

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.02.019

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20191226.0842.002.html>(2019-12-27)

胃癌组织 Her-2 的表达及其临床意义的研究

高淳, 王志强, 邵俊[△]

(上海交通大学医学院附属同仁医院普外科, 上海 200336)

[摘要] **目的** 探讨胃癌组织人类表皮生长因子受体 2(Her-2)mRNA 及蛋白水平的表达情况及其与临床病理特征的相关性。**方法** 分析该院收治确诊的 76 例胃癌患者,免疫组织化学染色(IHC)检测 Her-2 蛋白表达情况,实时荧光定量 PCR(qPCR)检测 Her-2 mRNA 表达情况。分析 Her-2 蛋白和 mRNA 表达与临床病理特征的关系,并进一步分析 Her-2 蛋白和 mRNA 表达的相关性。**结果** Her-2 蛋白表达与 TNM 分期有相关性($P < 0.05$),而与患者年龄、性别和病理类型无相关性($P > 0.05$)。Her-2 mRNA 表达和 TNM 分期、淋巴结转移和病理分化程度均有相关性($P < 0.05$)。同时,在淋巴结转移与 TNM 分期分析时,Her-2 蛋白和 mRNA 表达具有相关性($P < 0.05$)。**结论** Her-2 mRNA 表达可以作为评估胃癌恶性程度的诊断指标,且其与胃癌临床病理指标相关性优于 Her-2 蛋白水平。

[关键词] 胃肿瘤;基因,erbB-2;受体,erbB-2;诊断**[中图分类号]** R44**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)02-0248-04

Study on the expression of Her-2 in gastric cancer and its clinical significance

GAO Chun, WANG Zhiqiang, SHAO Jun[△]

(Department of General Surgery, Tongren Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200336, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between human epidermal growth factor receptor 2 (Her-2)mRNA and protein expression in gastric cancer and its correlation with clinicopathological features. **Methods** A total of 76 patients with gastric cancer were analyzed. The expression of Her-2 protein was detected by immunohistochemical staining (IHC), and the expression of Her-2 mRNA was detected by real-time quantitative PCR (qPCR). The relationship between Her-2 protein and mRNA expression and clinicopathological features was analyzed, and the correlation between protein and mRNA expression was further analyzed. **Results** Her-2 protein expression was significantly associated with TNM stage ($P < 0.05$), there was no correlation with age, gender and pathological type ($P > 0.05$). There was a significant correlation between mRNA expression and lymph node metastasis, pathological differentiation and TNM stage ($P < 0.05$). At the same time, Her-2 protein and mRNA expression were correlated in lymph node metastasis and TNM staging analysis ($P < 0.05$). **Conclusion** Her-2 mRNA expression can be used as an index to evaluate the malignant degree of gastric cancer, and its correlation with clinicopathological parameters of gastric cancer is better than Her-2 protein level.

[Key words] stomach neoplasms; genes, erbB-2; receptor, erbB-2; diagnosis

胃癌是全球范围内威胁人类健康的杀手,是全球第 5 高发癌症,同时其病死率为全球第 3 位^[1]。胃癌高发于亚洲东部和南美。近年来,大部分国家胃癌的发病率和病死率呈现下降趋势^[2],但我国 2015 年仍有约 67.9 万人确诊为胃癌,死亡人数约 49.8 万^[3]。2018 年,我国癌症中心公布数据显示:在男性发病比

例中,胃癌高居第 2 位,病死率位列第 3 位;女性胃癌发病率位列第 4,病死率高居第 2。其中不良饮食结构、不健康的生活饮食习惯、慢性幽门螺旋杆菌感染可能是胃癌高发的危险因素。

目前,临床主要用 TNM 分期来对胃癌进行系统性的临床分级,并用于预测临床患者的生存期。但

TNM 分期在临床不同患者的具体应用展现出的结果各有不同,因此 TNM 分期无法准确地作为胃癌患者的临床诊断标志物。

人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, Her-2) 是表皮生长因子受体家族成员之一,该家族还包括 Her-1、Her-3、Her-4 这 3 个成员,是致癌基因 C-erbB-2/neu 的产物。Her-2 与细胞生长、凋亡、增殖、分化及血管生成密切相关^[4]。目前,在多种不同的恶性肿瘤中已经检测到 Her-2 基因。其中,研究最多的是乳腺癌,同时胃癌患者中也检测到 Her-2 的表达。

