

# بررسی بروز پروتئین HER-2/neu و ارتباط آن با درجه و مرحله مبتلایان به کارسینوم ترانزیشنال (TCC) مثانه غیر متاستاتیک و بقاء بدون بیماری (DFS)

\*دکتر حمید سعیدی ساعدی (MD)<sup>۱</sup> - دکتر کامیار توکلی طبسی (MD)<sup>۲</sup> - دکتر نعما محمدیان روشن (MD)<sup>۳</sup> - دکتر محمدتقی شاکری (MD)<sup>۴</sup>

\*نویسنده مسئول: رشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، بیمارستان رازی

پست الکترونیک: HamidSaedi53@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۰/۱۱

## چکیده

مقدمه: بروز بالای پروتئین HER2 در انواعی از تومورهای بدخیم نظیر کارسینوم ترانزیشنال (TCC) مثانه شناسایی شده است. در بعضی از مطالعات بروز این پروتئین را در ۱۰ تا ۵۰٪ مبتلایان به تومورهای مهاجم به عضله مثانه گزارش کرده اند. در این مطالعه، ما ارتباط بین بروز HER2 و مشخصه های آسیب شناسی تومور و نیز اثر آن را بر بقاء عاری از بیماری (DFS) در بیماران دچار TCC مثانه غیر متاستاتیک ارزیابی کرده ایم.

هدف: ارزیابی فراوانی پروتئین HER2 و ارتباط آن با درجه (Grade) و مرحله (Stage) در بیماران مبتلا به کارسینوم ترانزیشنال مثانه و بقاء بدون بیماری در آنها. مواد و روش ها: در این مطالعه همگروهی گذشته نگر، نمونه های پارافینی ۵۰ بیمار مبتلا به TCC مثانه غیر متاستاتیک، ارجاع شده به بیمارستان امید از سال ۱۳۸۲ لغایت ۱۳۸۶ را به صورت ایمونوهیستوشیمی از نظر بروز پروتئین HER2 ارزیابی کردیم. نمونه ها از نظر درجه نیز بازبینی شدند. بیماران مبتلا به تومورهای سطحی (Superficial)، TUR-BT و دوره درمانی کامل BCG تریابی داخل مثانه و موارد با تومورهای مهاجم به عضله، کمورادیو تریابی با رژیم حاوی سیس پلاتین دریافت کردند.

نتایج: ۲۷ مورد (۵۷٪)، تومور با درجه بالا و ۲۳ مورد، تومور با درجه پایین بدست آمد. نمونه ها از نظر بروز HER2 این گونه رنگ آمیزی شدند: صفر (۱۱ مورد)، ۱+ (۱۱ مورد)، ۲+ (۱۳ مورد) و ۳+ (۵ مورد). از نظر مرحله T، موارد T1، T2، T3 به ترتیب در ۱۴، ۱۹، ۱۰ و ۷ مورد تعیین شد. فراوانی تومورهای HER2 شدیداً مثبت (۳+) در بین تومورهای مهاجم به عضله در قیاس با ضایعات سطحی، به طور معناداری بالاتر بود. (P=۰/۰۰۱/۱۵/۲ در مقابل ۵۸/۸٪) همچنین به طور نسبی، بین بروز HER2 شدیداً مثبت با تومورهای درجه بالا ارتباط معنادار برقرار بود (۴۳/۵٪ در مقابل ۱۹/۵٪/۰/۵۵ P). متوسط زمان بی گیری ۱۴ ماه (۴ تا ۵۲ ماه) بود که در طی آن ۱۷ (۳۴٪) بیمار دچار عود بیماری شدند (۱۷ مورد موضعی، ۳ مورد استخوان، ۲ مورد ریه). برای تمام بیماران بقای عاری از بیماری ۳ ساله، ۶۲/۷±۷/۷۴٪ بود که برای تومورهای سطحی به طور معنادار نسبت به تومورهای مهاجم به عضله بهتر بود (۷۸/۱٪ در مقابل ۱۹/۵٪/۰/۰۰۵ P). در بیماران با تومورهای شدیداً مثبت HER2، بقای عاری از بیماری به طور معناداری نسبت به سایر بیماران کوتاه تر بود (DFS ۳ ساله ۱۹/۴٪ در مقابل ۸۰٪/۰/۰۰۱ P). در تومورهای با درجه بالا و پایین اختلاف معنی داری در بقاء عاری از بیماری یافت نشد. (DFS ۳ ساله ۵۳/۹٪ در مقابل ۷۰٪/۰/۲۰ P) نتیجه گیری: در این مطالعه بروز شدیداً بالای پروتئین HER2 (۳+)، به طور معناداری، در تومورهای با مرحله پیشرفته تر (T) و نیز درجه بالاتری همراه بود. علاوه بر مرحله T، بروز بالای پروتئین HER2، نشانگر بقای عاری از بیماری کوتاه تری بود.

