维普资讯 http://www.cqvip.com

29-32

(10)

文章编号：0253-3626（2000）01-0029-04

EGF、EGFR及PCNA在肺癌中的表达

蒋幼凡、薛亚梅
（重庆医科大学第二临床学院肺科 400010）

R734.202

摘 要 用S-P免疫组化方法对52例原发性肺癌作EGF、EGFR和PCNA检测。结果显示，46例NSCLC中EGF、EGFR的阳性表达率分别为60.9%和63%，6例小细胞癌和正常肺组织无表达。有转移的肺癌组EGFR的阳性表达率高于无转移组($P<0.05$)。52例肺癌中PCNA的阳性表达率为78.8%。NSCLC中EGF、EGFR的表达与肺癌分期、病理分级以及PCNA的表达呈正相关。以上结果提示EGF、EGFR的表达与高转移率、低分化和高增殖有关，可作为肺癌患者预后判断的重要参考指标。

关键词 表皮生长因子；表皮生长因子受体；肺癌 PCNA
中国图书分类法分类号：R734 **文献标识码**：A **收稿日期**：1999-04-09

Expression of EGF、EGFR and PCNA in patient with lung cancer

JIANG You-fan, et al
Department of Respiratory Disease, the Second College of Clinical Medicine

Abstract: The expression of EGF、EGFR and PCNA in 52 patients with lung cancer was observed with immunohistochemical s-p methods in this study. EGF、EGFR and PCNA expression in patients with lung cancer was significantly higher than those in normal controls.The positive staining rate of EGF and EGFR in 46 patients with NSCLC were 60.90% and 63%, respectively. The incidence of EGFR expression was higher in patients with metastasis than in patients without metastasis ($P<0.05$). The positive staining of PCNA in 52 patients with lung cancer was 78. 8%. EGF and EGFR expression was significantly correlated to the clinical stage and grading of NSCLC. PCNA expression was associated with NSCLC grading. EGF、EGFR overexpression were related to the expression of PCNA. Positive correlations between EGF and EGFR overexpression and high metastatic rate, poor tumor differentation and high rate of tumor proliferation were found. The findings suggest that EGF and EGFR overexpression can be used as an independent prognostic factor marker for patients with lung cancer.

Key Words: EGF; EGFR; Tumor Pulmonary

表皮生长因子(EGF)及其受体(EGFR)与肿瘤细胞的增殖、分化、预后密切相关，在多种肿瘤中表达增高[1~3]。增殖细胞核抗原(PCNA)可反映肿瘤细胞的增殖状态和所处的周期，临床上可作为肺癌病人预后判断的一个指标[4]。迄今对EGF及EGFR在肺癌中的表达情况有一定了解，但较少涉及EGF、EGFR与增殖指标PCNA的相关性问题。我们用免疫组化法联合检测肺癌患者组织中EGF、EGFR、PCNA的表达，观察EGF、EGFR与临床分期、病理分级和PCNA的关系，以探讨EGF、EGFR对预后判断的指导作用。

1 材料与方法

1.1 材料 选择1994～1997年行外科手术切除或行纤维支气管镜活检的肺癌病理标本52例作为实验材料。其中男性42例，女性10例，年龄37～76岁，平均56.3岁。组织学类型为鳞癌30例，腺癌16例，小细胞未分化癌6例。按国际肺癌TNM分期标准进行分期，Ⅰ期18例、Ⅱ期8例、Ⅲ期23例、Ⅳ期3例。其中46例非小细胞肺癌按病理学分级标准分为Ⅰ级6例、Ⅱ级26例、Ⅲ级14例。对照组取15例上述手术病人远离癌组织的正常肺组织（距肿瘤病变10cm以上）作对照。

1.2 方法 常规脱蜡水化后采用0.01M pH为6.0的柠檬酸盐为缓冲剂通过高温、高压进行抗原修复，后采用免疫组化S-P法染色，DAB显色，抗体及药盒均由福州迈新生物技术开发公司提供。具体操作按S-P免疫组化染色步骤进行。

1.3 结果判定 EGF、EGFR阳性主要在细胞浆或细胞膜着棕色。PCNA阳性主要在细胞核着棕色。根据着色程度及着色细胞百分数判定为：阴性(-)：浅棕色，阳性细胞占0～4%；弱阳性(+)：浅棕色，阳性细胞占5%～19%；中等阳性(++)：棕色，阳性细胞占20～49%；强阳性(+++)：棕色或深棕色，

