

CCR 重磅！SE-iFISH 动态监测多倍体 CTC 高表达 HER2 的特殊临床意义

人表皮生长因子-2 (HER2)的过表达不仅与肿瘤的发生、发展相关，而且是乳腺癌、胃癌、肠癌等肿瘤靶向治疗的重要靶点。目前临床对于病人 HER2 阳性的判断，主要是对穿刺的肿瘤组织标本进行一次性 HER2 检测。然而，一次性穿刺检测并不能真实、客观地反映出肿瘤发生、发展过程中各种肿瘤靶点蛋白或基因的动态变化，从而严重制约了靶向药物的选择。

胃癌目前位居全球所有肿瘤死亡率的第二位，在我国也已跃居为第三大高发癌种，对大众健康构成了严重威胁。最近，由北京大学肿瘤中心/北

京肿瘤医院消化内科沈琳教授团队、美国奥克拉荷马大学(Univ. of Oklahoma)医学中心及赛特生物，应用赛特生物 SE-iFISH® 技术开展了大规模的 CTC 临床实验。我们对 115 例晚期胃癌患者进行了长达 2 年多的动态监测，着重研究了近 600 个临床样本中异倍体 CTC 上的 HER2 蛋白动态表达及其特殊临床意义，取得了重大成果。最新研究成果刚刚发表在国际著名期刊《Clinical Cancer Research》(“临床癌症研究”，影响因子 10.199) (图 1)。

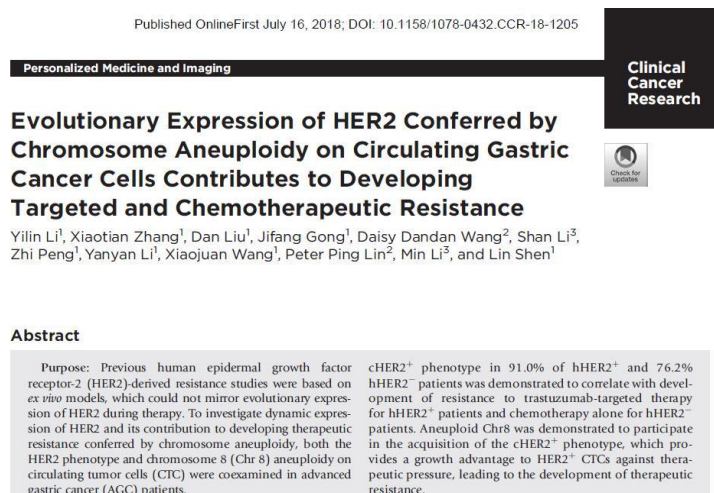


图 1 异倍体 CTC 上的 HER2 蛋白动态检测 CCR 文章

本文亮点：

- 相对于常规病理穿刺的胃癌组织 HER2 (hHER2) 阳性率 12%，动态监测的 CTC HER2 (cHER2) 阳性率可高达 76~91% (图 2)
- HER2-iFISH® 动态监测 CTC 显示，8 号染色体多倍体(≥5 倍体)积极参与了 CTC 上的 cHER2 蛋白表达，其可导致肿瘤耐药
- 病理科常规“组织-FISH”方法检测出的 HER2 基因扩增，或血液中检测出的部分 HER2 核酸片段(如 ctDNA、mRNA)，并不等同靶点 HER2 蛋白也阳性表达 (Luoh, et al., 2013 Springerplus 2:386)。而应用 SE-iFISH® 动态监测多倍体 CTC HER2 蛋白的表达，可极大提高 HER2 阳性检出率，从而为肿瘤患者开展靶向治疗提供了更加完整的客观依据

