

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2010.11.014

乳腺癌 HER2 基因扩增的临床病理意义

王鸿雁, 张学斌, 蒋伊娜, 邓元, 刘佳, 王敏

HER2 Amplification in Breast Cancer and Its Clinicopathological Implications

WANG Hong-yan, ZHANG Xue-bin, JIANG Yi-na, DENG Yuan, LIU Jia, WANG Min

Department of Pathology, The First Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Abstract: Objective To detect state of HER2 amplification in breast cancer and assess its clinicopathological significance. **Methods** To analyze HER2 amplification/protein expressing status in 55 cases of breast cancer specimens with fluorescence in situ hybridization(FISH) and immunohistochemistry(IHC), and the relationship with clinicopathological characters. To compare the coincidence of the two assay methods(IHC and FISH). **Results** Thirty-two of the 55 cases (58.2%) of breast cancer showed HER2 amplification. Twenty-one of the 22 cases (95.5%) with HER2(3+) by immunohistochemistry was HER2 amplification by FISH testing. Ten of the 12 cases (83.3%) with HER2(2+) by immunohistochemistry were HER2 amplification by FISH testing. Only one of the 21 cases (4.7%) with HER2(+/-) by immunohistochemistry was HER2 amplification by FISH testing. Thirty of the 39 cases (76.9%) with invasive ductal carcinomas identified HER2 amplification. Only one of the 12 cases (8.3%) with invasive lobular carcinoma identified HER2 amplification. The presence of HER2 amplification was significant difference between histologic grade of the invasive ductal carcinoma($P<0.001$). Grades III invasive ductal carcinomas were more likely to demonstrate HER2 amplification than grade I and II ductal carcinoma. The presence of HER2 amplification was significantly correlated with negative ER and PR($P<0.01$), and not related to postmenopausal($P>0.05$). **Conclusion** The presence of HER2 amplification was less surprising in invasive lobular carcinoma and positive ER, PR and grade I invasive ductal carcinomas. We suggest that grade III invasive ductal carcinomas with negative ER and PR although the results was negative by IHC, detection of the neoplasm should be performed to confirm HER2 amplification by FISH testing.

Key words: Breast neoplasms; In situ hybridization fluorescence; Immunohistochemistry; Gene; HER2

摘要:目的 检测乳腺癌组织中 HER2 基因扩增状态,评价其临床病理意义。**方法** 应用 FISH、IHC 方法分析 55 例乳腺癌 HER2 基因扩增/蛋白表达状态与临床病理特征的关系,比对 IHC 法与 FISH 检测的一致性程度。**结果** 55 例乳腺癌 FISH 检测有 32 例(58.2%)HER2 基因扩增。IHC 法 HER2(+++)22 例中 21 例(95.5%)HER2 基因扩增;HER2(++)12 例中 10 例(83.3%)HER2 基因扩增;HER2(+/-)21 例中 1 例(4.7%)HER2 基因扩增。39 例浸润性导管癌中 30 例(76.9%)有 HER2 基因扩增,12 例浸润性小叶癌中仅 1 例(8.3%)HER2 基因扩增。HER2 基因扩增在浸润性导管癌的组织学分级间差异有统计学意义($P<0.001$),组织学 III 级的浸润性导管癌较 I、II 级有较高的 HER2 基因扩增率。HER2 基因扩增与 ER、PR 阴性状态及腋淋巴结转移有显著相关性($P<0.01$),与患者是否绝经无相关性($P>0.05$)。**结论** 浸润性小叶癌,ER、PR 阳性以及组织学 I 级的浸润性导管癌常有 HER2 基因扩增;对于组织学 III 的浸润性导管癌,同时 ER、PR 阴性者尽管 IHC 检测结果为阴性,仍需做 FISH 检测以明确是否有 HER2 基因扩增。

关键词: 乳腺肿瘤; 荧光原位杂交; 免疫组织化学; 基因; HER2

中图分类号:R737.9 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2010)11-1264-05

