

## 肺癌与表皮生长因子及其受体关系的研究

袁卫红 罗志航 彭荣宗 杨雷 张怡

**【摘要】** 目的 观察肺良性疾病、原发性肺癌患者表皮生长因子(EGF)及其受体(EGFR)在组织中不同表达及其与预后的关系。方法 采用免疫组化(IHC)法检测患者 EGFR 的表达;用放射免疫分析(RIA)法测定患者 EGF 的动态变化,并对肺癌患者进行随访。结果 EGFR 在非小细胞肺癌(NSCLC)中表达 88%(80/91),在癌旁组织中(距肿瘤边缘 3 cm 以内)表达 64%(58/91),较肺良性疾病(10%,10/95)高,差异有显著性意义( $t=4.0, P<0.01$ ),而距肿瘤边缘 6 cm 以远的正常肺组织表达 12%(11/91),与肺良性疾病差异无显著性意义( $t=2.8, P>0.05$ );小细胞肺癌不表达 EGFR。肺癌患者术前血中 EGF 较肺良性疾病高,术后明显下降。EGFR 表达阳性的 NSCLC 患者,术前 EGF 较阴性组高,术后逐渐下降,复发前、复发后升高,接近术前水平;EGFR 表达阳性的 NSCLC 患者,术后 6、12、18、24 个月复发率分别为 10%、55%、70%、81%,而 EGFR 表达阴性的复发率分别是 0、13%、37%、50%。结论 EGFR 与肺癌预后关系密切。

**【关键词】** 肺肿瘤;表皮生长因子;受体,表皮生长因子

**【中图分类号】** R730.43 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)05-0261-03

### The study on the correlation between EGF, EGFR and lung carcinoma

YUAN Wei-hong, LUO Zhi-hang, PENG Rong-zong, YANG Lei, ZHANG Yi

(Department of Nuclear Medicine, The Second Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650101, China)

**【Abstract】 Objective** To detect and observe the different expression and the prognosis relation between epidermal growth factor (EGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in benign lung disease and primary lung carcinoma. **Methods** To detect EGFR by immunohistochemical (IHC) ABC method. To test and follow-up survey the changes of EGF in lung cancer patients by radioimmunoassay(RIA). **Results** The level of EGFR in non-small cell lung carcinoma (NSCLC) was 88% (80/91), in tissues (3 centimetres nearby tumor) was 64% (58/91), in benign lung disease was 10% (4/39) ( $t=4.73, P<0.01$ ). The level of EGFR in normal lung tissues (6 centimetres nearby tumor) was 12% (11/91), but these was no significant difference with benign lung disease ( $t=2.8, P>0.05$ ). EGFR was not tested in NSCLC. Before operation, the level of EGF in lung cancer patients was higher than that of benign lung patients, but it decreased after operation. The EGF in NSCLC with positive EGFR pre-operation was higher than that of negative EGFR, but it decreased post operation, while pre and post-recurrence it increased approaching the pre-operation level. NSCLC patients with positive EGFR, the recurrence rate was 16%, 55%, 70% and 81% a second time 6, 12, 18 and 24 months after operation, while the recurrence rate with negative EGFR was 0, 13%, 37% and 50%, respectively. **Conclusions** EGFR may play important action in the lung cancer prognosis.

**【Key words】** Lung neoplasms; Epidermal growth factor; Receptor, epidermal growth factor

表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)是一种能刺激表皮细胞增生、角化的物质,它通过与表皮生长因子受体(EGF receptor, EGFR)结合形成 EGF-EGFR 复合物,引起一系列的生物效应,促进上皮再生、刺激体内多种细胞的分裂。进一

步研究表明,EGF、EGFR 基因的扩增及产物的过度表达与人体肿瘤的发生密切相关。肿瘤中 EGFR 表达较正常组织高,探讨 EGF、EGFR 在肿瘤发生发展中的作用有助于肿瘤发病因素的认识,为临床诊治及预后判断提供帮助。本文采用放射免疫分析法测定肺癌患者血清中 EGF、用免疫组化 ABC 法检测 EGFR 在肺良性疾病、原发性肺癌旁

作者单位:650101,昆明医学院第二附属医院核医学科

通讯作者:袁卫红(E-mail: yuantianhe@163.com)

组织中的表达,探讨手术切除肺癌后,EGF在血清中的动态变化,研究EGFR在不同的肺癌组织类型、癌旁组织中表达是否不同及其与预后的关系,评估EGF、EGFR在肺癌发生发展中的作用。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

