

· 综述 ·

HER-2 基因突变在乳腺癌中的研究现状

赵玮 边莉 江泽飞

【摘要】 乳腺癌目前是中国女性发病率第 1 位的恶性肿瘤,严重威胁着患者的健康。HER-2 阳性乳腺癌约占侵袭性乳腺癌的 20%~30%,与肿瘤的高侵袭性、高复发风险、进展快速及不良预后相关。大量针对 HER-2 靶点药物的研发及临床应用,改变了这部分患者的预后,但抗 HER-2 靶向药物的耐药极大限制了该类药物的应用。随着精准医学测序技术的发展,越来越多的 HER-2 基因突变被报道,HER-2 基因的突变现象可能会对疾病的发生、发展及治疗产生影响,可能是抗 HER-2 药物耐药的一个重要原因,笔者总结了 HER-2 基因突变在乳腺癌中的主要研究成果,包括 HER-2 基因的基本结构和功能、HER-2 基因突变检测方法、HER-2 基因突变与靶向药物耐药等。

【关键词】 乳腺肿瘤; 基因; erbB-2; 突变; 抗药性; 肿瘤

【中图法分类号】 R737.9 【文献标志码】 A

HER-2 属于 ErbB 家族,在许多正常和异常表皮细胞的生长、分化和转移过程中起着重要的调控作用,许多肿瘤的发生、发展和病情轻重与其活性大小密切相关。随着靶向药物的广泛使用及精准医学测序技术的发展,原来被广泛认为极其稳定的 HER-2 这一“看门基因”也会发生频率较低的突变现象,而这一突变现象可能会对疾病的发生、发展产生影响,并可能产生新的治疗机会。笔者将从 HER-2 基因突变在乳腺癌中的研究现状进行综述

一、HER-2 基因突变概况

1. HER-2 的基本结构和功能

HER-2 基因是原癌基因,位于人类第 17 号染色体长臂(17q21-q22),又称 ErbB2,属于 ERB 家族中的一员,其他成员还包括 ErbB1(EGFR)、ErbB3(HER-3)和 ErbB4(HER-4),这个家族在许多正常和异常表皮细胞的生长、分化和转移过程中起着重要的调控作用,许多肿瘤的发生、发展和病情轻重与其活性大小密切相关^[1]。而 HER-2 受体由胞外配体结合域(extracellular ligand-binding domain)、亲脂的跨膜域(transmembrane domain)和带有调节羧基末端片段的胞内域(intracellular domain)构成^[2]。HER-2 至今仍未发现高亲和力配体,必须与家族其他成员组成同源或异源二聚体,受体二聚化后构象发生改变,并与 ATP 结合激活胞内的酪氨酸激酶活性,为多种下游分子提供停泊位点,从而启动下游信号传导通路,继而传导入细胞核,激活核内一系列转录因子,在转录水平调控、合成供细胞生长、增殖、分化所需蛋白^[3]。

2. HER-2 基因突变检测方法

准确检测 HER-2 基因突变是了解 HER-2 突变的基础,临床上可从组织、体液的临床样本中检测,但目前关于 HER-2

突变检测方法的文献较少。目前主要检测技术及在其他基因中的应用情况如下:(1)DNA 测序法是检测 EGFR 基因突变标准可靠的、应用最多的方法,但操作过程步骤繁琐、时间较长,且对操作技术的要求较高,重要的是由于其方法本身的灵敏度低,仅能检测含量大于 30% 的突变基因^[4]。(2)聚合酶链式反应-单链构象多态性分析(polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism,PCR-SSCP)是一种比较经典的基因突变检测的方法,可以对未知的突变进行检测^[5]。与测序法相比,PCR-SSCP 灵敏性更高,操作简单,无需特殊仪器,还可以对未知的突变进行检测,但也有其局限性,如电泳时间较长,操作步骤比较繁琐,只能进行定性分析,且需要平行的标准对照,受实验条件影响较大,容易出现假阴性。(3)探针扩增阻滞突变系统(amplification refractory mutation system, ARMS),又名等位基因特异 PCR,是将 ARMS 和 Scorpions 技术相结合的一种新技术^[6]。这种方法较为灵敏,特异性好,可靠性强。(4)微数字 PCR 是一种改变生物医学面貌的新技术,在基因芯片技术基础上发展出来^[7],敏感度和准确度更高,大大减少了人工操作。由于芯片在 PCR 之前密封,有效避免了交叉污染,操作时间短,无需采用标准进行校准。虽然微数字 PCR 具有无可比拟的优越性,但基因芯片技术发展还不成熟,应用于临床检测基因突变还需要更多的努力。

