

· 临床研究 ·

## Her-2(2+)乳腺癌患者 FISH 检测结果的临床研究

蒋超君, 尤赛男, 陈 锐, 李 严, 李 硕, 查小明\*

南京医科大学第一附属医院乳腺病科, 江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的:分析对免疫组化人表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor 2, Her-2)(2+)乳腺癌患者荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)检测的必要性,以及17号染色体着丝粒(chromosome 17 centromere, CSP17)拷贝数对于FISH检测结果的影响。方法:收集2018年南京医科大学第一附属医院乳腺病科收治的免疫组化 Her-2(2+)乳腺癌患者相关资料,并对其FISH结果进行统计分析。结果:381例患者中,FISH结果扩增64例(16.80%),非扩增310例(81.36%),不确定7例(1.84%)。CSP17拷贝数 $\geq 3$ 的患者共40例,占总体患者的10.50%。CSP17拷贝数 $\geq 3$ 在FISH结果不确定组所占比例较高( $P < 0.05$ )。结论:FISH检测可以明确免疫组化 Her-2(2+)患者是否需要靶向治疗,CSP17拷贝数是影响FISH结果准确性的因素之一,FISH结果不确定组是否需要靶向治疗尚需要进一步临床研究。

**[关键词]** 乳腺癌;IHC Her-2(2+);FISH;CSP17 拷贝数

**[中图分类号]** R737.9

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2020)06-863-03

**doi:**10.7655/NYDXBNS20200616

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>,是中国女性发病率最高的恶性肿瘤<sup>[2]</sup>,目前乳腺癌的治疗逐渐精准化,人表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor 2, Her-2)基因的发现及靶向药物的研发是治疗的重大突破。Her-2基因位于17号染色体的q12~21,Her-2基因的表达和17号染色体拷贝数密切相关。研究显示,约20%的乳腺癌患者中Her-2基因发生扩增及其编码的蛋白也过度表达<sup>[3]</sup>,25%~45%的乳腺癌患者有17号染色体拷贝数的改变<sup>[4-5]</sup>。目前免疫组化(immunohistochemistry, IHC)以及荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)是常用的检测方法,IHC主要检测Her-2蛋白表达情况,成本低,操作简便,常作为Her-2扩增患者的初级筛选方法;FISH则对17号染色体着丝粒(chromosome 17 centromere, CSP17)和Her-2基因进行检测<sup>[6]</sup>,稳定性和精确性较高,因此常作为明确Her-2基因扩增状态的最佳指标。IHC为Her-2(3+)和Her-2(-)/(+),FISH阳性率分别为91.7%和4.1%,FISH与IHC检测结果一致性较高;而IHC为Her-2(2+)时,FISH阳性率为23%~25%<sup>[7-8]</sup>,常与IHC检测结果不一致。本研究针对乳腺癌IHC Her-2

(2+)患者进行回顾性统计,对FISH检测结果进行临床分析。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

收集2018年南京医科大学第一附属医院乳腺病科收治的IHC Her-2(2+)乳腺癌患者相关资料,所有患者均粗针穿刺活检和/或手术活检确诊为浸润性导管癌。收集指标包括患者年龄、FISH、Her-2拷贝数、CSP17拷贝数以及Her-2/CSP17比值。对于FISH结果为HER2扩增不确定及HER2扩增阳性患者,额外收集其临床治疗方案以及复发转移数据。本研究经医院伦理委员会批准,所有患者知情同意。

#### 1.2 方法

FISH检测结果依据Her-2检测指南(2014版)<sup>[9]</sup>进行分析:Her-2/CSP17比值 $\geq 2.0$ 时,为Her-2扩增阳性;Her-2/CSP17比值 $< 2.0$ ,但平均Her-2拷贝数 $\geq 6.0$ 时也为Her-2阳性。Her-2/CSP17比值 $< 2.0$ 且平均Her-2拷贝数 $< 4.0$ 时为Her-2扩增阴性。Her-2/CSP17比值 $< 2.0$ 且平均Her-2拷贝数 $< 6.0$ 但 $\geq 4.0$ 时为Her-2扩增不确定,需要另增加20个细胞计数,或者另选择其他组织块再次实施FISH实验判断结果。对于CSP17拷贝数 $\geq 3.0$ 定义为多倍体17<sup>[5]</sup>。

