

- [17] Goodnough LT, Price TH, Rudnick S. Iron-restricted erythropoiesis as a limitation to autologous blood donation in the erythropoietin-stimulated bone marrow[J]. J Lab Clin Med, 1991, 118(3): 289-296.
- [18] Dixon S, James V, Hind D, et al. Economic analysis of the implementation of autologous transfusion technologies throughout England[J]. Int J Technol Assess Health Care, 2005, 21(2): 234-239.
- [19] Vamvakas EC, Carven JH. Allogeneic blood transfusion, hospital charges, and length of hospitalization: a study of 487 consecutive patients undergoing colorectal cancer resection[J]. Arch Pathol

- Lab Med, 1998, 122(2): 145-151.
- [20] Goldfinger D, Haimowitz M. Controversies in transfusion medicine. Is autologous blood transfusion worth the cost? Pro[J]. Transfusion, 1994, 34(1): 75-78.
- [21] 王照军, 苏义林, 刘兴文, 等. 贮存式自身输血在外科择期手术中的应用观察[J]. 淮海医药, 2004, 22(4): 292-293.
- [22] 魏钢, 雷开健. 46 例肿瘤手术中自体输血的临床研究[J]. 重庆医学, 2009, 38(14): 1785, 1787.

(收稿日期: 2013-11-15)

• 综述 •

乳腺癌患者外周血 Her-2 ECD 的检测及其临床意义研究进展^{*}

朱娟娟¹ 综述, 葛金芳², 唐吉斌¹ 审校

(1. 安徽省铜陵市人民医院检验科, 安徽铜陵 244002; 2. 安徽医科大学药学院, 安徽合肥 230022)

关键词: 乳腺肿瘤; 肿瘤标记, 生物学; 综述乳腺肿瘤; 肿瘤标记, 生物学; 综述**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.032**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2014)05-0582-03

Her-2 属于受体酪氨酸激酶中的生长因子受体家族, 其过表达对乳腺癌是一个独立的预后因子, 提示预后差, 容易复发和转移, 对化疗、激素治疗、放疗具有抗性, 其表达水平的检测已作为一个独立指标用于对肿瘤生物学行为的判断。目前检测方法主要有免疫组织化学法(IHC)、酶联免疫法(ELISA)、荧光原位杂交(FISH)、聚合酶链反应(PCR)等, 这些方法可对肿瘤组织中 Her-2 的状态做出较有效评估, 但存在一定局限性, 如在标本处理过程中可能对抗原有损害而导致假阴性, 检测流程过于繁琐, 由于取材不便不利于对患者复发、转移等的动态监测。近年来研究表明, Her-2 胞外段即 Her-2-ECD 可以从细胞表面切除并且进入血清中循环, 这一过程受到了酪氨酸磷酸化和蛋白酶活性调节。Her-2 胞外区切割被认为在一定比例的乳腺癌中是一个持续过程, 导致与细胞膜关联的胞内区(P95 蛋白)的持续活化和下游 MAPK 通路及 PI3K 通路的增强, 细胞增殖失控, 具侵袭性^[1]。因此血清 Her-2 ECD 作为乳腺癌标志物越来越得到人们的重视, 成为 IHC 和 FISH 等检测的有效补充手段。本文主要就近年来关于 Her-ECD 检测的方法及临床意义的研究进展进行综合分析。

1 Her-2 ECD 的检测方法及其分布

目前对于血清中 Her-2 ECD 的检测主要采取双抗夹心 ELISA 法。2000 年 9 月美国 FDA 首次批准了 Oncogene Sciences 公司开发血清 Her-2 ECD 检测试剂盒 Immuno-1, 该试剂盒包括两种可以结合 Her-2 ECD 不同表位的单抗(NB-3 和 TA-1)以及用来做标准曲线重组表达的 Her-2 ECD^[2]。值得一提的是该试剂盒中的抗体与抗体药物赫赛汀有着不同的抗原结合表位, 所以在该抗体治疗过程中对检测并没有干扰。FDA 进一步规定了检测阳性的临界值是 15 ng/ml, 在此之前, 众多的检测方法和临界值规定结果导致误差, 如在 2000 年 ASCO 年会上比较了用 4D5 和 FDA 批准的试剂检测同一