相对于 DNA 测序,其他方法尽管敏感度或特异度有所提高,但其本身固有的缺陷很大程度上限制了应用,所以临床上可能需两种或多种检测方法联合应用以提高基因突变的检出率及准确性,另外亟待更为简便、快速、准确、经济的 HER-2 基因突变检测方法出现,从而为肿瘤患者的个体化治疗服务。

二、HER-2 基因突变在乳腺癌中的研究现状

乳腺癌是目前危害女性健康最常见的肿瘤,HER-2 阳性与肿瘤的高侵袭性、高复发风险、快速进展、及不良预后相关。而抗 HER-2 靶向药物如曲妥珠单抗克隆抗体、拉帕替尼

等具有显著疗效并提高了患者生存率。但抗 HER-2 靶向药物的耐药极大限制了本类药物的疗效,随着对 HER-2 突变的认识逐渐深入,普遍认为 HER-2 突变在乳腺癌发病、发展及抗 HER-2 靶向耐药中起着重要作用^[8]。

1. 乳腺癌患者 HER-2 突变率及突变位点

HER-2 突变率在原发乳腺癌组织中较低,为 2.0%^[9]。Bose 等^[8]对 1499 例 HER-2 阴性乳腺癌患者用二代测序方法检测 HER-2 体细胞突变率为 1.67% (25 例),共检出 16 种 HER-2 突变,其中 11 种位于激酶域,并验证 6 种突变为激活突变,与乳腺癌的发生发展密切相关。这提示 HER-2 突变是导致乳腺癌的一个重要因素,可能作为乳腺癌治疗的药物靶点。此后,Endo 等^[10]使用 Sanger 法检测了 135 例 HER-2 阳性乳腺癌患者 HER-2 基因突变率为 1.48% (2 例)。对于经多周期治疗的乳腺癌患者的转移组织的 HER-2 基因突变率情况因报道较少,但就为数不多的文献报道来看,转移组织的 HER-2 基因突变率较原发组织高^[11-12]。Fang 等^[11]对 198 例经过多周期治疗患者的转移性乳腺癌 (metastatic breast cancer, MBC) 组织的 HER-2 基因全长进行基因测序,其 HER-2 突变率为 11.5% (23 例),且应用曲妥珠单抗治疗后的患者突变率更高为 17.7%。此外, Park 等^[12]也对 36 例经多周期、多种药物治疗后的难治性 MBC 组织用二代测序法检测 HER-2 突变率为 16.7%,值得注意的是 6 例 HER-2 突变的患者中,5 例为 HER-2 阳性,曾接受抗 HER-2 药物 (曲妥珠单抗、拉帕替尼) 治疗后耐药的患者。转移组织与原发组织 HER-2 突变率有差异的原因可能有:患者种族差异、检测方法不同及 MBC 患者经多种治疗后诱导 HER-2 突变等。此外, Ross 等^[13]报道含有 CDH1 突变的浸润性小叶癌的 HER-2 突变率更高达 18% (4/22),无 CDH1 突变的 HER-2 突变率为 2% (5/286),差异有统计学意义 ($P=0.0006$)。所以在不同乳腺癌筛选人群中 HER-2 突变率有所差异 (表 1),当然目前的研究仍较少,尚需更多的样本量来验证。

对于乳腺癌患者 HER-2 突变的位点,研究提示 HER-2 突变大部分位于酪氨酸激酶域或胞外域^[14],酪氨酸激酶域的突变多为插入突变或错义突变,胞外域的突变多为错义突变及跨膜域的突变为截断突变^[8,15],见图 1。

