



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.05.004
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2024.05.004
China Journal of General Surgery, 2024, 33(5):707-718.

· 乳腺外科专题研究 ·

HER-2 0 表达与 HER-2 低表达早期乳腺癌的长期预后 与分子特征比较

张航豪^{1, 2, 3}, 张倩^{1, 2, 3}, 王晓敏^{1, 2, 3}, 彭帅^{1, 2, 3}, 邵新宇^{1, 2, 3}, 廖立秋^{1, 2, 3}

[中南大学湘雅医院 1. 乳腺外科 2. 乳腺癌临床研究中心, 湖南长沙 410008; 3. 国家老年疾病临床医学研究中心 (湘雅医院), 湖南长沙 410008]

摘要

背景与目的: 新型抗人表皮生长因子受体 2 (HER-2) 抗体偶联药物 (ADC) 为包括 HER-2 低表达在内的乳腺癌患者开辟了新的治疗选择。然而, 目前 HER-2 低表达和 HER-2 0 表达乳腺癌之间的临床病理特征、分子特征及预后差异尚不明确。因此, 本研究主要比较 HER-2 低表达和 HER-2 0 表达乳腺癌患者的生存预后、临床病理特征以及分子特征之间的差异, 旨在进一步揭示 HER-2 低表达乳腺癌的分子特征及更精准地选择 ADC 药物获益人群。

方法: 回顾性分析中南大学湘雅医院 2011 年 1 月—2015 年 12 月 1 245 例经手术治疗的 I~III 期早期原发性浸润性乳腺癌患者资料。比较不同 HER-2 表达水平 (0 表达、低表达、过表达) 患者临床病理特征的差异, 分析患者的总生存 (OS) 和无病生存 (DFS) 的差异, 筛选预后的独立影响因素。通过 TCGA 数据库分析比较 HER-2 低表达和 HER-2 0 表达乳腺癌患者的分子特征及免疫微环境差异。

结果: 1 245 例患者中, HER-2 0 表达 395 例 (31.73%)、HER-2 低表达 562 例 (45.14%), HER-2 过表达 288 例 (23.13%)。与 HER-2 0 表达患者相比, HER-2 低表达患者淋巴结分期更高、激素受体 (HR) 阳性比例更高、腋窝淋巴结转移更多, Ki-67 水平较低 (均 $P < 0.05$)。生存分析显示, HER-2 过表达患者的 OS 与 DFS 均明显低于 HER-2 0 表达患者与 HER-2 低表达患者 (均 $P < 0.05$); HER-2 0 表达和 HER-2 低表达患者的 OS 和 DFS 无论在整体上还是不同淋巴结状态或不同 HR 状态分层患者中均无明显差异 (均 $P > 0.05$)。多因素 Cox 风险模型结果提示, 年龄、腋窝淋巴结转移是乳腺癌患者 OS 的独立危险因素; 年龄、ER 状态、HER-2 表达水平、腋窝淋巴结转移是乳腺癌患者 DFS 的独立危险因素 (均 $P < 0.05$)。分子特征方面, HER-2 低表达和 HER-2 0 表达在分子突变负荷方面无明显差异, 但在免疫浸润方面有一定差异, HER-2 0 表达乳腺癌的抗肿瘤免疫反应更为活跃。

结论: HER-2 低表达和 HER-2 0 表达乳腺癌的病理特征存在一定差异, 但 HER-2 低表达和 HER-2 0 表达乳腺癌的预后结局相似; HER-2 低表达乳腺癌的分子特征具有异质性, 但与 HER-2 0 表达乳腺癌的分子特征不具有显著特异性。因此, 本研究结果尚不支持将 HER-2 低表达作为新的乳腺癌分子分型。

关键词

乳腺肿瘤; ErbB 受体; 预后; 免疫靶合物

中图分类号: R737.9

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81974420); 湖南省自然科学基金资助项目 (2021JJ30041)。

收稿日期: 2024-02-05; **修订日期:** 2024-04-25。

作者简介: 张航豪, 中南大学湘雅医院硕士研究生, 主要从事乳腺癌临床与基础方面的研究。

通信作者: 廖立秋, Email: aq301981@163.com

Comparison of lng-term prognosis and molecular characteristics between early breast cancer with zero HER-2 expression and low HER-2 expression

ZHANG Hanghao^{1,2,3}, ZHANG Qian^{1,2,3}, WANG Xiaomin^{1,2,3}, PENG Shuai^{1,2,3}, SHAO Xinyu^{1,2,3}, LIAO Liqiu^{1,2,3}

[1. Department of Breast Surgery 2. Breast Cancer Clinical Research Center, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 3. National Clinical Research Center for Geriatric Disorders (Xiangya Hospital), Changsha 410008, China]

Abstract

Background and Aims: Novel anti-human epidermal growth factor receptor 2 antibody-drug conjugates (ADCs) have provided new treatment options for breast cancer patients, including those with low HER-2 expression. However, the differences in clinicopathologic characteristics, molecular features, and prognosis between breast cancer patients with low HER-2 expression and those with zero HER-2 expression are still unclear. Therefore, this study was conducted to compare the survival prognosis, clinicopathologic characteristics, and molecular features of breast cancer patients with low HER-2 expression and zero HER-2 expression, in order to further elucidate the molecular characteristics of low HER-2 expression breast cancer and to more accurately identify the population that may benefit from ADC drugs.

Methods: The data of 1 245 patients with stage I - III early primary invasive breast cancer who underwent surgical treatment in Xiangya Hospital of Central South University from January 2011 to December 2015 were retrospectively analyzed. The differences in clinicopathologic characteristics among patients with different levels of HER-2 expression (zero expression, low expression, overexpression) were compared. The differences in overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) were analyzed, and independent prognostic factors were identified. Molecular characteristics and immune microenvironment differences between low HER-2 expression and zero HER-2 expression breast cancer patients were compared using data from the TCGA database.

Results: Among the 1 245 patients, 395 (31.73%) had zero HER-2 expression, 562 (45.14%) had low HER-2 expression, and 288 (23.13%) had HER-2 overexpression. Compared to patients with zero HER-2 expression, those with low HER-2 expression had higher lymph node stage, a higher proportion of hormone receptor (HR) positivity, more axillary lymph node metastases, and lower Ki-67 level (all $P < 0.05$). Survival analysis showed that both OS and DFS were significantly lower in patients with HER-2 overexpression compared to those with zero HER-2 expression and low HER-2 expression (all $P < 0.05$); there were no significant differences in OS and DFS between zero HER-2 expression and low HER-2 expression patients, either overall or stratified by lymph node status or HR status (all $P > 0.05$). Multivariate Cox risk model results indicated that age and axillary lymph node metastasis were independent risk factors for OS, while age, ER status, HER-2 expression level, and axillary lymph node metastasis were independent risk factors for DFS (all $P < 0.05$). In terms of molecular characteristics, there were no significant differences in molecular mutation burden between low HER-2 expression and zero HER-2 expression breast cancer, but there were some differences in immune infiltration, with zero HER-2 expression breast cancer exhibiting a more active anti-tumor immune response.