肺良性疾病组95例,其中支气管扩张30例、肺结核44例、肺炎性假瘤10例、肺隔离症2例、其他9例。肺癌组95例,均为心胸外科术后病理证实为原发性肺癌诊断明确的患者,其中鳞癌43例、腺癌37例、小细胞肺癌4例、大细胞肺癌4例、腺鳞癌4例、类癌3例。正常对照组25名。

### 1.2 主要材料

人表皮生长因子(human epidermal growth factor, hEGF)放射免疫分析药盒由北京华清生化技术研究所提供。兔抗人EGFR单抗由DAKO公司提供。ABC试剂盒由Vector提供。

测量仪器用SN-682型全自动 $\gamma$ -免疫分析仪,由上海日环公司提供。

### 1.3 检测方法

肺良性疾病组:在术前1d、术后1d、7d、12d各抽静脉血3ml,放射免疫分析法检测血清中EGF的水平。术中取肺良性疾病组织、正常肺组织各一块,用苏木素-伊红染色及免疫组化法检测EGFP。

原发性肺癌组:在术前1d,术后1、7、12、30、180d,复发后各抽取静脉血3ml,放射免疫分析法检测血清中EGF的水平。术中取肿瘤组织、癌旁3cm以内病变旁组织、距肿瘤边缘6cm以远的正常肺组织、转移淋巴结各一块,用苏木素-伊红染色及免疫组化法检测EGFP。

正常对照组:每人抽静脉血3ml,检测血清EGF水平。

### 1.4 统计学方法

EGFR在肺癌各组织中的表达及临床病理类型关系比较采用 $t$ 检验、四格表或 $X^2$ 列表卡方 $\chi^2$ 检验,其他用方差分析。由SPSS+PC统计软件处理。

## 2 结果

手术前、后患者的EGF水平的比较见表1。经检测,手术前肺良性疾病组与正常对照组之间差异

无显著性意义( $t=2.0$ ,  $P>0.05$ ),肺癌组与正常对照组及肺良性疾病组之间比较,差异有显著性意义( $t=4.8$ ,  $P<0.01$ )。

术后肺良性疾病患者血清EGF水平稍升高,然后逐渐降低,12d恢复术前水平;术后1d、7d与术前比较无显著性差异( $\chi^2=2.8$ ,  $P>0.05$ )。肺癌患者术后EGF水平明显下降,分别与术前比较有非常显著性差异( $\chi^2=9.66$ ,  $P<0.01$ )。

表1 肺良性疾病和肺癌术前、术后EGF水平变化( $\mu\text{g/L}$ )

病例数	术前	术后		
		1 d	7 d	12 d
正常对照	25	2.55±1.16		
良性疾病	95	2.57±1.23	3.30±1.25	3.30±1.01
肺癌	95	4.15±1.08	3.53±0.89	3.11±0.82

肺良性疾病及肺癌的EGFR表达结果见表2和表3。肺癌组织EGFR表达84%(80/95),良性疾病组10%(10/95),肺癌组较良性疾病组的表达明显增高,具有显著性差异(方差分析 $F=44.73$ ,  $P<0.01$ )。在肺癌中鳞癌的EGFR表达93%(40/43),较腺癌84%(31/37)高,而小细胞肺癌不表达EGFR。肺良性疾病中,肺隔离症比较高(2/2)。因小细胞性肺癌不表达EGFR,在以下分析中,只列非小细胞肺癌(non-small cell carcinoma of lung, NSCLC)的相关结果。

NSCLC组织EGFR的表达率为88%,距肿瘤组织3cm以内癌旁组织为64%,较良性疾病、疾病旁

表2 肺良性疾病及肺癌的EGFR表达

	病例数	EGFR(+)
肺良性疾病		
支气管扩张	30	3
肺结核	44	5
肺炎性假瘤	10	0
肺隔离症	2	2
支气管陈旧断裂	1	0
其他	8	0
合计	95	10 (10%)
肺癌		
鳞癌	43	40
腺癌	37	31
小细胞肺癌	4	0
大细胞肺癌	4	4
腺鳞癌	4	3
类癌	3	2
合计	190	90 (94%)

表 3 肺良性疾病和 NSCLC 患者的病变组织及病变旁组织 EGFR 表达的比较

病例数	病变组织		3cm 以内病变旁组织		6 cm 以远肺组织		
	EGFR(+)	表达率	EGFR(+)	表达率	EGFR(+)	表达率	
肺良性疾病	95	10	10%	8	8%	8	8%
NSCLC	91	80	88%	58	64%	11	12%

表 4 EGFR 阳性与阴性 NSCLC 患者术前、术后 EGF 水平的变化(μg/L)

