· 论著 ·

基于 TCGA 数据库的 *ERBB2* 在膀胱尿路上皮癌中的表达特征及临床意义

郑光玮,彭 云,杜依青△,徐 涛△
(北京大学人民医院泌尿外科,北京 100044)

[摘 要] **目的**:探讨 Erb-B2 受体酪氨酸激酶 2(Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2,*ERBB2*)在膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma,BLCA)中的表达特征、临床相关性、预后价值及潜在分子机制,为 BLCA 分子标志物筛选及靶向治疗研究提供依据。**方法**:基于美国癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas,TCGA)的 BLCA 队列获取 RNA 测序表达数据及临床资料,分析 *ERBB2* 在肿瘤组织与正常组织中的表达差异及其与美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer,AJCC)病理分期、肿瘤分级的关系,并采用受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线评估其诊断区分能力。按 *ERBB2* 表达中位数及最佳截断值进行分组,采用 Kaplan-Meier 生存分析和 Cox 回归评估其预后价值。进一步筛选 *ERBB2* 高表达和低表达相关差异基因,并进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)、基因本体论(gene ontology,GO)富集分析及单基因基因集富集分析(gene set enrichment analysis,GSEA)。同时分析 ERBB2 与免疫检查点分子表达的关系,并结合人类蛋白图谱数据库(Human Protein Atlas,HPA)免疫组织化学及实时荧光定量逆转录 PCR(reverse transcription quantitative PCR,RT-qPCR)实验验证 *ERBB2* 表达。**结果**:HPA 免疫组织化学显示 *ERBB2* 在 BLCA 肿瘤组织中呈较强阳性染色,RT-qPCR 进一步验证 BLCA 肿瘤组织中 *ERBB2* mRNA 表达升高。TCGA 分析显示,*ERBB2* 在 BLCA 肿瘤组织中的表达显著高于正常组织($P=0.005$),并在不同 AJCC 病理分期间存在总体差异($P=0.004$);肿瘤分级间差异未达到统计学意义($P=0.238$)。ROC 分析显示 *ERBB2* 对肿瘤组织与正常组织具有一定区分能力(曲线下面积为 0.689)。无论按中位数分组还是最佳截断值分组,*ERBB2* 高表达组和低表达组的总体生存差异均未达到统计学意义($P=0.240$ 和 $P=0.148$);单因素及多因素 Cox 分析亦提示 *ERBB2* 并非总体生存的独立预测因素。功能富集分析显示,*ERBB2* 相关差异基因主要富集于细胞因子与受体相互作用、白介素 17(interleukin 17,IL-17)信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B,PI3K/AKT)信号通路、Janus 激酶/信号转导及转录激活因子(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription,JAK-STAT)信号通路、趋化因子信号通路、炎症反应、免疫反应、细胞外基质组织及白细胞迁移等过程。GSEA 结果进一步显示 IL-17 信号通路、PI3K/AKT 信号通路及细胞因子与受体相互作用通路呈正向富集。免疫检查点分析显示,*ERBB2* 高表达组中 *CD274*、*PDCD1*、*CTLA4*、*LAG3*、*TIGIT* 及 *HAVCR2* 表达水平均升高,且 *ERBB2* 表达与 *CD274* 和 *CTLA4* 呈正相关(Spearman $\rho=0.45$ 和 0.36,均 $P<0.001$)。**结论**:*ERBB2* 在 BLCA 肿瘤组织中呈上调表达,并与 AJCC 病理分期及免疫检查点分子表达相关,具有一定的诊断区分能力,但其总体生存预测价值有限。*ERBB2* 可能通过参与免疫炎症反应、细胞因子信号、PI3K/AKT 通路及肿瘤免疫微环境调控影响 BLCA 的发生和发展。

[关键词] 膀胱肿瘤;尿路上皮癌;基因,erbB-2;基因表达;免疫检查点抑制剂;预后;癌症基因组图谱
[中图分类号] R737.14 [文献标志码] A [文章编号] 1671-167X(2026)04-0818-09
doi:10.19723/j.issn.1671-167X.2026.04.019

Expression characteristics and clinical significance of *ERBB2* in bladder urothelial carcinoma based on the TCGA database

ZHENG Guangwei, PENG Yun, DU Yiqing△, XU Tao△
(Department of Urology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China)

ABSTRACT **Objective**: To investigate the expression pattern of Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2 (*ERBB2*) in bladder urothelial carcinoma (BLCA) and its clinical relevance, prognostic value, and potential molecular mechanisms, thereby providing evidence for biomarker identification and targeted thera-

基金项目:四大慢病重大专项(2024ZD0525700)、国家自然科学基金(82471866,82472912)和北京市自然科学基金(L252190) Supported by National Major Projects on Four Major Chronic Diseases (2024ZD0525700), National Natural Science Foundation of China (82471866, 82472912) and Beijing Natural Science Foundation (L252190)
△ Corresponding author's e-mail, duyiqing@bjmu.edu.cn, xutao@pku.edu.cn
网络出版时间:2026-06-30 14:21:51 **网络出版地址**:http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20260630.1121.002.html

py research in BLCA. **Methods**: RNA sequencing expression data and clinical information were obtained from The Cancer Genome Atlas bladder urothelial carcinoma cohort (TCGA-BLCA). Differences in *ERBB2* expression between tumor and normal tissues were analyzed, and associations with American Joint Committee on Cancer (AJCC) pathological stage and tumor grade were evaluated. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed to assess the diagnostic performance of *ERBB2*. Patients were stratified into high- and low-expression groups based on both the median value and the optimal cutoff, followed by Kaplan-Meier survival analysis and Cox regression to evaluate prognostic significance. Differentially expressed genes associated with *ERBB2* were identified, and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), gene ontology (GO), and single-gene gene set enrichment analysis (GSEA) were conducted. Correlations between *ERBB2* and immune checkpoint molecules were further analyzed. In addition, immunohistochemistry data from the Human Protein Atlas (HPA) database and reverse transcription quantitative PCR (RT-qPCR) experiments were used to validate *ERBB2* expression. **Results**: HPA immunohistochemistry demonstrated stronger *ERBB2* staining in BLCA neoplastic tissues, and RT-qPCR confirmed elevated *ERBB2* mRNA expression in BLCA neoplastic tissues. TCGA analysis showed that *ERBB2* expression was significantly higher in tumor tissues than in normal tissues ($P=0.005$), with overall differences observed across AJCC pathological stages ($P=0.004$), whereas no significant difference was found between tumor grades ($P=0.238$). Receiver operating characteristic curve analysis indicated a moderate discriminatory ability of *ERBB2* [area under the curve (AUC) $=0.689$]. No significant difference in overall survival was observed between high- and low-expression groups based on either the median cutoff or the optimal cutoff ($P=0.240$ and $P=0.148$, respectively), and both univariate and multivariate Cox analyses suggested that *ERBB2* was not an independent prognostic factor for OS. Functional enrichment analyses revealed that *ERBB2*-associated differentially expressed genes were mainly enriched in cytokine-cytokine receptor interaction, interleukin 17 (IL-17) signaling pathway, phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) signaling pathway, Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK-STAT) signaling pathway, chemokine signaling pathway, inflammatory response, immune response, extracellular matrix organization, and leukocyte migration. GSEA further demonstrated positive enrichment in IL-17 signaling, PI3K/AKT signaling, and cytokine-cytokine receptor interaction pathways. Immune checkpoint analysis showed that *CD274*, *PDCD1*, *CTLA4*, *LAG3*, *TIGIT*, and *HAVCR2* were significantly upregulated in the *ERBB2* high-expression group, and *ERBB2* expression was positively correlated with *CD274* and *CTLA4* (Spearman $\rho=0.45$ and 0.36, both $P<0.001$). **Conclusion**: *ERBB2* is upregulated in BLCA and is associated with AJCC pathological stage and immune checkpoint expression, showing moderate diagnostic value but limited prognostic significance. *ERBB2* may contribute to BLCA progression through regulation of immune-inflammatory responses, cytokine signaling, PI3K/AKT pathway, and tumor immune microenvironment.

