

大肠癌中 EGFR、c-erbB-2 及 VEGF 的表达与临床病理特征的关系

杜伟¹, 王杰军¹, 何金²

Relationship between Expression of EGFR, c-erbB-2 and VEGF with Clinicopathological Characteristics in Human Colorectal Carcinoma

DU Wei¹, WANG Jie-jun², HE Jin³

1. Department of Oncology, Changzheng Hospital Second Military Medical University, Shanghai 200070, China, 2. Department of Pathology

Corresponding Author: WANG Jie-jun, E-mail: jiejunw@csc.org.cn

Abstract: Objective To study the correlation of EGFR, c-erbB-2 and VEGF expression in colorectal carcinoma and their significances to clinicopathological character. **Methods** We studied the expression level of EGFR, c-erbB-2 and VEGF in 61 cases of colorectal carcinoma by Envision method and analysed the correlation of the expression level and colorectal carcinoma clinicopathological character by Multiple linear regression. **Results** The respectively high expression rate of EGFR, c-erbB-2 and VEGF was 49.2%, 73.8% and 70.5%. Multiple linear regression shows that the high expression of EGFR, c-erbB-2 and VEGF were related with the tumor size, lymph nodes metastasis, liver metastasis and Duke's stages, but not correlated with gender and age. **Conclusion** The results suggest that the high expression of EGFR, c-erbB-2 and VEGF is an useful tool for providing information about the malignant degree, prognosis, and may be as a gaiding in postoperative chemotherapy selection for patients with colorectal carcinoma.

Key words: EGFR; c-erbB-2; VEGF; Colorectal carcinoma; Immunohistochemistry

摘要:目的 研究 EGFR、c-erbB-2 和 VEGF 在大肠癌中的表达及其与临床病理特征的关系。方法 应用免疫组化 Envision 方法检测 61 例大肠癌组织中 EGFR、c-erbB-2 及 VEGF 的表达水平。以多重线性回归分析上述基因表达水平与临床病理特征的关系。结果 61 例大肠癌中 EGFR、c-erbB-2 和 VEGF 的阳性表达率分别为 49.2% (30/60)、73.8% (45/61) 和 70.5% (43/61), 多因素分析显示它们分别与肿瘤大小、淋巴结、肝脏转移及 Dukes 分期相关, 而与病人的性别和年龄无关。结论 EGFR、c-erbB-2 及 VEGF 可作为临床判定大肠癌恶性程度及评估预后的指标, 对指导术后化疗或靶向治疗具有一定的意义。

关键词: EGFR; c-erbB-2; VEGF; 大肠癌; 免疫组化

中图分类号: R735.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578 (2008)03-0191-03

0 引言

大肠癌是消化道常见的恶性肿瘤之一, 每年全世界约有 50 万人发病, 在西方国家大肠癌死亡率仅次于肺癌和乳腺癌, 居恶性肿瘤死亡率第 3 位; 1990~1992 年中国 1/10 人口死因抽样调查结果显示, 中国大肠癌的年死亡率为 5.30/10 万, 居恶性肿瘤死因第 5 位。根据患者的肿瘤大小、临床分期、淋巴结状态、肿瘤组织学分级等指标来判断病情发展及预后已得到广泛应用。但近年随分子生物学迅速发

展, 一些蛋白质分子生物标记应用于恶性肿瘤的预后判断^[1]。本实验应用免疫组化方法检测大肠癌中 EGFR、c-erbB-2 及 VEGF 的表达, 旨在进一步探讨它与大肠癌的临床病理特征的关系, 为大肠癌的诊断、治疗及预后判断提供客观的参考指标。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集上海市长征医院 2002 年 12 月~2003 年 12 月的大肠癌手术标本 61 例, 经 10% 中性福尔马林固定后, 常规石蜡包埋切片。其中男 34 例, 女 27 例, 年龄 26~83 岁, 平均年龄 56.9 岁。按 Dukes 分期, A+B 期 20 例, C+D 期 41 例; 有淋巴结转移 23 例, 无淋巴结转移 38 例; 有肝转移 4 例, 无肝转移 57 例; 高分化 2 例, 中分化 53 例, 低分化 6 例; 肿瘤

