论著

文章编号:1000-5404(2008)07-0628-03

EGFR、COX-2及P63蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其意义

陈寿松,肖同浩,陈昕薇,彭正银,梁励玮 (广州军区武汉总医院病理科,武汉 430070)

摘 要:**目的** 检测表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)及P63蛋白在人非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的表达情况,探讨其与NSCLC临床TNM分期及淋巴结转移的关系。**方法** 采用免疫组化(S-P法)检测EGFR、COX-2及P63蛋白在78例NSCLC中的表达情况。**结果** EGFR、COX-2及P63蛋白在NSCLC组织中的阳性表达率分别为65.4%(51/78)、61.5%(48/78)和56.4%(44/78)。COX-2和P63的阳性表达在肺鳞癌和腺癌之间具有显著性差异($P<0.01$)。EGFR阳性表达在肺鳞癌和腺癌中无显著差异($P>0.05$)。EGFR和COX-2在NSCLC临床TNM Ⅲ~Ⅳ期和有淋巴结转移组阳性表达率均高于TNM Ⅰ~Ⅱ期和无淋巴结转移组($P<0.01$)。P63蛋白阳性表达率与TNM分期及淋巴结转移无显著差异($P>0.05$)。**结论** EGFR、COX-2在NSCLC组织中高表达可能促进肺癌的侵袭和转移,COX-2和P63可作为肺鳞癌和腺癌鉴别的参考指标。

关键词:肺肿瘤;表皮生长因子受体;环氧化酶-2;P63;免疫组织化学
中图法分类号:R446.6;R730.23;R734.2 **文献标识码**:A

Expressions of EGFR, COX-2 and P63 in non-small cell lung cancer and their significance

CHEN Shou-song, XIAO Tong-hao, CHEN Xin-wei, PENG Zheng-yin, LIANG Li-wei (Department of Pathology, Wuhan General Hospital of Guangzhou Command, Wuhan 430070, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expressions of epidermal growth factor receptor (EGFR), cyclooxygenase-2 (COX-2) and P63 protein in non-small cell lung cancer (NSCLC) and their relationship with TNM staging and lymph node metastasis of NSCLC. **Methods** Seventy-eight paraffin-embedded specimens of NSCLC from 1998 – 2005 were collected in this study. Inclusion criteria included no chemotherapy or radiotherapy before operation. Pathological diagnosis was made after operation: 43 squamous carcinoma and 35 adenocarcinoma, 45 with lymph node metastasis and 33 without, 13 in stage Ⅰ, 19 in stage Ⅱ, 28 in stage Ⅲ and 18 in stage Ⅳ. The expressions of EGFR, COX-2 and P63 were determined by immunohistochemical staining (S-P). **Results** The expression rates of EGFR, COX-2 and P63 were 65.4% (51/78), 61.5% (48/78) and 56.4% (44/78) respectively in 78 cases of NSCLC. Significant difference in the expressions of COX-2 and P63 was found between squamous carcinoma and adenocarcinoma ($P<0.01$). The expression of EGFR in NSCLC was not associated with histological types of NSCLC ($P>0.05$). The positive rate of EGFR and COX-2 protein expressions in NSCLC of stage Ⅲ-Ⅳ and NSCLC with lymph node metastasis was significantly higher than that in stage Ⅰ-Ⅱ and NSCLC without lymph node metastasis ($P<0.01$). The positive expression of P63 in NSCLC was not associated with TNM staging and lymph node metastasis ($P>0.05$). **Conclusion** Over-expressions of EGFR and COX-2 may play an important role in invasion and metastasis of NSCLC. COX-2 and P63 may be valuable markers in differentiating pulmonary squamous cell carcinoma from pulmonary adenocarcinoma.

Key words: lung neoplasms; epidermal growth factor receptor; cyclooxygenase-2; P63 protein; immunohistochemistry

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)具有酪氨酸激酶活性,它与配体特异结合后可刺激细胞增殖,在肺癌的发生、发展中起重要作用,是目前肿瘤学研究的热点。环氧合酶-2(cyclooxygnase-2, COX-2)是一种诱导酶,过度表达可促进肿瘤细胞过度增殖,与非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)预后密切相关。P63蛋白作为抑癌基因在人体各种肿瘤研究较多,多数作者认为与肿瘤的分化有关,而与肿瘤预后的研究较少。有关EGFR、

基金项目:湖北省卫生厅科研基金(2005JX2B46)
Supported by the Scientific Research Foundation of Hubei Department of Public Health (2005JX2B46)
作者简介:陈寿松,女,江苏省扬州市人,硕士,主任医师,主要从事病理诊断方面的研究。电话:(027)68878654
收稿日期:2007-07-27 修回日期:2007-12-06