Conclusion: There are certain differences in the pathological characteristics of low HER-2 expression and zero HER-2 expression breast cancer, but the prognostic outcomes are similar. The molecular characteristics of low HER-2 expression breast cancer are heterogeneous, but do not show significant

specificity compared to HER-2 0 expression breast cancer. Therefore, the results of this study do not support the classification of low HER-2 expression as a new molecular subtype of breast cancer.

Key words

Breast Neoplasms; ErbB Receptors; Prognosis; Immunoconjugates

CLC number: R737.9

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤^[1],人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)是乳腺癌的主要驱动基因和治疗靶点^[2]。临床上通过免疫组化(immunohistochemistry, IHC)和荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)技术检测HER-2状态,将HER-2 IHC 3+或IHC 2+且FISH扩增定义为HER-2阳性,将HER-2 IHC 0、+或2+且FISH未扩增的乳腺癌定义为HER-2阴性^[3]。HER-2阳性乳腺癌患者占乳腺癌的15%~20%,未经抗HER-2治疗的HER-2阳性乳腺癌,肿瘤侵袭性强,预后差^[4-5]。尽管抗HER-2大分子单克隆抗体、小分子酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKI)以及抗体药物偶联物(antibody-drug conjugate, ADC)等药物的更新迭代显著改善了HER-2阳性乳腺癌的自然病程,但是HER-2阴性乳腺癌,包括HER-2 0表达(定义为IHC 0)和HER-2低表达(定义为IHC+或2+且FISH阴性),都无法从传统的抗HER-2治疗中获益^[6-7]。DESTINY-Breast 04的研究结果表明,与医师选择化疗方案相比,T-DXD显著延长经治的HER-2低表达晚期乳腺癌患者的总生存(overall survival, OS)和无进展生存(progression-free survival, PFS),HER-2低表达引起临床医生极大关注^[8]。然而,目前HER-2低表达和HER-2 0表达乳腺癌之间的临床病理特征、分子特征及预后差异尚不明确,值得进一步研究。

本研究回顾性分析中南大学湘雅医院经手术治疗的I~III期早期原发性浸润性乳腺癌患者病历资料,分析比较HER-2低表达和HER-2 0表达乳腺癌患者的临床病理学特征和长期预后差异,并通过挖掘TCGA数据库分析比较HER-2低表达和HER-2 0表达乳腺癌患者的分子特征及免疫微环境差异,旨在进一步揭示HER-2低表达乳腺癌的分子特征,寻找其对ADC药物治疗反应差异的原因,为更精准选择ADC药物获益人群,更精准的分层管理奠定基础。

1 资料与方法

1.1 入组情况

本研究收集2011年1月—2015年12月间中南大学湘雅医院诊治的经手术治疗的I~III期早期原发性浸润性乳腺癌患者临床病理资料,纳入标准包括:(1)湘雅医院接受手术治疗的原发性浸润性乳腺癌;(2)HER-2状态明确,若HER-2为2+,需有FISH检测结果;(3)临床病理资料及随访信息完整。根据纳入标准,共纳入1 245例患者。本研究为回顾性研究,程序符合中南大学湘雅医院伦理委员会所制定的伦理学标准,目前无法找到对应患者签署的知情同意书,故医院伦理委员会免除知情同意的要求。临床研究伦理批准文号为202211708。

1.2 临床病历资料收集

收集患者基本信息和临床病历资料,包括年龄、身高、BMI、临床TNM分期、病理组织学类型及分级、雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、HER-2表达状态、Ki-67表达水平、分子分型、淋巴结转移状态等信息。本研究中HER-2最初检测标准是根据2007年美国临床肿瘤学会/美国病理学家学会(ASCO/CAP)发布的指南^[9]并于2013年更新^[10]所确定的,之后HER-2状态根据2018年ASCO/CAP指南^[3]使用IHC和/或FISH测定进行定义。其中HER-2过表达定义为IHC为3+或IHC 2+且FISH阳性,HER-2低表达定义为IHC为1+、2+且FISH阴性,HER-2 0表达定义为IHC 0^[11-13]。ER、PR阳性的定义为IHC结果中ER、PR表达的细胞比例 $\geq 1\%$ ^[14],激素受体(hormone receptor, HR)阳性定义为ER或PR阳性,HR阴性定义为ER阴性且PR阴性^[15]。Ki-67水平以14%为分界点分为Ki-67低表达($\leq 14\%$)和Ki-67高表达($>14\%$)^[16]。

1.3 随访与观察指标

通过电话、短信、微信等方式结合湘雅医院电子病历系统进行随访,随访截止时间为2022年

12月。生存预后指标，包括2、5、10年的无病生存（disease-free survival, DFS）、OS。DFS定义为手术之日到乳腺癌首次复发转移或死亡事件发生之日的日期。OS定义为手术之日到因任何原因引起死亡事件的时间。

1.4 TCGA数据库数据分析方法

通过TCGA biolinks工具得到TCGA-BRCA的突变maf矩阵，通过oddsratio函数分析在两组间相等基因的突变和野生型的频率分布数据。TCGA-BRCA的免疫评分矩阵从TIMER2.0 (timer.cistrome.org) 直接下载获得，选择其中CIBERSORTx (<https://cibersortx.stanford.edu>) 算法得到的22类免疫细胞的富集评分数据进行进一步筛选分析。TCGA数据库中HER-2过表达、HER-2低表达和HER-2 0表达是根据之前的研究定义的。

1.5 统计学处理

采用SPSS 25.0版统计软件处理数据。计数资料用例数（百分比）[n (%)]表示。组间比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。采用Cox单因素和多因素分析影响乳腺癌患者预后的危险因素。采用Kaplan-Meier法分析生存信息并绘制生存曲线，组间生存曲线的比较采用Log-rank检验。 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 入组患者的基本临床病理特征

根据纳入标准，共纳入1 245例乳腺癌患者。其中HER-2过表达患者288例（23.13%）、HER-2低表达562例（45.14%）、HER-2 0表达395例（31.73%）。不同HER-2表达水平乳腺癌患者的临床病理特征如表1所示。在临床淋巴结分期（clinical lymph node staging, cN）方面，HER-2低表达患者具有cN1~3期的比例为41.5%，明显高于HER-2 0表达的患者（41.5% vs. 32.7%， $P=0.006$ ），但与HER-2过表达的患者相比无明显差异（41.5% vs. 46.2%， $P=0.188$ ）。在腋窝淋巴结转移方面，HER-2低表达患者未发生腋窝淋巴结转移患者比例为52.1%，明显低于HER-2 0表达患者（52.1% vs. 62.3%， $P=0.009$ ），与HER-2过表达患者无明显差异（52.1% vs. 49.0%， $P=0.677$ ）。在HR方面，HER-2低表达患者ER阳性比例为81.7%，明显高于HER-2 0表达患者（81.7% vs. 69.9%， $P<0.001$ ）

