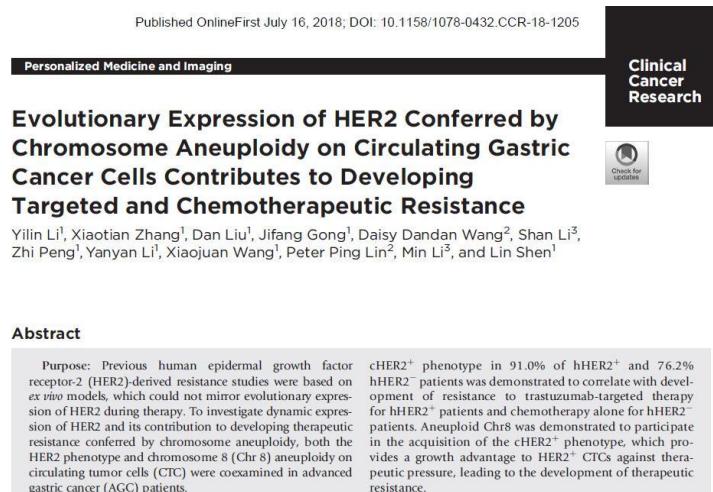


CCR 重磅！SE-iFISH 动态监测多倍体 CTC 高表达 HER2 的特殊临床意义

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常发癌种，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-i•FISH® 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)。



Abstract

Purpose: Previous human epidermal growth factor receptor-2 (HER2)-derived resistance studies were based on *ex vivo* models, which could not mirror evolutionary expression of HER2 during therapy. To investigate dynamic expression of HER2 and its contribution to developing therapeutic resistance conferred by chromosome aneuploidy, both the HER2 phenotype and chromosome 8 (Chr 8) aneuploidy on circulating tumor cells (CTC) were coexamined in advanced gastric cancer (AGC) patients.

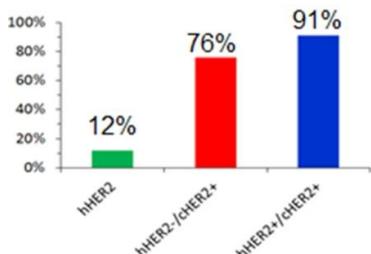
cHER2⁺ phenotype in 91.0% of hHER2⁺ and 76.2% hHER2⁻ patients was demonstrated to correlate with development of resistance to trastuzumab-targeted therapy for hHER2⁺ patients and chemotherapy alone for hHER2⁻ patients. Aneuploid Chr8 was demonstrated to participate in the acquisition of the cHER2⁺ phenotype, which provides a growth advantage to HER2⁺ CTCs against therapeutic pressure, leading to the development of therapeutic resistance.

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-i•FISH® 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-i•FISH® 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**。临幊上判断适合 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)。

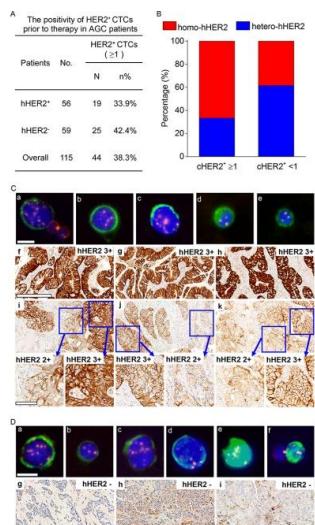


图 3 胃癌患者体内检出 hHER2⁻ CTC

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）。

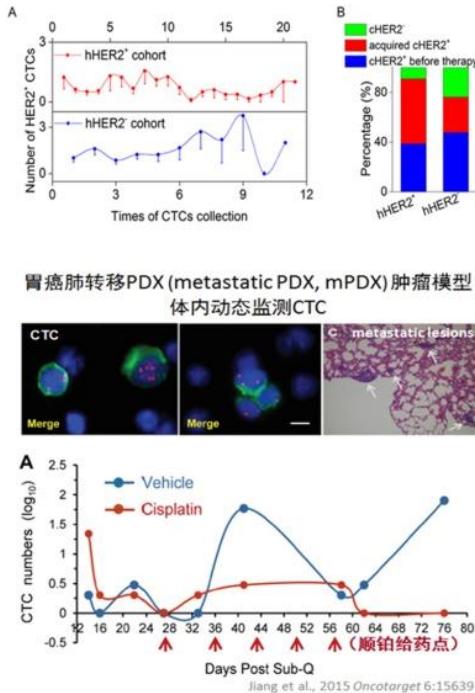


图 4 mPDX 体内 CTC 呈波动性释放

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-iFISH® 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。