KEY WORDS Urinary bladder neoplasms; Urothelial carcinoma; Genes, erbB-2; Gene expression; Immune checkpoint inhibitors; Prognosis; The Cancer Genome Atlas

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一,其中以膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma, BLCA)最为常见。根据全球癌症观察站(Global Cancer Observatory, GLOBOCAN) 2022 年发布的数据,全球膀胱癌新发病例超过 60 万例,死亡约 22 万例,在全部恶性肿瘤中发病率和死亡率均居前列,提示其疾病负担仍然较重[1]。尽管近年来手术、放化疗、抗体偶联药物以及免疫检查点抑制剂等治疗手段不断发展,但膀胱癌患者仍具有较高的复发率及进展风险,尤其是中晚期及转移性患者预后仍不理想[2]。因此,筛选具有稳定性和临床相关性的分子标志物,并探索其潜在作用机制,对于膀胱癌的精准诊疗具有重要意义。

Erb-B2 受体酪氨酸激酶 2(Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2, *ERBB2*)基因编码人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2),是表皮生长因子受体家族的重要成员,属于经典受体酪氨酸激酶相关分子。*ERBB2* 激活后可通过磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT)及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等下游信号通路参与调控细胞增殖、凋亡、侵袭、转移及治疗耐受等关键过程[3]。在乳腺癌等实体肿瘤中,*ERBB2* 扩增或过表达已被证实与肿瘤侵袭性增强及不良预后密切相关,并已成为重要的靶向治疗靶点[4]。近年来研究提示,*ERBB2* 在 BLCA 中亦存在一定比例的异常表达,其状态可能与肿瘤分子特征、临床病理特征及治疗反应相关[5]。然而,与乳腺癌等研究较为成熟的肿瘤类型相比,*ERBB2* 在 BLCA 中的表达特征、临床相关性及其对预后和免疫微环境的影响仍缺乏系统性分析,其潜在生物学意义尚未明确。

值得关注的是,肿瘤免疫微环境在 BLCA 的发生、发展及治疗反应中发挥着重要作用。以程序性死亡受体 1(programmed cell death protein 1, PD-1)/程序性死亡配体 1(programmed death-ligand 1, PD-

L1)及细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4,CTLA-4)为代表的免疫检查点通路,已成为膀胱癌免疫治疗的重要靶点[6]。同时,新型免疫检查点分子,如淋巴细胞活化基因 3(lymphocyte activation gene 3,LAG-3)、含 Ig 和 ITIM 结构域的 T 细胞免疫受体(T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains,TIGIT)及甲型肝炎病毒细胞受体 2[hepatitis A virus cellular receptor 2,HAVCR2,又称 T 细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域蛋白 3(T cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3,TIM-3)]等,亦逐渐受到关注。已有研究表明,肿瘤驱动基因不仅参与细胞内信号转导,还可能通过调控细胞因子网络、免疫细胞浸润及免疫检查点表达影响肿瘤免疫状态[7]。此外,既往研究发现 HER2、PD-L1 及免疫相关分子在 BLCA 中存在差异表达和临床病理关联,提示 *ERBB2* 与免疫微环境之间可能存在潜在联系。

随着高通量测序技术的发展,大规模转录组数据库为系统评估基因表达及其临床意义提供了重要基础。通过整合转录组数据、临床特征及生存信息,可以从多角度分析特定基因在肿瘤发生和发展中的作用。然而,现有研究多集中于 *ERBB2* 在 BLCA 中的突变、扩增或蛋白表达情况,对于其表达水平与临床特征、预后以及免疫微环境之间关系的研究仍相对不足。基于此,本研究以美国癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库中的 BLCA 队列(TCGA-BLCA)为研究对象,系统分析 *ERBB2* 在 BLCA 中的表达特征及其临床意义,旨在从表达特征、功能通路及免疫相关性三个层面系统阐明 *ERBB2* 在 BLCA 中的潜在作用,为其作为分子标志物及潜在治疗靶点提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 数据来源与研究对象

本研究数据来源于 TCGA-BLCA。纳入标准:(1)样本具有可用 RNA 测序(RNA sequencing, RNA-seq)表达数据;(2)样本类型明确,包括原发肿瘤组织或正常膀胱组织;(3)用于生存分析的病例需具有总体生存期(overall survival,OS)及生存状态信息。排除标准:(1)重复肿瘤样本;(2)缺失关键临床资料或生存结局信息的样本;(3)非原发肿瘤样本。为减少同一患者重复取样造成的偏倚,在预后分析、差异表达分析和免疫相关分析中,每例患者仅保留 1 个原发肿瘤样本。纳入分析的临床因素包括年龄、性别、美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer,AJCC)病理分期、肿瘤分级及 OS 等。

1.2 RNA-seq 表达数据获取与预处理

RNA-seq 表达数据通过 R 语言 TCGAbiolinks 包从基因组数据共享平台(Genomic Data Commons, GDC)下载,数据类别为“Transcriptome Profiling”,数据类型为“Gene Expression Quantification”,工作流程选择“STAR-Counts”。下载完成后使用 GDCprepare 函数构建 SummarizedExperiment 对象,并提取原始计数矩阵(counts)。随后采用 edgeR 包的 M 值截尾均值法(trimmed mean of M-values,TMM)对原始计数矩阵进行标准化,以校正样本间测序深度及文库组成差异,并计算 $\log_2$ 转换后的每百万计数值(transcripts per million,TPM),即 $\log_2$TPM 表达矩阵(prior. count = 1),用于后续表达差异与相关性分析。

