

TGF- α 和EGFR在Barrett食管和食管腺癌的表达

呼闯营, 贺彩峰

呼闯营, 贺彩峰, 苏州大学附属第二医院消化科 江苏省苏州市 215004

呼闯营, 2005年华中科技大学同济医学院博士毕业, 讲师, 主要从事消化道肿瘤的研究。

通讯作者: 呼闯营, 215004, 江苏省苏州市三香路1055号, 苏州大学附属第二医院消化科, huchuangying@163.com

电话: 0512-68631229 传真: 0512-68284303

收稿日期: 2006-02-14 接受日期: 2006-03-06

Expression of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma

Chuang-Ying Hu, Cai-Feng He

Chuang-Ying Hu, Cai-Feng He, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Dr. Chuang-Ying Hu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Suzhou University, 1055 Sanxiang Avenue, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China. huchuangying@163.com

Received: 2006-02-14 Accepted: 2006-03-06

Abstract

AIM: To investigate the expression of transforming growth factor alpha (TGF- α) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma.

METHODS: Immunohistochemistry (SABC assay) was used to detect the expression of TGF- α and EGFR protein in patients with reflux esophagitis ($n = 13$), Barrett's esophagus ($n = 17$), esophageal adenocarcinoma ($n = 11$) and normal esophageal mucosa ($n = 30$).

RESULTS: In the development of reflux esophagitis, Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma, the expression of TGF- α and EGFR protein increased gradually and closely correlated with each other ($r = 0.951, P < 0.01$). TGF- α protein was mainly expressed in the cytoplasm. EGFR was expressed in the cellular membrane in the normal esophageal mucosa and reflux esophagitis, but strongly positively expression

was also observed in the cytoplasm and nucleus of cells in Barrett's esophagus with dysplasia and esophageal adenocarcinoma.

CONCLUSION: TGF- α and EGFR expression increase and may play synergic roles in the development of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma.

Key Words: TGF- α ; EGFR; Barrett's esophagus; Esophageal adenocarcinoma

Hu CY, He CF. Expression of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(9):879-883

摘要

目的: 研究Barrett食管和食管腺癌中TGF- α 和EGFR的表达意义。

方法: 采用免疫组化SABC法检测反流性食管炎13例、Barrett食管17例和食管腺癌11例中TGF- α 和EGFR的表达, 并以30例正常食管黏膜为对照, 运用免疫组化图像分析加以定量, 进行统计学的分析和比较。

结果: TGF- α 和EGFR在正常食管黏膜、反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌的表达逐渐增高, 二者呈明显的正相关($r = 0.951, P < 0.01$); TGF- α 主要表达于细胞质, EGFR在正常食管黏膜和反流性食管炎表达于细胞膜, 而在Barrett食管非典型增生和食管腺癌, 则可见细胞质和细胞核的明显表达。

结论: TGF- α 和EGFR在反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌中表达逐渐增高并且相互作用, 可能对Barrett食管和食管腺癌的发生、发展起一定的作用。

关键词: 转化生长因子 α ; 表皮生长因子受体; Barrett食管; 食管腺癌

呼闯营, 贺彩峰. TGF- α 和EGFR在Barrett食管和食管腺癌的表达. *世界华人消化杂志* 2006;14(9):879-883

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/879.asp>

背景资料

胃食管反流病是消化系统的常见病。慢性胃食管反流一个常见和潜在的严重后果是食管原有的鳞状上皮被化生的柱状上皮增殖所替代, 这一状况被称为Barrett食管。这种化生上皮可能进展至食管腺癌。本文研究了Barrett食管和食管腺癌中TGF- α 和EGFR的表达意义。

■ 研发前沿

源于Barrett上皮化生的食管腺癌的形成是一个由多因素参与的多步骤的过程,包括有癌基因与抑癌基因、生长因子、黏附分子、细胞增殖与凋亡及其调控失衡等的参与和作用。

