

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00072

· 论 著 ·

非小细胞肺癌组织中表皮生长因子受体和血管内皮生长因子的表达及
临床意义

赵学维^{1*}, 孙光远¹, 李 兵², 徐志飞¹, 何 金³, 刘惠敏³

- 1. 第二军医大学长征医院胸心外科, 上海 200003
- 2. 第二军医大学长征医院呼吸内科, 上海 200003
- 3. 第二军医大学长征医院病理科, 上海 200003

[摘要] **目的:**观察非小细胞肺癌(NSCLC)组织中表皮生长因子受体(EGFR)和血管内皮生长因子(VEGF)的表达,并探讨二者可能的临床意义。**方法:**免疫组织化学染色比较 82 例 NSCLC 和 20 例非恶性肺组织中 EGFR 和 VEGF 的表达;观察 NSCLC 患者不同临床病理特征下 EGFR 和 VEGF 蛋白的表达情况,并分析二者表达的相关性。**结果:**NSCLC 组织中 EGFR、VEGF 阳性表达率明显高于非恶性肺组织(53.66% vs 0, 62.20% vs 25%, $P<0.05$)。EGFR 表达在不同性别、不同病理类型(鳞癌 vs 腺癌)、有无淋巴结转移及不同 TNM 分期的 NSCLC 患者之间有统计学差异($P<0.05$);VEGF 表达在有无淋巴结转移及不同 TNM 分期的 NSCLC 患者之间有统计学差异($P=0.0001$)。EGFR、VEGF 高表达患者生存期短于各自的低表达患者($P<0.05$)。NSCLC 组织中 EGFR 和 VEGF 的表达具有相关性($r_s=0.314, P<0.05$)。**结论:**NSCLC 组织中 EGFR 和 VEGF 存在过度表达,二者表达具有相关性,可作为判断 NSCLC 患者病情及预后的参考指标和靶向治疗靶点。

[关键词] 表皮生长因子受体;血管内皮生长因子;非小细胞肺癌

[中图分类号] R 735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)01-0072-05

Expression of epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor in non-small cell lung cancer and its clinical significance

ZHAO Xue-wei^{1*}, SUN Guang-yuan¹, LI Bing², XU Zhi-fei¹, HE Jin³, LIU Hui-min³

- 1. Department of Cardiothoracic Surgery, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China
- 2. Department of Respiratory Medicine, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003
- 3. Department of Pathology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in non-small cell lung cancer(NSCLC), and to discuss its clinical significance. **Methods:** The expression of EGFR and VEGF was detected in 82 NSCLC and 20 non-malignant pulmonary samples by immunohistochemical method. The expression of EGFR and VEGF in NSCLC patients with various pathological characteristics was observed and the correlation between them was analyzed. **Results:** The positive rates of EGFR and VEGF in 82 NSCLC samples were obviously higher than those in the 20 non-malignant samples(53.66% vs 0 for EGFR, 62.20% vs 25% for VEGF, both $P<0.05$). The expression of EGFR in NSCLC samples was significantly correlated with the sex of patients, pathological types of cancer (squamous-cell carcinoma vs adenocarcinoma), presence of lymph node metastasis, and TNM stages($P<0.05$). The expression of VEGF in NSCLC was correlated with lymph node metastasis and TNM stages ($P<0.05$). It was also noticed that higher expression of EGFR or VEGF was associated with poor prognosis of patients ($P<0.05$). The expression of EGFR was correlated with VEGF expression in pulmonary tissues of NSCLC patients($r_s=0.314, P<0.05$). **Conclusion:** EGFR and VEGF are over-expressed in NSCLC tissues and the 2 are correlated with each other, which may serve as predictor for prognosis and a therapeutic target of NSCLC patients.

[KEY WORDS] epidermal growth factor receptor; vascular endothelial growth factor; non-small lung cancer

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(1): 72-76]

[收稿日期] 2007-07-30 **[接受日期]** 2007-10-30

[作者简介] 赵学维, 博士, 副教授, 副主任医师.

