วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 37 ฉบับที่ 3
กรกฎาคม-กันยายน 2560

p95HER2 กับมะเร็งเต้านม

อดิศร เจษฎ์ปิยะวงศ์[1]
อนันท์นุช ศักดิ์อภิบุญนันท์[2]
สมชาย ธนะสิทธิชัย[1]

บทคัดย่อ Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) อยู่ในกลุ่มของ epidermal growth factor receptor ที่เป็น tyrosine kinases มีบทบาทสำคัญกับการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีการแสดงออกของ HER2 มีการพยากรณ์โรคในทางไม่ดี HER2 ช่วยทำนายการตอบสนองต่อการรักษาด้วยสารต้าน HER2 ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมปัจจุบันผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีการแสดงออกของ HER2 มักได้รับการรักษาด้วย trastuzumab ซึ่งเป็น monoclonal antibodies ต่อ extracellular domain ของ HER2 receptor และสารโมเลกุลเล็กที่ยับยั้ง intracellular kinase domain (เช่น lapatinib, neratinib และ afatinib) อย่างไรก็ตามมีผู้ป่วยหลายรายดื้อต่อ HER2 monoclonal antibody, trastuzumab จากการศึกษาพบว่า p95HER2 เป็นกลุ่มย่อยของ HER2 ที่มี kinase activity และมีความสัมพันธ์กับปัจจัยการพยากรณ์โรคในทางลบ ได้แก่การกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลือง ระยะเวลาปลอดโรคและระยะเวลาการรอดชีพที่สั้นลงในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี HER2 บวก p95HER2 อาจช่วยบอกการดื้อต่อ trastuzumab ได้เนื่องจากไม่มีส่วน extracellular domain ซึ่งเป็นส่วนที่จับกับ trastuzumab การตรวจหาการแสดงออกของ p95HER2 อาจมีประโยชน์ในการช่วยตัดสินใจเลือกวิธีการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี HER2 บวก แม้ว่า p95HER2 ช่วยบอกการดื้อต่อ trastuzumab แต่ p95HER2 ยังคงมี HER2 tyrosine kinase domain และไวต่อตัวยับยั้ง kinase อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในบางรายงานพบว่าก้อนมะเร็งที่มีการแสดงออกของ p95HER2 ตอบสนองต่อ trastuzumab ร่วมกับเคมีบำบัด *(วารสารโรคมะเร็ง 2560;37:114-122)*

คำสำคัญ: p95HER2, epidermal growth factor receptor, มะเร็งเต้านม

---

[1]กลุ่มงานวิจัย [2]กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

p95HER2 and Breast Cancer

by **Adisorn Jedpiyawongse[1], Anantnuch Sakapiboonnan[2], Somchai Thanasitthichai[1]**
[1]Research Division, [2]Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400

Abstract **Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) is a member of the epidermal growth factor receptor family of tyrosine kinases, and plays a significant role in a variety of cancers. HER2-positive breast-cancer patients have a poor prognosis, and HER2 can predict the response to anti-HER2 therapy among breast-cancer patients. HER2-positive breast cancers are currently treated with trastuzumab, monoclonal antibodies against the extracellular domain of the HER2 receptor, and small molecules that inhibit the intracellular kinase domain (e.g., lapatinib, neratinib, and afatinib). However, many patients are resistant to the HER2 monoclonal antibody, trastuzumab. It has been found that p95HER2 is a subgroup of HER2 protein with kinase activity and is associated with negative prognostic factors, including positive nodal status, shorter progressive free survival, or overall survival, in HER2-positive breast cancer. p95HER2 is likely a determinant of trastuzumab resistance, because it lacks the HER2 extracellular domain which is the binding site for trastuzumab. Identification of a subgroup with high p95HER2 expression may be useful in guiding treatment decisions for patients with HER2-positive breast cancer. Although p95HER2 confers trastuzumab resistance, it retains the HER2 tyrosine kinase domain and is sensitive to kinase inhibitors. However, some results showed that tumors expressing p95HER2 responded to trastuzumab plus chemotherapy.**
(Thai Cancer J 2017;37:114-122)
Keywords: p95HER2, epidermal growth factor receptor, breast cancer