和HER-2过表达患者（81.7% vs. 55.9%， $P<0.001$ ）；HER-2低表达患者PR阳性比例为67.4%，明显高于HER-2 0表达（67.4% vs. 57.7%， $P=0.003$ ）和HER-2过表达患者（67.4% vs. 35.1%， $P<0.001$ ）。HER-2低表达患者高Ki-67（>14）的比例为51.1%，明显低于HER-2 0表达患者（51.1% vs. 58.2%， $P=0.029$ ）和HER-2过表达患者（51.1% vs. 70.8%， $P<0.001$ ）。在年龄、BMI、TNM分期方面，HER-2 0表达、HER-2低表达和HER-2过表达三组之间均无明显差异（均 $P>0.05$ ）。

2.2 不同HER-2表达水平乳腺癌患者的生存分析结果

随访截止时间为2022年12月。1 245例患者中，304例达DFS终点，148例达OS终点。HER-2过表达、HER-2低表达和HER-2 0表达患者的2年DFS率分别为83%、92%、93%，5年DFS率分别为72%、85%、84%，10年DFS率分别为63%、73%、77%。HER-2过表达患者的DFS明显低于HER-2 0表达患者与HER-2低表达患者（均 $P<0.001$ ），而HER-2低表达与HER-2 0表达患者DFS差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）（图1A）。HER-2过表达、HER-2低表达和HER-2 0表达患者的2年OS率分别为94%、97%、98%，5年OS率分别为86%、93%、93%，10年OS率分别为78%、87%、89%。HER-2过表达患者的OS明显低于HER-2 0表达患者（ $P<0.001$ ）与HER-2低表达患者（ $P=0.001$ ），而HER-2低表达与HER-2 0表达患者OS差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）（图1B）。基于淋巴结状态、HR状态分层，探索HER-2低表达和HER-2 0表达患者的DFS、OS情况。在淋巴结阴性患者中，HER-2低表达与HER-2 0表达患者的DFS与OS差异均无统计学意义（均 $P>0.05$ ）（图1C-D）；在淋巴结阳性患者中，HER-2低表达与HER-2 0表达患者的DFS与OS差异均无统计学意义（均 $P>0.05$ ）（图1E-F）。HR阳性患者中，HER-2低表达与HER-2 0表达患者的OS与DFS差异均无统计学意义（均 $P>0.05$ ）（图1G-H）；HR阴性患者中，HER-2低表达与HER-2 0表达患者的OS与DFS差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）（图1I-J）。

2.3 影响患者OS的Cox单因素和多因素分析

Cox单因素分析中年龄、cN状态、组织学分级、ER状态、PR状态、HER-2表达情况、Ki-67表达水平以及腋窝淋巴结转移与患者OS有关（均 $P<0.05$ ）。

将以上因素纳入多因素Cox分析显示,年龄($HR=1.633$, $95\% CI=1.176\sim 2.267$, $P=0.003$), cN($HR=2.001$, $95\% CI=1.368\sim 2.927$, $P<0.001$), 腋窝淋巴结转移($HR=3.012$, $95\% CI=1.991\sim 4.556$, $P<0.001$)是乳腺癌患者OS的独立危险因素(表2)。

2.4 影响患者DFS的Cox单因素和多因素分析

Cox单因素分析中,年龄、cN状态、组织学分级、ER状态、PR状态、HER-2表达情况以及腋窝淋巴结转移与DFS有关(均 $P<0.05$)。将以上因

素纳入多因素Cox分析显示,年龄($HR=1.590$, $95\% CI=1.266\sim 1.997$, $P<0.001$), cN($HR=1.320$, $95\% CI=1.024\sim 1.701$, $P=0.032$), ER状态($HR=0.657$, $95\% CI=0.474\sim 0.910$, $P=0.012$), HER-2表达水平(HER-2过表达 vs. HER-2 0表达: $HR=1.656$, $95\% CI=1.219\sim 2.251$, $P=0.001$; HER-2过表达 vs. HER-2低表达: $HR=1.586$, $95\% CI=1.195\sim 2.104$, $P=0.001$), 腋窝淋巴结转移($HR=2.322$, $95\% CI=1.782\sim 3.024$, $P<0.001$)是乳腺癌患者DFS的独立危险因素(表3)。

表1 不同HER-2水平乳腺癌患者临床病理特征[n(%)]

Table 1 Clinicopathologic features of breast cancer patients with different HER-2 levels [n(%)]

因素	0表达 (n=395)	低表达 (n=562)	过表达 (n=288)	P		
				0表达 vs. 低表达	0表达 vs. 过表达	低表达 vs. 过表达
年龄(岁)						
<50	251(63.5)	352(62.6)	163(56.6)			
≥50	144(36.5)	210(37.4)	125(43.4)	0.774	0.067	0.088
BMI(kg/m ²)						
≤24	249(63.0)	336(59.8)	191(66.3)			
>24	146(37.0)	226(40.2)	97(33.7)	0.310	0.376	0.063
cN						
cN0	266(67.3)	329(58.5)	155(53.8)			
cN+	129(32.7)	233(41.5)	133(46.2)	0.006	<0.001	0.188
TNM分期						
1	63(15.9)	91(16.2)	45(15.6)			
2	269(68.1)	358(63.7)	176(61.1)	0.238	0.051	0.566
3	63(16.0)	113(20.1)	67(23.3)			
组织学分级						
1	7(1.8)	7(1.2)	3(1.0)			
2	289(73.1)	421(74.9)	234(81.3)	0.713	0.047	0.113
3	99(25.1)	134(23.8)	51(17.7)			
淋巴结转移数(枚)						
0	246(62.3)	293(52.1)	141(49.0)			
1~3	105(26.6)	173(30.8)	91(31.6)	0.009	0.001	0.677
4~9	33(8.3)	67(11.9)	36(12.5)			
≥10	11(2.8)	29(5.2)	20(6.9)			
ER状态						
阴性	119(30.1)	103(18.3)	127(44.1)	<0.001	<0.001	<0.001
阳性	276(69.9)	459(81.7)	161(55.9)			
PR状态						
阴性	167(42.3)	183(32.6)	187(64.9)	0.003	<0.001	<0.001
阳性	228(57.7)	379(67.4)	101(35.1)			
Ki-67水平						
≤14%	165(41.8)	275(48.9)	84(29.2)	0.029	0.001	<0.001
>14%	230(58.2)	287(51.1)	204(70.8)			

