

HER2 阳性胃癌临床病理特征分析

江 慧,宋 纯,张桂荣,李 奕,袁 野

(辽宁省肿瘤医院,大连医科大学临床肿瘤学院,辽宁 沈阳 110042)

摘 要:[目的] 分析胃癌 HER2 阳性率,探讨 HER2 阳性胃癌临床病理特征。[方法] 采用免疫组织化学法(IHC)检测 HER2 蛋白表达,采用荧光原位杂交(FISH)检测 HER2 基因扩增。[结果] 110 例胃癌组织 HER2 IHC 阳性率为 6.4%(7/110),FISH 阳性率为 14.5%(16/110)。排除 IHC2+,IHC 与 FISH 检测结果符合率为 96%。HER2 总体阳性率为 10.9%。Lauren 分型肠型胃癌 HER2 阳性率高于混合型 and 弥漫型(18.0% vs 5.0%, $P<0.05$)。WHO 分型管状腺癌 HER2 阳性率高于其他类型(19.3% vs 2.3%, $P<0.05$)。中、高分化胃癌 HER2 阳性率高于低分化胃癌(20.0% vs 5.7%, $P<0.05$)。HER2 阳性率在不同年龄、性别、肿瘤部位、肿瘤大小、淋巴结转移和 TNM 分期胃癌中无统计学差异($P>0.05$)。[结论] 胃癌 HER2 阳性与 Lauren 分型及 WHO 分型、分级有关。

关键词:胃癌;HER2;免疫组织化学法;荧光原位杂交

中图分类号:R735.2 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2014)05-0421-05

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2014.05.A016

Clinicopathological Characteristics of HER2-positive Gastric Cancer

JIANG Hui, SONG Chun, ZHANG Gui-rong, et al.

(Liaoning Cancer Hospital & Institute, Dalian Medical University Clinical Oncology College, Shenyang 110042, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the positive rate of HER2 in gastric cancer and the clinicopathologic characteristics of HER2-positive gastric cancer. [Methods] HER2 expression was detected by immunohistochemistry (IHC). HER2 gene amplification was analyzed by fluorescence in situ hybridization (FISH). [Results] In 110 cases of gastric cancer, positive rates of HER2 IHC and FISH testing were 6.4% (7/110) and 14.5% (16/110) respectively. A coincidence rate of 96% between IHC and FISH results was demonstrated when IHC2+ was excluded. The overall HER2 positive rate was 10.9%. Intestinal type gastric carcinomas by Lauren's classification showed significantly higher HER2 positive rate than that in mixed and diffuse types (18.0% vs 5.0%, $P<0.05$). Tubular adenocarcinoma by WHO classification revealed markedly higher HER2 positive rate than that in others (19.3% vs 2.3%, $P<0.05$). HER2 positive rate in well and moderately differentiated gastric cancer was significantly higher than that in poorly differentiated type (20.0% vs 5.7%, $P<0.05$). There was no statistical differences in HER2 positive rates in gastric cancer subgroups stratified by age, gender, tumor location, tumor size, lymph node metastasis or TNM stages ($P>0.05$). [Conclusion] HER2-positive is associated with Lauren classification and WHO classification/differentiation in gastric cancer.

Key words: gastric cancer; HER2; immunohistochemistry; fluorescence in situ hybridization

人类表皮生长因子受体 2(HER2)是一种原癌基因,调控细胞的生长和分裂,参与多种实体瘤如乳腺癌^[1]、结肠癌^[2]、肺癌^[3]、食管癌^[4]等的发生机制。据报道,约 6%~35%的胃和胃—食管连接部肿瘤存在

HER2 过表达^[5]。一项国际多中心随机对照Ⅲ期临床研究(ToGA 试验)的结果显示,化疗联合针对 HER2 的曲妥珠单抗治疗可延长 HER2 阳性进展期胃癌患者的生存期^[6]。欧洲药品管理局及美国食品药品监督管理局(FDA)先后批准化疗联合使用曲妥珠单抗治疗 HER2 阳性胃及胃—食管连接部癌患者。准确分析 HER2 状态是进展期胃癌 HER2 靶向治疗患者筛选

收稿日期:2013-08-28;修回日期:2013-10-08

基金项目:辽宁省医学高峰建设工程项目(2010077);