บทนำ

ยีน HER2 (human epidermal growth factor receptor 2 อาจเรียกว่า ErbB2 หรือ Neu) อยู่บน chromosome 17q21 ถอดรหัสให้โปรตีนเป็น transmembrane tyrosine kinase receptor มีขนาด 185 kDa HER2 หรือ ErbB2 จัดอยู่ในกลุ่ม epidermal growth factor receptor (EGFR) หรือ HER family ซึ่งมีอยู่ 4 ชนิด คือ EGFR/HER1, HER2, HER3 และ HER4 โดยทุกชนิดจะมีส่วนของโครงสร้างที่คล้ายกัน คือ extracellular ligand-binding domain, short hydrophobic transmembrane region (lipophilic transmembrane domain) และ cytoplasmic tyrosine kinase domain (intracellular tyrosine kinase domain)[1,2] เมื่อมีการกระตุ้น receptor kinase จะนำไปสู่การเกิด phosphorylation ของ tyrosine residues อื่น ๆ phosphorylated tyrosine residues ที่อยู่ภายใน receptors จะเป็นสื่อในการกระตุ้น signaling pathways ทำให้เซลล์มีการเจริญเติบโต เปลี่ยนแปลงรูปร่างและมีชีวิตรอด[3]

ร้อยละ15-25 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมมีการแสดงออกหรือเพิ่มจำนวนของ HER2 ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค (aggressive phenotype)[4,5] และการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี (poor prognosis)[6] จากการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชาวไทยพบ HER2/neu amplification ร้อยละ 37.5 และพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเพิ่มอัตราการเสียชีวิต[7]

ปัจจุบันมีการพัฒนาแนวทางการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี HER2 บวก โดยการใช้ monoclonal antibodies เช่น trastuzumab, pertuzumab และ trastuzumab-DM1 ซึ่งจะจับกับ extracellular

domains ของ HER2 receptor[8,9] และใช้ tyrosine kinase inhibitors ของ HER2 เช่น lapatinib, neratinib และ afatinib ยับยั้งส่วน intracellular kinase domain[10,11] นอกจากนั้นยังมีรายงานพบว่าการรักษาด้วย anti-HER2 มีผลทำให้การกระจายของเซลล์มะเร็งไปที่สมองช้าลง[12-15]

Trastuzumab เป็น recombinant humanized monoclonal antibody จะจับกับ extracellular domain IV ของ HER2 ได้อย่างมั่นคง[16-18] ยับยั้งการเกิด intracellular signaling ที่เกิดจากการชักนำของ HER2 สามารถทำให้เกิด HER2 internalization และทำให้จำนวน membrane-bound HER2 ลดลง[19] และในระยะยาว trastuzumab ยังทำให้ HER2 receptors ลดลงอย่างชัดเจน และยังทำให้เกิด antibody-dependent cellular toxicity (ADCC) มีรายงานพบว่าการแสดงออกของ HER2 สูงสัมพันธ์กับระยะเวลาปลอดโรคนานขึ้นเมื่อผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วย trastuzumab[20] สำหรับผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะลุกลามที่มี HER2 บวก ถ้ารักษาด้วย trastuzumab ควบคู่กับเคมีบำบัดจะช่วยให้ผู้ป่วยมีระยะรอดชีพนานขึ้น[8,21-25] นอกจากนั้น trastuzumab ยังทำให้ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรกที่มี HER2 บวกมีอัตราการปลอดโรคและรอดชีพสูงขึ้น[26-28] อย่างไรก็ตาม trastuzumab ทำให้เกิด cardiotoxicity สามารถเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเกิด symptomatic congestive heart failure[29]

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าร้อยละ 70-80 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี HER2 บวกไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วย trastuzumab เพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจเนื่องมาจากการดื้อต่อยาตั้งแต่เริ่มรับยาหรือภายหลังที่ได้รับยาไประยะหนึ่ง (primary หรือ acquired resistance) อาจมีกลไกหลายกลไกที่ทำให้ดื้อต่อ trastuzumab เช่นการสูญเสียการทำงานของ phosphatase and tensin homolog (PTEN)[30] และมีการทำงานของ tyrosine kinase receptors ชนิดอื่นเช่น insulin-like growth factor-I receptor[31] และอาจเกิดจากกลไกอื่นเช่นการมี truncate forms ของ HER2 receptor ซึ่งเป็น HER2 receptor ที่ขาด extracellular trastuzumab-binding domain ซึ่งเป็น amino terminally truncated carboxyl terminal fragments ของ HER2 (HER2-CTFs) เรียกว่า p95HER2 (p95) หรือ C-terminal fragments มักพบได้บ่อยใน cell lines ของมะเร็งเต้านมที่มี HER2 บวก และโรคมะเร็งบางชนิด[32-34]