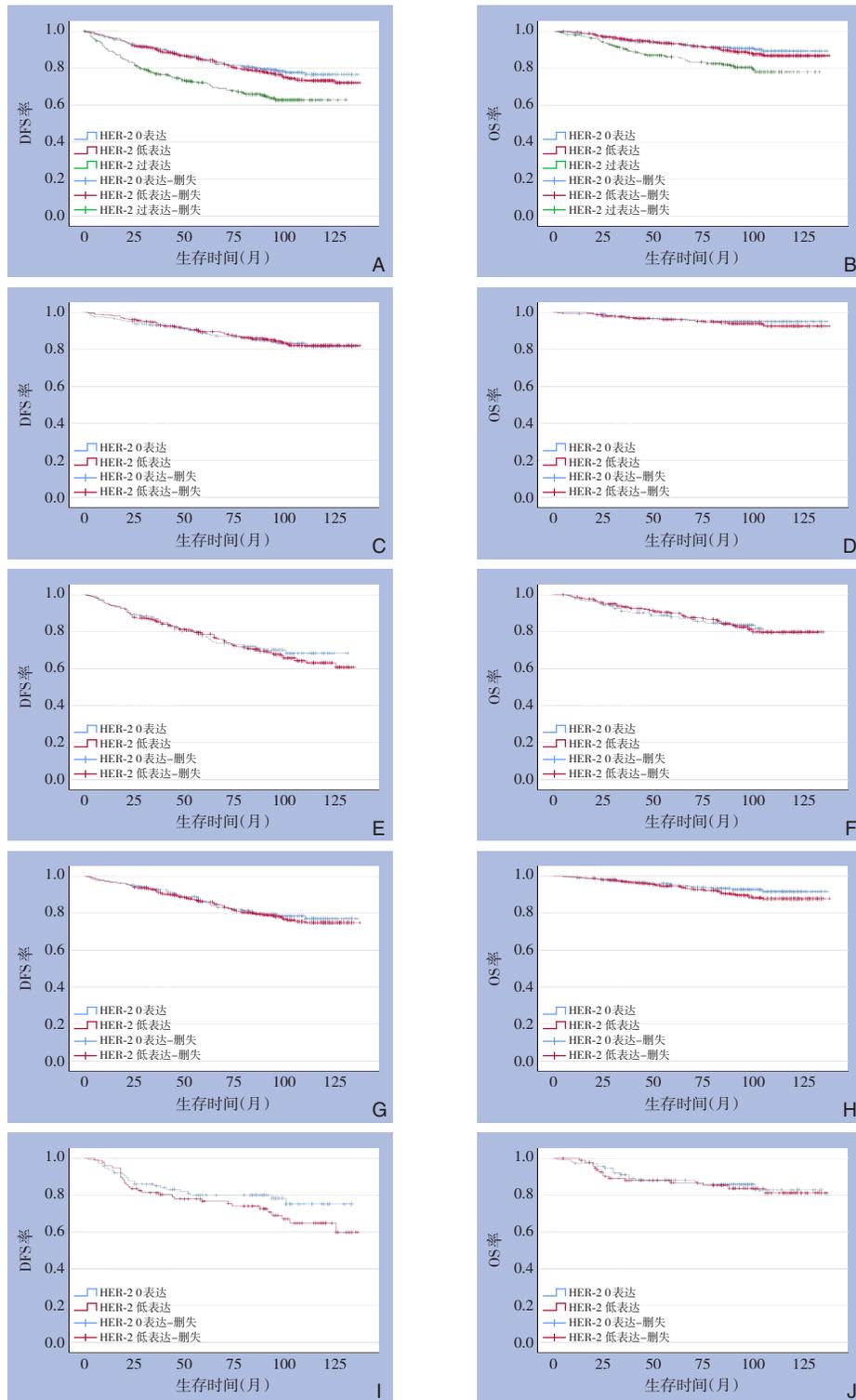


图1 不同HER-2水平患者的生存分析 A-B: HER-2过表达、HER-2低表达和HER-2 0表达患者DFS、OS曲线; C-D: 淋巴结阴性HER-2低表达和HER-2 0表达患者DFS、OS曲线; E-F: 淋巴结阳性HER-2低表达和HER-2 0表达患者DFS与OS曲线; G-H: HR阳性HER-2低表达和HER-2 0表达患者DFS、OS曲线; I-J: HR阴性HER-2低表达和HER-2 0表达患者DFS、OS曲线

Figure 1 Survival analysis of patients with different HER-2 levels A-B: DFS and OS curves for patients with HER-2 overexpression, low HER-2 expression, and zero HER-2 expression; C-D: DFS and OS curves for lymph node-negative patients with low HER-2 expression and zero HER-2 expression; E-F: DFS and OS curves for lymph node-positive patients with low HER-2 expression and zero HER-2 expression; G-H: DFS and OS curves for HR-positive patients with low HER-2 expression and zero HER-2 expression; I-J: DFS and OS curves for HR-negative patients with low HER-2 expression and zero HER-2 expression

表2 患者OS的影响因素分析
Table 2 Analysis of factors affecting the OS of patients

变量	单因素分析	P	多因素分析	P
	HR(95% CI)		HR(95% CI)	
年龄				
≥50岁 vs. <50岁	1.843(1.335~2.545)	<0.001	1.633(1.176~2.267)	0.003
BMI				
>24 kg/m ² vs. ≤24 kg/m ²	1.149(0.828~1.596)	0.406	—	—
临床N分期				
cN+ vs. cN0	3.494(2.476~4.930)	<0.001	2.001(1.368~2.927)	<0.001
组织学分级				
III vs. I~II	1.476(1.035~2.105)	0.031	1.242(0.857~1.800)	0.252
ER状态				
阳性 vs. 阴性	0.465(0.335~0.644)	<0.001	0.670(0.431~1.042)	0.075
PR状态				
阳性 vs. 阴性	0.493(0.355~0.683)	<0.001	0.781(0.505~1.210)	0.269
HER-2状态		<0.001		0.147
低表达 vs. 0表达	1.196(0.790~1.810)	0.399	1.077(0.706~1.643)	0.729
过表达 vs. 0表达	2.217(1.441~3.410)	<0.001	1.498(0.959~2.341)	0.076
过表达 vs. 低表达	1.864(1.285~2.705)	0.001	1.467(0.972~2.213)	0.068
Ki-67水平				
>14% vs. ≤14%	1.617(1.146~2.281)	0.006	1.244(0.866~1.787)	0.238
腋窝淋巴结转移				
是 vs. 否	4.166(2.862~6.065)	<0.001	3.012(1.991~4.556)	<0.001

