

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)19-1805-03

宫颈癌组织中 HER-2/neu 和 Ras 表达的意义

王 巍, 辛晓燕, 刘 玉, 郭会玲 (第四军医大学西京医院妇产科 陕西 西安 710033)

Expressions and significance of HER-2/neu Ras oncogenes in cervical carcinoma

WANG Wei, XIN Xiao-Yan, LIU Yu, GUO Hui-Ling

Department of Obstetrics & Gynecology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China

【Abstract】 AIM: To detect the expressions of HER-2/neu (c-erbB-2) and Ras oncogenes in cervical carcinoma, and to evaluate the roles of HER-2/neu and Ras in the genesis and development of cervix squamous cell carcinoma and adenocarcinoma. **METHODS:** The SP immunohistochemical method was used to detect the expressions of P185^{c-erbB-2} and P21^{ras} proteins in 20 cases of normal cervix tissue, 40 cases of adenocarcinoma and 45 cases of squamous cell carcinoma. **RESULTS:** P185^{c-erbB-2} and P21^{ras} proteins were not observed in normal cervixes. Positive expression rates of the two proteins were 13.3%, 28.9% in cervix squamous cell carcinoma, and 27.5%, 55.0% in cervix adenocarcinoma. Compared with normal cervix tissue, P21^{ras} positive expression in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma was different significantly ($P < 0.0125$), and the expression between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma had obvious difference. The positive expression of P185^{c-erbB-2} in adenocarcinoma was higher than the normal tissue significantly ($P < 0.0125$). The difference between squamous cell carcinoma and normal tissue, or adenocarcinoma and squamous cell carcinoma was not significant ($P > 0.0125$). P185^{c-erbB-2} and P21^{ras} proteins were correlated with the differentiation degree of carcinoma closely ($P < 0.0125$). No correlation was found between positive expression and clinical stage, nor lymphatic metastasis. In addition, there was an obvious correlation between P185^{c-erbB-2} and P21^{ras} in cervix cancer ($P < 0.01$, $\kappa = 0.405$, $\chi^2 = 53.21$). **CONCLUSION:** P185^{c-erbB-2} and P21^{ras} proteins were overexpressed in cervix cancer at the same time, especially in cervical adenocarcinoma, which may be one of mechanisms of carcinogenesis.

【Keywords】 cervical neoplasm; her-2/neu; ras; immunohistochemistry

【摘要】 目的: 研究 HER-2/neu (c-erbB-2) 和 Ras 癌基因在

收稿日期 2006-04-12; 接受日期 2006-05-29

作者简介: 王 巍, 硕士生(导师辛晓燕)。Tel (029) 84775387

Email: yun0619@163.com

宫颈腺癌和鳞癌中的表达及意义, 探讨其在宫颈癌发生发展中的作用。方法: 采用免疫组化 SP 法检测正常宫颈组织 20 例、宫颈腺癌 40 例及鳞癌 45 例中 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白的表达。结果: 在正常宫颈组织中 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白均不表达, 在鳞癌中阳性表达率分别为 13.3% 和 28.9%, 在腺癌中阳性表达率分别为 27.5% 和 55.0%。P21^{ras} 在宫颈腺癌及鳞癌组表达均显著高于正常组 ($P < 0.0125$), 同时腺癌组明显高于鳞癌组; P185^{c-erbB-2} 在腺癌中的阳性表达率较正常组高 ($P < 0.0125$)。鳞癌组与正常组及腺癌组与鳞癌组相比差异不显著 ($P > 0.0125$)。P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白的阳性表达率与细胞分化级别有明显相关性 ($P < 0.0125$), 与临床分期、淋巴结转移无关; 两者在宫颈癌组织中的表达显著相关 ($P < 0.01$, $\kappa = 0.405$, $\chi^2 = 53.21$)。结论: 在宫颈癌中 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白同时过表达可能是宫颈癌的发病机制之一, 过表达现象在宫颈腺癌中尤为突出。