กลไกการเกิด p95HER2

จากการทำ western blot พบว่า HER2-CTFs เป็นกลุ่มของโปรตีนใน HER2-ICD (intracellular domain) มี relative migration (Mr) ที่ประมาณ 95 kDa[33,35] HER2-CTFs เกิดจากกลไกที่สำคัญสองกลไกคือ การทำงานของเอ็นไซม์ protease (protease activity)[36,37] และการเปลี่ยนจุดเริ่มต้นของขบวนการแปลรหัส (alternative initiation of translation)[38] ทำให้เกิด HER2-CTFs ในสัดส่วนและการทำงานที่ต่างกัน

การทำงานของเอ็นไซม์ protease

การปลดโปรตีนส่วน extracellular domain ออกจากโปรตีน HER2 สายเต็ม (full-length HER2) โดยการทำงานของเอ็นไซม์ protease (protease activity)[35-37] เช่น metalloprotease[37] จะตัดที่บริเวณ proximal transmembrane domain ทำให้ได้สอง receptor fragments คือ 95-100 kDa p95HER2 fragments

หรือ HER2-CTF ที่มี NH2 terminus ที่ A648 ส่วนนี้จะฝังอยู่ใน plasma membrane ซึ่งบอกถึงมีการทำลาย trastuzumab binding โดยการปลดตำแหน่งที่ trastuzumab จับออกบางส่วนหรือทั้งหมด[39] และส่วนที่เป็น extracellular domain (ECD) จะถูกปล่อยเข้าไปใน extracellular compartment[29] ดังนั้นจึงมีการใช้ HER2-ECD เป็นตัวบ่งชี้การวินิจฉัย พยากรณ์โรค และทำนายผลการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านม[40] ตรวจโดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ซึ่งสามารถตรวจหา HER2-ECD ใน serum ได้ มีรายงานพบ HER2-ECD ร้อยละ 45 ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีการลุกลาม และยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดและฮอร์โมนลดลง[41,42]

การเปลี่ยนจุดเริ่มต้นของขบวนการแปลรหัส

ปกติการแปลรหัส HER2 mRNA เพื่อให้ได้โปรตีน HER2 เริ่มที่ AUG codon ทำให้ได้โปรตีน HER2 สายเต็ม ซึ่งมีจำนวน 1255 amino acid มีขนาด 185 kDa แต่เมื่อมีการเปลี่ยนจุดเริ่มต้นการแปลรหัสที่ AUG codon ไปเป็นการแปลรหัสจากสอง methionine residues (M611 และ M687) ซึ่งอยู่ก่อน (upstream) และหลัง (downstream) ของ transmembrane domain ตามลำดับ[38] ทำให้ได้ 100-115 kDa p95HER2 fragments (M611-HER2-CTF) และ 90-95 kDa p95HER2 fragments (M687-HER2-CTF) โดย M611-HER2-CTF หรือ p95HER2 สามารถรวมเข้าด้วยกันกับ secretory pathway และเคลื่อนย้ายไปอยู่ที่ plasma membrane ส่วน M687-HER2-CTF เป็น soluble intracellular p95HER2 fragments สามารถพบได้ทั้งใน cytoplasm และใน nucleus[43]

M611-HER2-CTF หรือ p95HER2 สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด signal transduction pathways มากที่สุด กระตุ้น signaling cascades ต่าง ๆ ได้อย่างรวดเร็วและรุนแรงกว่า[44] และทำให้เกิด phosphorylation ของ Erk1/2, Akt, Src และ regulatory proteins อื่นได้มากที่สุด ซึ่งเป็นรูปแบบที่มีการทำงานมาก (highly active)[45] ทำให้เซลล์มี migration ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า HER2 receptor สายเต็ม และพบว่ามีความสัมพันธ์กับการดื้อต่อ trastuzumab[46] ส่วน A648-HER2-CTF ที่เกิดจากการตัดสาย HER2 ด้วยเอ็นไซม์ protease[47] มีความสามารถในการทำงานน้อยกว่า M611-HER2-CTF โดยทำให้เกิด phosphorylation ได้น้อยกว่า[44] ส่วน M687-HER2-CTF เป็นรูปแบบที่มีจำนวนมากกว่า M611-HER2-CTF แต่เป็น p95HER2 ที่ไม่ทำงาน (inactive) ถึงแม้จะมีส่วนของ kinase domain ที่สมบูรณ์ แต่เนื่องจากขาด transmembrane domain ทำให้ไม่สามารถ dimerized หรือทำปฏิกิริยากับ HER family members อื่น[44]