份患者血清的结果, 显示 4D5 抗体试剂的灵敏性显著较低。近年来, 随着科技的进步, 又相继出现了灵敏度更高的检测方法, 如免疫化学发光的方法(CLIA)^[3]、微传感器的方法(PEMS)^[4]等。

但是目前对于血清中 Her-2 ECD 的分布及临床意义仍有很多争议, 从而限制了该项检测在临床上的应用。但回顾 1991~2011 年关于 Her-2 ECD 在乳腺癌患者中分布的文献表明, 平均 32% 的乳腺癌患者存在 Her-2 ECD 的升高, 其中处于疾病进展期的患者尤为常见, 据统计转移性乳腺癌患者中有 43% 的患者 Her-2 ECD 升高, 而原发性乳腺癌患者仅有 18% 的患者 Her-2 ECD 升高^[5]。

2 Her-2 ECD 检测的临床意义

2.1 Her-2 ECD 与乳腺癌组织 Her-2 状态联系 作为组织 Her-2 蛋白的切割产物, 血中 Her-2 ECD 水平与组织 Her-2 表达之间的联系一直为人们所关注。一种观点认为二者之间存在联系, 如 Farzadnia 等^[6]指出以 18.4 ng/mL 作为血清 Her-2 ECD 临界值, 则血清 her-2 阳性的乳腺癌患者 46.7% 组织阳性的为 43%, 结果具有相关性, 这样的相关性不仅存在于乳腺癌, 也存在于其他高表达 her-2 的肿瘤中^[7], Garoufali 等^[8]认为转移性乳腺癌患者 Her-2 ECD 升高与组织 Her-2 阳性的一致性高于原发性乳腺癌; 另外一种观点认为二者之间很少或根本没有联系, 即有些组织 Her-2 阴性 Her-2 ECD 水平异常增高, 有些虽然组织表达阳性但血中 Her-2 ECD 含量很低^[9]。Her-2 ECD 与组织 Her-2 表达不一致的原因可能是肿瘤真实的生物性改变, 也有可能是技术性原因产生(如取材误差等)^[10], 也有可能是采用不同临界值的所致。值得注意的是有些乳腺癌患者组织学检测阴性但血 Her-2 ECD 的升高^[11], 甚至出现 Her-2 原发灶阴性而转移灶阳性的情况^[12], 这部分患者有可能对单抗治疗有效^[13], 所以如果仅依赖于组织检查结

* 基金项目: 安徽省铜陵市卫生局科技计划项目(卫科研[2012]05); 安徽医科大学校科研基金资助项目(2010xkjz002)。 作者简介: 朱娟娟, 女, 检验技师, 主要从事分子生物学诊断研究。

果可能使这部分患者失去有效靶向药物治疗的机会。

2.2 Her-2 ECD 与乳腺癌预后关系 多数研究表明,外周血中 Her-2 ECD 异常增高的乳腺癌患者预后较差,一般表现为缩短的中位疾病进展时间(TTP)下降的总生存率(OS)和无进展生存期(PFS)。Kong 等^[14]结合组织 FISH 结果,Her-2 ECD 水平高的乳腺癌患者与组织 Her-2 表达情况一致并预示着较差的预后。有研究进一步指出外周血中 Her-2 ECD 是独立的预后因子,高的 Her-2 ECD 被肿瘤负荷所调整后可预示较差的预后^[15]。还有研究认为血中 Her-2 ECD 是比组织 Her-2 更好的预测肿瘤转移和复发的标志物,因此联合检测血中 Her-2 ECD 和组织 Her-2 是更有效的预后判断因子^[11]。

