信号分子[J]. 北京大学学报:医学版, 2004, 36(1):106.
[9] 马平勃, 朱全红, 黄中伟. 绞股蓝泡服对实验性高脂血症及血液流变学的影响[J]. 中国现代应用药学杂志, 2005, 22(6):454-455.
[10] 席连英, 谭华炳, 李儒贵, 等. 脂肪肝的成因与血流变的关系探讨[J]. 中国微循环, 2004, 8(4):251-252.
[11] Fiorucci S, Antonelli E, Mencarelli A, *et al*. The third gas: H_2S regulates perfusion pressure in both the isolated and perfused normal rat liver and in cirrhosis[J]. Hepatology, 2005, 42(3):539-548.
[12] Dawe G S, Han S P, Bian J S, *et al*. Hydrogen sulphide in the hypothalamus causes an ATP-sensitive K^+ channel-dependent decrease in blood pressure in freely moving rats[J]. Neuroscience, 2008, 152(1):169-177.

(收稿:2010-07-08;修回:2010-08-20)
(编辑 王 红)

文章编号:1000-5404(2010)22-2443-03

短篇论著

胃癌组织EGFR、HER-2与TopoⅡα的表达及临床意义

梁秀菊[1],高 明[1],周 云[2] (450052 郑州,郑州大学第一附属医院肿瘤科[1];450003 郑州,河南省人民医院肿瘤科[2])

[摘要] **目的** 研究EGFR、HER-2、TopoⅡα在胃癌组织中的表达与临床病理特征之间的关系。**方法** 应用免疫组化方法检测108例胃癌及22例正常胃组织中EGFR、HER-2、TopoⅡα的表达情况,分析三者的表达与临床病理特征之间的关系,并对其相关性进行分析。**结果** 108例胃癌组织中EGFR、HER-2、TopoⅡα阳性表达率分别为41.7%、31.5%、53.7%,22例正常胃组织阳性表达率分别为和0%、0%、4.5%。EGFR、HER-2、TopoⅡα蛋白的高表达与胃癌的部位、细胞分化程度、浸润深度、淋巴结转移及TNM分期有关($P<0.05$,$P<0.01$);而与患者的性别、年龄及肿瘤直径无明显关系($P>0.05$)。EGFR与HER-2之间($r=0.317$,$P=0.001$),EGFR与TopoⅡα之间($r=0.257$,$P=0.007$),HER-2与TopoⅡα之间($r=0.270$,$P=0.005$)的表达均呈正相关。**结论** EGFR、HER-2、TopoⅡα在胃癌组织表达增高与胃癌的发生、发展密切相关。

[关键词] 胃癌;EGFR;HER-2;TopoⅡα;靶向治疗
[中图法分类号] R735.2;R730.23;R730.43 **[文献标志码]** A

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤,发病率居恶性肿瘤的第4位[1]。手术治疗仍然是根治胃癌的最有效方法,然而仅有30%~40%的胃癌患者可通过单纯的手术治疗而获得治愈,大部分患者死于肿瘤的再发或远处转移。内科治疗仍是胃癌主要的治疗方法,近年来,胃癌的分子靶向治疗研究取得实质性的进展,靶向治疗制剂的高效低毒特性越来越引起临床医师的重视,目前这种治疗策略主要包括表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)靶向治疗、血管内皮生长因子(VEGF)通道的靶向治疗、细胞周期抑制剂及多靶点治疗等。本研究应用免疫组化法检测并分析EGFR、原癌基因人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)、拓扑异构酶(TopoⅡα)在胃腺癌组织和正常胃黏膜组织中的表达情况,探讨其作为分子靶点指导胃癌分子靶向治疗的临床意义。

[通信作者] 周 云,E-mail:zhouyun1336@hotmail.com

1 资料与方法

1.1 标本

108例胃腺癌组织(包括乳头状腺癌、管状腺癌、黏液腺癌)和22例正常胃组织均来自河南省人民医院2008年11月至2009年12月间手术切除的新鲜标本,胃癌组织标本均经甲醛固定、石蜡包埋,并经HE染色组织学确诊。其中男性70例,女性38例,年龄30~79岁,全部患者术前未行放化疗。根据2003年国际抗癌联盟(UICC)和美国肿瘤联合会(AJCC)联合制定的TNM分期标准进行临床分期。另取正常胃黏膜组织22例作对照,其中男性12例,女性10例,年龄44~77岁。

