

人表皮生长因子受体 3 在乳腺癌组织中的表达及临床意义

房慧颖¹, 张丽杰², 曾晓华^{1△}, 肇伟奇¹ (1. 重庆市肿瘤研究所乳腺科 400030; 2. 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院肿瘤内科, 哈尔滨 150006)

【摘要】 目的 探讨人表皮生长因子受体(HER)3 基因在乳腺癌组织中的表达及其与临床病理学特征和预后的相关性。**方法** 采用免疫组织化学法检测 126 例乳腺癌组织中 HER3 的表达, 分析其表达与患者年龄、月经情况、TNM 分期、肿瘤大小、淋巴结转移、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、HER2 及预后的关系。**结果** (1) 乳腺癌组织中 HER3 的阳性表达率为 30.2%。HER3 阳性表达在乳腺癌绝经患者中占 43.3%, 高于未绝经者的 18.2% ($P<0.05$); 淋巴结转移阳性的乳腺癌患者 HER3 阳性表达率为 40.0%, 高于无淋巴结转移患者的 21.2%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); HER2 阳性的乳腺癌患者 HER3 阳性表达率为 42.5%, 高于 HER2 阴性者的 24.4%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。 (2) HER3 阳性患者的五年无病生存率更低 ($P<0.05$)。 (3) HER3 与 HER2 均阳性的乳腺癌患者淋巴结转移率较高 ($P<0.05$)。**结论** HER3 的表达可能在乳腺癌的发生和发展过程中起重要作用, 并影响其预后, HER3 可能成为判断乳腺癌预后的指标及临床治疗的靶点。

【关键词】 乳腺癌; 人表皮生长因子受体 3; 免疫组织化学

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.02.017 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)02-0192-04

Expression and clinical significance of HER3 in breast carcinoma tissue FANG Hui-ying¹, ZHANG Li-jie², ZENG Xiao-hua^{1△}, NIAN Wei-qi¹ (1. Department of Breast Disease, Chongqing Municipal Tumor Research Institute, Chongqing 400030, China; 2. Department of Oncology, Affiliated Tumor Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150006, China)

【Abstract】 Objective To investigate the expression of human epithelial growth factor receptor-3 (HER3) in breast cancer tissue and its correlation with clinicopathological characteristics and prognosis. **Methods** The immunohistochemical method was used to detect the HER3 expression in 126 specimens of breast cancer tissue. The relation between its expression with age, menstruation situation, tumor size, TNM stage, lymph node metastasis, estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), HER2 and prognosis was analyzed. **Results** (1) The positive expression rate of HER3 in breast cancer tissue was 30.2%. The HER3 positive expression in the breast cancer menopausal patients was 43.3%, which was higher than 18.2% in the non-menopausal ones ($P<0.05$), and the HER3 positive expression in the patients with positive lymph nodes metastasis was 40.0%, which was higher than 21.2% in the non-lymph node metastasis ones, the differences were statistically significant ($P<0.05$); and the HER3 positive expression in the breast cancer patients with HER2 positive was 42.5%, which was higher than 24.4% in the patients with non-HER2 positive, the difference was statistically significant ($P<0.05$). (2) The 5-year disease-free survival (DFS) rate in the HER3 positive patients was lower ($P<0.05$). (3) The lymph node metastasis rate in the patients with both HER3 and HER2 positive was significantly higher ($P<0.05$). **Conclusion** The HER3 expression plays an important role in the development of breast cancer and influences its prognosis, therefore HER3 could be used as an indicator for judging the prognosis of breast cancer and a target point of clinical therapy.