การตรวจหา p95HER2

เนื่องจากการตรวจการแสดงออกของ HER2 ไม่ว่าจะเป็นวิธี fluorescence in situ hybridization (FISH), immunohistochemistry (IHC) และการตรวจ HER2-ECD ในซีรั่มโดยวิธี ELISA ยังไม่เพียงพอในการประกอบการรักษา การตรวจหาการแสดงออกของ p95HER2 จึงเป็นอีกหนึ่งวิธีที่น่าจะนำมาประกอบการตัดสินใจในการรักษา การแสดงออกของ p95HER2 สามารถใช้พยากรณ์โรคและการดื้อต่อ trastuzumab

ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม วิธี western blot เป็น gold standard ในการตรวจหา p95HER2 โดยใช้ตัวอย่างที่เป็นชิ้นเนื้อสด (fresh-frozen tumor tissue) ซึ่งต้องใช้จำนวนมาก จึงเป็นข้อจำกัดในทางปฏิบัติ ผลการวิเคราะห์เป็นแบบ semiquantitative ให้ผลไม่แม่นยำ เนื่องจากมี overlapping bands เหมาะสำหรับงานวิจัยยังไม่เหมาะกับงานประจำ[33,35,48]

วิธี IHC และ immunofluorescence ต้องทำการทดสอบสองครั้งคือตรวจส่วน extracellular (HER2-ECD) โดยใช้แอนติบอดี้ที่เฉพาะกับส่วน ECD เช่น 4D5 antibody และตรวจส่วน intracellular (HER2-ICD) p95HER2 โดยใช้แอนติบอดี้ที่เฉพาะกับส่วน ICD เช่น CB11 antibody[44] สามารถนำมาใช้ตรวจในงานประจำ โดยใช้ตัวอย่างชิ้นเนื้อฝังพาราฟิน (formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections)[44,45] พบว่าค่า positive predictive value ของ p95HER2 ด้วยวิธี immunoflourescence เท่ากับร้อยละ 100 และ negative predictive value เท่ากับร้อยละ 94 ซึ่งอาจถูกรบกวนด้วย inactive M687-HER2-CTF ได้[45]

วิธี p95 VeraTag เป็นการหาปริมาณ (quantitative) สามารถตรวจได้ในชิ้นเนื้อฝังพาราฟิน มีความจำเพาะกับ membrane-bound forms ของ HER2-CTF ที่มี M611 เป็น epitope แอนติบอดี (D9) ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ไม่สามารถตรวจหา inactive, non-membrane-bound เช่น M687-HER2-CTF โดยแอนติบอดีที่ใช้ในการวิเคราะห์ (D9) สามารถตรวจหา HER2-CTFs ที่เกิดจากการทำงานของเอ็นไซม์ protease รูปแบบต่าง ๆ ได้มากที่สุด แต่ไม่สามารถตรวจหารูปแบบที่เป็น A648-HER2-CTF เพราะ sequence ของ A648-HER2-CTF ไม่ได้อยู่ใน immunization peptide (peptide D; Met611-Cys623) ที่ใช้สร้าง epitope แอนติบอดี (D9) ที่ใช้ตรวจจับ[49] และพบว่าวิธี p95 VeraTag ให้ผลสอดคล้องกับ western blot[49] นอกจากนั้นยังพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ HER2 ที่ตรวจโดยวิธี VeraTag HER2 assay หรือ FISH/CEP17 amplification และมี p95 HER2 ปริมาณสูงที่วัดได้จากวิธี VeraTag p95 มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาปลอดโรคและระยะเวลารอดชีพที่สั้นลง[49]