辽宁省博士科研启动基金项目(20101059)

通讯作者:宋纯, E-mail: csong88@Aliyun.com

和疗效预测的前提。目前,免疫组织化学(IHC)和荧光原位杂交(FISH)是美国国立综合癌症网络(NC-CN)肿瘤临床实践指南推荐的 HER2 检测方法。本研究采用 IHC、FISH 法分析胃癌组织 HER2 状态,并分析 HER2 阳性胃癌临床病理特征。

1 资料与方法

1.1 标本来源及临床病理资料

2010 年 1 月至 2012 年 12 月于辽宁省肿瘤医院外科接受手术治疗,临床病理资料完整,经病理诊断证实为胃癌,术前未接受过放化疗或分子靶向治疗的 110 例患者的肿瘤组织纳入本研究。所有肿瘤组织经 10%中性福尔马林固定 24~48h 后,石蜡包埋制成蜡块。

患者年龄 26~83 岁,中位年龄 59 岁,其中男性 84 例,女性 26 例。胃上部癌 21 例,胃中部癌 27 例,胃下部癌 62 例。肿瘤最大直径 $\geq 5\text{cm}$ 者 65 例, $<5\text{cm}$ 者 45 例。Lauren 分型肠型 50 例,弥漫型 34 例,混合型 26 例。根据世界卫生组织(WHO)消化系统肿瘤病理学分类与分级,管状腺癌 57 例,乳头状腺癌 10 例,黏液腺癌 18 例,印戒细胞癌 25 例。高分化 6 例,中分化 34 例,低分化 70 例。有淋巴结转移 80 例,无淋巴结转移 30 例。根据第 7 版美国癌症联合会(A-JCC)胃癌 TNM 分期标准,Ⅰ期 17 例,Ⅱ期 18 例,Ⅲ期 59 例,Ⅳ期 16 例。

1.2 HER2 检测

免疫组织化学(IHC):采用 Hercep-Test™ Kits (DAKO) 检测 HER2 蛋白表达。 $5\mu\text{m}$ 厚石蜡切片 60°C 干燥 1h,二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后,将切片置于 0.01mol/L 柠檬酸盐缓冲液($\text{pH } 6.0$)中采用煮沸热修复法进行抗原修复。 $0.3\%\text{H}_2\text{O}_2$ 阻断内源性过氧化物酶 15min,PBS 洗涤 $5\text{min}\times 3$ 次。一抗($1:200$)室温孵育 30min,PBS 洗涤 $5\text{min}\times 3$ 次。二抗室温孵育 30min,PBS 洗涤 $5\text{min}\times 3$ 次。DAB 显色、苏木素复染后 DPX 封片。于 Olympus BX 显微镜下观察,Cannon 相机获取图像。结果判读参照我国《胃癌 HER2 检测指南》^[7]及 ToGA 研究实验^[6]。整张切片、无染色或 $<10\%$ 的肿瘤细胞膜染色为 0; $\geq 10\%$ 肿瘤细胞微弱或隐约可见膜染色为 1+; $\geq 10\%$ 肿瘤细胞有弱到中度完全性或基底侧膜、侧膜染色为 2+; $\geq$

10%肿瘤细胞基底侧膜、侧膜或完全性膜强染色为 3+。0 和 1+为阴性,2+为可疑阳性,3+为阳性。

荧光原位杂交(FISH):采用 PathVysion HER2 DNA probe kit (Vysis/Abbott, Abbott Park, IL, USA)和全自动原位杂交仪 (Thermobrite, NatureGene Corp)检测 HER2 基因是否扩增,具体操作步骤及参数设置按照操作手册及试剂说明书。结果判读参照我国《胃癌 HER2 检测指南》^[7]及 ToGA 研究实验^[6]。选择 HER2 扩增程度最高区域,计算至少连续 20 个肿瘤细胞核中 HER2 信号(红色)和 17 号染色体着丝粒信号(绿色)总数,HER2/CEP17 ≥ 2.2 为 FISH 阳性;HER2/CEP17 <1.8 为 FISH 阴性;若比值在 1.8~2.2 之间时,再计数 20 个细胞核的信号或由另一位病理医师计数,若 HER2/CEP17 ≥ 2.0 判断为 FISH 阳性,HER2/CEP17 <2.0 判断为 FISH 阴性。