【Key words】 breast carcinoma; human epidermal growth factor receptor 3; immunohistochemistry

人表皮生长因子受体(HER)家族参与激活一系列细胞信号转导途径, 调控细胞的生长、分化等重要过程, 其异常表达也与许多肿瘤的发生有着密切的关系。其中与乳腺癌的发生和进展尤为密切, 过度表达常提示预后不良^[1]。HER3 是 HER 家族的一员, 目前其作用机制尚未完全阐明。Prigent 等^[2]认为 HER3 能够增强细胞抗凋亡的能力, 与预后不良有关。HER3 还能与其他 HER 家族成员异二聚化, 共同作用传递复杂的胞内外信号。但也有实验证明它是一个预后良好的指标^[3]。本研究通过检测乳腺癌组织中 HER3 的表达情况, 探讨其与乳腺癌临床病理学特征和预后的相关性及其临床治疗意

义。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 2004 年 6 月至 2005 年 6 月哈尔滨医科大学附属肿瘤医院乳腺外科手术切除, 并经病理证实的乳腺癌组织 126 例。标本均用 10% 甲醛固定, 常规石蜡包埋存档组织块。所有患者术前均未发现远处转移, 未接受放、化疗, 临床病理资料齐全, 同期病例术后治疗基本一致。患者均为女性, 年龄 29~68 岁, 中位年龄 49 岁, 根据 2002 年美国癌症联合会(AJCC)乳腺癌分期标准进行 TNM 分期。术后随访 5 年。

1.2 主要试剂 Rabbit Anti-HER3、链霉素抗生物素蛋白-过

氧化物酶(SP)免疫组织化学试剂盒、生物素化二抗工作液及二氨基联苯胺(DAB)染色试剂盒均购于北京博奥森生物技术有限公司。

1.3 免疫组织化学染色 石蜡标本 4 μm 连续切片,脱蜡、水化,3% H₂O₂ 溶液 10 min 阻断内源性过氧化物酶活性,磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗 3 次,每次 3 min。枸橼酸盐修复液中热处理 15 min,10% 山羊血清封闭液 20 min。滴加一抗,4 ℃ 孵育过夜后 PBS 洗 3 次,滴加二抗,37 ℃ 孵育 30 min,PBS 浸洗,DAB 显色,苏木素复染,常规脱水,透明、中性树胶封片。

1.4 结果判定 乳腺癌细胞中 HER3 阳性物质在细胞膜及细胞质中均有表达。按阳性细胞百分比及着色强度综合计分做半定量分析,每例切片在 400 倍显微镜随机选取 5 个高倍镜视野计数,每个区域计数 200 个癌细胞,共计 1 000 个细胞,计算阳性细胞的百分数。具体判断标准按照:0 级为无细胞棕黄色染色;1 级为 5%~20% 肿瘤细胞质或细胞膜呈弱棕黄色染色;2 级为 20%~50% 肿瘤细胞质或细胞膜呈弱到中棕黄色染色;3 级为 50%~75% 肿瘤细胞质或细胞膜呈中到强棕黄色染色;4 级为大于 75% 肿瘤细胞质或细胞膜呈中到强棕黄色染色。将 2 级以上(包括 2 级)作为阳性标准。

1.5 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件包对资料进行统计和分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,预后判断采用 Kaplan-Meier 生存分析,各指标无病生存率曲线的差异用 log-rank 检验进行比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 表达定位 免疫组织化学染色结果显示,乳腺癌细胞中 HER3 阳性物质在细胞膜及细胞质中均有表达,可见细胞膜与细胞质呈现深棕色染色。见图 1。

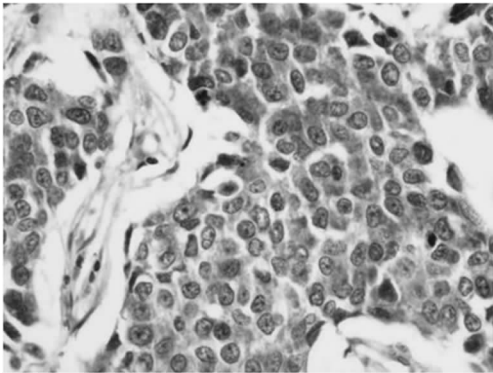


图 1 HER3 在乳腺癌细胞中的阳性表达 (SP 法,×400)

