

EGFR 蛋白在人胃癌组织中的表达及其临床价值

陈 斌,罗荣城,陈健鹏,陈晓华

Expression of EGFR Protein in Human Gastric Cancer and Its Clinical Value

CHEN Bin, LUO Rong-cheng, CHEN Jian-Peng, CHEN Xiao-Hua

Department of Oncology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Corresponding Author: LUO Rong-cheng, E-mail: lrc@nfhoc.com

Abstract: **Objective** To investigate the expression of EGFR in gastric cancer and its relationship with clinical pathologic characters, analyze the relationship between EGFR expression and survival time of gastric cancer, and discuss the feasibility of EGFR as prognostic markers and molecular target. **Methods** The expression of EGFR in gastric cancer was studied by immunohistochemical technique with its relation to follow-up data. We analyzed its detect outcome with clinical pathologic characters. **Results** The 44 of 103 gastric cancer specimens (42.7%) were positive for EGFR, and the expression of EGFR was not found in gastric normal tissue; Their expression was not correlated with sex, age, size and site of tumor and degree of differentiation ($P > 0.05$). The positive expression rates of EGFR was related to the depth of invasion, clinical stage, lymph node and distant metastasis of gastric cancer patients ($P < 0.05$); Median survival time of patients with EGFR positive is 11.0 months. Median survival time of patients with EGFR negative is 65.2 months. There is statistical significance between median survival period of patients with EGFR positive and negative ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of EGFR was closely related to invasion, metastasis and prognosis of gastric cancer, and it could be used to evaluate the biological behaviors and prognosis of gastric cancer. High positive rate of EGFR expression in gastric cancer, provide a theoretical basis for application of molecular targeted drugs, such as IMC-C225, ZD1839 and OSI774.

Key words: Gastric cancer; EGFR; Prognosis; Molecular targeted therapy

摘要: **目的** 研究表皮生长因子受体蛋白(EGFR)在胃癌中的表达及其与各临床病理特征之间的关系,回顾性分析 EGFR 蛋白表达与胃癌患者生存期的关系,探讨其成为胃癌预后指标和分子靶向治疗靶点的可行性。**方法** 应用免疫组织化学方法检测具有随访资料的 103 例胃癌标本中 EGFR 蛋白的表达,并将检测结果与临床病理特征进行综合分析。**结果** 103 例胃癌组织中 EGFR 蛋白的阳性表达率为 42.7% (44/103),在胃正常组织中无表达; EGFR 蛋白表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位、分化程度均无相关性 ($P > 0.05$),而与肿瘤的浸润深度、病理分期、淋巴结转移、远处转移相关 ($P < 0.05$); EGFR 蛋白表达阳性患者中位生存时间为 11.0 个月,表达阴性患者中位生存时间为 65.2 个月,阳性表达患者与阴性表达患者生存时间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** EGFR 与胃癌的浸润、转移及预后密切相关,可作为判断胃癌生物学行为和预后的重要参考指标; EGFR 在胃癌组织中的阳性表达率较高,为 IMC-C225、ZD1839、OSI774 等分子靶向治疗药物在胃癌的应用提供了理论依据。

关键词: 胃癌; EGFR; 预后; 分子靶向治疗

中图分类号: R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2008)02-0113-03

0 引言

在肿瘤基因水平上寻找新的预后指标并开展靶向治疗已成为目前肿瘤研究的热点之一。近年来随着对肿瘤生物学研究的不断深入,新的分子靶向治疗药物也不断出现。本研究应用免疫组化的方法检测并分析表皮生长因子受体(epidermal growth fac-

tor receptor, EGFR) 蛋白在 103 例胃癌组织与 20 例胃正常组织中的表达,探讨其与临床病理参数和预后的关系及其临床应用价值,为胃癌的临床诊断、预后判断和分子靶向治疗提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

对 2000 年 1 月~2004 年 1 月在我院手术切除并经病理确诊为胃癌(包括乳头状腺癌、管状腺癌、黏液腺癌、印戒细胞癌)的 225 例患者进行随访,随访截止时间为 2006 年 1 月,随访时间为 2~6 年。将有随访