1.3 *ERBB2* 表达差异分析及临床相关性评估

ERBB2 在肿瘤组织与正常组织之间的表达差异采用 Wilcoxon 秩和检验进行比较。在肿瘤样本中,进一步根据 AJCC 病理分期及肿瘤分级分组,采用 Kruskal-Wallis 检验评估多组间总体差异;当总体差异具有统计学意义时,进一步采用 Wilcoxon 秩和检验进行两两组间比较。基于 *ERBB2* 表达水平构建受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,用于评估 *ERBB2* 对肿瘤组织与正常组织的区分能力,并计算曲线下面积(area under the curve,AUC)。该分析主要用于评价 *ERBB2* 表达在数据库样本中区分肿瘤与非肿瘤组织的统计学性能,而非直接代表临床筛查或独立诊断效能。

1.4 生存分析与 Cox 回归模型

OS 定义为从初次诊断至死亡或末次随访的时间,生存状态根据 vital_status 字段判定,死亡记为 1,存活记为 0。按 *ERBB2* 表达中位数将患者分为高表达组和低表达组,采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,并使用 Log-rank 检验比较组间 OS 差异。考虑到连续变量二分类时截断值选择可能影响结果,本研究进一步在保证高、低表达组样本量比例均不低于 20% 的前提下,对 *ERBB2* 表达截断值进行扫描,并选择 Log-rank 检验 *P* 值最小的截断值作为最佳截断值,再次进行 Kaplan-Meier 生存分析。同时,将 *ERBB2* 表达作为连续变量纳入 Cox 比例风险回归模型,评估其与 OS 的关系。分别构建单因素 Cox 模型及纳入年龄、性别和 AJCC 病理分期等协变量的多因素 Cox 模型,结果以风险比(hazard ratio,*HR*)及 95% 置信区间(confidence interval,*CI*)

表示。

1.5　差异表达基因筛选

为探索 *ERBB2* 相关的转录组改变,本研究沿用上述 *ERBB2* 表达中位数分组方法,在 TCGA-BLCA 肿瘤样本中比较 *ERBB2* 高表达组与低表达组的基因表达差异。采用 limma 包结合 voom 方法对 RNA-seq 计数数据进行差异表达分析。差异表达基因筛选标准设定为校正后 $P<0.05$ 且 $|\log_2(\text{fold change})|>1$。差异表达结果以火山图展示,其中上调基因和下调基因分别标记。

1.6　功能富集分析及单基因基因集富集分析

对筛选得到的显著差异表达基因进行功能富集分析。利用 org. Hs. eg. db 包将基因符号转换为基因编号(Entrez gene identifier,Entrez ID),随后采用 ClusterProfiler 包进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)通路富集分析及基因本体论(gene ontology,GO)生物过程富集分析。富集分析结果以富集基因比例(GeneRatio)、富集基因数及校正后 *P* 值展示,其中 GeneRatio 表示注释到某一功能条目的差异表达基因数占输入差异表达基因总数的比例。

为进一步评估 *ERBB2* 相关通路的整体变化趋势,本研究开展单基因基因集富集分析(gene set enrichment analysis,GSEA)。以 *ERBB2* 表达水平与全基因表达谱的相关性构建排序基因列表,进行 GSEA,结果以标准化富集分数(normalized enrichment score,NES)及错误发现率(false discovery rate,FDR)表示。FDR<0.05 为富集结果具有统计学意义。

1.7　*ERBB2* 与免疫检查点分子相关性分析

为评估 *ERBB2* 与 BLCA 免疫微环境相关分子的关系,本研究选取 6 个具有代表性的免疫检查点相关基因进行分析,包括 *CD274*(PD-L1 编码基因)、*PDCD1*(PD-1 编码基因)、*CTLA4*(CTLA-4 编码基因)、*LAG3*(LAG-3 编码基因)、*TIGIT* 及 *HAVCR2*。

比较 *ERBB2* 高表达组与低表达组中上述免疫检查点基因的表达差异,组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验。随后采用 Spearman 秩相关分析计算 *ERBB2* 与各免疫检查点基因表达水平之间的相关系数(ρ)及 *P* 值,绘制 *ERBB2* 与 *CD274* 及 *CTLA4* 的代表性相关性散点图。

1.8　人类蛋白图谱数据库免疫组织化学验证及 RT-qPCR 实验验证

为进一步验证 TCGA 转录组分析结果,本研究结合人类蛋白图谱数据库(Human Protein Atlas,HPA)及实时荧光定量逆转录 PCR(reverse transcription quantitative PCR,RT-qPCR)实验评估 *ERBB2* 在 BLCA 中的表达。在 HPA 数据库中检索 *ERBB2*(Ensembl 基因编号:ENSG00000141736)的蛋白表达信息,获取正常膀胱组织及 BLCA 肿瘤组织中的免疫组织化学(immunohistochemistry,IHC)代表性图像,用于蛋白水平验证。需要说明的是,HPA 图像主要用于展示公开数据库中 *ERBB2* 的蛋白表达的代表性染色情况,不能完全等同于本研究队列的独立病理验证。

此外,本研究收集 BLCA 肿瘤组织及癌旁正常膀胱组织样本各 3 例,提取总 RNA 并逆转录合成 cDNA,采用 RT-qPCR 检测 *ERBB2* mRNA 表达水平。引物序列如下:*ERBB2* 上游引物 5′-AGCTCTTTGAGGACAACCTG-3′,下游引物 5′-TGTCTCTGGGTCTCCTCTGT-3′;*GAPDH* 上游引物 5′-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3′,下游引物 5′-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3′。以 *GAPDH* 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 ERBB2 相对表达量。肿瘤组织与正常组织间差异采用双侧非配对 Student's *t* 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

1.9　统计学分析

所有统计分析均在 R 软件 4.3.2 版本中完成。连续变量根据数据分布特征以均数 ± 标准差或中位数(四分位数间距)表示。各分析所采用的统计学方法已在相应方法部分说明。所有统计检验均为双侧检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义;涉及多重检验的分析采用校正后 *P* 值或 FDR 进行评价。

