

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.07.006  
文章编号: 1005-8982(2016)07-0024-05

论著

## 表皮生长因子受体及其 III 型突变体 在人食管癌的表达及意义

朱彦红, 韩大正

(河南大学第一附属医院 消化内科, 河南 开封 475001)

**摘要:目的** 检测表皮生长因子受体(EGFR)及表皮生长因子受体 III 型突变体(EGFRv III)在人食管癌组织中的表达,探讨其与食管癌发生、发展的关系及其与各临床病理特征之间的关系。**方法** 采用免疫组织化学染色法(Maxvision™ 二步法)检测食管癌组织及正常食管组织中 EGFR 和 EGFRv III 蛋白的表达水平,并将检测结果与临床病理参数进行综合分析。**结果** 食管癌组织 EGFR 和 EGFRv III 的表达率分别为 65.6%、58.5%,正常食管黏膜 EGFR 和 EGFRv III 表达率为 30.0%、0%。EGFR 在食管癌组织的表达明显高于正常食管组织( $P < 0.01$ ),EGFRv III 在正常食管黏膜不表达。二者在食管癌组织的表达与性别、年龄、肿瘤大小和生长部位均无相关( $P > 0.05$ ),与食管癌的分化程度、淋巴结转移、远隔器官转移及临床分期相关( $P < 0.05$ )。**结论** EGFR、EGFRv III 过度表达可能与食管癌的发生发展密切相关,EGFR、EGFRv III 有望作为预测食管癌预后的候选基因,EGFRv III 在食管癌组织中特异性表达,可能使其成为食管癌治疗的理想的靶点。

**关键词:** 表皮生长因子受体;表皮生长因子受体 III 型突变体;食管癌;免疫组织化学

**中图分类号:** R735.1

**文献标识码:** A

## Expressions of EGFR and EGFR variant III in human esophageal carcinoma and their significance

Yan-hong Zhu, Da-zheng Han

(Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital, Henan University,  
Kaifeng, Henan 475001, China)

**Abstract: Objective** To detect expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and epidermal growth factor receptor variant III (EGFRv III) in human esophageal carcinoma and to explore its relation with the genesis and development of human esophageal cancer and its relationship with clinicopathological parameters. **Methods** Immunohistochemistry (Maxvision™2) was used to detect the expressions of EGFR and EGFRv III protein in human esophageal cancer tissues of 58 cases and normal esophageal tissue specimens from 20 non-cancer patients. **Results** Positive expression rates of EGFR and EGFRv III in the human esophageal cancer tissues (65.6% and 58.5% respectively) were higher than those of the normal gastric tissues (30.0% and 0%,  $P < 0.01$ ). EGFRv III was not expressed in the normal esophageal tissue. Their expressions were unrelated with gender, age, tumor size or tumor location ( $P > 0.05$ ); but were closely related with the degree of differentiation, lymph node metastasis, distant metastasis and clinical stages of esophageal cancer patients ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Over-expression of EGFR and EGFRv III may be closely related to initiation and progression of esophageal cancer. EGFR and EGFRv III could be considered as the markers for predicting the prognosis of human esophageal cancer. And the specific expression of EGFRv III in esophageal carcinoma can make it the ideal target of treatment of esophageal carcinoma.

**Keywords:** EGFR; EGFRv III; esophageal cancer; immunohistochemistry

收稿日期: 2015-06-10

[通信作者] 韩大正, E-mail: [hdyfzyh@126.com](mailto:hdyfzyh@126.com); Tel: 0371-25661617