COX-2 表达与肺癌预后关系研究的结果也不一致。因此，本研究通过免疫组织化学方法检测这 3 种蛋白在 NSCLC 组织中的表达，探讨其与 NSCLC 临床分期及淋巴结转移的关系。

1　资料与方法

1.1　临床资料

收集本科 1998 – 2005 年保存的 NSCLC 石蜡标本 78 例。病例入选标准为：①患者术前均未接受化疗、放疗；②术后经病理明确诊断。其中鳞癌 43 例，腺癌 35 例。男性 47 例，女性 31 例。年龄 35 ~ 82（52.4 ± 8.7）岁，根据国际抗癌联盟（UICC）1997 年修订的 TNM 分期标准分为，Ⅰ期 13 例，Ⅱ期 19 例，Ⅲ期 28 例，Ⅳ期 18 例，有淋巴结转移 45 例，无淋巴结转移 33 例。

1.2　方法

所有标本经 4% 甲醛固定，石蜡包埋，4 μm 厚连续切片。HE 及免疫组化染色。免疫组化采用 S-P 法，鼠抗人 EGFR、P63 蛋白单克隆抗体及兔抗人 COX-2 多克隆抗体，所用抗体及试剂盒均为即用型，购自福州迈新公司。染色步骤按照试剂盒说明书进行，每批染色设阳性和阴性对照。

1.3　免疫组化结果判断

EGFR 阳性表达为细胞质和（或）胞膜着色，COX-2 阳性表达为胞浆内出现棕黄色颗粒，P63 蛋白阳性表达胞核为棕黄色。表达强度标准：每例切片随机观察 5 个高倍视野，按阳性细胞百分比及着色强度综合计分做半定量积分法判断结果。按阳性细胞的数量记 0 ~ 4 分，阳性细胞数 < 5% 为 0 分，6% ~ 25% 为 1 分，26% ~ 50% 为 2 分，51% ~ 75% 为 3 分，> 75% 为 4 分。阳性强度淡黄色为 1 分，棕黄色为 2 分，棕褐色为 3 分。两项指标的评分相加，0 ~ 1 分为阴性（ – ），2 ~ 3 分为弱阳性（ + ），4 ~ 5 分为中度阳性（ ++ ），6 ~ 7 分为强阳性（ +++ ）。

1.4　统计学分析

实验结果以计数资料表示，采用 SPSS 11.0 统计软件进行 χ^2 检验。

2　结果

2.1　NSCLC 中 EGFR、COX-2 及 P63 蛋白的表达

78 例 NSCLC 组织中，EGFR、COX-2 及 P63 蛋白的阳性表达率分别为 65.4%（51/78），61.5%（48/78）及 56.4%（44/78）。EGFR 在鳞癌中阳性表达为 62.79%（27/43）（图 1），在腺癌中为 68.57%（24/35），两组之间无显著差异（$P = 0.750$）。COX-2 在腺癌中阳性表达为 91.34%（32/35）（图 2），高于鳞癌中 37.20%（16/43）（$P = 0.000$）。P63 在鳞癌中阳性表达为 90.70%（39/43）（图 3），明显高于腺癌 14.29%（5/35），两组之间比较有显著差异（$P = 0.000$）。在高分化鳞癌中，P63 阳性表达多数位于癌巢周边基底部细胞，而在低分化鳞癌中，P63 阳性表达则弥漫分布于癌巢中央与周围，几乎所有癌细胞都表达。

2.2　NSCLC 组织中 EGFR、COX-2 及 P63 蛋白表达与临床分期及淋巴结转移的关系

在 78 例 NSCLC 组织中，EGFR 和 COX-2 蛋白阳性表达与临床 TNM 分期及淋巴结转移密切相关，TNM 分期Ⅰ ~ Ⅱ期与Ⅲ ~ Ⅳ期两组之间比较有显著差异（$P = 0.000$）。有淋巴结转移组与无淋巴结转移两组之间比较亦有显著差异（$P = 0.000$）。而 P63 蛋白的阳性表达与 TNM 不同分期的关系（$P = 0.256$），以及与淋巴结转移的关系（$P = 0.957$），均未见统计学意义，见表 1。

2.3　NSCLC 组织中 EGFR 与 COX-2、P63 蛋白表达的关系

在 78 例 NSCLC 中，EGFR 阳性表达 51 例中，COX-2 阳性表达 40 例，两组之间存在显著差异（$P = 0.000$），而 P63 阳性表达 32 例，与 EGFR 阳性表达之间无显著差异（$P = 0.152$）。

