

HER-2 基因表达在乳腺原发癌和淋巴结转移癌发病中的作用研究

欧武英¹, 钟威达² (1. 海南省海口市人民医院检验科 570208; 2. 海南妇产科医院检验科, 海口 570105)

【摘要】 目的 探讨使用荧光原位杂交技术检测乳腺原发癌和淋巴结转移癌 HER-2 基因的表达及意义。**方法** 选取海口市人民医院 2013 年 1 月至 2014 年 1 月收治的乳腺原发癌患者 40 例作为研究对象, 对其临床资料进行回顾性分析。应用荧光原位杂交技术(FISH)与免疫组织化学技术(IHC)对所有患者手术切除标本的 HER-2 基因表达予以检测。**结果** FISH 阳性率为 42.5%, IHC 为 57.5%; IHC 阴性时与 FISH 符合率为 88.2%, IHC (+) 与 FISH 符合率为 37.5%, IHC (++) 与 FISH 符合率为 83.3%, IHC (+++) 与 FISH 符合率为 100.0%。淋巴结转移阳性率为 66.67%, 未转移阳性率为 32.14%, 对比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** IHC 对 HER-2 基因予以检测时若结果为阴性或者强阳性则与 FISH 符合率较高, 同时 HER-2 基因表达与腋淋巴结转移之间呈正相关关系。

【关键词】 荧光原位杂交技术; 乳腺原发癌; 淋巴结转移癌; HER-2 基因

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.17.039 文章标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)17-2582-02

Role of HER-2 gene expression in pathogenesis of breast primary carcinoma and lymph node metastatic carcinoma OU Wu-ying¹, ZHONG Wei-da² (1. Department of Clinical Laboratory, Haikou Municipal People's Hospital, Haikou, Hainan 570208, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Hainan Obstetrics and Gynecology Hospital, Haikou, Hainan 570105)

【Abstract】 Objective To investigate the expression and significance of HER-2 gene expression in primary breast cancer and lymph node metastatic carcinoma by using fluorescence in situ hybridization technique. **Methods** 40 cases of primary breast cancer in the Haikou Municipal People's Hospital from January 2013 to January 2014 were selected as the research subjects and their clinical data were retrospectively analyzed. The fluorescence in situ hybridization (FISH) technique and immunohistochemical (IHC) techniques were used to detect the expression of HER-2 gene in operation excision specimens of all patients. **Results** The positive rate of FISH was 42.5%, which of IHC was 57.5%; in negative IHC, the coincidence rate with FISH was 88.2%, the coincidence rate of IHC (+) with FISH was 37.5%, which of IHC (++) with FISH was 83.3% and which of IHC (+++) with FISH was 100%. The lymph node metastasis positive rate was 66.67%, non-lymph node metastasis positive rate was 32.14%, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Detecting HER-2 gene by IHC, if the result is negative or strongly positive, the coincidence rate with FISH is higher, at the same time the HER-2 gene expression is positive correlated with axillary lymph node metastasis.

【Key words】 fluorescence in situ hybridization; primary breast cancer; lymph node metastasis; HER-2 gene

乳腺癌为恶性肿瘤, 在临床中常见。近年来随着人们生活习惯的改变, 乳腺癌发病率逐渐上升, 而临床却无法有效控制其病死率^[1]。对于乳腺癌患者而言, 转移是导致其病死的主要原因。肿瘤转移过程极其复杂, 与生物学有关, 当前使用常规病理学无法准确评估不同患者肿瘤转移潜能以及预后^[2]。而经大量研究后发现 HER-2 基因密切关联于乳腺癌患者的治疗方案, 例如化疗、内分泌、Herceptin、预后等方案的选择^[3]。本文为探讨使用荧光原位杂交技术检测乳腺原发癌和淋巴结转移癌 HER-2 基因的表达及意义, 现选取患者 40 例作为研究对象, 回顾性分析其临床资料, 并报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取海口市人民医院 2013 年 1 月至 2014 年 1 月收治的乳腺原发癌患者 40 例作为研究对象, 收集所有患者的手术切除标本, 应用荧光原位杂交技术(FISH)与免疫组

织化学技术(IHC)对所有患者手术切除标本的 HER-2 基因表达予以检测。40 例患者年龄 31~79 岁, 平均 (56.3 ± 4.7) 岁; 38 例为浸润性导管癌, 浸润性小叶癌与浸润性导管-小叶癌各为 1 例。使用 10% 中性福尔马林对所有标本予以固定, 并使用常规石蜡进行包埋处理。