0 引言

近年来,乳腺癌的治疗疗效发生了根本性变化,

随着分子生物学的发展,人们认识到一些信号转导通路在乳腺癌的发生发展以及对治疗疗效的影响中也起着重要的作用。其中最重要的就是 EGFR 家族,HER2 是其成员中的一员,定位于染色体 17q12~21.32,能够控制癌细胞的生长,浸润和转移,大约 25%~30%的乳腺癌中 HER2 基因和(或)蛋白水平增加,这些 HER2 阳性的肿瘤对某些常规的化疗

收稿日期:2009-10-30;修回日期:2010-03-21

作者单位:710061 西安,西安交通大学医学院第一附属医院病理科

作者简介:王鸿雁(1967-),女,博士,副教授,主要从事肿瘤病理的研究

和激素治疗反应性差,生存期短、预后不良。为此,多种阻断 HER2 的抗癌药物相继问世,其中 FDA 认证的单克隆抗体赫赛汀(Herceptin)针对 HER2 基因扩增和蛋白表达的乳腺癌才有良好的治疗效果,因此准确评价 HER2 基因和蛋白水平至关重要。我们应用 HER2 基因探针,通过 FISH 检测 55 例乳腺癌患者标本 HER2 基因扩增状态,评价其与临床病理的联系,同时比对 IHC 检测与 FISH 检测的一致性程度,为临床治疗选择用药提供相关依据。

1 资料与方法

1.1 资料

55 例乳腺癌标本来自西安交通大学医学院第一附属医院及外院 2007 年 12 月—2009 年 5 月间的手术切除病例。患者年龄 26~75 岁(平均 49.5 岁),绝经前 18 例,绝经后 37 例,有腋淋巴结转移者 22 例。兔抗人单克隆抗体 EP(SP1)、PR(SP2)、HER2(SP3)及 MaxVision™/试剂盒,购自福州迈新生物技术开发有限公司。HER2 基因扩增检测试剂盒(北京金菩嘉医疗科技有限公司),荧光显微镜为日本 Olympus(BX51)。

1.2 方法

1.2.1 乳腺癌组织学分型及分级 按照 WHO 乳腺肿瘤组织学分类(2003)标准进行病理分型、分级^[1],其中浸润性导管癌 39 例,浸润性小叶癌 12 例,浸润性筛状癌、浸润性微乳头状癌各 1 例,髓样癌 2 例。浸润性导管癌分为 3 级,其中 I 级 5 例,II 级 14 例,III 级 20 例。

1.2.2 荧光原位杂交(FISH) 标本固定于 10% 中性甲醛中 24~48h 后石蜡包埋,对照 HE 切片,选出浸润癌实验区切片厚 3 μ m,65℃烤片 2h、二甲苯脱蜡至无水乙醇 $\rightarrow$ 0.2N HCl 浸泡 20min,去离子水洗 3min $\rightarrow$ 2 $\times$ SSC 缓冲液洗 5min $\rightarrow$ 50℃预热的 30%酸性亚硫酸钠 20min $\rightarrow$ 去离子水洗 2min,2 $\times$ SSC 洗 5min $\rightarrow$ 37℃蛋白酶 K 消化 8~15min $\rightarrow$ 2 $\times$ SSC 洗 5min $\rightarrow$ 切片 45℃干燥 2~5min $\rightarrow$ 10%中性甲醛固定 10min,2 $\times$ SSC 洗 5min $\rightarrow$ 78℃甲酰胺中变性 5min $\rightarrow$ 立即分别置入 -20℃70%、85%、100%乙醇中 2min,自然干燥。配制 10 μ l 探针,73℃水浴变性 5min 后置入 46℃水浴中 2~5min。滴加探针至组织切片上,盖片后并封片胶封边。置入 40℃杂交湿盒过夜(14~18h)。将切片置洗涤液(2 $\times$ SSC,0.1%NP40)洗去多余探针,室温暗处干燥,加 13 μ l DAPI 显色液对比染色。盖玻片后荧光显微镜观察结果。