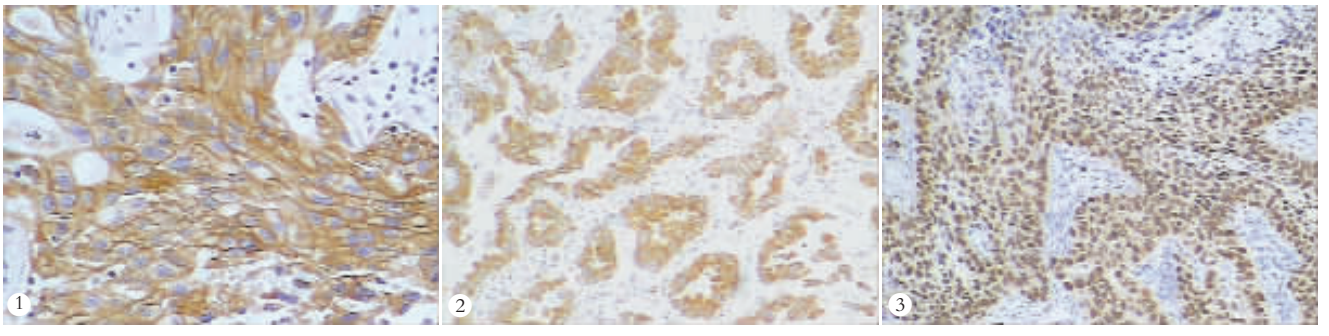


图 1　EGFR 在肺鳞癌细胞膜、细胞质中表达　（S-P × 200）

图 2　COX-2 在肺腺癌细胞质中表达　（S-P × 200）

图 3　P63 在肺鳞癌细胞核中表达　（S-P × 200）

表 1　EGFR、COX-2 及 P63 蛋白在 NSCLC 临床 TNM 分期及淋巴结转移中的表达

生物学行为	n	EGFR 阳性		χ^2	P	COX-2 阳性		χ^2	P	P63 阳性		χ^2	P
		n	%			n	%			n	%		
TNM 分期													
Ⅰ ~ Ⅱ	32	9	28.1	33.283	0.000	11	34.4	16.915	0.000	21	65.6	1.292	0.256
Ⅲ ~ Ⅳ	46	42	91.3			37	88.1			23	50.0		
淋巴结转移													
无转移	33	10	30.3	31.104	0.000	9	27.3	25.922	0.000	18	54.5	0.003	0.957
有转移	45	41	91.1			39	86.7			26	57.8		

3 讨论

肿瘤的侵袭和转移是一个多基因调控、多阶段演进的复杂过程,其中肿瘤细胞的异常增殖是肿瘤侵袭转移的前提,肿瘤细胞黏附性改变及细胞外基质的降解是侵袭转移的条件。EGFR 是一种细胞膜表面的糖蛋白受体,具有酪氨酸激酶活性,是原癌基因 C-erb-1 的表达产物,其过度表达可以促进肿瘤细胞的增殖和肿瘤血管生成,促进细胞迁移,引起肿瘤转移[1]。有研究表明[2],EGFR 的 845 位酪氨酸残基磷酸化是 NSCLC 预后不良的独立因素。本研究显示 EGFR 蛋白在 NSCLC 组织中阳性表达率为 65.4%,其临床 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期组及有淋巴结转移组 EGFR 蛋白阳性表达率明显高于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期及无淋巴结转移组($P<0.01$),提示 EGFR 蛋白表达增高可能促进 NSCLC 的侵袭和转移。

COX 是分解花生四烯酸生成各种内源性前列腺素过程中关键的限速酶,目前发现两种亚型:结构型 COX-1 和诱生型 COX-2。正常情况下,细胞受生长因子、细胞因子、激素和内毒素等刺激时表达增强。近年来研究表明,几乎所有肿瘤都可表达 COX-2,不论是原发灶还是转移灶中都有 COX-2 高表达,说明其参与了调控肿瘤生物学行为。亦有资料表明,在 NSC LC 中 COX-2 呈过度表达[3,4],其表达水平与 NSC LC 的侵袭性、淋巴结转移和临床分期密切相关[5]。本研究亦显示在 NSCLC 临床 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期的组织中 COX-2 阳性表达明显高于Ⅰ~Ⅱ期,有淋巴结转移组 COX-2 阳性率明显高于无淋巴结转移组,说明在 NSCLC 中 COX-2 有促进肿瘤细胞侵袭和转移的作用。研究显示 COX-2 在肺鳞癌和腺癌中阳性表达有显著性差异($P<0.01$),提示 COX-2 可作为肺鳞癌与腺癌鉴别的参考指标。

