



Е. Н. Левик

Прогностическое значение иммуногистохимического маркера HER2/neu у пациентов, радикально прооперированных по поводу рака желудка IIIA стадии

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: рак желудка, иммуногистохимический маркер HER2/neu, выживаемость.

Высокая заболеваемость и низкая выживаемость больных раком желудка обуславливают поиск новых прогностических факторов. Проанализированы результаты иммуногистохимического исследования операционного материала первичной опухоли 21 пациента. Больные прооперированы в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере (с июня 2006 по сентябрь 2012 г.) по поводу рака желудка IIIA стадии. Изучали экспрессию онкобелка HER2/neu (ErbB-2). Установили, что высокий уровень или гиперэкспрессия маркера HER2/Neu (++)/+++ являются плохим прогностическим признаком в отношении продолжительности жизни больных раком IIIA стадии ($p < 0,05$).

Прогностичне значення імуногістохімічного маркера HER2/neu у пацієнтів, яких радикально прооперували з приводу раку шлунка IIIA стадії

О. М. Левик

Висока захворюваність і низька виживаність хворих на рак шлунка потребують пошуку нових прогностичних чинників. Проаналізували результати імуногістохімічного дослідження операційного матеріалу первинної пухлини 21 пацієнта. Хворі прооперували в Запорізькому обласному клінічному онкологічному диспансері (з червня 2006 до вересня 2012 р.) з приводу раку шлунка IIIA стадії. Вивчали експресію онкобілка HER2/neu (ErbB-2). Визначили, що високий рівень чи гіперекспресія маркера HER2/neu (++)/+++ є поганою прогностичною ознакою щодо тривалості життя хворих на рак IIIA стадії ($p < 0,05$).

Ключові слова: рак шлунка, імуногістохімічний маркер HER2/neu, виживаність.

Запорізький медичний журнал. – 2014. – №2 (83). – С. 44–47

Prognostic value of immunohistochemical marker HER2/neu in patients resected for gastric cancer stage IIIA

О. М. Levyk

High morbidity and low survival rate of patients with gastric cancer cause the search for new prognostic factors. This article analyzes the results of immunohistochemical study of primary tumor surgical specimens of 21 patients who had surgery in the Zaporozhye Regional Clinical Oncology Center from June 2006 to September 2012 for gastric cancer stage IIIA. The study investigated the expression of oncoprotein HER2/neu (erbB-2). Having a high level or overexpression of marker HER2/Neu (++)/+++ is a bad prognostic sign for life expectancy of patients with IIIA stages ($p < 0,05$).

Key words: gastric cancer, immunohistochemical biomarker HER2/neu, overall survival.

Zaporozhye medical journal 2014; №2 (83): 44–47

В настоящее время для прогнозирования течения заболевания у больных раком желудка используют TNM-стадирование. Однако пациенты с одной и той же стадией имеют разную продолжительность жизни, что обуславливает необходимость поиска новых прогностических факторов.

В связи с бурным развитием иммуногистохимии активно изучают факторы роста опухоли и их рецепторы, молекулы межклеточной адгезии, гены-супрессоры опухоли, факторы апоптоза, гиперэкспрессию онкобелков, опухолевоассоциированные протеиназы и их влияние на развитие, рост и течение опухолевого процесса.

Клиническая и прогностическая значимость некоторых иммуногистохимических маркеров доказана при ряде злокачественных заболеваний. Так, например, экспрессия онкобелков HER-2/neu (ErbB-2), EGFR (ErbB-1), HER3 (ErbB-3) и VEGF, антигена Ki-67 определяют прогноз клинического течения заболевания у больных раком молочной железы [2,9]. Для оценки биологической агрессивности рака предстательной железы используют иммуногистохимические реакции с антителами к Ki-67 (пролиферативная активность), bcl-2 и p53 (апоптоз), E-кадгерин и бетакактенин

(межклеточная адгезия) и др. [4]. Установлено, что позитивный hERG1 маркер является независимым неблагоприятным прогностическим фактором колоректального рака [14], показателями повышенного метастатического потенциала при колоректальном раке являются изменения экспрессии E-кадхерина, TN C, KAI-1 и Ki-67 [3].

Высокие показатели заболеваемости и низкая выживаемость больных раком желудка также вызывают повышенный интерес к изучению иммуногистохимического профиля новообразований желудка. В последнее время изучают прогностическую значимость таких иммуногистохимических маркеров, как EGFR [10], VEGF [12,15,18], HER2/neu (ErbB-2) [8,17,19], экспрессию белков E-кадхерина и бетакактенина [1], hERG1 [7], p53 [14], nm23, PCNA [14,20].

