型及分级、脉管侵犯、淋巴结转移均无相关性(P > 0.05)。

表 1 三阴性乳腺癌 HER2(0/1+) 与 HER2(2+) 基因表达差异

HER-2 表达	CK5/6 阳性率/ P				EGFR 阳性率/ P				VEGF 阳性率/ P				COX-2 阳性率/ P				TOP II α 阳性率/ P			
	+	-	%	P	+	-	%	P	+	-	%	P	+	-	%	P	+	-	%	P
HER2(0/1+)	8	22	26.67	>0.05	10	20	33.33	>0.05	22	8	73.33	>0.05	24	6	80.00	>0.05	14	16	46.67	>0.05
HER2(2+)	3	12	20.00		2	13	13.33		10	5	66.67		8	7	53.33		5	10	33.33	
合计	11	34	24.44		12	33	26.67		32	13	71.11		32	13	71.11		19	26	42.22	

3 讨论

三阴性乳腺癌(TNBC)免疫组化标记显示为“三阴性”,即 ER、PR、HER2 均为阴性,是一种特殊类型的乳腺癌,其病理形态、临床特征均与普通乳腺癌有所不同。TNBC 发病率约占所有乳腺癌的 12% ~ 24%,平均 15% 左右^[4]。TNBC 发病年龄比普通乳腺癌患者年轻,肿瘤体积往往较大,呈推挤性生长,中央往往伴有大片坏死;肿瘤细胞异型较明显,组织学分级高,具有较高的增殖活性,侵袭性强。而

且缺乏有效的减危手段,主要以化疗为主,治疗后大多在 1 ~ 3 年内复发,多数在 5 年内死亡。基底细胞样乳腺癌(BLBC)同样具有免疫组化标记“三阴性”特征。它与 TNBC 有相似特性,但不完全相同,存在交叉重复。BLBC 具有基底细胞基因表型,并不同程度地表达 CK7、CK5/6、干细胞因子受体(c-kit)、p53 等基因。因此,CK5/6 和(或) CK14 阳性表达成为 BLBC 病理诊断标准之一^[5]。也有文献将 CK5/6 或 EGFR 阳性表达作为具有基底细胞样表型

乳腺癌的指标^[3]。TNBC 和 BLBC 均高表达 EGFR , 而 EGFR 高表达则抑制细胞凋亡、促进血管新生 , 从而促进肿瘤发生、转移和侵袭^[6]; 乳腺癌患者若表达 CK5/6 或 EGFR , 其生存率明显降低 , 预后往往极差^[7]。本实验发现 , TNBC 组织内 CK5/6、EGFR 均高表达 , 而且 HER2(0/1 +) 组 TNBC 中 CK5/6、EG-

FR 表达率均高于 HER2(2 +) 组。另外 , CK5/6 或 EGFR 阳性表达者占 50% (15/30) , 也明显高于 HER2(2 +) 组 , 这些结果提示 HER2(0/1 +) 组 TNBC 在免疫表型上更加具有 BLBC 的特征 , 但 CK5/6、EGFR 的表达在两个实验组均与临床病理资料无显著相关性。