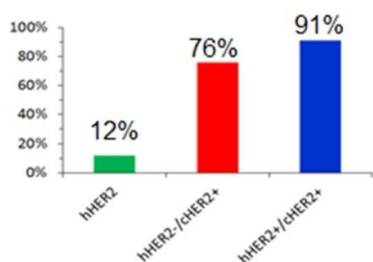


图 2 胃癌组织与 CTC HER2 阳性率比较

临床常规检测 HER2 方法的局限性

HER2 靶向治疗主要是使用 HER2 单抗曲妥珠(Herceptin)与肿瘤细胞表面的靶点 HER2 蛋白相结合,再联合化疗,从而起到抑癌作用。因此,肿瘤细胞表达 HER2 蛋白是实施相关靶向治疗的首要前提。临床上判断适合 HER2 靶向治疗病人的常规方法,主要是对病理穿刺的肿瘤组织进行免疫组化染色。对免疫组化 2+ 的标本,进一步使用 FISH 方法检测肿瘤细胞内 17 号染色体上的 HER2 基因是否扩增,以确定适于靶向治疗的病人。

然而,该方法具有显而易见的局限性:(1) 敏感性低, hHER2 阳性率仅在 12-13%; (2) 受转录、翻译等多个调控点的调控(Lin, 2018 *Diagnostics* 8:26),即使 HER2 基因扩增也不意味着 HER2 蛋白的表达,两者之间并不存在必然联系(Luoh, et al., 2013 *Springerplus* 2:386)。因此无论是常规组织-FISH 方法或是 ctDNA/mRNA 检测,都无法有效、准确鉴别肿瘤细胞是否真正表达了靶点 HER2 蛋白;(3) 肿瘤组织穿刺多为一次性检测,不适于监测 HER2 蛋白在肿瘤细胞上的动态表达。

hHER2⁻ 患者体内存在 cHER2⁺ CTC

无论 hHER2⁺ 或 hHER2⁻ 患者, 34~42% 没有经过治疗的胃癌患者均可检测出 cHER2⁺ CTC (图 3)。

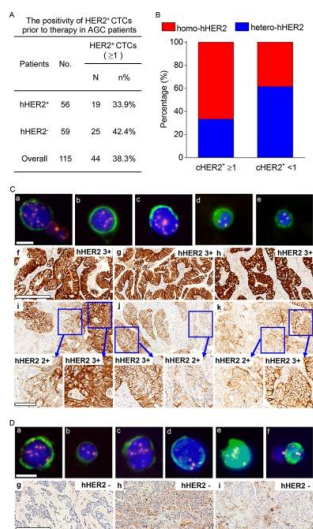


图 3 胃癌患者体内检出 hHER2⁻ CTC

cHER2⁻ CTC 可动态转化为 cHER2⁺ CTC

hHER2⁺ 或 hHER2⁻ 患者, 其 cHER2⁺ 表型伴随着治疗呈现不断的动态演变过程, 这种演变过程并非单一线性增加或减少, 而是呈现波动的演变模式。此现象与我们之前报道的转移型肿瘤动物模型(metastatic PDX, mPDX) 体内 CTC 呈波动性释放的结论相似(图 4)。

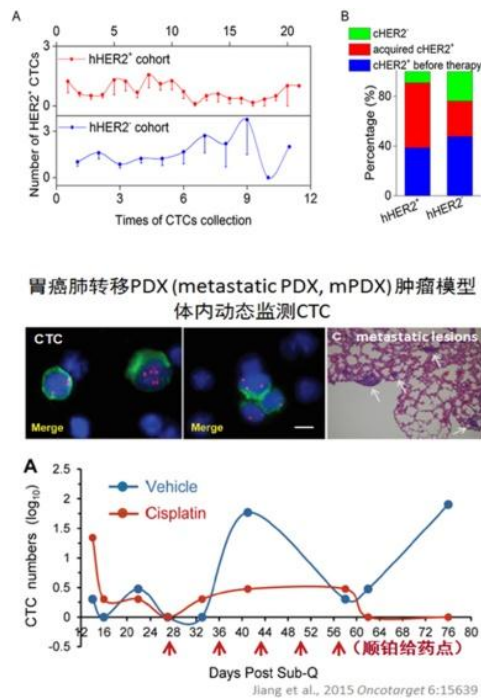


图 4 mPDX 体内 CTC 呈波动性释放

本研究发现, cHER2⁻ 患者接受治疗后, CTC 可动态获得 cHER2⁺ 表型。91% 的 hHER2⁺ 及 76% 的 hHER2⁻ 患者在治疗的不同阶段出现 cHER2⁺ 表型, 而动态监测的肿瘤组织上的 hHER2 则呈稳定的阴性不表达状态。结果提示, 相对于常规免疫组化检测, 应用 HER2-i-FISH[®] 动态监测 CTC 上的 HER2 表达, 获得的数据更加全面、客观。

