



胃癌HER-2/neu基因表达与预后的相关性

胃癌的发生发展是一个多因素、多阶段的复杂过程,涉及到多个基因和多种分子水平变化,故在肿瘤基因水平上寻找新的预后指标是目前肿瘤研究的重点。本研究应用免疫组织化学方法,检测了胃癌中人表皮生长因子受体(HER)-2/neu基因的表达,旨在探讨其与胃癌的临床病理和预后的关系,报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

对2000年1月至2004年1月在我院手术切除并经病理确诊为胃腺癌(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)。将有随访结果和资料完整(有完整原癌病灶、淋巴结和癌旁组织)的103例胃腺癌患者资料作为实验组,另选取20例胃良性病变作为对照组。实验组中男性67例、女性36例,年龄31~78岁,平均(57.97±12.28)岁,临床分期I期+II期47例、III+IV期56例。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 试剂 试剂购自福州迈新生物技术开发公司,一抗为MBI RMA-0555 Rabbit Monoclonal anti-C-erbB-2(克隆号SP3,批号50909555C1)。试剂盒选用即用型免疫组化(IHC)两步法EliVision™染色试剂盒。

1.2.2 仪器 石蜡切片机(SHANDON AS325);显微镜(OLYMPUS BX40);电热恒温干燥箱(56℃~65℃,上海跃进医疗器械一厂,标准号:ZBY149-83,型号:GZX-DH-50×55);微波炉(WHIRLPOOL VIP202S 850W)。

1.3 方法

免疫组化(EliVision™两步法):65℃烤片2~4h;石蜡切片脱蜡至水;蒸馏水冲洗;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850W的微波炉中加热11min,放至室温后用蒸馏水冲洗2min;3%H₂O₂中在功率350W的微波炉中加热2min 30s,以消除内源性过氧化物酶的活性;蒸馏水冲洗2min,PBS冲洗2min×3次;滴加适当比例稀释的一抗或一抗工作液,37℃孵育1h;PBS冲洗,2min×3次;滴加试剂1(polymer helper),37℃孵育20min;PBS冲洗,2min×3次;滴加试剂2(poly peroxidase-anti-mouse/rabbit, IgG),37℃孵育30min,PBS冲洗,2min×3次;DAB显色5min;自来水充分冲洗,复染,脱水透明,封片。

1.4 结果判断

每批实验设阳性和阴性对照。HER-2/neu蛋白阳性:细胞膜及细胞质呈棕黄色。阴性:细胞膜及细胞质无棕黄色颗粒样沉淀。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 统计学处理

2 结果

2.1 HER-2/neu基因在胃腺癌组织中的表达特点

HER-2/neu基因主要表达于细胞膜及细胞质, HER-2/neu基因在胃良性病变和癌旁组织中均无表达。103例胃癌组织中32例表达阳性(阳性率31.1%), 其中(+)8例(7.8%)、(++)9例(8.7%)、(+++)15例(14.6%), 见图1~4。