## کلید واژه ها: بقاء بدون بیماری / کارسینوم سلول بینابینی / نوروباتی حسی و اتونومیک ارثی

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره هجدهم شماره ۶۹، صفحات: ۱-۵

## مقدمه

ژانته (Giant Cell Carcinoma) و کارسینوم سلول کوچک (Small Cell Carcinoma) هستند. تومورهای مثانه را براساس مشخصه های بافت شناسی می توان به دو گروه درجه پایین (G1) و درجه بالا (G2, G3) نیز تقسیم بندی کرد. از نظر بالینی، درجه تومور بیشترین اهمیت را در تومورهای غیر مهاجم (Noninvasive) دارد زیرا تمام تومورهای مهاجم (Invasive) در زمان تشخیص درجه بالا دارند. مرگ و میر ناشی از TCC مثانه با پیشرفت بیماری سطحی (pTa/pT1) به مهاجم به عضله (Muscle Invasive) (pT2) افزایش می یابد. مهم ترین نشانه های

سالانه تقریباً ۵۳۰۰۰ مورد جدید بدخیمی مثانه در آمریکا رخ می دهد و شیوع این بیماری در ۲۰ سال گذشته ۲۰٪ افزایش یافته است. بروز این بیماری با افزایش سن افزایش یافته و بیشینه سنی آن در دهه ششم و هفتم زندگی است. شیوع آن در مردان ۲/۵ برابر زنان و در سفیدپوستان نسبت به سیاه پوستان بیش تر است. بیش از ۹۰٪ تومورهای مثانه از نوع کارسینوم ترانزیشنال (TCC) و بقیه شامل کارسینوم سلول اسکواموس (SCC) و آدنوکارسینوم، و انواع کارسینوم تمایز نیافته نظیر لنفوایپتلیوم (Lymphoepithelioma)، کارسینوم سلول

پیش‌آگهی شامل مرحله و درجه تومور است (۱).

HER/ neu انکوژنی است که گیرنده عامل رشد نوع ۱ تیروزین‌کیناز ( Type 1 Tyrosine Kinase Growth Factor Receptor ) را کد می‌کند. فعال شدن این انکوژن بر اثر تداخل با سایر اعضای خانواده ژنی EGFR رخ می‌دهد در ۱۰ تا ۵۰٪ تومورهای مثانه مهاجم به عضله بروز می‌یابد، از این رو تومورهای مثانه را جزء دسته تومورهای با بروز بالای پروتئین HER می‌دانند. برخلاف بدخیمی پستان که در آن بروز HER2 تقریباً همیشه ناشی از آمپلیفیکاسیون ژنی است، در عمده تومورهای مثانه این آمپلیفیکاسیون رخ نمی‌دهد که دلیل آن هنوز ناشناخته است (۲). درمان استاندارد در بیماران دچار کانسره‌های اوروتلیال متاستاتیک، رژیم‌های شیمی‌درمانی با پایه سیس‌پلاتین است که سبب پاسخی در حدود ۴۰٪ تا ۶۵٪ می‌شود. تجویز عوامل درمانی بیولوژی بر ضد مسیرهای رشدی ویژه تومور (Tumor-Specific) تأثیر ثابت شده‌ای بر انواعی از تومورها در پی داشته است. بررسی ایمونوهیستوشیمی یا هیبریداسیون فلوروسانس (Fluorescence Insitu Hybridization) پروتئین HER2 و استفاده از Trastuzumab (Herceptin) همراه با رژیم شیمی‌درمانی استاندارد، منجر به ۷۵٪ پاسخ در بیماران کانسر متاستاتیک مثانه شده است (۳).