HER-2 激酶域的突变大部分位于其第 19~21 外显子,并且由 18~23 外显子的碱基序列编码^[16-17]。Bose 等^[8]检测出 HER-2 体细胞突变大部分 (68%) 位于激酶域,与乳腺癌的发生、发展密切相关。Lee 等^[16]检测了 378 例包括乳腺

癌、胃癌及结直肠癌的 HER-2 突变情况,共检出 16 种激酶区突变。值得提出的是,这一区域的 HER-2 突变除了上文提到的激活突变,还包括许多与抗 HER-2 靶向治疗耐药的突变,比如位于第 755 或 798 密码子的突变。

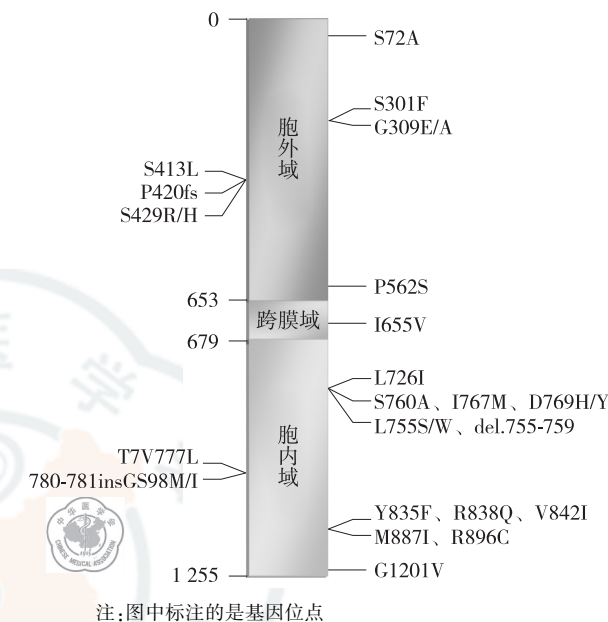


图 1 HER-2 基因突变示意图

除了酪氨酸激酶域的突变,对胞外域的 HER-2 突变情况也在乳腺癌中进行了大量研究,如其中位于第 8 外显子的 S310F/Y、G309A/E、S335C 的突变具有致癌性,并且 S310F/Y 通过上调羧基末端磷酸化,而 G309E 和 S335C 这两种突变通过形成分子间的二硫键来介导共价二聚体来发挥作用^[8,18-19]。另外,对于跨膜域的 655 位 A→G 突变导致的 I655V 突变研究相对较为广泛, Xie 等^[20]分别对 339 例乳腺癌及 361 例健康者共 700 名中国汉族人进行了研究,结果提示 HER-2 基因 I655V 的多态性与乳腺癌特别是年轻乳腺癌的发生密切相关。也有 Meta 分析研究这一突变在不同人群中与乳腺癌的发病关系,提示亚洲及非洲人群中 I655V 的突变可能与乳腺癌发病有关,但在欧洲人群中未见到明显相关性^[21]。

2. 乳腺癌 HER-2 基因突变与抗 HER-2 靶向药物敏感性

HER-2 阳性晚期乳腺癌患者临床预后差,死亡及复发风险均较 HER-2 阴性乳腺癌患者更高^[22]。而抗 HER-2 靶向

表 1 乳腺癌患者 HER-2 突变情况

作者	选择人群	例数	HER-2 突变率	检测标本	检测方法
Bose 等 ^[8]	非复发转移	1 499	1.67%	原发组织 (HER-2 阴性)	二代测序
Endo 等 ^[10]	I ~ III 期	135	1.48%	原发组织 (HER-2 阳性)	Sanger 测序
Fang 等 ^[11]	IV 期	198	11.6%	转移组织	二代测序
Park 等 ^[12]	IV 期	36	16.7%	转移组织	二代测序
Lee 等 ^[16]	0 ~ IV 期	94	4.3%	原发组织	PCR-单链构象多态性分析