2.3 Her-2 ECD 与乳腺癌复发关系 血中 Her-2 ECD 可反应肿瘤大小和肿瘤负荷,其下降说明治疗有效,而其水平上升说明疾病有所进展。很多研究显示外周血中升高的 Her-2 ECD 与乳腺癌的复发密切相关。如 Molina 等^[16] 随访了 250 例经放射治疗后没有残余灶的乳腺癌患者,其中 95 例复发,复发前约 4~5 个月在他们外周血中升高的 Her-2 ECD、癌胚抗原(CEA)、CA 15-3 分别为 28.4%、31.6%、46.3%,对于组织 her2 阳性的复发患者,Her-2 ECD 升高更是高达 83.3%。Fehm 等^[17] 对 52 例术后发生转移的乳腺癌患者进行随访,发现在复发前 6、3 个月血中 Her-2 ECD 升高的比例分别为 27% 和 50%,同比升高的 CA 15-3 为 16% 和 32%,提示 Her-2 ECD 较 CA153 能更为敏感地预测复发。Makino 等^[18] 认为除了组织检测,高的 HER2 ECD 水平可作为判断乳腺癌复发的第二个生物标志。尽管对于血中 Her-2 ECD 在预后判断中的作用基本达到共识,但如何对该项指标升高的患者进行早期干预治疗则有待进一步研究。

2.4 Her-2 ECD 对靶向药物疗效的评判 乳腺癌除了传统的治疗方法,对于组织 Her-2 阳性的患者还可以采取靶向药物治疗,如单抗药物赫赛汀,酪氨酸酶抑制剂拉帕替尼等^[19]。但是血中 Her-2 ECD 水平对预测该治疗疗效尚存争议:有研究指出它们之间根本没有联系^[20],有研究指出综合考虑组织 FISH 与 IHC 检测结果,血中异常增高 Her-2 ECD 水平对单抗联合化疗有较好的反应^[21],与血中 Her-2 ECD 基线水平不同的是,目前大多研究都支持血中 Her-2 ECD 的变化更适用于治疗效果的监测:有研究显示经单抗治疗后-Her-2 ECD 水平下降大于 20% 的疗效要好于 Her-2 ECD 水平下降小于 20% 的^[22],Esteva 等^[23] 发现 Her-2 ECD 下降到基线下 77% 的患者有更长的 PFS。至于另一种靶向药物拉帕替尼,有研究指出它对血中异常增高的 Her-2 ECD 患者有较好的 OS,但与 PFS 无关^[24]。

2.5 Her-2 ECD 与其他肿瘤标志物的联合检测 肿瘤标志物指标并联检测可增加诊断敏感性,但会降低诊断的特异性及阳性预测值,串联检测可提高诊断的特异性,但会降低敏感性及阴性预测值。因此应综合考虑选择进行联合检测的指标及方式。CA 15-3 是公认的一个与肿瘤负荷相关的指标,可监测肿瘤复发,有研究表明联合检测血清 Her-2 ECD 和 CA 15-3 水平比单个指标更能说明疾病较差的预后^[15],徐昊平等^[25] 发现联合检测血清 HER-2 及 b-FGF 判断肿瘤复发的敏感性较高,而联合检测血清 Her-2 ECD 及 CA 15-3 判断肿瘤复发的的诊断准确性较高。在此基础上,如果能进一步找到高度特异性的乳腺癌指标与 Her-2 ECD 进行联合检测,将对乳腺癌的诊断及长期监测起着非常积极的作用。

3 展望

综上所述,血中 Her-2 ECD 的检测具有连续性、实时性和方便性,可对肿瘤进行动态监测,是对组织 IHC 和 FISH 检测非常有效的补充,它不仅仅代表着乳腺癌的肿瘤负荷,还代表着肿瘤细胞的生物学活性,对于临床诊断和治疗具有非常重要的意义,如果在分析肿进一步将疾病分期、扩大临床分析样本,势必在乳腺癌(尤其是转移性乳腺癌)的病情监测、预后判断和疗效评估等方面发挥越来越大的作用。