表3 患者DFS的影响因素分析
Table 3 Analysis of factors affecting the DFS of patients

变量	单因素分析	P	多因素分析	P
	HR(95% CI)		HR(95% CI)	
年龄				
≥50岁 vs. <50岁	1.647(1.315~2.063)	<0.001	1.590(1.266~1.997)	<0.001
BMI				
>24 kg/m ² vs. ≤24 kg/m ²	1.161(0.924~1.460)	0.201	—	—
临床N分期				
cN+ vs. cN0	2.059(1.643~2.581)	<0.001	1.320(1.024~1.701)	0.032
组织学分级				
III vs. I~II	1.225(0.947~1.585)	0.122	—	—
ER状态				
阳性 vs. 阴性	0.625(0.494~0.792)	<0.001	0.657(0.474~0.910)	0.012
PR状态				
阳性 vs. 阴性	0.709(0.566~0.888)	0.003	1.070(0.780~1.468)	0.673
HER-2状态		<0.001		0.001
低表达 vs. 0表达	1.124(0.849~1.489)	0.414	1.040(0.783~1.382)	0.785
过表达 vs. 0表达	1.990(1.475~2.684)	<0.001	1.656(1.219~2.251)	0.001
过表达 vs. 低表达	1.774(1.361~2.314)	<0.001	1.586(1.195~2.104)	0.001
Ki-67水平				
>14% vs. ≤14%	1.055(0.840~1.325)	0.646	—	—
腋窝淋巴结转移				
是 vs. 否	2.590(2.045~3.279)	<0.001	2.322(1.782~3.024)	<0.001

2.5 不同HER-2 表达状态之间的分子特征差异

为进一步了解 HER-2 低表达乳腺癌的分子特征，使用公共数据库 TCGA 来识别不同亚型中的突变谱。总结了 HER-2 低表达和 HER-2 0 表达肿瘤中突变频率最高的 10 个基因，森林图显示，这些基因在 HER-2 低表达和 HER-2 0 表达肿瘤中的突变频率无明显差异 (图 2A)。对 HER-2 低表达和 HER-2 0 表达乳腺癌的免疫图谱相关性分析，相较于 HER-2 低表达乳腺癌，HER-2 0 表达乳腺癌中各

免疫细胞之间的相关性更强，表明其免疫微环境可能更为复杂，免疫细胞浸润更多 (图 2B-C)。进一步对免疫细胞进行富集评分分析，发现激活的 NK 细胞在 HER-2 0 表达乳腺癌中富集，而初始 B 细胞在 HER-2 低表达乳腺癌中富集，并且激活的 NK 细胞标志基因 KLRC2、KLRC3、TARP、CCR7 也在 HER-2 0 表达中富集，表明 HER-2 0 表达乳腺癌的抗肿瘤免疫反应可能更为活跃 (图 2D-E)。

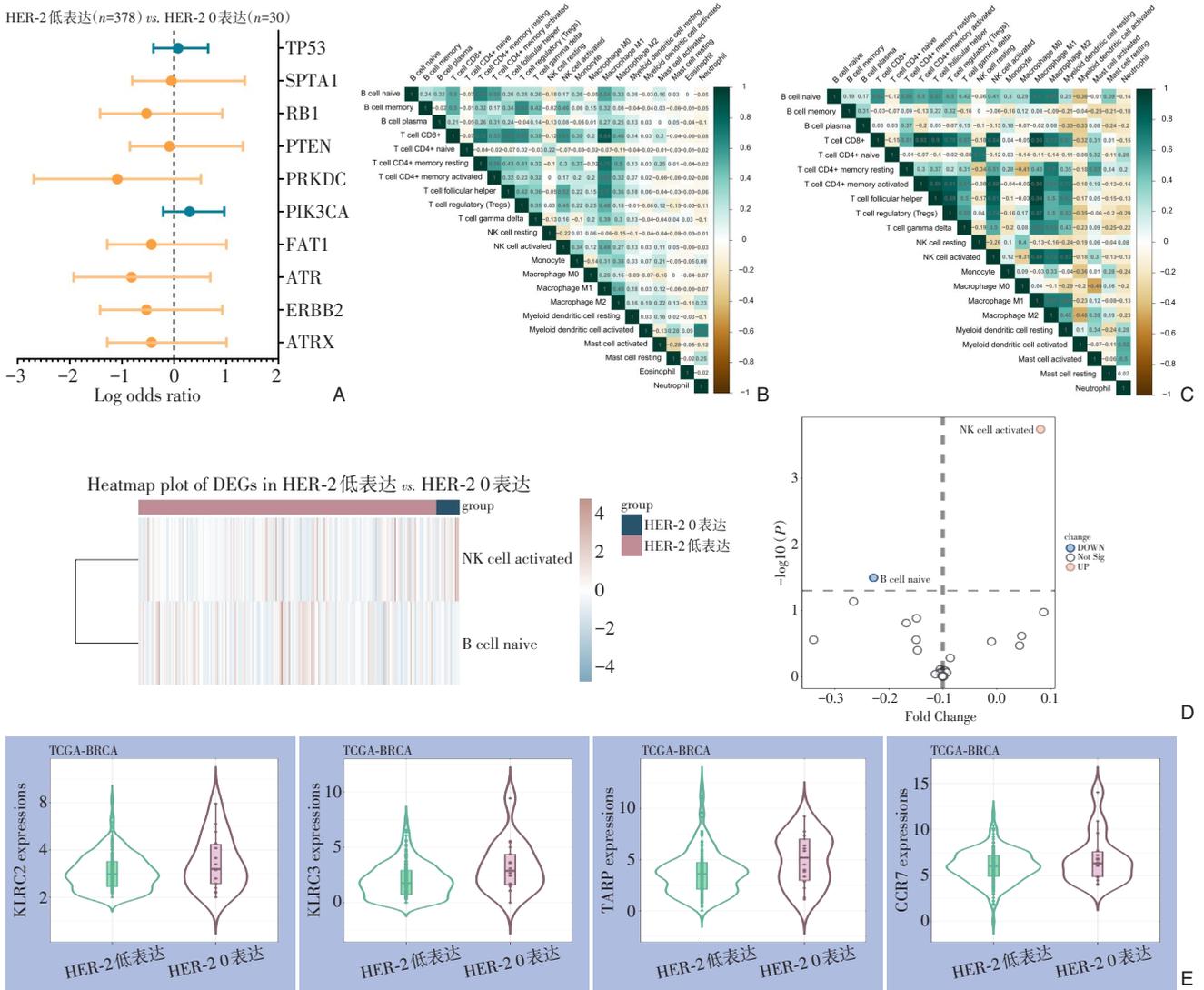


图 2 分子特征分析 A: 不同 HER-2 水平乳腺癌的突变频率分析; B: HER-2 低表达乳腺癌免疫表型分析; C: HER-2 0 表达乳腺癌免疫表型分析; D: HER-2 低表达和 HER-2 0 表达乳腺癌免疫表型的聚类分析; E: 免疫细胞差异基因分析

