

血清人表皮生长因子受体 2 水平在乳腺肿瘤诊断与治疗中的应用

王璐¹, 沈国栋¹, 顾朋颖¹, 张永², 欧阳欢³, 胡世莲¹

[1. 中国科学技术大学附属第一医院南区(安徽省立医院南区)老年医学科, 合肥 230036; 2. 蚌埠医科大学第一附属医院; 3. 安徽医科大学第一附属医院普外科]

[摘要] **目的** 探讨患者血清人表皮生长因子受体 2(HER2)水平的检测在乳腺肿瘤诊断与治疗中的临床意义。**方法** 运用课题组前期研制的用于检测人血清中 HER2 含量的 ELISA 试剂盒对参与者血清样本进行检测。**结果** 乳腺包块患者、早期乳腺癌患者以及转移性乳腺癌患者血清中的 HER2 水平明显高于健康对照组($P < 0.05$)。对于转移性乳腺癌患者,术后未用曲妥珠单抗治疗的患者血清 HER2 水平明显高于术后使用曲妥珠单抗治疗的患者。病理结果显示 HER2 阳性且术后化疗的患者行多次血清检测,发现血清 HER2 值与临床肿瘤标志物癌胚抗原水平之间呈现正相关($P < 0.05$)。**结论** 检测血清 HER2 水平对乳腺疾病临床诊断有较好的价值,同时可以用于评价曲妥珠单抗对乳腺肿瘤的治疗效果。

[关键词] 乳腺肿瘤;基因,erbB-2;酶联免疫吸附测定;曲妥珠单抗

DOI:10.3969/J.issn.1672-6790.2020.06.024

The application of serum level of HER2 in the diagnosis and treatment of breast cancer Wang Lu^{*}, Shen Guodong, Gu Pengyin, Zhang Yong, Ouyang Huan, Hu Shilian(^{*} Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China, Hefei 230036, China)

Corresponding author: Hu Shilian, Email: hushilian@126.com

[Abstract] **Objective** To explore the clinical significance of serum HER2 level in the diagnosis and treatment of breast cancer. **Methods** The specific ELISA kit developed by our research group earlier was used to measure the serum HER2 levels. All the results were analyzed by corresponding statistical methods. **Results** The serum HER2 level in patients with breast lump, early-stage breast cancer and metastatic breast cancer was significantly higher than those in healthy control group ($P < 0.05$). In metastatic breast cancer patients, the serum level of HER2 in these without Herceptin treatment was significantly higher than those with Herceptin treatment after surgery. Additionally, in HER2-positive with Herceptin treatment patients, a positive correlation between serum HER2 levels and the level of tumor marker CEA was observed. **Conclusion** The serum level of HER2 may provide clinical significance in the diagnosis of breast lumps and cancer, moreover serum HER2 monitoring could be used to evaluate the therapeutic effect of Herceptin in the patients with breast cancer.

[Keywords] Breast neoplasms; Genes, erbB-2; Enzyme-Linked immunosorbent assay; Trastuzumab

在我国女性中,乳腺癌是最常见的恶性肿瘤,其发病率的增长速度超过了世界平均增长水平。据报道,2011 年我国城市女性人群乳腺癌发病是 46.74/10 万,死亡率是 10.14/10 万,分别排位在女性癌症发病率及死亡率的第 1 位和第 5 位,这些数据提示乳腺癌已成为危害我国女性人群健康的首要杀手,严重威胁着女性的生命健康^[1]。目前临床上对肿

瘤的病程以及预后主要依据肿瘤体积和组织学分级,病理学分级和肿瘤转移状况等。最近分子诊断技术对乳腺癌的诊断和预后检测越来越重要,有研究发现,25%~30% 的浸润性乳腺癌患者有人表皮生长因子受体 2(HER2)基因扩增或蛋白过表达^[2],提示着 HER2 为乳腺癌诊断和治疗提供了一个方向。