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-25073352, E-mail: xuewei_zhao@yahoo.com.cn

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是原癌基因 *c-erbB-1* 的表达产物,具有酪氨酸激酶活性。国外研究^[1]发现,EGFR 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)、乳腺癌、前列腺癌、大肠癌组织中过度表达。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是重要的血管生成调控因子,与受体结合后会导致血管内皮细胞分裂增殖、迁移,促进肿瘤新生血管形成,其过度表达往往与肿瘤细胞的生长活跃程度密切相关^[2]。Byers 等^[3]将 EGFR 和 VEGF 作为 NSCLC 的重要治疗靶点,通过抑制二者,可以明显阻止肿瘤细胞的生长和转移。本研究应用免疫组织化学方法观察 NSCLC 肿瘤组织中 EGFR 和 VEGF 的表达,分析二者的相关性,并探讨二者表达水平与 NSCLC 临床、病理特征以及预后的关系,为进一步指导 NSCLC 的药物靶向治疗奠定基础。

1 材料和方法

1.1 标本来源及临床资料 选择我院 2000 年 1 月至 2002 年 6 月间手术切除的,术后病理确诊为 NSCLC 的存档石蜡组织标本,共 82 例。所有患者术前均未接受化疗、放疗或其他抗癌治疗。82 例患者,年龄 30~75 岁,平均(56±3)岁;男性 57 例,女性 25 例;其中鳞癌 45 例,腺癌 35 例,大细胞癌 2 例;中央型肺癌 39 例,周围型肺癌 43 例;高分化癌 38 例,中分化 29 例,低分化 15 例;有淋巴结转移 58 例,无淋巴结转移 24 例;非吸烟 44 例,吸烟 38 例;生存时间≤3 年 47 例,>3 年 35 例。TNM 分期根据 1997 年国际抗癌联盟(UICC)分期标准进行,其中Ⅰ期 20 例,Ⅱ期 24 例,Ⅲ期 36 例,Ⅳ期 2 例。对照组选取同期 20 例非恶性肺组织(炎性肿块、炎性假瘤)。全部病例采取电话或信件随访方式,随访截止日期到 2005 年 10 月 31 日。

1.2 主要试剂 EnVision™ + 加强型试剂盒 K400011 为 DAKO 公司产品,人抗 EGFR、VEGF 单克隆抗体(即用型),poly-L-lysine 多聚赖氨酸(GLV-0040),DIG-3009 Pepsin 胃蛋白酶,EDTA、显色剂 DAB Kit 均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 免疫组织化学测定肿瘤组织 EGFR、VEGF 蛋白表达 采用 EnVision 法,首先用 poly-L-lysine 处理载玻片,连续石蜡切片 4 μm,60℃ 烘干 1 h,常规脱蜡、水化组织切片;胃蛋白酶消化、修复处理 EGFR 抗原,EDTA 抗原修复液修复 VEGF 抗原;切片

用蒸馏水洗 1×3 min,PBS 洗 2×3 min;3% H₂O₂ 处理 10 min,抑制内源性过氧化物酶,PBS 洗 3×3 min;滴加一抗,置湿盒内 4℃ 过夜;PBS 洗 3×3 min,滴加 EnVision™ 孵育 30 min,PBS 洗 3×3 min;DAB 显色 5~10 min;苏木精复染,常规脱水、透明,中性树脂封片。