收稿日期: 2007-03-05; 修回日期: 2007-07-10

基金项目: 广东省自然科学基金重点项目(2004037050)

作者单位: 510515 广州, 南方医科大学南方医院肿瘤科

通讯作者: 罗荣城, E-mail: lrc@nfhoc.com

作者简介: 陈斌(1979-), 男, 博士在读, 主治医师, 主要从事肿瘤分子诊断与分子靶向治疗研究

结果且资料完整(有完整原癌病灶、淋巴结和癌旁组织)的 103 例胃癌组织作为实验组,103 例胃癌患者的正常切缘组织中随机抽取 20 例作为对照组。实验组中男性 67 例,女性 36 例;年龄 31~78 岁,平均(57.97 \pm 12.28)岁。对照组中男性 13 例,女性 7 例,年龄 32~72 岁,平均年龄为(57.95 \pm 11.83)岁。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 试剂 购自福州迈新生物技术开发公司,一抗为 MAB-0196 Monoclonal Antibody Anti-Human EGFR (克隆号 EGFR/113,批号 50929196A3)。试剂盒选用即用型免疫组化(IHC)二步法 EliVision™ 广谱染色试剂盒。

1.2.2 仪器 石蜡切片机(SHANDON AS325);显微镜(OL YMPUS BX40);电热恒温干燥箱(56~65,上海跃进医疗器械一厂,标准号:ZB Y149-83,型号:GZX-DH-50 \times 55);微波炉(WHIRLPOOL VIP202S 850W)。

1.3 方法

免疫组化(EliVision™ 二步法),具体操作步骤如下:(1) 65 烤片 2~4 h;(2) 石蜡切片脱蜡至水;(3) 蒸馏水冲洗 2 min; 抗原修复:本实验用法为浸泡于枸橼酸盐缓冲液(PH 6.0)中,在功率 850 W 的微波炉中加热 11 min,放至室温后用蒸馏水冲洗 2 min;(5) 浸泡于 3% H₂O₂ 中,在功率 350 W 的微波炉中加热 2 min 30 s,以消除内源性过氧化物酶的活性;(6) 蒸馏水冲洗 2 min;(7) PBS 冲洗,2 min \times 3 次;(8) 滴加适当比例稀释的一抗或一抗工作液,37 孵育 1 h;(9) PBS 冲洗,2 min \times 3 次;(10) 滴加试剂 1(polymer helper),37 孵育 20 min;(11) PBS 冲洗,2 min \times 3 次;(12) 滴加试剂 2(poly peroxidase-anti-mouse/rabbit IgG),37 孵育 30 min;(13) PBS 冲洗,2 min \times 3 次;(14) DAB 显色 5 min;(15) 自来水充分冲洗,复染;(16) 脱水,透明,封片。

1.4 结果判断

每批实验设阳性和阴性对照。EGFR 阴性:细胞膜无棕黄色颗粒样沉淀;阳性:细胞膜有棕黄色颗粒样沉淀。染色分级:整张切片无一个阳性细胞(-);阳性细胞数<10%(+);阳性细胞数 10%~

50%(++),阳性细胞数>50%(+++)。

1.5 统计学方法

采用²检验和 Fisher's 精确概率法,生存期分析采用 Life-tables 法,生存期曲线显著性的比较用 Wilcoxon(Gehan)法。

2 结果

2.1 EGFR 蛋白在胃癌中的表达特点

EGFR 阳性反应物质主要位于胞膜,少部分位于胞浆,其表达呈明显的异质性。EGFR 在 20 例胃正常组织中均无表达。103 例胃癌组织中 EGFR 阳性表达率为 42.7%(44/103),见图 1。

2.2 EGFR 蛋白表达与胃癌临床病理特征间的关系

EGFR 蛋白表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位、分化程度差异均无统计学意义($P>0.05$),与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、远处转移及临床分期相关($P<0.05$),见表 1。