表 1 TGF- α 和EGFR免疫组化表达量(面密度, mean \pm SD)

分组	<i>n</i>	男:女	年龄(岁)	TGF- α	EGFR
对照组	30	21:9	43(26-71)	0.036 \pm 0.003	0.089 \pm 0.005
反流性食管炎	13	9:4	41(28-67)	0.045 \pm 0.009	0.236 \pm 0.031
Barrett食管	10	7:3	39(26-51)	0.469 \pm 0.054	0.381 \pm 0.029
非典型增生	7	5:2	52(35-71)	0.590 \pm 0.053	0.388 \pm 0.033
食管腺癌	11	6:5	60(37-75)	0.768 \pm 0.069	0.426 \pm 0.040

0 引言

Barrett食管是反流性食管炎的主要并发症之一,他是由于长期胃食管反流导致柱状上皮化生替代正常食管鳞状上皮的一种病理现象,被认为是食管腺癌的癌前病变^[1-2]。在过去30 a里,食管腺癌的发病增长速度远远超出其他肿瘤,严重威胁着人类健康,而大多数食管腺癌可能来源于Barrett上皮化生^[3-7]。但是,在胃食管反流者中只有少数发生了Barrett食管,而Barrett食管发展为食管腺癌的年发生率估计约为0.2%-2%^[8-10]。目前研究表明,源于Barrett上皮化生的食管腺癌的形成是一个由多因素参与的多步骤的过程,在这一过程中,转化生长因子(transforming growth factor alpha, TGF- α)和其受体表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)可能起一定作用^[11-12]。我们通过免疫组化法及图像分析,探讨TGF- α 和EGFR在反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌中的表达变化及其意义,初步阐述二者在其发生、发展中的作用,为Barrett食管和食管腺癌的发病机制提供可能的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 反流性食管炎13例经临床、内镜及24 h食管pH检测确诊,根据我国食管炎内镜诊断标准^[13]分级为II-III级。Barrett食管17例,其组织标本来源于胃-食管交界处上方3 cm以上的舌形、岛形或环周形病灶黏膜,均在内镜下取得,并经病理诊断证实伴有肠化者收入本研究;在17例Barrett食管中,7例属非典型增生,其中6例为中-重度不典型增生。食管腺癌11例收集于病理科标本。对照组30例为反流性食管炎和Barrett食管患者自身正常食管黏膜,均取自胃-食管交界处上方3 cm以上且距病灶缘至少5 cm之外,并经病理证实为正常食管鳞状上皮。TGF- α 和EGFR多克隆抗体、相应二抗IgG和SABC试剂盒均购自武汉博士德生物公司。

1.2 方法 实验采用免疫组织化学链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合法SABC法,具体操作步骤按说明书进行,免疫反应阳性物呈淡黄色或棕褐色,以PBS代替一抗作为阴性对照。免疫组化图像分析采用北航多功能真彩色病理分析图像-[miad]软件,每例标本选3个不同视野,以阳性目标总面积/统计场总面积即面密度为指标,在光镜下进行定量分析。

统计学处理 计量资料用mean \pm SD表示, TGF- α 和EGFR组内差异分别采用 F 检验,二者之间的相关性采用Spearman等级相关分析法, $P < 0.05$ 为显著性差异。

2 结果

2.1 TGF- α 和EGFR的表达 在正常食管黏膜, TGF- α 几乎无表达, EGFR弱表达;在反流性食管炎, TGF- α 表达仍很低,而EGFR的表达明显增加($P < 0.05$);在Barrett食管, TGF- α 和EGFR表达量均较反流性食管炎明显增加($P < 0.05$, $P < 0.05$);在Barrett食管非典型增生, TGF- α 和EGFR的表达虽然有所增加,但与Barrett食管组相比无统计学意义; TGF- α 和EGFR在食管腺癌中的表达最高,与Barrett食管相比,具有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.05$)(表1)。TGF- α 主要表达于细胞质; EGFR则定位于正常食管黏膜和反流性食管炎的细胞膜,在Barrett食管中-重度非典型增生和食管腺癌中, EGFR除表达于细胞质,在细胞核也可见明显的表达(图1)。

