

· 论 著 ·

[文章编号] 1007-385X(2007)04-0377-04

EGFR 在结直肠癌组织中的表达及其临床意义

李月敏^{1,2*}, 徐建明², 廖国清¹, 李晓兵³, 王 岩², 李明颖², 曹 阳², 李志强², 葛飞娇²(1. 解放军总医院附属第二医院 肿瘤内科, 北京 100091; 2. 军事医学科学院附属 307 医院 全军肿瘤中心, 北京 100071; 3. 军事医学科学院附属 307 医院 病理科, 北京 100071)

[摘 要] 目的: 检测表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在结直肠癌组织中的表达情况, 分析其表达水平与各种主要临床病理学预后因子及长期生存的关系。方法: 选取解放军 307 医院和 301 医院第二附属医院 64 例结直肠癌患者的石蜡包埋肿瘤标本, 以免疫组化方法检测结直肠癌肿瘤标本中 EGFR 的表达。通过单因素分析和多因素分析判断 EGFR 表达与临床病理学指标之间的关系; 通过多因素分析(COX 模型)判断 EGFR 表达水平与患者总生存期的关系。结果: 所有患者肿瘤组织 EGFR 的阳性表达率为 69%。T3 期肿瘤 EGFR 阳性表达明显多于 T1 和 T2 期($P < 0.05$), 淋巴结转移阳性者 EGFR 阳性表达明显多于无转移者($P < 0.05$), 有远处转移者 EGFR 阳性表达明显多于无远处转移者($P < 0.05$); EGFR 表达与患者性别、年龄、肿瘤原发部位、肿瘤大小、肿瘤分化程度等均无明显相关性。EGFR 表达水平与患者总生存期无明显相关。结论: 结直肠癌组织 EGFR 的表达与肿瘤 TNM 分期相关, 与患者总生存期无明显相关。

[关键词] 结直肠癌; 表皮生长因子受体; TNM 分期; 预后

[中图分类号] R730.5 [文献标志码] A

Expression of epidermal growth factor receptor in colorectal cancer and its clinical implications

LI Yue-min^{1,2*}, XU Jian-ming², LIAO Guo-qing¹, LI Xiao-bing³, WANG Yan², LI Ming-ying², CAO Yang², LI Zhi-qiang², GE Fei-jiao²(1. Department of Oncology, the 2nd Hospital Affiliated to General Hospital of PLA, Beijing 100091, China; 2. Cancer Center of PLA, No. 307 Hospital of PLA, Affiliated to Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China; 3. Department of Pathology, No. 307 Hospital of PLA, Beijing 100071, China)

[Abstract] **Objective:** To detect the expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal cancer and to evaluate the relationship between EGFR expression with different clinicopathological factors influencing patients' prognosis and the long term survival of patients. **Methods:** Immunohistochemistry method was used to detect the expression of EGFR in paraffin-embedded tumor samples from 64 colorectal carcinoma patients, who were treated in No 307 Hospital of PLA and the 2nd Affiliated Hospital of No. 301 Hospital of PLA. Univariate analysis and multivariate analysis were used to study the relationship between EGFR expression and different clinicopathological parameters; Cox regression model was used to assess the relationship between EGFR expression with overall survival period of patients. **Results:** The positive rate of EGFR was 69%. T3 tumor samples had significantly higher expression of EGFR compared with those of T1 and T2 tumor samples ($P < 0.05$). EGFR expression in patients with lymphatic metastasis and distant metastasis was significantly higher than that without lymphatic or distant metastasis (both $P < 0.05$). No relationship was found between EGFR expression with patients' age, gender, primary tumor location, tumor size and degree of histological differentiation, and overall survival. **Conclusion:** EGFR expression in colorectal cancer tissues is associated with TNM stage of tumors, but is not associated with overall survival of patients.

[Key words] colorectal cancer; epidermal growth factor receptor(EGFR); TNM; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(4):377-380]

[基金项目] 军队医学科研“十一五”攻关项目(06G140)。Supported by the Medical Science Research“Eleventh Five Year Plan” of the PLA (06G140)

[作者简介] 李月敏(1968-), 女, 河北省石家庄市人, 医学博士, 副主任医师, 主要从事乳腺癌和消化道肿瘤临床和基础方面的研究

* Corresponding author. E-mail: liyuemin224@tom.com

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是 ErbB 家族成员,在多种人类肿瘤中高表达。EGFR 具有酪氨酸激酶活性,当其配体结合时,通过激活酪氨酸蛋白激酶途径,可促进肿瘤细胞生长和迁移、肿瘤血管形成及抑制肿瘤细胞凋亡^[1]。EGFR 在 25%~81% 结直肠癌组织中高表达^[2-3]。近年来,EGFR 受体酪氨酸激酶抑制剂和抗 EGFR 单克隆抗体的应用给结直肠癌的治疗带来了新的希望^[4-6],这也进一步说明了 EGFR 在肿瘤形成和增殖方面有着重要的作用。本研究以免疫组化方法检测 EGFR 在结直肠癌组织中的表达情况,分析其表达与各种主要临床病理学预后因子之间的关系,以及 EGFR 阳性表达患者与 EGFR 阴性表达患者的长期生存是否存在差异。