การตรวจหาการแสดงออกของ p95HER2 ด้วยวิธี immunoflourescence พบว่าผลการตรวจพบ p95HER2 มีความสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อ trastuzumab โดยร้อยละ 88.9 ของผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ p95HER2 ที่ตรวจด้วยวิธีนี้ไม่ตอบสนองต่อ trastuzumab อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ HER2 และไม่พบการแสดงออกของ p95HER2 ยังคงพบว่าไม่ตอบสนองต่อ trastuzumab ถึงร้อยละ 48.6[45] เนื่องจากยังมีกลไกอื่นที่มีผลทำให้ดื้อต่อ trastuzumab เช่น การสูญเสียการทำงานของ PTEN[30] และการมี insulin-like growth factor-I receptor มากขึ้น[31] ส่งผลให้ผู้ป่วยที่มี HER2 ไม่ตอบสนองต่อ trastuzumab

แผนการณ์การรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี p95HER2 บวก

- Trastuzumab

p95HER2 เป็น HER2 ที่ส่วน extracellular domain (ECD) ขาดส่วน trastuzumab-binding

portion มีผลทำให้ดื้อต่อ trastuzumab จากการศึกษาใน cell lines ของมะเร็งเต้านมพบว่า trastuzumab จะลดการหลุดไปของส่วน extracellular domain ในขณะที่ pertuzumab ไม่มีบทบาทดังกล่าว แต่เป็นแอนติบอดี้ที่ยับยั้งการรวมตัวของ HER2 กับ HER ชนิดอื่นที่บริเวณ HER2 ectodomain[34] ทำให้ trastuzumab มีประโยชน์ในผู้ป่วยมะเร็งที่มี p95HER2 ที่เกิดจากการทำงานของเอ็นไซม์ protease และพบว่า trastuzumab เสริมฤทธิ์ของ pertuzumab[50] อาจใช้การตรวจหา HER2-ECD ในซีรั่มช่วยพยากรณ์การตอบสนองต่อการรักษาด้วย trastuzumab[51,52]

การรักษาด้วย trastuzumab-based immunotoxins เช่น trastuzumab-DM1 พบว่าได้ผลดีทั้งในสัตว์ทดลอง[53] และในผู้ป่วยที่มี HER2 บวกและ p95HER บวก[29]

- HER2-sheddase inhibition

ในมะเร็งเต้านม ADAM10 protease เป็นเอ็นไซม์หลักที่ทำให้บางส่วนของ HER2 หลุดไป[37] ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของ protease ชนิดนี้ด้วย ADAM10/17 inhibitor ร่วมกับ trastuzumab พบว่าสามารถเพิ่มการตอบสนองต่อ trastuzumab ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี p95HER2 บวก[29]

- Tyrosine kinase inhibitors

p95HER2 มีการทำงานของ tyrosine kinase มากกว่า p185HER2[54,55] จากการศึกษาพบว่า lapatinib สามารถยับยั้ง tyrosine phosphorylation และขบวนการ phosphorylation ของ downstream signaling proteins, Akt และ MAPKs ในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 และ T47D cells ที่มีการแสดงออกของ HER2 หรือ p95HER2 ทำให้เซลล์มะเร็งไม่แบ่งตัวอย่างรวดเร็ว[45] และยังได้ผลในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี p95HER2 บวก[56]

สรุป

กลไกพื้นฐานของการเกิด p95HER2 expression ในมะเร็งเต้านมยังคงไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าในเซลล์มะเร็งที่มี p95HER2 มีการตัดออกของ extracellular domain (shedding of the extracellular domain) ทำให้ดื้อต่อ trastuzumab ปัจจุบันการศึกษากลไกต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยายังคงพบแต่ในห้องปฏิบัติการ การศึกษา retrospective ในชิ้นเนื้อผู้ป่วยมะเร็งเต้านมยังคงมีจำนวนน้อย การศึกษาอุบัติการณ์และกลไกการดื้อต่อ trastuzumab ยังคงดำเนินต่อไปเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจน และวิธีการตรวจตัวบ่งชี้การดื้อต่อยา (biomarkers of resistance) ต้องมีการพัฒนาให้สามารถตรวจได้แม่นยำมากขึ้น ปัจจุบันยังไม่มีการตรวจที่เฉพาะกับกลไกต่าง ๆ ส่วนใหญ่ยังอยู่ในขั้นตอนการทดลอง เพื่อให้ได้วิธีการตรวจที่เหมาะสมได้ผลถูกต้องแม่นยำอันจะเป็นประโยชน์สูงสุดต่อการรักษาผู้ป่วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ดร. สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์ ที่ตรวจต้นฉบับและให้คำแนะ/แก้ไขในการเขียนบทความนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Yarden Y, Baselga J, Miles D. Molecular approach to breast cancer treatment. Semin Oncol 2004;31: 6-13.