2.2 TGF- α 和EGFR的相关性 TGF- α 和EGFR在正常食管黏膜、反流性食管炎、Barrett食管、Barrett食管非典型增生和食管腺癌组表达增幅虽不尽一致,但均呈逐渐增高趋势。通过绘制散点图发现, TGF- α 和EGFR在上述五组中的表达呈非线性关系,而且为等级资料,故采用Spearman等级相关分析法,二者在统计学上呈显著的正相关($r = 0.951$, $P < 0.01$)(图2)。

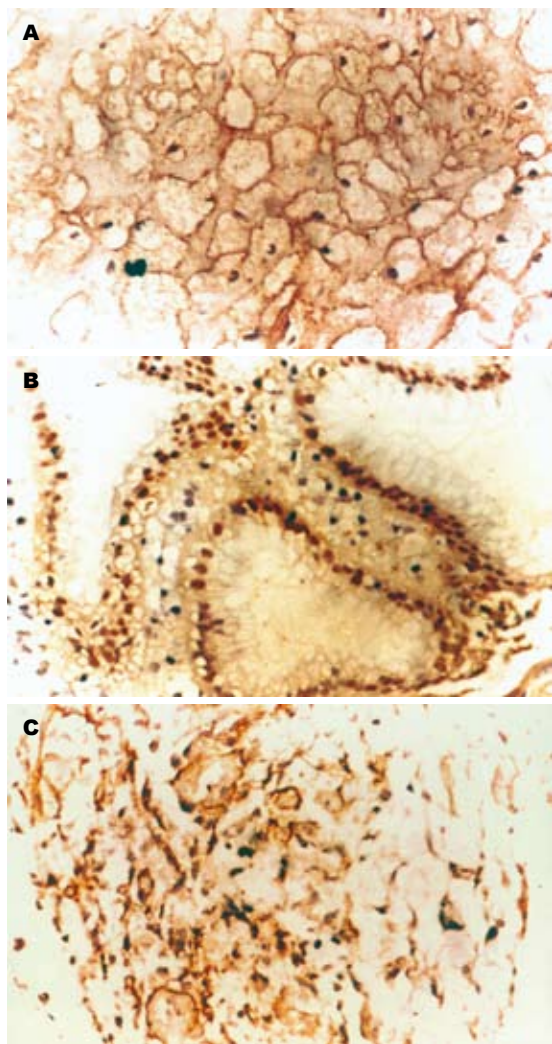


图 1 食管组织EGFR的表达 (SABC \times 200). A: 反流性食管炎; B: Barrett食管非典型增生; C: 食管腺癌.

3 讨论

生长因子是一类能与细胞膜特异受体呈高亲和力结合而刺激细胞增殖的多肽. 肿瘤细胞自分泌的生长因子可不断地刺激自身细胞的生长, 是肿瘤发生和发展的重要因素之一^[14-16]. TGF- α 最早发现于病毒感染细胞, 此后证实多种肿瘤细胞可分泌TGF- α 并促进自身的生长. EGFR是TGF- α 和表皮生长因子EGF的共同受体, 与TGF- α 和EGF的亲和力相同, 但EGF的活性远远低于TGF- α . 表达异常的TGF- α 如果与过量表达或结构改变的EGFR结合并相互作用, 则可使细胞获得恶性增殖优势^[17-18]. 在食管炎、Barrett食管和食管腺癌也分别有TGF- α 和EGFR表达异常的报道^[19-23]. 我们采用免疫组化法和图像分析定量, 检测了包括反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌以及正常食管黏膜TGF- α 和EGFR的表达变化, 以期从肿瘤细胞自分泌生长因子方