CTC 动态获得 cHER2⁺ 表型与患者耐药及不良预后密切相关

图 A-B 为 hHER2⁺ 及 hHER2⁻ 患者从治疗前到治疗后产生耐药过程中, cHER2⁺ 表型动态演变热图(图 5)。结果显示, hHER2⁺ 和 hHER2⁻

这两组患者中均有超过一半的患者获得了 cHER2⁺ 表型，提示 cHER2⁺表型的动态获得可能参与了肿瘤耐药的发生。

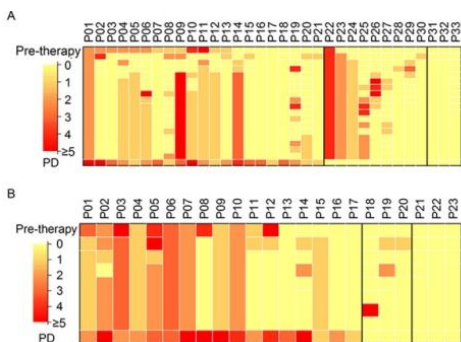


图 5 cHER2⁺表型动态演变热图

图 C-F 显示了治疗前 cHER2⁺ CTC 水平与 hHER2⁺及 hHER2⁻患者 PFS 及 OS 相关性的生存曲线（图 6）。两组患者中，cHER2⁺表型可以降低治疗有效性，并导致耐药及不良预后。

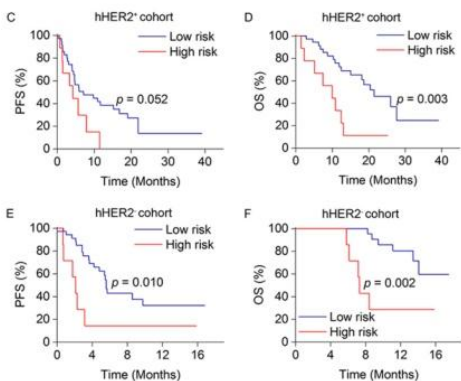


图 6 cHER2⁺ CTC 水平与 PFS、OS 相关性

染色体多倍体 (≥5 倍体)可促进 CTC 动态表达 HER2

研究发现，无论 hHER2⁺ 或 hHER2⁻的患者，在 cHER2⁺的 CTC 中可检测出各种不同倍体的 8 号染色体(Chr8)，其中多倍体(≥5 体)在两组患者的 cHER2⁺CTC 中均占据了绝大多数(>80%)。散点图显示多倍体 CTC 的变化趋势与 cHER2⁺ CTC 的变化趋势呈现明显的正相关（图 7）。因此，Chr8 多倍体(≥5 体)积极参与了治疗过程中 CTC 动态获得 cHER2⁺阳性表型。

