

## · 经验交流 ·

## 乳腺癌的分子分型及其临床病理特征

连婧 马海霞 白玮 郝彦凤 王丽霞

乳腺癌是一种高度异质性的恶性肿瘤,在组织形态、免疫表型、生物学行为、治疗反应上都存在着极大地差异。因此,肿瘤患者临床个体化治疗的要求使传统的肿瘤病理学分型方法面临巨大的挑战。近年来,随着分子生物学技术的发展,以乳腺癌基因表达特征为基础的分子分型为探讨乳腺癌的异质性、治疗靶点、预后评估及个体化治疗等提供了新的启示。笔者分析了 108 例乳腺浸润性导管癌的临床病理特征及其与分子分型的相关性,为患者预后评估及制定系统性和个体化的治疗方案提供依据。

## 一、材料与方法

## 1. 材料

收集 2012 年 1 月至 2013 年 1 月山西省肿瘤医院病理科确诊为乳腺浸润性导管癌的 108 例患者的手术切除标本进行回顾性分析,取同一蜡块 4  $\mu\text{m}$  厚度连续切片 6 张,于 60  $^{\circ}\text{C}$  烤片 2~4 h,室温保存,以备行 ER、PR、HER-2、CK5/6 免疫组织化学标记及 HER-2 基因荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 检测。

2. 免疫组织化学<sup>[1-3]</sup>

采用 EnVision 二步法,按试剂盒说明书进行。显微镜下观察,以细胞膜呈棕黄色或棕褐色判定为 HER-2 阳性,分为 0~3 级:无染色或 $\leq 10\%$  浸润性癌细胞呈现不完整的、微弱的细胞膜染色为 HER-2(-); $>10\%$  浸润性癌细胞出现不完整的、微弱的细胞膜染色为 HER-2(+); $>10\%$  浸润性癌细胞呈现不完整和/或弱至中等强度的细胞膜染色或 $\leq 10\%$  浸润性癌细胞呈现强而完整的细胞膜染色为 HER-2(++); $>10\%$  浸润性癌细胞呈现强、完整、均匀的细胞膜染色为 HER-2(+++)。ER/PR 以细胞核棕黄色为阳性,不着色为阴性,CK5/6 以细胞膜棕黄色为阳性,不着色为阴性。

3. FISH<sup>[1]</sup>

采用购自北京中杉金桥公司的 HER-2 探针试剂盒,HER-2 基因(标记为橘红色荧光)和 17 号染色体着丝粒(标记为绿色荧光)序列的混合探针,按试剂盒说明书进行实验。结果判定:用激光共聚焦显微镜观察杂交信号并计数,选择细胞核大小一致、核边界完整、DAPI 染色均一、细胞核孤立无重叠、绿色着丝粒信号清晰的细胞,随机计数 30 个癌细胞核中的双色信号。17 号染色体倍体判读标准:绿色信号定位于 17 号染色体的着丝粒,计算绿色荧光信号为 17 号染色

体倍体情况,根据信号数目可分为单倍体、双倍体和多倍体(细胞核中绿色信号 $>2$ )。红色信号数/绿色信号数 $\geq 2$  时,即为 HER-2 基因扩增(即 HER-2 阳性)。红色信号数/绿色信号数 $<2$ ,若平均 HER-2 拷贝数 $\geq 6$  信号/细胞,为阳性;若平均 HER-2 拷贝数 $\geq 4$  且 $<6$  信号/细胞,为不确定;若平均 HER-2 拷贝数 $<4$  信号/细胞,为阴性。

## 4. 乳腺癌分子分型

通过免疫组织化学法检测 ER、PR、HER-2、CK5/6 及 FISH 法检测 HER-2 基因的表达状况,依据 ER/PR、CK5/6 及 HER-2 基因表达对乳腺癌进行分子分型,其中 ER、PR 的表达中有一项阳性即为阳性。

## 5. 统计分析

采用 SPSS13.0 统计软件,行 $\times$ 列表  $\chi^2$  检验进行数据分析, $P<0.050$  为差异有统计学意义。

## 二、结果

免疫组织化学检测乳腺癌 HER-2 蛋白表达结果如下:25 例 HER-2(+++),29 例 HER-2(++) 和 54 例 HER-2(+/-)。FISH 检测 HER-2 基因扩增结果如下:29 例 HER-2(+),89 例 HER-2(-)。其中免疫组织化学检测结果为 HER-2(+++) 和 HER-2(+/-) 的患者与 FISH 检测结果一致,HER-2(++) 的患者与 FISH 检测存在差异,出现了假阳性结果。

依据 ER/PR、CK5/6 表达及 HER-2 基因对乳腺癌进行分子分型,分为 6 种。结果显示乳腺癌不同分子分型的组织学分级及淋巴结转移情况,差异有统计学意义(表 1)。

表 1 乳腺癌不同的分子分型患者临床病理特征的差异(例)

分子分型	例数	组织学分级 <sup>a</sup>		淋巴结	
		2	3	+	-
ER/PR(+), CK5/6(-), HER-2(-)	65	59	6	9	56
ER/PR(+), CK5/6(-), HER-2(+)	9	7	2	4	5
ER/PR(-), CK5/6(-), HER-2(-)	5	4	1	1	4
ER/PR(-), CK5/6(-), HER-2(+)	17	2	15	11	6
ER/PR(-), CK5/6(+), HER-2(-)	9	0	9	1	8
ER/PR(-), CK5/6(+), HER-2(+)	3	1	2	1	2
$\chi^2$ 值		61.284		21.525	
P 值		$<0.001$		$<0.001$	

注:<sup>a</sup> 无组织学 1 级的病例

## 三、讨论

文献报道,采用基因芯片技术对大量乳腺癌患者的多组基因芯片数据进行比较,最终将乳腺癌分为 5 种分子亚型:luminal A 型、luminal B 型、正常乳腺样型、HER-2 过表达型、