1.2 方法 FISH 检测法: 组织切片每片为 $2 \mu\text{m}$, 将其放置于载玻片上, 之前已使用 L-多聚赖氨酸对载玻片予以处理, 而后放置于 65°C 环境下烘烤, 过夜后按照试剂盒说明书严格规范试验操作。FISH 试剂盒产自北京金菩嘉。IHC 检测法: 组织切片每片为 $4 \mu\text{m}$, 将其放置于载玻片上, 之前已使用 L-多聚赖氨酸对载玻片予以处理, 而后放置于 65°C 环境下烘烤, 时间持续 1 h, 而后按照试剂盒标准严格规范操作, 该试剂盒产自福州迈新。质量控制: 载玻片经多聚赖氨酸处理后, 设置不同的 DNA 样品区, 将不同 DNA 样品溶液分别加到其上, 风干后紫

外交联仪照射,使 DNA 结合到玻片上,得到简化的染色体片,而后进行免疫检测,通过不同区域信号的反应得出荧光原位杂交质量反馈。采用本监控方法,可以快速地锁定杂交过程中出现问题的中间环节,并进行相应的纠正,从而快速高效地应用 FISH 技术。

1.3 结果判定标准 FISH:对 30 个细胞核予以计数,对 Ratio(细胞核中红信号总数与率信号总数的比值)予以统计,若 Ratio 在 1.8 以下则为阴性,说明该样本中不存在 HER-2 基因扩增现象;若在 2.2 以上则为阳性,说明该样本中存在 HER-2 基因扩增现象;若 Rati 在 1.8~2.2,则可计数 100 个细胞核,或者再次开展 FISH 检测对最终结果予以判断。IHC:若癌细胞出现棕褐色则代表为阳性,结合染色强度对阳性程度予以划分,主要有弱阳性(+):10%以上的肿瘤细胞有不完整且微弱的细胞膜着色;中度阳性(++):10%以上的肿瘤细胞有完整且弱或者中度的细胞膜着色;强阳性(+++):10%以上的肿瘤细胞有完整且强的细胞膜着色。

1.4 统计学处理 应用 SPSS22.0 对全部数据予以统计学处理,对比以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种检测方法的 HER-2 基因表达对比 FISH 检测后阳性 17 例(42.5%),IHC 阳性 23 例(57.5%)。两者符合率如表 1 所示。

表 1 FISH 与 IHC 检测 HER-2 基因的符合率对比

类型	IHC(n)	FISH(n)	符合率(%)
阴性	17	15	88.2
阳性(+)	8	3	37.5
IHC(++)	12	10	83.3
IHC(+++)	3	3	100.0

2.2 HER-2 基因表达与淋巴结转移的关系 淋巴结转移与淋巴结未转移阳性率对比,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 HER-2 基因表达与淋巴结转移的关系

检测结果	淋巴结转移(n)	淋巴结未转移(n)	合计(n)
FISH(-)	4	19	23
FISH(+)	8	9	17
阳性率(%)	66.67	32.14	100.00

3 讨 论

HER-2 基因存在于人体 17q21,185×10³ 跨膜糖蛋白为其编码分子,属于原癌基因。一般而言 HER-2 基因不会诱发肿瘤,其自身有诸多 Tyr(酪氨酸残基)磷酸化位点,在受体分子膜区亦存在 PTK(酪氨酸蛋白激酶)活性^[4-5]。当生长因子结合于 HER-1、3 或者 4 后,会引发蛋白膜外区构象产生变化,结合于 HER-2 生成异二聚体,增加细胞膜内的 PTK 活性,致使 Tyr 自身出现磷酸化。存在于 HER-2 蛋白膜内段的磷酸化位点为识别 PTK 底物的位点,可对特定信号蛋白产生作用^[6-7]。因此,Tyr 是否出现磷酸化对于下游底物分子的解离与结合状态有决定作用,可对信号转导予以调节。一旦失控会持续开启增殖信号途径,进而诱发肿瘤。HER-2 指标不仅密切相关于肿瘤发展,同时还可作为预后指标^[8-10]。

当前诊断 HER-2 基因主要有 IHC 与 FISH 法,前者操作

简易,重复性好,且成本低,敏感性较强,故而使用广泛,但是会致使抗原决定簇丢失,且经标准化固定后会改变抗原进而降低其敏感性,会导致检测结果出现假阳性或者假阴性,对其精确性存在影响^[11]。FISH 主要是对 DNA 予以检测,具有较高的可重复性、特异性以及稳定性,且不会受到主观因素的影响,客观性较强,因此世界卫生组织将其作为金标准^[12]。