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81302305)

\*通信作者(Corresponding author),E-mail:njzhaxm@qq.com

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS22.0 对 FISH 检测结果进行统计分析。使用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )来统计连续变量,多组均数间的比较采用方差分析,分类变量比较采用 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 总体参数分析

共 381 例 Her-2(2+)患者纳入本研究,年龄 25~85 岁,中位年龄 50 岁。FISH 检测为 Her-2 扩增阳性 64 例(16.80%),Her-2/CSP17 平均比值为 2.38,Her-2 平均拷贝数为 5.85; Her-2 扩增阴性 310 例(81.36%),Her-2/CSP17 平均比值为 1.26,Her-2 平均拷贝数 2.55; Her-2 扩增不确定 7 例(1.84%), Her-2/CSP17 平均比值为 1.63, Her-2 平均拷贝数 5.33(表 1)。Her-2/CSP17 比值,3 组间两两比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 381 例患者 Her-2 表达及 Her-2/CSP17 比值情况

FISH 结果	例数 [n(%)]	Her-2/ CSP17 比值	Her-2 拷贝数
Her-2 扩增阳性组	64(16.80)	2.38 ± 0.69	5.85 ± 0.88
Her-2 扩增阴性组	310(81.36)	1.26 ± 0.26*	2.55 ± 0.90*
Her-2 扩增不确定组	7(1.84)	1.63 ± 0.23 <sup>△</sup>	5.33 ± 0.35 <sup>△</sup>

与 Her-2 扩增阳性组比较,\* $P < 0.05$ ;与 Her-2 扩增阴性组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.2 抗 Her-2 靶向治疗对复发转移的影响

对 FISH 结果 Her-2 扩增不确定组及 Her-2 扩增阳性组患者进行随访,FISH Her-2 扩增阳性组患者均使用抗 Her-2 靶向治疗,Her-2 扩增不确定组均未使用抗 Her-2 靶向治疗,随访结果:Her-2 扩增不确定组,3 例患者局部复发或转移(42.86%),FISH Her-2 扩增阳性组 2 例发生复发或转移(3.13%,表 2)。

表 2 FISH 结果 Her-2 扩增不确定组及 Her-2 扩增阳性组患者的复发转移情况比较

FISH 分组	例数	靶向治疗(n)	未复发转移(n)	复发或转移(n)	复发或转移率(%)
Her-2 扩增不确定组	7	0	4	3	42.86
Her-2 扩增阳性组	64	64	62	2	3.13 <sup>*</sup>

与 Her-2 扩增不确定组比较,\* $P < 0.05$ 。

### 2.3 CSP17 拷贝数在患者中的分布

对 381 例患者的 CSP17 拷贝数进行统计学分析,CSP17 拷贝数 $\geq 3$  共 40 例,占 10.50%。Her-2 扩增不确定组患者 CSP17 平均拷贝数为 3.34,显著高于其他两组,同时 Her-2 扩增阳性组 CSP17 拷贝数

高于 Her-2 扩增阴性组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,表 3);CSP17 拷贝数 $\geq 3$  的患者在 Her-2 扩增不确定组中的比例明显高于其他两组( $P < 0.05$ ),而在 Her-2 扩增阳性组与 Her-2 扩增阴性组中分布无差异( $P > 0.05$ ,表 3)。