هدف این مطالعه، بررسی بروز پروتئین HER/ neu در بیماران دچار TCC مثانه و تعیین ارتباط بروز این عامل با میزان بقای بدون بیماری (DFS) در این بیماران بوده است.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه همگروهی - گذشته‌نگر، بررسی ایمونوهیستوشیمی بروز پروتئین HER/ neu بر بلوک پارافینی نمونه بیوپسی ۵۰ بیمار مبتلا به TCC مثانه غیرمتاستاتیک مراجعه‌کننده به بیمارستان امید مشهد در سال‌های ۱۳۸۲ لغایت ۱۳۸۶ انجام شد که پس از درمان پی‌گیری شده بودند، تومورهای سطحی (Superficial) رزکسیون ترانس اورترال (TURBT) و موارد مهاجم به

عضله کمورادیوتراپی با پایه سیس‌پلاتین شدند. نمونه‌های مذکور درجه بندی شدند و مرحله بیماری تعیین شد. میزان بروز پروتئین HER/ neu با گرید و مرحله بیماران مقایسه شد. براساس مدارک پرونده بیماران، زمان اولین عود یا بروز متاستاز در بیماران مشخص و میزان بروز پروتئین HER/ neu در نمونه اولیه بیماران در بدو مراجعه با میزان بقای بدون بیماری، بررسی و آنالیز آماری شد. داده‌های آماری با روش‌های مرسوم آمار توصیفی شامل جدول، نمودار و شاخص‌های آماری تجزیه و تحلیل شد و همبستگی بین متغیرها با آزمون‌های کی دو و همبستگی پیرسون واسپیرمن ارزیابی شد و  $P < 0.01$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

در مطالعه ما، از ۵۰ نمونه بررسی شده، ۴۱ نفر مرد و ۹ تن زن بودند (مرد/زن = ۵/۴) و متوسط سن آنها ۶۷ ساله (۳۵ تا ۹۱ ساله) بود. ضایعات را به دو گروه درجه پایین و درجه بالا تقسیم کردیم. ۲۷ بیمار (۵۴٪) درجه پایین و ۲۳ بیمار (۴۶٪) درجه بالا بودند. مرحله T بیماران طبق سیستم مرحله‌بندی، AJCC2002 تعیین شد (جدول ۱).

۳۳ بیمار دچار تومور سطحی، BCG+TUR تراپی و ۱۷ بیمار کمورادیوتراپی شدند. متوسط زمان پی‌گیری بیماران ۱۴ ماه (۴ تا ۵۲ ماه) بود. نتایج بررسی ایمونوهیستوشیمی HER در جدول ۲ ارائه شده است. بقای ۳ ساله عاری از بیماری در کل بیماران  $7/4 \pm 62/7\%$  بود که به طور معنی‌دار در تومورهای سطحی نسبت به تومورهای مهاجم به عضله بهتر بود ( $78/1\%$  در مقابل  $19/5\%$ ،  $P=0/005$ ). ۱۷ بیمار در مدت پی‌گیری دچار عود بیماری شدند که در ۱۲ نفر عود موضعی، در ۳ بیمار درگیری استخوانی و در ۲ بیمار عود ریوی رخ داد. بیماران را به دو گروه HER2 شدیداً مثبت (+۳) و گروه منفی (۰ تا +۲) تقسیم کردیم در نتیجه، از نظر آماری (کای مربع) بین گروه مرحله T بالا (۳ و ۲) و گروه توموری T پایین‌تر اختلاف قابل توجه بدست آمد ( $58/8\%$  در مقابل  $15/2\%$ ،  $P \text{ Value}=0.001$ ).