目前,在胃癌组织 Her-2 的检测主要采用 IHC 法和荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 检测 Her-2 蛋白的表达。但不同的研究显示 Her-2 蛋白的表达和胃癌患者的临床病理特征之间的相关性并没有明确统一的观点,表明 Her-2 蛋白的检测存在其局限性^[5]。因此,本研究将分析 Her-2 mRNA 和蛋白表达之间的相关性,并进一步分析 Her-2 mRNA 表达和胃癌患者临床病理特征的相关性,从而为胃癌的临床诊断提供新思路和新方法,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 2 月至 2019 年 2 月本院接诊并确诊为胃癌的 76 例患者作为研究对象。纳入标准:入院前未进行辅助化疗及靶向 Her-2 药物治疗。排除标准:合并肺癌、肠癌、肝癌等恶性肿瘤患者。76 例患者中,男 50 例,女 26 例,男女比为 1.92 : 1,年龄 45~71 岁,中位 61 岁。根据国际抗癌联盟 (union for international cancer control, UICC) 2003 年发布的肿瘤转移分期 (TNM 分期) 分为 4 期,其中 I 期 12 例、II 期 21 例、III 期 35 例、IV 期 8 例。根据乳腺癌组织学 (Scarff-Bloom-Richardson, SBR) 分级标准,将胃癌组织病理分化程度分为 3 类,其中高分化 32 例、中分化 21 例、低分化 23 例。患者标本的处理及分析均为本院具有资深病理工作经验的医师完成,以《胃癌 Her-2 检测指南 (2016 版)》为评分标准^[7]。

1.2 方法

1.2.1 IHC 检测 Her-2 蛋白表达

胃癌组织经中性甲醛固定后,切片机进行切片并封固。随后,二甲苯法脱蜡,再进行热修复抗原。3% 过氧化氢封闭 10 min,封闭内源性过氧化物酶;0.1% TBST 漂洗玻片 3 次后用含 1% BSA 的 TBS 室温封闭 2 h。随后,按照 1 : 500 比例孵育抗 Her-2 一抗 (重组抗 ErbB 2 抗体, ab222482, 美国 Abcam 公司), 4 °C 孵育过夜。0.1% TBST 漂洗玻片 3 次;按照 1 :

1 000 比例孵育辣根过氧化物酶 (HRP) 标记抗兔二抗 (山羊抗兔 IgG H&L HRP, ab6721, 美国 Abcam 公司), 室温 1 h。DAB 显色,苏木素复染,脱水并封固。

1.2.2 实时荧光定量 PCR (qPCR) 检测 Her-2 mRNA 表达

胃癌组织用 Trizol 法,提取 RNA 后 (操作方法见说明书),采用 Takara 一步法进行 Her-2 mRNA 荧光定量 PCR 检测。qPCR 反应条件为反转录:42 °C, 5 min;95 °C, 10 s。PCR:95 °C 变性 5 s, 60 °C 复性 30 s, 循环 40 次。qPCR 体系 (25 μL): 2 × 反应缓冲液 12.5 μL、酶 0.5 μL、TaKaRa Ex Taq HS 0.5 μL、特异性引物各 0.5 μL、RNA 2 μL、ddH₂O 8.5 μL。Her-2 相对定量计算采用 2^{-ΔΔCt} 法,其特异性扩增引物见表 1。

表 1 Her-2 qPCR 特异性引物

基因		引物序列
Her-2	正向	5'-GCCCTCATCCACCATAACACC-3'
	反向	5'-CATTCTCCACGCACTCTCTG-3'
GAPDH	正向	5'-TGGTCTACATGTTCCAGTACT-3'
	反向	5'-CCATTTGATGTTAGCGGGATCTC-3'

1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用方差分析或 Pearson 相关性检验;计数资料以频数或百分率表示,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 Her-2 蛋白在胃癌组织中表达分析

76 例胃癌患者中,Her-2 表达阳性患者 (IHC 3+) 19 例,占比为 25.0%;Her-2 (2+) 患者 15 例,占比 19.7%;Her-2 (+) 患者 12 例,占比 15.7%;Her-2 (0) 表达 30 例,占比 39.4%。Her-2 蛋白阳性表达与患者年龄、性别、病理类型及淋巴结转移情况和病理分化程度均无相关性仅与 TNM 分期有关 ($P < 0.05$),见表 2。