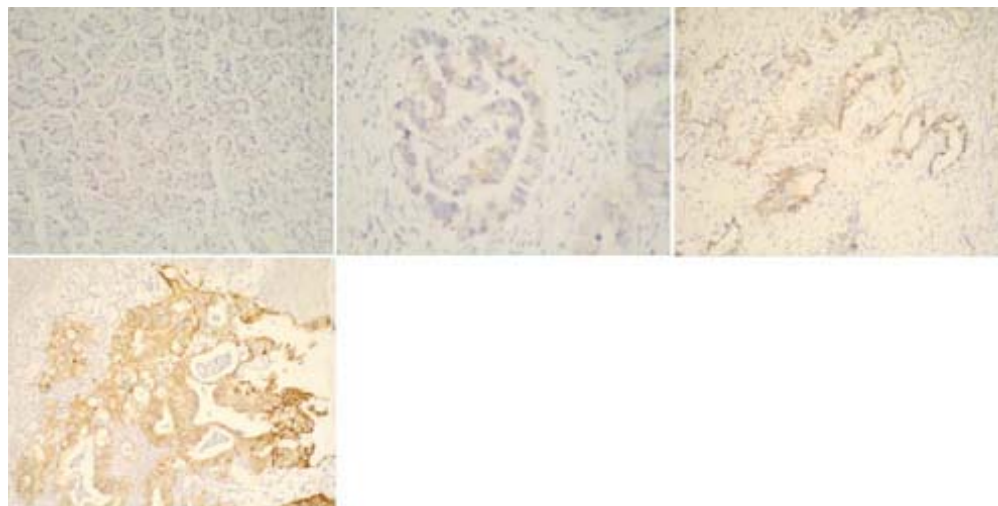


图 1 各组胃粘膜的免疫组化染色

Fig.1 Immunohistochemical staining for HER-2/neu of the gastric mucosa of different subjects

A: Negative HER-2/neu expression in normal gastric mucosa (Original magnification: $\times 200$);

B: Weakly positive HER-2/neu expression in the gastric mucosa of a patient with well differentiated adenocarcinoma (Original magnification: $\times 400$); C: Positive HER-2/neu

expression in the gastric mucosa of a patient with well differentiated adenocarcinoma (Original magnification: $\times 200$); D: Strong positive HER-2/neu expression in the gastric mucosa of patient with moderately differentiated adenocarcinoma (Original magnification: $\times 200$)

2.2 HER-2/neu基因与临床病理特征间的关系

HER-2/neu基因表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位、分化程度均无相关性($P>0.05$), 与肿瘤浸润深度、临床分期、有无淋巴结转移和远处转移密切相关($P<0.05$, 表1)

2.3 胃癌HER-2/neu基因表达与生存时间的关系

HER-2/neu表达阳性者的中位生存时间为10.1个月, 显著低于阴性者64.5个月的生存时间 ($P<0.05$, 表2)。

3 讨论

癌基因HER-2/neu又称c-erbB-2或Her-2 基因, 定位于人染色体17q21, 编码一种相对分子质量为185000的跨膜蛋白, 结构与表皮生长因子受体(EGFR)相似, 其胞质区具有酪氨酸蛋白激酶(TPK) 活性。HER-

2/neu在正常情况下处于非激活状态,与其特异性配体结合后可调节细胞的分裂、分化和增殖。当HER-2/neu受到某些致癌因素的作用后,其结构或表达失控而被激活,转而具有肿瘤转化活性,可促使细胞发生恶性转化[1]。目前大量的研究发现,在多种恶性肿瘤中存在HER-2/neu基因的异常扩增及p185的过度表达,并且与其预后不良有关。人们已经证实(20~40)%的乳腺癌中存在HER-2/neu基因的扩增及过度表达,并认为HER-2/neu基因表达是乳腺癌独立的预后因素[2]。另外,HER-2/neu基因在卵巢癌、结直肠癌、肺癌、胃癌等肿瘤中也均有不同程度的表达,对这些肿瘤的诊断、治疗及预后估计均很有意义[3][4][5][6]。因此,检测肿瘤组织中过度表达的HER-2/neu基因蛋白产物,有助于从蛋白水平认识肿瘤的本质。

HER-2/neu基因在本实验组103例胃癌中的表达率为31.1%,与李敏[7]等报道相近,而在胃良性病变及癌旁组织中均未见阳性表达,表明胃粘膜上皮细胞一旦发生癌变后即可有HER-2/neu基因的表达,提示HER-2/neu基因在胃粘膜的表达是胃癌发生的晚期事件,是胃粘膜上皮细胞发生恶变的标志,可作为胃癌诊断和预后的参考指标,与Oya[8]等的研究结果相一致。