1.4 免疫组化染色结果的评分标准 阳性肿瘤细胞判定标准^[4]:癌细胞的胞质或胞膜有棕黄色颗粒且细胞形态结构清晰;细胞着色明显高于背景底色;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。阳性细胞数计分方法:0~5% 为 0 分,5%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分,76% 以上为 4 分;染色强度计分方法: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。如在同一病变中存在不同评分标准的视野,则取最大值和最小值的平均值作为评分结果。上述 2 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 统计学处理 采用 SPSS 11.0 统计软件进行统计分析,NSCLC 组织中 EGFR 和 VEGF 的表达与患者临床病理特征之间的关系用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 NSCLC 组织及非恶性肺组织 EGFR 和 VEGF 蛋白的表达 如图 1 所示:EGFR 和 VEGF 阳性表达位于肿瘤细胞的胞质或胞膜,呈棕黄色或棕褐色,阳性产物呈弥漫或散在的棕黄色颗粒。NSCLC 组织中 EGFR 阳性表达率为 53.66%(44/82),而对照非恶性肺组织中均呈阴性表达,组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。NSCLC 组织中 VEGF 阳性表达率为 62.20%(51/82),而非恶性肺组织中为 25%(5/20),差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 NSCLC 组织中 EGFR、VEGF 表达与患者临床、病理特征的相关性 如表 1 所示:EGFR 表达在不同性别、不同病理类型(鳞癌 vs 腺癌)、有无淋巴结转移及不同 TNM 分期的 NSCLC 患者之间有统计学差异($P<0.05$),而与患者年龄、吸烟史、肿瘤大小、肿瘤部位、肿瘤分化程度无关。VEGF 表达在有淋巴结转移及不同 TNM 分期的 NSCLC 患者之间有统计学差异($P=0.0001$),而与患者性别、年龄、肿瘤病理类型、吸烟史、肿瘤大小、肿瘤的部位、肿瘤分化程度等无关。

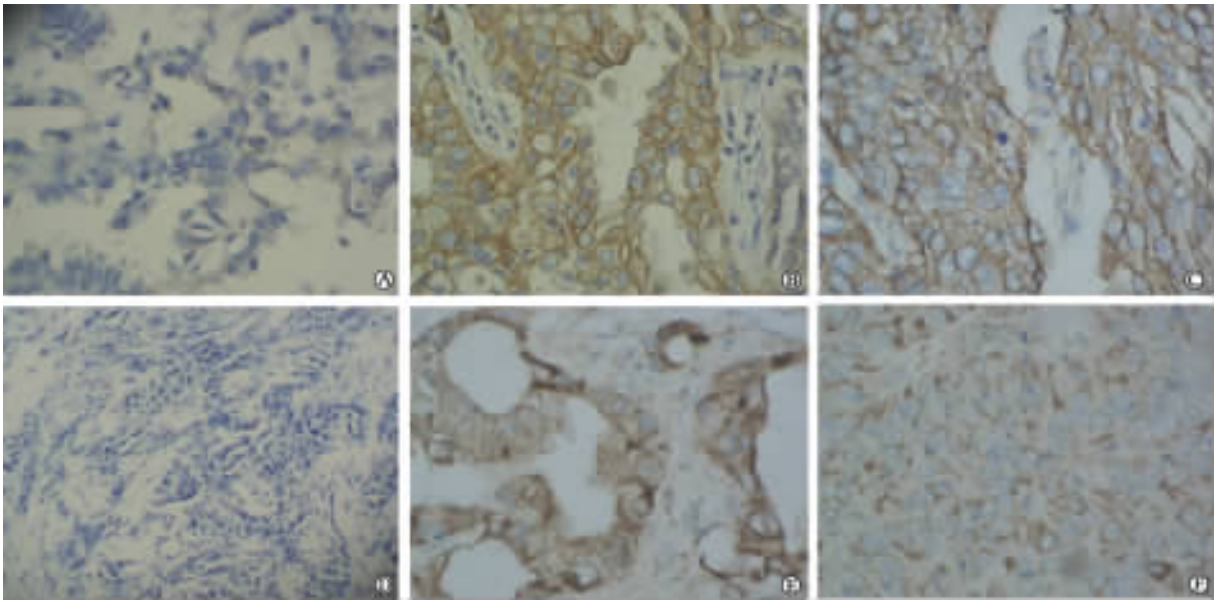


图 1 NSCLC 组织及非恶性肺组织中 EGFR 及 VEGF 蛋白的表达

Fig 1 Expression of EGFR(A-C) and VEGF(D-F) in NSCLC and non-malignant lung tissues

A: Negative expression of EGFR in non-malignant lung tissue; B: Positive expression of EGFR in adenocarcinoma tissue; C: Positive expression of EGFR in squamous cell carcinoma tissue; D: Negative expression of VEGF in non-malignant lung tissue; E: Positive expression of VEGF in adenocarcinoma tissue; F: Positive expression of VEGF in squamous cell carcinoma tissue. Original magnification: $\times 400$

