

· 临床研究 ·

# 食管鳞状细胞癌组织中 EGFR、GST- $\pi$ 和癌基因 C-erbB-2 的表达及其意义

强 勇,徐艳辉,李忠东,钱建军,景 华

(南京军区南京总医院心胸外科,南京 210002)

**摘要:**目的 本研究观察 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 在 216 例食管鳞癌中的表达及其意义。方法 收集手术食管鳞癌标本,应用 EnVision 法免疫组化检测 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2。并分别比较高分化与中、低分化组,局部浸润较浅与较深组,有与无淋巴结转移组,临床分期较早与较晚组 3 种基因的表达,探讨 3 者与食管鳞癌临床因素间的关系。结果 EGFR 的表达与食管鳞癌分化程度( $P=0.036$ )、局部浸润( $P=0.022$ )、淋巴结转移情况( $P=0.037$ )、临床分期( $P=0.021$ )有相关性,GST- $\pi$  和 C-erbB-2 的表达与局部浸润( $P=0.019,0.006$ )、淋巴结转移情况( $P=0.028,0.039$ )、临床分期( $P=0.012,0.027$ )紧密相关,与分化程度( $P=0.162,0.722$ )不相关。结论 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 联合检测对判断食管鳞癌生物学行为、预后及指导治疗有重要意义。

**关键词:**肿瘤,鳞状细胞;食管;EGFR;GST- $\pi$ ;C-erbB-2;免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.32.009

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)32-3377-03

## Expression of EGFR, GST- $\pi$ and C-erbB-2 in esophageal squamous cell carcinoma and their clinical significance

Qiang Yong, Xu Yanhui, Li Zhongdong, Qian Jianjun, Jing Hua

(Department of Cardiothoracic Surgery, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China)

**Abstract:** Objective To observe the expression of EGFR, GST- $\pi$  and C-erbB-2 in 216 esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) patients. Methods We collected surgical specimens of ESCC, and applied EnVision immunohistochemical method to detect the expression of EGFR, GST- $\pi$  and C-erbB-2, compared well-differentiated group and poorly differentiated group, shallow local infiltration group and deep group, with and without lymph node metastasis group, earlier clinical stage group and later group, then researched the relationship between the three biochemical substances and clinical factors. Results The data indicates that the expression of EGFR was closely related to differentiation degree ( $P=0.036$ ), the depth of local infiltration ( $P=0.022$ ), lymph node metastasis ( $P=0.037$ ) and the clinical stage ( $P=0.021$ ); and the expression of GST- $\pi$  and C-erbB-2 were associated with depth of local infiltration ( $P=0.019, 0.006$ ), lymph node metastasis ( $P=0.028, 0.039$ ) and the clinical stage ( $P=0.012, 0.027$ ), but not associated with the differentiation degree ( $P=0.162, 0.722$ ). Conclusion Combined detection of EGFR, GST- $\pi$  and C-erbB-2 can play an important role to predict the biological behaviour, prognosis and guide therapy.

**Key words:** neoplasms, squamous cell; esophagus; EGFR; GST- $\pi$ ; C-erbB-2; immunohistochemistry

食管癌是我国五大癌症之一,发病率和病死率一直居高不下。其治疗面临早期诊断困难、易出现局部浸润、淋巴结转移、耐药性等问题。以往研究证实 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 与上皮来源肿瘤的局部浸润、淋巴结转移、耐药性等问题密切相关<sup>[1-5]</sup>。本研究应用 EnVision 免疫组化法检测食管鳞状细胞癌组织中 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 的表达情况,观察它们与食管鳞癌临床因素的关系,以期对食管癌早期诊断、判断其生物学行为以及预后提供重要参考依据,现报道如下。

### 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 本研究收集病例,为本科 2010 年 11 月至 2011 年 4 月收治,术后病理学检查证实为食管鳞状细胞癌,排除术前行放疗、化疗及免疫治疗,共 216 例,其中,男 151 例,女 65 例;年龄 42~79 岁,中位年龄 58 岁。有淋巴结转移者 68 例,无淋巴结转移 148 例。按组织学分化程度:高分化者 61 例,中低分化者 155 例。按国际抗癌联合会(international union against cancer, UICC)2009 年标准临床病理分期:0 期 12 例,Ⅰ期 56 例,Ⅱ期 70 例,Ⅲ期 67 例,Ⅳ期 11 例。标本组织经 4% 甲醛溶液固定,常规石蜡包埋 4  $\mu$ m 厚连续切片,分别进行苏木精-伊红(H-E)染色、光镜观察,并运用 EnVision 免疫组化法染色,检测 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 的表达。所有染色