1.2 试剂与仪器

一抗分别为EGFR(MAB-0196)、HER-2(MAB-0198)、TopoⅡα(MAB-0588),即用型MaxVision检测试剂盒,对二甲氨基偶氮苯(DAB)显色剂,均购自福州迈新生物技术开发公司。仪器包括:石蜡切片机、显微镜、电热恒温干燥箱,镜下图像以Olympus Dp70图像采集分析仪进行采集、分析。

1.3 方法

新鲜胃癌组织标本常规用10%中性甲醛固定,石蜡包埋,制成3~5 μm切片;切片65 ℃电热恒温干燥箱过夜,脱蜡至水;EGFR经胃酶进行酶消化抗原修复,37 ℃水浴箱内孵育

30 min,HER-2、TopoⅡα采用柠檬酸高温修复15 min;PBS液冲洗3 min;H_2O_2 100 ml + CH_3OH 900 ml液浸泡10 min;PBS冲洗3次滴加一抗,4 ℃冰箱过夜;PBS冲洗2次,滴加即用型Max-Vision检测试剂,室温下40 min;PBS冲洗3次后DAB显色;苏木精复染;脱水封片,显微镜下观察。

1.4 结果判断

每批实验均设阳性和阴性对照,EGFR表达阳性可见细胞膜、细胞质有棕黄色颗粒样沉淀,阴性细胞膜细胞质无棕黄色颗粒样沉淀。HER-2表达阳性可见细胞膜有棕黄色颗粒样沉淀,阴性细胞膜无棕黄色颗粒样沉淀。TopoⅡα表达阳性可见细胞核有棕黄色颗粒样沉淀,阴性细胞核无棕黄色颗粒样沉淀。染色分级:整张切片无阳性细胞(-),阳性细胞数<10%(+),阳性细胞数10%~50%(++),阳性细胞数>50%(+++)。

1.5 统计学分析

应用SPSS 17.0统计软件进行分析。计数资料采用2个(或多个)样本率比较的χ^2检验,积分相关性采用Spearman等级相关分析。

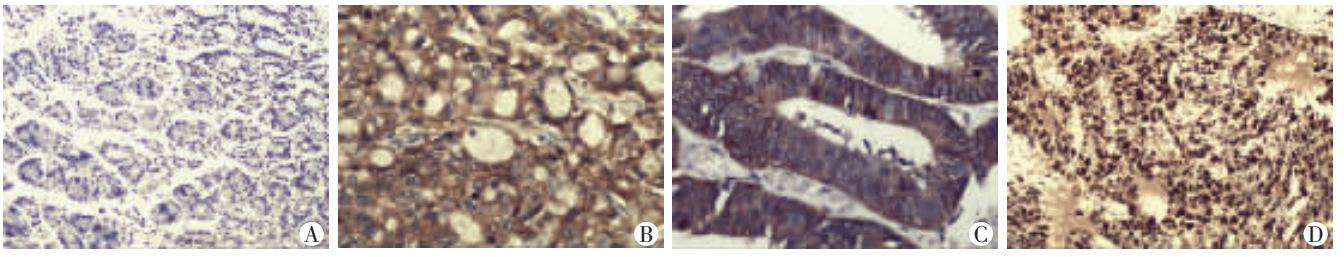
2 结果

2.1 EGFR、HER-2、TopoⅡα在胃癌中的表达

EGFR、HER-2、TopoⅡα在胃腺癌中的表达分别为41.7%(45/108)、31.5%(34/108)、53.7%(58/108)。在正常胃组织中的表达为0%、0%、4.5%(1/22)。见图1。

2.2 EGFR、HER-2、TopoⅡα蛋白表达与胃癌临床病理特征间的关系

EGFR、HER-2、TopoⅡα蛋白表达与患者性别、年龄、肿瘤直径均无关($P>0.05$),与肿瘤部位、分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移及临床分期有关($P<0.05$,$P<0.01$),即在胃底部的表达高于胃体部和贲门部,随着分化程度越差、浸润越深、出现淋巴结转移、远处转移、分期越高时其三者表达会增高(表1)。