2.2 乳腺癌组织中 HER3 的阳性表达与临床病理学特征的关系 乳腺癌组织中 HER3 的阳性表达率为 30.2% (38/126)。HER3 在>50 岁的患者中阳性表达率高于≤50 岁的患者,但差异无统计学意义($P>0.05$);HER3 阳性表达率与 TNM 分期、肿瘤大小无关($P>0.05$);雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)阳性患者 HER3 阳性表达率高于 ER、PR 阴性者,但差异无统计学意义($P>0.05$);绝经后乳腺癌患者中 HER3 阳性表达率为 43.3%,高于未绝经者的 18.2%,差异有统计学意义($P=0.002$);淋巴结转移阳性的乳腺癌患者 HER3 阳性表达率为 40.0%,高于无淋巴结转移者的 21.2%,差异有统计学意义($P=0.022$);HER2 阳性的乳腺癌患者 HER3 阳性表达率为 42.5%,高于 HER2 阴性者的 24.4%,差异有统计学意

义($P=0.040$)。见表 1。

表 1 乳腺癌组织中 HER3 的表达与临床病理学特征的关系

临床病理因素	<i>n</i>	HER3 阳性 (<i>n</i>)	阳性表达率 (%)	χ^2	<i>P</i>
年龄					
≤50 岁	74	18	24.3	2.898	>0.05
>50 岁	52	20	38.5		
月经情况					
绝经	60	26	43.3	9.439	<0.05
未绝经	66	12	18.2		
TNM 分期					
I 期	24	8	33.3	1.821	>0.05
II 期	80	26	32.5		
III 期	22	4	18.2		
肿瘤大小					
≤2 cm	38	14	36.8	4.519	>0.05
>2~5 cm	80	18	22.5		
>5 cm	8	3	50.0		
淋巴结转移					
+	60	24	40.0	5.267	<0.05
—	66	14	21.2		
ER					
+	52	20	38.5	2.898	>0.05
—	74	18	24.3		
PR					
+	50	18	36.0	1.343	>0.05
—	76	20	26.3		
HER2					
+	40	17	42.5	4.238	<0.05
—	86	21	24.4		

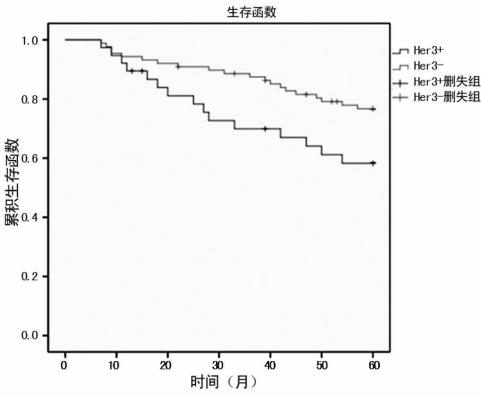


图 2 乳腺癌组织 HER3 表达与无病生存时间的关系

2.3 乳腺癌组织中 HER3 的表达与预后的关系 所有乳腺癌中 HER3 表达阳性与阴性者的五年无病生存率分别为 52.6% (20/38) 和 70.5% (62/88), 分析显示 HER3 阳性患者的五年无病生存率更低($\chi^2=4.693, P=0.03$), 见图 2。HER2

阳性乳腺癌中 HER3 阳性与阴性患者五年无病生存率分别为 41.2% (7/17)、60.9% (14/23), 差异有统计学意义 ($\chi^2=4.047, P=0.044$), 见图 3。

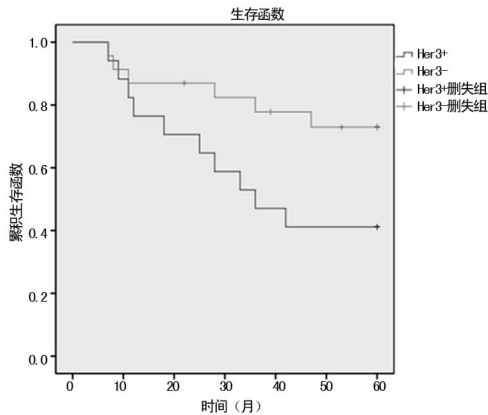


图 3 HER2 阳性乳腺癌 HER3 表达与无病生存时间的关系

2.4 HER3 及 HER2 表达与淋巴结转移的关系 Mantel-Haenszel 分层分析发现:HER3(+)且 HER2(+)的淋巴结阳性比例为 64.7% (11/17), 高于其他三组淋巴结阳性比例, 差异有统计学意义 ($P=0.045$), 见表 2。