2.2 Her-2 mRNA 在胃癌组织中表达分析

Her-2 mRNA 水平表达分析显示,其与患者年龄、性别和病理类型无相关性 ($P > 0.05$),而与淋巴结转移情况、病理分化程度及 TNM 分期有相关性 ($P < 0.05$),见表 2。

2.3 Her-2 蛋白和 mRNA 表达水平相关性分析

Her-2 蛋白水平只与 TNM 分期有相关性 ($P < 0.05$),而 Her-2 mRNA 水平则与 TNM 分期、淋巴结转移和分化程度均有相关性 ($P < 0.05$)。对淋巴结转移与 TNM 分期进行分析发现 Her-2 蛋白和 mRNA 表达具有相关性 ($P < 0.05$),见表 3。

表 2 胃癌组织 Her-2 蛋白和 mRNA 水平表达分析及其与临床病理学特征关系

项目	n	Her-2(n)				χ^2	P	Her-2 mRNA ($\bar{x} \pm s$)	χ^2	P
		0	+	++	+++					
年龄	76	30	12	15	19	4.951	0.175		0.931	0.461
>60 岁	47	22	8	6	11			0.61±0.23		
≤60 岁	29	8	4	9	8			0.57±0.20		
性别						4.673	0.197			
男	50	24	7	9	10			0.59±0.18	1.764	0.352
女	26	6	5	6	9			0.57±0.21		
病理类型						5.025	0.541			
隆起型	9	3	2	3	1			0.51±0.20	2.124	0.457
溃疡型	35	15	7	4	9			0.64±0.32		
浸润型	32	12	3	8	9			0.60±0.23		
淋巴结转移						2.522	0.471		4.137	0.014
是	46	16	9	8	13			0.69±0.33		
否	30	14	3	7	6			0.58±0.19		
分化程度						9.717	0.137			
高	32	9	7	6	10			0.68±0.13	5.135	0.035
中	21	8	5	5	3			0.57±0.21		
低	23	13	0	4	6			0.50±0.14		
TNM 分期						24.742	0.003		8.432	0.001
I 期	12	8	3	0	1			0.49±0.11		
II 期	21	12	3	4	2			0.53±0.19		
III 期	35	10	6	9	10			0.61±0.24		
IV 期	8	0	0	2	6			0.71±0.23		

表 3 Her-2 蛋白和 mRNA 表达水平相关性分析

项目	Her-2 蛋白		Her-2 mRNA		Her-2 蛋白与 mRNA	
	r	P	r	P	r	P
TNM 分期	0.458	<0.01	0.562	<0.01	0.672	<0.01
淋巴结转移	-0.156	0.165	0.453	<0.01	0.342	<0.01
分化程度	-0.076	0.287	0.328	<0.01	-0.435	0.158

3 讨论

Her-2 在多种肿瘤中均有表达,其中最常见的是乳腺癌,约超过 30% 的乳腺癌病例伴随着 Her-2 高表达,且 Her-2 阳性发生恶性肿瘤的概率明显高于 Her-2 阴性患者。Her-2 基因和蛋白表达增加与多种癌症的发生有密切关系,如乳腺癌^[8-9]、胃癌^[10]、子宫颈癌和食道癌^[11]。

Her-2 的检测被应用于乳腺癌及胃癌,有研究显示胃癌患者中 Her-2 阳性率为 7.3%~20.2%。但目前 IHC 检测 Her-2 蛋白表达有其局限性和不足,考虑原因如下:(1) Her-2 蛋白表达阳性判断标准 IHC

(3+),但 IHC(2+)标本无法判断其阳性,因此需要 FISH 进行确认,增加了操作时间和复杂性^[12-13]。(2)胃癌中 Her-2 表达的异质性导致 IHC 和 FISH 判断的差异性。(3)时限性,IHC 判断需要大量标本进行比对以判断患者 TNM 分期^[14]。

本研究通过 qPCR 法检测胃癌组织中 Her-2 mRNA 的表达,同时,采用 IHC 检测其 Her-2 蛋白表达。经统计学分析发现,Her-2 蛋白水平表达仅与 TNM 分期有关($P=0.003$);而 mRNA 水平表达则与淋巴结转移情况、病理分化程度及 TNM 分期均有相关性($P<0.05$)。此外,本研究分析胃癌组织 Her-2 mRNA 和蛋白表达之间的相关性,发现在 TNM 分期和淋巴结转移病理特征中,Her-2 蛋白和 mRNA 水平存在相关性($P<0.05$),证明 Her-2 mRNA 的表达和胃癌的临床病例特征相关性更强,Her-2 mRNA 可作为胃癌的 1 个临床诊断分子标记物。

