

乳腺癌患者血清 Her-2/neu 蛋白的临床意义

王慇杰, 韩彬彬, 李学祥, 韩晓红, 齐 军
(中国医学科学院肿瘤医院, 北京 100021)

摘 要: [目的] 探讨血清 Her-2/neu 蛋白在乳腺癌患者诊疗中的临床意义。[方法] 应用化学发光法 (chemiluminescence immunoassay, CLIA) 对 60 例健康人、100 例其他肿瘤患者和 195 例乳腺癌患者样本进行 Her-2/neu 蛋白检测。[结果] 健康对照组、其他肿瘤对照组和乳腺癌组血清 Her-2/neu 浓度分别为 $10.3 \pm 1.7 \text{ ng/ml}$ 、 $10.9 \pm 2.6 \text{ ng/ml}$ 和 $23.7 \pm 38.8 \text{ ng/ml}$, 乳腺癌组浓度明显高于健康对照组 ($P=0.003$) 和其他肿瘤组 ($P=0.005$)。I~II 期乳腺癌血清 Her-2/neu 浓度明显低于 III~IV 期, 差异有统计学意义 ($P=0.001$)。乳腺癌 Her-2 阴性、+、++ 和 +++ 4 组患者血清 Her-2/neu 蛋白浓度分别为 $32.3 \pm 56.2 \text{ ng/ml}$ 、 $27.9 \pm 31.4 \text{ ng/ml}$ 、 $17.7 \pm 29.2 \text{ ng/ml}$ 和 $23.1 \pm 39.6 \text{ ng/ml}$; 血清 Her-2/neu 蛋白阳性率分别为 26.67%、33.33%、11.11% 和 15.38%。转移性乳腺癌患者血清 Her-2/neu 检测结果与临床状态总体符合率为 82.98% (39/47)。[结论] 血清 Her-2/neu 蛋白水平与乳腺癌患者临床分期相关, 化学发光法检测血清 Her-2/neu 蛋白在乳腺癌临床诊疗中有重要应用价值。

关键词: 乳腺癌; 人类表皮生长因子受体-2; 化学发光法; 临床价值

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2013)04-0295-04

Clinical Significance of Serum Her-2/neu Protein in Patients with Breast Cancer

WANG Min-jie, HAN Bin-bin, LI Xue-xiang, et al.

(Cancer Hospital Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the clinical significance of serum Her-2/neu protein in the diagnosis and treatment for patients with breast cancer. [Methods] Chemiluminescence immunoassay (CLIA) was used to detect serum Her-2/neu protein concentration from 60 cases of healthy control, 195 cases of breast cancer and 100 cases of other cancers. [Results] The serum Her-2/neu concentration in breast cancer group ($23.7 \pm 38.8 \text{ ng/ml}$) was significantly higher than that in healthy control group ($10.3 \pm 1.7 \text{ ng/ml}$) ($P=0.003$) and other cancers group ($10.9 \pm 2.6 \text{ ng/ml}$) ($P=0.005$). The serum Her-2/neu concentration in patients with breast cancer (stage I~II) was significantly lower than that with stage III~IV, with significant difference ($P=0.001$). Based on the Her-2 immunohistochemical results, the breast cancer patients were divided into 4 groups: negative, +, ++, +++. The serum Her-2/neu concentration were $32.3 \pm 56.2 \text{ ng/ml}$, $27.9 \pm 31.4 \text{ ng/ml}$, $17.7 \pm 29.2 \text{ ng/ml}$ and $23.1 \pm 39.6 \text{ ng/ml}$ respectively; and the positive rate of serum Her-2/neu protein was 26.67%, 33.33%, 11.11% and 15.38% respectively. The level of serum Her-2/neu was 82.98% accorded with clinical status in patients with metastatic breast cancer. [Conclusion] Serum Her-2/neu level in breast cancer patients is associated with clinical stage, and the CLIA Her-2/neu assay plays an important application value in diagnosis, prognosis and treatment for breast cancer.