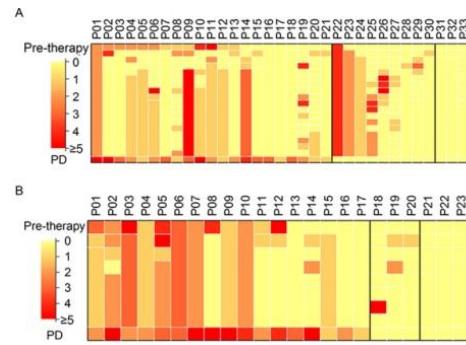


图 5 cHER2⁺ 表型动态演变热图

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。

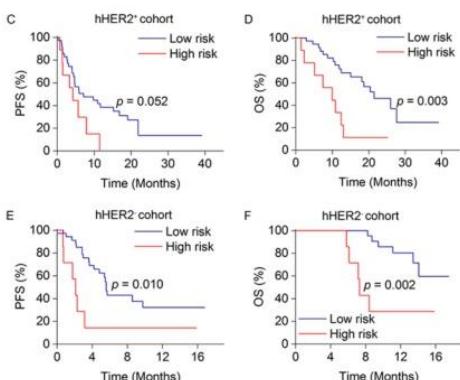


图 6 cHER2⁺ CTC 水平与 PFS、OS 相关性

染色体多倍体(≥5 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。

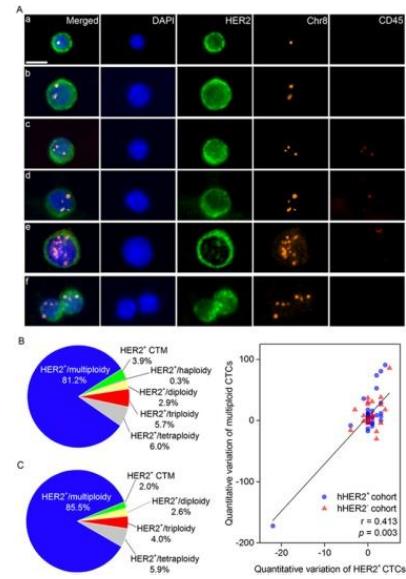


图 7 多倍体 CTC 与 HER2 表达相关性

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。

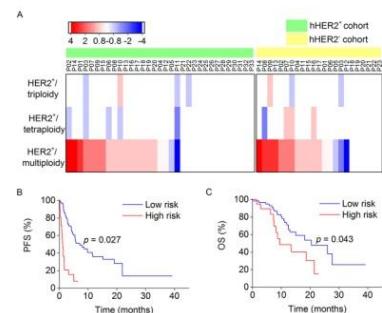


图 8 多倍体 cHER2⁺ CTC 导致耐药和不良预后

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)。

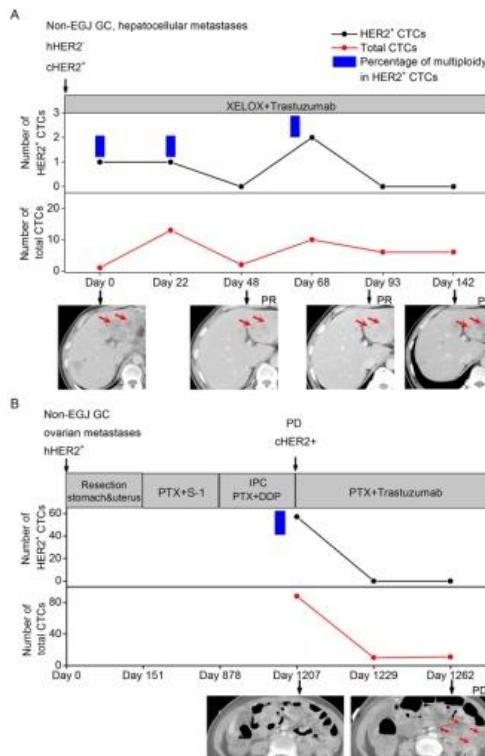


图 9 曲妥珠联合治疗可降低 cHER2⁺及 cHER2⁻ CTC 数量

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。