2　结果

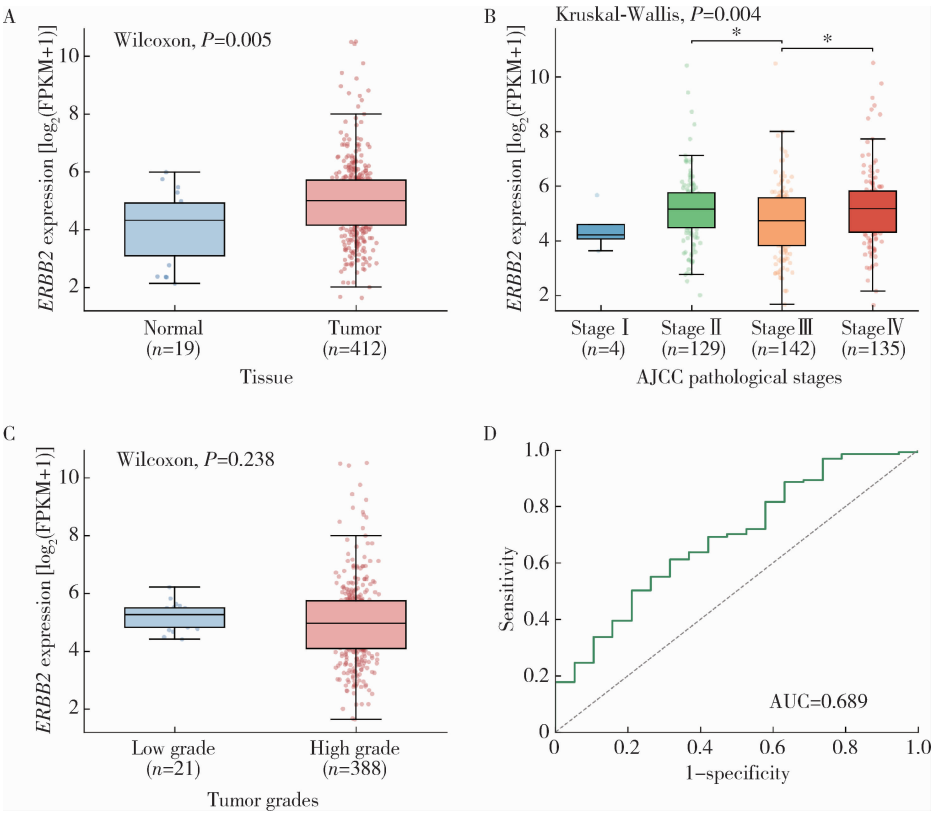
2.1　*ERBB2* 在 TCGA-BLCA 队列中的表达特征及临床相关性

在 TCGA-BLCA 队列中,*ERBB2* 在 BLCA 肿瘤组织中的表达水平显著高于正常膀胱组织,组间差异具有统计学意义($P=0.005$,图 1A)。按照 AJCC 病理分期进行分组的结果显示,不同病理分期间 *ERBB2* 表达水平存在总体差异($P=0.004$,图 1B),进一步两两比较表明,Ⅱ期与Ⅲ期、Ⅲ期与Ⅳ期之间 *ERBB2* 表达差异具有统计学意义(均 $P<0.05$,图 1B)。在肿瘤分级方面,*ERBB2* 在低级别与高级别肿瘤之间的表达差异未达到统计学意义($P=0.238$,图 1C)。此外,ROC 曲线分析显示,*ERBB2* 表达水平对 BLCA 肿瘤组织与正常组织具有一定区分能力,AUC 为 0.689(图 1D)。总体来看,*ERBB2* 在 BLCA 肿瘤组织中呈上调表达,并与 AJCC 病理

分期存在一定关联。

2.2 HPA 数据库及 RT-qPCR 验证 *ERBB2* 在 BLCA 中的表达上调

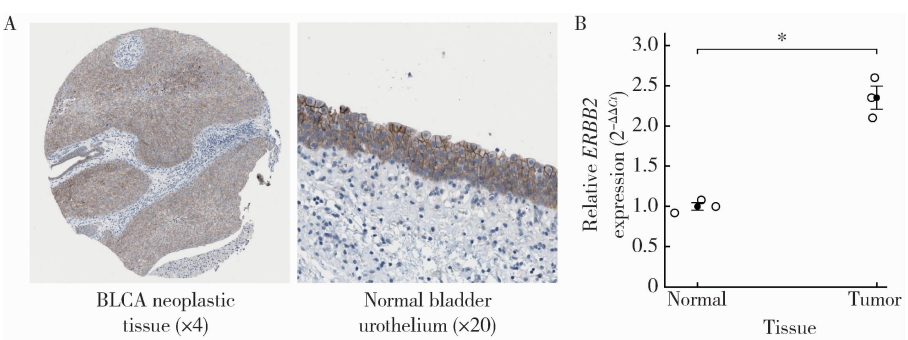
IHC 结果显示，*ERBB2* 在正常膀胱组织中整体呈低至中等表达，而在 BLCA 肿瘤组织中可观察到更强或更广泛的阳性染色信号，提示 *ERBB2* 在蛋白层面亦存在上调趋势，与 TCGA 表达分析结果一致（图 2A）。此外，本研究进一步通过 RT-qPCR 实验对 *ERBB2* 的表达水平进行了验证。结果显示，与癌旁正常组织相比，BLCA 肿瘤组织中 *ERBB2* mRNA 表达水平显著升高（图 2B），从实验层面支持 *ERBB2* 在 BLCA 中的异常上调表达特征。



A, differential expression of *ERBB2* between normal bladder tissues and tumor tissues; B, differences in *ERBB2* expression among different AJCC pathological stages($*P<0.05$); C, differences in *ERBB2* expression among different tumor grades; D, ROC curve analysis of *ERBB2* for distinguishing tumor tissues from normal tissues. FPKM, fragments per kilobase of transcript per million mapped reads; *ERBB2*, Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2; TCGA, The Cancer Genome Atlas; BLCA, bladder urothelial carcinoma; AJCC, American Joint Committee on Cancer; ROC, receiver operating characteristic; AUC, area under curve.

图 1 *ERBB2* 在 TCGA-BLCA 队列中的表达特征及临床相关性分析

Figure 1 Expression characteristics and clinicopathological relevance of *ERBB2* in the TCGA-BLCA cohort



A, representative immunohistochemical staining images of *ERBB2* in BLCA neoplastic tissues and normal bladder urothelium from the HPA database (DAB chromogen with hematoxylin counterstaining); B, validation of relative *ERBB2* mRNA expression levels in normal and tumor tissues by RT-qPCR ($*P<0.05$). *ERBB2*, Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2; BLCA, bladder urothelial carcinoma; HPA, Human Protein Atlas; RT-qPCR, reverse transcription quantitative PCR.