表 2 HER3 与 HER2 联合表达与淋巴结转移的关系

组别	淋巴结转移		χ^2	P
	+	-		
HER3(+)且 HER2(+)	11	6	4.028	0.045
HER3(-)HER2(+)	12	11		
HER3(+)HER2(-)	13	8		
HER3(-)且 HER2(-)	24	41		

3 讨 论

HER3 于 1989 年在 mRNA 水平上被检测到存在于多种肿瘤细胞系中^[4]。HER3 基因位于 12 号染色体上, 编码一种相对分子质量为 160×10^3 的跨膜蛋白^[5]。由于 HER3 的胞内区激酶活性缺失^[2], 必须通过与其他 HER 成员结合发挥信号转导作用, 这也使得 HER3 成为介导二聚体反应的重要受体, 在肿瘤细胞的转化、迁移中起到不可或缺的作用。有研究显示, HER3 在乳腺癌中的表达水平明显高于正常组织^[4], 其过表达可能与基因的放大作用和转录增强有关。Badra 等^[6]研究显示 HER3 在侵袭性乳腺癌中有 20%~30% 存在过表达。在 Travis 等^[7]的实验中, 认为 HER3 的表达与肿瘤大小及病理类型相关。Chiu 等^[8]指出 HER3 的过表达在疾病生存率上显示出明显的负面预测作用, 可能是一个预后不良的亚型。但是也有实验证明 HER3 过表达与脉管、淋巴结侵犯及 ER 阴性有关^[9]。

HER3 与 HER2 二聚体是 HER 家族中最重要的促有丝分裂二聚体。HER3 是 HER2 转化过程中唯一的配偶体, 如果没有 HER3, HER2 无法进行细胞转化^[10]。当 HER2 被拮抗时, HER3 的信号传导活性也随之降低^[11]。HER2 过表达的乳腺癌组织中 HER3 的表达及磷酸化水平都增加, 下游磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号活性也增强^[12]。体外转染 HER2 过表达小鼠模型中, 阻断 HER3 的表达能够

使肿瘤逆转^[13]。HER3 不仅与 HER2 关系密切, 而且还与人表皮生长因子受体(EGFR)在肿瘤中的作用有关, 在肺癌中 EGFR 的突变活性与 HER3 磷酸化及其与 PI3K 的耦联有关^[14]。Sithanandam 等^[15]研究人肺癌细胞周期时提出 HER3 是 HER3/PI3K/Akt 途径的开关, 同时发现 HER3 可以增加周期素 D1 的稳定性, 从而稳定细胞分裂周期。由此推断 HER3 在肿瘤发生和发展中有重要作用。

本研究发现 30.2% 的乳腺癌组织中存在 HER3 的阳性表达。其表达在绝经后乳腺癌患者高于未绝经者, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 这与 Bianchi 等^[16]的研究结果一致, 提示绝经后的 HER3 过表达患者可能预后不良。本研究中发现淋巴结转移阳性的乳腺癌患者 HER3 阳性表达率明显高于无淋巴结转移者 ($P<0.05$), 从而推测 HER3 过表达可能提示较差的预后。Witton 等^[9]的实验也证明 HER3 过表达与淋巴结侵犯有关。目前认为 HER2/HER3 二聚体的表达也与高侵袭性及淋巴结阳性有关^[17]。Bianchi 等^[16]在 145 例乳腺癌患者中证实 HER2 与 HER3 表达呈明显的正相关, 在淋巴结阳性患者中显著表达。Berghoff 等^[18]对 110 例转移性乳腺癌的分析提示 HER2/HER3 共表达提示预后不良。本研究中 HER2 阳性的乳腺癌患者 HER3 表达率明显高于 HER2 阴性者, 提示 HER3 与 HER2 在乳腺癌进程中具有协同作用, 二者通过二聚化作用共同介导胞内外信号转导作用, 激活 PI3K/PKB 途径, 导致细胞的异常增殖。本研究亦发现 HER3 与 HER2 共表达的乳腺癌中淋巴结转移率明显增高 ($P<0.05$)。分析 HER2 阳性乳腺癌中 HER3 阳性者与 HER3 阴性者的无病生存率的差别, 差异有统计学意义 ($P=0.044$), 并且两条生存曲线明显分离, 故提示 HER3 与 HER2 在乳腺癌转移中具有协同作用, 因此针对 HER3 及其信号途径的靶向药物的研究可能为 HER2 靶向治疗耐药的患者提供新的选择。

