DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.06.029

erb B-2和 EGFR在人类膀胱癌中的共表达

经验交流

Co-overexpression of erb B-2 and EGFR in human bladder cancer

周建新 张放鸣* 李蓉芬 李玉萍 董燕麟 (第三军医大学基础部生物化学教研室)重庆,630038

erb B-2的扩增和过度表达是乳腺癌、卵巢癌的预后判断的重要指标,关于膀胱癌也有类似的报道[1-3]。EGFR过度表达是膀胱的高分级、高分期移行细胞癌的表现[4]。这两个膜受体都具有酪氨酸蛋白酶活性并参与细胞的信号传导途径。erb B-2和 EGFR的基因虽定位于不同的染色体上,但它们编码的受体却在结构上高度类似,两者的主要区别在膜外部分,这种结构上的一致性说明它们的功能也可能密切相关。为了解这两个基因在肿瘤发生中所起的作用及与病理分级、临床分期的关系,我们对10例人膀胱癌中这两个基因的表达进行了研究。

1 材料与方法

1.1 细胞培养与膀胱癌组织的取材

膀胱癌细胞系 BIU87(北京),HTB-3(ATCC)培养于含5%小牛血清的1640培养基中,经 PBS洗涤后收集细胞提取 DNA RNA 膀胱癌标本来源于重庆西南医院,手术切取的组织标本立即贮存于液氮。

1.2 RNA的提取和 RNA杂交

总 RNA的提取用异硫氰酸胍法[4],每孔 25μg总 RNA经0.9%琼脂糖甲醛变性电泳,经毛细吸附转移至 Zeta-Probe (Bio-Rad)膜上,80℃固定2 h,采用标准杂交液,杂交反应在65℃进行16 h,膜对 X线底片在-70℃爆光。

5 kb erbB-2探针、1.8 kb EGFR探针和 c-fos探针均由美国 M.D. Anderson癌症中心提供。探针采用 α-P-dCTP经随机引物法标记,杂交液中的探针浓度为 10^6 cpm/ml。

2 结果

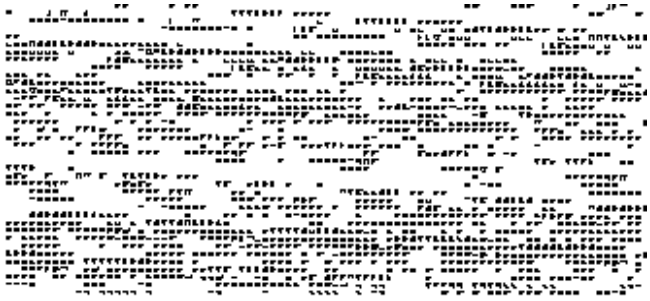
2.1 病理学资料

10例膀胱癌病人中,男性9例,女性1例,年龄在31~89岁之间,平均年龄59.9岁。经组织病理证实10例中有9例为移行细胞癌,1例为小细胞癌,临床分期按 UICC标准 T1 5例,T2~T3 5例。病理分级按 WHO标准,I级1例,II级7例,III级2例。

2.2 erb B-2水平分析和 EGFR的表达

采用 Northern blot,从膀胱癌组织中提取总 RNA,经^{32}P标记 erb B-2探针杂交,在研究的10例中国人膀胱癌标本中,有4例出现 erb B-2的高表达(40%)。

与此同时,检测了两个膀胱癌细胞株中 erb B-2的表达水平作为对照,其中 BIU87是中国人膀胱癌细胞株,其 erb B-2的表达水平略低于 ATCC的膀胱移行细胞癌株 HTB-3,但仍高于正常对照,说明 erb B-2的高表达在膀胱癌中是一种较普通的现象见附图。



附图 erbB-2 mRNA和 EGFR mRNA的表达

带在各组织间分子量一致。另一条较小分子的带大小略有差别,很难说明是基因重排的结果。这条带的意义仍不清楚,在文献中多报道为(5.6~5.9)kb[5],在我们的实验中分子量较小,在两个膀胱癌细胞株中,EGFR的表达也与 erb B-2的表达有一定关系。HTB-3表达的 erb B-2和 EGFR的 mRNA的水平均比 BIU87高。

在我们所检查的9例为移行细胞癌,这些结果主要反映了移行细胞癌的情况。1例小细胞癌虽为 PT3G3肿瘤,但未能查出有 erb B-2和 EGFR的过度表达。在 erb B-2高表达的癌组织中,4个病例中有两例的年龄分别为31和43岁,其中32岁者(病例10) erb B-2表达水平最高且同时伴有 c-fos的高表达见表1、2