A:正常胃腺组织;B:胃腺癌组织EGFR染色阳性;C:胃腺癌组织HER-2染色阳性;D:胃腺癌组织TopoⅡα染色阳性

图1 免疫组化检测胃腺癌组织中EGFR、HER-2、TopoⅡα的表达 (S-P ×100)

表1 EGFR、HER-2、TopoⅡα表达与胃癌临床病理参数之间的关系[例数(%)]

病理参数	例数	EGFR		HER-2/neu		TopoⅡα	
		阳性	*P*值	阳性	*P*值	阳性	*P*值
性别							
男	70	28(40.0)	0.633	20(28.6)	0.528	40(57.1)	0.331
女	38	17(44.7)		14(36.8)		18(47.4)	
年龄(岁)							
<50	52	19(36.5)	0.298	16(30.8)	0.878	26(50.0)	0.457
≥50	56	26(46.4)		18(32.1)		32(57.1)	
肿瘤直径(cm)							
<5	40	16(40.0)	0.788	11(27.7)	0.494	19(47.5)	0.321
≥5	68	29(42.6)		23(33.8)		39(57.4)	
肿瘤部位							
上部	38	10(26.3)		7(18.4)		17(44.7)	
中部	30	7(23.3)	0.000	5(17.2)	0.000	11(36.7)	0.002
下部	40	28(70.0)		22(55.0)		30(75)	
分化程度							
高分化	27	5(18.5)		4(14.8)		9(33.3)	
中分化	34	13(38.2)	0.004	7(20.6)	0.002	12(35.3)	0.000
低分化	47	27(57.4)		23(48.9)		37(78.7)	
浸润深度							
未浸及浆膜层	28	4(14.3)	0.001	2(7.1)	0.001	4(14.3)	0.000
浸及浆膜层	80	41(51.3)		32(40.0)		54(67.5)	
淋巴结转移							
无	41	11(26.8)	0.014	7(17.1)	0.012	8(19.5)	0.000
有	67	34(50.7)		27(40.3)		50(74.6)	
远处转移							
无	100	38(38.0)	0.009	27(27.0)	0.001	43(43.0)	0.023
有	8	7(87.5)		7(87.5)		7(87.5)	
TNM分期							
Ⅰ+Ⅱ期	58	15(25.9)	0.000	4(6.9)	0.000	12(20.7)	0.000
Ⅲ+Ⅳ期	50	30(60.0)		30(60.0)		46(92.0)	

2.3 EGFR、HER-2、Topo Ⅱα 在胃癌组织中的相关性

EGFR、HER-2、Topo Ⅱα 在胃癌肿瘤组织中表达呈正相关，其中 EGFR 和 HER-2 的相关系数为 0.317（$P=0.001$）；EGFR 和 Topo Ⅱα 的相关系数为 0.257（$P=0.007$）；HER-2 和 Topo Ⅱα的相关系数为 0.270（$P=0.005$）。

3 讨论

EGFR 属于酪氨酸激酶Ⅰ型受体家族，其胞外区与配体结合后，促进其胞内区酪氨酸激酶磷酸化，通过 RAS/RAF/MAPK 等细胞信号转导途径将信号传向细胞核内，调节细胞生长、凋亡等生命活动[2,3]。EGFR 高表达可促进血管生成及肿瘤细胞的增殖、黏附、侵袭和转移，抑制肿瘤细胞的凋亡[4]。EGFR 基因突变或表达异常与多种恶性肿瘤的发生、发展密切相关。本研究显示 EGFR 在胃癌组织中阳性表达率为 41.7%，其表达随着肿瘤部位、侵袭深度加深、出现淋巴结转移及远处转移而明显增高，说明 EGFR 参与了胃癌肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移等生物学行为。单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶抑制剂是目前临床应用比较广泛的分子靶向药物。单克隆抗体西妥昔单抗等能与 EGFR 胞外区结合，竞争性抑制 EGFR 与配体的结合，阻断其信号转导通路，从而抑制恶性肿瘤细胞生长；而小分子酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼等与 EGFR 胞内区 18～21 外显子编码酪氨酸激酶区结合，通过抑制酪氨酸激酶活性发挥作用[5-7]。这两类作药物已应用于胃癌的治疗[8]。