结果均由两位资深病理科医生阅读诊断核实。

**1.2 试剂与方法** 鼠抗人单克隆抗体 EGFR、GST- $\pi$ 、C-erbB-2 分别购自 Dako 公司、novocastra 公司、NeoMakers 公司,克隆号分别为: E30、LW29、Cocktail; Envision 免疫组化检测试剂盒购自福州迈新生物技术有限公司, DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。免疫组织化学法采用 EnVision 二步法,抗原修复采用 EDTA 缓冲液(pH 8.0)高温高压热修复,染色程序按 Envision 试剂盒说明书进行,采用 3,3'-二氨基联苯胺(DAB)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 显色。

**1.3 结果判断** EGFR 阳性信号定位于细胞膜, GST- $\pi$  阳性信号定位于细胞质。C-erbB-2 阳性信号定位于细胞膜,均为黄色或棕黄色颗粒作为阳性细胞。每张切片随机选择 10 个高倍视野( $\times 200$ ),按阳性细胞百分比分为 4 个等级,即不着色为阴性(-), <25% 为弱阳性(+), 25%~50% 为中度阳性(++), >50% 为强阳性(+++)。本文所指阳性包括弱阳性、中度阳性和强阳性。

**1.4 统计学处理** 研究结果应用 SPSS17.0 软件进行统计分析。率的比较采用  $\chi^2$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 在食管鳞癌中的表达** EG-

FR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 在食管鳞状细胞癌中的表达情况见表 1、封 2 图 1。

**2.2 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 表达与临床因素间的关系** 局部浸润较深者,淋巴结转移阳性者,临床分期较晚者,EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 的阳性表达率均更高;分化程度较低者,EGFR 的阳性表达率更高。即 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 的阳性表达率与局部浸润、淋巴结转移、临床分期呈正相关,而与患者性别、年龄、肿瘤直径比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 1 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 在食管鳞癌中的表达(%)

表达情况	EGFR	GST- $\pi$	C-erbB-2
-	19.9	14.4	29.6
+	13.9	44.4	32.9
++	40.7	19.9	24.5
+++	25.5	21.3	13.0

表 2 食管鳞癌中 EGFR 的表达与临床因素间的关系( $n$ )

临床因素	$n$	EGFR				GST- $\pi$				C-erbB-2			
		-	+	$\chi^2$	$P$	-	+	$\chi^2$	$P$	-	+	$\chi^2$	$P$
性别													
男	151	29	122	0.155	0.694	23	128	0.316	0.574	45	106	0.007	0.933
女	65	14	51			8	57			19	46		
年龄(岁)													
<60	121	24	97	0.001	0.976	18	103	0.061	0.804	38	83	0.416	0.519
$\geq 60$	95	19	76			13	82			26	69		
分化程度													
高分化	61	18	45	4.380	0.036	12	49	1.957	0.162	17	44	0.126	0.722
中、低分化	155	25	130			19	136			47	108		
肿瘤直径(cm)													
<3	87	17	70	0.012	0.912	12	75	0.037	0.847	23	64	0.712	0.399
>3	129	26	103			19	110			41	88		
浸润深度*													
Ti+T1+T2	78	22	56	5.272	0.022	17	61	5.502	0.019	31	47	7.604	0.006
T3+T4	138	21	117			14	124			33	105		
淋巴结转移*													
无	136	33	103	4.373	0.037	25	111	4.853	0.028	47	89	4.279	0.039
有	80	10	70			6	74			17	63		
临床分期*													
0+I+II期	138	34	104	5.363	0.021	26	112	6.264	0.012	46	92	4.867	0.027
III+IV期	78	9	69			5	73			18	60		