综上所述, HER3 的表达可能在乳腺癌的发生和发展过程中起重要作用, 并影响其预后, HER3 可能成为判断乳腺癌预后的指标及临床治疗的靶点。

参考文献

[1] Holbro T, Civenni G, Hynes NE, et al. The ErbB receptors and their role in cancer progression[J]. Exp Cell Res, 2003, 284(1): 99-110.

[2] Prigent SA, Gullick WJ. Identification of c-erbB-3 binding-sites for phosphatidylinositol 3'-kinase and SHC using an EGF receptor c-ERBB-3 chimera[J]. EMBO, 1994, 13(12): 2831-2841.

[3] Lee Y, Cho S, Seo JH, et al. Correlated expression of erbB-3 with hormone receptor expression and favourable clinical outcome in invasive ductal carcinomas of the breast[J]. Am J Clin Pathol, 2007, 128(6): 1041-1049.

[4] Bobrow LG, Millis RR, Happerfield LC, et al. c-erbB-3 protein expression in ductal carcinoma in situ of the breast[J]. Eur J Can, 1997, 33(11): 1846-1850

[5] 李苏霞, 张阳, 徐建明, 等. 非小细胞肺癌组织中 HER2、HER3 蛋白表达及其临床意义[J]. 肿瘤防治研究, 2007, 34(10): 764-766.