HER2 阳性判定标准:IHC3+或 IHC2+/FISH+判定为 HER2 阳性;IHC2+/FISH-,IHC0/1+/FISH+或 IHC0/1+/FISH-判定为 HER2 阴性。

1.3 统计学处理

应用 SPSS17.0 软件,卡方检验分析 HER2 状态与不同临床病理参数间的关系, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HER2 IHC 与 FISH 检测结果的一致性

110 例胃癌标本 HER2 IHC3+(Figure 1)、IHC2+/FISH+共 12 例,阳性率为 10.9% (12/100)。HER2 FISH 阳性(Figure 2)16 例(14.5%),阴性(Figure 3)94 例(85.5%)。HER2 IHC3+ 7 例(6.4%),FISH 均为阳性;IHC2+ 10 例(9.1%),其中 5 例 FISH 阳性(50%);IHC0/1+ 93 例(84.5%),其中 4 例 FISH 阳性(4.3%)(Table 1)。排除 IHC2+,IHC 与 FISH 检测结果符合率为 96%。

2.2 胃癌 HER2 状态及临床病理特征间关系

Lauren 分型肠型胃癌 HER2 阳性率高于混合型和弥漫型(18.0% vs 5.0%, $P<0.05$)。管状腺癌 HER2 阳性率显著性高于其他类型(19.3% vs 2.3%, $P<0.05$),中、高分化胃癌 HER2 阳性率明显高于低分化胃癌(20.0% vs 5.7%)($P<0.05$)。此外,不同年龄、性别、肿瘤部位、大小、淋巴结转移和 TNM 分期胃癌 HER2 阳性率无统计学差异(Table 2)。

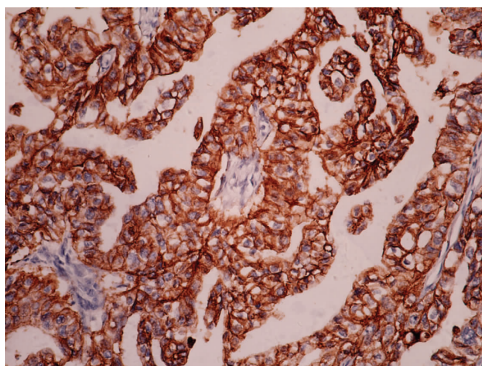


Figure 1 HER2 3+ in gastric cancer with IHC

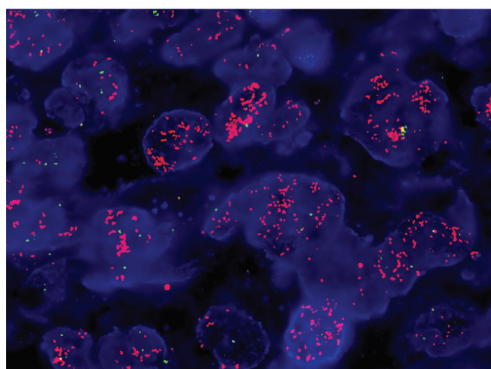


Figure 2 Positive HER2 in gastric cancer with FISH

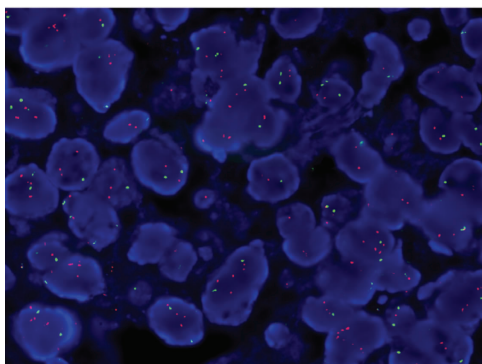


Figure 3 Negative HER2 in gastric cancer with FISH

Table 1 Correlation between HER2 expression and gene amplification

FISH	IHC			Total
	0/1+	2+	3+	
Positive	4	5	7	16
Negative	89	5	0	94
Total	93	10	7	110