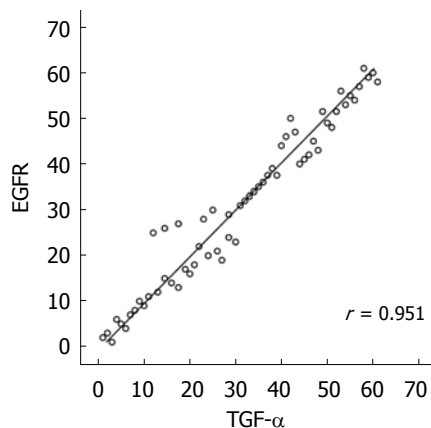


图 2 TGF- α 和EGFR的相关性 (Spearman等级相关分析法).

面解释部分反流性食管炎发展为Barrett食管, 并在此基础上恶变为食管腺癌的可能机制. 结果显示: 从正常食管黏膜、反流性食管炎、Barrett食管和非典型增生到食管腺癌, TGF- α 和EGFR的表达呈现逐渐增高的趋势, 但增幅并不一致, TGF- α 主要定位于细胞质, EGFR则表达广泛. 在正常食管黏膜, TGF- α 几乎无表达, 提示正常食管鳞状上皮可能缺乏生成和分泌TGF- α 的能力, EGFR则少量表达于细胞膜. 在反流性食管炎, TGF- α 表达仍很低, 提示TGF- α 在反流性食管炎炎症反应中不起重要作用, 而EGFR表达增高可能是机体保护反应所致, 其机制可能与其他因素有关^[24-25]. 当Barrett食管形成后, 肠化型柱状细胞可大量合成和分泌TGF- α 及EGFR, 二者结合可促进细胞的分化和增殖, 而且细胞异型性增生程度越高, 这种能力越强, 最终导致部分细胞发生癌变. 在Barrett食管非典型增生和食管腺癌, TGF- α 和EGFR的表达明显增高, 而且EGFR分布广泛, 他不仅表达于细胞质, 细胞核也可见明显的表达. EGFR的高表达特别是细胞核的高表达可能是细胞核过度增殖和细胞异型的表现, 是细胞恶性程度的标志之一^[26-27]. EGFR从细胞膜转位至细胞核是否参与了Barrett食管和食管腺癌的发生、发展过程, 尚有待进一步证实.

我们试用Spearman等级相关分析法探讨了TGF- α 和EGFR从正常食管黏膜、反流性食管炎、Barrett食管和非典型增生到食管腺癌过程中表达的相关性, 统计学显示二者存在明显的正相关, 提示TGF- α 和EGFR同时参与并可能共同作用于Barrett食管和食管腺癌的发生、发展, 其内在机制可能在于二者系受体配体间相互作用的关系^[28-30]. 综上所述, TGF- α 和EGFR在反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌中表达逐渐

■ 创新盘点

本实验系统地研究了转化生长因子TGF- α 及其受体EGFR在反流性食管炎-**Barrett食管-食管腺癌**这一序贯过程中的表达, 结果发现二者呈逐渐增高的趋势, 并且具有明显的相关性, 提示TGF- α 和EGFR可能在Barrett食管和食管腺癌的发生、发展中起一定的作用.

■同行评价

本文探讨了Barrett食管和食管腺癌中TGF- α 和EGFR的表达情况,对认识Barrett食管和食管腺癌中分子生物学的改变有一定意义。立题新颖,设计合理。

增高及其相互作用,可能对Barrett食管和食管腺癌的发生、发展起一定的作用。TGF- α 和EGFR在反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌的表达并不一致,联合检测TGF- α 和EGFR可能更有助于准确地判断病情和预测疾病的进展。

