

EGFR 和 PKB 在宫颈癌中的表达和意义

关 鑫,刁海丹

(大连市第三人民医院,辽宁 大连 116033)

摘 要: [目的] 探究表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)在宫颈癌中的表达和意义。[方法] 选取 2014 年 1 月至 2016 年 1 月于我院确诊为宫颈鳞癌并行手术治疗患者 60 例。另取正常宫颈组织 20 例作为对照组。采用免疫组化技术检测组织中的 EGFR 和 PKB。[结果] 宫颈鳞癌中 EGFR 和 PKB 的阳性表达率均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌中的表达与年龄无关,而与分化程度和临床病理分期(TNM)有关。分化程度低、TNM 分期高的患者中 EGFR 和 PKB 阳性表达率高于分化程度高、TNM 分期低($P<0.05$)。EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌组织中的表达呈正相关($r=0.647, P<0.05$)。[结论] EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌组织中表达增加, EGFR 和 PKB 表达程度均与分化程度和 TNM 分期有关。

关键词: 宫颈肿瘤;鳞癌;表皮生长因子受体;蛋白激酶 B;免疫组织化学法

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2017)09-0798-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.09.B012

Expression and Significance of EGFR and PKB in Cervical Cancer

GUAN Xin, DIAO Hai-dan

(The Third People's Hospital of Dalian, Dalian 116033, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression and significance of EGFR and PKB in cervical cancer. [Methods] Sixty patients with cervical cancer treated in our hospital from January 2014 to January 2016 were included in the study, 20 samples of normal cervical tissues were used as control group. The expression of EGFR and PKB in cervical cancer and normal cervical tissue was detected with immunohistochemical technique. [Results] The positive expression rates of EGFR and PKB in cervical cancer were higher than those in control group ($P<0.05$). The expression of EGFR and PKB were correlated with differentiation degree and clinical stages. The expressions of EGFR and PKB in cervical cancer were positively correlated with each other ($r=0.647, P<0.05$). [Conclusion] The expressions of EGFR and PKB are significantly increased in cervical cancer. They are correlated with the degree of differentiation and TNM stage of cervical cancer.

Subject words: cervical cancer; squamous cell carcinoma; epidermal growth factor receptor; protein kinase B; immunohistochemical method

宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤之一,数据显示近年来我国宫颈癌发病率呈逐年递增的趋势^[1]。研究认为,宫颈癌的发生发展是多基因共同调控的过程,其侵袭和转移机制与多种细胞因子相关^[2]。近年来针对表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和影响其信号通路的调控蛋白—蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)的研究成为热点,两者被广泛认为与肿瘤细胞的增殖与转移关系密切^[3]。

本研究通过检测宫颈鳞癌与正常宫颈组织中 EGFR 和 PKB 蛋白表达水平,旨在分析影响表达的因素及两者相关性,为判断疾病预后提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

经市医学伦理委员会同意,选取 2014 年 1 月至 2016 年 1 月于我院妇科行全子宫切除术或广泛全子宫切除术、术后大体标本为宫颈鳞癌的患者 60 例,患者就诊时无其他癌症,住院期间无严重并发

通讯作者: 刁海丹,主任医师,硕士;大连市第三人民医院妇科,辽宁省大连市甘井子区千山路 40 号(116033);E-mail: Dhd0819@126.com

收稿日期: 2016-12-29; **修回日期:** 2017-01-19

症。年龄 27~79 岁,平均年龄 49.2 ± 5.3 岁;肿瘤分化程度:高分化 6 例,中分化 28 例,低分化 26 例;TNM 分期:Ⅰ期 19 例,Ⅱ期 21 例,Ⅲ期 20 例。另取同期于我院行宫颈活组织检查、病理证实为正常宫颈组织的女性志愿者 20 名,年龄 30~79 岁,平均年龄 52.3 ± 4.8 岁,取其正常宫颈组织作为对照组。所有研究对象对本次实验知情并签署同意书,两组年龄差异无统计学意义($t=2.435, P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂

①奥林巴斯 CX23 显微镜(日本奥林巴斯株式会社);②电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);③兔抗人 EGFR 抗体,大鼠抗人 PKB 单克隆抗体(北京泰泽瑞达科技有限公司);④免疫组织化学 SP 试剂盒(美国 Sigma 公司);⑤DAB 显色试剂盒(北京泰泽瑞达科技有限公司)。