参考文献

- [1] Tsé C, Gauchez AS, Jacot W, et al. HER2 shedding and serum HER2 extracellular domain: biology and clinical utility in breast Cancer[J]. Cancer Treat Rev, 2012, 38(2):133-142.
- [2] Payne RC, Allard JW, Anderson-Mauser L, et al. Automated assay for HER-2/neu in serum[J]. Clin Chem, 2000, 46(2):175-182.
- [3] Kuroda N, Kontani K, Kajikawa T, et al. Study of the measurement of serum extracellular domain of HER-2/neu protein with CLIA method[J]. Rinsho Byori, 2010, 58(6):541-552.
- [4] Loo L, Capobianco JA, Wu W, et al. Highly sensitive detection of HER2 extracellular domain in the serum of breast Cancer patients by piezoelectric microcantilevers[J]. Anal Chem, 2011, 83(9):3392-3397.
- [5] Lam L, Mcandrew N, Yee M, et al. Challenges in the clinical utility of the serum test for HER2 ECD[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1826(1):199-208.
- [6] Farzadnia M, Meibodi NT, Shandiz FH, et al. Evaluation of HER2/neu oncprotein in serum and tissue samples of women with breast Cancer: correlation with clinicopathological parameters[J]. Breast, 2010, 19(6):489-492.
- [7] Dai SQ, An X, Wang F, et al. Serum HER 2 extracellular domain level is correlated with tissue HER 2 status in metastatic gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma[J]. PLoS One, 2013, 8(5):e63458.
- [8] Garoufali A, Kyriakou F, Kountourakis P, et al. Extracellular domain of HER2: a useful marker for the initial workup and follow-up of HER2-positive breast Cancer[J]. J BUON, 2008, 13(3):409-413.
- [9] Mathelin C, Croce S, Rault S, et al. Clinical usefulness of circulating ECD/HER-2 measurement for breast Cancer patients' management[J]. Presse Med, 2011, 40(2):126-137.
- [10] Leary AF, Hanna WM, van de Vijver MJ, et al. Value and limitations of measuring HER-2 extracellular domain in the serum of breast Cancer patients[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(10):1694-1705.
- [11] Srensen PD, Jakobsen EH, Langkjer ST, et al. Serum HER-2 concentrations for monitoring women with breast Cancer in a routine oncology setting[J]. Clin Chem Lab Med, 2009, 47(9):1117-1123.
- [12] Hoefnagel LD, van de Vijver MJ, van Slooten HJ, et al. Receptor conversion in distant breast cancer metastases[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(5):R75.
- [13] Ardashian A, Kountourakis P, Kyriakou F, et al. Trastuzumab plus paclitaxel or docetaxel in HER-2-negative/HER-2 ECD-positive anthracycline- and taxane-refractory advanced breast cancer [J]. Oncologist, 2008, 13(4):361-369.
- [14] Kong Y, Dai S, Xie X, et al. High serum HER2 extracellular do-

- main levels; correlation with a worse disease-free survival and overall survival in primary operable breast Cancer patients[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(2): 275-284.
- [15] Ali SM, Leitzel K, Chinchilli VM, et al. Relationship of serum HER-2/neu and serum CA 15-3 in patients with metastatic breast Cancer[J]. Clin Chem, 2002, 48(8): 1314-1320.
- [16] Molina R, Jo J, Filella X, et al. C-erbB-2, CEA and CA 15.3 serum levels in the early diagnosis of recurrence of breast Cancer patients[J]. Anticancer Res, 1999, 19(4A): 2551-2555.
- [17] Fehm T, Gebauer G, Jäger W. Clinical utility of serial serum c-erbB-2 determinations in the follow-up of breast Cancer patients [J]. Breast Cancer Res Treat, 2002, 75(2): 97-106.
- [18] Makino H, Iraha M, Manba N, et al. Utility of serum human epidermal growth factor receptor-2 extracellular domain (HER2 ECD) assessment in patients with advanced or recurrent breast Cancer and those who received neoadjuvant therapy[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2012, 39(2): 237-240.
- [19] Tinoco G, Warsch S, Glück S, et al. Treating breast Cancer in the 21st century: emerging biological therapies[J]. J Cancer, 2013, 4(2): 117-132.
- [20] Lennon S, Barton C, Banken L, et al. Utility of serum HER2 extracellular domain assessment in clinical decision making: pooled analysis of four trials of trastuzumab in metastatic breast Cancer

[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(10): 1685-1693.

