

# FISH 与 IHC 在乳腺癌 HER-2 基因扩增检测中的应用价值

袁士成 张建筑 陈丽红 范晓慧 赵文丽 彭晓峰

(惠州市第一人民医院, 广东 惠州 516003)

**〔摘要〕** **目的:** 分析荧光原位杂交技术(FISH)与免疫组织化学法(IHC)在乳腺癌人表皮生长因子受体-2(HER-2)基因扩增检测中的应用价值。**方法:** 选取惠州市第一人民医院2018年1月至2020年12月收治的首发乳腺癌患者103例作为研究对象, 收集患者组织穿刺标本以及手术切除组织标本, 分别应用IHC以及FISH对患者HER-2进行检测, 对两种方法的检测结果进行统计和分析。**结果:** 103例乳腺癌组织标本检测结果显示: HER-2蛋白(-)或(+)者9例, (++)者42例, (+++)者52例; 基因扩增情况为: 阳性(扩增)72例, 阴性(未扩增)31例。两种方法的检查结果一致性较高( $Kappa = 0.779, P < 0.05$ )。**结论:** IHC以及FISH均可作为对乳腺癌患者HER-2基因状态评估的检测方法, 且两种检测结果具有较高的一致性, 临床可根据患者实际情况选择合适的方法对其进行基因检测。

**〔关键词〕** 乳腺癌; 荧光原位杂交技术; 免疫组织化学法; 人表皮生长因子受体-2基因

**〔中图分类号〕** R 737.9 **〔文献标识码〕** B

乳腺癌为女性常见的恶性肿瘤, 其临床具有较高的发病率以及死亡率, 为一种可严重威胁女性生命安全的疾病。该病的发生与发展受到多种因素的影响, 其中遗传因素以及遗传物质的变异在该病的发生中发挥了重要作用, 有研究指出<sup>[1]</sup>: 约20%左右的浸润性乳腺癌患者中, 其人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)基因以及蛋白水平存在升高表现。HER-2为一种人17号染色体长臂中的原癌基因, 其状态与乳腺癌的发生以及发展之间具有密切的关联, 并且临床常借助HER-2基因状态对患者预后情况进行预测。免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)是临床对该基因进行检测的主要手段, 并且随着相关技术的发展, 荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)在HER-2基因检测中也逐渐得到应用。为分析FISH与IHC在乳腺癌患者中的应用效果, 本研究选取本院收治的首发乳腺癌患者103例为对象展开了研究, 现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2018年1月至2020年12月期间本院收治的首发乳腺癌患者103例作为研究对象。患者年龄29~63岁, 平均(46.91±10.33)岁; 导管癌82例, 导管内癌21例; 左侧发病53例, 右侧发病50例。纳入标准: 符合乳腺癌相关诊断标准患者<sup>[2]</sup>; 均为首次诊断为乳腺癌, 且单侧发病患者; 患者入组前, 未接受任何乳腺癌治疗; 纳入患者均知情同意本研究。排除标准: 乳腺发育畸形患者; 既往有乳腺手术史

患者; 合并认知功能、语言交流能力障碍或其他神经系统疾病患者; 妊娠期以及哺乳期患者; 对本研究存有疑问或不愿参与者。

### 1.2 方法

1.2.1 标本选择 本研究标本选择为患者术前组织穿刺标本或手术切除乳腺癌组织, 并分别应用IHC以及FISH对患者组织标本进行HER-2基因扩增检测。

1.2.2 IHC检查方法 标本处理流程为: 脱蜡-洗片-冲洗-乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)组织抗原修复-缓冲液冲洗-加入A液-冲洗-加入B液-缓冲液冲洗-加抗体37℃处理40min-冲洗-加入显色液, 随后镜下观察, 显现黄棕色后自来水冲洗, 应用苏木精染色, 再次冲洗、脱水、固定、镜检。

1.2.3 FISH检查方法 组织标本切片, 恒温箱温度设置为65℃, 烤片过夜→二甲苯脱蜡处理2次, 10min·次<sup>-1</sup>→水化-柠檬酸钠缓冲液(sodium citrate-hydrochloric acid buffer solution, SSC)漂洗2次, 5min·次<sup>-1</sup>→酶消化、梯度酒精脱水、切片自然风干, 将探针混合液(10μL)滴入切片上, 盖玻片加盖后放在原位杂交仪内, 于温度85℃下, 进行5min变性处理, 然后(37℃)进行14~18h杂交, 以上步骤避光进行。随后, 过夜杂交完成后, 用甲酰胺溶液洗涤, 干燥后二脒基吲哚荧光染料(4,6-diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride, DAPI)复染, 静置30min后镜下观察。

### 1.3 观察指标与评判标准

1.3.1 观察指标 对IHC以及FISH两种检测方法的结

〔收稿日期〕 2021-06-24

〔作者简介〕 袁士成, 男, 主管技师, 主要从事病理科工作。

果进行统计和比较。

1.3.2 评判标准 所有检测结果均由 2 名经验丰富的病理科医生采用双盲法进行判读, 如判读结果存在差异, 则邀请科室主任进行判读, 最终结果以科室主任诊断为准。