جدول ۱: نتایج مرحله T بیماران در بدو مراجعه

مرحله T	تعداد بیمار (درصد)
T insitue (Tis)	۱۴ (۲۸٪)
T1	۱۹ (۳۸٪)
T2	۱۰ (۲۰٪)
T3	۷ (۱۴٪)

جدول ۲: نتایج بررسی ایمونوهیستوشیمیایی HER2

نتیجه ایمونوهیستوشیمیایی HER2	تعداد نمونه (درصد)
صفر	۱۱ (۲۲٪)
+۱	۱۱ (۲۲٪)
+۲	۱۳ (۲۶٪)
+۳	۱۵ (۳۰٪)

۱ و ۲ و نیز موارد سطحی بیشتر است ولی توصیه شد که در مورد اهمیت پیش آگهی کننده این یافته و کاربرد درمانی این عامل مطالعه بیشتری انجام شود (۴). در مطالعه ما در ۴۳/۵٪ تومورهای درجه بالا و ۱۸/۵٪ تومورهای درجه پایین این پروتئین بارز شد ( $P=0.055$ ).

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۴ در گلاسکوی انگلستان بر ۷۵ بیمار دچار TCC مثانه مهاجم به عضله با متوسط بقای ۱۵ ماه در ۵۷٪ بیماران، بروز پروتئین مذکور به روش ایمونوهیستوشیمی نشان داده شد و این بروز در موارد درجه ۳ TCC مثانه بیشتر بود (۵). در مطالعه ما در مجموع، ۳۰٪ بیماران (۱۵ بیمار) بروز بالای HER2 (+۳) داشتند.

در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۳ بر ۲۵ بیمار دچار TCC در همان مرکز، بیماران را به دو دسته بدون تهاجم به عضله (سطحی) و با تهاجم به عضله تقسیم کردند. میزان بروز پروتئین neu/HER2 در بیماران با بیماری سطحی ۵۲٪ و در گروه بیماری مهاجم به عضله ۷۶٪ بود (۶). در مطالعه ما، ۵۸/۸٪ تومورهای مهاجم به عضله و ۱۵/۲٪ تومورهای سطحی بروز بالای این پروتئین را نشان دادند. در مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۲ در دانشگاه واشینگتن در ایالت میسوری آمریکا بر ۲۰ بیمار مبتلا به درجه ۳ TCC مثانه غیرمتاستاتیک، بیماران حداقل به مدت ۳ سال پیگیری شدند و ارتباط آشکاری بین مثبت شدن neu/HER2 با مرحله تومور یا نتایج بالینی درمان بیماران از نظر میزان بقا، بدست نیامد و تنها عاملی که به طور مستقل با نتیجه بهتر بیماری ارتباط داشت، مرحله بیماری در زمان تشخیص اولیه بیماری بود (۷).

در مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۶ برای ارزیابی شیوع و اهمیت بالینی بروز neu/HER2، P53 و ژن رتینوبلاستوم (Rb) در دانشگاه لاول کانادا، عامل neu/HER2 در ۲۵۶ بیمار، P53 در ۲۶۵ بیمار و ژن رتینوبلاستوم (Rb) در ۷۴ بیمار مبتلا به تومور مثانه سطحی Ta/T1 اجرا شد. در این مطالعه میزان پایین شیوع neu/HER2، P53 و Rb در بیماران مبتلا به TCC سطحی بدست آمد و از نظر ارتباط

در بیماران با تومورهای درجه بالا نیز به نسبت تومورهای درجه پایین، بروز (+۳) HER2 بیشتر بود (۴۳/۵٪ در مقابل ۱۸/۵٪،  $P=0.055$ ). بین مرحله T و درجه تومور نیز ارتباط قابل توجه به دست آمد به طوری که تومورهای با مرحله T بالاتر درجه بالاتری داشتند ( $P=0.017$ ). در بیماران با تومورهای شدیداً مثبت، بقای عاری از بیماری (DFS) به طور مشخص، نسبت به سایر بیماران کمتر بود (۸۰٪ در مقابل ۱۹/۴٪،  $P<0.001$ ). بین تومورهای درجه بالا و درجه پایین ارتباط واضحی از نظر بقای عاری از بیماری بدست نیامد (۵۳/۹٪ در مقابل ۷۰٪،  $P=0.2$ ).

