

• 临床研究 •

ISH group 2 浸润性乳腺癌的临床病理组织学观察

王智慧, 王波, 孙柯, 孙婷

【摘要】目的 探讨表皮生长因子2 (HER2)/CEP17 比值 ≥ 2.0 且平均 HER2 拷贝数/细胞 < 4.0 的浸润性乳腺癌 (ISH group 2) 的临床病理组织学特征。**方法** 收集 ISH group 2 浸润性乳腺癌病例 65 例,同时收集 ISH group 1 (HER2/CEP17 比值 ≥ 2.0 且平均 HER2 拷贝数/细胞 ≥ 4.0)和 ISH group 5 (HER2/CEP17 比值 < 2.0 且平均 HER2 拷贝数/细胞 < 4.0)的浸润性乳腺癌病例各 200 例,对 3 组的临床病理学资料进行分析。**结果** 65 例 ISH group 2 病例中有 16 例(24.6%)大于 60 岁。浸润性导管癌是 3 组中最主要的组织学类型,占比均超过 90%。ISH group 2 中 WHO 分级为 I、II、III 级例数分别为 0、26(40.0%)及 24(36.9%)。ISH group 1 和 ISH group 2 病例的肿瘤大小相似,均大于 ISH group 5 病例(均 $P < 0.05$)。与 ISH group 5 病例相比,ISH group 1 和 ISH group 2 病例更易发生淋巴结的转移。ISH group 2 病例中雌激素受体及孕激素受体阳性分别有 51 例(78.5%)和 44 例(67.7%),与 ISH group 1 组相比,阳性率更高(均 $P < 0.05$)。**结论** ISH group 2 浸润性乳腺癌是一组生物学行为介于 ISH group 1 和 ISH group 5 之间的特殊类型。

【关键词】 乳腺癌; HER2; 荧光原位杂交; 免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.10.008

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2024)10-1293-04

乳腺癌是女性患者最常见的恶性肿瘤之一^[1]。表皮生长因子2(HER2)基因扩增会造成 HER2 蛋白过表达^[2]。HER2 阳性与预后不良有关^[3-4],但阳性患者可从抗 HER2 靶向治疗中获益^[5-7]。因此,准确检测评估 HER2 状态至关重要。目前,常用的 HER2 检测方法包括免疫组织化学(IHC)和荧光原位杂交(FISH)。美国临床肿瘤学会/美国病理医师学会(ASCO/CAP)发布的 2018 版乳腺癌 HER2 检测指南指出,ISH group 2 结果判定需结合 HER2 IHC,当 IHC 为 3+时,判读为阳性;当 IHC 为 2+时,由另外 1 位不知情的医师重新计数,如结果不一致,进入内部流程,综合分析两次检测的情况;如结果一致,与 IHC 0 或 1+一样判读为阴性^[8-9]。国内对 2018 版 ASCO/CAP 指南进行总结,并发布《乳腺癌 HER2 检测指南(2019 版)》^[10]。该指南认为在 ISH group 2 中,IHC 3+的患者极其罕见,因此在增加计数,FISH 结果维持不变的情况下判为阴性。两版指南均要求 ISH group 2 判为阴性时,对结果加以注释。

ISH group 2 在乳腺癌中的发生率仅为 0.4%~

3.7%^[8,11-13],此类患者能否从赫赛汀治疗中获益缺乏充分依据。因此,本研究收集分析了 65 例 ISH group 2 病例,并选取同期 ISH group 1 和 5 病例作为对照,为其治疗和判断预后提供相关参考信息,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集浙江大学医学院附属第一医院病理科 2009 年 1 月至 2023 年 8 月检测结果为 ISH group 2 的浸润性乳腺癌 65 例,并随机选取了同时期检测结果为 ISH group 1 和 ISH group 5 的浸润性乳腺癌各 200 例作为对照。本研究获得浙江大学医学院附属第一医院伦理审查委员会批准,豁免/免除知情同意。

1.2 方法 所有临床病理学特征资料均来源于病理报告,包括患者年龄、肿瘤类型、WHO 分级、肿瘤大小、淋巴结转移情况、雌激素受体(ER)及孕激素受体(PR)等。

1.3 IHC 检测 在光学显微镜下对 HE 切片进行观察、综合评估后,选取适合的蜡块切片 3 μm 行 IHC 检测。所用一抗为 HER2(4B5, Ventana 公司)抗体,以 ultra View Universal DAB 和苏木精显色,其操作过程均通过 Benchmark XT(Ventana 公司)全自动染