病例数	术前 EGF	术后 EGF					复发后 EGF	
		1 d	7 d	12 d	30 d	180 d		
EGFR 阳性	80	4.50 ± 1.01	3.62 ± 1.03	3.10 ± 1.10	2.55 ± 1.05	3.00 ± 0.76	4.05 ± 1.06	4.07 ± 0.98
EGFR 阴性	11	3.36 ± 1.11	3.27 ± 1.04	2.83 ± 0.96	3.00 ± 1.34	3.02 ± 0.87	2.69 ± 0.96	3.03 ± 0.85

组织明显提高 ( $t = 4.0, P < 0.01$ ), 差异有显著性意义; 而距肿瘤边缘 6 cm 以远的正常肺组织与良性疾病组织 6 cm 以远的肺组织比较, 无显著性差异 ( $t = 2.8, P > 0.05$ )。EGFR 表达随分期的增高有增高趋势, 但无显著性差异。

EGFR 表达阳性的 NSCLC 的癌旁组织(距肿瘤边缘 3 cm) 显著高于正常肺组织(距肿瘤边缘 6 cm), 二者比较差异非常显著; 但 EGFR 阴性组则二者无显著性差异。

表 4 为 EGFR 阳性与阴性 NSCLC 患者术前、术后 EGF 的变化, 结果: EGFR 阳性组术后 EGF 明显下降, 术后 30 d 开始回升, 术后 180 d 或一旦复发后接近术前水平; 而 EGFR 阴性组术前、术后、复发后变化不明显。将 EGFR 阳性的 NSCLC 手术后 6~12 个月内复发与未复发分为二组, 比较在 6 个月时 EGF 水平, 发现复发组 33 例均值 ( $4.22 \pm 0.78$ ) 较不复发组 41 例均值 ( $3.55 \pm 1.06$ ) 高, 两组相比差异非常显著 ( $t = 3.8, P < 0.01$ )。

肺癌术后复发率与 EGFR 表达的关系见表 5。结果, EGFR 阳性组 6、12、18 个月复发率较 EGFR 阴性组明显增高, 差异非常显著 ( $t$  分别为: 9.0、3.8、5.0,  $P < 0.01$ )。

表 5 EGFR 阳性与阴性肺癌术后复发的比较

	6 月	12 月	18 月	24 月
EGFR 阳性	10% (8/80)	55% (41/74)	70% (46/45)	81% (47/58)
EGFR 阴性	0% (0/1)	13% (1/8)	37% (3/8)	50% (4/8)

### 3 讨论

恶性肿瘤细胞具有内分泌功能, 同时某些激素和生长因子对肿瘤细胞的生长有重要的影响, 这些

因子可以由肿瘤细胞自身(自体分泌效应)、相邻细胞和组织产生(旁分泌效应), 也可以由远处腺体产生(内分泌效应), 其中有的直接刺激肿瘤细胞生长(如生长因子), 有的则起抑制作用(如生长激素抑制素)。不管怎样, 它们都是作为肿瘤细胞相应受体的配体彼此作用的结果。

#### 3.1 EGFR 与肺癌的关系

EGFR 主要存在于细胞膜上, 与 EGF 结合, 经内陷、吞饮进胞质, 传递生物信号, 与溶酶体融合降解, EGFR 再循环至膜上。多种人肿瘤细胞有 EGFR 过度表达现象<sup>[1-3]</sup>。本实验提示 NSCLC EGFR 表达(88%)较肺良性疾病(10%)高。距肿瘤边缘 3 cm 以内癌旁组织表达较高, 6 cm 以远的正常肺组织表达低, 说明 EGFR 表达从肿瘤到正常组织逐渐降低。因此, EGFR 表达阳性者术后不论周围有无浸润, 是否转移, 均应切除肿瘤及边缘一定距离的正常肺组织, 相当于 EGF 及其受体表达的肿瘤组织(产生自体分泌效应)与癌旁组织(产生旁分泌效应)。

一些作者认为: EGFR 表达鳞癌比腺癌高, 临床分期不同表达亦不同<sup>[4]</sup>。本检测结果提示鳞癌表达高, 但各临床分期之间差异无显著性, 与 Herbst 等结果一致<sup>[5]</sup>。

小细胞肺癌不表达 EGFR, 我们发现 4 例全部为阴性, 这种特征有助于与 NSCLC 的鉴别诊断。小细胞肺癌虽然不表达 EGFR, 但 Tiseo 等<sup>[6]</sup>认为它自身有分泌 EGF 功能, 故仍可促进支气管上皮细胞的鳞状化生, 甚至癌变。

#### 3.2 EGF 与肺癌的关系

EGF 及其家族成员是一类强有力的分裂促进

(下转第 267 页)