食管癌是常见的消化道肿瘤,全世界每年大约有30万人死于食管癌,中国为高发区,死亡率每年约15万人,严重危害人类的生命健康。流行病学资料显示食管癌的人群分布与年龄、性别、职业、种族、地理生活环境、饮食、生活习惯、遗传易感性等有一定联系。不典型的早期症状使患者得到早期诊断成为一个难题,虽然给予积极的临床治疗,但食管癌患者和其他消化道肿瘤患者一样,大部分死于转移或者肿瘤的复发。因此研究食管癌的发病机制有着重大意义。目前对于表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、表皮生长因子受体Ⅲ型突变体(epidermal growth factor receptor variant Ⅲ, EGFRvⅢ)在食管癌中的表达情况和相关性研究报道并不多。本研究应用免疫组织化学法检测食管癌患者肿瘤组织中EGFR、EGFRvⅢ表达情况,并进行统计学分析,以期对食管癌患者预后、综合性的个体化治疗方案的制定及分子靶向治疗提供有力的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

研究组58份食管癌组织标本来源于河南大学第一附属医院2013年6月-2013年12月经食管-胃-十二指肠镜活检标本,并经组织病理学证实为食管鳞状细胞癌。其中,男性38例,女性20例;年龄37~83岁,中位年龄64岁。所有病例术前均未经放疗、化疗和免疫治疗。另外取20份正常食管黏膜组织标本(来源于同时期接受内镜检查活检的非食管癌病例)作为对照组。

### 1.2 试剂

Rabbit Anti-EGFR(浓缩型)、Rabbit Anti-EGFRvⅢ(浓缩型)均购自北京博奥森生物技术有限公司,即用型快捷免疫组织化学Maxvision™ 2检测试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。

### 1.3 方法

组织标本经10%中性甲醛溶液固定、脱水、石蜡包埋后,连续切片3张,厚4 $\mu$ m,1份作HE染色,1份作EGFRvⅢ免疫组织化学染色,1份作EGFR免疫组织化学染色。免疫组织化学采用Maxvision™ 二步方法,所有标本在同一条件下染色、DAB显色(滴加一抗浓度为1:600),选用公司提供的已知EGFRvⅢ、EGFR阳性表达的食管癌切片在同一条件下染色作为阳性对照,以PBS代替一抗作

为阴性对照。

免疫组织化学Maxvision™ 二步方法:①65℃烤片4h。②石蜡切片脱蜡和水化。③PBS液冲洗3次,每次3min。④抗原修复:浸泡于枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)中,高压锅中煮沸2min,放至室温后用蒸馏水冲洗2min。⑤室温下浸泡于3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>中10min,以消除内源性过氧化物酶活性。⑥PBS冲洗,3min×3次。⑦每张切片滴加1滴适当浓度的一抗Rabbit Anti-EGFR或一抗Rabbit Anti-EGFRvⅢ试剂,室温下孵育2h。⑧PBS冲洗,2min×3次。⑨每张切片滴加1滴即用型Maxvision™ 2试剂,室温下孵育30min。⑩PBS冲洗,3min×3次。⑪除去PBS液,每张切片滴加2滴配置后的DAB显色液,室温25℃显色,显微镜下观察3~5min,蒸馏水洗涤。⑫自来水充分冲洗,苏木素复染,PBS冲洗返蓝。⑬脱水,透明,封片。

### 1.4 结果判定

光学显微镜观察染色结果观察,采用双盲法,由2位病理科医生在不知临床资料的情况下读片,在全切片的上、下、左、右中随机选取一个400倍视野,观察5个视野中阳性细胞的染色强度并计算阳性细胞数,计算细胞总数不少于1000个,按阳性细胞所占百分数分为:阳性细胞百分率<5%为阴性(-);5%~24%为弱阳性(+);25%~50%为中度阳性(++);>50%为强阳性(+++)。

### 1.5 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件进行数据分析,组间分析用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 EGFR、EGFRvⅢ在食管癌和正常组织的阳性表达

正常食管黏膜组织的EGFRvⅢ无阳性染色(见图1),EGFR的阳性染色主要位于基底膜,呈棕色或棕褐色沉淀,点片状分布(见图2);食管癌组织的EGFR表达和EGFRvⅢ阳性染色主要位于细胞膜,呈棕色或棕褐色沉淀,点片状分布,胞浆也可见阳性表达,细胞核无染色(见图3、4)。食管癌组织EGFR表达的阳性率为65.6%(38/58),正常组织EGFR阳性率30.0%(6/20),两组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。食管癌组织EGFRvⅢ阳性率为58.5%(34/58),正常组织阳性率为0%(0/20),两组比较差异有统计学意