Особый интерес среди названных иммуногистохимических маркеров представляет HER2/neu (ErbB-2) – трансмембранный белок с молекулярной массой 185 kDa, относится к семейству рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR). Установлено, что избыточная экспрессия HER2/neu способствует росту опухоли и играет важную роль в патогенезе некоторых злокачественных опухолей человека [17].

Тем не менее влияние HER2/neu статуса на прогноз боль-



ных раком желудка остается спорным [6,11,19]. Nakajima и Garcia и соавт. считают, что повышенная экспрессия HER2/neu у больных раком желудка коррелирует с плохим прогнозом и более агрессивным течением заболевания [11]. В то же время, Lee Kyu Eun и соавт. не находят существенной разницы в показателях 5-летней выживаемости между HER2/neu-позитивной и негативной группами больных (62,9% и 68,9% соответственно). В исследовании Begnami установлено: продолжительность жизни больных раком желудка с HER-2/neu-позитивными была значительно короче, чем у пациентов с HER-2/neu-негативными опухолями (17 против 40 месяцев соответственно, $p=0,023$) [5].

Исходя из приведенных данных, дальнейшее изучение прогностической значимости HER2/neu (ErbB-2) остается актуальным вопросом до настоящего времени.

Цель работы

Изучить прогностическую значимость иммуногистохимического маркера HER-2/neu у пациентов, радикально прооперированных по поводу рака желудка IIIA стадии.

Пациенты и методы исследования

Исследовали гистологические препараты операционного материала первичной опухоли 21 пациента. Больные прооперированы в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере с июня 2006 по сентябрь 2012 г. по поводу рака желудка IIIA стадии, среди них 14 мужчин (67%) и 7 женщин (33%).

Больным проведены оперативные вмешательства в объеме гастрэктомии (8 человек – 38%) и субтотальной дистальной резекции желудка (13 человек – 62%). Кроме оперативного лечения 86% пациентов получили адъювантную полихимиотерапию от 1 до 7 циклов по стандартным схемам.

Образцы опухолевой ткани фиксировали в нейтральном забуференном формалине со стандартной проводкой и заливкой в парафин. Окраску гистологических препаратов проводили обычным способом, затем выполнили иммуногистохимическое исследование.

При иммуногистохимическом исследовании HER2/neu (ErbB-2) использовали поликлональные антитела кролика (Rabbit Polyclonal), а также одноэтапный, HIER протокол иммуногистохимического исследования, систему визуализации DAKO EnVision FLEX. В ходе последующего анализа иммуногистохимическую реакцию оценивали как негативную при отсутствии мембранной экспрессии рецепторов HER2/Neu или окраске менее 5% иммунопозитивных опухолевых клеток («-» – нет реакции), как слабопозитивную – при наличии 6–10% иммунопозитивных опухолевых клеток («+»), умереннопозитивную – 10–50% («++») и сильнопозитивную – более 50% позитивных клеток опухоли («+++»). Также учитывали характер и особенности иммуноокрашивания клеток, например, неполное иммуноокрашивание при иммуногистохимической реакции с HER2/Neu, когда клеточная мембрана окрашивается не полностью, а U- или L-образно.

Для дальнейшего сравнительного иммуногистохимического исследования выделяли два основных уровня им-

мунореактивности: низкий уровень, или редуцированная экспрессия белков (-/+); высокий уровень, или гиперэкспрессия маркера (+/+++).

Для оценки выживаемости использовали метод Каплана – Майера. Сравнение кривых выживаемости проводили с помощью Соx-F критерия.

Результаты и их обсуждение

В результате иммуногистохимического исследования образцов опухолевой ткани больных раком желудка IIIA стадии определили, что наибольшую группу составили больные с негативной реакцией на наличие рецепторов HER2/neu (47,6%), на втором месте – группа пациентов с умереннопозитивной реакцией (23,8%), поровну распределены больные со слабопозитивной и сильнопозитивной реакциями (по 14,3%) (рис. 1).



Рис. 1. Распределение пациентов в зависимости от выраженности мембранной экспрессии рецепторов HER2/neu в ходе иммуногистохимического исследования.

При проведении анализа выживаемости обнаружили, что медиана выживаемости больных, прооперированных по поводу рака желудка IIIA стадии, составила 19,8 месяца (рис. 2).

