

· 综述 ·

循环肿瘤细胞人表皮生长因子受体 2 的检测对乳腺癌诊治意义的研究进展

刘芊 江泽飞

乳腺癌治疗已进入分类治疗的时代。随着对乳腺癌发生发展分子机制的深入了解和乳腺癌分子标志的准确检测,对乳腺癌进行分子分型,并根据不同分子表型进行靶向治疗是目前乳腺癌治疗的重要方向。ER、PR、HER-2 是临床常用的分子指标,是明确的预后指标和治疗的预测指标。其中 HER-2 是乳腺癌重要的分子标志之一,20% ~ 25% 的乳腺癌患者 HER-2 阳性表达,预示着肿瘤生物学更具侵袭性,多伴有细胞毒药物和(或)内分泌药物耐药,病情进展迅速,预后较差^[1-2]。对于 HER-2 阳性的患者在接受经典的化疗或内分泌治疗的同时,推荐行针对 HER-2 的靶向治疗^[3]。因此 HER-2 状态的准确检测对于临床治疗和预后判断具有重要意义。

临床中组织学标本的 HER-2 检测方法一般采用免疫组织化学(IHC)法检测 HER-2 受体蛋白表达状态,应用荧光原位杂交(FISH)和显色原位杂交(CISH)法检测 HER-2 基因扩增水平^[4]。目前,对于组织学 HER-2 的检测已经广泛应用于临床,但是,组织学 HER-2 检测存在一些缺点,如需要对原发灶标本进行良好的处理、保存;对于转移灶的 HER-2 检测需要进行有创的病理穿刺,不适合动态检测;有些病灶还会由于解剖位置的限制(如脑转移等)穿刺困难。此外,穿刺的结果仅代表穿刺点局部的信息,不能反应整个转移灶所携带的所有信息。

因此迫切需要特异准确、快速无创、重复性好的 HER-2 检测方法,用于预测患者的预后及对于治疗的反应,从而最大限度的避免无效治疗并及时调整患者治疗。在此需求的推动下外周血循环肿瘤细胞(Circulating Tumor Cells, CTCs)的 HER-2 检测的技术已逐步开展,现对于 CTCs 的 HER-2 检测对乳腺癌诊治意义的研究进展进行综述。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2012.02.010

基金项目:首都医学发展科研基金重点项目资助(20092044)

作者单位:100071 北京,军医进修学院,解放军 307 医院乳腺肿瘤科

通信作者:江泽飞, E-mail:jiangzefei@medmail.com.cn

1 CTCs 简介

外周血 CTCs 是指从癌症原发部位脱落通过血管或淋巴系统进入血液循环的细胞,是导致乳腺癌发生远处转移的关键步骤,并且进入血液循环的肿瘤细胞更大程度上反映肿瘤本身的生物学特性。因此,可以推断外周血中存在 CTCs,并且 CTCs 与患者的远处转移、预后相关^[5-6]。研究证实外周血中 CTCs 的数目可以被检测,并且与患者的预后及对治疗的反应有关^[7-9]。与现有的影像学方法相比,CTCs 能够更早期、更准确的反应患者的病情,而且结果具有高度的可重复性,将来有望成为判断患者预后、评价患者疗效的最佳手段。

但是仅监测 CTCs 数目并不能区分 CTCs 计数相近的患者的预后,有研究显示部分患者虽然外周血中几乎检测不到 CTCs,但是却在短时间内出现复发转移;相反,部分患者外周血中 CTCs 数目虽然大于 5 个,但在长期随访中并未观察到复发转移^[10]。因此,CTCs 分子表达谱的变化可能具有更为重要的生物学意义,有必要对 CTCs 的分子表型特征进行深入研究。

2 CTCs 中 HER-2 状态检测的技术方法

2.1 Cell Search 系统可以准确地检测 CTCs 中 HER-2 蛋白表达

20 世纪初肿瘤学家已经开始致力于检测外周血中数量较少的 CTCs,但是在外周血中 CTCs 的数目极少^[11],由于检测设备及方法的敏感性、特异性较差,与 CTCs 相关的研究受到了一定的阻碍。

目前,Cell Search 系统被美国食品和药品管理局(FDA)批准用于评价转移性乳腺癌的预后。2007 年和 2008 年,该系统又先后被 FDA 批准应用于转移性结、直肠癌和前列腺癌的预后评价。实验技术和设备的发展已经使得 CTCs 的检测由实验室走向临床实践。用于计数 CTCs 的 Cell Search 系统可以半自动化的检测外周血中的 CTCs,主要包括 2 个关键的步骤:

(1)通过加入包被有磁珠的针对上皮细胞黏附分子(EpCAM)的抗体对外周血中的单个核细胞进行分离富集。具体内容包括移液器吸取 7.5 ml 外周血和 6.5 ml 缓冲液放入锥形管中,倒置 5 次混匀,用吊桶式离心机,800×g 离心 10 min。通过 Cell Search 自动化装置,1 h 内置于 AutoPrep 系统上处理,将 CTC 富集至 MagNest 装置。

(2)自动对细胞进行免疫荧光染色。在自动化富集分离后加入标记 HER-2 表型的 HER-2 试剂,采用 Cell Search 系统通过免疫荧光标记细胞角蛋白(CK)、细胞核(DAPI)和 CD45 抗原,检测 CTCs 表面的 HER-2 分子表达,并通过 Cell Track Analyzer IITM分析仪计数 CTC 及判读 HER-2 阳性表达 CTCs。

CK(+) / DAPI(+) / CD45(-) 的细胞为 CTC; 在免疫荧光染色阶段加入针对 HER-2 的免疫荧光标记试剂可以检测 CTCs 表面的 HER-2 蛋白表达, CK(+) / DAPI(+) / CD45(-) / HER-2(+) 的细胞被定义为 HER-2 阳性的 CTCs^[12-13]。该系统具有良好的准确性、精确性以及线性关系, 不同的实验室的数据具有高度的重复性, 可以作为研究 CTC 临床用途的有力工具。

2.2 FISH 可以检测 CTCs 的 HER-2 基因扩增

通过 Cell Search 系统中第一阶段的 CTCs 富集分离步骤, 富集后获得的细胞可以进行形态学观察和 HER-2 基因的 FISH 检测, 从而在 DNA 水平对 HER-2 状态进行检测, 技术成熟^[13]。

3 CTCs 的 HER-2 状态的结果判定

目前还没有建立起一个合适的 CTC 阳性血液样本的 HER-2 阳性的截断水平。一项国外大型试验中, 当一个样本中有 ≥ 5 个 CTCs 检出且至少 1 个 CTC 有 HER-2 染色评分 3+ 时, 定义其为 HER-2 阳性 CTC^[11]。在这项研究中, 122 例 CTC 阳性患者中有 72 例 (59%) HER-2 阴性、50 例 (41%) HER-2 阳性。还有文献报道, 78 例患者中有 25 例 (33%) 为原发肿瘤 HER-2 阴性表达, 但 CTCs 的 HER-2 检测为阳性表达^[13]。Pestrin 等^[14]报道至少 50% 的 CTCs 有 HER-2 表达才能定义为 CTC HER-2 阳性。Meng 等^[15]提出, 最佳的 HER-2 评估样本中至少要有 10 个 CTCs, 但如果有 HER-2 表达的 CTCs 不足 10 个, 或许也显示了这个患者可以作为 HER2 靶向治疗候选人的可能性, 在他的研究中截断水平也是 50%。在其他研究报道中, 原发灶 HER-2 阴性的患者按照这个截断水平评价, 原发灶与 CTCs 的 HER-2 状态的转换范围是在 30% ~ 40%^[16]。然而, 在做出治疗决定的情况下, 可能有必要改变 HER-2 阳性截断水平, 如百分比的调整或者根据 HER-2 表达的强度变化, 具体截断水平的确定, 还需要更多的研究证实。

4 CTC HER-2 表达检测与乳腺癌预后的相关研究

在乳腺癌患者中, 7% ~ 20% 的患者原发灶和转移灶的 HER-2 表达不一致, 原因可能一方面是由于遗传不稳定性和肿瘤异质性, 另一方面是多重治疗后的优势筛选; 基于这样的情况, CTCs 也可能携带与原发灶完全相反的分子特征。无论是早期乳腺癌患者还是晚期乳腺癌患者都观察到了 CTCs 与原发灶组织学标本 HER-2 分子表达不一致的现象^[14, 16-17], 并且 CTCs 的 HER-2 表达状态与疾病的进展及患者的预后具有显著地相关性^[18]。

4.1 CTCs 的 HER-2 状态表达与患者的预后

在德国的一项研究中,对临床分期 I ~ III 期的 HER-2 阳性乳腺癌患者检测外周血有 HER-2 表达的 CTCs,共检测 42 例患者外周血中 CTCs 的 HER-2 阳性表达,并对这部分患者进行随访,中位随访时间为 95 个月,结果显示 HER-2 阳性的 CTCs 与患者无病生存期及总生存率降低有关^[18],提示 HER-2 阳性乳腺癌的 CTCs 对于患者的预后具有预测价值。