### بحث و نتیجه گیری

در مطالعه ما مردان بیش از زنان به این بیماری مبتلا شده بودند و شایع ترین محدوده سنی ابتلا مربوط به دهه ششم زندگی بود (متوسط سن ابتلا ۶۷ سالگی). در مطالعه ما بیماران دچار تومورهای با درجه بالاتر و مرحله پیشرفته تر (مرحله T بالاتر) با روش ایمونوهیستوشیمی میزان بروز پروتئین HER2 بالاتری (+۳) نشان دادند. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۴ بر ۵۴ بیمار مبتلا به TCC مثانه از نظر میزان بروز پروتئین neu/HER2 در شیکاگو آمریکا، نشان داد که میزان بروز این عامل در موارد درجه ۳ بیماری و نیز موارد مهاجم به عضله نسبت به موارد درجه

در مطالعه ما بروز شدیداً بالای پروتئین HER(۳+) به طور معنی دار در تومورهای با مرحله پیشرفته تر (T) و نیز درجه بالاتر بدست آمد. علاوه بر مرحله T، بروز بالای پروتئین HER نشانگر بقای عاری از بیماری کوتاه تر بود. با تشکر و سپاس از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که حمایت مالی لازم را در اجرای این پروژه با کد ۸۶۱۲۲ مبذول داشتند.

عوامل مذکور با عود اولیه تومور، تنها عامل P53 به طور مشخص با این پدیده همراه بود و این ارتباط، مستقل از سایر عوامل پیش آگهی کننده نبود (۸). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۱ در میشیگان آمریکا بر ۸۰ بیمار مبتلا به TCC به مهاجم به عضله از نظر بروز پروتئین HER/ neu، در ۲۲ نفر مثبت بود. در بیماران HER/ neu مثبت، متوسط بقا، ۳۳ ماه و در بیماران HER/ neu منفی ۵۰ ماه بود (۹).

### منابع

1. Shipley WU, Kaufman DS, Mcdugal WS, et al. Cancer Of The Bladder, Ureter And Pelvis. In: Devita VT, Hallen S, Rosenberg SA. Cancer Principles and Practice of Oncology. 7<sup>th</sup> Edition. London; Lippincott Williams & Wilkins, 2005: 1168-70.
2. Latif Z, Watters AD, Dunn I, et al. HER2/Neu Gene Amplification and Protein Overexpression in G3 Pt2 Transitional Cell Carcinoma of The Bladder: A Role For Anti-HER2 Therapy?. EJC 2004; 40(1): 56-63
3. Perabo FGE, Müller SC. New Agents for Treatment Of Advanced Transitional Cell Carcinoma. Annals of Oncology 2007; 18(5):835-843.
4. Coogan CL, Estradan CR, Kapour S, et al. HER-2/Neu Protein over Expression and Gen Amplification In Human Transitional Cell Carcinoma. Urology 2004; 63(4): 786-90.
5. Latif Z, Watters AD, Dnn I, Et Al. HER-2/Neu Gen Amplification And Protein Over Expression In G3PT2 Transitional Cell Carcinoma of The Bladder: A Rple For Anti-HER2 Therapy ?. EUR J Cancer 2004; 40(1):56-63.
6. Latif Z, Watters AD, Dnn I, Et Al. HER-2/Neu Overexpression In The Development Of Muscle-Invasive Transitional Cell Carcinoma Of The Bladder . Br H Cancer 2003; 89(7):1305-9.
7. Swanson PE, Frierson HF Jr, Wick MR. HER-2/Neu Oncopeptide Immunoreactivity In Localized, High Grade Transitional Cell Carcinoma Of Bladder. Mod Pathol 1992; 5(5):531-6.
8. Fradet Y, Allard P. Prevalence and Clinical Gignificance Of Her2/Neu, P53 And Rb Expression Inprimary Superficial Bladder Cancer .J Urol 1996(5):1784-8.
9. Rafael E, Jimenez , Maha Hussain. Her2/Neu Overexpression In Muscle Invasive Urothelial Carcinoma Of The Bladder .Clinical Cancer Research 2001; 7: 2440-7.