作者介绍：蒋幼凡(1963-09出生)，女，讲师，硕士

维普资讯 http://www.cqvip.com

阳性细胞≥50%。

1.4 数据处理 获得的实验数据，率间比较采用 χ^2分析。EGF、EGFR与PCNA的相关性以及这三种指标与肿瘤分级、分期的关系用等级相关分析。

2 结 果

2.1 肺癌组织EGF、EGFR、PCNA的表达 结果见表1

从表1可见，15例正常肺组织EGF、EGFR和PCNA均未见表达。肺癌组织中EGF、EGFR、PCNA阳性表达率明显高于对照组，尤以非小细胞肺癌(NSCLC)较明显，46例NSCLC中，EGF表达率为60.9%(28/46)，EGFR表达率为63%(29/46)。不同类型肿瘤上述指标的表达各异，EGF在腺癌中的染色阳性表达显著高于鳞癌($\chi^2=11.13$，$P<0.05$)。小细胞肺癌(SCLC)中无EGF、EGFR表达。同时发现EGF和EGFR均阳性的有22例(47.8%)，表明肺癌中EGF和EGFR可同时表达。

2.2 46例NSCLC中EGF、EGFR和PCNA表达与TNM分期、病理分级的关系 (见表2)

如表2所示，采用等级相关分析显示EGF的阳性表达与肺癌的分期、病理分级呈正相关(r分别为0.378和0.538；$P<0.05$)；EGFR阳性表达也与肺癌的分期、病理分级呈正相关(r分别为0.343和0.46；$P<0.05$)。结果显示随着病理组织学分级和临床分期增高，EGF和EGFR的染色增强，阳性细胞检出率增加。PCNA的阳性表达也与肿瘤的分级呈正相关(r为0.56，$P<0.05$)，但却与肿瘤的分期无明显的相关(r为0.16，$P>0.05$)。

2.3 46例NSCLC中EGF、EGFR的表达与PCNA表达的相关性 (见表3)

如表3所示，在46例NSCLC中，用等级相关分析表明，PCNA的表达与EGF、EGFR表达呈正相关(r分别为0.52和0.39；$P<0.05$)，结果表明，随着EGF、EGFR表达增强，PCNA表达的强度也随之增高。

2.4 EGF、EGFR的表达与NSCLC淋巴结转移的关系 (见表4)

如表4所示，在46例NSCLC中，27例存在区域或纵膈淋巴结转移，其中21例EGFR染色阳性；未转移的19例病例中，仅7例EGFR染色阳性。二者经统计学检验，差异有显著性($\chi^2=7.846$，$P<0.05$)。本实验还发现EGF与EGFR双阳性的21例病人中，16例有淋巴结转移，5例无转移，而在双阴性的10例病人中，仅有3例病人发生淋巴结转移，7例无转移，显示EGF和EGFR同时阳性的病人易发生转移，预后差。

3 讨 论

表1 EGF、EGFR、PCNA在肺癌及正常肺组织中的表达

类型	例数	EGF		EGFR		PCNA	
		−	+	−	+	−	+
鳞癌	30	17	13	12	18	6	24
腺癌	16	1	15	5	11	2	14
小细胞癌	6	6	0	6	0	3	3
正常肺组织	15	15	0	15	0	15	0

表2 NSCLC中EGF、EGFR、PCNA表达与分期、分级的关系

	例数	EGF				EGFR				PCNA			
		−	+	++	+++	−	+	++	+++	−	+	++	+++
Ⅰ期	16	8	7	0	1	9	5	1	1	1	9	2	4
Ⅱ期	8	6	2	0	0	3	5	0	0	4	3	1	0
Ⅲ期	20	4	11	3	2	4	8	6	2	2	5	5	8
Ⅳ期	2	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1
Ⅰ级	6	6	0	0	0	4	2	0	0	3	2	1	0
Ⅱ级	26	10	14	2	0	11	11	4	0	5	13	3	5
Ⅲ级	14	2	7	2	3	2	5	4	3	0	2	4	8

维普资讯 http://www.cqvip.com

表3 NSCLC中EGF、EGFR与PCNA表达的关系

		例数	EGF表达				EGFR表达			
			−	+	++	+++	−	+	++	+++
PCNA	−	8	6	2	0	0	4	4	0	0
	+	17	8	7	2	0	8	8	1	0
	++	8	2	6	0	0	1	4	3	0
	+++	13	2	6	2	3	4	2	4	3