表 1 EGFR、VEGF 表达与 NSCLC 患者临床、病理特征之间的关系

Tab 1 Relationship between expression of EGFR, VEGF, and clinical pathological characteristics of NSCLC patients

Item	N	EGFR				VEGF			
		+	—	Positive rate (%)	P value	+	—	Positive rate (%)	P value
Sex									
Male	57	26	31	45.61	0.027 4	36	21	63.16	0.786 0
Female	25	18	7	72.00		15	10	60.00	
Age(years)									
≤60	40	18	22	45.00	0.073 8	23	17	57.50	0.392 2
>60	42	26	16	61.90		28	14	73.81	
Smoking history									
No	44	26	18	59.09	0.288 5	29	15	65.91	0.455 5
Yes	38	18	20	43.37		22	16	57.89	
Pathological type									
Squamous cell carcinoma	45	16	29	35.56	0.000 2*	31	14	68.89	0.180 8*
Adenocarcinoma	35	27	8	77.14		19	16	54.29	
Large cell carcinoma	2	1	1	50.00		1	1	50.00	
Tumor size									
T ₁ -T ₂	58	30	28	51.72	0.585 0	33	25	56.90	0.124 0
T ₃ -T ₄	24	14	10	58.33		18	6	75.00	
Tumor position									
Central	39	20	19	51.28	0.681 1	27	12	69.23	0.213 6
Peripheral	43	24	19	55.81		24	19	55.81	
Lymph nodes metastasis									
No	24	8	16	33.33	0.017 6	7	17	29.17	0.000 1
Yes	58	36	22	62.07		44	14	75.86	
TNM stage									
I - II	44	16	28	36.36	0.000 7	19	25	43.18	0.000 1
III - IV	38	28	10	73.68		32	6	84.21	
Tumor grade									
High-middle	67	33	34	49.25	0.090 9	40	27	59.70	0.325 0
Low	15	11	4	73.33		11	4	73.33	

* Squamous cell carcinoma vs Adenocarcinoma

2.3 不同生存期 NSCLC 患者 EGFR 及 VEGF 的表达 如表 2 所示: 44 例 EGFR 表达阳性的 NSCLC 患者中, 生存期 ≤ 3 年 30 例, > 3 年有 14 例; 38 例 EGFR 阴性表达者中生存期 ≤ 3 年 17 例, 而 > 3 年有 21 例。VEGF 阳性表达组生存时间 ≤ 3 年有 35 例, > 3 年有 12 例; VEGF 阴性表达组患者

生存时间 ≤ 3 年有 12 例, > 3 年有 19 例。EGFR 阳性表达组患者 3 年生存率明显低于 EGFR 阴性表达组患者, 差异具有统计学意义($P<0.05$); VEGF 阳性表达组患者 3 年生存率明显低于 VEGF 阴性表达组患者 3 年生存率, 二者差异具有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 NSCLC 组织中 EGFR、VEGF 的表达与患者生存期的关系
Tab 2 Relationship between expression of EGFR, VEGF, and survival of NSCLC patients

Survival period	EGFR		P value	VEGF		P value
	Positive[n(%)]	Negative[n(%)]		Positive[n(%)]	Negative[n(%)]	
≤ 3 years	30(68.18)	17(44.74)	<0.05	35(68.63)	12(38.71)	<0.05
> 3 years	14(31.82)	21(55.26)		16(31.37)	19(61.29)	

2.4 NSCLC 患者肿瘤组织 EGFR 和 VEGF 表达的相关性 82 例 NSCLC 患者中, EGFR、VEGF 同时阳性表达的是 33 例, 同时阴性表达 20 例, EGFR 阳性表达而 VEGF 阴性表达者 11 例, EGFR 阴性表达而 VEGF 阳性表达者 18 例。经 Spearman 等级相关分析显示, NSCLC 组织中 EGFR 与 VEGF 的表达具有显著相关性($r_s=0.314, P<0.05$)。