## Study of Her2/neu Protein over Expression Frequency and Its Relationship with Grade, Stage in Patients with Non Metastatic Transitional Cell Carcinoma and Disease Free Survival

\*Saeedi Saedi. H. (MD)<sup>1</sup>- Tavakoli Tabasi. K. (MD)<sup>2</sup>- Mohammadian Roshan. N.(MD)<sup>2</sup>- Shakeri. M.T.(MD)<sup>2</sup>

\* **Corresponding Author:** Razi Hospital, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, IRAN

E- mail: [HamidSaedi53@yahoo.com](mailto:HamidSaedi53@yahoo.com)

Received: 18 Oct/ 2008 Accepted: 31/ Dec/ 2008

### Abstract

**Introduction:** HER2 over-expression has been identified in a variety of malignant tumors including bladder transitional carcinoma. In some researches HER2 was detected in 10%-50% of muscle invasive bladder cancers. In this study we evaluated the correlation between HER2 over-expression and pathological characteristics as well as its impact on the disease free survival (DFS) of patients with non-metastatic bladder transitional carcinoma.

**Objective:** Study of Her2/neu Protein over Expression Frequency and Its Relationship with Grade, Stage in Patients with Non Metastatic Transitional Cell Carcinoma and Disease Free Survival

**Materials and Methods:** In this retrospective cohort study, paraffin-embedded specimens from 50 patients with non-metastatic bladder transitional cell carcinoma, referred to Omid hospital from 2003 to 2007, were examined immunohistochemically for HER-2/neu over-expression. The specimens were also reviewed for tumor grade. The patients with superficial tumors underwent TURBT and a full course of intravesical BCG therapy and cases with muscle invasive tumor received cisplatin based chemoradiation.

**Results:** There were 27 (54%) high grade and 23 low grade tumors. The specimens stained for HER-2 over-expression as follow: 11 as Zero, 11 as 1+, 13 as 2+ and 15 as 3+. The T stages of Tis, T1, T2 and T3 were detected in 14, 19, 10, and 7 cases respectively. The frequency of strong positive HER-2 tumors (3+) was significantly higher among patients with muscle invasive tumors compared to those with superficial lesions (58.8% vs. 15.2%,  $p < 0.001$ ). There was also a relatively significant association between strong positive HER-2 expression and high grade tumors (43.5% vs. 18.5%  $p = 0.055$ ). The Median follow up time was 14 months (range, 4-52 months) during which 17 cases (34%) experienced recurrence (12 local, 3 bones & 2 lungs). For all patients 3-year DFS was  $62.7\% \pm 7.4\%$  which was significantly better for cases with superficial tumors than patients with muscle invasive tumors (78.1% vs. 19.5%,  $p = 0.005$ ). In patients with strong positive HER-2 expression tumors, DFS was significantly lower compared to the other cases (3-year DFS: 19.4% vs. 80%,  $p < 0.001$ ). No significant difference in DFS was found between high grade and low grade tumors (3-DFS: 53.9% vs. 70%,  $p = 0.20$ ).

**Conclusion:** In This study, strong HER-2 over-expression (3+) was significantly associated with higher T stages as well as high grade tumors. In addition to T stage, strong HER-2 over-expression was a significant predictor of lower disease free survival.

**Key words:** Carcinoma, Transitional Cell/ Disease Free Survival/ Hereditary Sensory and Autonomic Neuropathies

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 69, Pages: 1-5