4.2 外周血中 CTCs 的 HER-2 的转换与治疗

Pestrin 等^[14]的研究对 66 例晚期乳腺癌患者外周血中 CTCs 的 HER-2 状态进行了检测,结果显示 CTCs 与原发灶的 HER-2 表达状态不完全一致。初步结果提示部分原发灶 HER-2 阴性的乳腺癌患者在疾病进展过程中,CTCs 的 HER-2 表达检测为阳性。这种 HER-2 表达状态的变化可能与患者疾病进展有关。因此 CTCs 的分子表型分析尤其是 HER-2 状态的检测对于晚期乳腺癌患者选择特异的靶向治疗和后续的治疗具有指导意义。

5 结语

CTCs 是目前用于预测患者预后及疗效评价的分子指标之一,通过分析其生物学特征,有助于临床快速、实时地了解 CTC 的本质及其与肿瘤的关系。因此,采用先进的技术方法检测乳腺患者外周血中 CTCs 的 HER-2 表达状态,可有效地早期预测患者的预后及疗效,为实现个体化治疗提供依据。随着这个研究领域的不断发展,乳腺癌的诊治将进入新的阶段。

【关键词】 乳腺肿瘤;循环肿瘤细胞;HER-2 检测

【中图分类号】 R737.9 【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Slamon DJ, Goldolphin W, Jones LA, et al. Studies of the HER-2/proto-oncogene in human breast cancer and ovarian cancer [J]. Science, 1989, 244(4905):707-712.
- [2] Hudis CA. Trastuzumab: mechanism of action and use in clinical practice [J]. N Engl J Med, 2007, 357(1):39-51.
- [3] 江泽飞,邵志敏,徐兵河. 人表皮生长因子受体 2 阳性乳腺癌临床诊疗专家共识[J]. 中华肿瘤杂志,2010,32(2):158-160.
- [4] 《乳腺癌 HER-2 检测指南》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南[J]. 中华病理学杂志,2006,35,(10):631-633.
- [5] Ring A, Smith IE, Dowsett M. Circulating tumour cells in breast cancer [J]. Lancet Oncol,2004,5(2):79-88.
- [6] Gilbey AM, Burnett D, Coleman RE, et al. The detection of circulating breast cancer cells in blood [J]. J Clin Pathol, 2004,57(9):903-911.
- [7] Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer [J]. N Engl J Med, 2004,351(8): 781-791.
- [8] Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT, et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival[J]. Clin Cancer Res, 2006,12(14pt1):

4218-4224.

- [9] Allard WJ, Matera J, Miller MC, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases [J]. Clin Cancer Res, 2004,10(20):6897-6904.
- [10] Ignatiadis M, Kallergi G, Ntoulia M, et al. Prognostic value of molecular detection of circulating tumor cell using a multimarker reverse transcription PCR assay for cytokeratin 19, mammaglobin A, and HER2 in early breast cancer [J]. Clin Cancer Res, 2008,14(9):2593-2600.
- [11] Ghossein RA, Carusone L, Bhattacharya S. Review: polymerase chain reaction detection of micrometastase and circulating tumor cells: application to melanoma, prostate, and thyroid carcinomas [J]. Diagn Mol Pathol, 1999,8(4):165-175.
- [12] Riethdorf S, Fritsche H, Müller V, et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of patients with metastatic breast cancer: a validation study of the CellSearch System [J]. Clin Cancer Res, 2007,13(3):920-928.
- [13] Fehm T, Müller V, Aktas B, et al. HER2 status of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: a prospective, multicenter trial [J]. Breast Cancer Res Treat, 2010,124(2):403-412.
- [14] Pestrin M, Bessi S, Galardi F, et al. Correlation of HER2 status between primary tumors and corresponding circulating tumor cells in advanced breast cancer patients [J]. Breast Cancer Res Treat, 2009,118(3):523-530.
- [15] Meng S, Tripathy D, Shete S, et al. HER-2 gene amplification can be acquired as breast cancer progresses [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004,101(25):9393-9398.
- [16] Fehm T, Becker S, Duerr-Stoerzer S, et al. Determination of HER2 status using both serum HER2 levels and circulating tumor cells in patients with recurrent breast cancer whose primary tumor was HER2 negative or of unknown HER2 status [J]. Breast Cancer Res, 2007,9(5):R74.
- [17] Lang JE, Mosalpuria K, Cristofanilli M, et al. HER2 status predicts the presence of circulating tumor cells in patients with operable breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat. 2009,113(3):501-507.
- [18] Wülfing P, Borchard J, Buerger H, et al. HER2-positive circulating tumor cells indicate poor clinical outcome in stage I to III breast cancer patients [J]. Clin Cancer Res, 2006,12(6):1715-1720.

(收稿日期:2011-07-25)

(本文编辑:赵彬)

刘芊,江泽飞. 循环肿瘤细胞人表皮生长因子受体 2 的检测对乳腺癌诊治意义的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版,2012,6(2):190-194.

中华医学会