1.2.3 免疫组织化学(IHC) 采用 MaxVision™法,切片经脱蜡、3% H_2O_2 封闭后,置入 pH6.0 柠檬酸缓冲液中高压锅热修复,滴加一抗(室温 2h),滴加二抗(37℃,20min)DAB 显色、苏木精对比染色、封固。

1.3 结果判定

1.3.1 FISH 结果判断 试剂盒中混合了两种 DNA 探针,一是标记为绿色荧光的 17 号染色体着丝粒,另一是标记为橙红色荧光的 HER2 基因,细胞核由 DAPI 染成蓝色。所检标本中 75%以上癌细胞核中都有杂交信号。计数时选择 DAPI 染色均一,细胞核边界完整,无重叠的细胞,随机计数 30 个细胞,红色信号的总数与绿色信号的总数比值大于 2.2 时,为 HER2 基因扩增,红色信号为众多信号连接成簇时可不用计算,即为基因扩增。若比值介于 1.8~2.2 之间,再增加计数细胞,比值小于 1.8 则无 HER2 基因扩增。17 号染色体信号状况,根据信号的数目分为单体、双体和多体(着丝粒信号数 $>$ 2)。

1.3.2 IHC 结果判断 HER2 表达显示细胞膜呈棕黄色,ER、PR 表达显示细胞核呈棕黄色。按照美国乳腺癌 HER2 检测指南^[2]标准,HER2 阳性结果为 +++($>$ 30%浸润癌细胞的细胞膜呈完整的强着色),不确定结果为 ++ (至少 10%肿瘤细胞有完整的细胞膜着色,但染色不均匀或强度较弱)。阴性结果为 - 或 + (任何比例的肿瘤细胞有微弱的、不完整的细胞膜着色或无着色)。

ER/PR 阳性认定,强度:0 为阴性,1 为弱阳性,2 为中等阳性,3 为强阳性;阳性细胞百分比:0 为阴性,1 为阳性细胞 $<$ 1%,2 为阳性细胞 1%~10%,3 为阳性细胞 11%~33%,4 为阳性细胞 34%~66%,5 为阳性细胞 $\geq$ 67%。两项分数加起来 $\geq$ 3 为阳性^[3]。

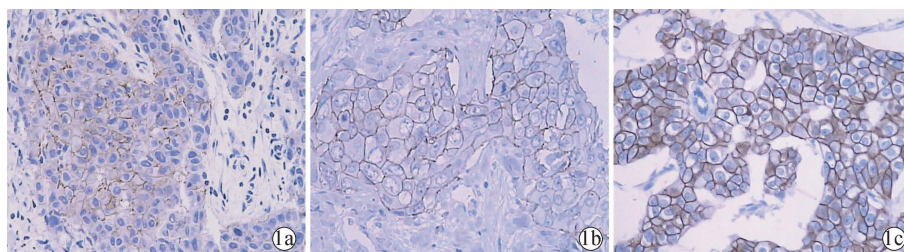
1.4 统计学方法

用 SPSS16.0 软件进行 χ^2 检验及 Fisher 精确概率法分析 HER2 基因扩增与乳腺癌临床病理参数的关系。HER2 应用 FISH 与 IHC 两种方法检测结果的相关性采用 Spearman 秩相关分析法。

2 结果

2.1 HER2 蛋白表达

55 例乳腺癌标本中 IHC 检测,阳性 22 例 HER2(+++),占 40.0%;不确定者 12 例 HER2(++),占 21.8%;阴性 21 例 HER2(+/-),占 38.2%,见图 1a~1c。



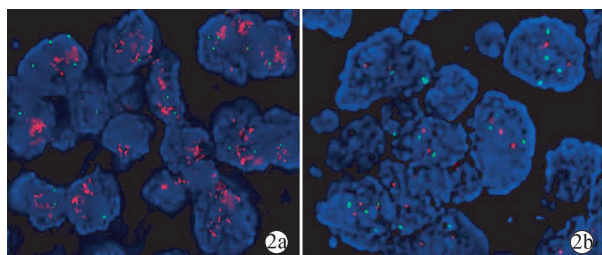
1a: HER2(+) weak and incomplete membrane staining in tumor cells;
1b: HER2(++) complete membrane staining that is weak in intensity of tumor cells;
1c: HER2(+++) uniform intense membranous staining of tumor cells