Key words: breast cancer; serum Her-2/neu; chemiluminescence immunoassay; clinical value

乳腺癌是全世界范围内女性最常见的恶性肿瘤, 严重威胁广大女性的身体健康^[1]。我国女性乳腺癌发病率呈逐年增高趋势, 近十几年来我国乳腺癌发病率增长速度快, 死亡率居全部恶性肿瘤第 6 位^[2]。

收稿日期: 2012-11-20; 修回日期: 2013-01-07

通讯作者: 齐军, E-mail: qijun5610@126.com

Her-2/neu 是一种与癌的生物特性直接相关的肿瘤蛋白, 在乳腺癌的发生、发展过程中具有重要意义^[3,4]。有报道显示, Her-2/neu 在健康人的血液中也低表达, 25%~30% 乳腺癌患者 Her-2/neu 呈过表达, Her-2/neu 在转移性乳腺癌患者的血液中呈高表达^[4-6]。Her-2/neu 基因扩增或蛋白在血清中的过

表达预示预后较差。因此,正确判断 Her-2 状态不仅有助于评估患者预后,而且是选择治疗方案的重要参考指标^[5,6]。血清学检测具有方便、实时性、连续性等特点。血清 Her-2/neu 蛋白成为指导乳腺癌患者临床用药和评价预后的潜在肿瘤标志物^[5,7-9]。本文旨在探讨乳腺癌患者血清 Her-2/neu 蛋白的临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2010 年 1 月至 2011 年 6 月在中国医学科学院肿瘤医院诊治的乳腺癌患者 130 例,血清样本共 195 份,全部经病理学证实。其中治疗前乳腺癌 80 例,年龄 31~77 岁,平均年龄 52 岁;临床分期 I 期 18 例、II 期 19 例、III 期 17 例、IV 期 26 例。乳腺癌切除术后 50 例,年龄 33~72 岁,平均年龄 52 岁;其中未发生转移 10 例,发生转移 40 例。用于病情监测的转移性乳腺癌患者 16 例,年龄 31~77 岁,平均年龄 53 岁;每位患者跟踪采样 3~5 次,时间间隔 3 周~2 个月。

另取 60 例健康体检女性为对照组,年龄 26~73 岁,平均年龄 54 岁;其中未绝经女性 30 例,绝经女性 30 例。

其他肿瘤组患者 100 例,均为女性肿瘤患者,其中肺癌 30 例,肝癌 20 例,卵巢癌 20 例,宫颈癌、结肠癌和直肠癌各 10 例,年龄 32~85 岁,平均年龄 56 岁。

1.2 样本采集

采集空腹静脉血 4ml,室温自然凝集 2h,8℃、4 000 r/min 离心 15 min 分离血清,分装后-80℃保存待测,所有样本均避免反复冻融。

1.3 试剂和检测方法

Her-2/neu 蛋白测定试剂盒由西门子诊断试剂公司提供,为获得批准的血清 Her-2/neu 蛋白检测试剂盒^[10]。其基本原理为双抗体夹心全自动化学发光测定法,分别使用吖啶酯标记的鼠单克隆抗体 TA-1 和荧光素标记的鼠单克隆抗体 NB-3 与 Her-2/neu 蛋白的 ECD 上的抗原决定簇特异性结合,形成免疫复合物并激发化学发光反应;在西门子 ADVIA Centaur XP 全自动免疫分析仪上,严格按照说明书完成所有检测。西门子试剂的 Cut off 值为 15.2ng/ml。

试剂盒带室内质控品分高值和低值两种,靶值分别为 15ng/ml 和 100ng/ml;室内质控品检测结果均在控。

1.4 统计学处理

应用 SPSS16.0 软件进行分析。各组血清 Her-2/neu 浓度采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用非参数 Kruskal-Wallis 检验各组数据间差异,两组间比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 Her-2/neu 蛋白检测结果

