

胃癌 *HER-2/neu* 基因表达与预后的相关性

陈斌, 罗荣城, 崔斐, 钱新宇 (南方医科大学南方医院肿瘤中心, 广东 广州 510515)

摘要:目的 研究胃癌人表皮生长因子受体(*HER*)-2/*neu* 基因的表达与生存期的关系, 探讨其作为胃癌预后指标的可行性。方法 应用免疫组织化学方法检测 103 例胃癌标本 *HER-2/neu* 基因的表达, 并将检测结果与患者的随访资料及临床病理参数进行综合分析。结果 103 例胃癌组织中 *HER-2/neu* 基因的阳性表达率为 31.1% (32/103); *HER-2/neu* 基因在胃良性病变和癌旁组织中均无表达; *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 ($P>0.05$), 而与肿瘤的浸润深度、临床分期、淋巴结转移、远处转移及患者的生存时间相关 ($P<0.05$)。结论 *HER-2/neu* 基因与胃癌的浸润、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。

关键词: 胃癌, 预后 *HER-2/neu* 基因; 免疫组织化学

中图分类号: R-33 文献标识码: A 文章编号: 1673-4254(2006)03-0344-04

Association of *HER-2/neu* expression with prognosis of gastric cancer

CHEN Bin, LUO Rong-cheng, Cui Fei, QIAN Xin-yu

Oncology Center, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To investigate the association between the expression of human epidermal growth factor receptor (*HER*)-2/*neu* gene and prognosis of gastric cancer. **Methods** The expression of *HER-2/neu* in gastric cancer was detected by immunohistochemical technique and analyzed in relation with the follow-up and clinicopathologic data of the patients. **Results** Thirty-two of the 103 gastric cancer specimens (31.1 %) were positive for *HER-2/neu*, but whose expression was not found in benign gastric lesion and normal gastric mucosa. *HER-2/neu* expression was not correlated with the patients' sex, age, tumor size and location or the degree of differentiation ($P>0.05$), but with the depth of invasion, clinical stage, lymph node and distant metastasis of the tumor and survival of the patients ($P<0.05$). **Conclusion** *HER-2/neu* expression is closely related to invasion, metastasis and prognosis of gastric cancer and can be used to evaluate the biological behavior and prognosis of gastric cancer.

Key words: gastric cancer, prognosis; *HER-2/neu* gene; immunohistochemistry

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 MBIRMA-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)二步法 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 (WHIRL POOL VIP202S 850W)。

1.3 方法

免疫组化(EliVision™ 二步法): 65℃烤片 2~4 h; 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 850 W 的微波炉中加热 11 min, 放至室温后用蒸馏水冲洗 2 min; 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; 蒸馏水冲洗 2 min, PBS 冲洗 2 min×3 次; 滴加适当比例稀释的一抗或一抗工作液, 37℃孵育 1 h; PBS 冲洗, 2 min×3 次; 滴加试剂 1 (polymer helper), 37℃孵育 20 min; PBS 冲洗, 2 min×3 次; 滴加试剂 2 (poly peroxi-

dase-anti-mouse/rabbit, IgG), 37 °C 孵育 30 min, PBS 冲洗, 2 min×3 次; DAB 显色 5 min; 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

采用 χ^2 检验和 Fisher's 精确概率法, 生存期分析采用 Life-tables 法和 Logrank 检验。

2 结果

2.1 *HER-2/neu* 基因在胃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。

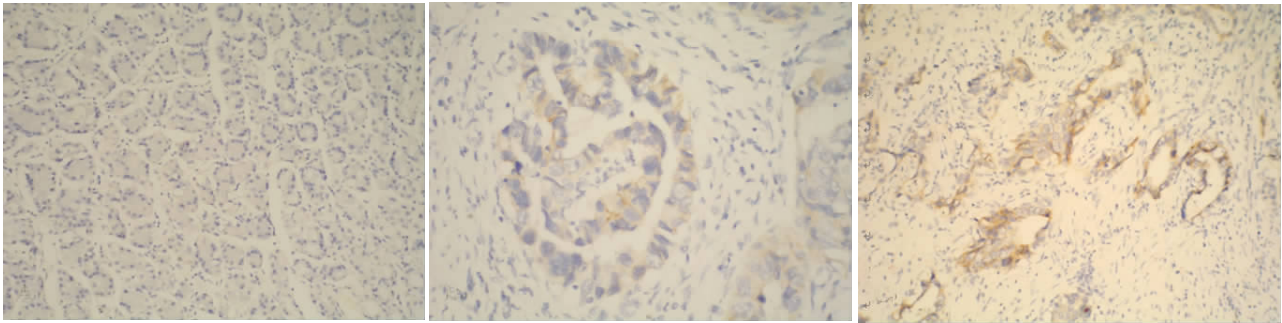


图 1 各组胃粘膜的免疫组化染色

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: ×200);
B: Weakly positive *HER-2/neu* expression in the gastric mucosa of a patient with well differentiated adenocarcinoma (Original magnification: ×400); C: Positive *HER-2/neu* expression in the gastric mucosa of a patient with well differentiated adenocarcinoma (Original magnification: ×200); D: Strong positive *HER-2/neu* expression in the gastric mucosa of a patient with moderately differentiated adenocarcinoma (Original magnification: ×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 185 000 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^[3-6]。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、

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	n	<i>HER-2/neu</i>		P 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

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^[10-12]。

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; Rebis-chung^[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, Ushiana 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* over-expression 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.
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.

(上接 343 页)

自凝刀为妇科治疗仪,其治疗宫颈糜烂主要是利用射频电流通过组织时产生的高生物热,使局部组织发生凝固坏死、溶解和脱落,而后由新生鳞状上皮覆盖,最终达到治疗目的^[7]。但在治疗中发现术后阴道流水、流血多,与治疗组相比有非常显著的差异。

总之, rhEGF 治疗宫颈糜烂的优点:治疗时间时间短,治疗过程中可减少阴道流液、白带无腥臭味、宫颈接触性出血消失,由于该药的特点,不损伤组织且抑制病原菌生长,不影响宫颈外观,不用担心疤痕形成,方法简单,特别适于未婚有性生活及尚未生育和宫颈口有环丝不适合其他方法治疗的病人。用药后无不良反应,且对病变组织有选择性作用,对健康组织无损害具有十分突出的优点,为临床提供一个全新的治疗方法,提高妇女的生活质量。但也存在一些不足之处:由于该 rhEGF 为一种水剂,整个治疗过程均需由医务

人员操作,病人不能自行在家上药,有一定的局限性。

参考文献:

- [1] 乐杰. 妇产科学[M]. 第六版, 北京: 人民卫生出版社, 2004: 265.
- [2] 徐增祥, 史常旭. 妇产科治疗学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 140.
- [3] 周伟, 龚葵, 李金莲. 治糜灵栓用于宫颈糜烂的临床观察[J]. 江西中医药, 2002, 12(6): 18.
- [4] Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors [J]. Am J Surg, 1993, 165(6): 728-37.
- [5] Ora EY, Dunkin BJ, Batzris, et al. Effect of growth factors on cell proliferation and epithelialization in human skin[J]. J Surg, 1995: 59(2): 236.
- [6] Iehier TR, Pierce GF, Herndon DN. Growth factors and wound healing: Basic science and potential clinical applications [M]. New York: Springer, 1997: 206-28.
- [7] 姚凤眉, 孙芳. 自凝刀射频与波姆光治疗宫颈糜烂疗效比较[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2004, 11(7): 1032-3.