1.3 方法

取病灶组织及正常宫颈组织,经固定、脱水透蜡后包埋成蜡块,再切片、烘干,用枸橼酸盐缓冲液在微波下修复抗原,3%过氧化氢灭活内源性酶 40min,PBS 洗片 3 次,山羊血清封闭 30min,滴加兔抗人 EGFR 抗体,大鼠抗人 PKB 单克隆抗体,稀释浓度均为 1:100,抗体 4℃过夜,甩除一抗,PBS 洗片 3 次,每次 5min,滴加二抗(稀释浓度 1:100),室温孵育 30min,洗片 3 次,DAB 染色,脱水透明,封片,显微镜下观察结果。用宫颈鳞癌作 EGFR 和 PKB 的阳性对照,PBS 代替一抗作阴性对照。镜下图像采用 S-Image Analysis 显微图像分析系统。

1.4 宫颈鳞癌分化程度评价标准

宫颈癌病理学分级参考 WHO 分级标准^[4]:高分化:癌巢中有相当数量的角化现象,可见明显的癌

珠;中分化:达宫颈中层细胞的分化程度,癌巢中无明显角化现象;低分化:未分化的小细胞。

1.5 显微镜观察标准

参考杨元娟等^[5]的研究中对 DAB 染色 EGFR 和 PKB 阳性细胞的检测标准,定义细胞膜或胞浆染色呈棕黄色为阳性,呈褐色为强阳性。表达阳性情况以阳性细胞百分比和染色强度综合评价:单个视野中阳性细胞数目<10%计 0 分;阳性细胞数目 10%~40%计 1 分;阳性细胞数目 40%~70%计 2 分;阳性细胞数目>70%计 3 分。染色程度:无染色计 0 分;低倍镜($\times 200$)下阴性但高倍镜($\times 400$)下阳性计 1 分;低倍镜下阳性计 2 分;低倍镜下强阳性计 3 分。每个视野将两项评分相乘,每张片子取 5 个视野,求平均值:<3 分为不表达,4~5 分为低表达,6~8 分为中表达,9 分为高表达。

1.6 统计学处理

采用 SPSS18.0 统计学软件进行数据分析,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较应用独立样本 t 检验。计数资料用百分率表示,EGFR 和 PKB 在两组的阳性表达率比较采用 χ^2 检验,采用秩和检验分析 EGFR 和 PKB 表达程度与临床病理特征的关系。EGFR 和 PKB 两者相关性采用 Spearman 相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 EGFR 和 PKB 表达情况比较

EGFR 主要表达于细胞膜,少数表达于胞浆,呈现棕黄色或褐色颗粒(Figure 1~4),宫颈鳞癌组 EGFR 阳性表达率为 90.0%(54/60),对照组均为阴

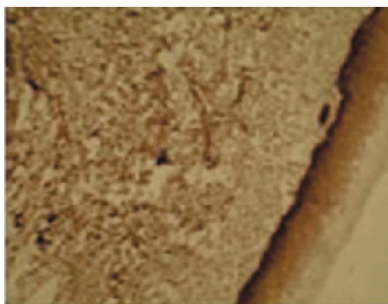


Figure 1 Positive expression of EGFR in cervical squamous cell carcinoma ($\times 200$)

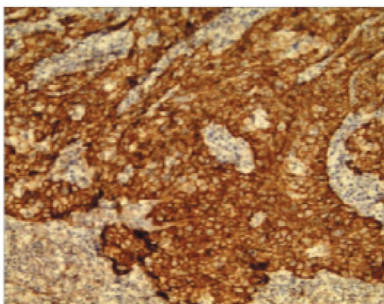


Figure 2 Negative expression of EGFR in normal cervical tissue ($\times 200$)

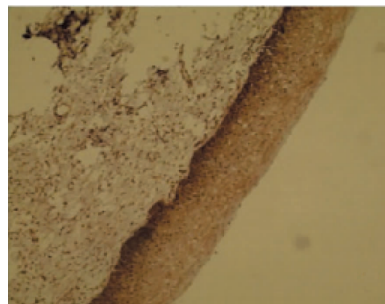


Figure 3 Positive expression of PKB in cervical squamous cell carcinoma ($\times 200$)

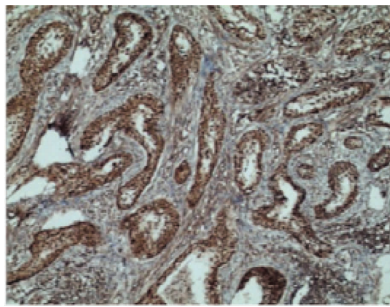


Figure 4 Negative expression of PKB in normal cervical tissue(x200)