乳腺癌组血清 Her-2/neu 蛋白浓度为 23.7 ± 38.8 ng/ml,与健康对照组和其他肿瘤组相比均有统计学差异(*t* 值分别为 -3.093 和 2.934, *P* 值分别为 0.003 和 0.005);健康对照组血清 Her-2/neu 蛋白浓度均低于 15.2ng/ml,平均浓度为 10.3 ± 1.7 ng/ml;其他女性肿瘤组血清 Her-2/neu 蛋白浓度也均低于 15.2ng/ml,平均浓度为 10.9 ± 2.6 ng/ml。健康对照组和其他女性肿瘤组血清 Her-2/neu 蛋白浓度无统计学差异(*t* = -1.899, *P* = 0.059)(Table 1)。

2.2 不同临床分期乳腺癌患者血清 Her-2/neu 蛋白检测结果

血清 Her-2/neu 蛋白阳性率在 I 期、II 期、III 期和 IV 期乳腺癌患者中分别为 0、0、5.9% (2 例) 和 50% (13 例)。I~IV 期治疗前乳腺癌患者血清 Her-2/neu 浓度分别为 9.5 ± 1.8 ng/ml、 9.4 ± 1.8 ng/ml、 11.7 ± 3.5 ng/ml 和 53.6 ± 59.8 ng/ml;血清 Her-2/neu 阳性率和浓度水平随乳腺癌患者分期的升高而增高。I~II 期乳腺癌患者与 III~IV 期乳腺癌患者血清 Her-2/neu 浓度差异有统计学意义(9.5 ± 1.8 vs 35.9 ± 49.9 , *t* = -4.276, *P* = 0.001)(Table 1)。

2.3 乳腺癌患者不同免疫组化组血清 Her-2/neu 蛋白表达水平

乳腺癌患者 Her-2 免疫组化结果分别为阴性、+、++ 和 ++++, 以此对患者进行分组,各组乳腺癌患者分别为 15 例、12 例、27 例和 26 例;各组患者血清 Her-2/neu 蛋白浓度分别为 32.3 ± 56.2 ng/ml、 27.9 ± 31.4 ng/ml、 17.7 ± 29.2 ng/ml 和 23.1 ± 39.6 ng/ml;血清 Her-2/neu 蛋白阳性率分别为 26.67%、33.33%、11.11% 和 15.38%(Figure 1)。

Table 1 Comparison of serum Her-2/neu concentration in different groups

Group	N	Her-2/neu(ng/ml)	t	P value
Health control	60	10.3±1.7		
Other female cancer	100	10.9±2.6	-1.899	0.059
Breast cancer	80	23.7±38.8*	-3.093	0.003
Stage I ~ II	37	9.5±1.8	1.937	0.051
Stage III ~ IV	43	35.9±49.9 [△]	-4.498	<0.001

Note: t value and P value were both obtained from the data compared with health control group; * breast cancer group compared with other female cancer group, $t=2.934$, $P=0.005$; [△]Stage I ~ II breast cancer group compared with Stage III ~ IV breast cancer group, $t=-4.276$, $P=0.001$.

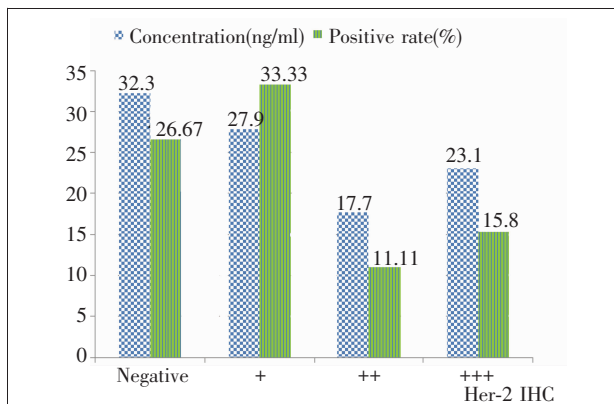


Figure 1 The mean concentration and positive rate of serum Her-2/neu protein in patients with breast cancer