收稿日期: 2007-03-05; 修回日期: 2007-05-08

作者单位: 1. 200070 上海, 第二军医大学附属长征医院肿瘤科, 2. 病理科

通讯作者: 王杰军, E-mail: jiejunw@csc.org.cn

作者简介: 杜伟 (1969-), 女, 硕士在读, 主要从事恶性肿瘤的治疗研究

大小 5 cm 40 例, > 5 cm 21 例。

1.2 试剂

(1) 鼠抗人 c-erbB-2/ HER-2/ 原癌基因蛋白单克隆抗体(上海长岛生物技术有限公司产品, 产品编号: R-0196; 克隆号: e2-4001 + 3B5); (2) 抗人 EGFR 单克隆抗体(福州迈新生物技术开发有限公司产品, 产品编号: MAB-0196; 克隆号: EGFR/ 113); (3) 抗人 VEGF 单克隆抗体(福州迈新生物技术开发有限公司产品, 产品编号: MAB-0243; 克隆号: JH121)。

1.3 方法及分级标准

采用免疫组化 Envision 法。主要步骤: (1) L-Lysine 处理玻片; (2) 连续石蜡切片 4 μm, 60 °C 烘干 1 h; (3) 常规脱蜡、水化组织切片; (4) 预处理组织切片; (5) 切片用蒸馏水洗 1 × 3 min, PBS 洗 2 × 3 min; (6) 3% H₂O₂ 阻断内源性过氧化物酶, 孵育 10 min; (7) PBS 洗 3 × 3 min; (8) 滴加第一抗体, 置湿盒内 4 °C 过夜; (9) PBS 洗 3 × 3 min; (10) 滴加 EnvisionTM 孵育 30 min; (11) TBS 洗 3 × 3 min; (12) DAB 显色 5 ~ 10 min; (13) 苏木精复染, 常规脱水透明、中性树脂封片。

染色结果判定: 细胞膜或胞浆呈淡棕色为 1 分, 棕黄色 2 分, 棕褐色 3 分; 阳性细胞数 ≤ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 74% 为 3 分, 75% 为 4 分; 染色的评分与阳性细胞数评分相加, 0 ~ 1 分(-), 2 ~ 3 分(+), 4 ~ 5 分(++), 6 ~ 7 分(+++); 最后得分以 4 ~ 7 分为高表达。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计分析软件, 分别以 c-erbB-2、EGFR、VEGF 为应变量, 以肿瘤大小、淋巴结转移、肝脏转移、Dukes 分期、性别、年龄为自变量进行多重线性回归分析。

2 结果

2.1 c-erbB-2、EGFR、VEGF 在大肠癌中的表达

61 例大肠癌中 45 例(73.8%) c-erbB-2 阳性表达, 其主要分布于上皮细胞膜, 见图 1; 在恶性组织中

呈阳性表达而临近的正常组织呈阴性表达, 见图 2; 61 例大肠癌中 30 例(49.2%) EGFR 阳性表达, 其主要分布于上皮细胞膜, 见图 3; 61 例大肠癌中 43 例(70.5%) VEGF 阳性表达, 其主要分布于上皮细胞的胞浆, 见图 4。

2.2 c-erbB-2、EGFR、VEGF 的表达与大肠癌临床病理特征的关系

按 α = 0.10 水准, 在 3 种分析中性别、年龄被剔除, 共引入肿瘤大小、淋巴结转移、肝脏转移、Dukes 分期等 4 个变量。各偏回归系数见表 1。

表 1 4 个自变量的偏回归系数值表

应变量	偏回归系数 b			
	肿瘤大小	淋巴结转移	肝脏转移	Dukes 分期
c-erbB-2	0.081	0.098	0.065	0.078
EGFR	0.089	0.069	0.076	0.083
VEGF	0.099	0.079	0.084	0.039