(1) IHC 判读标准: (-) 为无着色或 < 10% 的细胞膜不完整或微弱着色; (+) 癌细胞膜弱着色, 且数量 ≥ 10%; (+++) > 10% 的癌细胞膜强或完全着色; 其余结果判定为 (++) ; (-) 以及 (+) 定义为阴性, (++) 定义为疑阳性, (+++) 定义为阳性。(2) FISH 判读标准: HER-2 基因在 FISH 检查中呈现红色信号, 对红色信号清晰的癌细胞进行观察, 计数 30 个细胞, 若比值  $a < 1.8$  则定义为阴性, 提示无 HER-2 基因无扩增;  $a > 2.2$  定义为阳性, 提示存在 HER-2 基因扩增;  $a$  值介于 1.8 ~ 2.2 定义为不确定, 针对不确定者需要进行复测, 计数 40 个癌细胞。

#### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行数据处理, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用  $t$  检验, 计数资料用百分比表示, 采用  $\chi^2$  检验, 一致性检验结果应用  $Kappa$  值进行表示,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

103 例乳腺癌组织标本检测结果显示: HER-2 蛋白 (-) 或 (+) 者 9 例, (++) 者 42 例, (+++) 者 52 例; 基因扩增情况为: 阳性 (扩增) 72 例, 阴性 (未扩增) 31 例, 见表 1。两种方法的检测结果一致性较高 ( $Kappa = 0.779$ ,  $P < 0.05$ )。

表 1 两种方法的检查结果统计 (例)

FISH	IHC			合计
	(-) 或 (+)	(++)	(+++)	
扩增	0	24	48	72
未扩增	9	18	4	31
合计	9	42	52	103

注: IHC — 免疫组织化学法; FISH — 荧光原位杂交技术

## 3 讨论

在乳腺癌的早期诊断以及治疗过程中, HER-2 基因检测已成为临床治疗以及预后评估的主要指标, 该基因定位于人体 17 号染色体长臂上, 为一种原癌基因<sup>[3]</sup>。该基因主要编码一种跨膜酪氨酸激酶受体蛋白, HER-2 通过受体结合配体, 形成二聚体, 引起细胞内酪氨酸残基磷酸化, 进一步激活信号转导途径, 进而在恶性肿瘤的发生、转归中发挥作用。有研究指出: HER-2 基因扩增或蛋白表达增加可在多种恶性肿瘤中发现<sup>[4]</sup>。针对乳腺癌, 约 20% 的癌细胞中存在 HER-2 基因扩增, 于未发生 HER-2 基因扩增的乳腺癌患者相比, 合并基因扩增的患者其预后更差、生存时间明显缩

短。

伴有 HER-2 基因扩增的乳腺癌患者对传统乳腺癌治疗药物, 例如他莫昔芬等的敏感性较差, 但对拉帕替尼、曲妥珠单抗等药物的敏感性较高, 应用其可有效延长患者生存时间<sup>[5]</sup>。但是该种药物由于价格昂贵并且毒副作用相对较大, 因此针对乳腺癌患者对其 HER-2 基因进行准确检测具有至关重要的作用。IHC 为临床应用广泛的一种通过特异性抗体显色对 HER-2 蛋白进行检测的方法, 其具有操作简单、敏感度高等优势, 但是其主要针对 HER-2 蛋白进行检测, 并不能直接以及准确的反映患者 HER-2 基因状态, 因此寻求准确等基因检测方法迫在眉睫<sup>[6]</sup>。本研究通过比较 FISH 与 IHC 在乳腺癌患者 HER-2 基因扩增检测中的效果, 分析 FISH 在乳腺癌患者中的应用价值, 结果显示: 两种方法的检查结果一致性较高 ( $Kappa = 0.779$ ,  $P < 0.05$ )。FISH 是利用人工合成且带有荧光标记的核酸探针与检测细胞 DNA 或 RNA 进行分子杂交, 借助荧光显微镜对荧光信号进行观察, 借以了解检测细胞基因分布、扩增情况。其不仅可用于染色体异常的检测, 对目标基因扩增情况同样具有较高的检出准确性以及敏感性, 针对乳腺癌患者, 应用 FISH 对其 HER-2 基因状态进行检测, 对其临床治疗具有重要的指导作用, 并可借此对患者的预后进行判断。

综上所述, IHC 对于 HER-2 蛋白具有较高的敏感性, 可作为为乳腺癌患者是否发生 HER-2 基因扩增的筛查手段, 其检测阳性者再进行 FISH 检测, 可明确其是否发生 HER-2 基因扩增, 对指导临床治疗一定作用。

#### [参考文献]

- (1) 刘继英, 陈明光, 韩明其, 等. 免疫组织化学法双色银染原位杂交与荧光原位杂交技术检测乳腺癌 HER-2 基因状态的应用 (J). 河北医学, 2020, 26(12): 1991-1995.
- (2) 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范 (2013 版) (J). 中国癌症杂志, 2013, 23(8): 86-142.
- (3) Shi P, Chen C, Yao Y. Correlation Between HER-2 Gene Amplification or Protein Expression and Clinical Pathological Features of Breast Cancer. Cancer Biother Radiopharm. 2019, 34(1): 42-46.
- (4) 徐伟铭, 张玲娜, 金海丽, 等. 运用《乳腺癌 HER2 检测指南 (2019 版)》对免疫组织化学检测 HER2 不确定表达状态的再评估 (J). 中华病理学杂志, 2020, 49(11): 1152-1157.
- (5) 唐月阳, 叶入裴, 夏天, 等. 探讨影响 FISH 检测乳腺癌免疫组化 HER2(2+) 扩增状态的因素及其与临床病理的意义 (J). 川北医学院学报, 2020, 35(2): 243-247.
- (6) 王清, 袁勇, 陆建荣, 等. 免疫组织化学法与荧光原位杂交技术检测 861 例乳腺癌 HER-2 表达的一致性分析 (J). 现代肿瘤医学, 2021, 29(10): 1672-1676.