1 材料与方法

1.1 一般资料

64 例石蜡包埋的结直肠癌组织标本均选自 2000-2005 年军事医学科学院附属 307 医院和解放军总医院第二附属医院的临床患者。入选患者均为年龄 20~75 岁之间的病理学确诊的结直肠癌患者,ECOG 评分为 0~2 分,具有较完整的临床资料和病理学资料,如肿瘤原发部位、原发肿瘤大小、组织学分化程度、淋巴结转移数目、手术时是否有远处转移、是否行术后辅助放化疗等。均无其他肿瘤病史。总生存期(overall survival, OS)为患者手术病理确诊时直至由于任何原因死亡的时间。在数据截时尚生存的患者或研究中失访的患者,将以其最后一次随访的日期作为截尾数据进行分析。

1.2 EGFR 免疫组化分析

所有蜡块连续切片,厚约 4 μm ,常规脱蜡至水,经微波炉抗原修复处理后,用 SP 免疫组化方法进行检测。EGFR 抗体为兔抗人多克隆抗体(Santa Cruz, USA),SP 免疫组化试剂盒(ZYMED, USA)均购自北京市中山试剂公司。EGFR 抗体稀释浓度为 1:50。以已知 EGFR 染色阳性的直肠癌组织切片作为阳性对照,以 PBS 代替第一抗体作为阴性对照。采用染色强度与细胞染色百分率综合记分法判断免疫组化结果,两位病理科医师双盲观察切片。(-)和(+)结果评价为阴性表达,(++)和(+++)结果评价为阳性表达。

1.3 统计学处理

所有的统计分析使用 SAS V8.0 软件。结直肠癌 EGFR 表达与患者临床病理学特征之间关系的单变量分析用 χ^2 检验、Fisher 精确检验和秩和检验。多元分析用 Logistic 回归模型。生存分析用 Kaplan-

Meier 法,不同分组之间的比较用 log-rank 检验,双侧检验 $P \leq 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 结直肠癌患者的临床和病理学特征

患者的中位年龄 65 岁(范围 26~75 岁)。男性 34 例,女性 30 例。92% 的患者为 T3 和 T4,63% 的患者有淋巴结转移,23% 的患者手术时发现远处转移。22 例(41%)为直肠癌。77% 的直肠癌患者均行术后辅助放射治疗,总量 45~50 cGy。84% 患者行术后辅助化疗。所有患者均未行术前辅助化疗或术前放疗,也未曾使用过 EGFR 靶向治疗药物。辅助化疗方案均为氟尿嘧啶/亚叶酸钙(5-FU/CF)联合方案,或奥沙利铂/氟尿嘧啶/亚叶酸钙(FOLFOX)联合方案。转移复发后给予一线 FOLFOX 或伊立替康/氟尿嘧啶/亚叶酸钙(FOLFIRI)方案化疗。

2.2 结直肠癌组织 EGFR 的表达

EGFR 通常为不同程度的棕色膜染色(图 1)。所有患者肿瘤组织 EGFR 的阳性表达率为 69%。其中 28 例(44%)中等阳性(++),16 例(25%)强阳性(+++)。所有患者肿瘤组织 EGFR 的阴性表达率为 31%,其中 11 例(17%)为阴性表达(-),9 例(14%)为弱阳性表达(+)

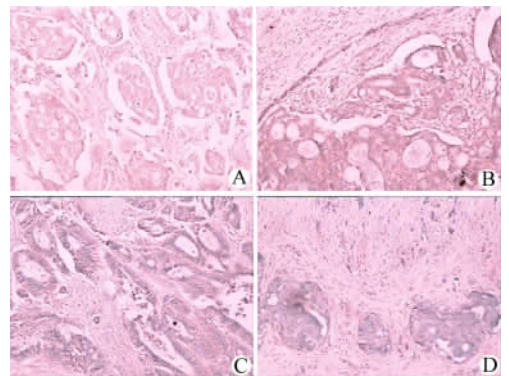


图 1 结肠癌组织中 EGFR 不同程度的表达

Fig. 1 EGFR expression in colorectal adenocarcinomas
A: Negative; B: Mild(+); C: Moderate(++); D: Strong(+++)