表 2 TNBC HER2(0/1 +) 中基因表达与临床病理特征之间的关系

临床病理特征	n	HER(0/1 +) 组														
		CK5/6			EGFR			VEGF			COX-2			TOP II α		
		+	-	P	+	-	P	+	-	P	+	-	P	+	-	P
年龄/岁																
≥50	18	4	14	>0.05	6	12	>0.05	12	6	>0.05	14	4	>0.05	8	10	>0.05
<50	12	4	8		4	8		10	2		10	2		6	6	
肿块大小																
≥2 cm	22	6	16	>0.05	8	14	>0.05	14	8	>0.05	16	6	>0.05	10	12	>0.05
< 2 cm	8	2	6		2	6		8	0		8	0		4	4	
病理类型																
浸润性导管癌	26	8	18	>0.05	8	18	>0.05	20	6	>0.05	22	4	>0.05	12	14	>0.05
其他	4	0	4		2	2		2	2		2	2		2	2	
组织分级																
I、II	10	2	8	>0.05	4	6	>0.05	8	2	>0.05	8	2	>0.05	5	5	>0.05
III	20	6	14		6	14		14	6		16	4		9	11	
淋巴结转移																
有	18	6	12	>0.05	8	10	>0.05	14	4	>0.05	16	2	>0.05	10	8	>0.05
无	12	2	10		2	10		8	4		8	4		4	8	
脉管侵犯																
有	14	4	10	>0.05	4	10	>0.05	10	4	>0.05	10	4	>0.05	7	7	>0.05
无	16	4	12		6	10		12	4		14	2		7	9	

表 3 TNBC HER2(2 +) 中基因表达与临床病理特征之间的关系

临床病理特征	n	HER(2 +) 组														
		CK5/6			EGFR			VEGF			COX-2			TOP II α		
		+	-	P	+	-	P	+	-	P	+	-	P	+	-	P
年龄/岁																
≥50	7	1	6	>0.05	1	6	>0.05	5	2	>0.05	4	3	>0.05	3	4	>0.05
<50	8	2	6		1	7		5	3		4	4		2	6	
肿块大小																
≥2 cm	10	2	8	>0.05	2	8	>0.05	6	4	>0.05	6	4	>0.05	2	8	>0.05
< 2 cm	5	1	4		0	5		4	1		2	3		3	2	
病理类型																
浸润性导管癌	13	3	10	>0.05	2	11	>0.05	9	4	>0.05	7	6	>0.05	5	8	>0.05
其他	2	0	2		0	2		1	1		1	1		0	2	
组织分级																
I、II	7	1	6	>0.05	1	6	>0.05	4	3	>0.05	3	4	>0.05	2	5	>0.05
III	8	2	6		1	7		6	2		5	3		3	5	
淋巴结转移																
有	6	2	4	>0.05	2	4	>0.05	5	1	>0.05	4	2	>0.05	3	3	>0.05
无	9	1	8		0	9		5	4		4	5		2	7	
脉管侵犯																
有	4	0	4	>0.05	2	2	>0.05	4	0	>0.05	3	1	>0.05	1	3	>0.05
无	11	3	8		0	11		6	5		5	6		4	7	

血管内皮生长因子能特异性促进血管内皮细胞增殖和血管、淋巴管的生成,并能提高血管通透性,在肿瘤的生长和转移过程中起重要作用^[8]。已有研究^[9]证实,TNBC 高表达 VEGF,而且患者生存期往往更短。COX-2 是花生四烯酸合成前列腺素的限速酶,在多种肿瘤中高表达,可促进肿瘤细胞增殖、抑制凋亡和促进血管新生、肿瘤播散^[10]。同样,COX-2 在乳腺癌组织中高表达,且与预后相关^[11]。最近有文献报道^[12],TNBC 中 COX-2 表达增高。本实验结果发现,TNBC 组织中 VEGF 和 COX-2 呈高表达,COX-2 在 HER2(0/1+) TNBC 中表达也高于 HER2(2+) 进一步提示 COX-2 高表达不仅与 TNBC 有关,而且可能与 BLBC 关系更密切,有可能作为 BLBC 未来的一个分子治疗靶点。TOP 是 DNA 代谢过程中催化 DNA 拓扑结构改变的重要的酶,同时也是多种化疗药物的靶点。乳腺癌中, TOP II α 不仅在 TNBC 组织中高表达^[3,13],而且还可作为蒽环类药物的疗效预测指标以及乳腺癌的预后指标^[14]。我们的实验结果显示 TOP II α 在 HER2(0/1+) 组表达率高于 HER2(2+) 组,提示蒽环类药物可能对部分 TNBC 有效。