【关键词】 宫颈肿瘤; her-2/neu; ras; 免疫组织化学

【中图分类号】 R737.33

【文献标识码】 A

0 引言

宫颈癌发病率居妇科恶性肿瘤的首位, 由于筛查的推广应用, 其发病率明显下降。近年宫颈癌总体发病率与死亡率分别降低 4% 和 7%, 而腺癌(包括腺鳞癌)却无明显下降, <50 岁的妇女却升高 40%^[1]。众多研究表明, 宫颈鳞癌的发生与 HPV 感染有关, 但对腺癌的发生机制报道却很少。我们采用免疫组化 SP 法检测了宫颈腺癌、宫颈鳞癌和正常宫颈组织中 HER-2/neu (c-erbB-2) 及其下游的 Ras 癌基因产物 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白的表达情况, 分析它们与临床及病理指标间的关系, 为进一步阐述宫颈腺癌的发病机制及寻找新的治疗靶点提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 西京医院妇产科 1999 ~ 2005 年宫颈手术病理标本 105 例, 其中鳞癌 45 例, 腺癌 40 例, 正常宫颈(子宫肌瘤) 20 例, 均经病理明确诊断。甲醛液固定, 常规石蜡包埋, 厚 4 μm 连续切片备用。患者年龄 25 ~ 76 (平均 48.2 \pm 11.6) 岁, 依据 FIGO 标准, 临床 I 期 44 例, II 期 35 例, III 期 6 例, 细胞分化 I 级 53 例, II 级 22 例, III 级 10 例。淋巴结转移 34 例, 淋巴结未转移 51 例。HER-2/neu (P185^{c-erbB-2}) 鼠抗人 mAb

购自上海长岛生物技术有限公司, Ras(P21^{ras})鼠抗人 mAb 购自福州迈新生物技术开发有限公司. SP 试剂盒及 DAB 显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法 免疫组织化学按中杉公司 SP 试剂盒的操作步骤执行. 石蜡包埋组织切片 60℃ 烤箱中过夜, 二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化, 过氧化物酶阻断剂(30 mL/L 过氧化氢溶液) 10 min 以去除内源性过氧化物酶. 柠檬酸盐缓冲液抗原修复 30 min, 正常山羊血清室温封闭 30 min, 加第一抗体 4℃ 过夜, 加第二抗体(生物素标记的羊抗鼠 IgG) 室温下作用 30 min, 加辣根酶标记链霉卵白素工作液, 室温下作用 30 min. DAB 显色, 自来水冲洗后苏木精复染, 脱水、透明, 树脂封片, 镜下观察. 乳腺癌切片(试剂公司提供) 作阳性对照, PBS 代替一抗作阴性对照. P185^{c-erbB-2} 工作液浓度为 1:50, P21^{ras} 工作液浓度为 1:40. 按 FDA 推荐的 P185^{c-erbB-2} 染色强度分为阴性(-): 未着色或 < 10% 的肿瘤细胞膜着色; 弱阳性(+): > 10% 的肿瘤细胞膜呈微弱着色, 且仅为细胞膜不完整着色; 中度阳性(++): > 10% 的肿瘤细胞膜呈弱 ~ 中度强度的细胞膜完全着色; 强阳性(+++) 或过表达: > 10% 的肿瘤细胞膜呈强的细胞膜完全着色. (-) ~ (+) 为阴性表达, (++) ~ (+++) 为阳性表达^[2]. P21^{ras} 蛋白主要以细胞膜内侧和细胞质出现棕黄色颗粒为阳性. 阳性细胞数 > 10% 为阳性结果, 反之为阴性结果.

统计学处理 采用 SPSS 12.0 统计软件对组间率的比较进行 χ^2 分割法检验, 以 $P < 0.0125$ 为有统计学意义.