3 讨 论

EGFR 是肿瘤细胞生长、分化和存活的重要调节因子, 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。EGFR 高表达的肿瘤患者易发生肿瘤转移, 复发时间短, 复发率高, 存活期短^[5]。Ettinger^[6]研究发现, NSCLC 肿瘤组织中 EGFR 的阳性率一般为 40%~80%, 但在小细胞肺癌组织中几乎不表达 EGFR。本研究中 NSCLC 患者 EGFR 的阳性表达率为 53.66%, 与上述研究基本一致。最近国内外的研究^[7-8]发现, EGFR 在女性 NSCLC 中表达高于男性患者, 可能与女性患者 EGFR 的基因突变高于男性有关。本研究结果证实上述结果, 发现 EGFR 蛋白表达在不同性别、不同病理类型、淋巴结是否转移和不同 TNM 分期的 NSCLC 患者中有统计学差异($P<0.05$), 而与患者的年龄、吸烟史、肿瘤大小、肿瘤生长部位及分化程度无关; 且 EGFR 高表达患者生存期短, 预后较差。

VEGF 是促血管活性因子, 与受体结合后, 会导致血管内皮细胞分裂增殖、迁移, 促进肿瘤新生血管形成^[9]。Li 等^[10]研究发现, VEGF 在肺癌组织和癌灶周边支气管黏膜上皮细胞、浆液腺及肺泡上皮细胞中均有表达, 肺癌组织中 VEGF 表达的阳性率、阳性细胞数和染色强度均高于癌旁组织。本研究

82 例 NSCLC 患者中, VEGF 的阳性表达率为 62.2%, 其表达水平在有无淋巴结转移和不同 TNM 分期患者间有统计学差异($P<0.05$), 且 VEGF 高表达患者生存期较短。

恶性肿瘤细胞的形成是一个多因素的复杂过程, 其中 EGFR 和 VEGF 是重要的基因调控靶点, 二者促进了肿瘤的发展并参与了肿瘤的浸润和转移^[3]。本研究发现 82 例 NSCLC 患者 EGFR、VEGF 同时阳性表达者为 33 例, 同时阴性表达者为 20 例, EGFR 阳性表达而 VEGF 阴性表达者 11 例, EGFR 阴性表达而 VEGF 阳性表达者 18 例, EGFR 与 VEGF 在 NSCLC 组织中的表达具有显著相关性。这可能由于癌基因 EGFR 的激活引起细胞过度增殖, 使细胞对氧的需求增加, VEGF 表达上调, 导致血管的增生^[11]。靶向治疗是目前肺癌治疗的热点, EGFR 和 VEGF 是非常重要的靶点^[12]。Lieto 等^[13]应用 EGFR 抑制剂可以明显降低 VEGF 蛋白的表达。Matsumori 等^[14]应用一种口服的小分子酪氨酸激酶抑制剂(ZD6474)同时抑制 EGFR 和 VEGF 受体的酪氨酸激酶, 从不同途径抑制肿瘤细胞生长和肿瘤血管形成, 成功抑制了 NSCLC 模型肿瘤的生长。

总之, NSCLC 组织中 EGFR 和 VEGF 存在过度表达, 二者表达具有相关性; 对二者表达的测定, 不仅可以评估患者的病情及预后, 还可以进一步指导 NSCLC 患者的靶向治疗, 值得深入研究以应用于临床。

[参 考 文 献]

[1] Oh M J, Choi J H, Kim I H, Lee Y H, Huh J Y, Park Y K, et al. Detection of epidermal growth factor receptor in the serum of patients with cervical carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 4760-4763.

[2] Hainsworth J D,Spigel D R,Farley C,Thompson D S,Shipley D L,Greco F A. Phase II trial of bevacizumab and erlotinib in carcinomas of unknown primary site; the Minnie Pearl Cancer Research Network[J]. J Clin Oncol,2007,25:1747-1752.

[3] Byers L A,Heymach J V. Dual targeting of the vascular endothelial growth factor and epidermal growth factor receptor pathways; rationale and clinical applications for non-small-cell lung cancer[J]. Clin Lung Cancer,2007,8 (Suppl 2):S79-S85.