在本研究中,使用 IHC 与 FISH 法对乳腺原发癌与淋巴结转移癌 HER-2 基因表达予以检测后发现 FISH 阳性率为 42.5%,IHC 为 57.5%;IHC 阴性时与 FISH 符合率为 88.2%,IHC(+)与 FISH 符合率为 37.5%,IHC(++)与 FISH 符合率为 83.3%,IHC(+++)与 FISH 符合率为 100.0%。淋巴结转移阳性率为 66.67%,未转移阳性率为 32.14%,对比差异有统计学意义($P<0.05$)。与宋宝等^[13]的研究结果相近。

综上所述,IHC 对 HER-2 基因予以检测时若结果为阴性或者强阳性则与 FISH 符合率较高,同时 HER-2 基因表达与腋淋巴结转移之间呈正相关关系^[14-15]。

参考文献

[1] 董筱莉,俞杨,王自正,等. SSTR2 与 Her-2 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 放射免疫学杂志,2008,21(5):459-462.

[2] Stammberger HR. "Uncapping the Egg", the endoscopic approach to frontal recess and sinuss. D-78713 schramberg[J]. Germany,2010,17(6):7-15.

[3] Kew J,Rees GL,Close D. Multiplanar reconstructed computed tomography images improves depiction and understanding of the anatomy of the frontal sinus and recess[J]. Am J Rhinol,2010,16(2):119-123.

[4] Shelbourne KD,Bruckmann RR. Rush-pin fixation of supracondylar and intercondylar fractures of the femur[J]. J Bone Joint Surg Am,2010,64(2):161-169.

[5] Stammberger HR,Kennedy DW. Paranasal sinuses; anatomic terminology and nomenclature[J]. Ann Oto Rhinol Laryngol,2011,167(Suppl):7-16.

[6] Wormald PJ. The agger nasi cell;the key to understanding the anatomy of the frontal recess[J]. Otolaryngol Head Neck Surg,2011,129(16):497-507.

[7] 张金子,张凤艳,林贞花,等. 乳腺癌中 shh、ptch 和 smo 蛋白过表达的临床病理学意义[J]. 临床与病理学实验杂志,2010,26(5):518-522.

[7] Zhang J,Zhang F,Lin Z,et al. Chinicopathological significance of shh,ptch and smo protein overexpression in breast cancers[J]. Chinese Journal of Clinical and experimental pathology,2010,26(5):518-522.

[8] Choi BI, Lee HJ, Han JK, et al. Detection of hypervascular nodular hepatocellular carcinomas: value of triphasic helical CT compared with iodizedoil CT[J]. AJR,2010,157(2):219-224.

[9] Ten-Haaf A,Bektas N,von Serenyi S, et al. Expression of the glioma-associated oncogene homolog(Gli)1 in human breast cancer is associated with unfavorable overall survival[J]. BMC cancer,2009,9(9):298.

[10] Regl G,Kasper M,Schnidar H, et al. (下转第 2586 页)

应^[10]。探讨不同麻醉方式对老年患者术后镇痛效果的研究显得尤为重要,本研究采用临床上最常使用的三种麻醉方式进行术后镇痛效果的比较^[11-12]。本研究立足于对比三种麻醉方式,因此三组患者均采用相同的静脉镇痛方法来消除镇痛方法不同对镇痛效果的影响。静脉镇痛具有起效快,效果确切,不受麻醉方式和手术区域限制的优势,并能将患者间药代动力学和药效学差异的影响减小到最小,因此采用静脉镇痛成为本研究的镇痛方法^[13-14]。

本研究入选的 180 例患者均没有在手术 24 h 前服用任何镇痛药物,有利于观察三组镇痛效果的准确性。同时在静脉镇痛期间采用相同的给药剂量和滴注速度,有效减少人为因素的影响,避免对 VAS 评分的偏差。三种麻醉方式相比较,采用外周神经阻滞麻醉方式的患者在术后 12 h 内的 VAS 评分值优于其他两组,可能源于麻醉药物罗哌卡因在腰丛或者股神经部位的代谢和作用时间引起良好效果。而全身麻醉组采用的阿片类药物作用时间相对较短,阿片类的快速衰变也容易引起患者的快速耐受,从而使得该组在术后早期的评分高于其他两组。术后 24、48 h 后,三组评分的差异均无统计学意义($P>0.05$),提示麻醉方式虽然对镇痛效果会产生影响,但其影响范围只存在于术后 12 h 之内,这与 Kalkman 等^[15]、齐鹏亮和石玉琴^[16]的研究结果一致。