2 结果

2.1 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白的表达与临床病理关系

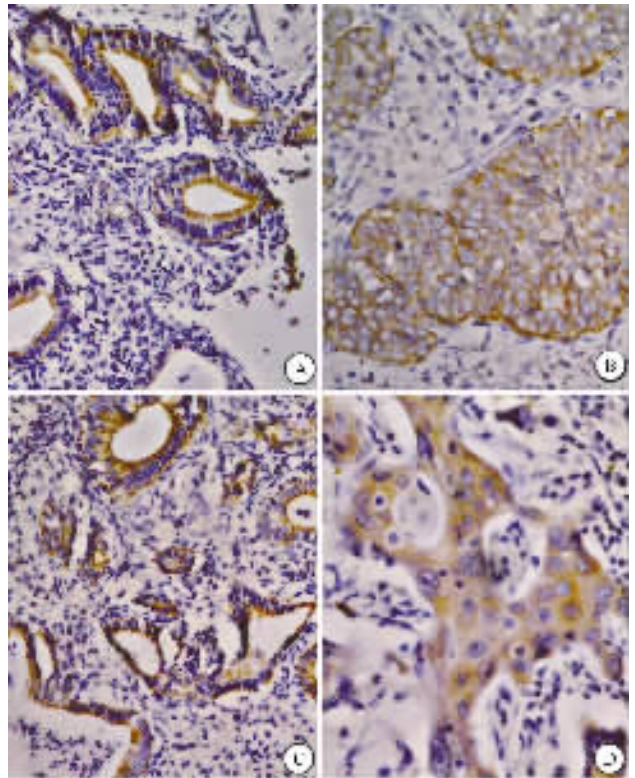
P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白在宫颈鳞癌和腺癌中的表达程度和阳性表达率明显高于正常宫颈组织. 两种蛋白在正常组织中均不表达, 鳞癌组 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白的阳性表达率分别为 13.3% 和 28.9%, 腺癌组 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白的阳性表达率分别为 27.5% 和 55.0%. P185^{c-erbB-2} 在腺癌中的阳性表达率明显高于正常组($P < 0.0125$), 但鳞癌组与正常组及腺癌组与鳞癌组相比差异尚不具有统计学意义($P > 0.0125$); P21^{ras} 在宫颈腺癌及鳞癌组表达均显著高于正常组($P < 0.0125$), 同时腺癌组也较鳞癌组增高明显($P < 0.0125$, 表 1, 图 1). P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白的阳性表达率随组织分化程度的降低而逐渐升高, P185^{c-erbB-2} 的阳性表达率在细胞分化 I, II, III 级中分别为 7.5%、27.2%、70.0%; II, III 与 I 级之间差异

均具有显著性($P < 0.0125$), 且 II 与 III 级之间差异性显著($P < 0.0125$). P21^{ras} 的阳性表达率在细胞分化 I, II, III 级中分别为 26.4%、54.5%、90.0%, 同样 II, III 与 I 级之间差异有统计学意义($P < 0.0125$), II 与 III 级之间差异有统计学意义($P < 0.0125$). P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白的表达与临床分期无关, 淋巴结转移者较未转移者阳性表达率高, 但无统计学意义($P > 0.05$, 表 2).

表 1 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白在宫颈癌中的表达 (n)

组别	n	P185 ^{c-erbB-2}			阳性率 (%) (++~+++)	P21 ^{ras}			阳性率 (%) (++~+++)		
		-	+	++		+++	-	+		++	+++
正常	20	20	0	0	0	20	0	0	0		
鳞癌	45	29	10	4	2	13.3	32	4	5	4	28.9 ^a
腺癌	40	17	12	7	4	27.5 ^a	18	11	4	7	55.0 ^b

^a $P < 0.0125$ vs 正常; ^b $P < 0.0125$ vs 正常和鳞癌.



A: 宫颈腺癌 P185^{c-erbB-2} 阳性 SP×100; B: 宫颈鳞癌 P185^{c-erbB-2} 阳性 SP×200; C: 宫颈腺癌 P21^{ras} 阳性 SP×100; D: 宫颈鳞癌 P21^{ras} 阳性 SP×200.

图 1 宫颈癌中 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 的表达

2.2 宫颈癌中 P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 表达的关系 两者表达显著相关($P < 0.01$, kappa = 0.405, $\chi^2 = 53.21$), 表达程度一致率为 63.5% (54/85, 表 3).

表2 P185^{c-erbB-2}和 P21^{ras}蛋白的表达与宫颈癌临床病理指标间的关系 (n)

临床病理特征	n	P185 ^{c-erbB-2} 阳性	阳性率 (%)	P21 ^{ras} 阳性	阳性率 (%)
分化程度					
I	53	4	7.5	14	26.4
II	22	6	27.2 ^a	12	54.5 ^a
III	10	7	70.0 ^b	9	90.0 ^b
临床分期					
I	44	8	18.2	13	29.5
II	35	7	20.0	19	54.3
III~IV	6	2	33.3	3	50.0
淋巴结转移					
无	51	9	17.6	18	35.3
有	34	8	23.5	17	50.0