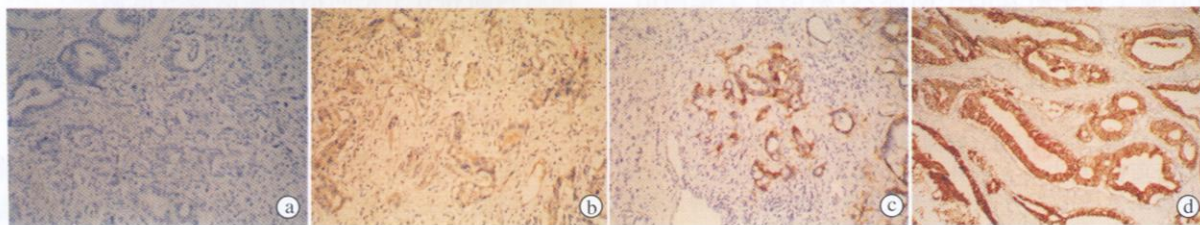
2.3 胃癌 EGFR 蛋白表达与生存时间的关系

EGFR 蛋白表达阳性患者中位生存时间为 11.0 个月,阴性患者中位生存时间为 65.2 个月;EGFR 蛋白表达阳性患者与阴性患者生存时间差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2。

3 讨论

表皮生长因子受体(EGFR)属于酪氨酸激酶型受体家族,其家族包括 EGFR、HER1、HER2、HER3、HER4 四种同源受体。EGFR 高表达可促进肿瘤细胞的增殖、血管生成、粘附、侵袭和转移,抑制肿瘤细胞的凋亡^[1]。

本实验中 EGFR 蛋白在 103 例胃癌中的表达率为 42.7%,而在胃正常组织中未见表达,可作为胃癌诊断的重要参考指标,与刘正新^[2]等的研究结果相一致。我们还发现,EGFR 表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、生长部位、细胞分化程度无相关性($P>0.05$)。在侵及浆膜层的胃癌中,EGFR 的阳性表达率显著高于未侵及浆膜层者($P<0.05$),伴有淋巴结转移及远处转移的胃癌中 EGFR 阳性表达率高于未发生淋巴结转移和远处转移者($P<$



a: 中分化腺癌,EGFR 表达(-);b: 中分化腺癌,EGFR 表达(+);c: 中分化腺癌,EGFR 表达(++);d: 高分化腺癌,EGFR 表达(+++)

图 1 EGFR 在胃癌中的表达(EV 法, $\times 200$)

表 1 EGFR 表达与胃癌临床病理特征间的关系

临床病理参数	n	EGFR		P
		阳性	%	
性别				
男性	67	26	38.8	> 0.05
女性	36	18	50.0	
年龄				
> 60 岁	49	19	38.8	> 0.05
≤ 60 岁	54	25	46.3	
肿瘤大小				
> 5 cm	65	30	46.2	> 0.05
≤ 5 cm	38	14	36.8	
部位				
上部(贲门 3 胃底)	39	16	41.0	> 0.05
中部(胃体)	28	13	46.4	
下部(胃窦 3 幽门)	36	15	41.7	
分化程度				
高分化	26	9	34.7	> 0.05
中分化	31	14	45.2	
低分化/未分化	46	21	45.7	
浸润深度				
未浸及浆膜层	25	6	24.0	< 0.05
浸及浆膜层	78	38	48.7	
淋巴结转移				
无	39	10	25.7	< 0.05
有	64	34	53.1	
远处转移				
无	95	37	38.9	< 0.05
有	8	7	87.5	
TNM 分期				
+	48	14	29.2	< 0.05
+	55	30	54.4	

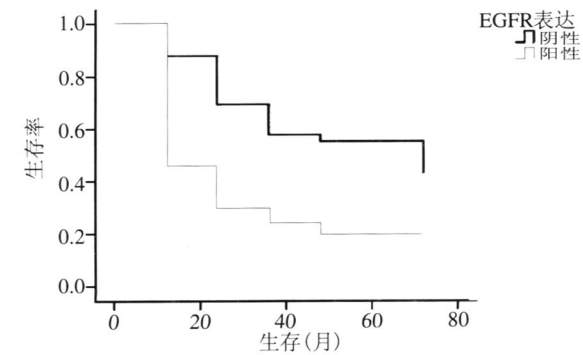


图 2 胃癌 EGFR 蛋白表达与生存时间的关系

0.05),临床分期为 期和 期胃癌的 EGFR 阳性表达率高于临床分期 期和 期胃癌($P < 0.05$),表明 EGFR 阳性表达的胃癌局部侵袭性更大,EGFR 被激活并参与胃癌的浸润及淋巴转移,而随着肿瘤的浸润、转移能力的增强和病情的进展,EGFR 表达也增强;孙学军^[3]等人研究表明,EGFR 表达阳性的胃癌患者预后差,术后生存期短于阴性者,本研究结果与之相一致。