作者单位: 310000 杭州,浙江大学医学院附属第一医院

通信作者: 王波, Email: 1506128@zju.edu.cn

色系统完成。

1.4 FISH检测 取石蜡包埋的组织切片3~4 μm , 65 $^{\circ}\text{C}$ 左右烤片2h以上,待石蜡完全融化后立刻放入室温二甲苯中进行脱蜡、水化。将切片置于预热至90 $^{\circ}\text{C}$ 以上的去离子水中修复40min。取出后用37 $^{\circ}\text{C}$ 胃蛋白酶消化18min,使细胞核裸露。消化完成的切片脱水、自然晾干后,在组织表面滴加适量的HER2/CEP17探针(武汉康录),立即加盖盖玻片,并用橡胶水泥封边。将玻片置于原位杂交仪(Thermo-Brite S500-24)中85 $^{\circ}\text{C}$ 变性5min后42 $^{\circ}\text{C}$ 杂交过夜。次日,去除橡皮水泥和盖玻片后,将玻片依次置于常温2 \times SSC中1min,68 $^{\circ}\text{C}$ 的0.3%NP40/0.4 \times SSC中2min,37 $^{\circ}\text{C}$ 去离子水中1min。脱水后自然晾干,在组织上滴加适量的4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI),并立即加盖盖玻片进行封片。将处理完成的FISH片置于Olympus BX51荧光显微镜下进行判读。FISH判读标准参照《乳腺癌HER2检测指南(2019版)》。

1.5 统计方法 采用SPSS 22.0统计软件进行处理,计数资料以例数表示,组间比较采用 χ^2 检验或Fisher精准检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ISH group 2病例的临床病理学特征 ISH group 2组包含53例手术切除标本和12例粗针穿刺标本。在53例手术切除标本中,有50例浸润性导管癌,1例浸润性小叶癌和2例浸润性导管癌伴有黏液腺癌或微乳头状癌成分。3组年龄差异有统计学意义($P < 0.05$),ISH group 5组年龄大于ISH group 1组($P < 0.05$);3组病理组织学类型主要是浸润性导管癌,均占90%以上,差异无统计学意义($P > 0.05$);3组WHO分级差异有统计学意义($P < 0.05$),与ISH group 2组相比,ISH group 1组有更高的WHO分级($P < 0.05$),ISH group 5组级别更低($P < 0.05$);3组肿瘤大小差异有统计学意义($P < 0.05$),ISH group 1组和ISH group 2组的最大径超过2cm的病例占比都明显高于ISH group 5组(均 $P < 0.05$);3组淋巴结转移差异有统计学意义($P < 0.05$),ISH group 1组和ISH group 2组淋巴结转移发生率都高于ISH group 5(均 $P < 0.05$);3组ER及PR阳性率差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),ISH

group 1组ER及PR阳性率最低,见表1。

2.2 ISH group 2病例HER2 IHC结果 ISH group 2 IHC结果为0、1+、2+、3+的病例分别为8、18、38、1例。其中IHC 3+的手术切除标本HER2 IHC呈现较强的异质性,强染色区域占比超过浸润区肿瘤细胞的10%,其余区域显色为2+,见图1~2。严格按照2019版中国专家共识评估后将其判定为IHC 3+。其FISH结果也存在异质性,扩增明显区域计数结果为平均HER2拷贝数/细胞:4.90,平均CEP17拷贝数/细胞:1.97,HER2/CEP17比值:2.49,见图3;其余区域计数结果为平均HER2拷贝数/细胞:3.73,平均CEP17拷贝数/细胞:1.50,HER2/CEP17比值:2.49,见图4,且扩增细胞占浸润癌10%以下。因此,FISH整体评估为阴性。结合HER2 FISH结果,根据2019版中国专家共识,该组65例病例全部判定为HER2阴性;若根据2018版ASCO/CAP,该例IHC 3+病例将判定为HER2阳性。

3 讨论

根据2018版ASCO/CAP^[8],将FISH结果分为5组:(1)ISH group 1。HER2/CEP17比值 ≥ 2.0 且平均HER2拷贝数/细胞 ≥ 4.0 ;(2)ISH group 2。HER2/CEP17比值 ≥ 2.0 且平均HER2拷贝数/细胞 < 4.0 ;(3)ISH group 3。HER2/CEP17比值 < 2.0 且平均HER2拷贝数/细胞 ≥ 6.0 ;(4)ISH group 4。HER2/CEP17比值 < 2.0 且 $4.0 \leq$ 平均HER2拷贝数/细胞 < 6.0 ;(5)ISH group 5。HER2/CEP17比值 < 2.0 且平均HER2拷贝数/细胞 < 4.0 。本研究65例ISH group 2病例,占同期诊断的所有浸润性乳腺癌病例的0.4%,发生率与文献[8]相近。

HER2状态是靶向治疗疗效评估的重要因素^[14],假阳性可能导致患者无效治疗及产生毒副作用,而假阴性可能使潜在受益的患者失去治疗机会^[15]。靶向药物主要通过阻断HER2蛋白来干扰乳腺癌的生长进程,而非HER2基因扩增本身。有研究表明,在靶向治疗中,HER2 IHC 3+比IHC 2+伴HER2基因扩增的乳腺癌患者受益更大^[16]。尽管临床试验BCIRG-005和006中,35例ISH group 2病例的无病生存期(DFS)和总生存期(OS)在靶向治疗下未见明显获益^[12],但由于数量太少且无IHC 3+病例,仍缺