图 1 HER2 蛋白表达(MaxVision ×200)

Figure 1 The expression of HER2 protein(MaxVision ×200)

2.2 HER2 基因扩增与 HER2 蛋白表达关系

55 例乳腺癌经 FISH 检测, 32 例(58.2%)为 HER2 基因扩增, 见图 2a, 其中 HER2(+++) 22 例中有 21 例 HER2 基因扩增, 占该组的 95.5%; HER2(++) 12 例中有 10 例 HER2 基因扩增, 占该组的 83.3%; HER2(+/-) 21 例中 1 例有 HER2 基因扩增, 占该组的 4.7%, 其中 HER2(+) 8 例, HER2(-) 13 例, HER2 基因扩增 1 例为 HER2(+)者, 其余均无扩增, 见图 2b。分析显示, IHC 与 FISH 检测结果有较好的相关性(相关系数 0.57, $P < 0.001$)。



2a: amplified HER2 gene copy number;
2b: negative for HER2 gene amplified

图 2 HER2 基因状态(FISH ×1000)

Figure 2 HER2 amplification status(FISH ×1000)

2.3 HER2 基因扩增与乳腺癌临床病理参数的关系

39 例浸润性导管癌中 30 例(76.9%)有 HER2 基因扩增, 12 例浸润性小叶癌中仅 1 例(8.3%) HER2 基因扩增, 显示 HER2 基因扩增在浸润性乳腺癌组织学分类间差异有统计学意义($P < 0.001$), 尽管其他类型与以上两型间也有差异, 但由于病例数少, 可比性低, 不予分析。HER2 基因扩增在浸润性导管癌的组织学分级间差异也有统计学意义, 尤以 I、III 级($\chi^2 = 24.85$)及 II、III 级($\chi^2 = 17.34$)之间差异更为明显($P < 0.001$), 而 I 级与 II 级间比较虽有差异, 但不具统计学意义($\chi^2 = 3.69$, $P = 0.07$)。HER2 基因扩增与 ER 和 PR 阴性状态及腋淋巴结

转移有显著关系($\chi^2_{ER} = 8.89$, $\chi^2_{PR} = 8.62$, $\chi^2_{腋淋巴结} = 8.42$, $P < 0.01$)。并且, 30 例同时 ER-/PR-中, 24 例有 HER2 基因扩增, 值得注意的是, 这 24 例中包括了 IHC 检测为阴性结果的 1 例; 17 例同时 ER+/PR+ 中, 4 例有 HER2 基因扩增, 见表 1。

HER2 基因扩增与患者是否绝经无显著关系($\chi^2 = 2.17$, $P > 0.05$)。

表 1 FISH 检测 HER2 与临床病理参数的关系

Table 1 The relationship between HER2 and clinicopathological indexes by FISH

Clinicopathological indexes	n	HER2 gene amplification by FISH(%)
Postmenopausal		
Yes	37	19(51.5)
No	18	13(72.2)
Tumor type		
Invasive ductal carcinoma	39	30(76.9)
Invasive lobular carcinoma	12	1(8.3)
Others	4	1(25.0)
Histologic grade		
Grade I	5	0(0.0)
Grade II	13	10(76.9)
Grade III	21	20(95.2)
Axillary lymphatic metastasis		
+	22	18(81.8)
-	33	14(42.4)
Estrogen Receptor		
ER(+)	23	8(34.8)
ER(-)	32	24(75.0)
Progesterone Receptor		
PR(+)	21	7(33.3)
PR(-)	34	25(73.5)