Figure 2 Molecular characteristics analysis A: Analysis of mutation frequencies in breast cancer with different HER-2 levels; B: Immunophenotype analysis of low HER-2 expression breast cancer; C: Immunophenotype analysis of zero HER-2 expression breast cancer; D: Clustering analysis of immunophenotypes of low HER-2 expression and zero HER-2 expression breast cancer; E: Differential gene analysis of immune cells

3 讨论

3.1 HER-2低表达乳腺癌的发病率及不稳定性

本研究回顾性纳入了1 245例原发性I~III期可手术乳腺癌患者,绝大部分患者未经新辅助治疗,其中HER-2过表达患者288例(23.13%)、HER-2低表达562例(45.14%)、HER-2 0表达395例(31.73%)。一些回顾性研究^[17-18]分析了早期乳腺癌中HER-2低表达的比例,约16.2%~64.4%,Tarantino等^[19]报道,HER-2低表达乳腺癌的发生率约占乳腺癌的45%~55%,与本研究所报道的45.14%相近。一项最新的Meta分析^[20]中,HER-2低表达发生率为65%,但该比例因HR状态而异,HR阳性患者中HER-2低表达比例为67.5%,HR阴性患者中HER-2低表达的发生率为48.6%,在本研究中,HR阴性患者中HER-2低表达比例为45.8%,而HR阳性患者中HER-2低表达的发生率为62.4%,两者基本一致。

乳腺癌HER-2的表达可能发生动态变化,可能受到治疗、疾病阶段等因素的影响。韩国的一项研究^[21]表明,在新辅助治疗前为HER-2 0表达的患者中,在新辅助治疗后HER-2状态转变为HER-2 0表达和HER-2低表达,分别为68%和29%。在新辅助治疗前为HER-2低表达的患者中,新辅助治疗后32%的患者转变为HER-2 0表达,59%的患者维持HER-2低表达状态,但HER-2的变化与临床结局无明显关联。Tarantino等^[22]表明,乳腺癌原发肿瘤和配对的晚期转移灶之间HER-2低表达比例存在显著不一致性,在晚期疾病阶段会出现HER-2低表达的富集,原发性乳腺癌HER-2 0表达向晚期阶段的HER-2低表达转变更为常见,而HER-2低表达向HER-2 0表达的转变相对较少,并且约50%的患者中观察到晚期疾病阶段第2次活检与第1次活检的HER-2表达不一致,提示在乳腺癌发展病程中HER-2低表达的高度不稳定性,这种不稳定性可能与早期乳腺癌接受消融^[23]、化疗^[24]、内分泌治疗^[25]等可能增加HER-2的表达相关,也可能与当前HER-2低表达的判读标准存在异质性相关^[19, 26]。基于DESTINY-Breast 04研究结果,HER-2低表达的晚期患者可能从T-DXd等新型ADC药物治疗受益,针对转移灶再次活检明确转移灶的HER-2状态十分重要。

3.2 HER-2低表达乳腺癌的临床病理特征及其预后特征

最近,有一系列研究探讨HER-2低表达和HER-2 0表达乳腺癌患者在临床病理特征、生存预后方面的差异,但诸多研究结果并不一致。一项最新的Meta分析^[20]表明,HER-2低表达与更有利的临床病理特征相关,尤其是在ER阴性患者中,该研究同时发现HER-2低表达与HER-2阴性早期乳腺癌的DFS和OS改善相关,且独立于ER状态,但这项Meta分析纳入的文献均为回顾性研究,随访持续时间不同,且生存率存在差异,混杂因素较多。Denkert团队^[11]整合了4项临床研究,纳入总共2 310例HER-2阴性乳腺癌患者进行联合分析,研究发现,HER-2低表达乳腺癌患者在生物学行为、临床病理特征、治疗反应及临床结局方面均明显有别于HER-2 0表达的乳腺癌患者。而同时,大多数研究在校正HR状态后,未发现HER-2低表达与HER-2 0表达乳腺癌患者在DFS、OS方面有明显差异,且HER-2状态不是HER-2阴性乳腺癌OS和DFS的独立预后因素^[27-29]。有研究^[30]探索了HER-2低表达是否会影响接受CDK4/6抑制剂等特定类型药物治疗患者的预后,然而研究结果并不一致,不足以支持有意义的预后价值。本研究发现HER-2 0表达和HER-2低表达在年龄、BMI、TNM分期方面均无显著差异,HER-2 0表达通常与不利风险因素更相关,HER-2 0表达组的ER阴性、PR阴性及高Ki-67比例更高,而HER-2低表达组淋巴结阳性比例较高。基于HR状态的分层分析显示:在HR阳性患者中,HER-2低表达与更高的淋巴结分期相关,而其他因素在HER-2低表达和HER-2 0表达组间无显著差异;在HR阴性患者中,HER-2低表达和HER-2 0表达组间均无显著差异。无论HR状态如何,HER-2低表达组与HER-2 0表达组乳腺癌患者的DFS和OS无显著差异。基于淋巴结状态的分层分析显示:在淋巴结阳性患者中,HER-2低表达与更高的TNM分期、更高的ER、PR阳性比例相关;在淋巴结阴性患者中,HER-2低表达与更高的ER阳性比例和更低的高Ki-67比例相关。无论淋巴结状态如何,HER-2低表达与HER-2 0表达组乳腺癌患者的DFS和OS无显著差异。因此,上述研究结果提示,HER-2低表达对乳腺癌预后的影响仍是一个尚未明确的问题,目前在临床上不具备实际指导意义。