2. Hynes NE, Lane HA. ErbB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors . Nat Rev Cancer 2005;5:341.
3. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. signalling mechanisms and therapeutic opportunities. Eur J Cancer 2001;37:S3-S8.
4. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplifi cation of the HER-2/neu oncogene. Science 1987;235:177-82.
5. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. Science 1989;244:707-12.
6. Tural D, Akar E, Mutlu H, Kilickap S. P95 HER2 fragments and breast cancer outcome. Expert Rev Anticancer Ther 2014;14:1089-96.
7. Sunanta Chariyalertsak, Wichai Purisa, Songkhun Vinyuvat. HER-2/neu Amplification Determined by Real-Time Quantitative PCR and Its Association with Clinical Outcome of Breast Cancer in Thailand. Asian Pacific J Cancer Prev 2011;12:1703-6.
8. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. N Engl J Med 2001;344:783-92.
9. Hudis CA. Trastuzumab-mechanism of action and use in clinical practice. N Engl J Med 2007;357:39-51.
10. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, Chan S, Romieu CG, Pienkowski T, et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. N Engl J Med 2006;355:2733-43.
11. Gomez HL, Doval DC, Chavez MA, Ang PC, Aziz Z, Nag S, et al. Efficacy and safety of lapatinib as first-line therapy for ErbB2-amplified locally advanced or metastatic breast cancer. J Clin Oncol 2008;26:2999-3005.
12. Chien AJ, Rugo HS. Emerging treatment options for the management of brain metastases in patients with HER2-positive metastatic breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2013;137:1-12.
13. Dawood S, Gonzalez-Angulo AM. Progress in the biological understanding and management of breast cancer-associated central nervous system metastases. Oncologist 2013;18:675-84.
14. Park IH, Ro J, Lee KS, Nam BH, Kwon Y, Miles D. Trastuzumab treatment beyond brain progression in HER2-positive metastatic breast cancer. Ann Oncol 2009;20:56-62.
15. Swain SM, Baselga J, Miles D, Im YH, Quah C, Lee LF, Cortés J. Incidence of central nervous system metastases in patients with HER2-positive metastatic breast cancer treated with pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel: results from the randomized phase III study CLEOPATRA. Ann Oncol 2014;25:1116-21.
16. Hudziak RM, Lewis GD, Winget M, Fendly BM, Shepard HM, Ullrich A. p185HER-2 monoclonal antibody has antiproliferative effects in vitro and sensitizes human breast tumor cells to tumor necrosis factor. Mol Cell Biol 1989;9:1165-72.
17. Carter P, Presta L, Gorman CM, Ridgway JB, Henner D, Wong WL, et al. Humanization of an anti-p185HER-2 antibody for human cancer therapy. Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:4285-9.
18. Burgess AW, Cho HS, Eigenbrot C, Ferguson KM, Garrett TP, Leahy DJ, et al. An open-and-shut case? Recent insights into the activation of EGF/ErbB receptors. Mol Cell 2003;12:541-52.
19. Baselga J, Albanell J, Molina MA, Arribas J. Mechanism of action of trastuzumab and scientific update. Semin Oncol 2001;28:4-11.
20. Lipton A, Köstler WJ, Leitzel K, Ali SM, Sperinde J, Weidler J, et al. Trastuzumab Response Biomarker Group. Quantitative HER2 protein levels predict outcome in fluorescence in situ hybridization-positive patients with metastatic breast cancer treated with trastuzumab. Cancer 2010;116:5168-78.
21. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, et al . Effi cacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER-2-overexpressing metastatic breast cancer. J Clin Oncol 2002;20:719-26.
22. Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, et al . Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized antip185 HER-2 monoclonal antibody in patients with HER-2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. J Clin Oncol 1996;14:737-44.

23. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, Robert NJ, Scholl S, Fehrenbacher L, et al. Multinational study of the effi cacy and safety of humanized anti-HER-2 monoclonal antibody in women who have HER-2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. J Clin Oncol 1999;17:2639-48.
24. Baselga J, Carbonell X, Castaneda-Soto NJ, Clemens M, Green M, Harvey V, et al. Phase II study of effi cacy, safety, and pharmacokinetics of trastuzumab monotherapy administered on a 3-weekly schedule. J Clin Oncol 2005;23:2162-71.
25. Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, Snyder R, Mauriac L, Tubiana-Hulin M, et al . Randomized phase II trial of the effi cacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: the M77001 study group. J Clin Oncol 2005; 23:4265-74.
26. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE Jr, Davidson NE, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER-2-positive breast cancer. N Engl J Med 2005;353:1673-84.
27. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER-2-positive breast cancer. N Engl J Med 2005;353:1659-72.
28. Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pienkowski T, Martin M, Pawlicki M, et al. Phase III randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel (ACT) with doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel and trastuzumab (ACTH) with docetaxel, carboplatin and trastuzumab (TCH) in HER-2 positive early breast cancer patients: BCIRG 006 study. Breast Cancer Res Treat 94 (suppl 1), S4 (2005) (Abstract 1).
29. Zagozdzon R, Gallagher WM, Crown J. Truncated HER2: implications for HER2-targeted therapeutics. Drug Discov Today 2011;16:810-6.
30. Nagata Y, Lan KH, Zhou X, Tan M, Esteva FJ, Sahin AA, et al. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. Cancer Cell 2004;6:117-27.
31. Lu Y, Zi X, Zhao Y, Mascarenhas D, Pollak M. Insulin-like growth factor-I receptor signaling and resistance to trastuzumab (Herceptin). J Natl Cancer Inst 2001; 93:1852-7.
32. Ross JS, Slodkowska EA, Symmans WF, Pusztai L, Ravdin PM, Hortobagyi GN. The HER-2 receptor and breast cancer: ten years of targeted anti-HER-2 therapy and personalized medicine. Oncologist 2009; 14:320-68.
33. Molina MA, Saez R, Ramsey EE, Garcia-Barchino MJ, Rojo F, Evans AJ, et al. NH(2)-terminal truncated HER-2 protein but not full-length receptor is associated with nodal metastasis in human breast cancer. Clin Cancer Res 2002;8:347-53.
34. Molina MA, Codony-Servat J, Albanell J, Rojo F, Arribas J, Baselga J. Trastuzumab (Herceptin), a humanized anti-Her2 receptor monoclonal antibody, inhibits basal and activated Her2 ectodomain cleavage in breast cancer cells. Cancer Res 2001; 61:4744-9.
35. Christianson TA, Doherty JK, Lin YJ, Ramsey EE, Holmes R, Keenan EJ, et al. NH2-terminally truncated HER-2/neu protein: relationship with shedding of the extracellular domain and with prognostic factors in breast cancer. Cancer Res 1998;58:5123-9.
36. Codony-Servat J, Albanell J, Lopez-Talavera JC, Arribas J, Baselga J. Cleavage of the HER2 ectodomain is a pervanadate-activable process that is inhibited by the tissue inhibitor of metalloproteases-1 in breast cancer cells. Cancer Res 1999;59:1196-201.
37. Liu PC, Liu X, Li Y, Covington M, Wynn R, Huber R, et al. Identification of ADAM10 as a major source of HER2 ectodomain sheddase activity in HER2 overexpressing breast cancer cells. Cancer Biol Ther 2006;5:657-64.
38. Anido J, Scaltriti M, Bech Serra JJ, Santiago Josefat B, Todo FR. Baselga J, et al. Biosynthesis of tumorigenic HER2 C-terminal fragments by alternative initiation of translation. EMBO J 2006;25:3234-44.
39. Cho HS, Mason K, Ramyar KX, Stanley AM, Gabelli SB, Denney DW, et al. Structure of the extracellular region of HER2 alone and in complex with the Herceptin Fab. Nature 2003;421:756-60.