EGFR 作为治疗靶点的前景被普遍看好。近年

来,国外多个实验室和研究机构对近百种抗 EGFR 药物的抗癌作用进行了研究,有的药物已进入临床应用,这在肺癌的研究中较为深入。ZD1839 (Gefitinib),即吉非替尼,是一种口服表皮生长因子受体 - 酪氨酸激酶(EGFR - TK)拮抗剂,属小分子化合物,主要用于治疗非小细胞肺癌,对乳腺癌、前列腺癌及头颈部肿瘤等也证实有效;OSI-774 也是一种表皮生长因子受体 - 酪氨酸激酶拮抗剂,属小分子化合物,主要用于治疗晚期非小细胞肺癌;IMC-C225 (cetuximab)是目前临床上最为先进的抗 EGFR 人鼠嵌合单克隆抗体,抗肿瘤细胞增殖机制为抑制 EGFR 表达阳性的癌细胞 CDK2 的活性,并伴有 cyclinA、cyclinE 相关的组蛋白 H₁ 激酶活性的明显下降,同时上调细胞周期抑制剂 p27^{KIP1} 的 mRNA 表达,形成 p27^{KIP1}-CDK2 复合体抑制剂,诱导细胞在 G₁ 期停滞,从而抑制癌细胞的增殖。IMC-C225 与放疗联合应用时,许多预后较差的晚期肿瘤取得了完全缓解。目前有关 IMC-C225 治疗晚期胃癌的临床实验正在进行中^[4-9]。

EGFR 在胃癌的浸润、促进淋巴结转移及远处转移的过程中起着非常重要的作用。本研究结果表明 EGFR 在胃癌中有较高的阳性表达率,为 IMC-C225、ZD1839、OSI-774 等分子靶向药物在胃癌综合治疗中的运用提供了理论依据。

参考文献:

[1] Tamas P,Solti Z,Bauer P,et al. Mechanism of epidermal growth factor regulation of Vav2,a guanine nucleotide exchange factor for Rac[J].J Biol Chem,2003,278(2):5163-5171.

[2] 刘正新,陈宝雯,杨贵彬,等. PCNA、EGFR、TGF R 和 TGF R 在胃癌组织中表达的临床意义[J]. 中国肿瘤临床,2005,32(7):378-379.

[3] 孙学军,王荣,许延发,等. 胃癌中表皮生长因子受体表达的临床研究[J]. 医师进修杂志,1998,21(11):576-577.

[4] 罗荣城,韩焕兴. 肿瘤生物治疗学[M]. 第 1 版. 北京:人民卫生出版社,2006. 857-859.

[5] Herbst RS. Dose-comparative monotherapy trials of ZD1839 in previously treated non-small cell lung cancer patients[J]. Semin Oncol,2003,30(1):30-38.

[6] Morris C. The role of EGFR-directed therapy in the treatment of breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat,2002,75(1):557-579.

[7] Ritter CA,Arteaga CL. The epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase:a promising therapeutic target in solid tumors[J]. Semin Oncol,2003,30(1):3-11.

[8] Huang ZQ,Buchsbaum DJ,Raisch KP,et al. Differential responses by pancreatic carcinoma cell lines to prolonged exposure to Erbitux (IMC-C225) anti-EGFR antibody[J]. J Surg Res,2003,111(2):274-283.

[9] Blackledge G,Averbuch S. Gefitinib(Iressa,ZD1839) and new epidermal growth factor receptor inhibitors[J]. Br J Cancer,2004,90(3):566-572.

[编辑:周永红;校对:贺文]