3.3 HER-2低表达乳腺癌的分子特征

多项研究^[27, 31]探讨了HER-2低表达乳腺癌的分子特征, 研究结果显示, 校正HR表达后, HER-2低表达和HER-2 0表达乳腺癌之间的基因组谱不具有特异性和一致的差异。研究^[32]基于二代测序技术分析了中国523例不同HER-2表达水平乳腺癌的基因变异图谱, 与HER-2 0表达乳腺癌相比, HER-2低表达的基因变异图谱及信号通路突变方面具有明显的差异, 高PIK3CA突变及低TP53突变率是HER-2低表达亚型最主要的分子特征。采用多组学探索了中国人HER-2低表达乳腺癌的分子特征的研究^[33]发现HER-2低表达乳腺癌在转录组、蛋白质组和代谢组水平上具有异质性, 且HR阴性亚组的异质性较HR阳性亚组更大; 在HR阴性患者中, 与HER-2 0表达患者相比, HER-2低表达患者基底样肿瘤较少, 差异表达基因(尤其是脂代谢相关基因)更多, 差异程度更加明显。HR阴性/HER-2低表达的非基底样肿瘤主要以HER-2富集亚型和管腔雄激素受体(luminal androgen receptor, LAR)亚型为主, 而且PI3K/Akt通路呈上调状态, PIK3CA突变频率高达61.5%, 高于HER-2低表达基底样肿瘤、HER-2 0表达和HER-2阳性乳腺癌(10.8%、9.1%和27.3%)。本研究通过挖掘TCGA数据库发现, HER-2低表达和HER-2 0表达乳腺癌之间突变频率无显著差异。对HER-2低表达和HER-2 0表达乳腺癌的免疫图谱相关性分析, HER-2 0表达中各免疫细胞之间的相关性更强, 表明其免疫微环境可能更为复杂, 免疫细胞浸润更多。进一步对免疫细胞进行富集评分分析, 发现激活的NK细胞在HER-2 0表达乳腺癌中富集, 而初始B细胞在HER-2低表达乳腺癌中富集, 并且激活的NK细胞标志基因KLRC2、KLRC3、TARP、CCR7也在HER-2 0表达中富集, 表明HER-2 0表达乳腺癌的抗肿瘤免疫反应可能更为活跃。本研究的结果再次证实了HER-2低表达乳腺癌总体水平与HER-2 0表达乳腺癌无显著差异。这些研究结果表明, HER-2低表达乳腺癌代表了一个生物学异质性肿瘤群, 其对HER-2的免疫反应水平较低。

3.4 HER-2低表达能否成为乳腺癌新的分子亚型

首先, HER-2低表达乳腺癌的临床病理特征及预后意义尚未完全明确, 诸多研究结果存在异质性, 在临床上并不具有评估预后的实际指导意

义; 其次, 通过多组学数据来确定HER-2低表达能否作为单独的病理亚型的研究较少, HER-2低表达乳腺癌的分子特征并未明确, 目前的结果均提示HER-2低表达分子特征异质性较大, 尤其在HR阴性患者中; 另外, 虽然DESTINY-Breast 04研究结果显示, T-DXD治疗晚期HER-2低表达乳腺癌疗效显著, 但目前针对HER-2低表达的治疗药物仍较少, 且并非针对特定的靶点治疗。因此, 考虑到以上情况, 目前定义的HER-2低表达乳腺癌不应被视为一个独特的分子亚型, 而是一种生物学特征, 主要由HR表达所驱动的异质性肿瘤群。

本研究关注HER-2低表达与HER-2 0表达乳腺癌患者的临床病理特征、长期生存预后及分子特征差异, 研究方向是当下乳腺癌研究的热点。本研究中, 纳入的患者绝大多数都为未经新辅助治疗的早期可手术乳腺癌, HER-2低表达的比例能够反映早期乳腺癌的真实水平, 本研究的随访时间长, 能够反映出HER-2低表达及HER-2 0表达乳腺癌的自然病程, 但本研究也存在一些不足: (1) 本研究为回顾性、单中心研究, 病例选择上可能存在偏倚, 需要前瞻性、多中心的数据进行验证; (2) 剔除了生存信息缺失的患者, 可能影响总体人群的生存, 产生偏差; (3) 缺乏本中心患者的多组学数据。

综上所述, 本研究通过1 245例原发性I~III期可手术乳腺癌患者进行回顾分析, 发现HER-2低表达和HER-2 0表达乳腺癌患者的病理特征存在一定差异, 但HER-2低表达和HER-2 0表达乳腺癌的DFS和OS无显著差异; 本研究通过挖掘TCGA数据库发现, HER-2低表达的分子特征具有异质性, 但与HER 0表达乳腺癌的分子特征不具有显著特异性。本研究的结果丰富了HER-2低表达乳腺癌的特征, 研究结果不支持将HER-2低表达作为新的乳腺癌分子分型。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明: 廖立秋、张航豪参与研究设计及论文写作; 张航豪、张倩、彭帅、王晓敏、邵新宇参与采集数据; 张航豪、张倩、彭帅、邵新宇参与患者随访; 张航豪、张倩、王晓敏参与数据分析, 全体作者参与论文修改与定稿, 并同意最终的手稿。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209–249. doi:10.3322/caac.21660.
- [2] Krishnamurti U, Silverman JF. HER-2 in breast cancer: a review and update[J]. *Adv Anat Pathol*, 2014, 21(2):100–107. doi:10.1097/PAP.0000000000000015.
- [3] Wolff AC, Hammond MH, Allison KH, 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. doi:10.1200/JCO.2018.77.8738.
- [4] Hurvitz SA, Martin M, Symmans WF, et al. Neoadjuvant trastuzumab, pertuzumab, and chemotherapy versus trastuzumab emtansine plus pertuzumab in patients with HER-2-positive breast cancer (KRISTINE): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(1):115–126. doi:10.1016/S1470-2045(17)30716-7.
- [5] Swain SM, Ewer MS, Viale G, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and standard anthracycline- and taxane-based chemotherapy for the neoadjuvant treatment of patients with HER-2-positive localized breast cancer (BERENICE): a phase II, open-label, multicenter, multinational cardiac safety study[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(3):646–653. doi:10.1093/annonc/mdx773.
- [6] Fehrenbacher L, Cecchini RS, Geyer CE Jr, et al. NSABP B-47/ NRG oncology phase III randomized trial comparing adjuvant chemotherapy with or without trastuzumab in high-risk invasive breast cancer negative for HER-2 by FISH and with IHC 1+ or 2[J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(5):444–453. doi:10.1200/JCO.19.01455.
- [7] von Minckwitz G, Procter M, de Azambuja E, et al. Adjuvant pertuzumab and trastuzumab in early HER-2-positive breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(2):122–131. doi:10.1056/NEJMoa1703643.
- [8] Modi SN, Jacot W, Yamashita T, et al. Trastuzumab deruxtecan in previously treated HER-2-low advanced breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2022, 387(1):9–20. doi:10.1056/NEJMoa2203690.
- [9] 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]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(1):118–145. doi:10.1200/JCO.2006.09.2775.
- [10] Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, 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]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(31):3997–4013. doi:10.1200/JCO.2013.50.9984.
- [11] Denkert C, Seither F, Schneeweiss A, et al. Clinical and molecular characteristics of HER-2-low-positive breast cancer: pooled analysis of individual patient data from four prospective, neoadjuvant clinical trials[J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22(8):1151–1161. doi:10.1016/S1470-2045(21)00301-6.
- [12] Schneeweiss A, Park-Simon TW, Albanell J, et al. Phase Ib study evaluating safety and clinical activity of the anti-HER3 antibody lumretuzumab combined with the anti-HER-2 antibody pertuzumab and paclitaxel in HER3-positive, HER-2-low metastatic breast cancer[J]. *Invest New Drugs*, 2018, 36(5):848–859. doi:10.1007/s10637-018-0562-4.
- [13] Banerji U, van Herpen CML, Saura C, et al. Trastuzumab duocarmazine in locally advanced and metastatic solid tumours and HER-2-expressing breast cancer: a phase 1 dose-escalation and dose-expansion study[J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(8):1124–1135. doi:10.1016/S1470-2045(19)30328-6.
- [14] 刘杰娜, 张建国, 郭宝良, 等. 乳腺癌患者Ki-67表达水平对新辅助化疗后病理学完全缓解的预测价值[J]. *中国普通外科杂志*, 2018, 27(5):608–614. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.05.013.
- Liu JN, Zhang JG, Guo BL, et al. Values of Ki-67 expression level in predicting pathological complete response following neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients[J]. *China Journal of General Surgery*, 2018, 27(5):608–614. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.05.013.
- [15] 杨宏伟, 陈茂山, 李芳芳, 等. 年龄与三阴性乳腺癌临床病理特征及预后的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2021, 30(11):1285–1293. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.11.003.
- Yang HW, Chen MS, Li FF, et al. Association of age at diagnosis with clinicopathologic features and prognosis in patients with triple-negative breast cancer[J]. *China Journal of General Surgery*, 2021, 30(11):1285–1293. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.11.003.
- [16] Yu YF, Tan YJ, Xie CM, et al. Development and validation of a preoperative magnetic resonance imaging radiomics-based signature to predict axillary lymph node metastasis and disease-free survival in patients with early-stage breast cancer[J]. *JAMA Netw Open*, 2020, 3(12):e2028086. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.28086.
- [17] Horisawa N, Adachi Y, Takatsuka D, et al. The frequency of low HER-2 expression in breast cancer and a comparison of prognosis between patients with HER-2-low and HER-2-negative breast cancer by HR status[J]. *Breast Cancer*, 2022, 29(2):234–241. doi:10.1007/s12282-021-01303-3.
- [18] Jacot W, Maran-Gonzalez A, Massol O, et al. Prognostic value of HER-2-low expression in non-metastatic triple-negative breast