在微剂量学研究中的这种不足。因而,需探索新的方法解决这一问题。另外,光镜下银颗粒肉眼分析过程不仅耗时,而且准确度受主观因素的影响,这需要自动的分析处理过程。

综上所述,通过微观放射自显影分析银颗粒与细胞核的位置关系建立放射性点源与细胞核的平面坐标关系,不仅可以进行准确估算细胞核的剂量,而且可以建立起细胞核的剂量-概率分布曲线,从而能够了解零剂量和(或)低剂量细胞核在整个细胞/细胞核群体内的比例,这对于评估肿瘤放疗效果是非常有价值的<sup>[4,5]</sup>。

微剂量分布研究不仅揭示了传统 MIRD 估算模式在微剂量估算方面的缺陷,而且能够建立和选择恰当的数学模型准确地微剂量估算。目前,关于肿瘤治疗的报道较多,所欠缺的是无准确的剂量数据作指导。用放射自显影技术进行剂量估算的重要

用途就在于为肿瘤的放射药物治疗提供准确的剂量数据,从而在尽量杀伤肿瘤细胞的同时,减少对瘤组织周围正常细胞的辐射损伤。

#### 参 考 文 献

- 1 戴光复,金月英,田源,等.<sup>131</sup>I在细胞水平分布的实验研究.中华放射医学与防护杂志,2006,26(4):332-334.
- 2 戴光复,金月英,寇明英,等.<sup>99m</sup>Tc-DTPA细胞水平分布的实验研究.中华放射医学与防护杂志,2005,25(4):319-321.
- 3 Flynn AA, Pedley RB, Green AJ, et al. The nonuniformity of antibody distribution in the kidney and its influence on dosimetry. Radiat Res, 2003, 159(2): 182-189.
- 4 Denardo GL, Siantar CL, DeNardo SJ. Radiation dosimetry for radionuclide therapy in a nonmyeloablative strategy. Cancer Biother Radiopharm, 2002, 17(1): 107-118.
- 5 戴光复,王明席,寇明英,等.放射自显影术用于细胞水平微吸收剂量分布研究.中华核医学杂志,2002,22(1):55-56.

(收稿日期:2006-05-15)

(上接第263页)

物质,既可促进各组织器官损伤的修复,又是一种辅助促癌剂。本实验提示,肺癌患者术前EGF水平较肺良性疾病者和正常人高,可能与肺癌的发生发展有关。EGFR表达阳性的肺癌患者术前EGF的水平较EGFR表达阴性者高,术后下降可能系切除肿瘤及癌旁组织的结果,术后12d左右最低,30d后开始恢复;一旦肺癌复发,又上升到术前水平。回顾性调查分析发现,EGF术后升高与EGFR表达阳性的肺癌患者术后复发关系密切。这一切现象可为EGFR表达阳性的肺癌患者术后复发的早期诊断提供帮助。而EGFR表达阴性的肺癌患者术后EGF变化不明显。

### 3.3 EGF、EGFR与肺癌术后生存,复发的关系

随访结果显示,EGFR阳性组术后6、12、18个月等复发率明显高于EGFR阴性组,而且EGFR阳性的肺癌患者其EGF在术前、术后、术后复发变化明显。EGFR主要在肺癌及癌旁组织表达,EGF与之结合,形成自/旁分泌增殖环,使肿瘤生长<sup>[6]</sup>,因此EGFR与肺癌预后关系密切,也表明手术治疗肺癌最好切除一定范围的癌旁组织。

#### 参 考 文 献

- 1 Tiseo M, Loprevite M, Ardizzoni A, et al. Epidermal growth factor receptor inhibitors: a new prospective in the treatment of lung cancer. Curr Med Chem Anti Cancer Agents, 2004, 4(2): 139-148.
- 2 Chan SK, Gullick WJ, Hill ME, et al. Mutations of the epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung cancer search and destroy. Eur J Cancer, 2006, 42(1): 17-23.
- 3 Lee D. Phase II data with ZD6474, a small-molecule kinase inhibitor of epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor receptor, in previously treated advanced non-small-cell lung cancer. Clin Lung Cancer, 2005, 7(2): 89-91.
- 4 Dazzi H, Hasleton PS, Thatcher N, et al. Expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in non-small cell lung cancer. Use of archival tissue and correlation of EGF-R with histology, tumour size, node status and survival. Br J Cancer, 1989, 59(5): 746-749.
- 5 Herbst RS, Bunn PA Jr. Targeting the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res, 2003, 9 (16 pt 1): 5813-5824.
- 6 Reddy GK, Lmaizumi M, Nishimura M, et al. Relevance of epidermal growth factor receptor genomic gain in predicting clinical response to kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer. Clin Lung Cancer, 2005, 7(3): 163-165.

(收稿日期:2006-03-21)