用逐步回归法筛选变量, 按 α = 0.10 水准, 在以上的 3 种分析中性别、年龄被剔除, 共引入肿瘤大小、淋巴结转移、肝脏转移、Dukes 分期等 4 个变量, 对各偏回归系数进行统计学检验, t 值均大于查表所得 t 值 1.671, 见表 2, 故 P < 0.10, 可认为 c-erbB-2、EGFR 及 VEGF 三者在大肠癌中的表达与肿瘤大小、淋巴结转移、肝脏转移及 Dukes 分期有关, 而与性别、年龄无关。

表 2 3 组分析中, 4 个自变量的偏回归系数 b 经假设检验的 t 值表

应变量	偏回归系数 b 经假设检验的 t 值(α = 0.10, 双侧)			
	肿瘤大小	淋巴结转移	肝脏转移	Dukes 分期
c-erbB-2	1.986	2.356	1.866	2.145
EGFR	1.783	2.214	2.142	2.563
VEGF	1.899	1.975	2.356	1.856

3 讨论

EGFR 属于 erbB 酪氨酸蛋白激酶家族, 该家族的成员包括 erbB1、2、3 和 4。erbB1 也称为 EGFR,

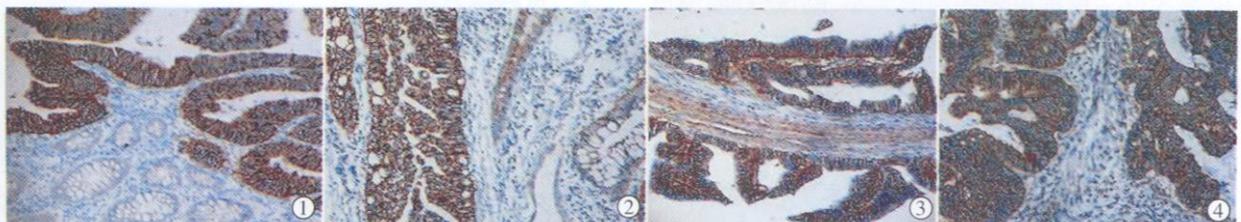


图 1 大肠癌组织中 c-erbB2 阳性表达
图 3 大肠癌组织中 EGFR 表达阳性

图 2 c-erbB2 在恶性组织及临近正常组织中的表达
图 4 大肠癌组织中 VEGF 表达阳性 (均用 Envision 法 ×300)

是具有酪氨酸激酶活性的 erbB 家族的典型成员之一,能够被配体激活^[2,3]。EGFR 主要自主结合配体有 EGF 和 TGF α , 它们在许多肿瘤中包括胃肠道肿瘤 DNA 合成和细胞生长的主要催化剂,EGFR 能与 EGF 及 TGF α 等有效结合,引起细胞增生;在一定条件下,EGFR 可能存在自身激活从而导致细胞的异常增生,并在细胞的恶性转化中发挥重要作用^[4]。

研究证实,EGFR 的表达和激活在恶性增殖中起作用^[5,6],且通过对细胞骨架的重构、黏附、移动、表达及蛋白脂酶的活化等多种机制在肿瘤转移中起重要作用^[7]。已有研究提示 EGFR 在结肠癌中过表达可能与疾病病程晚有关^[8],另外 EGFR 蛋白的表达还与肿瘤的分级及肿瘤的侵袭性相关^[9,10],并与肠系膜淋巴结转移率高有关^[11]。

本研究结果显示,大肠癌组织中的 EGFR 阳性表达率为 49.2% (30/61), EGFR 的表达与肿瘤大小、淋巴结转移、肝脏转移及 Dukes 分期相关,且相关性由大到小的是肿瘤大小、Dukes 分期、肝脏转移、淋巴结转移。在肿瘤病灶大、分期晚、有肝脏转移或有淋巴结转移的肿瘤组织中,EGFR 的表达高于病灶小、分期早、无肝脏转移或无淋巴结转移者。提示 EGFR 高表达的肿瘤可能具有更强的侵袭性。