有报道显示全球胃癌 Her-2 阳性率为 3.7%~20.2%,我国胃癌 Her-2 阳性率为 12.0%^[6,15]。各个国家和地区胃癌 Her-2 阳性率存在较大差异。目前,针对胃癌患者 Her-2 的靶向治疗药物——曲妥珠单抗在胃癌晚期患者展现出了有效性和安全性^[6,16]。但

Her-2 的靶向治疗需明确胃癌患者组织中 Her-2 表达变化情况。鉴于目前 FISH 对 Her-2 检测阳性率的较大差异,因此本研究采用 qPCR 法检测 Her-2 mRNA 的表达变化,从 mRNA 的水平来检测胃癌患者的 Her-2 表达情况,为胃癌患者的 Her-2 靶向治疗提供诊断指标。

综上所述,Her-2 mRNA 和蛋白表达增加与胃癌有着密切联系,Her-2 mRNA 的表达和胃癌 TNM 分期及淋巴结转移具有相关性,可以考虑将 Her-2 mRNA 作为胃癌诊断的分子标记。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69 (1): 7-34.
- [2] JEMAL A, CENTER M M, DESANTIS C, et al. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(8): 1893-1907.
- [3] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [4] KHADEMI B, KHADEMI B, GHADERI A, et al. Early detection of serum levels of HER-2 in patients with head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Iran J Otorhinolaryngol*, 2013, 25 (72): 161-168.
- [5] VAN CUTSEM E, BANG Y J, FENG Y F, et al. Her-2 screening data from ToGA: targeting Her-2 in gastric and gastroesophageal junction cancer [J]. *Gastric Cancer*, 2015, 18 (3): 476-484.
- [6] TAKEGAWA N, NONAGASE Y, YONESAKA K, et al. DS-8201a, a new Her-2-targeting antibody-drug conjugate incorporating a novel DNA topoisomerase I inhibitor, overcomes Her-2-positive gastric cancer T-DM1 resistance [J]. *Int J Cancer*, 2017, 141(8): 1682-1689.
- [7] 《胃癌 HER2 检测指南(2016 版)》专家组. 胃癌 HER2 检测指南(2016 版) [J]. *中华病理学杂志*, 2016, 45(8): 528-532.
- [8] SLAMON D J, LEYLAND-JONES B, SHAK S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against Her-2 for metastatic breast cancer that overexpresses Her-2 [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(11): 783-792.
- [9] MARTIN M, LÓPEZ-TARRUELLA S. Emerging therapeutic options for Her-2-positive breast cancer [J]. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2016, 35: e64-70.
- [10] WANG H B, LIAO X F, ZHANG J. Clinicopathological factors associated with Her-2-positive gastric cancer: a Meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(44): e8437.
- [11] PILLAI R N, BEHERA M, BERRY L D, et al. Her-2 mutations in lung adenocarcinomas: a report from the lung cancer mutation consortium [J]. *Cancer*, 2017, 123(21): 4099-4105.
- [12] GIUFFRÈ G, IENI A, BARRESI V, et al. Her-2 status in unusual histological variants of gastric adenocarcinomas [J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65 (3): 237-241.
- [13] BOERS J E, MEEUWISSEN H, METHORST N. Her-2 status in gastro-oesophageal adenocarcinomas assessed by two rabbit monoclonal antibodies (SP3 and 4B5) and two in situ hybridization methods (FISH and SISH) [J]. *Histopathology*, 2011, 58(3): 383-394.
- [14] GÓMEZ-MARTÍN C, CONCHA A, COROMINAS J M, et al. Consensus of the Spanish society of medical oncology (SEOM) and Spanish society of pathology (SEAP) for Her-2 testing in gastric carcinoma [J]. *Clin Transl Oncol*, 2011, 13 (9): 636-651.
- [15] ABRAHAO-MACHADO L F, SCAPULATEMPO-NETO C. Her-2 testing in gastric cancer: an update [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22 (19): 4619-4925.
- [16] SAWAKI A, OHASHI Y, OMURO Y, et al. Efficacy of trastuzumab in Japanese patients with Her-2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer: a subgroup analysis of the trastuzumab for gastric cancer (ToGA) study [J]. *Gastric Cancer*, 2012, 15 (3): 313-322.