表4 EGF、EGFR表达与NSCLC淋巴结转移的关系

类型	例数	EGF		EGFR	
		阳性	阴性	阳性	阴性
有转移	27	19*	8	21**	6
无转移	19	9	10	7	12

* $\chi^2=2.47$ $P>0.05$ （与无转移组比较）

** $\chi^2=7.84$ $P<0.05$ （与无转移组比较）

EGF是一种分子量为6.45KD的多肽，由人的肾、乳腺、唾液腺等分泌，以外分泌的形式分泌到尿液、乳汁、唾液及一些体液中。EGF能与靶细胞膜上的EGFR结合产生生物效应。而EGFR是一种分子量为170KD的酪氨酸激酶型受体，当它与EGF结合后能促进受体内的酪氨酸激酶激活，导致受体酪氨酸残基自身磷酸化，提供持续分裂信号到细胞内，引起细胞增殖、分化[5,6]。许多实验表明，原癌基因、癌基因、生长因子及其受体在肺癌的发生、发展中起着重要作用。

关于EGF及EGFR在肺癌中的表达，文献报告认为，EGF、EGFR表达于NSCLC，在SCLC中基本不表达。而在NSCLC各型中EGF和EGFR的表达情况尚无一致意见。本实验结果显示，EGF和EGFR在NSCLC中表达增高，阳性表达率分别为60.9%和63%，对照组15例正常肺组织及6例SCLC无EGF、EGFR表达，这与Veale[7]报告的相似。实验还表明EGF与EGFR可在肺癌中同时表达，并且它们的表达预示着肺癌细胞有一种自泌生长环(Autocrine growth loop)存在，能分泌生长因子并表达相应的受体，不断促进肺癌细胞生长。

PCNA是一种分子量为36KD的多肽，主要在增殖细胞中合成与表达，是DNA聚合酶δ的辅助成分，与DNA复制和细胞增生有关。PCNA在细胞周期的G1末期增高，S期达高峰，G2期下降，M期几乎测不到[4]。因此，PCNA是代表细胞增殖活性的一个指标。文献报告PCNA的表达与肺肿瘤的TNM分期、病理分级有关，用于肿瘤恶性程度及预后的评估[4,8]。本文结果显示15例正常肺组织PCNA为阴性染色，肺癌中PCNA阳性表达率为78.8%，其中鳞癌的阳性表达率为80%，腺癌和小细胞癌的阳性表达率分别为87.5%和50%。并且PCNA与EGF和EGFR的表达呈正相关（相关系数r分别为0.52和0.39；P值均<0.05），随着EGF和EGFR染色强度增加，EGFR与配体结合后，传递的促分裂信息增加，促进细胞增殖、分裂，核内PCNA表达增加，PCNA的染色强度也增强。体外试验亦证明EGF可诱导PCNA的表达[9]。

进一步分析EGF、EGFR、PCNA与肿瘤TNM分期、病理分级的关系发现，NSCLC患者EGF和EGFR的染色强度与肿瘤的TNM分期、病理分级呈正相关(表2)，即TNM分期高、分化低的肿瘤，EGF、EGFR表达越强。这与Veale、Pavelic等[7,9]报道的结果基本相同。表明在肿瘤生长过程中，高分期、低分化的肿瘤细胞因其处于生长活跃期，EGFR转录增加或基因扩增，使得分期高的肿瘤中出现高表达。Tateishi等[6]曾报告原发性肺腺癌病人有远处转移者(M_1)EGFR表达高于无远处转移者(M_0)。本文同样测得有淋巴结转移的肺癌病人EGFR阳性表达率显著高于无转移者($\chi^2=7.84$，$P<0.05$)，说明EGF/EGFR自分泌系统参与和促进肺癌的生长和转移，EGF和EGFR同时过度表达与低分化、高增殖、易转移有关。PCNA的表达强度与肿瘤的TNM分期无相关($r=0.167$，$P>0.05$)，而与病理分级呈正相关($r=0.563$，$P<0.01$)。这与吕氏等[10]报告PCNA表达与肿瘤分期、病理分级呈正相关的结果不完全一致。可能因为部分病例尽管临床分期低，但仍存在增生活跃的细胞，特别是处于S期细胞增多，使PCNA表达增高，引起PCNA表达强度与TNM分期不一致，这类病人即使为Ⅰ期术后复发率仍可达40%[4]，预后较差。因此，我们认为同时检测EGF、EGFR和PCNA的表达情况，对于肺癌预后判断有重要的价值。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