表 3 381 例患者中 CSP17 拷贝数分布情况

FISH 结果	例数	CSP17 拷贝数( $\bar{x} \pm s$ )	CSP17 拷贝数 $\geq 3$ [n(%)]
Her-2 扩增阳性组	64	2.61 ± 0.76	10(15.63)
Her-2 扩增阴性组	310	2.03 ± 0.58*	24(7.74)
Her-2 扩增不确定组	7	3.34 ± 0.50 <sup>△</sup>	6(85.71) <sup>△</sup>

与 Her-2 扩增阳性组比较,\* $P < 0.05$ ;与 Her-2 扩增阴性组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

乳腺癌靶向治疗可以提高 Her-2 基因扩增患者的病理学完全缓解率,以往抗 HER-2 治疗药物主要为曲妥珠单抗,随着帕妥珠单抗的上市,双靶治疗逐渐成为抗 Her-2 治疗的热点。国外相关研究数据表明,曲妥珠单抗联合帕妥珠单抗双靶向抗 HER-2 治疗方案在新辅助治疗、辅助治疗及转移性乳腺癌的一线治疗上均具备疗效显著且不良反应少的优点,因此明确 Her-2 基因有无扩增对于临床治疗方案的选择至关重要。目前 IHC 以及 FISH 是常用的检测 Her-2 基因扩增的方法,IHC 通常作为 Her-2 扩增患者的初级筛选,而 FISH 检测则作为明确标准。临床上有 25% 左右的患者 IHC Her-2(2+)<sup>[10]</sup>,此类患者的 FISH 检测阳性率为 23%~25%<sup>[7,11]</sup>,因此 FISH 检测对于 IHC Her-2(2+)患者具有重要临床意义。

本研究 FISH 结果阴性率高达 81.36%,阳性率为 16.80%,不确定率仅占 1.84%,与其他中心相关数据相比,阳性率较低(16.80% vs. 20%~25%)<sup>[12-14]</sup>,可能与各临床中心入组总体数量、IHC 所用抗体、标本取材时间及福尔马林固定时间有关。但总体 FISH 检测结果都是 Her-2 扩增阴性组比例最高,Her-2 扩增不确定组比例最低。Her-2 扩增阳性的患者可以从靶向治疗中获益,而对于大多数结果阴性的患者,可以避免过度治疗及资源浪费。目前对于 FISH Her-2 扩增不确定者是否需要抗 Her-2 靶向治疗尚存在争议,本研究比较了 FISH Her-2 扩增不确定组与 Her-2 扩增阳性组患者的复发转移率,发现 FISH Her-2 扩增不确定组未使用靶向治疗,患者复发转移率相对较高,这部分患者或许可以从靶向治疗中获益,然而目前尚缺乏临床证据。

Her-2基因位于17号染色体,17号染色体拷贝数的改变会导致位于17号染色体的Her-2基因拷贝及其表达蛋白发生改变,从而影响IHC与FISH结果。本研究对3组CSP17拷贝数进行统计学分析。结果表明,FISH结果Her-2扩增不确定组患者CSP17拷贝数较高( $P < 0.05$ ),且CSP17拷贝数 $\geq 3$ 的患者在Her-2扩增不确定组中所占比例较大。因此17号染色体的多倍体性可能是影响IHC与FISH准确性的因素之一。刘思诗等<sup>[8]</sup>对173例IHC Her-2(2+)患者FISH结果分析发现FISH结果Her-2扩增不确定组患者CSP17拷贝数 $\geq 3$ 。杨亮等<sup>[15]</sup>在283例乳腺癌患者中进行17号染色体拷贝数相关性分析得出,不同17号染色体拷贝数在Her-2基因是否扩增方面差异有统计学意义,与本研究结果相似。另外本研究还比较了Her-2扩增阳性组与Her-2扩增阴性组患者CSP17拷贝数的差异,发现Her-2扩增阳性组患者CSP17拷贝数较Her-2扩增阴性组略高( $P < 0.05$ );但Her-2扩增阳性组CSP17拷贝数 $\geq 3$ 的患者所占比例较少,且与Her-2扩增阴性组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。因此,CSP17拷贝数 $\geq 3$ 可能是FISH检测中导致结果不确定的主要原因。