基金项目: 安徽省科技厅科技攻关项目(1501041142);安徽省重点实验室绩效项目(2018080503B0031)

作者简介: 王璐,住院医师,Email: wanglu170417@163.com

通信作者: 胡世莲,主任医师,博士生导师,Email: hushilian@126.com

研究证实在人 17 号染色体 q21 位置上发现了鼠 neu 基因的同源物,它被命名为 HER2/neu(erbB-2),其编码了一个分子量为 185 kDa 的跨膜受体酪氨酸激酶。HER2 蛋白是一个跨膜受体,其中包括胞外段、跨膜区域段及胞内的络氨酸激酶区域段。HER2 基因扩增与细胞分化、局部及远处转移、迁移、减少细胞凋亡、加快血管发生、肿瘤侵袭、局部及远处转移密切相关。HER2 在乳腺癌、胃癌及非小细胞肺癌等多种肿瘤中高表达,检测肿瘤组织 HER2 表达水平已作为一个独立指标用于肿瘤的临床诊断和治疗中^[3-4]。用免疫组织化学和荧光原位杂交的方法对侵袭性早期乳腺癌的患者的肿瘤组织进行检测,有 20%~25% 的患者 HER2 高表达。虽然用于检测组织中 HER2 的方法准确性较强,但这些传统的 HER2 检测主要通过检测肿瘤组织,具有一定的创伤性而且不适用于手术后检测和多次监测患者体内 HER2 的水平变化。现大量研究表明,整体的 HER2 其胞外区域段 ECD 片段(p97-115 kDa)可从细胞表面脱落进入血液循环中,其基础值的高低及其 HER2 水平的变化不仅可以预测患者对治疗的反应程度、无病生存期、病理完全缓解期等等,而且可以比临床上提前 2~3 个月诊断乳腺癌的发生。由此可见监测乳腺癌患者血清中 HER2 水平对临床中肿瘤的诊断和治疗有着重要的意义^[5-6]。但目前国内尚缺乏高灵敏检测血清 HER2 的试剂盒,且监测乳腺癌患者病程中 HER2 水平变化的研究很少。

本研究使用课题组前期研制的用于检测高灵敏血清 HER2 水平的 ELISA 试剂盒(专利号:ZL201610695316.6),为乳腺癌的诊断和疗效评估提供依据,同时也为临床应用奠定基础。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取中国科学技术大学附属第一医院肿瘤科、乳腺外科及体检中心,安徽医科大学第一附属医院检验科及蚌埠医科大学第一附属医院乳腺外科于 2013 年 1 月至 2014 年 12 月的研究对象共 186 例。186 例包括:20 例健康体检者、67 例乳腺包块患者(包括乳腺增生、良性纤维腺瘤)、40 例早期乳腺癌患者(即根据 TNM 分期的 I—II 期患者)及 59 例转移性乳腺癌患者(即根据 TNM 分期的 III—IV 期患者),研究对象均为女性,年龄为 30~70 岁,四组年龄构成比相同,收集患者晨间空腹血清标本,获取病例资料,所有患者签署知情同意书。

1.2 实验仪器 用于检测人血清 HER2 含量的 ELISA 试剂盒(专利号:ZL201610695316.6,临界值:10 $\mu\text{g/L}$);单人超净工作台(中国苏州净化公司产);台式低速离心机(美国 Beckman 公司产);4 $^{\circ}\text{C}$ 、-20 $^{\circ}\text{C}$ 、-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱(德国 Siemens 公司产);ELX-800 酶标仪(美国 BIO-TEK 公司产);振荡器(中国江苏金城国胜实验仪器厂产);台式高速离心机(美国 Beckman 公司产);4 $^{\circ}\text{C}$ 高速离心机(美国 Beckman 公司产);FA1104 型电子分析天平(中国上海精密科学仪器有限公司产)。