本实验中,我们分别研究了 HER2(0/1+) 和 HER2(2+) 中这些基因表达与临床病理特征之间的关系,结果显示 HER2(0/1+) 中这些基因的表达患者年龄、肿瘤大小、病理学类型及分级、淋巴结转移、脉管侵犯均无相关性,可能原因是标本量过低所导致。但就部分数据可言,提示我们这些基因在 TNBC HER2(0/1+) 和 HER2(2+) 中表达存在差异,可能与肿瘤的不同生物学行为存在某些联系。

总之,本研究结果表明 TNBC 中,HER2 不同表达状态下,一些基因表达存在差异,这些基因表达差异不仅反映了 TNBC 不同的临床生物学行为,而且可根据这些基因表达的差异,选择合理的化疗方案,对 TNBC 的预防和治疗、改善预后等均有重要意义。

【参考文献】

[1] THIKE AA ,CHEOK PY ,JARA-LAZARO AR *et al.* Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer[J]. *Mod Pathol* 2010 ,23(1) :

123 - 133.

- [2] NAKAGAWA MI ,BANDO Y ,NAGAO T *et al.* Among triple-negative breast cancers ,HER2(0) breast cancer shows a strong tendency to be basal-like compared with HER2(1 +) breast cancer: preliminary results [J]. *Breast Cancer* 2012 ,19(1) : 54 - 59.
- [3] 《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 - 266.
- [4] RAKHA EA ,ELLIS IO. Triple-negative/basal-like breast cancer: review [J]. *Pathology* 2009 ,41(1) : 40 - 47.
- [5] 刘莉萍,白君,魏亚,等. 基底细胞样乳腺癌临床病理特征及免疫组织化学分析 [J]. *中华病理学杂志* ,2013 ,42(2) : 101 - 105.
- [6] LYNCH TJ ,BELL DW ,SORDELLA R *et al.* Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness on no-small-cell lung cancer to gefitinib [J]. *N Engl J Med* 2004 , 350(21) : 2129 - 2139.
- [7] TISCHKOWITZ M ,BRUNET JS ,BÉGIN LR *et al.* Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer [J]. *BMC Cancer* 2007 ,24(7) : 134.
- [8] KOWANETZ M ,FERRARA N. Vascular endothelial growth factor signaling pathways: therapeutic perspective [J]. *Clin Cancer Res* , 2006 ,12(17) : 5018 - 5022.
- [9] LINDERHOLM BK ,HELLBORG H ,JOHANSSON U *et al.* Significantly higher levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and shorter survival times for patients with primary operable triple-negative breastcancer [J]. *Ann Oncol* ,2009 ,20(10) : 1639 - 1646.
- [10] SOLOW RA ,DANNENBERG AJ ,RUSH D *et al.* COX-2 is expressed in human pulmonary ,colonic ,and mammary tumors [J]. *Cancer* 2000 ,89(12) : 2637 - 2645.
- [11] MIGLIETTA A ,TOSELLI M ,RAVARINO N *et al.* COX-2 expression in human breast carcinomas: correlation with clinicopathological features and prognostic molecular markers [J]. *Expert Opin Ther Targets* 2010 ,14(7) : 655 - 664.
- [12] MOSALPURIA K ,HALL C ,KRISHNAMURTHY S *et al.* Cyclooxygenase-2 expression in non-metastatic triple-negative breast cancer patients [J]. *Mol Clin Oncol* 2014 ,2(5) : 845 - 850.
- [13] MRKLIĆ I ,C POGORELI Z ,CAPKUN V *et al.* Expression of topoisomerase II - α in triple negative breast cancer [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2014 ,22(3) : 182 - 187.
- [14] POGORELČNIK B ,PERDIH A ,SOLMAJER T. Recent advances in the development of catalytic inhibitors of human DNA topoisomerase II α as novel anticancer agents [J]. *Curr Med Chem* 2013 ,20(5) : 694 - 709.