本研究中,HER-2/neu基因表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位无相关性($P>0.05$),说明癌基因HER-2/neu在胃癌中的表达无性别、年龄及生长部位的差异;随着原发肿瘤直径的增大,HER-2/neu的表达率也未见明显的变化($P>0.05$),进一步证明了胃粘膜上皮一旦发生癌变,即可有稳定的HER-2/neu表达;在不同细胞分化程度的胃癌中,HER-2/neu的阳性率亦无明显差异($P>0.05$),揭示了HER-2/neu的表达与胃癌的细胞分化程度无明显的关系;而在侵及浆膜层的胃癌中,HER-2/neu的阳性表达率显著高于未侵及浆膜层者($P<0.05$),提示HER-2/neu阳性表达的胃癌的局部侵袭性更大;伴有淋巴结转移及远处转移的胃癌中HER-2/neu阳性表达率显著高于未发生淋巴结转移和远处转移者($P<0.05$),这表明HER-2/neu基因在淋巴结转移及远处转移过程中被激活并可能参与胃癌的浸润及淋巴转移机制;临床分期III期和IV期胃癌的HER-2/neu阳性表达率显著高于临床分期I期和II期胃癌($P<0.05$),证明随着肿瘤的浸润、转移能力的增强,HER-2/neu基因表达也增强,从而进一步促进了肿瘤的浸润及转移,加速了病情的进展;李宁[9]等人研究表明,HER-2/neu阳性患者预后差,术后生存期明显短于阴性者,本研究结果与之基本一致,HER-2/neu表达阳性者中位生存时间为10.1月,明显低于阴性者64.5月的生存时间($P<0.05$)。总之,HER-2/neu基因在胃癌向中晚期发展、向深部组织浸润、发生淋巴结转移及远处转移的过程中起着非常重要的作用,此结果与多数研究者所报道的基本相同[10][11][12]。

表1 *HER-2/neu* 基因表达与胃癌临床病理特征间的关系Tab.1 Relationship between *HER-2/neu* expression and clinicopathologic features in the patients with gastric cancer

Clinicopathologic data	<i>n</i>	<i>HER-2/neu</i>		<i>P</i> value
		Pos	%	
Sex				
Male	67	17	25.4	<i>P</i> >0.05
Female	36	15	41.7	
Age				
> 60	51	14	27.5	<i>P</i> >0.05
≤60	52	18	34.6	
Diameter of the tumor				
> 5 cm	65	23	35.4	<i>P</i> >0.05
≤5 cm	38	9	23.7	
Position				
Cardia of stomach / Fundus of stomach	39	12	30.8	<i>P</i> >0.05
Body of stomach	28	7	25	
Sinus ventriculi / Ostium pyloricum	36	13	36.1	
Differentiation				
Well	26	8	30.8	<i>P</i> >0.05
Moderately	31	6	19.4	
Poorly/Undifferentiated	46	18	39.1	
Invasive depth				
Without placenta percreta infiltration	27	3	11.1	<i>P</i> >0.05
With placenta percreta infiltration	76	29	38.2	
Lymph node metastasis				
Negative	39	3	7.7	<i>P</i> <0.05
Positive	64	29	45.3	
Distant metastasis				
Negative	95	25	26.3	<i>P</i> <0.05
Positive	8	7	87.5	
TNM stage				
I + II	48	4	8.3	<i>P</i> <0.05
III + IV	55	28	50.9	

表 2 胃癌 *HER-2/neu* 基因表达与生存时间的关系Tab.2 Relationship of *HER-2/neu* expression and survival of the patients with gastric cancer

	Median survival time(month)	
HER-2/neu	negative	64.499
	positive	10.105

靶向治疗是目前肿瘤治疗的一个热点, *HER-2/neu* 靶向抗体 Herceptin 针对 *HER-2/neu* 高表达的乳腺癌治疗已得以使用并取得良好疗效。对于 Herceptin 在胃癌上的使用因为 *HER-2/neu* 在胃癌的表达实验结果不一, 故其在胃癌上的使用经验不多。Tanner [13] 等报道 Herceptin 对有 *HER-2/neu* 基因扩增的胃癌和乳腺癌细胞 (N87 和 SKBP-3) 都一样有抑制生长的作用; Safran [14] 等应用 Herceptin 与紫杉醇、顺铂及放疗联合治疗食管腺癌取得良好疗效; Reischung [15] 等证实 Herceptin 联合化疗对 *HER-2/neu* 基因过度表达的转移性胃癌有效。因此, 如果对 *HER-2/neu* 基因在胃癌发病中的作用机制及其产物 p185 蛋白的表达状况能得出肯定的结果, 则 *HER-2/neu* 靶向抗体 Herceptin 在胃癌中的使用的研究将会进一步深入。本研究结果表明 *HER-2/neu* 基因在胃癌中有较高的阳性表达率, 为 Herceptin 在胃癌的治疗提供了理论依据。