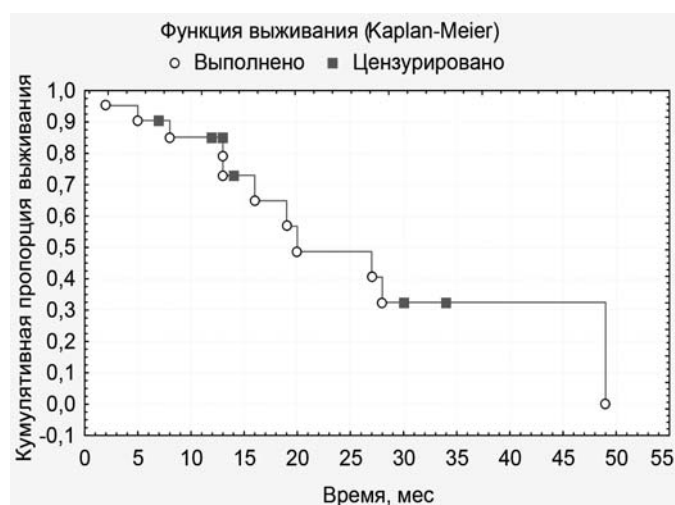


Рис. 2. Выживаемость больных раком желудка IIIA стадии.

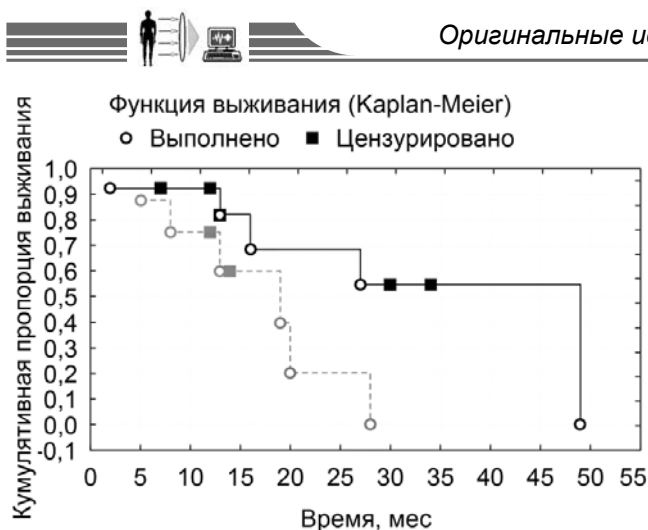


Рис. 3. Выживаемость больных раком желудка IIIA стадии в зависимости от выраженности мембранной экспрессии рецепторов HER2/neu при проведении иммуногистохимического исследования.

Изучение двух групп пациентов с низким уровнем или редуцированной экспрессией белков (-/+) и высоким уровнем или гиперэкспрессией маркера (++)/+++ продемонстрировало более высокую выживаемость в первой группе (медиана выживаемости составила 50 месяцев) по сравнению со второй группой больных (медиана выживаемости равна 16 месяцам ($p < 0,05$) (рис. 3).

Выводы

Медиана выживаемости у прооперированных больных раком желудка IIIA стадии составила в среднем 19,8 месяца.

Наличие высокого уровня или гиперэкспрессия маркера HER2/neu (++)/+++ достоверно является плохим прогностическим признаком в отношении продолжительности жизни больных раком IIIA стадии ($p < 0,05$).

Перспективой дальнейшего исследования является изучение прогностического значения иммуногистохимического маркера HER2/neu у больных раком желудка I и II стадий.