药物应用于临床后,改善患者预后,使 HER-2 阳性乳腺癌生存期不断延长,目前批准用于 HER-2 阳性乳腺癌的抗 HER-2 靶向药物有 4 种,分别为曲妥珠单抗抗体、帕妥珠单抗抗体、T-DM1 及拉帕替尼。但这些药物的耐药极大限制了本类药物的疗效,除了既往文献提出的经典的耐药机制外^[23], HER-2 基因的内在改变可能也是一个重要的耐药机制。

3. HER-2 基因突变与曲妥珠单抗抗体耐药

曲妥珠单抗抗体是用于 HER-2 阳性乳腺癌的抗 HER-2 靶向药物,其针对性的结合在 HER-2 蛋白细胞膜外的第 4 个功能域,在临床中的应用极大改善了 HER-2 阳性乳腺癌生存,但仍有一部分患者初始治疗无效或初始治疗有效的患者也在应用一段时间后出现疾病进展,即曲妥珠单抗抗体的耐药^[24]。Prempre 等^[25]就曾对乳腺癌 HER-2 突变与曲妥珠耐药的关 系进行过报道,该研究中对 14 位 HER-2 阳性 MBC 患者的转移病灶进行基因测序并未发现 HER-2 基因突变,其中 3 位初始对曲妥珠单抗抗体治疗反应良好的 MBC 患者,治疗 1 年后出现曲妥珠单抗抗体耐药,于是对这 3 位患者的新发转移病灶再次活组织检查,检测出 D880N 和 E837Y 的 HER-2 基因突变,提示乳腺癌 HER-2 突变可能是导致曲妥珠单抗抗体原发或继发耐药的一个原因。另外, Park 等^[11]对 36 例难治性乳腺癌进行基因测序提示 6 例患者为 HER-2 基因突变,4 例为 HER-2 阳性患者辅助治疗中应用曲妥珠单抗抗体,其 DFS 均为 1 年左右,即这 4 例患者均在 1 年左右对曲妥珠单抗抗体产生耐药,揭示 HER-2 基因突变可能介导曲妥珠单抗抗体的耐药。

4. HER-2 基因突变与拉帕替尼耐药

拉帕替尼是 HER-1 及 HER-2 双靶点的小分子酪氨酸激酶抑制剂, NCCN 指南推荐对于一线曲妥珠单抗抗体失败的转移性乳腺癌的二线治疗, 首选 trastuzumab emtansine (T-DM1), 还可选择曲妥珠单抗抗体联合卡培他滨、拉帕替尼联合卡培他滨或拉帕替尼联合曲妥珠单抗抗体双靶向治疗^[26]。目前 T-DM1 未在中国上市, 拉帕替尼在二线抗 HER-2 治疗中有着重要地位, 而拉帕替尼应用中同样也会产生耐药问题, HER-2 内在基因突变也是导致拉帕替尼耐药的一个重要原因, 体外试验证实 HER-2 基因在 L755S 及 T798M 的突变可导致拉帕替尼耐药^[27]。Park 等^[12]入组 36 例难治性乳腺癌, 其中 4 例患者为一 线或二线应用拉帕替尼治疗约 4 个月出现进展, 进行 HER-2 基因检测, 均可检测到 HER-2 基因突变, 提示 HER-2 基因突变可能介导拉帕替尼耐药。

5. HER-2 基因突变与 T-DM1 及帕妥珠单抗抗体耐药

T-DM1 是将化疗药物 maytansine (DM1) 通过硫醚键共价结合到单抗抗体上, 目前已批准用于 HER-2 阳性晚期转移性乳腺癌中, 是国际上曲妥珠单抗抗体治疗失败后的二线首选治疗方案。帕妥珠单抗抗体进一步延长了 HER-2 阳性乳腺癌患者的生存期^[28], NCCN 指南推荐帕妥珠单抗抗体加曲妥珠单抗抗体联合紫杉类药物是一线首选方案^[26]。目前研究也提示 HER-2 突变是 T-DM1 耐药的一个原因^[7], 因应用时间较短, 帕妥珠单抗抗体与 HER-2 基因