^aP < 0.0125 vs 分化程度 I 级; ^bP < 0.0125 vs 分化程度 I 级及分化程度 II 级。

表3 宫颈癌中 P185^{c-erbB-2}和 P21^{ras}表达的关系 (n)

P21 ^{ras}	P185 ^{c-erbB-2}			
	-	+	++	+++
-	39	10	1	0
+	6	6	2	1
++	1	2	5	1
+++	0	4	3	4

3 讨论

HER-2/neu 又称 c-erbB-2 基因,其编码的蛋白质称 P185^{c-erbB-2},是一种跨膜受体糖蛋白,主要定位于细胞膜,为一具有酪氨酸激酶活性的细胞膜受体。在正常情况下 HER-2/neu 处于非激活状态,参与细胞正常生长、分化的调节,当受到某些致癌因素作用后,其结构或表达失控而被激活,具有肿瘤转化活性。其扩增和过表达的程度与组织分化、临床分期、淋巴结转移及生存率有一定相关性^[3-6]。Ras 癌基因编码的蛋白质称 P21^{ras},位于细胞膜内表面胞质侧,能与 GTP 或 GDP 高特异性地结合,参与细胞生长与分化的调节,并起着生物开关的作用。正常组织中,存在少量激活状态的 P21 蛋白,以维持细胞的正常分化。当 Ras 癌基因突变时, P21^{ras} 蛋白一直处于激活状态,启

动和加速细胞的生长、繁殖,最终导致细胞的恶性转化,在胃癌、肝癌、卵巢癌和非小细胞肺癌中都存在过表达现象^[3,6-8]。当 HER-2/neu 在某些致癌因素刺激后,其活化和扩增的程度加强,一方面出现 P185^{c-erbB-2} 蛋白产物的过表达,另一方面使 Ras 持续激活,导致 P21^{ras} 的表达也有所增强。本实验结果显示, P185^{c-erbB-2} 和 P21^{ras} 蛋白的过表达在宫颈癌组织中同时存在,说明受体型 TPK-Ras-MAPK 途径的过度活化导致有丝分裂增加、细胞癌变,可能是宫颈癌发病机制之一。尤其此现象在宫颈腺癌中更为明显,这可能成为宫颈腺癌有别于鳞癌的发病机制之一。因此可将 HER-2/neu 作为宫颈腺癌的治疗靶点,应用 HER-2/neu 的抑制剂与其他化疗药物协同治疗宫颈腺癌,增强腺癌的化疗效果,提高患者生存率。

【参考文献】

- [1] Davy ML, Dodd TJ, Luke CG, et al. Cervical Cancer: Effect of glandular cell type on prognosis, treatment, and survival [J]. *Obstetrics Gynecol*, 2003, 101: 38-45.
- [2] Chavez-Blanco A, Perez-Sanchez V, Gonzalez-Fierro A, et al. HER-2 expression in cervical cancer as a potential therapeutic target [J]. *BMC Cancer*, 2004, 4: 59.
- [3] 惠延平, 黄高升, 王文亮, 等. 胃癌及其癌前病变中 ras, c-erbB-2, p53 癌因产物的表达 [J]. *第四军医大学学报*, 2001, 22(3): 220-223.
- [4] Livasy CA, Reading FC, Moore DT, et al. EGFR expression and HER2/neu overexpression/amplification in endometrial carcinosarcoma [J]. *Gynecol Oncol*, 2006, 100(1): 101-106.
- [5] Lopes MA, da Cruz Perez DE, de Abreu Alves F, et al. Clinicopathologic and immunohistochemical study of intraoral mucoepidermoid carcinoma [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2006, 134(4): 622-626.
- [6] Bahnassi AA, Zekri AR, El-Houssini S, et al. Hepatitis C virus-NS3P in relation to p53, p21waf, mdm2, p21-ras and c-erbB2 in hepatocarcinogenesis [J]. *Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(11): 1731-1740.
- [7] Semczuk A, Postawski K, Prządka D, et al. K-ras gene point mutations and p21ras immunostaining in human ovarian tumors [J]. *Gynaecol Oncol*, 2004, 25(4): 484-488.
- [8] Przybojewska B, Rydzynski K, Stepnik M, et al. Immunohistochemical evaluation of P21ras and P53 proteins expression in human non-small-cell lung cancers [J]. *Neoplasma*, 2003, 50(3): 198-203.

编辑 袁天峰