

研究表皮生长因子受体(EGFR) 与非小细胞肺癌的相关性

王 辉*, 邢惠芝, 林雪清, 郑新琳
(山东省威海市立二院, 山东 威海 264200)

原发性肺癌是指由支气管粘膜上皮细胞恶变而来的恶性肿瘤。原发性肺癌又可大体上分为小细胞肺癌(Small Cell Lung Cancer, SCLC) 和非小细胞肺癌(Non-small Cell Lung Cancer, NSCLC)。非小细胞肺癌易由血道和(或)淋巴道播散, 是全世界最普遍的癌症之一。据估计, 全世界每年约有 17 万新发病例^[1]。随着对肺癌发生、发展过程中分子生物学机制和癌基因突变的深入研究和认识, 在非小细胞肺癌组织中发现了表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, EGFR), 现已成为研究 NSCLC 的热点。本文拟研究 EGFR 的表达与非小细胞肺癌的相关性。

1 材料与方法

1.1 一般资料 收集我院胸外科 2000 年 1 月至 2006 年 12 月间手术切除肺癌石蜡包埋癌组织标本和石蜡包埋的非肺癌肺组织标本共 350 例。全为男性。年龄范围(33~73)岁, 中位年龄 53.2 岁。所有标本均经多名病理医师确诊, 并予以组织分型: 小细胞肺癌 100 例, 非小细胞肺癌 200 例, 非肺癌 50 例。

1.2 主要仪器和试剂 仪器: 石蜡切片机: leica RM2135 型(德国); 微波炉: Mitsubishi, RA-800S 型(日本); 隔水式电热恒温培养箱: PYX-DHS-50X65(上海跃进医疗器械厂); 光学显微镜: Olympus, BHF-342W 型(日本); 照相机: 三星 C-35AD-4 型(韩国)。试剂: 人抗 EGFR 单克隆抗体(即用型)(MAB-0196); 防脱片剂: Poly-L-Lysine 多聚赖氨酸(GLV-0040); 消化酶: Pepsin 胃蛋白酶(水剂) DIG-3009; 抗原修复液: EDTA 抗原修复缓冲液 PH9.0(MVS-0098); 显色剂: DABKit(DAB-0031); 苏木素精 CTS-1099; 中性树脂 DAB-0038, 以上均来自福州迈新生物技术开发有限公司。免疫组化试剂盒(EnVisionTM+ 加强型试剂盒 K400011) DAKO 公司产品。

1.3 方法 免疫组化采用 EnVision 二步法。先用 L-Lysine 预处理玻片, 连续石蜡切片, 厚 4 μ m, 60 $^{\circ}$ C 烤箱内烘干 1 h, 常规脱蜡, 水化组织切片。预处理切片: EGFR 用胃蛋白酶消化处理: 用 0.4% 胃蛋白酶液, 37 $^{\circ}$ C 孵育(10~180)min 即可。切片用蒸馏水洗 1 次 \times 3 min, PBS 冲洗 2 次 \times 3 min, 加 3% 双氧水阻断溶液, 室温下孵育 10 min, 抑制内源性过氧化物酶活性, PBS 冲洗 3 次 \times 3 min, 除去 PBS 液, 每张切片直接加 50 μ L

正常山羊血清液封闭, 室温下孵育 10 min, 用纸吸干除去鸭蛋清, 每张切片直接滴加 50 μ L 兔抗人 EGFR 单克隆第一抗体。室温下孵育, 置湿盒内 4 $^{\circ}$ C 过夜。PBS 冲洗 3 次 \times 3 min。

以上实验操作是由经验丰富的临床技师完成。

1.4 阳性结果判定 癌细胞核内有棕黄色颗粒, 且具备 ① 细胞形态结构清晰; ② 细胞着色明显高于背景底色; ③ 棕黄色颗粒明确, 定位性好, 不向外扩散。采用染色指数法计算阳性结果, 综合考虑阳性细胞百分数和染色强度两个方面。在 100 倍显微镜下随机选取 5 个高倍视野, 计算肿瘤细胞中阳性细胞百分数, 将阳性细胞百分数在 0%~5% 之间评为 0 分, 6%~25% 评为 1 分, 26%~50% 评为 2 分, 51%~75% 评为 3 分, 76% 以上评为 4 分; 染色强度计算方法, 肿瘤细胞不着色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分, 同一视野, 取最大值和最小值的平均值作为其染色指数评分。上述两项之和即为该肿瘤细胞的染色指数评分, 染色指数(0~2)分定义为阴性表达, (3~7)分定义为阳性表达。

1.5 统计学方法 SPSS 软件进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 认为具有统计学差异。

2 结果

见表 1, 其中, 在非肺癌和小细胞肺癌 EGFR 的阳性表达为 0, 在非小细胞肺癌的 200 例中, 有 166 例表达, 阳性率为 83%。结果分析: 实验结果 χ^2 值为 18.24, $P < 0.05$ 。结果有统计学意义。多个实验组间的两两比较表明: 非小细胞肺癌和非肺癌组之间, 非小细胞肺癌和小细胞肺癌之间, 均 $P < 0.01$, 结果有统计学意义。由此我们得出结论: EGFR 的检测有利于将非小细胞肺癌和非肺癌肺组织和小细胞肺癌组织区别开来, EGFR 和非小细胞肺癌在统计学上有相关性。

表 1 肺癌组织 EGFR 表达的实验结果

组织类型	例数	阳性	阴性	阳性率(%)	χ^2 值
小细胞肺癌	100	0	100	0.0	18.24
非小细胞肺癌	200	166	34	83.0	
非肺癌	50	0	50	0.0	
合计	350	166	184	47.0	

3 讨论

EGFR 是一种细胞膜表面的糖蛋白受体。EGFR 在大多数 NSCLC 组织中呈现出过量表达。EGFR 可在 NSCLC 以及其他多种上皮源性肿瘤细胞中过表达, 可能机制为: ① EGFR 发生突变, 出现配体非依赖性的酪氨酸活化; ② 配体过表达使 EGFR 信号传递过活化; ③ EGFR 过表达, 可能的原因为增强转录、转录后机制或基因扩增。EGFR 过度表达提示着存活率低, 预后差, 转移可能性大, 并与化疗敏感性下降关系密切, 因此认为 EGFR 在包括 NSCLC 在内的上皮源性肿瘤的发生、发展、转移中发挥重要作用^[2]。EGFR 的过表达有如下临床意义: ① 有利于 NSCLC 的临床诊断, 将 NSCLC 和非肺癌 SCLC 区别开来; ② EGFR 在 NSCLC 中高表达, 引发了对 NSCLC 靶向治疗的研究。开发和使用针对 EGFR 的临床靶向

[收稿日期] 2008-09-04

[通讯作者] * 王辉, Tel: (0631) 5271200

治疗药物例如: 吉非替尼和艾罗替尼。此外,我们将进一步研究女性 EGFR 的表达规律。

[参考文献]

[1] Saldivar JS, Chen Z, Sommer S. EGF receptor testing for non-small cell lung carcinomas[J] . Curr Protoc Hum Genet.

2006. Aug; Chapter 10: Unit 10. 9.

[2] Hirata A, Ogawa S, Kometsni T, *et al.* ZD 1839(iressa) induces antiangiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase[J] . Cancer Res. 2002, 62(9) : 2554-2534.