突变的关系尚未见报道。

6. 新型抗 HER-2 的酪氨酸激酶抑制剂

目前对于 HER-2 突变患者的治疗策略, 研究较少。Neratinib 是针对 HER-1、HER-2 及 HER-4 的不可逆性小分子酪氨酸激酶抑制剂, 对曲妥珠单抗抗体耐药的乳腺癌仍有较好的治疗作用^[29]。体外试验证实 HER-2 基因突变种类为 L755S 的突变可导致拉帕替尼耐药, 但对 Neratinib 敏感^[7]。另外, NCT01670877 2 期临床研究结果显示有 HER-2 基因突变的 HER-2 阴性患者, 应用 Neratinib 的客观缓解率 (CBR) 为 36%^[30], 提示 HER-2 不扩增但存在 HER-2 突变的乳腺癌患者可能对抗 HER-2 靶向药物 (尤其是不可逆性抑制剂) 敏感。

三、结语

目前 HER-2 基因检测多基于组织, 但临床工作中肿瘤组织特别是转移组织的获取较为困难。肿瘤的分化增殖是一个动态过程, 肿瘤标志物可能会随疾病进展或治疗发生改变。HER-2 突变率在肿瘤转移组织中可能较原发组织高, 对肿瘤标志物的监测在肿瘤个体化治疗中意义重大, 而新兴的“液体活组织检查”如肿瘤循环细胞单细胞测序、循环肿瘤 DNA 测序因其非侵袭性、简单易行, 未来非常有潜力替代肿瘤组织检测并监测 HER-2 基因突变。但目前外周血和肿瘤组织中驱动基因突变的一致性仍然存在很大争议, 仍需大量研究来验证。

总之, HER-2 是众多酪氨酸激酶的一个代表, 现有研究提示 HER-2 基因突变在乳腺癌等恶性肿瘤的发生发展中可能具有重要意义。HER-2 在不同肿瘤中的研究可窥得当前肿瘤发生、发展机制研究的概貌, 也是目前精准医疗的一个体现, 目的是实现同一种药物应对不同肿瘤, 为患者实现个体化的治疗策略。HER-2 基因是否能够成为治疗靶标并不十分明确, 尚需继续进行深入研究。

参 考 文 献

- [1] Baselga J, Swain SM. Novel anticancer targets: revisiting ERBB2 and discovering ERBB3 [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(7):463-475.
- [2] Telesco SE, Radhakrishnan R. Atomistic insights into regulatory mechanisms of the HER2 tyrosine kinase domain: a molecular dynamics study [J]. Biophys J, 2009, 96(6):2321-2334.
- [3] Helikar T, Kochi N, Kowal B, et al. A comprehensive, multi-scale dynamical model of ErbB receptor signal transduction in human mammary epithelial cells [J]. PLoS One, 2013, 8(4):e61757.
- [4] Fan X, Furnari FB, Cavenee WK, et al. Non-isotopic silver-stained SSCP is more sensitive than automated direct sequencing for the detection of PTEN mutations in a mixture of DNA extracted from normal and tumor cells [J]. Int J Oncol, 2001, 18(5):1023-1026.
- [5] 李玉梅, 姚纪元, 吴静, 等. PCR-SSCP 技术的研究及应用进展 [J]. 生物技术通报, 2007, 32(6):71-73.
- [6] Kimura H, Suminoe M, Kasahara K, et al. Evaluation of epidermal growth factor receptor mutation status in serum DNA as a predictor of response to gefitinib (IRESSA) [J]. Br J Cancer, 2007, 97(6):778-784.