2.3 EGFR 表达与临床病理学指标之间的关系

通过单因素分析和多因素分析,发现 EGFR 表达与患者 TNM 分期明显相关。肿瘤分期为 T3 的 EGFR 阳性表达者明显多于 T1、T2 期(分别为 69% 和 40%, $P < 0.05$),淋巴结转移阳性者 EGFR 阳性表达明显多于无淋巴结转移者(N1 89%, N2 86%, N0 38%, $P < 0.05$),手术时有远处转移者 EGFR 阳

性表达者明显多于无远处转移者(分别为 93% 和 61%, $P < 0.05$)。EGFR 表达与患者性别、年龄、肿瘤原发部位、肿瘤大小、肿瘤分化程度等均无明显相关性($P > 0.05$, 见表 1)。

表 1 EGFR 表达与结直肠癌患者临床病理特征的关系

Tab. 1 Relationship between EGFR expression and clinicopathological parameters

Index	N	EGFR(-)		EGFR(+)	
		n	(%)	n	(%)
Gender					
Male	34	11	(32)	23	(68)
Female	30	9	(30)	21	(70)
Age(t/a)					
≥ 60	36	12	(33)	24	(67)
< 60	28	8	(29)	20	(81)
Primary site					
Rectum	22	8	(36)	14	(64)
Left colon	27	7	(26)	20	(74)
Right colon	15	5	(33)	10	(67)
Tumor size(l/cm)					
≤ 5	46	14	(22)	32	(78)
> 5	16	6	(38)	10	(62)
No known	2	0	(0)	2	(100)
TNM stage					
T1 + T2	5	3	(60)*	2	(40)*
T3	45	14	(31)	31	(69)
T4	14	3	(21)	11	(79)
Lymph node metastasis					
N0	24	15	(63)*	9	(38)*
N1	19	2	(11)	17	(89)
N2	21	3	(14)	18	(86)
Distant metastasis					
M0	49	19	(39)*	30	(61)*
M1	15	1	(7)	14	(93)
Histology					
Well/moderate	37	13	(35)	24	(65)
Poor	25	7	(28)	18	(72)
No known	2	0	(0)	2	(100)

* $P < 0.05$ compared with another index in the same group

2.4 EGFR 表达与结直肠癌患者生存的关系

本研究中位随访 36 个月(范围 10 ~ 72 个月), 56 例随访 > 1 年, 中位生存时间为 46 个月。EGFR 阳性表达组中位生存时间为(45 ± 25.0)个月, EGFR 阴性表达组中位生存时间为(47 ± 21.9)个月。通过多因素分析(COX 模型), 发现 EGFR 表达水平与患者总生存期无明显相关($P > 0.05$)。与生存密切相关的因素仍是患者手术时的 TNM 分期($P < 0.05$, 图 2)。

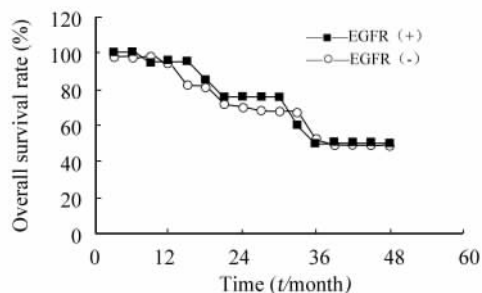


图 2 结直肠癌 EGFR 表达强度与患者生存的关系

Fig. 2 Relationship between EGFR expression in colorectal adenocarcinomas and overall survival of patients

3 讨论

结直肠癌最重要的临床病理学预后因子为 TNM 分期和术后是否有残留病灶, 这也是目前临床上进行辅助放化疗的主要依据。其他可能具有独立预后价值的因素包括肠穿孔、肠梗阻、肿瘤分化程度、脉管瘤栓等^[7]。然而, 结直肠癌又是一组异质性很明显的疾病。T3, 4 N0M0 结直肠癌患者术后局部复发和远处转移者占 20% ~ 30%, 而其余大部分患者可以达到临床治愈。T3, 4 N1, 2 M0 结直肠癌患者术后局部复发和远处转移者高达 50% ~ 80%, 但也有少部分患者可以通过手术和术后放化疗达到临床治愈^[8-9]。可见, 单单依靠 TNM 分期无法准确判断患者的预后。因此了解肿瘤细胞的分子生物学行为, 可能有助于部分解释上述问题。

本研究的主要目的是通过采取免疫组化方法检测结直肠癌患者 EGFR 表达情况, 并试图揭示 EGFR 表达水平与患者临床病理学和患者生存之间的关系, 从而为临床判断预后和指导治疗提供依据。研究发现, 全组患者标本 EGFR 阳性率为 69%, EGFR 表达程度高低与患者年龄、性别、原发部位、肿瘤分化程度、肿瘤大小等均无明显关系, 这与以往的研究结果^[10]基本一致。以往的研究^[8]大多认为 EGFR 阳性表达标志着患者的分期更晚、更易于发生淋