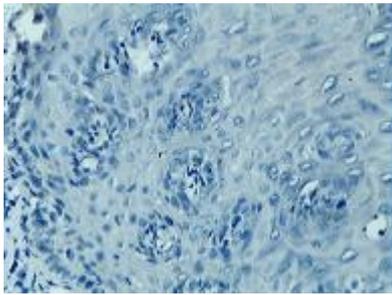


图 1 正常食管黏膜组织的 EGFRvIII 阴性表达 (× 400)

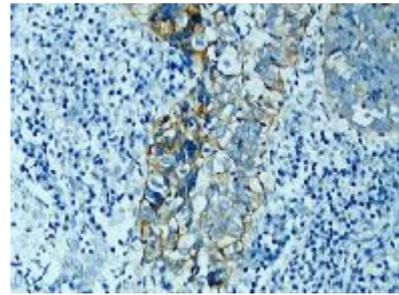


图 2 正常食管黏膜组织的 EGFR 阳性表达 (× 400)

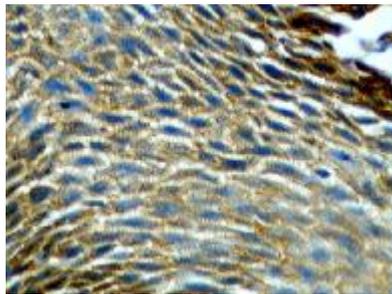


图 3 食管癌组织的 EGFRvIII 阳性表达 (× 400)

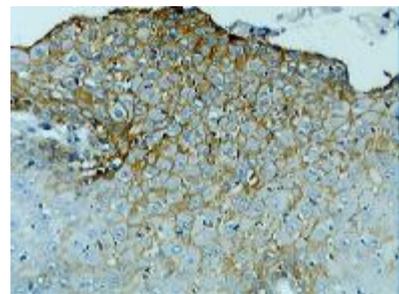


图 4 食管癌组织的 EGFR 阳性表达 (× 400)

表 1 正常食管黏膜组织和食管癌组织中 EGFR 和 EGFRvIII 表达

组别	例数	EGFRvIII 表达				EGFR 表达			
		阳性	阴性	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值	阳性	阴性	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
食管癌组织	58	34	24	20.784	0.000	38	20	7.630	0.006
对照组	20	0	20			6	14		

义( $P < 0.01$ )(见表 1)。

### 2.2 EGFR、EGFRvIII 与临床病理特征的关系

EGFR 和 EGFRvIII 在食管癌组织的表达与性

别、年龄、肿瘤大小和生长部位均无相关( $P > 0.05$ ), 与胃癌的分化程度、淋巴结转移、远隔器官转移及临床分期相关( $P < 0.05$ )(见表 2)。

表 2 EGFR 和 EGFRvIII 表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	EGFRvIII 表达				EGFR 表达			
		阳性	阳性率 /%	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值	阳性	阳性率 /%	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
分化程度									
G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub>	24	10	41.7	4.851	0.028	11	45.8	7.021	0.008
G <sub>3</sub>	34	24	70.6			27	79.4		
淋巴结转移									
无	34	12	35.3	18.432	0.000	15	44.1	16.655	0.000
有	24	22	91.7			23	95.8		
远处转移									
无	46	23	50.0	6.812	0.009	26	56.5	7.963	0.005
有	12	11	91.7			12	100		
临床分期									
0+ I + II	37	14	37.8	18.196	0.000	17	45.9	17.326	0.000
III+IV	21	20	95.2			21	100		