1.3 酶联免疫吸附试验(ELISA) 用 100 μL 的 E9-Sc 或曲妥珠单抗铺板,放 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下用 300 μL 的 5% 的牛血清白蛋白(BSA)封闭 1 h。用 T-PBS 洗板 3 次后加梯度稀释的抗原,每孔 100 μL 。(标准品:梯度稀释的 ECD;稀释的血清样品),放在常温中振荡 1 h。用 T-PBS 洗板 3 次后加入稀释的 Biotin-A18 抗体 100 μL ,常温下振荡 1 h。用 T-PBS 洗板 3 次后加入稀释的辣根过氧化物酶,每孔 100 μL ,常温下振荡 30~40 min。用 T-PBS 洗板 3 次后每孔加入 100 μL TMB 或 OPD 显色液 100 μL ,避光显色,注意观察颜色变化。适时的用 1M 硫酸终止反应。用酶标仪在 450 nm 或 490 nm 的条件下显色。

1.4 统计学处理 使用 SPSS 22.0 处理数据。观测资料中的计量数据,均通过正态性检验,以 $\bar{x} \pm s$ 描述。两组间的比较为成组 t 检验或校正 t 检验(统计量为 t)。多组间的比较为单因素方差分析(统计量为 F) + 两两比较 $HSD-q$ 检验(统计量 $HSD-q$)。此外,相关分析为 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术前各类样本血清 HER2 水平比较 健康对照组的血清 HER2 水平明显低于乳腺包块组、早期乳腺癌组以及转移性乳腺癌组,其差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同治疗方案的患者术后血清 HER2 水平比较 病理结果显示:HER2 阳性且术后化疗的患者共 56 例(37 例来自早期乳腺癌组,19 例来自转移性乳腺癌组)。对发生术后转移的患者追踪观察发现:术后未用曲妥珠单抗治疗的患者其血清 HER2 平均值[(10.92 $\pm$ 6.4) $\mu\text{g/L}$]明显高于用曲妥珠单抗治疗的患者[5.13 $\pm$ 0.52 $\mu\text{g/L}$],差异有统计学意义($t = 4.771, P < 0.001$)。

表 1 各组的血清 HER2 水平($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	例数	HER2 水平
A 组	20	2.12 $\pm$ 0.78
B 组	67	7.51 $\pm$ 2.63
C 组	40	7.00 $\pm$ 2.49
D 组	59	34.26 $\pm$ 10.03
B vs. A(<i>HSD-q</i> 值, <i>P</i> 值)		5.975, 0.008
C vs. A(<i>HSD-q</i> 值, <i>P</i> 值)		5.406, 0.009
D vs. A(<i>HSD-q</i> 值, <i>P</i> 值)		35.601, <0.001
C vs. B(<i>HSD-q</i> 值, <i>P</i> 值)		0.569, 0.585
D vs. B(<i>HSD-q</i> 值, <i>P</i> 值)		29.626, <0.001
D vs. C(<i>HSD-q</i> 值, <i>P</i> 值)		30.195, <0.001

注:HER2 为人表皮生长因子受体 2;A 为健康对照组,B 为乳腺包块组,C 为早期乳腺癌组,D 为转移性乳腺癌组;整体比较为单因素方差分析, $F = 291.919, P < 0.001$;多重比较为 *HSD-q* 检验

2.3 术后化疗患者的 HER2 水平与癌胚抗原(CEA)的相关性 对病理结果显示 HER2 阳性且术后化疗中的 7 位患者血清行多次检测,分析发现其中有 5 位患者血清 HER2 的水平与 CEA 呈正相关($r = 0.496, P < 0.001$),与 CA153 无相关性($r = 0.204, P = 0.135$)。