- [21] Witzel I, Loibl S, von Minckwitz G, et al. Monitoring serum HER2 levels during neoadjuvant trastuzumab treatment within the GeparQuattro trial[J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 123(2): 437-445.
- [22] Ali SM, Carney WP, Esteva FJ, et al. Serum HER-2/neu and relative resistance to trastuzumab-based therapy in patients with metastatic breast Cancer[J]. Cancer, 2008, 113(6): 1294-1301.
- [23] Esteva FJ, Cheli CD, Fritzsche H, et al. Clinical utility of serum HER2/neu in monitoring and prediction of progression-free survival in metastatic breast Cancer patients treated with trastuzumab-based therapies[J]. Breast Cancer Res, 2005, 7(4): R436-R443.
- [24] Lipton A, Leitzel K, Ali SM, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) extracellular domain levels are associated with progression-free survival in patients with HER2-positive metastatic breast Cancer receiving lapatinib monotherapy[J]. Cancer, 2011, 117(21): 5013-5020.
- [25] 徐昊平,金治宁,马韬,等.血清 HER-2 单独及联合检测在乳腺癌随访中的意义[J].现代肿瘤医学,2010,18(5):899-903.

(收稿日期:2013-10-20)

· 综述 ·

血栓与止血分子标志物监测在急性白血病诊治中的研究进展*

孙中华¹综述,郝艳梅^{1△},李玉云¹,张凤²审校

(1. 蚌埠医学院临床检验诊断学教研室,安徽蚌埠 233030;2. 蚌埠医学院第一附属医院血液病科,安徽蚌埠 233004)

关键词:急性白血病; 出血; 分子标志物; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.033

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)05-0584-03

急性白血病(AL)是造血干细胞的恶性克隆性疾病,临幊上常以贫血、出血、发热,肝、脾、淋巴结肿大为特点,其中出血是 AL 常见的临幊症状,常伴有止凝血异常。尤其以急性早幼粒细胞白血病(APL)最为凶险,极易诱发弥漫性血管内凝血(DIC),是导致患者早期死亡的重要原因^[1]。AL 凝血功能障碍的发病机制是复杂的,可能与血管内皮受损、血小板数量和质量、感染、白血病细胞表达的促凝和抗凝物质、纤溶物质及炎性因子等等因素有关^[2]。这些因素能导致止凝血与抗凝血功能平衡发生紊乱,致使白血病患者常常合并出血、血栓、明显的凝血功能障碍甚至是 DIC 的重要原因。近年来有研究表明,AL 并发血栓性疾病的病例越来越多^[3-4]。故预防血栓性疾病的发生成为治疗急性白血病的重点。现已证实,血栓性疾病发生前均存在血栓前状态(PTS)。如果能及时发现 AL 已存在 PTS,则对血栓性疾病的预防起关键作用。选择合适的止凝血指标进行监测,对防治 AL 止凝血功能紊乱取得缓解十分必要。一般的血栓止血检查对研究和诊断 PTS 缺乏敏感度和特

异度,目前国内外都利用敏感和特异的分子标志物对 PTS 和血栓性疾病检测。本文就血栓与止血分子标志物监测在急性白血病诊治中的研究进展作一综述。

1 AL 与血管损伤分子标志物

参与止血作用的血管主要是小动脉、小静脉、毛细血管和微循环血管,这些血管的内皮细胞是重要的代谢和内分泌器官,血管内皮细胞损伤在 AL 患者的凝血系统激活和血栓的形成中起重要作用。

1.1 血管性血友病因子(vWF) vWF 主要是由血管内皮细胞合成和分泌的一种多糖蛋白,储存于棒管状小体中。生理状态下血浆中有一定量的 vWF,当血管内皮细胞受损时其大量释放入血,是血管内皮细胞损伤的特异性标志物之一。vWF 也可作为反映血液高凝状态、评估疾病严重程度的指标。近年来有报道称 AL 患者血浆 vWF 水平升高,AL 患者初诊时 vWF 水平明显高于健康人,这是因为白血病细胞浸润血管壁损伤内皮细胞,导致 vWF 合成增加并大量释放至血液中^[5],同

* 基金项目:安徽省教育厅自然科学研究资助项目(KJ2009B067Z)。 作者简介:孙中华,女,硕士研究生在读,主要从事血液病及检验研究。 △ 通讯作者,E-mail:haoyanmei163@126.com。