性表达,两组差异有统计学意义 ($\chi^2=55.385, P<0.05$)。而 PKB 主要表达于胞浆,少数表达于细胞核,呈现棕黄色或褐色颗粒,宫颈鳞癌组 PKB 阳性表达率 (75.0%, 45/60) 高于对照组 (10.0%, 2/20),两组差异有统计学意义 ($\chi^2=26.151, P<0.05$)。

2.2 EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌中的表达与临床病理特征关系

EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌中的表达与年龄无关,与肿瘤分化程度以及临床分期有关。分化程度低、TNM 分期高的标本 EGFR 和 PKB 的阳性表达程度高于分化程度高、TNM 分期低的标本 ($P<0.05$) (Table 1, 2)。

2.3 EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌中表达的相关性

EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌组织中的表达呈正相关 ($r=0.647, P<0.05$) (Table 3)。

3 讨论

在全球范围内,宫颈癌的发病率仅次

于乳腺癌,已然成为影响女性健康、危害社会和谐的重大因素,发展中国家宫颈癌的发病率明显高于发达国家,且每年新增的宫颈癌患者均呈倍数上涨^[6]。寻找及时、准确的诊断方法,对判断疾病预后具有重要意义^[7]。研究认为,宫颈癌的发生发展是多基因共同调控的过程,其侵袭和转移机制与多种细胞因子相关,其中 EGFR 及影响其信号通路的调控蛋白 PKB 成为研究的热点^[8]。EGFR 是由原癌基因表达,促进血管生成以及细胞的无限分裂,最终形成肿瘤。其机制为激活酪氨酸激酶,促进细胞增殖、分化,EGFR 表达水平同样与肿瘤的发展进程相关,表达

Table 1 Expression of EGFR in cervical squamous cell carcinoma

Clinical features	N	No expression	Low expression	Moderate expression	High expression	χ^2	P
Age(years old)						2.648	>0.05
≥50	39	4	9	20	6		
<50	21	2	4	8	7		
Degree of pathological differentiation						6.387	<0.05
High	7	3	2	2	0		
Moderate	25	1	9	11	4		
Low	28	2	2	15	9		
TNM stage						5.682	<0.05
I	21	5	10	5	1		
II	20	1	2	14	3		
III	19	0	11	9	9		

Table 2 Expression of PKB in cervical squamous cell carcinoma

Clinical features	N	No expression	Low expression	Moderate expression	High expression	χ^2	P
Age(years old)						1.726	>0.05
≥50	39	9	12	9	9		
<50	21	6	7	6	2		
Degree of pathological differentiation						4.871	<0.05
High	7	4	2	1	0		
Moderate	25	7	10	4	4		
Low	28	4	7	10	7		
TNM stage						4.562	<0.05
I	21	11	7	2	1		
II	20	4	8	5	3		
III	19	0	4	8	7		

Table 3 Correlation between EGFR and PKB expression in cervical squamous cell carcinoma

EGFR	Total	PKB		r	P
		Positive	Negative		
Positive	54	42	12	0.647	<0.05
Negative	6	3	3		
Total	60	45	15		

程度越高,预后越差。而 PKB 是 EGFR 信号转导通路的枢纽,在促进细胞增殖、侵袭、抑制细胞凋亡、抵抗化疗和放疗中起重要作用。因此 EGFR/PKB 信号通路被认为是肿瘤干细胞保持自我更新和分化性质的重要途径,但在宫颈癌中,两者如何表达尚未阐明^[9,10]。

从本次研究的结果来看,观察组 EGFR 和 PKB 的阳性表达率均高于对照组($P<0.05$),与周素英等^[11]研究的结果一致,证实了两者在宫颈鳞癌的形成过程中发生了变化。EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌中的表达与年龄无关,而与分化程度和 TNM 分期有关,分化程度低、TNM 分期高的标本 EGFR 和 PKB 的阳性表达程度高于分化程度高、TNM 分期低的标本($P<0.05$)。EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌组织中的表达呈正相关($r=0.647, P<0.05$)。因此我们认为 EGFR 和 PKB 均参与了癌细胞浸润和转移的过程,临床诊断中我们可根据两者的表达程度选择治疗方案并判断患者预后。此外,单独应用 EGFR 抑制剂治疗宫颈癌疗效较局限,若能联合抑制 PKB 的抗凋亡作用,即达到调控 EGFR 信号通路枢纽的目的,成为治疗恶性肿瘤的有效途径。本研究主要存在以下两点不足:①宫颈癌病理类型较为局限,本研究仅纳入了宫颈鳞癌,研究结果是否适用于腺癌和腺鳞癌仍需进一步验证;②本研究仅比较了正常宫颈组织和宫颈恶性肿瘤中 EGFR 和 PKB 的表达情况,未对宫颈上皮内瘤变这一病理改变进行分析,未来的实验中加以补充可加强对结果的论证。