3 讨论

目前尚缺乏统一的无创性乳腺疾病早期诊断和疗效评价方法。本研究使用了团队专利 HER2 高灵敏试剂盒,发现转移性及早期乳腺癌以及乳腺包块患者血清中的 HER2 水平较健康者均明显升高。在转移性乳腺癌患者中,术后未用曲妥珠单抗治疗者的血清 HER2 水平明显高于术后使用曲妥珠单抗治疗的患者,同时也发现血清 HER2 值与临床肿瘤标志物之间呈现正相关性。该研究表明检测血清 HER2 水平对乳腺疾病的诊断有较好的临床价值,同时可以用于评价曲妥珠单抗对乳腺肿瘤的治疗效果。

研究发现在胃癌、非小细胞肺癌、卵巢癌以及其他癌症患者及心力衰竭的患者中均有血清 HER2 升高,而且在这些患者的唾液中也检测到了可溶性 HER2 的存在,并指出 HER2 水平在这些疾病诊断与治疗中有重要意义^[3,4,7-8]。有研究^[9]发现,约 18.5% 的早期乳腺癌及 43% 的转移性乳腺癌患者有血清胞外段可溶性的 HER2 升高。本研究进一步发现乳腺包块患者、早期乳腺癌患者及转移性乳腺癌患者的血清 HER2 较健康人有明显升高。王新乐等^[10]用曲妥珠单抗辅助治疗 HER2 阳性晚期转移性乳腺癌患者发现,治疗前血清 HER2 水平明显

高于治疗 1 年后 HER2 水平,另外还发现血清 HER2 水平与治疗效果呈负相关关系。本研究中发现,乳腺癌术后使用曲妥珠单抗治疗的患者血清中 HER2 水平明显低于未用曲妥珠单抗的患者,还发现血清中 HER2 水平与 CEA 呈正相关,这些发现均表明血清 HER2 可以用于乳腺疾病的早期诊断和疗效评估,同时可以用于评价曲妥珠单抗对乳腺肿瘤的治疗效果。

参考文献

[1] 冯小伟,叶兆祥. 乳腺癌筛查的现状与进展[J]. 国际医学放射学杂志,2012,35(2): 131-134.

[2] BILICI A, SELCUKBIRICIK F, DEMIR N, et al. Modified docetaxel and cisplatin in combination with capecitabine (DCX) as a first-line treatment in HER2-negative advanced gastric cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014,15(3): 8661-8666.

[3] KANAYAMA K, IMAI H, USUGI E, et al. Association of HER2 gene amplification and tumor progression in early gastric cancer[J]. Virchows Arch, 2018,473(5): 559-565.

[4] OH D Y, BANG Y J. HER2-targeted therapies - a role beyond breast cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2020, 17(1): 33-48.

[5] LAM L, CZERNIECKI B J, FITZPATRICK E, et al. Interference-Free HER2 ECD as a Serum Biomarker in Breast Cancer[J]. J Mol Biomark Diagn, 2014,4(3): 151.

[6] CONNELL C M, DOHERTY G J. Activating HER2 mutations as emerging targets in multiple solid cancers[J]. ESMO Open, 2017,2(5): e000279. DOI: 10.1136/esmoopen-2017-000279.

[7] WITZEL I, LOIBL S, VON MINCKWITZ G, et al. Predictive value of HER2 serum levels in patients treated with lapatinib or trastuzumab—a translational project in the neoadjuvant GeparQuinto trial[J]. Br J Cancer, 2012,107(6): 956-960.

[8] LIM S W, KIM H R, KIM H Y, et al. Over-expression of Her-2 in colorectal cancer tissue, but not in serum, constitutes an independent worse prognostic factor[J]. Cell Oncol (Dordr), 2013,36(4): 311-321.

[9] CARNEY W P, NEUMANN R, LIPTON A, et al. Potential clinical utility of serum HER-2/neu oncoprotein concentrations in patients with breast cancer[J]. Clin Chem, 2003,49(10): 1579-1598.

[10] 王新乐, 张文进, 张璁, 等. 曲妥珠单抗治疗 HER-2 阳性乳腺癌患者的临床疗效[J]. 中国卫生标准管理, 2018,9(21): 72-74.

(收稿日期:2020-05-19)