Список литературы

1. Зенюкова Т.В. Значение экспрессии E-cadherin и β -catenin при раке желудка / Т.В. Зенюкова, А.С. Зенюков // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – Приложение № 1. – С. 55.
2. Сабиров А.Х. Гистологические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические маркеры рака молочной железы, их прогностическая значимость : автореф. дис. на соискание ученой степени д.мед.н. : спец. 03.03.04 «Клеточная биология, цитология, гистология» / А.Х. Сабиров. – Тюмень, 2010. – 20 с.
3. Самофалова О.Ю. Иммуногистохимические маркеры как фактор прогноза при хирургическом лечении колоректального рака : автореф. дис. на соискание ученой степени к.мед.н. : спец. 14.01.17 «Хирургия», 14.00.15 «Патологическая анатомия» / О.Ю. Самофалова. – М., 2012. – 24 с.
4. Франк Г.А. Морфология рака предстательной железы / Г.А. Франк // Практическая онкология. – 2008. – Т. 9. – № 2. – С. 65–70.
5. Barros-Silva J.D. Association of ERBB2 gene status with histopathological parameters and disease-specific survival in gastric carcinoma patients / J.D. Barros-Silva, D. Leitão, L. Afonso [et al.] // Br. J. Cancer. – 2009. – Vol. 100(3). – P. 487–493.
6. Begnami M.D. Prognostic implications of altered human epidermal growth factor receptors (HERs) in gastric carcinoma: HER2 and HER3 are predictors of poor outcome / M.D. Begnami, E. Fukuda, J.H. Fregnani, [et al.] // J Clin Oncol. – 2011. – Vol. 22. – P. 3030–3036.
7. Ding X.W. Prognostic significance of hERG1 expression in gastric cancer / X.W. Ding, W.B. Yang, S. Gao [et al.] // Digestive Diseases and Sciences. – 2010. – Vol. 55(4). – P. 1004–1010.
8. Fornaro L. Anti-HER agents in gastric cancer: from bench to bedside / L. Fornaro, M. Lucchesi, C. Caparello [et al.] // Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology. – 2011. – Vol. 8(7). – P. 369–383.
9. Frogne T. Activation of ErbB3, EGFR and Erk is essential for growth of human breast cancer cell lines with acquired resistance to fulvestrant / T. Frogne, R.V. Benjaminsen, K. Sonne-Hansen [et al.] // Breast Cancer Research and Treatment. – 2009. – Vol. 114(2). – P. 263–275.
10. Gamboa-Dominguez A. Epidermal growth factor receptor expression correlates with poor survival in gastric adenocarcinoma from Mexican patients: a multivariate analysis using a standardized immunohistochemical detection system / A. Gamboa-Dominguez, C. Dominguez-Fonseca, L. Quintanilla-Martinez // Modern Pathology. – 2004. – Vol. 17(5). – P. 579–587.
11. Gravalos C. HER2 in gastric cancer: A new prognostic factor and a novel therapeutic target / C. Gravalos, A. Jimeno // Ann. Oncol. – 2008. – Vol. 19(9). – P. 1523–1529.
12. Iordache S. Vascular endothelial growth factor expression and microvessel density-two useful tools for the assessment of prognosis and survival in gastric cancer patients / S. Iordache, A. Saftoiu, C.V. Georgescu [et al.] // Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases. – 2010. – Vol. 19(2). – P. 135–139.
13. Lastraioli E. hERG1 channels and Glut-1 as independent prognostic indicators of worse outcome in stage I and II colorectal cancer: a pilot study / E. Lastraioli, L. Bencini, E. Bianchini [et al.] // Translational Oncology. – 2012. – Vol. 5(2). – P. 105–112.
14. Lee Kyu Eun Prognostic Significance of p53, nm23, PCNA and c-erbB-2 in Gastric Cancer / Kyu Eun Lee, Hyuk-Joon Lee, Yoon Ho Kim [et al.] // Jpn. J. Clin. Oncol. – 2003. – Vol. 33(4). – P. 173–179.
15. Maeda K. Vascular endothelial growth factor expression in preoperative biopsy specimens correlates with disease recurrence in patients with early gastric carcinoma / K. Maeda, S.-M. Kang, N. Onoda [et al.] // Cancer. – 1999. – Vol. 86(4). – P. 566–571.
16. Moasser M.M. The oncogene HER2: Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis / M.M. Moasser // Oncogene. – 2007. – Vol. 26(45). – P. 6469–6487.
17. Park D. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer / D. Park, J. Won Yun, J. Ho Park [et al.] // Dig Dis Sci. – 2006. – Vol. 51(8). – P. 1371–1379.
18. Schimanski C.C. VEGF-D correlates with metastatic disease in gastric cancer patients undergoing surgery / C.C. Schimanski, F. Schlaegel, M. Jordan [et al.] // World Journal of Surgery. – 2011. – Vol. 35(5). – P. 1010–1016.
19. Tanner M. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIa gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab / M. Tanner [et al.] // Ann. Oncol. – 2005. – Vol. 16(2). – P. 273–278.
20. Zafirellis K. Molecular Markers in Gastric Cancer: Can p53 and Bcl-2 Protein Expressions be Used as Prognostic Factors? / K. Zafirellis, A. Karameris, N. Milingos // Anticancer Res. – 2005. – Vol. 25(5). – P. 3629–3636.