续表 2

临床病理特征	例数	EGFRvⅢ 表达				EGFR 表达			
		阳性	阳性率/%	$\chi^2$ 值	P 值	阳性	阳性率/%	$\chi^2$ 值	P 值
性别									
男	36	23	63.9	1.086	0.297	27	75	1.022	0.312
女	22	11	50.0			11	50		
年龄									
>60 岁	37	21	56.8	0.146	0.702	26	70.3	1.762	0.184
≤60 岁	21	13	61.9			12	57.1		
肿瘤大小									
>5 cm	33	21	63.6	0.794	0.373	24	72.6	1.762	0.184
≤5 cm	25	13	52.0			14	56.0		
生长部位									
中段	32	19	59.4	0.017	0.897	22	68.8	0.330	0.566
下段	26	15	57.7			16	61.5		

注: †Fisher 确切概率法所得 P 值( $\chi^2 \approx \alpha$ )

### 3 讨论

EGFR 是原癌基因 c-erbB-1 (HE-1) 的表达产物,是相对分子量为  $170 \times 10^3$  的跨膜受体蛋白。研究表明 EGFR 在与其配体结合后可以引起细胞生长、增殖和分化,在正常的细胞生理过程中发挥十分重要的调控作用。EGFR 的活化可促进肿瘤细胞增殖、血管生成、浸润和转移,以及抑制细胞凋亡。

目前已知 EGFRvⅢ 有 3 种突变体,即 EGFRvⅠ、EGFRvⅡ、EGFRvⅢ,其中,EGFRvⅢ 是 EGFR 最常见的删除突变型 EGF 受体。相对于 EGFR 而言,EGFRvⅢ 基因中有 801 个碱基对被删除,导致胞外区 6~273 位氨基酸的缺失,而在融合交点新产生一个甘氨酸,导致受体不依赖于配体的组成性激活<sup>[1]</sup>,从而诱发细胞的异常增殖、肿瘤的发生。

本研究中作者发现,EGFR 和 EGFRvⅢ 在食管癌的表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小、生长部位无相关( $P > 0.05$ )。随着细胞分化程度的降低,EGFR 和 EGFRvⅢ 的阳性表达率明显增高,表明肿瘤细胞恶性程度越高,EGFR 和 EGFRvⅢ 表达也越强;伴有淋巴结转移的食管癌组织中 EGFR 和 EGFRvⅢ 阳性表达率明显高于未发生淋巴结转移者( $P < 0.05$ );伴有远隔器官转移的食管癌的 EGFR 及 EGFRvⅢ 表达明显高于无远隔器官转移者( $P < 0.05$ );临床分期为Ⅲ期和Ⅳ期食管癌患者的 EGFR、EGFRvⅢ 阳性表达率明显高于临床分期Ⅰ期和Ⅱ期者( $P < 0.05$ )。

这表明 EGFR 和 EGFRvⅢ 被激活并参与食管癌的浸润及淋巴结转移,并随着肿瘤的浸润、转移能力的增强和病情的进展,EGFR 和 EGFRvⅢ 表达也越强;随着浸润、转移能力的增强和病情的进展,EGFR 表达也增强,且 EGFR 过度表达组的食管癌患者预后明显较对照组为差;Zhang 等<sup>[2]</sup>研究发现 EGFR 高表达的食管癌,其生存率低于低表达,EGFR 可以作为食管癌预后的预测指标;王建正等<sup>[3]</sup>研究也发现 EGFR 的高表达可能参与了食管癌的发生、发展过程,在食管癌的侵袭和转移过程中发挥了重要作用,可作为预测食管癌预后的重要指标;王玉峰等<sup>[4]</sup>、Wang<sup>[5]</sup>等研究发现 EGFR 过表达与食管癌发生、发展及预后密切相关。刘敏等<sup>[6]</sup>研究发现 EGFRvⅢ 在食管癌特异性表达,EGFR 与 EGFRvⅢ 与食管癌发生、发展密切相关。这与该研究结果一致。另外在其他一些肿瘤的研究中,如杨永滨等<sup>[7]</sup>在乳腺癌的研究中认为 EGFRvⅢ 可能参与乳腺癌的发生,可能在乳腺癌的浸润过程中起重要作用;蒋艳霞等<sup>[8]</sup>在肝癌的研究中发现 EGFR 可以作为新的预测原发性肝癌浸润、转移、判断预后和指导临床靶向治疗的重要因子,为肝癌的基因治疗提供理论依据。可以推测,EGFR、EGFRvⅢ 的表达是食管癌细胞逃避机体免疫监视和杀伤,建立食管癌发生、发展及复发转移的重要机制之一,可作为手术切除后预测食管癌复发、转移的参考指标。