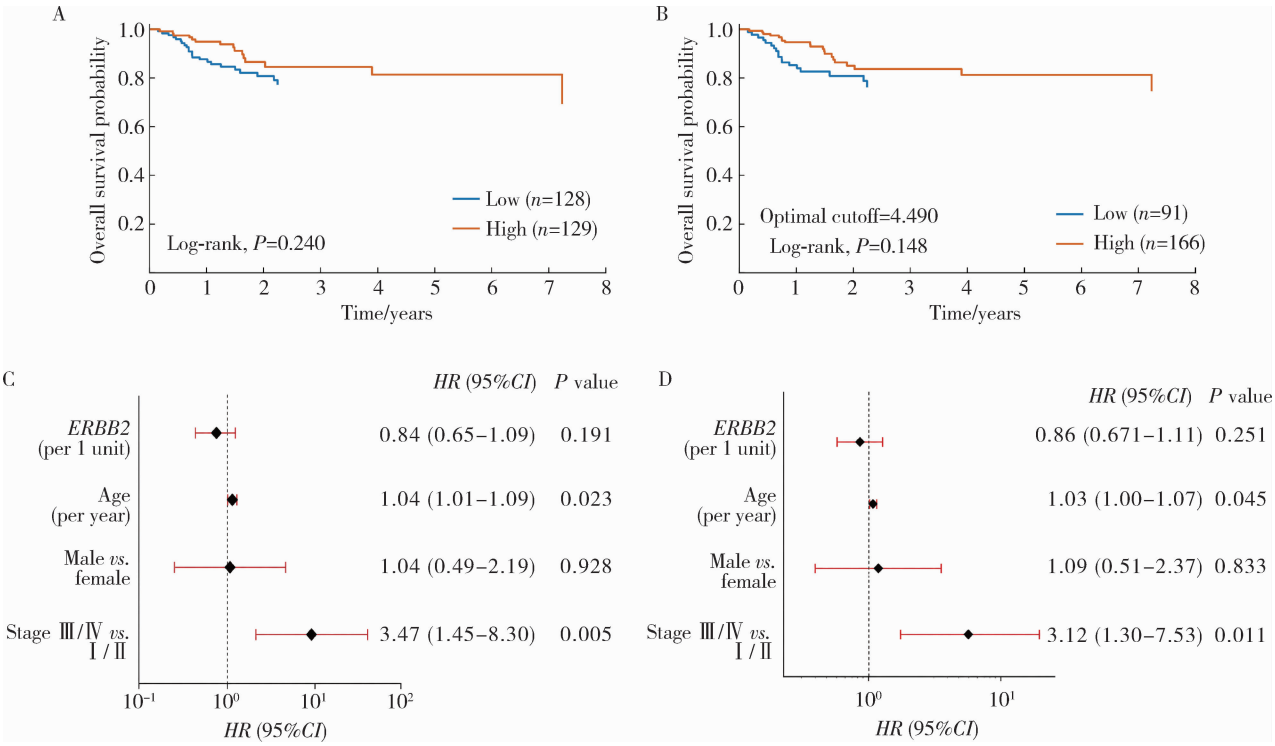
图 2 *ERBB2* 在 BLCA 肿瘤组织中的蛋白及 mRNA 水平验证

Figure 2 Validation of *ERBB2* protein and mRNA expression levels in BLCA

2.3 *ERBB2* 表达与 BLCA 患者总体生存预后的关系

按 *ERBB2* 表达中位数分组后，Kaplan-Meier 总体生存分析显示，*ERBB2* 高表达组与低表达组 OS 差异未达到统计学意义（$P=0.240$，图 3A）。进一

步按最佳截断值 4.490 分组后,两组 OS 差异仍未达到统计学意义(P = 0.148,图 3B)。Cox 比例风险回归分析结果显示,单因素分析中 *ERBB2* 表达与 OS 未呈显著相关(HR = 0.84,95% CI:0.65 ~ 1.09,P = 0.191);年龄及 AJCC 病理分期与 OS 存在一定关联(图 3C)。在纳入年龄、性别及 AJCC 病理分期等因素后,多因素 Cox 分析显示,*ERBB2* 仍不是 OS 的独立预测因素(HR = 0.86,95% CI:0.67 ~ 1.11,P = 0.251,图 3D)。上述结果提示,*ERBB2* 表达水平对 BLCA 患者总体生存的预测价值有限。



A, Kaplan-Meier overall survival curves stratified by the median *ERBB2* expression level; B, Kaplan-Meier overall survival curves stratified by the optimal cutoff value of *ERBB2* expression; C, univariate Cox regression analysis of the association between *ERBB2* expression, clinical variables, and overall survival; D, multivariate Cox regression analysis of the association between *ERBB2* expression, clinical variables, and overall survival. *ERBB2*, Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2; BLCA, bladder urothelial carcinoma.

图 3　*ERBB2* 表达与 BLCA 患者总体生存的关系及 Cox 回归分析

Figure 3　Association between *ERBB2* expression and overall survival in patients with bladder cancer, and Cox regression analyses