- cancer and correlation with other biomarkers[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(23):6059. doi:10.3390/cancers13236059.
- [19] Tarantino P, Hamilton E, Tolaney SM, et al. HER-2-low breast cancer: pathological and clinical landscape[J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(17):1951-1962. doi:10.1200/JCO.19.02488.
- [20] Ergun Y, Ucar G, Akagunduz B. Comparison of HER-2-zero and HER-2-low in terms of clinicopathological factors and survival in early-stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Cancer Treat Rev*, 2023, 115: 102538. doi: 10.1016/j.ctrv.2023.102538.
- [21] Kang S, Lee SH, Lee HJ, et al. Prognostic implications of HER-2 changes after neoadjuvant chemotherapy in patients with HER-2-zero and HER-2-low breast cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2023, 191: 112956. doi:10.1016/j.ejca.2023.112956.
- [22] Tarantino P, Gandini S, Nicolò E, et al. Evolution of low HER-2 expression between early and advanced-stage breast cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2022, 163:35-43. doi:10.1016/j.ejca.2021.12.022.
- [23] Cao N, Li SY, Wang ZQ, et al. NF-kappaB-mediated HER-2 overexpression in radiation-adaptive resistance[J]. *Radiat Res*, 2009, 171(1):9-21. doi:10.1667/RR1472.1.
- [24] 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. doi: 10.1210/en.2002-220620.
- [25] Kan S, Koido S, Okamoto M, et al. Gemcitabine treatment enhances HER-2 expression in low HER-2-expressing breast cancer cells and enhances the antitumor effects of trastuzumab emtansine[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(1): 504-510. doi: 10.3892/or.2015.3974.
- [26] Khoury T. Delay to formalin fixation (cold ischemia time) effect on breast cancer molecules[J]. *Am J Clin Pathol*, 2018, 149(4): 275-292. doi:10.1093/ajcp/aqx164.
- [27] Agostinetti E, Rediti M, Fimereli D, et al. HER-2-low breast cancer: molecular characteristics and prognosis[J]. *Cancers*, 2021, 13(11):2824. doi:10.3390/cancers13112824.
- [28] Tarantino P, Jin QC, Tayob N, et al. Prognostic and biologic significance of ERBB2-low expression in early-stage breast cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2022, 8(8): 1177-1183. doi: 10.1001/jamaoncol.2022.2286.
- [29] 王晓敏, 彭璐珊, 王潇潇, 等. 不同HER-2表达水平乳腺癌患者新辅助化疗疗效与生存分析[J]. *中国普通外科杂志*, 2023, 32(5): 739-751. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.05.014.
- Wang XM, Peng LS, Wang XX, et al. Analysis of the efficacy and survival outcomes of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients with different HER-2 expression levels[J]. *China Journal of General Surgery*, 2023, 32(5): 739-751. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.05.014.
- [30] Bao KKH, Sutanto L, Tse SSW, et al. The association of ERBB2-low expression with the efficacy of cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor in hormone receptor-positive, ERBB2-negative metastatic breast cancer[J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4(11): e2133132. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.33132.
- [31] Tarantino P, Viale G, Press MF, et al. ESMO expert consensus statements (ECS) on the definition, diagnosis, and management of HER-2-low breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2023, 34(8):645-659. doi: 10.1016/j.annonc.2023.05.008.
- [32] Zhang GC, Ren CY, Li C, et al. Distinct clinical and somatic mutational features of breast tumors with high-, low-, or non-expressing human epidermal growth factor receptor 2 status[J]. *BMC Med*, 2022, 20(1):142. doi:10.1186/s12916-022-02346-9.
- [33] Dai LJ, Ma D, Xu YZ, et al. Molecular features and clinical implications of the heterogeneity in Chinese patients with HER-2-low breast cancer[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):5112. doi:10.1038/s41467-023-40715-x.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 张航豪, 张倩, 王晓敏, 等. HER-2 0 表达与HER-2 低表达早期乳腺癌的长期预后与分子特征比较[J]. *中国普通外科杂志*, 2024, 33(5):707-718. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.05.004

Cite this article as: Zhang HH, Zhang Q, Wang XM, et al. Comparison of lng-term prognosis and molecular characteristics between early breast cancer with zero HER-2 expression and low HER-2 expression[J]. *Chin J Gen Surg*, 2024, 33(5): 707-718. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2024.05.004