\*:按国际抗癌联合会(UICC)2009年第7版食管癌TNM分期标准。

**2.3 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 基因表达情况与预后相关因素间的关系** 众多研究显示<sup>[6-7]</sup>,局部浸润程度、肿瘤分期及淋巴结转移情况与食管鳞癌预后紧密相关,是判断其预后的主要因素。EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 基因在食管鳞状细胞癌中,2个或2个以上基因阳性表达者 113 例(52.3%),无基因或1种基因阳性表达者 103 例(47.7%),基因阳性表达情况与食管鳞癌预后相关因素的关系见表 3。

表 3 3 种基因表达情况与预后相关因素间的关系( $n(\%)$ )

基因阳性表达个数	浸润至浆膜以外	淋巴结转移	III+IV期
2个或2个以上	92(81.4)	68(60.2)	98(86.7)
无或单一基因	46(44.7)	12(11.7)	40(38.8)
$\chi^2$	17.124	54.412	53.567
$P$	<0.01	<0.01	<0.01

### 3 讨论

表皮生长因子受体(EGFR)是肿瘤细胞增殖、分化和抗凋

亡过程中的重要调节因子,其高表达可以促进肿瘤细胞增殖、黏附、侵袭和转移,诱导肿瘤新生血管形成<sup>[1]</sup>。这一结论得到本研究结果验证,即 EGFR 高表达与食管鳞癌分化程度、局部浸润、淋巴结转移情况、临床分期有密切的关系。关于 EGFR 及针对 EGFR 的靶向药物的研究,已成为近年来抗肿瘤治疗的主要热点<sup>[4,8]</sup>。

GST- $\pi$ ,即胎盘型谷胱甘肽硫转移酶,具有结合、解毒等功能<sup>[9-10]</sup>,Kodate 等在 1986 年首次证明在人结肠癌中 GST- $\pi$  高表达,以后相继在多种肿瘤中发现 GST- $\pi$  阳性表达或含量显著增高<sup>[11]</sup>。这与本研究结果基本一致,即在食管鳞癌中 GST- $\pi$  阳性表达率高达 80.1%。本研究还显示,GST- $\pi$  的表达与食管鳞状细胞癌局部浸润深度、淋巴结转移情况、临床分期密切相关。大量研究表明,GST- $\pi$  与肿瘤预后和耐药关系密切,是肿瘤细胞产生耐药的一种标志,已成为癌症化疗方案选择的重要参考<sup>[2-3,12-13]</sup>。

C-erbB-2 基因,又称 HER-2 基因,位于 17 号染色体长臂

上(17q21),cDNA 的长度为 4.5 kb,编码的 C-erbB-2 蛋白是一种相对分子质量为  $185 \times 10^3$  的跨膜糖蛋白,其胞内区的羧基端含有多个酪氨酸,可以通过磷酸化而被激活,再与含有 SH2 结构域的蛋白结合。将胞外信号传到核内,最终在核内调节转录,从而发挥对细胞功能的调节作用。C-erbB-2 的表达与食管癌预后关系的报道尚不多。已有不少学者正致力于 C-erbB-2 肿瘤靶向治疗的研究<sup>[14]</sup>。

本研究显示,2 个或 2 个以上基因阳性表达与主要预后相关因素,即局部浸润、淋巴结转移情况、临床分期,均密切相关。提示联合检测 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 对判断食管鳞癌生物学行为、预后及指导治疗有重要意义。

#### 参考文献:

[1] 张天彪,赵滢,关一夫. TNF- $\alpha$  和 EGFR 在胃癌中表达的相关性研究[J]. 山东医药,2010,50(20):63-64.  
 [2] 冯丹,刘云鹏. GST- $\pi$  与恶性肿瘤多药耐药的研究进展[J]. 肿瘤防治杂志,2004,11(6):663-665.  
 [3] 向丽,金先庆. 5 种经典耐药基因在儿童常见恶性肿瘤的表达及临床意义[J]. 重庆医学,2010,39(1):7-9,12.  
 [4] Guo XF,Zhu XF,Zhong GS,et al. Lapatinib, a dual inhibitor of EGFR and HER2, has synergistic effects with 5-fluorouracil on esophageal carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2012,27(5):1639-1645.  
 [5] He S,Liao TT,Chen YT,et al. Glutathione-S-transferase enhances proliferation-migration and protects against shikonin-induced cell death in breast cancer cells [J]. *Kaohsiung J Med Sci*,2011,27(11):477-484.  
 [6] Wijnhoven BP,Tran KT,Esternan A,et al. An evaluation of prognostic factors and tumor staging of resected carci-

noma of the esophagus [J]. *Ann Surg*,2007,245(5):717-725.