3 讨论

乳腺癌是严重威胁女性健康的恶性肿瘤, 且发病率逐年上升。25%~30%的乳腺癌中有 HER2

基因的扩增和蛋白的阳性表达,研究证实这部分患者 OS 和 DFS 较短,并且对一些乳腺癌治疗的常规药物也显示出耐药性。通过抑制肿瘤细胞生长信号的转导,专针对 HER2 阳性表达乳腺癌的单克隆抗 Herceptin 已成功应用于临床,对乳腺癌的治疗及改善 HER2 阳性表达患者的生存具有重要意义^[4-6]。2007 年的 St. Gallen 国际乳腺癌治疗共识中提出 HER2 不仅可以作为预测乳腺癌危险度的指标之一,还可以用来预测肿瘤对化疗药物的敏感度,如 HER2 阳性者,使用紫杉类化疗较蒽环类效果更佳。更重要的是,HER2 可以作为靶向治疗的目标进行个体化治疗,为未来乳腺癌的治疗开辟了一个广阔领域。因而在该药物的临床应用中,对 HER2 的检测是至关重要的。目前 FDA 批准用于 HER2 检测的方法有 IHC 法和 FISH 法,而 IHC 目前常用于乳腺癌患者检测 HER2 表达初筛,通常认为 HER2 的 IHC 检测结果为 +++ 及 FISH 检测扩增的浸润性乳腺癌确定为 HER2 阳性。两者的符合率为 90.8%~98.9%^[7-8],我们的结果为 IHC HER2(++)22 例,其中 21 例 FISH 检测有 HER2 基因新增,符合率为 21/22(94.5%),与其他研究报道结果相一致,此组中表现了 IHC 与 FISH 检测的一致性较好。对于不确定病例 IHC HER2(++)的乳腺癌患者,这些病例中部分有 HER2 基因扩增,需要 FISH 检测确定,两者符合率报道差别较大,18%~76.2%^[9-10],我们的结果为 IHC HER2(++)12 例, FISH 检测 9 例有 HER2 基因扩增,符合率 83.3%,两者的一致性高于其他研究报道。两组国内大宗病例的分析结果为 75.0%、76.2%^[7,10]也显示出较高的符合率。

阴性结果 IHC HER2(+/-),文献报道 FISH 检测阳性率为 0~7.4%^[11-12],我们的结果为 IHC HER2(+/-)21 例中 FISH 检测 1 例有 HER2 基因扩增,此例为 IHC HER2(+)者,阳性率为 4.76%。本组 21 例中,13 例为 IHC HER2(-),均无 HER2 基因扩增,与其他研究报道相符,一致性为 95.24%。由此看来本结果与文献中报道一致性差别较大者表现在 IHC HER2(++)组,这与 Lan 等^[13]作者的看法一致,分析原因应与 IHC 法 HER2(++)结果界定标准的判读准确与否密切相关。显示出 FISH 方法不同于 IHC 之处是 DNA 稳定性较蛋白质好得多,且结果定量判读尽可能的避免了主观判定的误差。我们实验中 IHC 与 FISH 阴性和阳性的检测结果的一致性均为 95%以上,不确定病例两者一致性为 83.3%,与 HER2 检测指南中的要求相符。

HER2 基因扩增在浸润性乳腺癌的组织学类型

间有明显差别,39 例浸润性导管癌中 HER2 基因扩增 30 例占 76.9%,12 例浸润性小叶癌仅 1 例 HER2 基因扩增,与浸润性导管癌相比,浸润性小叶癌具有较低的 HER2 基因扩增率 8.3%,且浸润性小叶癌中 HER2 基因扩增 1 例为 IHC HER2(++),其余 11 例均为 IHC HER2(+/-),与 Hoff 及 Rosenthal 的研究结果相似^[14-15],浸润性小叶癌较浸润性导管癌 HER2 基因扩增率低,分别为 1%与 15.6%及 13%与 48%。也有作者^[16]采用 IHC 方法检测,报告浸润性导管癌与浸润性小叶癌 HER2 表达率相近,分别为 49%及 43%,目前国内有关 HER2 基因扩增状态与乳腺癌组织学类型的关系报道较少,一组 182 例乳腺癌资料研究显示,IHC 检测 HER2 阳性状态与浸润性导管癌(85 例)及浸润性小叶癌(97 例)组织学类型无相关性^[17],这可能与所采用的 IHC 及 FISH 检测方法的准确程度以及 IHC 判读标准的差别有关。其他特殊类型浸润性乳腺癌本组仅 4 例,因病例较少,未予比较。