基底细胞样型<sup>[4,6]</sup>。由于免疫组织化学法 HER-2(++) 的病例中会出现假阳性的结果,因此应进一步行 FISH 检测以确定 HER-2 基因是否真正的扩增。本组乳腺癌患者依据 ER/PR、CK5/6 表达及 HER-2 基因进行分子分型,归类整理出 6 种表达模式。前 5 种情况分别与 Sørlie 等<sup>[4]</sup> 分子分型的免疫表型相对应,其中个别病例存在 CK5/6 与 HER-2 的同时表达,这种分子改变未在 5 种分子亚型中提到,而部分研究者通过基因谱研究将其归为一个新的亚型——claudin-low 型,与基底细胞样型乳腺癌相似,低表达 HER-2 基因以及管腔上皮相关基因<sup>[7-9]</sup>。

肿瘤的组织学分级是依据形态学分类,而分子分型是依据基因的差异,研究证实两者之间有一定联系<sup>[6,10]</sup>。组织学形态相同的肿瘤,其分子学改变并不一致,导致肿瘤治疗反应和预后的差异,因此需要结合组织学形态与分子技术为肿瘤病理学分类提供更多的信息。乳腺癌是一类分子水平上高度异质性的疾病,其分子遗传学改变不尽一致,单纯依靠普通病理形态学的研究已不适宜乳腺肿瘤病理学的发展,因此迫切需要应用分子技术对肿瘤发生、发展的病理学机制及生物学行为加以认识,为乳腺肿瘤病理学分类提供更多的信息,为肿瘤的预后和治疗决策提供更有利的证据。在临床分期中,常将腋窝淋巴结转移作为不良预后的指标,而不同的分子分型淋巴结转移情况不同,预后差别也较大<sup>[11-12]</sup>。

现代临床病理学正逐渐从单纯的形态学诊断转变为形态学与分子表达特征相结合的诊断,通过研究乳腺癌分子生物学基础,寻找有效的治疗靶点,如 BRCA 基因功能缺失导致的 DNA 修复缺陷、表皮生长因子受体抑制剂、热休克蛋白 90 抑制等均成为目前的研究热点<sup>[13-15]</sup>。但是目前现有的分子分型定义和标准不明确,还存在争议。某些亚型之间可能存在交叉,且有部分肿瘤不能明确分型,免疫组织化学法分子分型与基因表达之间存在差异,因此并不完善的分子分型很大程度上影响了临床个体化治疗及预后评估。随着基因芯片技术的不断发展,对乳腺癌基因表达谱分析及分子分型的发展和完善,将会发现和鉴别出更多的亚型和治疗的分子靶点,为乳腺癌患者个体化治疗及预后提供更可靠的依据。

【关键词】 乳腺肿瘤; 分子分型; 淋巴结; 受体, erbB-2

【中图法分类号】 R737.9 【文献标志码】 B

## 参 考 文 献

- [1] 《乳腺癌 HER2 检测指南(2014 版)》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南(2014 版)[J]. 中华病理学杂志, 2014, 43(4): 262-267.
- [2] 杨文涛, 步宏. 乳腺癌雌、孕激素受体免疫组织化学检测指南[J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(4): 237-239.
- [3] 邓再兴, 俞文菊, 朱凯. 乳腺癌组织 CK5/6 与 EGFR 表达及其临床意义的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(19): 1477-1480.
- [4] Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(19): 10 869-10 874.
- [5] Sørlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(14): 8418-8423.
- [6] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study [J]. JAMA, 2006, 295(21): 2492-2502.
- [7] 倪韵碧, 曾婉珊, 谢文杰, 等. 乳腺癌分子分型的研究进展[J]. 中华病理学杂志, 2014, 43(7): 433-436.
- [8] Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies [J]. J Clin Invest, 2011, 121(7): 2750-2767.
- [9] Hennessy BT, Gonzalez-Angulo AM, Stenke-Hale K, et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics [J]. Cancer Res, 2009, 69(10): 4116-4124.
- [10] 王娇, 温健, 涂巍, 等. ER 和 PR 及 HER-2 表达与乳腺癌分子分型及临床特征和预后的关系 [J]. 中国现代普通外科进展, 2014, 17(2): 99-103, 107.
- [11] Wong FY, Chin FK, Lee KA, et al. Hormone receptors and HER-2 status as surrogates for breast cancer molecular subtypes prognosticate for disease control in node negative Asian patients treated with breast conservation therapy [J]. Ann Acad Med Singapore, 2011, 40(2): 90-96.
- [12] Cheng HT, Huang T, Wang W, et al. Clinicopathological features of breast cancer with different molecular subtypes in Chinese Women [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2013, 33(1): 117-121.
- [13] 姚舒洋, 徐兵河. 三阴性乳腺癌的分子靶向治疗 [J]. 临床药物治疗杂志, 2011, 9(1): 25-31.
- [14] Modi S, Stopeck AT, Gordon MS, et al. Combination of trastuzumab and tanespimycin (17-AAG, KOS-953) is safe and active in trastuzumab-refractory HER-2 overexpressing breast cancer: a phase I dose-escalation study [J]. J Clin Oncol, 2007, 25(34): 5410-5417.
- [15] Caldas-Lopes E, Cerchietti L, Ahn JH, et al. Hsp90 inhibitor PU-H71, a multimodal inhibitor of malignancy, induces complete responses in triple-negative breast cancer models [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(20): 8368-8373.

(收稿日期: 2015-04-15)

(本文编辑: 刘军兰)

连婧, 马海霞, 白玮, 等. 乳腺癌的分子分型及其临床病理特征 [J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2016, 10(3): 183-184.