- [7] Hindson BJ, Ness KD, Masquelier DA, et al. High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number[J]. *Anal Chem*, 2011, 83(22):8604-8610.
- [8] Bose R, Kavuri SM, Searleman AC, et al. Activating HER2 mutations in HER2 gene amplification negative breast cancer [J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(2):224-237.
- [9] Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours[J]. *Nature*, 2012, 490(74):61-70.
- [10] Endo Y, Dong Y, Kondo N, et al. HER2 mutation status in Japanese HER2-positive breast cancer patients [J]. *Breast Cancer*, 2015, 12: 1-7.
- [11] Fang Y, Jiang Y, Wang X, et al. Somatic mutations of the HER2 in metastatic breast cancer[J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(12):11 851-11 854.
- [12] Park YH, Shin HT, Jung HH, et al. Role of HER2 mutations in refractory metastatic breast cancers: targeted sequencing results in patients with refractory breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(31): 32 027-32 038.
- [13] Ross JS, Wang K, Sheehan CE, et al. Relapsed classic E-cadherin (CDH1)-mutated invasive lobular breast cancer shows a high frequency of HER2 (ERBB2) gene mutations [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(10):2668-2676.
- [14] Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(5):341-354.
- [15] Arcila ME, Chaft JE, Nafa K, et al. Prevalence, clinicopathologic associations, and molecular spectrum of ERBB2 (HER2) tyrosine kinase mutations in lung adenocarcinomas[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(18):4910-4918.
- [16] Lee JW, Soung YH, Seo SH, et al. Somatic mutations of ERBB2 kinase domain in gastric, colorectal, and breast carcinomas[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(1):57-61.
- [17] Ellis MJ. Mutational analysis of breast cancer: guiding personalized treatments [J]. *Breast*, 2013, 22 Suppl 2:S19-21.
- [18] Greulich H, Kaplan B, Mertins P, et al. Functional analysis of receptor tyrosine kinase mutations in lung cancer identifies oncogenic extracellular domain mutations of ERBB2 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(36):14 476-14 481.
- [19] Kan Z, Jaiswal BS, Stinson J, et al. Diverse somatic mutation patterns and pathway alterations in human cancers [J]. *Nature*, 2010, 466(7308): 869-873.
- [20] Xie D, Shu XO, Deng Z, et al. Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(5): 412-417.
- [21] Lu S, Wang Z, Liu H, et al. HER2 Ile655Val polymorphism contributes to breast cancer risk: evidence from 27 case-control studies [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 124(3):771-778.
- [22] Dawood S, Broglio K, Buzdar AU, et al. Prognosis of women with metastatic breast cancer by HER2 status and trastuzumab treatment: an institutional-based review[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(1): 92-98.
- [23] Tortora G. Mechanisms of resistance to HER2 target therapy [J]. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2011, 2011(43):95-98.
- [24] Wong H, Leung R, Kwong A, et al. Integrating molecular mechanisms and clinical evidence in the management of trastuzumab resistant or refractory HER-2 + metastatic breast cancer [J]. *Oncologist*, 2011, 16(11):1535-1546.
- [25] Prempre T, Wongpaksa C. Mutations of HER2 gene in HER2-positive metastatic breast [EB/OL]. [2016-01-20]. http://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/24/18_suppl/13118?sid=c646c5cd-3059-4253-a3fd-17ca286481d9.
- [26] National Comprehensive Cancer Network. NCCN guidelines: breast cancer 2015 v3 [EB/OL]. [2016-01-20]. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
- [27] Meng X, Li Y, Tang H, et al. Drug response to HER2 gatekeeper T798M mutation in HER2-positive breast cancer [J]. *Amino Acids*, 2016, 48(2):487-497.
- [28] Swain SM, Baselga J, Kim SB, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(8): 724-734.
- [29] Chan A, Delaloge S, Holmes FA, et al. Neratinib after trastuzumab-based adjuvant therapy in patients with HER2-positive breast cancer (ExteNET): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(3): 367-377.
- [30] Ma CX, Bose R, Gao F, et al. Phase II trial of neratinib for HER2 mutated, non-amplified metastatic breast cancer (HER2^{mut} MBC)[EB/OL]. [2016-01-20]. http://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/34/15_suppl/516?sid=6a457b12-32f9-4342-ad91-c67f58dc02bd.

(收稿日期:2016-03-04)

(本文编辑:刘军兰)

赵玮,边莉,江泽飞. HER-2 基因突变在乳腺癌中的研究现状[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版,2016,10(6):362-365.