[7] 曹学全,杨朝晖,章辉,等. 食管鳞癌组织中 talin mRNA 的表达及其与浸润转移的关系[J]. 实用医学杂志,2010,26(5):767-769.  
 [8] Wiwanitkit V. Combination of EGFR and COX-2 inhibitors in breast cancer patient[J]. *Tumor Biol*,2012,33(4):1261.  
 [9] Vaughn MP,Biswal Shinohara D,Castagna N,et al. Humanizing  $\pi$ -class glutathione S-transferase regulation in a mouse model alters liver toxicity in response to acetaminophen overdose[J]. *PLoS One*,2011,6(10):e25707.  
 [10] Jones BA,Christensen AR,Wise JP,et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in African-American and white colorectal cancer patients[J]. *Cancer Epidemiol*,2009,33(3/4):249-256.  
 [11] 刘映. C-erbB-2、Ki67 及 GST- $\pi$  在乳腺癌中的表达及相互关系[J]. 中国现代医药杂志,2006,8(6):9-12.  
 [12] 印国兵,孙治君,郭丹,等. Pgp,MRP1 和 GST 介导乳腺癌细胞对 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 耐药的初步研究[J]. 重庆医学,2010,39(7):812-814.  
 [13] 吴慧,樊青霞,陈奎生. 食管鳞癌组织 GST- $\pi$  和 TOPO-II 表达及其相关性研究[J]. 中华肿瘤防治杂志,2010,17(9):669-672.  
 [14] Krop I,Winer EP. Further progress in HER2-directed therapy[J]. *Lancet Oncol*,2012,13(1):2-3.

(收稿日期:2012-02-20 修回日期:2012-07-08)

(上接第 3376 页)

[5] Agarwal S,Holton KL,Lanza R. Efficient differentiation of functional hepatocytes from human embryonic stem cells[J]. *Stem Cells*,2008,26(5):1117-1127.  
 [6] 陈国忠,姜海行,陆正峰,等. 骨髓间充质干细胞共培养对肝星状细胞增殖、凋亡和 RohA 表达的调控[J]. 世界华人消化杂志,2010,18(6):1643-1649.  
 [7] Gojo S,Gojo N,Takeda Y,et al. In vivo cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells[J]. *Exp Cell Res*,2003,288(1):51-59.  
 [8] Fan TX,Hisha H,Jan TN,et al. Successful allogeneic bone marrow transplantation(BMT) by injection of bone marrow cells via portal vein;stromal cells as BMT-facilitating cells[J]. *Stem Cells*,2001,19(2):144-147.  
 [9] Snykers S,Vanhaecke T,Papeleu P,et al. Sequential exposure to cytokines reflecting embryogenesis;the key for in vitro differentiation of adult bone marrow stem cells into functional hepatocyte-like cells[J]. *Toxicol Sci*,2006,94(2):330-341.  
 [10] Seo MJ,Suh SY,Bae YC,et al. Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage in vitro and in vivo[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2005,328(1):258-264.

[11] Sgodda M,Aurich H,Kleist S,et al. Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells from rat peritoneal adipose tissue in vitro and in vivo[J]. *Exp Cell Res*,2007,313(13):2875-1886.  
 [12] Banas A,Teratani T,Yamamoto Y,et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes[J]. *Hepatology*,2007,46(1):219-228.  
 [13] Sato Y,Araki H,Kato J,et al. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion[J]. *Blood*,2005,106(2):756-763.  
 [14] Popp FC,Slowik P,Eggenhofer E,et al. No contribution of multipotent mesenchymal stromal cells to liver regeneration in a rat model of prolonged hepatic injury[J]. *Stem Cells*,2007,25(3):639-645.  
 [15] di Bonzo LV,Ferrero I,Cravanzola C,et al. Human mesenchymal stem cells as a two-edged sword in hepatic regenerative medicine:engraftment and hepatocyte differentiation versus profibrogenic potential[J]. *Gut*,2008,57(2):223-231.

(收稿日期:2012-03-09 修回日期:2012-06-23)