[1] Bolufer P, Luch A, Molina R, et al. Epidermal growth factor in human breast cancer, endometrial carcinoma and lung cancer [J] Clinica Chimica Acta, 1993;215:51～61

[2] 米建强. 表皮生长因子受体在胃癌及癌前病变中的表达[J]. 中华肿瘤杂志,1993;3:192

[3] Mayer A, et al. The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and mdr gene expression in colorectal cancer[J]. Cancer, 1993;71:2454

[4] Ishida T, Kaneko S, Akazawa K, et al. Proliferating cell nuclear organizer regions as factors influencing prognosis of surgically treated lung cancer patients[J]. Cancer Res, 1993;53: 5000～5003

[5] Gorgoulis V, Aninos D, Mikou P, et al. Expression of EGF, TGF-α and EGFR in squamous cell lung carcinomas[J]. Anticancer Res, 1992;12:1183～1188

[6] Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T. et al. Immunohistochemical evidence of autocrine growth factors in adenocarcinoma of the human lung[J]. Cancer Res, 1990;50:7077～7080

[7]Veale D, Ashcroft T, Marsh C. et al. Epidermal growth factor receptors in non-small cell lung cancer[J]. Br J Cancer, 1987;55: 513～516

[8]Jaskuisky D. Regulation of the proliferating cell nuclear antigen cyclin and thymidine kinase mRNA levels by growth factors[J]. J Biol Chem, 1988;263:1075

[9] Pavelic K, Banjac Z, Pavelic J, et al. Evidence for a role of EGFR in the progression of human lung carcinoma [J]. Anticancer Res, 1993;13:1133～1138

[10] 吕忠东、肺癌中PCNA表达临床意义的初步研究[J].中国肺癌临床与康复，1996;3:19～20

（上接第34页）

参 考 文 献

[1] Ting Y and Manos MM. Detection and typing of genital human papillomavirus[M].In: Innis MA, et al.PCR protocol : A guide to methods and applications. San Diego, Calif: Academic Press Inc:1990;356～367

[2] Baginski I, Ferrie A, Waston R, et al. Detection of hepatitis B virus[M]. In: Innis Ma, et al. PCR protocol: A guide to methods and applications. San Diego, Calif: Academic Press Inc:1990;348～354

[3] Wright DK and Manos MM. Sample preparation from paraffim - embedded tissues[M]. In: Innis MA, et al. PCR protocol: A guide to mothods and applications. San Diego, Calif: Academic Press Inc:1990;153～158

[4] Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel C, et al. Primer directed enzymatic application fo DNA with a thermostable DNA polymerase[J]. Science,1989,239:487～491

[5] Iwasawa A,Kumamoto Y and Fujinaga K. Detection of human Papillomavirus deoxyribonucleic acid in penile carcinoma by polymerase chain reaction and in situ hybridization [J]. J Urol.1993;149(1):59～63

[6] Varma VA, Sancher-LM M, Unger ER, et al. Association of human papillomavirus with penile carcinoma: a study using polymerase chain reaction and in situ hybridization[J] Hum Pathol, 1991;22:908～913

[7] McCance DJ, Kalache A, Ashdown K, et al. Human papillomavirus type 16 and 18 in carcinoma of the penis from Brazil[J]. Int J Cancer, 1986;37:55～59

[8] 赵进英，祝庆蕾，务孔俊，等. 乳头状瘤病毒感染与阴茎尖锐湿疣及阴茎癌之间关系的初步探讨[J].中华泌尿外科杂志,1993;14(3):207～209

[9] 李西启，姜元庆，邹积才，等. 阴茎癌组织中人乳头瘤病毒DNA的原位杂交研究[J].中华泌尿外科杂志,1996;17(10); 627～629

[10] Wiener JS, Effect PJ, Humphrey PA. et al. Prevalence of human papillomavirus types 16 and 18 in squamous- cell carcinoma of the penis : a retrospective analysis of primary and metastatic lessions by differential polymerase chain reaction . [J]Int J Cancer, 1992;50:694～701