2.4 血清 Her-2/neu 蛋白表达水平在转移性乳腺癌患者病情监测中的应用

血清 Her-2/neu 蛋白水平 >15.2ng/ml 的乳腺转移癌患者 16 例, 每位患者连续跟踪采集样本 3~5 次, 计算 Her-2/neu 变化情况, 并与患者临床疾病状态进行比较。

计算公式: Her-2/neu 变化 (%) = [(后 1 次测量结果 - 前 1 次测量结果) / 前 1 次测量结果] × 100%。以 Her-2/neu 变化 15% 为界限, ≥15% 视为病情进展, <15% 为病情无进展^[8]。

Her-2/neu 变化与患者临床状态进行对比, 总体符合率为 82.98%(39/47)。其敏感度、特异性、阴性预测值(患者病情无进展)和阳性预测值(患者病情进展)分别为 81.82%、83.33%、93.75% 和 60.0%(Table 2)。

Table 2 Correlation between disease status and Her-2/neu level in metastatic breast cancer

Her-2/neu(%)	N	Disease progression	Disease without progression
Increase ≥ 15%	15	9	6
Increase < 15%	32	2	30
Total	47	11	36

3 讨论

20 世纪 80 年代, 有学者发现人类表皮生长因子受体-2 (Her-2, C-erbB-2) 蛋白是 Her-2/neu 癌基因编码的一种具有酪氨酸激酶活性的跨膜蛋白质, 分子量 185 000 道尔顿(p185)^[3]。多项研究表明, Her-2/neu 基因及其蛋白在乳腺癌发生和转移中发挥重要作用^[3-5,7-9]。Her-2/neu 基因及其蛋白产物的检测方法包括免疫组织化学(IHC)检测蛋白过表达、荧光原位杂交(FISH)和显色原位杂交(CISH)检测基因扩增、酶联免疫分析法(ELISA)和化学发光法检测 Her-2/neu 蛋白质^[6-9,11]。美国临床肿瘤学会(ASCO)和美国病理学家学会(CAP)指南推荐 Her-2/neu 检测应作为乳腺浸润性导管癌初诊的常规检测^[11]。

血清 Her-2/neu 蛋白与肿瘤组织 Her-2/neu 蛋白表达的一致性研究仍存在争议^[7-9]。多位学者对乳腺癌患者血清 Her-2/neu 蛋白表达状态进行检测, 并将检测结果应用于临床用药指导和预后评价, 研究结论各不相同^[4,5,8,9]。

国内大多采用 ELISA 法测定血清 Her-2/neu 蛋白浓度, 本研究应用 CLIA 法检测乳腺癌患者血清 Her-2/neu 蛋白浓度。本实验室前期研究结果证实, 与 ELISA 相比, 该试剂盒检测结果具有很高的可比性, 且简便快速, 是一种良好的检测方法, 适合于临床检验实验室的推广使用^[12]。

本研究结果显示, 女性健康志愿者和其他女性肿瘤患者血清 Her-2/neu 蛋白浓度均在正常范围内; 且两组间以及早期乳腺癌(I~II期)患者间均无统计学差异($P>0.05$)。乳腺癌患者血清 Her-2/neu 蛋白浓度显著高于健康对照组和其他女性肿瘤患者组($P<0.01$)。中晚期乳腺癌(III~IV期)患者血清 Her-2/neu 蛋白浓度明显高于早期乳腺癌组($P<0.01$)。早期及中期乳腺癌(I~III期)患者阳性率较低, IV期患者阳性率较高, 达 50%, 与国外报道基本一致^[5,8,9]。以上研究结果表明, 血清 Her-2/neu 蛋白水平与乳腺癌患者临床分期关系密切。

按免疫组化结果分组后, 各组患者间血清 Her-2/neu 蛋白浓度无明显差异, 以 Her-2 阴性组浓度最高, 为 32.3±56.2ng/ml; ++组浓度最低, 为 17.7±29.2ng/ml。

Her-2 阴性组和+组阳性率较高, 分别为 26.67%和 33.33%; 而 ++ 组和 +++ 组阳性率较低, 分别为 11.11%和 15.38%。以上结果表明, 乳腺癌患者血清 Her-2/neu 蛋白浓度与免疫组化结果并不相关。