3 讨 论

HER2 是胃癌分子靶向治疗的靶点之一, 准确评估 HER2 状态是指导胃癌个体化治疗的前提和基础。但由于研究人群、统计样本量、检测方法学、结果判读标准等因素不尽一致, 研究结果差异较大。本研究使用经 FDA 认证的检测试剂, 按 Hofmann 等人提出并经国际肿瘤学和病理学专家小组论证通过的针对胃癌 HER2 评分系统^[8], 同时使用 IHC 和 FISH 方法分析 110 例胃癌组织, 我们检测到 HER2 IHC3+ 占 6.4%, HER2 总体阳性率为 10.9%, 均低于 ToGA 实验 (HER2 IHC3+ 占 10.1%, HER2 总体阳性率达 22.1%)。结果差异可能与研究群体及样本量有关。近年国内先后 4 项研究分别纳入胃癌患者 69 例、145 例、860 例和 1463 例, HER2 IHC3+ 分别为 5.8%、6.9%、9.0% 和 9.8%^[9-12]。另一项多中心研究 (包括北京、上海、四川、广州) 采用 IHC 结合 FISH 检测, 显示胃癌 HER2 总体阳性率为 13%^[13]。这几项研究的结果与本研究基本一致。对于 HER2 阳性的定义有不同的标准, 包括 HER2 IHC3+ 或 IHC2+/FISH+, HER2 IHC3+ 或 FISH+。研究发现, HER2 低表达 (IHC0/1+), 即使 FISH+ 的胃癌患者联合化疗和曲妥珠单抗治疗, 疗效并不优于单纯化疗。而 HER2 高表达 (IHC2+/3+), FISH+ 的胃癌患者联合化疗和曲妥珠单抗治疗明显优于单纯化疗, 总生存时间明显高于 HER2 低表达患者^[6]。可见, 单纯 FISH 检测结果不能很好地预测曲妥珠单抗疗效。因此, 我们采用了欧洲癌症联盟关于 HER2 阳性定义: HER2 IHC3+ 或 IHC2+/FISH+。此外, 为保证 HER2 检测质量, 专家建议: 排除 IHC2+, IHC 与 FISH 检测结果一致性应 >90%^[14]。本研究中, HER2 IHC3+ 与 FISH+ 符合率 100% (7/7), IHC0/1+ 与 FISH- 符合率为 95.7% (89/93), 总体一致性达 96%, 均符合要求。值得一提的是, ToGA 实验中高达 54.6% HER2 IHC2+ 病例 FISH+, 这部分患者能从曲妥珠单抗治疗中获益。我们也发现 50% IHC2+ 病例 FISH+ (5/10), 为避免遗漏有效人群, 对于 IHC2+ 的胃癌患者, 必须进一步行 FISH 检测, 确认 HER2 基因扩增状态。

本研究还证实 HER2 阳性与胃癌 Lauren 分型显著性相关。肠型胃癌 HER2 阳性率 (18.0%) 明显高于混合型和弥漫型 (5.0%), 与此一致, 国内外多

Table 2 Correlation between HER2 status and clinicopathological features

Clinicopathological features	N	HER2 status		χ^2	P value
		Positive (%)	Negative (%)		
Age at diagnosis(years)					
>45	100	11(11.0)	89(89.0)	0.009	1.000
≤45	10	1(10.0)	9(90.0)		
Gender					
Male	84	10(11.9)	74(88.1)	0.363	0.809
Female	26	2(7.7)	24(92.3)		
Tumor location					
Cardia / fundus	21	1(4.8)	20(95.2)	1.009	0.538
Body /antrum / pylorus	89	11(12.4)	78(87.6)		
Largest diameter of tumor(cm)					
≥5	65	9(13.8)	56(86.2)	1.410	0.381
<5	45	3(6.7)	42(93.3)		
Lauren classification					
Intestinal	50	9(18.0)	41(82.0)	4.742	0.029
Others(mixed ,diffuse)	60	3(5.0)	57(95.0)		
WHO classification					
Tubular adenocarcinoma	57	11(19.3)	46(80.7)	6.686	0.010
Others(papillary adenocarcinoma ,mucious adenocarcinoma , signet-ring cell carcinoma)	43	1(2.3)	42(97.7)		
WHO differentiation					
Well ,moderately	40	8(20.0)	32(80.0)	5.345	0.021
Poorly	70	4(5.7)	66(94.3)		
Lymph node metastasis					
Yes	80	9(11.25)	71(88.75)	0.035	1.000
No	30	3(10.0)	27(90.0)		
TNM stage					
I ~ II	35	3(8.6)	32(91.4)	0.289	0.835
III ~IV	75	9(12.0)	66(88.0)		