参 考 文 献

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61 (2): 69-90.
- [2] KALLIONIEMI O P, KALLIONIEMI A, KURISU W, et al. ERBB2 amplification in breast cancer analyzed by fluorescence in situ hybridization[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(12): 5321-5325.
- [3] FERRETTI G, FELICI A, PAPALDO P, et al. HER2/neu role in breast cancer: From a prognostic foe to a predictive friend[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2007, 19(1): 56-62.
- [4] PONDE N, BRANDAO M, EL-HACHEM G, et al. Treatment of advanced HER2-positive breast cancer: 2018 and beyond[J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 67: 10-20.
- [5] SLAMON D J, LEYLAND-JONES B, SHAK S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344 (11): 783-792.
- [6] MARTY M, COGNETTI F, MARANINCHI D, et al. Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: The M77001 study group[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(19): 4265-4274.
- [7] GIANNI L, DAFNI U, GELBER R D, et al. Treatment with trastuzumab for 1 year after adjuvant chemotherapy in patients with HER2-positive early breast cancer: A 4-year follow-up of a randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(3): 236-244.
- [8] WOLFF A C, HAMMOND M E H, 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.
- [9] WOLFF A C, HAMMOND M E, HICKS D G, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American society of clinical oncology/college of American pathologists clinical practice guideline update[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2014, 138(2): 241-256.
- [10] 《乳腺癌 HER 检测指南(版)》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南 (2019 版)[J]. *中华病理学杂志*, 2019, 48(3): 169-175.
- [11] PRESS M F, VILLALOBOS I, SANTIAGO A, et al. Assessing the new American society of clinical oncology/college of American pathologists guidelines for HER2 testing by fluorescence in situ hybridization: Experience of an academic consultation practice[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2016, 140(11): 1250-1258.
- [12] PRESS M F, SAUTER G, BUYSE M, et al. HER2 gene amplification testing by fluorescent in situ hybridization (FISH): Comparison of the ASCO-college of American pathologists guidelines with FISH scores used for enrollment in breast cancer international research group clinical trials[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(29): 3518-3528.
- [13] BALLARD M, JALIKIS F, KRINGS G, et al. 'non-classical' HER2 FISH results in breast cancer: A multi-institutional study[J]. *Mod Pathol*, 2017, 30(2): 227-235.
- [14] SLAMON D, EIERMANN W, ROBERT N, et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(14): 1273-1283.
- [15] JAHANZEB M. Adjuvant trastuzumab therapy for HER2-positive breast cancer[J]. *Clin Breast Cancer*, 2008, 8(4): 324-333.
- [16] KRISTEL-WHITTEMORE M, XU J, BROGI E, et al. Pathologic complete response rate according to HER2 detection methods in HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant systemic therapy [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 177(1): 61-66.
- [17] HODA R S, ZAREI S, MCINTIRE P J, et al. Clinical and pathologic features associated with invasive breast carcinoma with 2018 American society of clinical oncology/college of American pathologists in situ hybridization group 2 results (human epidermal growth factor receptor 2[HER2]/chromosome 17 centromere[CEP17]ratio ≥ 2.0 and average HER2 copy number 4.0)[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2022, 146(6): 701-709.
- [18] LIU Y Y, WU S F, SHI X H, et al. Breast cancer with a HER2 IHC2+ and FISH HER2/CEP17 ratio ≥ 2.0 and an average HER2 gene copy number 4.0 per tumor cell: HER2 mRNA overexpression is a rare event[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 985.
- [19] ZARE S Y, LIN L, ALGHAMDI A G, et al. Breast cancers with a HER2/CEP17 ratio of 2.0 or greater and an average HER2 copy number of less than 4.0 per cell: Frequency, immunohistochemical correlation, and clinicopathological features[J]. *Hum Pathol*, 2019, 83: 7-13.
- [20] YANG L B, CHEN M, PU T J, et al. The differences of clinicopathologic characteristics among subgroups of reclassified HER2 fluorescence in situ hybridization (FISH) according to the ASCO/CAP 2018 breast cancer HER2 testing guidelines[J]. *J Clin Pathol*, 2020, 73(5): 283-290.
- [21] WANG X L, TENG X D, DING W, et al. A clinicopathological study of 30 breast cancer cases with a HER2/CEP17 ratio of ≥ 2.0 but an average HER2 copy number of < 4.0 signals per cell[J]. *Mod Pathol*, 2020, 33(8): 1557-1562.

收稿日期: 2024-05-27
(本文编辑: 孙海儿)