p63 基因作为明确的抑癌基因,已被广泛而深入研究,在人和鼠组织中主要表达于表皮、宫颈、泌尿道等具有鳞状上皮分化潜能的基底细胞和旁基层细胞[6]。P63 蛋白产物有两类:一类为全长 p63(TAP63)具有类似 p53 的功能,能够反式激活 p53 靶基因的转录并诱导细胞凋亡;另一类是截短 p63(△Np63),具有丧失反式激活 p53 靶基因以及诱导细胞周期停滞和细胞凋亡的功能,其过度表达可能通过竞争 p53 的结合点而抑制 p53 的转录活性,从而抑制细胞凋亡起到癌基因的作用。国内外学者在研究肺癌、宫颈癌、皮肤癌等时发现 p63 主要表达于肺鳞癌、宫颈鳞癌、皮肤鳞状细胞癌,且随分化程度的升高而降低,在腺癌中表达极低或不表达,推测 p63 的表达可能与某种程度的鳞状上皮相关性基因的表达潜能有关[7]。

本研究中,P63 蛋白在肺鳞癌中阳性表达率高达 90.7%,其中在高分化鳞癌中,p63 阳性表达于癌巢周边细胞,呈基底细胞样分布,癌巢中央角化区域则不表达或弱表达;在低分化鳞癌中 p63 表达增强,而且阳性细胞弥漫分布于癌巢中央与周围,与文献[8]报道一致,显示 P63 蛋白的这种表达特点与鳞癌的分化有关,推测由于 p63 的作用是促进具有鳞状上皮分化潜能的干细胞增殖有关,鳞癌分化越低,其中肿瘤性干细胞增殖越多,p63 表达亦增强,这种表达特点亦见于宫颈和食道鳞状细胞癌组织中[9]。本研究结果亦证实 p63 在肺腺癌中主要表现在高分化腺癌的基底层,低分化腺癌中未见 p63 表达,提示 P63 蛋白表达可作为肺低分化鳞癌与其他低分化癌的鉴别指标。本研究未显示 P63 蛋白表达与临床分期及淋巴结转移有关。

有研究报道体外培养的宫颈癌细胞用 EGFR 处理后诱发 COX-2 表达,但可被酪氨酸激酶活性抑制物等抑制,提示 EGFR 信号通路失调可导致 COX-2 表达增强[10]。本研究通过 EGFR、COX-2 及 P63 蛋白的表达关系分析,显示 NSCLC 组织中 EGFR 与 COX-2 蛋白阳性表达有显著性差异($P<0.01$)。提示在 NSCLC 发生、发展中 EGFR 和 COX-2 可能协同促进癌细胞的浸润与转移。

参考文献:

[1] Berghmans T, Meert A P, Martin B, *et al*. Prognostic role of epidermal growth factor receptor in stage Ⅲ nonsmall cell lung cancer[J]. Eur Respir J, 2005, 25(2): 329-335.

[2] Sonnweber B, Dlaska M, Skvortsov S, *et al*. High predictive value of epidermal growth factor receptor phosphorylation but not of EGFRvIII mutation in resected stage I non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. J Clin Pathol, 2006, 59(3): 255-259.

[3] Laga A C, Zander D S, Cagle P T. Prognostic significance of cyclooxygenase 2 expression in 259 cases of non-small cell lung cancer[J]. Arch Pathol Lab Med, 2005, 129(9): 1113-1117.

[4] 彭杰文,张俊凯,孙世珺,等. EGFR、COX-2 的表达以及 MVD 与早期非小细胞肺癌预后的相关性[J]. 肿瘤防治研究,2006,33(8): 575-577.

[5] 王鲁建,孙丽梅. 肺癌组织中 Cox-2 和 Bcl-2 蛋白的相关性及对预后的影响[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2007,16(3): 308-312.

[6] Westfall M D, Pietenpol J A. p63: Molecular complexity in development and cancer[J]. Carcinogenesis, 2004, 25(6): 857-864.

[7] Wang T Y, Chen B F, Yang Y C, *et al*. Histologic and immunophenotypic classification of cervical carcinomas by expression of the p53 homologue p63: a study of 250 cases[J]. Hum Pathol, 2001, 32(5): 479-486.

[8] 向敏峰,刘德森,陈发龙. 非小细胞肺癌组织中 P63 蛋白的表达及其意义[J]. 实用癌症杂志,2005, 20(5): 492-494.

[9] Chen Y K, Huse S S, Lin L M. Differential expression of p53, p63 and p73 proteins in human buccal squamous-cell carcinomas[J]. Clin Otolaryngol Allied Sci, 2003, 28(5): 451-455.

[10] Kulkarni S, Rader J S, Zhang F, *et al*. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in human cervical cancer[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(2): 429-434.

(编辑 王 红)