影响术后镇痛效果的因素有很多,涵盖了医生手术技能,护士护理能力,药物用量等诸多因素。因此评价三种麻醉方式对镇痛效果的影响只为临床实践提供一定借鉴。骨科手术后的疼痛不能根除,只能通过各种途径进行缓解和减少,而本研究比较三种麻醉方式之后得出的外周神经阻滞麻醉结合静脉镇痛方法可以有效缓解患者术后疼痛,达到较高的满意度^[17]。

参考文献

[1] 蒋敏敏. 全身麻醉和硬膜外麻醉对老年骨科患者术后短期认知功能的影响[J]. 当代医学, 2014, 20(23): 20-21.
[2] 聂彩萍. 全身麻醉与腰-硬联合麻醉对老年骨科手术的影响观察[J]. 临床与实践, 2013, 17(35): 4662-4663.
[3] 刘钟珊, 杨义. 下肢手术不同方法术后镇痛效果观察[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(15): 96-97.
[4] 王晓山, 刘沛, 王东信, 等. 氟比洛芬酯复合舒芬太尼镇痛对骨科患者术后谵妄发生率的影响[J]. 临床麻醉学杂

志, 2012, 28(2): 152-154.
[5] 赵诚, 田志海. 舒芬太尼自控静脉镇痛复合伤口局部浸润在全麻骨科手术患者中的应用[J]. 医学临床研究, 2013, 30(2): 398-399.
[6] 谭冠先, 邓遁封, 李文志, 等. 疼痛诊疗学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 154.
[7] 周颖, 李振英, 刘浩东, 等. 不同麻醉方法对腹腔镜子宫切除术患者应激反应的影响[J]. 中国医师杂志, 2011, 12(9): 1208-1210.
[8] 胡其书. 创伤性休克手术中的麻醉管理[J]. 现代医药卫生, 2011, 22(16): 2497.
[9] Matsubara T, Ichiyama T, Furukawa S. Immunological profile of peripheral blood lymphocytes monocytes/macrophages in Kawasaki disease [J]. Clin Exper Imuno, 2013, 141(3): 381-387.
[10] 李海万. 骨科下肢术后自控镇痛效果及不良反应 90 例对照研究[J]. 中国民康医学, 2012, 24(9): 1085-1087.
[11] 赖晓红, 杨承祥, 王汉兵, 等. 舒芬太尼复合地佐辛术后镇痛对腹腔镜下胃癌根治术患者 IL-2、IL-6 水平和血循环微转移的影响[J]. 广东医学, 2014, 35(16): 2540-2542.
[12] 刘玉文. 氟比洛芬酯超前镇痛对骨科手术术后镇痛临床效果分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2014, 13(3): 203-206.
[13] 黄波, 窦智, 蒋宗滨. 两种镇痛方式对骨科下肢手术患者术后镇痛效果的 Meta 分析[J]. 实用疼痛学杂志, 2012, 8(2): 136-139.
[14] Miller RD. 米勒麻醉学[M]. 7 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2011: 2285-2287, 2785-2797.
[15] Kalkman CJ, Visser K, Moen J, et al. Preoperative prediction of severe postoperative pain[J]. Pain, 2003, 105(3): 415-423.
[16] 齐鹏亮, 石玉琴. 麻醉方式对老年患者骨科术后镇痛效果的影响[J]. 临床医学, 2013, 26(2): 65-67.
[17] 王吉彬. 探讨不同麻醉方式对妇科手术患者术后镇痛的影响[J]. 吉林医学, 2012, 33(9): 1845.

(收稿日期: 2015-04-11 修回日期: 2015-04-25)

(上接第 2583 页)

Activation of the BCL2 promoter in response to Hedgehog/GLI signal transduction is pre-dominantly mediated by GLI2[J]. Cancer Res, 2004, 64(21): 7724-7731.
[11] Khan MA, Combs CS, Brunt EM, et al. Positron emission tomography scanning in the evaluation of hbeptocellular carcinoma[J]. Ann Nucl Med, 2009, 14(2): 121-126.
[12] Tabit CE, Chung WB, Hamburg NM, et al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2010, 11(1): 61-74.
[13] 宋宝, 郑刚, 谢丽, 等. 乳腺癌组织与转移淋巴结 HER-2

基因表达及检测方法的比较[J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(1): 70-72.
[14] Izzard AS, Rizzoni D, Agabiti-Rosei E, et al. Small artery structure and hypertension: adaptive changes and target organ damage[J]. J Hypertens, 2011, 23(2): 247-250.
[15] Tabit CE, Chung WB, Hamburg NM, et al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2010, 1(1): 61-74.

(收稿日期: 2015-03-28 修回日期: 2015-04-25)