正常情况下 c-erbB-2 基因处于非激活状态,又称原癌基因,参与细胞生长分化的调节。c-erbB-2 和 EGFR 有近 50% 的同源性,同属 I 型生长因子受体家族,在结构和功能上均相似,可以接受 EGF 样物质的信息,刺激细胞增殖,具有酪氨酸激酶的活性。当受到体内外某些因素作用后,其结构或表达调控失常从而被激活,具有肿瘤转化活性。研究证实,鸟红细胞增多症病毒的 c-erbB-2 原癌基因产物与 EGFR 的酶解肽段几乎完全一致,它在无配体存在的情况下,可持续激活 EGFR 的蛋白激酶,使细胞生长失控。

本实验中 c-erbB-2 阳性表达率为 73.8% (45/61),且 c-erbB-2 的表达与肿瘤大小、淋巴结转移、肝脏转移及 Dukes 分期相关。从结果中看出,c-erbB-2 基因在肿瘤生长、转移的过程中也起着一定的作用,但目前相关研究还不多,还需更进一步实验来证实。

VEGF 是迄今所发现的最重要的促血管生成因子,本研究结果为 61 例大肠癌组织中 VEGF 阳性表达率为 70.5% (43/61),VEGF 的表达与肿瘤大小、肝脏转移、淋巴结转移及 Dukes 分期相关。随着肿瘤的增大,肝脏的转移,淋巴结转移及 Dukes

分期的提高,VEGF 阳性率随之升高,这表明 VEGF 可能与大肠癌的发生、浸润、转移密切相关,其表达愈强,大肠癌的侵袭性越强,提示 VEGF 可作为反应大肠癌生物学行为的指标。其发生原因可能与 VEGF 可以诱发新生血管形成,这对肿瘤的生长、浸润及转移有重要的作用。

以上 3 个基因的表达与大肠癌的病理学特征关系并不是简单的线性累积关系,在某一特定阶段,可能起着主导作用或者有协同作用,但还需进一步研究证实。

参考文献:

- [1] Vang R, cooley LD, Harrison WR, et al. Immunohistochemical determination of HER-2/ neu expression in invasive breast carcinoma[J]. Am J Clin Pathol, 2000, 113(5):669-674.
- [2] Roberts RB, Min LU, Washing MK, et al. Importance of epidermal growth factor receptor signaling in establishment of adenomas and maintenance of carcinomas during intestinal tumorigenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(3):1521-1526.
- [3] Grant S, Qiao L, Dent P. Roles of erbB family receptor tyrosine kinase, and downstream signaling pathways, in the control of cell growth and survival[J]. Front Biosci, 2002, 7:376-389.
- [4] 孙青,丁彦青. 表皮生长因子受体与脑肿瘤[J]. 国外医学肿瘤学分册, 1997, 24(6):350.
- [5] Bowman T, Garcia R, Turkson J, et al. STA TS in oncogenesis[J]. Oncogene, 2000, 19(21):2474-2488.
- [6] Testa JR, Bellacosa A. A KT plays a central role in tumorigenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(20):10983-10985.
- [7] Gross ME, Zorbas MA, Daniels YL, et al. Cellular growth response to epidermal growth factor in colon carcinoma cells with an amplified epidermal growth factor receptor derived from a familial adenomatous polyposis patient[J]. Cancer Res, 1991, 51(5):1452-1459.
- [8] Gross ME, Zorbas MA, Daniels YL, et al. Cellular growth response to epidermal growth factor in colon carcinoma cells with an amplified epidermal growth factor receptor derived from a familial adenomatous polyposis patient[J]. Cancer Res, 1991, 51(5):1452-1459.
- [9] Mckay JA, Murray LJ, Curran S, et al. Evaluation of the epidermal growth factor receptor in colorectal tumors and lymph node metastases[J]. Eur J Cancer, 2002, 38(17):2258-2264.
- [10] Prewett MC, Hooper AT, Bassi R, et al. Enhanced antitumor activity of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody IMC-C225 in combination with irinotecan (CPT-11) against human colorectal tumor xenografts [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(5):994-1003.
- [11] Karameris A, Kanavaros P, Aninos D, et al. Expression of epidermal growth factor (EGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in gastric and colorectal carcinomas. An immunohistological study of 63 cases [J]. Pathol Res Pract, 1993, 189(2):133-137.

[编辑:贺文;校对:周永红]