[6] Badra FA, Karamouzis MV, Ravazoula P, et al. Non-pal-

- pable breast carcinomas; correlation of mammographically detected malignant-appearing microcalcifications and epidermal growth factor receptor (EGFR) family expression [J]. *Cancer Lett*, 2006, 244(1): 34-41.
 - [7] Travis A, Pinder SE, Robertson JF, et al. c-erbB-3 in human breast carcinoma; expression and relation to prognosis and established prognostic indicators [J]. *Br Cancer*, 1996, 74(2): 229-223.
 - [8] Chiu CG, Masoudi H, Leung S, et al. HER-3 overexpression is prognostic of reduced breast cancer survival: a study of 4 046 patients [J]. *Ann Surg*, 2010, 251(6): 1107-1116.
 - [9] Witton CJ, Reeves JR, Going JJ, et al. Expression of the HER1-4 family of receptor tyrosine kinases in breast cancer[J]. *J Pathol*, 2003, 200(3): 290-297.
 - [10] Holbro T, Beerli RR, Maurer F, et al. The ErbB2/ErbB3 heterodimer functions as an oncogenic unit; ErbB2 requires ErbB3 to drive breast tumor cell proliferation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(15): 8933-8938.
 - [11] Neve RM, Sutterlüty H, Pullen N, et al. Effects of oncogenic ErbB2 on G1 cell cycle regulators in breast tumour cells [J]. *Oncogene*, 2000, 19(13): 1647-1656.
 - [12] Siegel PM, Ryan ED, Cardiff RD, et al. Elevated expression of activated forms of Neu/ErbB-2 and ErbB-3 are involved in the induction of mammary tumors in transgenic mice; implications for human breast cancer [J]. *EMBO J*, 1999, 18(8): 2149-2164.
 - [13] Lee-Hoeich ST, Crocker L, Yao E, et al. A central role for HER3 in HER2-amplified breast cancer; implications for targeted therapy [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(14): 5878-5887.
 - [14] Knowlden JM, Hutcheson IR, Jones HE, et al. Elevated levels of epidermal growth factor receptor/c-erbB2 heterodimers mediate an autocrine growth regulatory pathway in tamoxifen-resistant MCF-7 cells[J]. *Endocrinology*, 2003, 144(3): 1032-1044.
 - [15] Sithanandam G, Smith GT, Masuda A, et al. Cell cycle activation in lung adenocarcinoma cells by the ErbB3/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway[J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(10): 1581-1592.
 - [16] Bianchi S, Palli D, Falchetti M, et al. ErbB-Receptors Expression and survival in Breast Carcinoma; a 15-year follow-up study[J]. *J Cell Physiol*, 2006, 206(3): 702-708.
 - [17] Azios NG, Romero FJ, Denton MC, et al. Expression of herstatin, an autoinhibitor of HER-2/neu, inhibits transactivation of HER-3 by HER-2 and blocks EGF activation of the EGF receptor[J]. *Oncogene*, 2001, 20(37): 5199-5209.
 - [18] Berghoff AS, Bartsch R, Preusser M, et al. Co-overexpression of HER2/HER3 is a predictor of impaired survival in breast cancer patients[J]. *Breast*, 2014, 23(5): 637-643.
- (收稿日期: 2015-06-20 修回日期: 2015-08-12)
-
- (上接第 191 页)
- 患者炎症细胞因子的调控作用[J]. *放射免疫学杂志*, 2012, 25(1): 98-99.
- [3] 江厚象, 潘凯, 李芳芳, 等. 乌司他丁对老年腹腔镜结肠癌根治术患者红细胞免疫功能的保护[J]. *放射免疫学杂志*, 2009, 22(3): 270-272.
 - [4] 顾金萍, 吕慧怡, 于健. 乌司他丁治疗重症肺炎的临床观察[J]. *实用药物与临床*, 2010, 13(5): 381-383.
 - [5] 孟炜. 乌司他丁对多器官的保护作用[J]. *医学综述*, 2012, 18(22): 3833-3836.
 - [6] 刘淑红, 崔朝勃, 王晶, 等. 乌司他丁治疗重症肺炎的临床研究[J]. *中国急救医学*, 2010, 30(6): 508-511.
 - [7] Bao P, Gao W, Li S, et al. Effect of pretreatment with high-dose ulinastatin in preventing radiation-induced pulmonary injury in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 603(1/3): 114-119.
 - [8] 龚华, 刘志宏, 祝捷, 等. 乌司他丁对肾移植患者围手术期外周血 T 细胞亚群 CD95 表达以及血浆 sicam-1、IL-8 水平的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2011, 10(9): 647-649.
 - [9] Bowen H, Kelly A, Lee T, et al. Control of cytokine gene transcription in Th1 and Th2 cells[J]. *Clin Exp Allergy*, 2008, 38(9): 1422-1431.
 - [10] Takano H, Inoue K, Shimada A, et al. Urinary trypsin inhibitor protects against liver injury and coagulation pathway dysregulation induced by lipopolysaccharide/D-galactosamine in mice[J]. *Lab Invest*, 2009, 89(7): 833-839.
 - [11] 李祖能, 黄定蒙. 围手术期应用乌司他丁对肝叶切除术患者血浆 TXB2/6-keto-PGF1 α 平衡和炎症细胞因子的影响[J]. *中国药业*, 2010, 19(11): 9-11.
 - [12] 严六狮, 袁慧, 王伟, 等. 乌司他丁对腹腔镜直肠癌手术围术期炎症反应的影响[J]. *临床麻醉学杂志*, 2012, 28(8): 756-758.
 - [13] 施荣, 熊旭东, 李淑芳, 等. 乌司他丁调控脓毒症大鼠 TNF- α 与 IL-6 及 IL-10 水平的研究[J]. *抗感染药学*, 2009, 6(1): 16-19.
 - [14] 王琳, 樊丽华, 张一梅, 等. 胰十二指肠切除围手术期肠内免疫营养对机体免疫功能调节的影响与护理[J]. *中华现代护理杂志*, 2009, 15(17): 1620-1623.
- (收稿日期: 2015-04-12 修回日期: 2015-07-15)