40. Hayes DF, Yamauchi H, Broadwater G, Cirrincione CT, Rodrigue SP, Berry DA, et al. Circulating HER-2/erbB-2/c-neu (HER-2) extracellular domain as a prognostic factor in patients with metastatic breast cancer: Cancer and Leukemia Group B Study 8662. Clin Cancer Res 2001;7:2703-11
41. Colomer R, Llombart-Cussac A, Lluch A, Barnadas A, Ojeda B, Carañana V, et al. Biweekly paclitaxel plus gemcitabine in advanced breast cancer: phase II trial and predictive value of HER2 extracellular domain. Ann Oncol 2004;15:201-6.
42. Colomer R, Llombart-Cussac A, Tusquets I, Rifà J, Mayordomo JI, Ojeda B, et al. Biweekly gemcitabine plus vinorelbine in first-line metastatic breast cancer: efficacy and correlation with HER2 extracellular domain. Clin Transl Oncol 2006;8:896-902.
43. Arrisbas J, Baselga J, Pedersen K, Parra-Palau JL. p95HER2 and breast cancer. Cancer Res 2011: 17;1515-9.
44. Pedersen K, Angelini PD, Laos S, Bach-Faig A, Cunningham MP, Ferrer-RamÓn C, et al. A naturally occurring HER2 carboxy-terminal fragment promotes mammary tumor growth and metastasis. Mol Cell Biol 2009;29:3319-31.
45. Scaltriti M, Rojo F, Ocana A, Anido J, Guzman M, Cortes J, et al. Expression of p95HER2, a truncated form of the HER2 receptor, and response to anti-HER2 therapies in breast cancer. J Natl Cancer Inst 2007;99:628-38.
46. Chandarlapaty S, Scaltriti M, Angelini P, Ye Q, Guzman M, Hudis CA, et al. Inhibitors of HSP90 block p95-HER2 signaling in Trastuzumab-resistant tumors and suppress their growth. Oncogene 2010;29:325-34.
47. Yuan CX, Lasut AL, Wynn R, Neff NT, Hollis GF, Ramaker ML, et al. Purification of Her-2 extracellular domain and identification of its cleavage site. Protein Expr Purif 2003;29:217-22.
48. Sáez R, Molina MA, Ramsey EE, Rojo F, Keenan EJ, Albanell J, et al. p95HER-2 predicts worse outcome in patients with HER-2-positive breast cancer. Clin Cancer Res 2006;12:424-31.
49. Sperinde J, Jin X, Banerjee J, Penuel E, Saha A, Diedrich G, et al. Quantitation of p95HER2 in Paraffin Sections by Using a p95-Specific Antibody and Correlation with Outcome in a Cohort of Trastuzumab-Treated Breast Cancer Patients. Clin Cancer Res 2010:16;4226-35.
50. Scheuer W. Friess T, Burtscher H, Bossenmaier B, Endl J, Hasmann M, et al. Strongly enhanced antitumor activity of trastuzumab and pertuzumab combination treatment on HER2-positive human xenograft tumor models. Cancer Res 2009;69:9330-6
51. Witzel I, Loibl S, von Minckwitz G, Mundhenke C, Huober J, Hanusch C, et al. Monitoring serum HER2 levels during neoadjuvant trastuzumab treatment within the GeparQuattro trial. Breast Cancer Res Treat 2010;123:437-45.
52. Ali SM, Carney WP, Esteva FJ, Fornier M, Harris L, Köstler WJ, et al. Serum HER-2/neu and relative resistance to trastuzumab-based therapy in patients with metastatic breast cancer. Cancer 2008;113: 1294-301.
53. Lewis Phillips GD, Li G, Dugger DL, Crocker LM, Parsons KL, Mai E, et al. Targeting HER2-positive breast cancer with trastuzumab-DM1, an antibody-cytotoxic drug conjugate. Cancer Res 2008;68: 9280-90.
54. Segatto O, King CR, Pierce JH, Di Fiore PP, Aaronson SA. Different structural alterations upregulate in vitro tyrosine kinase activity and transforming potency of the erbB-2 gene. Mol Cell Biol 1988;8:5570-4.
55. Lehväslaiho H, Lehtola L, Sistonen L, Alitalo K. A chimeric EGF-R-neu proto-oncogene allows EGF to regulate neu tyrosine kinase and cell transformation. EMBO J 1989;8:159-66.
56. Scaltriti M, Nuciforo P, Bradbury I, Sperinde J, Serra V, Parra JL, et al. High HER2 expression correlates with response to trastuzumab and the combination of trastuzumab and lapatinib in the NeoALTTO phase III trial. Cancer Res 2013;73:Abstract nr P1-08-42.