项研究表明肠型胃癌 HER2 过表达及基因扩增比例均高于混合型 and 弥漫型^[15-17],提示 HER2 活性增强可能是肠型胃癌发生机制之一。目前,对于 HER2 状态与胃癌 WHO 分型、分级之间的相关性文献报道不一^[18-21]。本研究中管状腺癌 HER2 阳性率(19.3%)显著性高于其他类型(2.3%),中高分化胃癌 HER2 阳性率(20%)明显高于低分化胃癌(5.7%)。因此,对于中、高分化管状腺癌也应重视 HER2 检测。

早发性胃癌(发病年龄≤45 岁)约占所有胃癌的 10%,其发病机制与晚发性胃癌不同,基因表达谱也有差异。在本研究中,检测发现早发性胃癌 HER2 阳性率(10%)稍低于晚发性胃癌(11%),但无统计学意义。然而有研究显示采用 IHC 和显色原位杂交(CISH)法研究 108 例早发性胃癌,早发性胃癌 HER2 过表达(0%)与基因扩增率(2%)均低于晚发性胃癌(分别为 8%,7%)^[22]。取材不一样可能是导致

差异的原因之一。

近年来,近端胃癌发病率有升高趋势,其临床、生物学行为和其他部位胃癌不同。本研究中胃上部癌(包括贲门、胃底部)HER2 阳性率低于胃中、下部癌(4.8% vs 12.4%),但无统计学意义。大部分文献报道 HER2 表达或基因扩增与肿瘤位置无关^[23,24]。然而,早期 Pinto 等人的研究结果则相反,HER2 过表达更常见于贲门(23.8%)和胃体(25.0%),明显高于胃窦部(7.2%)^[25]。这种差异可能与本研究人群近端胃癌比例少有关。

除了预测曲妥珠单抗疗效外,HER2 与胃癌转移及预后之间的关系也受到很多关注。与大部分文献一致,本研究结果显示 HER2 状态与肿瘤大小、淋巴结转移、TNM 分期无关。考虑到肠型胃癌 HER2 阳性率相对较高,不排除 HER2 与某种组织学类型如肠型胃癌的发展(侵袭、转移)有关,这将是我们的

后的研究方向。

综上所述,本研究分析了110例胃癌组织HER2状态,HER2 IHC阳性率为6.4%,50% IHC2+显示FISH阳性,IHC和FISH检测结果一致性达96%,HER2总体阳性率为10.9%。18%肠型胃癌(Lauren分型)HER2阳性,19.3%管状/乳头状腺癌(WHO分型)HER2阳性,中、高分化胃癌HER2阳性率高于低分化胃癌(20% vs 5.7%)。HER2阳性与胃癌Lauren分型及WHO分型、分级有关。

参考文献:

- [1] Kaptain S,Tan LK,Chen B. Her-2/neu and breast cancer [J]. Diagn Mol Pathol,2001,10(3):139-152.
- [2] Schuell B,Gruenberger T,Scheithauer W,et al. HER2/neu protein expression in colorectal cancer[J]. BMC Cancer,2006,6:123.
- [3] Hirashima N,Takahashi W,Yoshii S,et al. Protein overexpression and gene amplification of c-erbB-2 in pulmonary carcinomas:a comparative immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study[J]. Mod Pathol,2001,14(6):556-662.
- [4] Reichelt U,Duesedau P,Tsourlakis MCh,et al. Frequent homogenous HER-2 amplification in primary and metastatic adenocarcinomas of the esophagus [J]. Mod Pathol,2007,20(1):120-129.
- [5] Gravalos C,Jimeno A. HER2 in gastric cancer:a new prognostic factor and a novel therapeutic target[J]. Ann Oncol,2008,19(9):1523-1529.
- [6] Bang YJ, Van Cutsem E,Feyereislova A,et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA):a phase 3, open-label, randomised controlled trial[J]. Lancet,2010,376(9742):687-697.
- [7] Guideline Recommendations for HER2 Detection in Gastric Cancer Group. Guidelines for HER2 detection in gastric cancer [J]. Chin J Pathol,2011,40(8):553-557. [《胃癌HER2检测指南》编写组. 胃癌HER2检测指南[J]. 中华病理学杂志,2011,40(8):553-557.]
- [8] Hofmann M,Stoss O,Shi D,et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer:results from a validation study[J]. Histopathology,2008,52(7):797-805.
- [9] Wu HM,Liu YH,Lin F,et al. Association of HER2 protein expression with clinicopathologic features and prognosis in Chinese patients with gastric carcinoma[J]. Chin J Pathol,2011,40(5):296-299. [武鸿美,刘艳辉,林锋,等. 中国胃癌患者HER2蛋白表达与临床病理学参数及预后的关系[J]. 中华病理学杂志,2011,40(5):296-299.]
- [10] Yan SY,Hu Y,Fan JG,et al. Clinicopathologic significance of HER-2/neu protein expression and gene amplification in gastric carcinoma[J]. World J Gastroenterol,2011,17(11):1501-1506.
- [11] Wang YK,Gao CF,Yun T,et al. Assessment of ERBB2 and EGFR gene amplification and protein expression in gastric carcinoma by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization [J]. Mol Cytogenet,2011,4(1):14-19.
- [12] Shan L,Ying J,Lu N. HER2 expression and relevant clinicopathological features in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma in a Chinese population[J]. Diagn Pathol,2013,8:76.
- [13] Sheng WQ,Huang D,Ying JM,et al. HER2 status in gastric cancers:a retrospective analysis from four Chinese representative clinical centers and assessment of its prognostic significance[J]. Ann Oncol,2013,24(9):2360-2364.
- [14] Rüschoff J,Hanna W,Bilous M,et al. HER2 testing in gastric cancer:a practical approach[J]. Mod Pathol,2012,25(5):637-650.
- [15] Hechtman JF,Polydorides AD. HER2/neu gene amplification and protein overexpression in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma:a review of histopathology,diagnostic testing,and clinical implications[J]. Arch Pathol Lab Med,2012,136(6):691-697.
- [16] Tafe LJ,Janjigian YY,Zaidinski M,et al. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in gastroesophageal cancer:correlation between immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization [J]. Arch Pathol Lab Med,2011,135(11):1460-1465.
- [17] Kim KC,Koh YW,Chang HM,et al. Evaluation of HER2 protein expression in gastric carcinomas:comparative analysis of 1414 cases of whole-tissue sections and 595 cases of tissue microarrays[J]. Ann Surg Oncol,2011,18(10):2833-2840.
- [18] Lee KE, Lee HJ, Kim YH,et al. Prognostic significance of p53,nm23,PCNA and c-erbB-2 in gastric cancer[J]. Jpn J Clin Oncol,2003,33(4):173-179.
- [19] Yu GZ,Chen Y,Wang JJ. Overexpression of Grb2/HER2 signaling in Chinese gastric cancer:their relationship with clinicopathological parameters and prognostic significance [J]. J Cancer Res Clin Oncol,2009,135(10):1331-1339.
- [20] Song HS,Do YR,Kim IH,et al. Prognostic significance of immunohistochemical expression of EGFR and C-erbB-2 oncoprotein in curatively resected gastric cancer [J]. Cancer Res Treat,2004,36(4):240-245.
- [21] Wang YY,Ye ZY,Zhao ZS,et al. ADAM 10 is associated with gastric cancer progression and prognosis of patients [J]. J Surg Oncol,2011,103(2):116-123.
- [22] Moelans CB,Milne AN,Morsink FH,et al. Low frequency of HER2 amplification and overexpression in early onset gastric cancer[J]. Cell Oncol (Dordr),2011,34(2):89-95.
- [23] Marx AH,Tharun L,Muth J,et al. Her-2 amplification is highly homogenous in gastric cancer[J]. Hum Pathol,2009,40(6):769-777.
- [24] Zhang XL,Yang YS,Xu DP,et al. Comparative study on overexpression of Her2/neu and HER3 in gastric cancer [J]. World J Surg,2009,33(10):2112-2118.
- [25] Pinto-de-Sousa J,David L,Almeida R,et al. c-erbB-2 expression is associated with tumor location and venous invasion and influences survival of patients with gastric carcinoma[J]. Int J Surg Pathol,2002,10(4):247-256.