参考文献:

- [1] Schechter AL, Hung MC, Vaidyanathan L. The neu gene: an erbB- homologous gene distinct from and unlinked to the gene encoding the EGF receptor[J]. Science, 1985, 229 (4717): 976-8.
- [2] Sugano K, Ushiyama M, Fulentomi T, et al. Combined measurement of the c-erbB-2 protein in breast carcinoma tissues and sera is useful as a sensitive tumor marker for monitoring tumor relapse[J]. Int J Cancer, 2000, 20, 89(4): 329-36.
- [3] Stahl P, Kissau L, Mazitschek R, et al. Total synthesis and biological evaluation of the nakijiquinones [J]. Am Chem Soc, 2001, 123(47): 11586-93.
- [4] Potti A, Ganti AK, Koch M, et al. Identification of *HER-2/neu* overexpression and the clinical course of lung carcinoma in non-smokers with chronic lymphocytic leukemia[J]. Lung Cancer, 2001, 34(2): 227-32.
- [5] Delektorskaya VV, Perevoshchikov AG, Kushlinskii NE. Immunohistological study of NM 23 and C-erbB-2 expression in primary tumor and metastases of colorectal adenocarcinoma [J]. Bull Exp Biol Med, 2003, 135(5): 489-94.
- [6] Orr MS, O'Connor PM, Kohn KW. Effects of c-erbB-2 overexpression on the drug sensitivities of normal human mammary epithelial cells[J]. J Nat Cancer Inst, 2000, 92 (12): 987-94.
- [7] 李敏, 陈健, 蒋敏, 等. 胃癌组织中 c-erbB-2 和组织蛋白酶 D 的表达及其与胃癌生物学行为间的关系[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2002, 9(2): 108-11.
- [8] Li M, Chen J, Jiang M, et al. The expression of c-erbB-2 and cathepsin D in gastric carcinoma and its correlation to the biological behavior of gastric carcinoma[J]. Chin J Bases Clin Gen Surg, 2002, 9(2): 108-11.
- [8] Oya M, Yao T, Tsuneyoshi M. Expressions of cell cycle regulatory gene products in conventional gastric adenomas: possible immunohistochemical markers of malignant

transformation[J]. Hum Pathol, 2000, 31(3): 279-87.

[9] 李宁, 祝庆孚. C-erbB-2和P53基因产物增强表达与胃癌生物学行为和预后关系[J]. 中华外科杂志, 1994, 32(9): 558.

[10] Tokunaga A, Onda M, Okada T, et al. Clinical significance of epidermal growth factor (EGF), EGF receptor, and c-erbB-2 in human gastric cancer[J]. Cancer, 1995, 75(6): 1418-25.

[11] 毛亚伦, 陈少茂. 原癌基因C-erbB-2和增殖细胞核抗原PCNA与胃癌生物学行为间的关系[J]. 浙江临床医学杂志, 2002, 4(10): 726-7.

[12] Ross JS, McKenna BJ. The HER-2/ neu oncogene in tumors of the gastrointestinal tract[J]. Cancer Invest, 2001, 19(5): 554-68.

[13] Tanner M, Hollmen M, Junttila TT, et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab[J]. Ann Oncol, 2005, 16(2): 273-8.

[14] Safran H, DiPetrillo T, Nadeem A, et al. Trastuzumab, paclitaxel, cisplatin, and radiation for adenocarcinoma of the esophagus: a phase I study[J]. Cancer Invest, 2004, 22(5): 670-7.

[15] Rebischung C, Barnoud R, Stefani L, et al. The effectiveness of trastuzumab (Herceptin) combined with chemotherapy for gastric carcinoma with overexpression of the c-erbB-2 protein[J]. Gastric Cancer, 2005, 8(4): 249-52.