[4] Mukohara T,Kudoh S,Yamauchi S,Kimura T,Yoshimura N,Kanazawa H,et al. Expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and downstream-activated peptides in surgically excised non-small-cell lung cancer (NSCLC)[J]. Lung Cancer,2003,41:123-130.

[5] Herbst R S,Bunn P A Jr. Targeting the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer [J]. Clin Cancer Res,2003,9(16 Pt 1):5813-5824.

[6] Ettinger D S. Clinical implications of EGFR expression in the development and progression of solid tumors; focus on non-small cell lung cancer[J]. Oncologist,2006,11:358-373.

[7] Kimura H,Kasahara K,Shibata K,Sone T,Yoshimoto A,Kita T,et al. EGFR mutation of tumor and serum in gefitinib-treated patients with chemotherapy-naïve non-small cell lung cancer [J]. J Thorac Oncol,2006,1:260-267.

[8] Wu Y L,Zhong W Z,Li L Y,Zhang X T,Zhang L,Zhou C C,et al. Epidermal growth factor receptor mutations and their correlation with gefitinib therapy in patients with non-small cell lung cancer;a meta-analysis based on updated individual patient data from six medical centers in mainland China[J]. J Thorac Oncol,2007,2:430-439.

[9] Jang Y J,Kim D S,Jeon O H,Kim D S. Saxatilin suppresses tumor-induced angiogenesis by regulating VEGF expression in NCI-H460 human lung cancer cells[J]. J Biochem Mol Biol,2007,40:439-443.

[10] Li J,Hong M,Pan T. Clinical significance of VEGF-C and VEGFR-3 expression in non-small cell lung cancer[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci,2006,26:587-590.

[11] Goldman C K,Kim J,Wong W L,King V,Brock T,Gillespie G Y. Epidermal growth factor stimulates vascular endothelial growth factor production by human malignant glioma cells;a model of glioblastoma multiforme pathophysiology[J]. Mol Biol Cell,1993,4:121-133.

[12] Wu W,Onn A,Isobe T,Itasaka S,Langley R R,Shitani T,et al. Targeted therapy of orthotopic human lung cancer by combined vascular endothelial growth factor and epidermal growth factor receptor signaling blockade[J]. Mol Cancer Ther,2007,6:471-483.

[13] Lieto E,Ferraraccio F,Orditura M,Castellano P,Mura A L,Pinto M,et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is an independent prognostic indicator of worse outcome in gastric cancer patients[J]. Ann Surg Oncol,2008,15:69-79.

[14] Matsumori Y,Yano S,Goto H,Nakataki E,Wedge S R,Ryan A J,et al. ZD6474, an inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase,inhibits growth of experimental lung metastasis and production of malignant pleural effusions in a non-small cell lung cancer model[J]. Oncol Res,2006,16:15-26.

[本文编辑] 贾泽军

+++++

• 消 息 •

第二军医大学 4 项科研成果获得 2007 年度国家科学技术奖励

2007 年度国家科学技术奖励大会日前在北京人民大会堂隆重举行。会上颁布了 2007 年度国家科学技术奖励获奖人选和项目。第二军医大学共有 4 项科研成果获得 2007 年度国家科学技术奖励,其中获国家自然科学奖二等奖 1 项,获国家技术发明奖二等奖 1 项,获国家科学技术进步奖二等奖 2 项。具体名单如下:

- 2007 年度国家自然科学奖二等奖**

恶性肿瘤细胞抗原提呈和生物调变机理研究

(郭亚军)
- 2007 年度国家技术发明奖二等奖**

治疗类风湿关节炎等疾病的抗体融合蛋白药物

(郭亚军,王 皓,马 菁,胡 辉,侯 盛,谈 珉)
- 2007 年度国家科学技术进步奖二等奖**

1. 幽门螺杆菌关键致病因子 CagA、VacA 的生物学特性及其临床应用

(李兆申,王吉耀,杜奕奇,陈世耀,项兆英,徐 灿,李淑德,张永顶,龚燕芳,许国铭)

2. 微创治疗泌尿系结石新技术的研究与应用

(孙颖浩,许传亮,高小峰,高 旭,王林辉,杨 庆,杨 波)