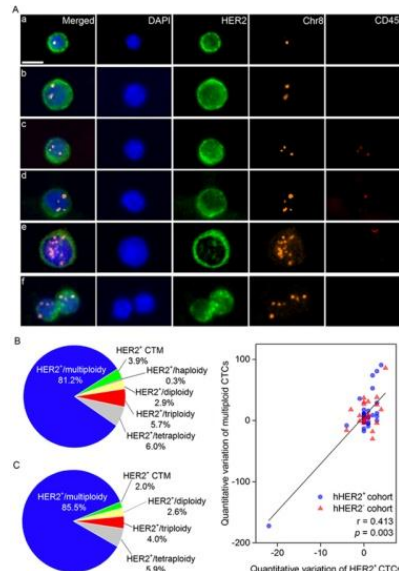


图 7 多倍体 CTC 与 HER2 表达相关性

多倍体(≥5 体) cHER2⁺ CTC 亚类细胞的增加导致耐药及不良预后

进一步的研究提示，cHER2⁺多倍体 CTC 对治疗不敏感。图 A 显示了 33 例 hHER2⁺及 23 例 hHER2⁻治疗后肿瘤进展(PD)病人体内 cHER2⁺多倍体 CTC 从治疗前到治疗后耐药发生时的变化热图。白色代表为缺失；红色代表治疗前到耐药发生时 cHER2⁺多倍体细胞增加；蓝色代表 cHER2⁺多倍体细胞减少。图 B 和 C 显示，在 44 例 hHER2⁺患者及 42 例 hHER2⁻患者中，治疗后 cHER2⁺多倍体细胞升高(High risk)患者比 cHER2⁺多倍体细胞不变或降低(Low risk)患者无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)更短。数据显示，8 号染色体多倍体 cHER2⁺ CTC 数目与胃癌耐药及不良预后密切相关。

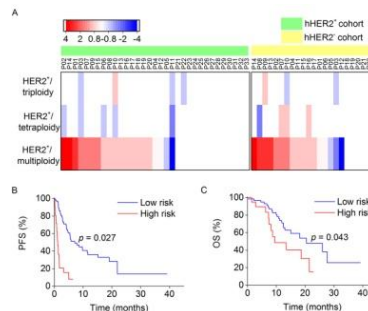


图 8 多倍体 cHER2⁺ CTC 导致耐药和不良预后

靶向曲妥珠单抗可降低 cHER2⁺及 cHER2⁻ CTC 数量

我们对 2 例 cHER2⁺患者进行了前瞻性的曲妥珠联合化疗治疗。其中，患者 A 为治疗前 hHER2⁻/cHER2⁺；患者 B 为治疗前 hHER2⁺/cHER2⁻，接受化疗后 cHER2⁻ 转为

cHER2⁺。结果显示，这 2 例患者联合用药后 CTC 总数量 (包括 cHER2⁺ 及 cHER2⁻ CTC) 整体下降，然而 PFS 并没明显改善 (图 9)。因此，进一步探究联合使用 HER 家族其它靶向药物治疗 cHER2⁺病人的疗效，将具有非常重要的临床意义 (Jordan et al., 2016 *Nature* 537:102)。

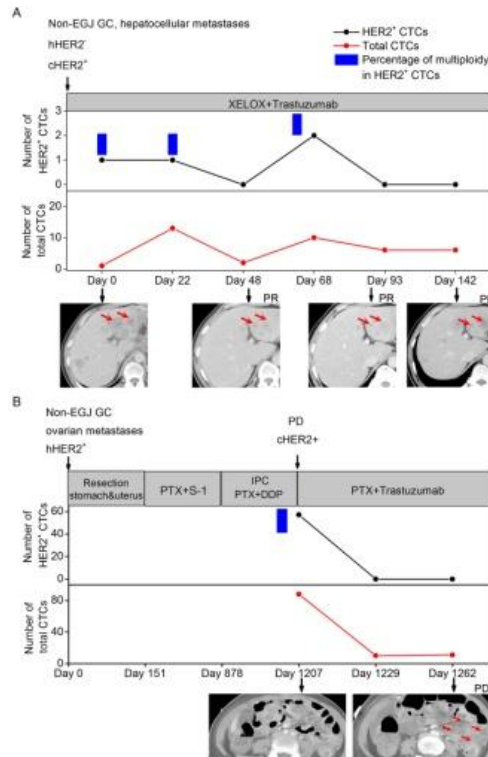


图 9 曲妥珠联合治疗可降低 cHER2⁺及 cHER2⁻ CTC 数量

结论

本文揭示了监测异倍体 CTC 上肿瘤治疗靶点动态高表达的重要意义。与临床常规单次病理穿刺检测获得的较低 hHER2 阳性率相比，应用 SE-i•FISH[®] 动态监测 CTC 上 HER2 蛋白表达，可极大提高 HER2 检出的阳性率，从而为肿瘤患者开展靶向治疗提供了更准确的客观依据；同时，

能够达到实时监测肿瘤治疗过程中的耐药产生，并指导实施其它相关靶向或联合化疗等治疗手段。

本临床实验虽侧重于胃癌 HER2 研究，SE-i•FISH[®] 同样可有效应用于其他瘤种 (乳腺癌、结直肠癌等) CTC 及相关治疗靶点 (PD-L1 等) 的实时动态监测。