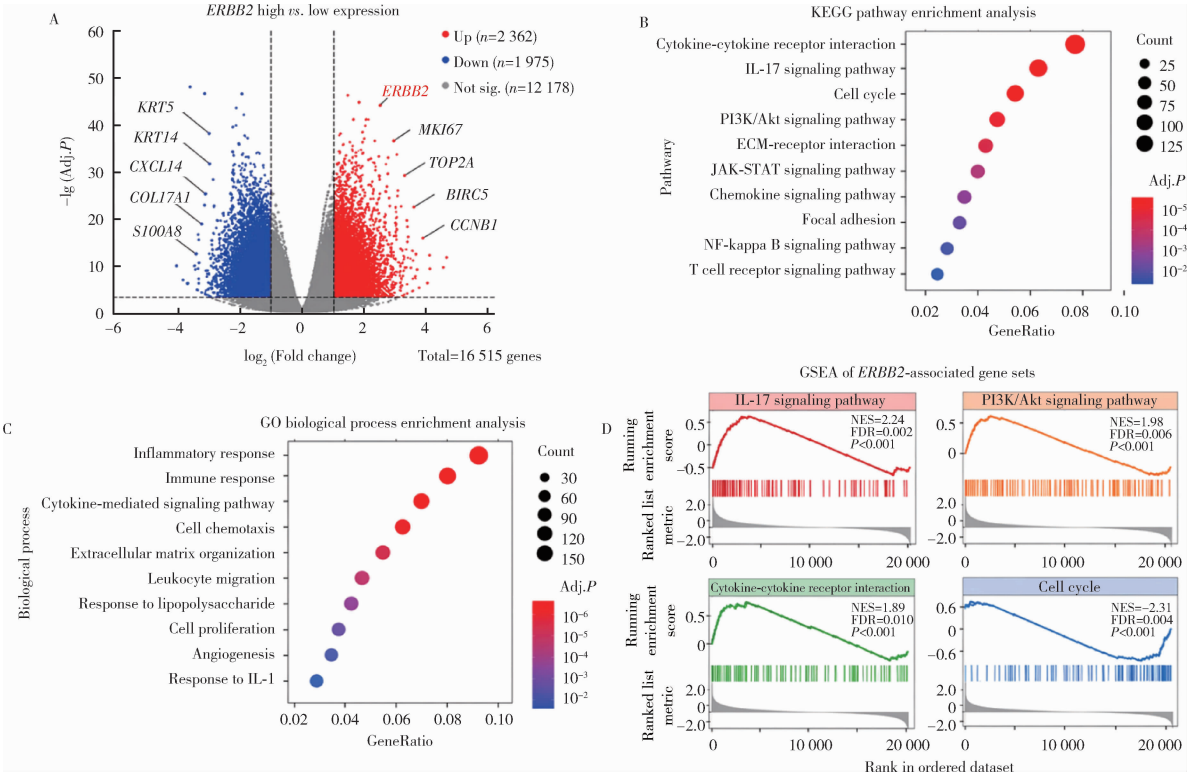
2.4　*ERBB2* 高表达和低表达相关差异基因及功能富集分析

差异表达分析结果显示,*ERBB2* 高表达组与低表达组之间存在较多差异表达基因,其中上调基因 2 362 个,下调基因 1 975 个,提示 *ERBB2* 表达水平变化伴随一定的转录组改变(图 4A)。KEGG 通路富集分析显示,差异表达基因主要富集于细胞因子与受体相互作用、白介素-17(interleukin 17, IL-17)信号通路、细胞周期、PI3K/AKT 信号通路、细胞外基质-受体相互作用、Janus 激酶/信号转导及转录激活因子(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT)信号通路、趋化因子信号通路、核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)信号通路及 T 细胞受体信号通路等(图 4B)。进一步 GO 生物过程富集分析显示,差异表达基因主要涉及炎症反应、免疫反应、细胞因子介导的信号通路、细胞趋化、细胞外基质组织、白细胞迁移、细胞增殖及血管生成等生物学过程(图 4C)。为进一步验证 *ERBB2* 相关通路变化趋势,本研究开展单基因 GSEA 分析。结果显示,IL-17 信号通路、PI3K/AKT 信号通路及细胞外基质-受体相互作用等通路呈正向富集,而细胞周期通路呈负向富集(图 4D)。上述结果提示,*ERBB2* 相关转录组改变可能与免疫炎症反应、细胞因子信号、PI3K/AKT 通路、细胞外基质重塑及细胞周期调控等过程有关。

2.5　*ERBB2* 表达与免疫检查点分子的相关性分析

为评估 *ERBB2* 与 BLCA 免疫微环境相关分子的关系,本研究分析了 *ERBB2* 高表达组和低表达组中主要免疫检查点基因的表达差异。结果显示,与 *ERBB2* 低表达组相比,*ERBB2* 高表达组中 *CD274*、*PDCD1*、*CTLA4*、*LAG3*、*TIGIT* 及 *HAVCR2* 等免疫检查点基因表达水平均升高,组间差异具有统计学意义(图 5A)。进一步相关性分析显示,*ERBB2* 表达与 *CD274* 呈正相关(ρ = 0.45,P = 2.1 × 10^{-20},图 5B),

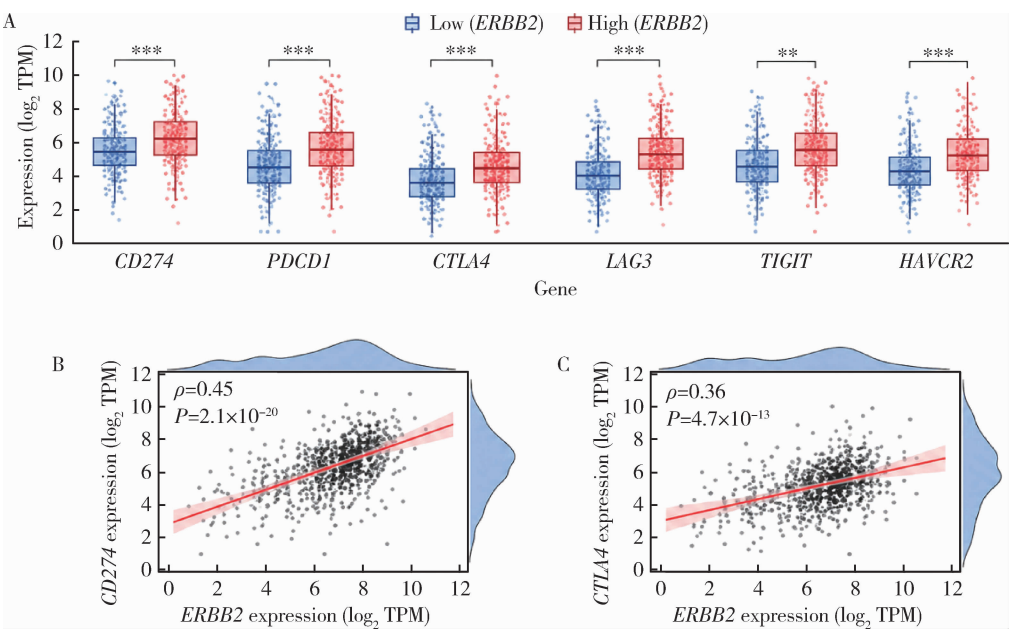
与 *CTLA4* 表达亦呈正相关（$\rho = 0.36$，$P = 4.7 \times 10^{-13}$，图 5C）。上述结果提示，*ERBB2* 表达升高可能与 BLCA 免疫检查点分子表达增强及免疫微环境调控相关。



A, volcano plot of differentially expressed genes between the *ERBB2* high-expression and low-expression groups; B, KEGG pathway enrichment analysis of differentially expressed genes; C, GO biological process enrichment analysis of differentially expressed genes; D, GSEA based on *ERBB2* expression groups, showing representative enriched pathways. *ERBB2*, Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2; KEGG, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; GO, gene ontology; GSEA, gene set enrichment analysis; IL, interleukin; PI3K/AKT, phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B; ECM, extracellular matrix; JAK-STAT, Janus kinase-signal transducer and activator of transcription; NF-κB, nuclear factor-kappa B; NES, normalized enrichment score; FDR, false discovery rate; GeneRatio, the ratio of enriched genes annotated to a given pathway or biological process; Adj. *P*, adjusted *P*; Not sig., not significant.

图 4 *ERBB2* 相关差异表达基因的功能富集分析

Figure 4 Functional enrichment analysis of *ERBB2*-related differentially expressed genes



A, comparison of the expression levels of major immune checkpoint genes between the *ERBB2* high-expression and low-expression groups（** $P < 0.01$，*** $P < 0.001$）; B, correlation analysis between *ERBB2* expression and *CD274* expression; C, correlation analysis between *ERBB2* expression and *CTLA4* expression. *ERBB2*, Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2; TPM, transcripts per million.