EGFRvⅢ 很早就被认为是一种肿瘤特异性表达

EGFR 突变体,在胚胎、神经等正常组织中不能检出。目前已有许多研究提示在人类肿瘤细胞中检测到 EGFRv III,如人肾透明细胞癌<sup>[9]</sup>、乳腺癌<sup>[6]</sup>及胃癌<sup>[10]</sup>等。本研究中作者发现,EGFRv III 在正常组织阳性染色率为 0%,而在食管癌组织中阳性染色率为 58.6%,提示 EGFRv III 在正常组织中不表达,而在食管癌组织中特异性表达。这与刘敏等<sup>[11]</sup>在食管癌中的研究及樊平等<sup>[12]</sup>在胃癌的研究结果相类似。EGFRv III 在正常组织不表达,而在肿瘤组织中特异表达,这可能使其成为抗癌治疗的理想靶点。

#### 参 考 文 献:

- [1] Kim MA, Lee HS, Jeon YK, et al. EGFR in gastric carcinomas: prognostic significance of protein overexpression and high gene copy number[J]. *Histopathology*, 2008, 52(6): 738-746.
- [2] Zhang W, Zhu H, Liu X, et al. Epidermal growth factor receptor is a prognosis predictor in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Ann Thorac Surg*, 2014, 98(2): 513-519.
- [3] 王建正, 冯笑山, 周福有, 等. 食管癌组织中 EGFR 和 PTEN 蛋白的表达[J]. *肿瘤基础与临床杂志*, 2013, 26(2): 100-103.
- [4] 王玉峰, 王新帅, 高社干, 等. 表皮生长因子受体在食管癌中的表达及临床意义[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2012, 26(9): 868-870.
- [5] Wang J, Yu JM, Jing SW, et al. Relationship between EGFR over-expression and clinicopathologic characteristics in squamous cell carcinoma of the esophagus: a meta-analysis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(14): 5889-5893.
- [6] 刘敏, 郭晓娟, 张红霞, 等. 表皮生长因子受体及 III 型突变体在食管癌的表达及意义[J]. *中国癌症杂志*, 2009, 19(10): 729-734.
- [7] 杨永滨, 黄建霞, 宋文娅, 等. Her2/Neu 和 EGFRvIII 与乳腺癌发生及浸润的相关性研究[J]. *医学研究与教育*, 2012, 29(1): 21-24.
- [8] 蒋艳霞, 于文娟, 林东亮, 等. 原发性肝细胞癌中 EGFR、Connexin43 和 E-cadherin 的表达及意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2013, 21(22): 2185-2191.
- [9] 段小艺, 王健生, 张明鑫, 等. 人肾透明细胞癌中 EGFRvIII 的表达及意义[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2008, 29(4): 441-442.
- [10] 王西川, 刘莉, 刘都礼. 胃癌组织中表皮生长因子受体和环氧合酶-2 的表达及其临床意义[J]. *实用医院临床杂志*, 2012, 9(2): 68-69.
- [11] 刘敏, 郭晓娟, 张红霞, 等. 食管癌中 EGFRvIII、MMP-2 的表达特点及意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2010, 18(1): 62-66.
- [12] 樊平, 邹赛英, 赵海华, 等. EGFR 和 EGFRv III 在胃癌中的表达及意义[J]. *现代生物医学进展*, 2009, 25(16): 144-146.

(申海菊 编辑)