4 参考文献

- Falk GW. Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2002; 122: 1569-1591
- Solaymani-Dodaran M, Logan RF, West J, Card T, Coupland C. Risk of oesophageal cancer in Barrett's oesophagus and gastro-oesophageal reflux. *Gut* 2004; 53: 1070-1074
- Blot WJ, McLaughlin JK. The changing epidemiology of esophageal cancer. *Semin Oncol* 1999; 26: 2-8
- Deviere J. Barrett's oesophagus: the new endoscopic modalities have a future. *Gut* 2005; 54: i33-i37
- Pohl H, Welch HG. The role of overdiagnosis and reclassification in the marked increase of esophageal adenocarcinoma incidence. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 142-146
- van Blankenstein M, Looman CW, Hop WC, Bytzer P. The incidence of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the esophagus: Barrett's esophagus makes a difference. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 766-774
- Solaymani-Dodaran M, Logan RF, West J, Card T. Mortality associated with Barrett's esophagus and gastroesophageal reflux disease diagnoses—a population-based cohort study. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2616-2621
- Conio M, Bianchi S, Lapertosa G, Ferraris R, Sablich R, Marchi S, D'Onofrio V, Lacchin T, Iaquinio G, Missale G, Ravelli P, Cestari R, Benedetti G, Macri G, Fiocca R, Munizzi F, Filiberti R. Long-term endoscopic surveillance of patients with Barrett's esophagus. Incidence of dysplasia and adenocarcinoma: a prospective study. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1931-1939
- Murray L, Watson P, Johnston B, Sloan J, Mainie IM, Gavin A. Risk of adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: population based study. *BMJ* 2003; 327: 534-535
- Wolfsen HC. Present status of photodynamic therapy for high-grade dysplasia in Barrett's esophagus. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 189-202
- Yacoub L, Goldman H, Odze RD. Transforming growth factor-alpha, epidermal growth factor receptor, and MiB-1 expression in Barrett's-associated neoplasia: correlation with prognosis. *Mod Pathol* 1997; 10: 105-112
- 付建华, 杨达宽, 黄云超, 胡国强. EGFR基因蛋白在食管癌组织的表达及临床意义. *消化外科* 2004; 3: 105-108
- 任旭. 反流性食管炎的内镜和病理学诊断及分级. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 1127-1128
- Bianco R, Troiani T, Tortora G, Ciardiello F. Intrinsic and acquired resistance to EGFR inhibitors in human cancer therapy. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12: S159-S171
- Hofer EL, La Russa V, Honegger AE, Bullorsky EO, Bordenave RH, Chasseing NA. Alteration on the expression of IL-1, PDGF, TGF-beta, EGF, and FGF receptors and c-Fos and c-Myc proteins in bone