39 例浸润性导管癌不同组织学分级间 HER2 基因扩增阳性率也显示出差异。组织学 I 级 HER2 阳性率为 0,组织学 II 级与 III 级 HER2 阳性率分别为 76.9%及 95.2%,其中 III 级的 1 例,为 IHC 阴性结果 HER2(+).由此表现出 HER2 基因扩增在乳腺浸润性导管癌组织学分级间的差异性,尤其组织学 I 级与 III 级及 II 级与 III 级间差异更为显著($P < 0.001$),提示高分级的浸润性导管癌有较高的 HER2 基因扩增率。与 Tsuda 等^[18]报道的 I 级为 0,II 级为 10%,III 级为 33%结果相似,Rilke 等^[19]大宗病例 1 210 例结果也显示 HER2 阳性率分别为 I 级 3.9%,II 级 20.4%,III 级 38.9%,本结果 II 级与 III 级的病例,HER2 基因扩增率均较高于文献报道,分析可能与我们所检病例中中高级别浸润性导管癌所占比例高及检测方法不同有关系。

腋淋巴结转移是评估乳腺癌风险分级的可靠参数,研究表明 HER2 阳性表达与腋淋巴结转移有相关性^[20],淋巴结有转移者 HER2 阳性率高,我们的结果也显示有腋淋巴结转移组 HER2 基因扩增率高于无腋淋巴结转移组。HER2 基因扩增与患者是否绝经无关系。

乳腺是激素依赖性器官,乳腺癌阳性激素受体状态是指导内分泌治疗的指征,而 ER、PR 阴性作为预后不良特征已得到公认。PR 阳性受到 ER 阳性状态的调控,是 ER 的功能性通路,因而两者有较好的一致性。文献报道 ER、PR 与 HER2 蛋白阳性/基因扩增呈负相关关系^[21],目前认为,HER2 基因扩增时细胞酪氨酸蛋白激酶系统具有持续活性,从而不再需要内分泌调节,关闭了激素调控致 ER、

PR 阴性。本结果也表明 HER2 基因扩增与 ER 和 PR 阴性状态有显著关系,HER2 基因扩增者 ER、PR 阳性率显著低于无扩增者。ER-/PR-者 30 例中,24 例有 HER2 基因扩增,在 24 例有 HER2 基因扩增且 ER-/PR-者中,1 例浸润性导管癌表现为 IHC HER2(+),与前述组织学Ⅲ级者为同例。因而提示,浸润性小叶癌,ER、PR 阳性以及组织学分级为Ⅰ级的浸润性导管癌常常少有 HER2 蛋白阳性或基因扩增;而对于组织学Ⅲ级的浸润性导管癌,同时 ER、PR 阴性者尽管 IHC 检测结果为阴性,仍建议进一步作 FISH 检测以明确是否有 HER2 基因扩增。Gilcrease 等^[22]对 91 例有淋巴结转移的浸润性乳腺癌随访结果显示,HER2(+)者预后比 HER2(-)差,提示低水平 HER2 蛋白阳性有显著的临床意义,本组 1 例 IHC HER2(+)者虽然无腋淋巴结转移,但为组织学Ⅲ级,FISH 检测有 HER2 基因扩增,显示出对此类病例应引起足够的重视,以免遗漏而延误治疗时机。

参考文献:

- [1] Tavassoli FA, Devilee P. WHO classification of tumours. Pathology and genetics. Tumors of the breast and female genital organs[M]. New York: IARC Press, 2003; 10.
- [2] Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer[J]. Arch Pathol Lab Med, 2007, 131(1): 18-43.
- [3] Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer[J]. J Clin Oncol, 1999, 17(5): 1474-1481.
- [4] Nabholz JM, Slamon D. New adjuvant strategies for breast cancer: meeting the challenge of integrating chemotherapy and trastuzumab (Herceptin) [J]. Semin Oncol, 2001, 28(1 Suppl 3): 1-12.
- [5] Slamon DJ, Romond EH, Perez EA, et al. Advances in adjuvant therapy for breast cancer[J]. Clin Adv Hematol Oncol, 2006, 4(3 Suppl 7): suppl 1, 4-9.
- [6] 宋海珠. Herceptin 治疗转移乳腺癌的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2002, 9(2): 144-145.
- [7] 吕亚莉, 钟梅, 刘琳, 等. 335 例乳腺癌 HER-2 基因扩增及 17 号染色体多体的临床病理学分析[J]. 诊断病理学杂志, 2008, 15(3): 169-173.
- [8] Press MF, Sauter G, Bernstein L, et al. Diagnostic evaluation of HER-2 as a molecular target: an assessment of accuracy and reproducibility of laboratory testing in large, prospective, randomized clinical trials[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(18): 6598-6607.
- [9] Dolan M, Snover D. Comparison of immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization assessment of HER-2 status in routine practice[J]. Am J Clin Pathol, 2005, 123(5): 766-770.
- [10] 曾瑄, 梁智勇, 武莎斐, 等. 乳腺癌 HER2 蛋白表达阳性者的基因状态分析[J]. 中华病理学杂志, 2006, 35(10): 584-588.
- [11] 曹梦苒, 罗荣城, 左强, 等. 荧光原位杂交与免疫组化检测乳腺癌组织 Her-2/neu 基因扩增或表达情况的比较[J]. 解放军医学杂志, 2005, 30(8): 731-733.
- [12] Owens MA, Horten BC, Da Silva MM. HER2 amplification ratios by fluorescence in situ hybridization and correlation with immunohistochemistry in a cohort of 6556 breast cancer tissues [J]. Clin Breast Cancer, 2004, 5(1): 63-69.
- [13] Lan C, Liu JM, Liu TW, et al. erb-b2 amplification by fluorescence in situ hybridization in breast cancer specimens read as 2+ in immunohistochemical analysis[J]. Am J Clin Pathol, 2005, 124(1): 97-102.
- [14] Hoff ER, Tubbs RR, Myles JL, et al. HER2/neu amplification in breast cancer: stratification by tumor type and grade[J]. Am J Clin Pathol, 2002, 117(6): 916-921.
- [15] Rosenthal SI, Depowski PL, Sheehan CE, et al. Comparison of HER-2/neu oncogene amplification detected by fluorescence in situ hybridization in lobular and ductal breast cancer[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2002, 10(1): 40-46.
- [16] Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, et al. Immunohistochemical detection of HER2/neu in patients with axillary lymph node negative breast carcinoma. A study of epidemiologic risk factors, histologic features, and prognosis [J]. Cancer, 1995, 75(6): 1320-1326.
- [17] 王仪, 何毅辉, 陈昕, 等. HER2、EGFR、ER、PR 在乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. 福建医药杂志, 2008, 30(6): 91-93.
- [18] Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, et al. Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of c-erbB-2 gene in breast carcinoma. A retrospective analysis of 176 cases [J]. Cancer, 1990, 65(8): 1794-1800.
- [19] Rilke F, Colnaghi MI, Cascinelli N, et al. Prognostic significance of HER-2/neu expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors[J]. Int J Cancer, 1991, 49(1): 44-49.
- [20] Goldenberg MM. Trastuzumab, a recombinant DNA-derived humanized monoclonal antibody, a novel agent for the treatment of metastatic breast cancer[J]. Clin Ther, 1999, 21(2): 309-318.
- [21] Horiguchi J, Koibuchi Y, Iijima K, et al. Co-expressed type of ER and HER2 protein as a predictive factor in determining resistance to antiestrogen therapy in patients with ER-positive and HER2-positive breast cancer[J]. Oncol Rep, 2005, 14(5): 1109-1116.
- [22] Gilcrease MZ, Woodward WA, Nicolas MM, et al. Even low-level HER2 expression may be associated with worse outcome in node-positive breast cancer[J]. Am J Surg Pathol, 2009, 33(5): 759-767.

[编辑: 安 凤; 校对: 刘红武]