综上所述,EGFR 和 PKB 在宫颈鳞癌组织中表达增加,表达程度均与分化程度和 TNM 分期有关。

参考文献:

- [1] Zheng X, Du XL. Meta analysis of correlation between overexpression of epidermal growth factor and prognosis of cervical cancer [J]. Chinese Journal of Prevention and Treatment, 2015, 22(16): 1321-1327. [郑兴, 杜雪莲. 表皮生长因子过表达与宫颈癌预后相关性 Meta 分析 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(16): 1321-1327.]
- [2] Zheng FX, Fu F, Cai Y, et al. Study on the expression of EGFR and protein kinase B in cervical cancer and the extracellular domain of EGFR gene mutation [J]. Progress in Obstetrics and Gynecology, 2015, 24(7): 516-520. [郑凤霞, 傅芬, 蔡勇, 等. EGFR、蛋白激酶 B 在宫颈癌中表达及 EGFR 胞外区基因突变的研究 [J]. 现代妇产科进展, 2015, 24(7): 516-520.]
- [3] Yang Y, Yang WC, Wang YL, et al. Effects of epidermal growth factor receptor on migration and invasion of endometrial carcinoma cells [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2015, 30(36): 6585-6588. [杨艳, 杨文成, 王雅莉, 等. 表皮生长因子受体对子宫内膜癌细胞迁移、侵袭能力的影响 [J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(36): 6585-6588.]
- [4] Iida K, Nakayama K, Rahman MT, et al. EGFR gene amplification is related to adverse clinical outcomes in cervical squamous cell carcinoma, making the EGFR pathway a novel therapeutic target [J]. Br J Cancer, 2011, 105(3): 420-427.
- [5] Yang YJ, He L, Xiong J, et al. Expression of epidermal growth factor receptor in cervical carcinoma and its clinicopathological significance [J]. Antitumor Pharmacology, 2015, 5(4): 267-269. [杨元娟, 何凌, 熊晶, 等. 表皮生长因子受体在宫颈癌中的表达及其临床病理意义 [J]. 肿瘤药学, 2015, 5(4): 267-269.]
- [6] Zheng FX, Nie LJ, Sun PF, et al. Research progress of epidermal growth factor receptor gene in cervical cancer [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2015, 30(15): 2465-2467. [郑凤霞, 聂丽菊, 孙平凤, 等. 宫颈癌中表皮生长因子受体基因状态的研究进展 [J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(15): 2465-2467.]
- [7] Zhou SY, Zhang PN, Pan D, et al. Expression and significance of EGFR in tissue microarray of cervical carcinoma [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2013, 31(9): 2010-2012. [周素英, 张品南, 潘丹, 等. 组织芯片宫颈癌中 EGFR 的表达及意义 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(9): 2010-2012.]
- [8] Fu S, Hennessy BT, Ng CS, et al. Perifosine plus docetaxel in patients with platinum and taxane resistant or refractory high-grade epithelial ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2012, 126(1): 47-53.
- [9] Li SP, Zhao D, Su HX. Efficacy analysis of EGFR combined with concurrent chemoradiotherapy for locally advanced cervical cancer [J]. Journal of Lanzhou University (Medical Science Edition), 2016, 42(4): 67-71. [李淑萍, 赵达, 苏洪新. 局部晚期宫颈癌 EGFR 单抗联合同步放化疗的疗效分析 [J]. 兰州大学学报(医学版), 2016, 42(4): 67-71.]
- [10] Huang BF, Wang CQ, Zhao YM, et al. Expression of EGFR protein in cervical carcinoma and its clinicopathological significance [J]. Zhejiang Medical Journal, 2016, 38(2): 99-101. [黄必飞, 王超群, 赵永明, 等. 宫颈癌中 EGFR 蛋白表达及其临床病理意义 [J]. 浙江医学, 2016, 38(2): 99-101.]
- [11] Zhou SY, Chen GR, Feng GF, et al. Expression and correlation of EGFR and VEGF in cervical carcinoma [J]. Modern Chinese Doctor, 2014, 52(2): 68-71. [周素英, 陈国荣, 冯国飞, 等. 宫颈癌 EGFR 和 VEGF 的表达及相关性研究 [J]. 中国现代医生, 2014, 52(2): 68-71.]