- marrow mesenchymal stroma cells from advanced untreated lung and breast cancer patients. *Stem Cells Dev* 2005; 14: 587-594
- Gee JM, Robertson JF, Gutteridge E, Ellis IO, Pinder SE, Rubini M, Nicholson RI. Epidermal growth factor receptor/HER2/insulin-like growth factor receptor signalling and oestrogen receptor activity in clinical breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12: S99-S111
- Hantschmann P, Jeschke U, Friese K. TGF-alpha, c-erbB-2 expression and neoangiogenesis in vulvar squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2005; 25: 1731-1737
- Mulet A, Garrido G, Alvarez A, Menendez T, Bohmer FD, Perez R, Fernandez LE. The enlargement of the hormone immune deprivation concept to the blocking of TGFalpha-autocrine loop: EGFR signaling inhibition. *Cancer Immunol Immunother* 2006; 55: 628-638
- Fujiwara Y, Higuchi K, Hamaguchi M, Takashima T, Watanabe T, Tominaga K, Oshitani N, Matsumoto T, Arakawa T. Increased expression of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptors in rat chronic reflux esophagitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 521-527
- Aloia TA, Harpole DH Jr, Reed CE, Allegra C, Moore MB, Herndon JE 2nd, D'Amico TA. Tumor marker expression is predictive of survival in patients with esophageal cancer. *Ann Thorac Surg* 2001; 72: 859-866
- Wilkinson NW, Black JD, Roukhadze E, Driscoll D, Smiley S, Hoshi H, Geradts J, Javle M, Brattain M. Epidermal growth factor receptor expression correlates with histologic grade in resected esophageal adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 448-453
- Nishigaki H, Wada K, Tatsuguchi A, Sueoka N, Futagami S, Gudis K, Miyake K, Tsukui T, Sakamoto C. ErbB2 without erbB3 expression in metaplastic columnar epithelium of Barrett's esophagus. *Digestion* 2004; 70: 95-102
- Li Y, Wo JM, Ray MB, Jones W, Su RR, Ellis S, Martin RC. Cyclooxygenase-2 and epithelial growth factor receptor up-regulation during progression of Barrett's esophagus to adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 928-934
- Hou Z, Sang S, You H, Lee MJ, Hong J, Chin KV, Yang CS. Mechanism of action of (-)-epigallocatechin-3-gallate: auto-oxidation-dependent inactivation of epidermal growth factor receptor and direct effects on growth inhibition in human esophageal cancer KYSE 150 cells. *Cancer Res* 2005; 65: 8049-8056
- Lanas AI, Blas JM, Ortego J, Soria J, Sainz R. Adaptation of esophageal mucosa to acid- and pepsin-induced damage: role of nitric oxide and epidermal growth factor. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 1003-1012
- Lo HW, Hsu SC, Hung MC. EGFR signaling pathway in breast cancers: from traditional signal transduction to direct nuclear translocation. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 95: 211-218
- Lo HW, Hung MC. Nuclear EGFR signalling network in cancers: linking EGFR pathway to cell cycle progression, nitric oxide pathway and patient survival. *Br J Cancer* 2006; 94: 184-188
- Tamada H, Tominaga M, Kida K, Kawate N, Inaba T, Matsuyama S, Sawada T. Detection of transforming

- growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor mRNA and immunohistochemical localization of the corresponding proteins in the canine uterus during the estrous cycle. *Histol Histopathol* 2005; 20: 817-824
- 29 Martinez-Arca S, Bech-Serra JJ, Hurtado-Kuttner M, Borroto A, Arribas J. Recycling of cell surface pro-transforming growth factor-{alpha} regulates epidermal growth factor receptor activation. *J Biol Chem* 2005; 280: 36970-36977
- 30 Yamamoto M, Yanaga H, Nishina H, Watabe S, Mamba K. Fibrin stimulates the proliferation of human keratinocytes through the autocrine mechanism of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor. *Tohoku J Exp Med* 2005; 207: 33-40

电编 张敏 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

更正与说明专栏

本刊讯 《世界华人消化杂志》为了对同行评议、编辑、校对、审读、文章价值等质量进行跟踪报道, 特设“更正与说明”固定专栏, 包括“事实纠错”、“文字更正”、“解释说明”三个子栏目, 不仅对前一期或近期出现的文字差错和事实错误进行更正、就引发歧义或晦涩难懂之处做解释说明, 而且针对文章的学术水平等进行讨论. 在此, 我们热烈欢迎读者、作者、编委等积极审读《世界华人消化杂志》, 给更正与说明栏目投稿.

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

专家门诊

本刊讯 《世界华人消化杂志》特设“专家门诊”固定专栏为广大消化病患者搭建一个信息平台, 欢迎副主任医师以上的消化内科、普通外科专家为专栏撰稿(附单位介绍信), 免收出版费, 写作格式如下:

胃溃疡诊断和治疗

个人简介(附3.5 cm \times 5 cm照片一张)

通信作者(包括邮政编码、工作单位、部门、科室、机构全称、地址、所在省市、E-mail)

0 引言

1 诊断

2 治疗

3 特色

4 门诊时间