References

1. Zenyukova, T. V. & Zenyukov, A. S. (2011) Znachenie e'kspressii E-cadherin i β -catenin pri rake zheludka [Meaning of the expression E-cadherin and β -catenin in gastric cancer]. *Siberian Journal of Oncology*, 1, 55. [in Russian].
2. Sabirov, A. H. (2010) *Gistologicheskie, immunogistohimicheskie i molekulyarno-geneticheskie markery raka molochnoj zhelezy, ikh prognosticheskaya znachimost'* (Avtoref. dis... dokt. med. nauk) [Histological, immunohistochemical and molecular genetic markers for breast cancer and their prognostic significance] Dr. med. sci. diss.]. Tyumen. [in Russian].
3. Samofalova, O. Y. (2012) *Immunogistohimicheskie markery kak faktor prognoza pri hirurgicheskom lechenii kolorektal'nogo raka* (Avtoref. dis... kand. med. nauk) [Immunohistochemical markers as a prognostic factor in the surgical treatment of colorectal cancer] (Extended abstract of candidate's thesis). Moscow. [in Russian].
4. Frank, G. A. (2008) Morfologiya raka predstatel'noj zhelezy [Morphology of prostate cancer]. *Practical Oncology*, 9 (2), 65–70.
5. Barros-Silva, J. D., Leitão, D., Afonso, L. et al. (2009) Association of ERBB2 gene status with histopathological parameters and disease-specific survival in gastric carcinoma patients. *Br. J. Cancer*, 100(3), 487–493.
6. Begnami, M. D., Fukuda, E., Fregnani, J. H. et al. (2011) Prognostic implications of altered human epidermal growth factor receptors (HERs) in gastric carcinoma: HER2 and HER3 are predictors of poor outcome. *J Clin Oncol*, 22, 3030–3036.
7. Ding, X. W., Yang, W. B., Gao, S. et al. (2010) Prognostic significance of hERG1 expression in gastric cancer. *Digestive Diseases and Sciences*, 55 (4), 1004–1010.
8. Fornaro, L., Lucchesi, M., Caparello, C. et al. (2011) Anti-HER agents in gastric cancer: from bench to bedside. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 8(7), 369–383.
9. Frogne, T., Benjaminsen, R. V., Sonne-Hansen, K. et al. (2009) Activation of ErbB3, EGFR and Erk is essential for growth of human breast cancer cell lines with acquired resistance to fulvestrant. *Breast Cancer Research and Treatment*, 114(2), 263–275.
10. Gamboa-Dominguez, A., Dominguez-Fonseca, C., Quintanilla-Martinez, L. (2004) Epidermal growth factor receptor expression correlates with poor survival in gastric adenocarcinoma from Mexican patients: a multivariate analysis using a standardized immunohistochemical detection system. *Modern Pathology*, 17(5), 579–587.
11. Gravalos, C., Jimeno, A. (2008) HER2 in gastric cancer: A new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann. Oncol*, 19(9), 1523–1529.
12. Iordache, S., Saftoiu, A., Georgescu, C. V. et al. (2010) Vascular endothelial growth factor expression and microvessel density—two useful tools for the assessment of prognosis and survival in gastric cancer patients. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 19(2), 135–139.
13. Lastraioli, E., Bencini, L., Bianchini, E. et al. (2012) hERG1 channels and Glut-1 as independent prognostic indicators of worse outcome in stage I and II colorectal cancer: a pilot study. *Translational Oncology*, 5(2), 105–112.
14. Lee Kyu Eun, Lee Hyuk-Joon, Kim Yoon Ho et al. (2003) Prognostic Significance of p53, nm23, PCNA and c-erbB-2 in Gastric Cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol*, 33(4), 173–179.
15. Maeda, K., Kang, S.-M., Onoda, N. et al. (1999) Vascular endothelial growth factor expression in preoperative biopsy specimens correlates with disease recurrence in patients with early gastric carcinoma. *Cancer*, 86(4), 566–571.
16. Moasser, M. M. (2007) The oncogene HER2: Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene*, 26(45), 6469–6487.
17. Park, D., Yun, J. Won, Park J. Ho et al. (2006) HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci*, 51(8), 1371–1379.
18. Schimanski, C. C., Schlaegel, F., Jordan, M. et al. (2011) VEGF-D correlates with metastatic disease in gastric cancer patients undergoing surgery. *World Journal of Surgery*, 35(5), 1010–1016.
19. Tanner M., Hollme, M., Junttila, T. T., Kapanen, A. I., Tommol, S., Soini, Y. & Helin, H. et al (2005) Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIa gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann. Oncol*, 16(2), 273–278.
20. Zafirellis, K., Karameris, A. & Milingos, N. (2005) Molecular Markers in Gastric Cancer: Can p53 and Bcl-2 Protein Expressions be Used as Prognostic Factors? *Anticancer Res*, 25(5), 3629–3636.

Сведения об авторе:

Левик Е.Н., заочный аспирант, ассистент каф. онкологии, Запорожский государственный медицинский университет,
E-mail: drakosha81@mail.ru.

Поступила в редакцию 18.02.2014 г.