巴结转移和远处转移,生存分析发现 EGFR 表达水平与患者总生存期无明显相关。本研究也得出了相似的结论。

尽管 EGFR 蛋白表达的高低不能预测患者的生存和预后,甚至不能指导临床应用抗 EGFR 的分子靶向药物^[11-13]。但 EGFR 在肿瘤的增殖和进展方面的作用并非不重要。近年来,EGFR 已成为结直肠癌治疗的重要靶分子。尤其 C225 和 panitumumab 的临床应用更证实了 EGFR 在结直肠癌发生和发展中的重要作用。EGFR 的检测可以在 DNA、RNA 和蛋白水平上进行检测。迄今为至,绝大多数的研究认为通过免疫组化检测蛋白水平的表达与 C225 和 panitumumab 的疗效缺乏一致性,也与患者的总生存期无明显关系。因而进一步在 DNA 和 RNA 水平检测肿瘤组织中 EGFR 的变化、EGFR 下游信号转导途径的改变等,可能会进一步揭示 EGFR 与靶向结直肠癌的药物疗效、患者临床病理学特征和生存之间的关系。

[参 考 文 献]

- [1] Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(14): 2787-2799.
- [2] Italiano A, Saint-Paul MC, Caroli-Bosc FX, *et al.* Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in primary colorectal tumors correlates with EGFR expression in related metastatic sites: biological and clinical implications[J]. Ann Oncol, 2005, 16(9): 1503-1507.
- [3] Spano JP, Lagorce C, Atlan D, *et al.* Impact of EGFR expression on colorectal cancer patient prognosis and survival[J]. Ann Oncol, 2005, 16(1): 102-108.
- [4] Cunningham D, Humblet Y, Siena S, *et al.* Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer[J]. N Engl J Med, 2004, 351(4): 337-345.
- [5] Saif MW, Cohenuram M. Role of panitumumab in the management

of metastatic colorectal cancer[J]. Clin Colorectal Cancer, 2006, 6(2): 118-124.

- [6] Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ Sr, *et al.* Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor[J]. J Clin Oncol, 2004, 22(7): 1201-1208.
- [7] Skibber JM, Minsky BD, Hoff PM, *et al.* Cancer of the colon. Cancers of the gastrointestinal tract[M]// Devita VT. Cancer: Principles and Practice of Oncology. 6th ed, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 1216-1271.
- [8] Gramont A. Adjuvant therapy of stage II and III colon cancer [J]. Semin Oncol, 2005, 32(6 Suppl 8): 11-14.
- [9] Sargent DJ, Wieand HS, Haller DG, *et al.* Disease-free survival versus overall survival as a primary end point for adjuvant colon cancer studies: individual patient data from 20 898 patients on 18 randomized trials[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(34): 8664-8670.
- [10] McKay JA, Murray LJ, Curran S, *et al.* Evaluation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal tumours and lymph node metastases[J]. Eur J Cancer, 2002, 38(17): 2258-2264.
- [11] Helfrich BA, Raben D, Varella-Garcia M, *et al.* Antitumor activity of the epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor gefitinib (ZD1839, Iressa) in non-small cell lung cancer cell lines correlates with gene copy number and EGFR mutations but not EGFR protein levels[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(23): 7117-7125.
- [12] Moroni M, Veronese S, Benvenuti S, *et al.* Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to antiEGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study[J]. Lancet Oncol, 2005, 6(5): 279-286.
- [13] Ciardiello F, Tortora G. Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a target in cancer therapy: understanding the role of receptor expression and other molecular determinants that could influence the response to anti-EGFR drugs[J]. Eur J Cancer, 2003, 39(10): 1348-1354.

[收稿日期] 2007 - 04 - 20

[修回日期] 2007 - 08 - 04

[本文编辑] 韩 丹

· 简 讯 ·

《结核病与胸部肿瘤》杂志征稿启事

《结核病与胸部肿瘤》系北京市结核病胸部肿瘤研究所、北京胸部肿瘤结核病医院主办的专业性内部学术刊物,每季度末出版,每年 4 期,每期 10 万字左右。内容以结核病及肺癌为主,普及与提高相结合,报道有关结核病与胸部肿瘤科研、预防、医疗、教学方面的成果和国内外结核病及肺癌的诊疗经验和最新研究动态。读者以高、中级结核病与肺癌防治工作者为对象。欢迎各级医疗单位或个人踊跃投稿。

来稿请寄:北京通州区马厂 97 号北京市结核病胸部肿瘤研究所情报室 胡秀兰收,邮政编码 101149。