* 生物学教研室 重庆,630038

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1 erb B-2 EGFR mRNA过度表达与膀胱癌患者年龄的关系

Age	Total cases	Overexpression cases	
		erb B-2 mRNA	EGFR mRNA
30~ 49	2	2 (100%)	1 (50%)
50~ 69	6	2 (33%)	3 (50%)
70~ 89	2	0 (0%)	1 (50%)

表2 erb B-2 EGFR mRNA过度表达与膀胱癌分期、分级的关系

	Total cases	Overexpression cases	
		erb B-2 mRNA	EGFR mRNA
Stage			
T1	5	3 (60%)	3 (60%)
T2	4	1 (25%)	2 (50%)
T3	1	0 (0%)	0 (0%)
Grade (WHO)			
I	1	0 (0%)	0 (0%)
II	7	4 (57%)	5 (71%)
III	2	0 (0%)	0 (0%)

3 讨论

关于膀胱癌的研究都分别已有 EGFR和 erb B-2高表达的报道[6,7],这两个基因产物的结构又非常相似,它们在膀胱癌中作用的关系是值得注意的问题,在肿瘤的研究中,有人注意到 EGFR和 erb B-2有逆向表达的趋势[8],即一个基因表达高则另一个基因表达低,另一方面,也有实验证明配体与 EGFR结合后,不但引起 EGFR的磷酸化,同时也会引起185/erb B-2受体蛋白的磷酸化。这种共同激活的机理也许会影响这两个基因的表达。在我们的实验结果中,4例 erb B-2高表达的膀胱癌组织中有3例同时伴有 EGFR的高表达,这说明至少在部份癌组织中这两个基因可以同时激活。同时,分析培养的膀胱癌细胞株表达这两个基因的水平,HTB-3表达 EGFR和 erb B-2的水平均明显高于 BIU 87(附图)。这一结果进一步证明这两个基因的高表达可以共同存在,膀胱癌组织中也可以出现单独的 EGFR或 erb B-2高表达。erb B-2的配体尚未确定。EGFR是一个可以与多种配体结合的受体,如 EGF、TGFα、中调素都能与之结合。虽然难以确定癌细胞中这两个基因出现共同高表达是否受同一因素的影响,但采取同时针对 erb B-2和 EGFR的措施提高膀胱癌的诊断和治疗作用可能是有益的。

本组资料中两例50岁以下患者的癌组织均有 erb B-2的高表达,erb B-2表达水平最高的一例(BC10)同时也有 c-fos高水平表达(附图)。乳腺癌的研究也证明50岁以下患者 erb B-2高表达发生率高于高龄组。年轻患者的肿瘤往往生长较快。这些结果提示 erb B-2的高表达可能与肿瘤的快速增殖有关。表2的资料显示,erb B-2高表达多发生在 T1期肿瘤,似乎与肿瘤的临床分期有一定的关系,但还待更多病例研究结果的证实。

(本组病理资料由附属西南医院病理科提供,组织标本的收集得到泌尿科和病理科的大力协助,特此致谢。)

关键词 膀胱肿瘤; erb B-2; EGFR;基因表达

中图法分类号 R737.14

参考文献

1 Mellon KJ, Lunec J, Wright C *et al*. C-ERBB-2 in bladder cancer: molecular biology, correlation with epidermal growth facter receptors and prognostic value. J Urol, 1996; 155: 321

2 Knowles A M. Molecular genetics of bladder cancer. Br J Urol, 1995; 75(Suppl): 57

3 Lipponen P, Eskelinen M. Expression of epidermal growth factor receptor in bladder cancer as related to established prognostic factors, oncoprotein (c-erb B_2, p53) expression and long-term prognosis. Br J Cancer, 1994; 69: 1120

4 Chomegynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal Biochem, 1987; 162: 156

5 Atlas I, Mendelsohn J, Baselga J *et al*. Growth regulation of human renal carcinoma cells: Role of transforming growth factor α. Cancer Res, 1992; 52: 3335

6 Nguyen P L, Swanson P E, Haszcz W *et al*. Expression of epidermal growth factor receptor in invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder: A multivariate surviral analysis. Am J Clin Pathol, 1994; 101: 166

7 Sato K, Moriyama M, Saito M *et al*. An immunohistologic evaluation of c-erb B-2 gene product in patients with urinary bladder carcinoma. Cancer, 1992; 70: 2493

8 Weidner U, Peter S, Strohmeyer T *et al*. Inverse relationship of epidermal growth factor receptor and HER-2/neu gene expression in human renal cell carcinoma. Cancer Res, 1990; 50: 4504

(收稿: 1995-12-27;修回: 1996-06-25)

(编辑 冷怀明)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net