转移性乳腺癌患者监测结果显示, 监测数据与患者临床状态变化总体符合率达 82.98%, 病情进展符合率 60%, 病情无进展符合率 93.75%, 表明连续监测血清 Her-2 浓度水平对于转移性乳腺癌患者的疗效评估和预后判断有一定辅助作用。但是, 体外诊断试剂的检测结果仅供参考, 应结合患者临床症状和其他检查结果综合分析, 对患者的病情尽可能作出最准确的判断。

综上所述, 乳腺癌患者血清 Her-2/neu 蛋白浓度与患者的临床分期相关。CLIA 法检测血清 Her-2 浓度对于乳腺癌患者的辅助诊断、临床用药指导以及疗效评估和预后均具有重要作用, 适用于乳腺癌的诊疗, 特别是转移性乳腺癌。由于本研究纳入的病例数较少, 尚待多研究中心、更大样本量研究证实。

参考文献:

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Dai M, Ren JS, Li N, et al. Estimation and prediction on cancer related incidence and mortality in China, 2008 [J]. Chin J Epidemiol, 2012, 33(1): 57-61. [代敏, 任建松, 李霓, 等. 中国 2008 年肿瘤发病和死亡情况估计及预测 [J]. 中华流行病学杂志, 2012, 33(1): 57-61.]
- [3] Bargmann CI, Hung MC, Weinberg RA. The neu oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein [J]. Nature, 1986, 319(6050): 226-230.
- [4] Leyland-Jones B, Smith BR. Serum HER2 testing in patients with HER2-positive breast cancer: the death knell tolls [J]. Lancet Oncol, 2011, 12(3): 286-295.
- [5] Papila C, Uzun H, Balci H, et al. Clinical significance and prognostic value of serum sHER-2/neu levels in patients with solid tumors [J]. Med Oncol, 2009, 26(2): 151-156.
- [6] Li HH, Ma F, Zeng X, et al. Comparison of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry assessment for Her-2 status in breast cancer and its relationship to clinicopathological characteristics [J]. Natl Med J China, 2011, 91(2): 76-80. [李慧慧, 马飞, 曾瑄, 等. 乳腺癌 HER-2 的表达与临床病理特征的关系 [J]. 中华医学杂志, 2011, 91(2): 76-80.]
- [7] Ma L, Shi YK, Han XH, et al. Clinical significance of serum human epidermal growth factor receptor 2 of patients with breast cancer [J]. Chin J Lab Med, 2012, 35(2): 190-192. [马丽, 石远凯, 韩晓红, 等. 乳腺癌患者血清中人类表皮生长因子受体 2 检测的临床意义 [J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(2): 190-192.]
- [8] Hayashi N, Nakamura S, Tokuda Y, et al. Serum HER2 levels determined by two methods in patients with metastatic breast cancer [J]. Int J Clin Oncol, 2012, 17(1): 55-62.
- [9] Farzadnia M, Meibodi NT, Shandiz FH, et al. Evaluation of HER2/neu oncoprotein in serum and tissue samples of women with breast cancer: correlation with clinicopathological parameters [J]. Breast, 2010, 19(6): 489-492.
- [10] Data search on food and drug administration [EB/OL]. State Food and Drug Administration, 2012-11-21. Available at: <http://app1.sfda.gov.cn/datasearch/face3/base.jsp>. [进口医疗器械数据查询 [EB/OL]. 国家食品药品监督管理局, 2012-11-21. Available at: <http://app1.sfda.gov.cn/datasearch/face3/base.jsp>]
- [11] Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American society of clinical oncology/college of American pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2007, 25(1): 118-145.
- [12] Li XX, Wang MJ, Han BB, et al. The comparative study on the two reagents of detecting serum Her-2/neu [J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine (Accepted). [李学祥, 王慇杰, 韩彬彬, 等. 两种血清 Her-2/neu 蛋白检测试剂的比较研究 [J]. 标记免疫分析与临床 (已接受).]