综上,FISH对于检测Her-2扩增状态具有更高的准确性。因此临床上对于IHC为Her-2(2+),不能明确是否需要靶向治疗的患者,使用FISH检测是必要的。大部分IHC Her-2(2+)患者的FISH结果为Her-2扩增阴性,这部分患者可以避免医疗资源浪费。CSP17拷贝数 $\geq 3$ (多倍体17)是影响IHC Her-2(2+)患者的FISH检测结果准确性的重要因素,目前对FISH检测结果为Her-2扩增不确定的患者尚无更精确的检测方法。临床上对于FISH检测结果Her-2扩增不确定的患者,可选取不同组织块重新检测,如结果仍为不确定,需要临床医师结合IHC作出综合评判,本研究认为对于FISH结果Her-2扩增不确定的患者,或许可以从靶向治疗中获益,其临床疗效以及最佳治疗方案目前存在争议,尚需进一步深入探讨。

#### [参考文献]

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30  
[2] 张岭, 王珏, 陈锐, 等. 紫杉醇与白蛋白结合型紫杉醇在HER2阴性乳腺癌新辅助化疗中的疗效研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2018, 38(6): 807-811  
[3] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statis-

tics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132  
[4] GEIERSBACH K B, WILLMORE-PAYNE C, PASI A V, et al. Genomic copy number analysis of HER2-equivocal breast cancers[J]. Am J Clin Pathol, 2016, 146(4): 439-447  
[5] 张虹, 司婧文, 张爽, 等. 伴17号染色体多体的乳腺癌患者表皮生长因子受体2状态的评估及意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2016, 38(2): 124-129  
[6] DOXTADER E E, CALHOUN B C, STURGIS C D, et al. HER2 FISH concordance in breast cancer patients with both cytology and surgical pathology specimens[J]. J Am Soc Cytopathol, 2018, 7(1): 31-36  
[7] BOGDANOVSKA-TODOROVSKA M, PETRUSHEVSKA G, JANEVSKA V, et al. Standardization and optimization of fluorescence in situ hybridization (FISH) for HER-2 assessment in breast cancer: a single center experience [J]. Bosn J Basic Med Sci, 2018, 18(2): 132-140  
[8] 刘思诗, 陈可心, 耿敬姝. 应用2013年ASCO/CAP指南对Her-2 IHC2+乳腺癌患者进行Her-2 FISH分类[J]. 肿瘤学杂志, 2018, 24(3): 203-207  
[9] LIU Y, WU S, SHI X, et al. HER2 double - equivocal breast cancer in Chinese patients: a high concordance of HER2 status between different blocks from the same tumor[J]. Breast Cancer Res Treat, 2019, 178(2): 275-281  
[10] WOLFF A C, HAMMOND MEH, ALLISON K H, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update [J]. J Clin Oncol, 2018, 36(20): 2105-2122  
[11] WESOLA M, JELEN M. A comparison of IHC and FISH cytogenetic methods in the evaluation of HER2 status in breast cancer[J]. Adv Clin Exp Med, 2015, 24(5): 899-903  
[12] 陈洪才. IHC Her-2 2+乳腺癌组织与FISH基因检测104例比较分析[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(1): 92-94  
[13] 许燕, 柏乾明, 周晓燕, 等. 应用2013版ASCO/CAP HER2检测指南判读1780例免疫组织化学HER2不确定浸润性乳腺癌的荧光原位杂交结果[J]. 中华病理学杂志, 2016, 45(8): 545-549  
[14] 陈辉, 汪小霞, 沈勤, 等. FISH检测在乳腺癌的非典型扩增和不确定病例中的应用价值[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(1): 95-97  
[15] 杨亮, 赵倩, 王斌, 等. 乳腺浸润性导管癌17号染色体拷贝数变异与临床病理特征相关性分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(12): 823-828

[收稿日期] 2019-10-16