图 5 *ERBB2* 表达与免疫检查点分子的相关分析

Figure 5 Correlation analysis between *ERBB2* expression and immune checkpoint molecules

3　讨论

ERBB2 是表皮生长因子受体家族的重要成员,在乳腺癌等多种实体肿瘤中已被证实具有明确的生物学作用及靶向治疗价值。近年来,*ERBB2* 在 BLCA 中的潜在意义逐渐受到关注,相关研究提示 *HER2/ERBB2* 表达异常可能与 BLCA 的临床病理特征、肿瘤进展、分子背景、预后及治疗反应有关[8-10]。本研究基于 TCGA-BLCA 队列,结合 HPA 数据库 IHC 及 RT-qPCR 验证,系统分析了 *ERBB2* 在 BLCA 中的表达变化、临床意义、预后价值及相关分子机制。

本研究发现,*ERBB2* 在 BLCA 肿瘤组织中的表达水平显著高于正常膀胱组织。HPA 数据库 IHC 结果显示,*ERBB2* 在 BLCA 肿瘤组织中呈较强阳性染色,RT-qPCR 结果进一步验证了 BLCA 肿瘤组织中 *ERBB2* mRNA 表达升高。既往基于 BLCA 临床样本的研究也显示,*HER2/ERBB2* 在部分 BLCA 患者中存在过表达或表达增强,并可能与肿瘤临床病理特征相关[11-12]。上述结果从转录组、蛋白水平及实验验证三个层面共同支持 *ERBB2* 在 BLCA 中的上调表达特征。需要注意的是,正常膀胱尿路上皮中 *ERBB2* 并非完全不表达,HPA 结果也提示其可呈弱至中等染色,因此,本研究更倾向于将其解释为“肿瘤组织中表达增强”而非“正常组织完全阴性”,这一表述也更符合 IHC 结果及 BLCA 肿瘤组织异质性的实际情况。

临床相关性分析显示,*ERBB2* 表达与 AJCC 病理分期存在一定关联,提示其可能与 BLCA 进展过程有关。既往研究报道 *HER2* 表达与 BLCA 临床分期、肿瘤侵袭性、不良临床特征或代谢特征存在相关性[13]。本研究组间比较进一步显示,部分临床分期间 *ERBB2* 表达存在差异,说明 *ERBB2* 表达变化可能参与肿瘤进展或反映不同阶段肿瘤的分子特征。然而,在肿瘤分级方面,*ERBB2* 在低级别与高级别肿瘤之间的差异未达到统计学意义,这可能与低级别样本数量有限、TCGA 队列样本构成不均衡以及 BLCA 本身分子异质性较强有关。因此,*ERBB2* 更适合作为反映肿瘤分子状态和进展相关特征的候选指标,而其与分级之间的关系仍需更大样本队列进行进一步验证。

本研究还评估了 *ERBB2* 对肿瘤组织与正常组织的区分能力。ROC 分析显示 *ERBB2* 具有一定的组织区分能力,但 AUC 仍处于中等水平,提示单独依赖 *ERBB2* 作为诊断标志物的效能有限。近年来,针对 *HER2* 表达状态的研究逐渐从单一病理指标扩展至多模态预测模型,例如结合临床病理特征、影像组学特征或分子检测结果预测 *HER2* 表达状态[14]。考虑到 BLCA 的发生和发展受到多基因、多通路共同调控,单一基因通常难以满足临床诊断需求。因此,*ERBB2* 未来更适合与其他分子标志物、临床病理因素或影像学指标联合构建综合预测模型,而不是作为独立诊断指标单独应用。

在预后分析方面,本研究分别采用中位数分组和最佳截断值分组进行 Kaplan-Meier 生存分析,并进一步将 *ERBB2* 作为连续变量纳入 Cox 回归模型。结果显示,无论采用中位数分组还是最佳截断值分组,*ERBB2* 高表达组和低表达组总体生存差异均未达到统计学意义;单因素及多因素 Cox 分析亦提示 *ERBB2* 并非总体生存的独立预测因素。既往关于 *HER2/ERBB2* 与 BLCA 预后的研究结果并不完全一致。有研究提示 *HER2* 表达与临床结局相关,也有研究认为其预后价值受检测方法、评分标准、肿瘤分期、治疗方式及队列组成影响较大[15]。因此,本研究结果说明,*ERBB2* 虽然在 BLCA 肿瘤组织中上调,并与部分临床特征相关,但其对总体生存结局的独立预测价值有限。

功能富集分析进一步为 *ERBB2* 相关生物学作用提供了线索。差异表达分析显示,*ERBB2* 在高表达组和低表达组之间存在较多差异基因。KEGG 富集结果提示,这些差异基因主要涉及细胞因子与受体相互作用、IL-17 信号通路、PI3K/AKT 信号通路、JAK-STAT 信号通路、趋化因子信号通路、NF-κB 信号通路及 T 细胞受体信号通路等。GO 分析也显示差异基因主要参与炎症反应、免疫反应、细胞因子介导的信号通路、细胞趋化、细胞外基质组织、白细胞迁移及血管生成等过程。既往研究显示,*ERBB2* 高表达或低表达状态与 BLCA 不同基因组特征及分子背景相关,*HER2* 表达也可能与代谢重编程和肿瘤生物学行为相关[16]。上述结果提示,*ERBB2* 相关转录组改变不仅涉及肿瘤细胞增殖和信号转导,也与免疫炎症反应及肿瘤微环境重塑密切相关。

值得注意的是,本研究进一步发现 *ERBB2* 高表达组中多种免疫检查点分子表达升高,包括 *CD274*、*PDCD1*、*CTLA4*、*LAG3*、*TIGIT* 及 *HAVCR2*。相关性分析也显示,*ERBB2* 表达与 *CD274* 和 *CTLA4* 呈显著正相关。与前文“负相关”的表述相比,当前结果更支持 *ERBB2* 高表达肿瘤可能伴随免疫检查点表达增强的特征。既往研究表明,*HER2* 与 *PD-L1* 在 BLCA 中可存在共同表达或临床病理关联,提示 HER2 相关分子状态可能与免疫微环境存在一定联系[17]。

因此,*ERBB2* 与免疫检查点分子的正相关关系可能反映了 *ERBB2* 相关肿瘤微环境中存在更活跃的免疫炎症状态,也可能提示肿瘤在免疫激活背景下通过上调免疫检查点分子形成免疫逃逸。