HER-2 与 EGFR 同属 HER/erbB 的成员，在结构和功能上均相似，主要参与细胞生长分化的调节，正常情况下 HER-2 处于非激活状态，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[9]。HER-2 扩增和过度表达与许多有害的细胞特性有关，包括血管生成、细胞生成、细胞运动、生长促进以及细胞生存能力的增强。本研究显示，HER-2 在胃癌中的阳性表达率为 31.5%，且其表达随着肿瘤部位、侵袭深度加深、出现淋巴结转移及远处转移而明显增高。曲妥珠单抗是以 HER-2 为靶点的人源化单克隆抗体，Höhler 等[10]在治疗晚期胃癌的Ⅲ期临床研究中表明，在 HER-2 过度表达胃癌患者中应用曲妥珠单抗可使生存期延长 4.2 个月。

Topo Ⅱα 是真核细胞内重要的核酶，它对真核细胞中 DNA 的复制、转录、重组、修复有重要的作用。本研究结果显示，Topo Ⅱα 在胃癌和正常胃组织中的表达有明显的差异（$P<0.05$），并且 Topo Ⅱα 在高、中分化的胃癌中的表达明显低于在低分化胃癌中的表达（$P<0.01$）。Topo Ⅱα 是许多抗癌药如柔红霉素、阿霉素、VP-16 等的重要靶点，这些药物通过 DNA 拓扑异构酶与 DNA 交链形成共价复合物，引起 DNA 永久性损伤（DNA 断裂），导致肿瘤细胞凋亡。Topo Ⅱα 表达降低使肿瘤细胞对多种抗癌药产生耐药。Topo Ⅱα 含量的高低，可以作为判定各种肿瘤对抗癌药物的敏感性或抗药性的指标。

我们认为联合检测 EGFR、HER-2、Topo Ⅱα 在胃癌中的表达可筛选胃癌高危转移患者、判定对抗癌药物的敏感性或抗药性，同时作为分子靶点指导胃癌靶向治疗，为胃癌患者提供另外有效的、综合的、个体化的治疗途径。

参考文献：

[1] Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al*. Cancer statistics, 2006 [J]. CA Cancer J Clin, 2006, 56 (2): 106-130.

[2] Shigematsu H, Gazdar A F. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor signaling pathway in lung cancers [J]. Int J Cancer, 2006, 118(2): 257-262.

[3] Yamamoto H, Toyooka S, Mitsudomi T. Impact of EGFR mutation analysis in non-small cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2009, 63 (3): 315-321.

[4] Tamas P, Solti Z, Bauer P, *et al*. Mechanism of epidermal growth factor regulation of Vav2, a guanine nucleotide exchange factor for Rac [J]. J Biol Chem, 2003, 278(7): 5163-5171.

[5] Lurje G, Lenz H J. EGFR signaling and drug discovery [J]. Oncology, 2009, 77(6): 400-410.

[6] Ray M, Salgia R, Vokes E E. The role of EGFR inhibition in the treatment of non-small cell lung cancer [J]. Oncologist, 2009, 14(11): 1116-1130.

[7] Okamoto I. Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR-targeted anticancer therapy [J]. FEBS J, 2010, 277 (2): 309-315.

[8] Lordick F, Luber B, Lorenzen S, *et al*. Cetuximab plus oxaliplatin/leucovorin/5-fluorouracil in first-line metastatic gastric cancer: a phase Ⅱ study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie (AIO) [J]. Br J Cancer, 2010, 102(3): 500-505.

[9] Sirica A E. Role of ErbB family receptor tyrosine kinases in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(46): 7033-7058.

[10] Höhler T, Ruschoff J, Ridwelski K, *et al*. HER2 testing and targeted therapy in advanced gastric cancer [J]. Onkologie, 2010, 33(Suppl 4): 26-30.

（收稿：2010-06-20 修回：2010-09-12）
（编辑 张 维）