近年来,HER2 靶向抗体偶联药物在 BLCA 中的应用不断拓展。多项临床和真实世界研究显示,HER2 靶向抗体偶联药物,尤其是维迪西妥单抗(disitamab vedotin,RC48)单药或联合 PD-1 抑制剂,在局部晚期或转移性 BLCA 中显示出一定抗肿瘤活性[18]。同时,HER2 靶向药物敏感性的决定因素可能不仅取决于 HER2 的蛋白表达水平,还与 *ERBB2* 扩增、突变状态、肿瘤分子背景及模型异质性有关[19]。因此,本研究关于 *ERBB2* 表达与免疫检查点分子相关性的结果,提示 *ERBB2* 可能不仅是潜在靶向治疗标志物,也可能参与 BLCA 免疫治疗分层及联合治疗策略的构建。

本研究仍存在一定局限性。首先,本研究主要基于 TCGA-BLCA 队列进行回顾性生物信息学分析,样本来源和数据结构相对单一,研究结果仍需在更大规模、多中心独立队列中进一步验证。其次,本研究主要从转录组水平分析 *ERBB2* 的表达特征及其临床意义,虽然结合 HPA 数据库 IHC 图像和少量 RT-qPCR 实验进行了初步验证,但蛋白表达水平、*ERBB2* 扩增或突变状态以及标准化 HER2 病理评分仍未得到系统评估。第三,本研究发现 *ERBB2* 表达与免疫检查点分子表达及相关炎症免疫通路存在相关性,但该结果主要来源于表达相关性分析,尚不能证明 *ERBB2* 对 BLCA 免疫微环境具有直接调控作用。后续仍需结合临床组织样本、IHC 评分、空间转录组、单细胞测序及体内外功能实验,进一步验证 *ERBB2*/*HER2* 在 BLCA 进展、免疫调控及靶向治疗反应中的作用机制。

综上所述,本研究基于 TCGA-BLCA 队列系统分析了 *ERBB2*/*HER2* 在 BLCA 中的表达特征、临床相关性、预后价值及潜在分子机制。结果显示,*ERBB2* 在 BLCA 肿瘤组织中表达升高,并与 AJCC 病理分期及多种免疫检查点相关基因表达增强有关;功能富集分析提示其相关差异基因主要涉及炎症免疫反应、细胞因子信号、PI3K/AKT 通路及肿瘤微环境重塑等过程。然而,*ERBB2* 对总体生存的独立预测价值有限,单独作为预后标志物的效能不足。总体而言,*ERBB2*/*HER2* 作为反映 BLCA 分子特征及免疫微环境状态的候选指标,可能为 *HER2* 靶向治疗及联合免疫治疗策略提供一定的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明 郑光玮:提出研究思路;杜依青:设计研究方案;彭云:收集、分析、整理数据;郑光玮:撰写论文;徐涛:总体把关和审定论文。所有作者均参与论文修改,并对最终文稿进行审读和确认。

参考文献

[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.
[2] Powles T, Bellmunt J, Comperat E, et al. Bladder cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up[J]. Ann Oncol, 2022, 33(3): 244-258.
[3] Moasser MM. The oncogene HER2: Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis[J]. Oncogene, 2007, 26(45): 6469-6487.
[4] Swain SM, Shastry M, Hamilton E. Targeting HER2-positive breast cancer: Advances and future directions[J]. Nat Rev Drug Discov, 2023, 22(2): 101-126.
[5] Zhou L, Shao Z, Liu Y, et al. HER2 expression associated with clinical characteristics and prognosis of urothelial carcinoma in a Chinese population[J]. Oncologist, 2023, 28(8): e617-e624.
[6] Bai X, He W, Yin H, et al. Prognostic significance of HER2 status evaluation using immunohistochemistry in patients with urothelial carcinoma of the bladder: A retrospective single-center experience[J]. Exp Ther Med, 2022, 24(5): 704.
[7] Tan X, Li M, Chen Q, et al. Prognostic significance of HER2 expression in patients with bladder cancer: A multicenter observational study[J]. Eur Urol Oncol, 2024, 7(3): 456-463.
[8] Sami MM, Khalil HB, Elbasateeny SS, et al. Expression of epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor 2 in urothelial bladder carcinoma in an Egyptian cohort: clinical implication and prognostic significance[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2023, 31(1): 37-45.
[9] Maiorano BA, Di Maio M, Cerbone L, et al. Significance of PD-L1 in metastatic urothelial carcinoma treated with immune checkpoint inhibitors: A systematic review and meta-analysis[J]. JAMA Netw Open, 2024, 7(3): e241215.
[10] Hadadi A, Krause HB, Elliott A, et al. The genomic landscape of urothelial carcinoma with high and low ERBB2 expression[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(24): 5721.
[11] Kim D, Kim JM, Kim JS, et al. Differential expression and clinicopathological significance of HER2, indoleamine 2, 3-dioxygenase and PD-L1 in urothelial carcinoma of the bladder[J]. J Clin Med, 2020, 9(5): 1265.
[12] Guo A, Wu C, Cao J, et al. Clinical significance of HER2 in urothelial carcinoma and analysis of its correlation with glycolytic metabolic characteristics[J]. Front Mol Biosci, 2024, 11: 1521889.
[13] Li P, Ni P, Haines GK, et al. Expression and clinicopathologic significance of HER2 and PD-L1 in high grade urothelial carcinoma of the urinary tract[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2024, 17(8): 236-244.
[14] Zhuang J, Chen Y, Zheng W, et al. Prediction of HER2 expression in urothelial carcinoma of the bladder: Are ultrasound-based radiomic features significant?[J]. Ultrasound Med Biol, 2026, 52(1): 190-200.
[15] Zhao J, Xu W, Zhang Z, et al. Prognostic role of HER2 expression in bladder cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. Int Urol Nephrol, 2015, 47(1): 87-94.
[16] Zhu K, Chang Y, Zhao D, et al. Expression of HER2 in high-grade urothelial carcinoma based on Chinese expert consensus and the clinical effects of disitamab vedotin-tislelizumab combination therapy in the treatment of advanced patients[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1355081.
[17] Wei Y, Zhang R, Yu C, et al. Disitamab vedotin in combination with immune checkpoint inhibitors for locally and locally advanced bladder urothelial carcinoma: A two-center's real-world study[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1230395.
[18] Ge H, Liu C, Shen C, et al. The effectiveness and safety of RC48 alone or in combination with PD-1 inhibitors for locally advanced or metastatic urothelial carcinoma: A multicenter, real-world study[J]. J Transl Med, 2025, 23(1): 243.
[19] Chen Z, Tang X, Eichholz JE, et al. Determinants of sensitivity to HER2-targeted antibody drug conjugates in urothelial cancer[J]. Nat Commun, 2026, 17(1): 919.

(2026-03-02 收稿)
(本文编辑:赵 波)