doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.09.004
View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.09.004

EGFR 和 HER–3 在老年胃癌组织中的表达及其与预后的关系

徐磊[1]，孙志超[1]，冯晓星[2]

(1. 连云港市第二人民医院病理科，江苏 连云港 222002；2. 无锡市第三人民医院病理科，江苏 无锡 214041)

[摘　要]　**目的：**探讨表皮生长因子受体EGFR和HER-3在老年胃癌中的表达及其与预后的关系，为老年胃癌的临床靶向治疗提供理论依据。**方法：**应用免疫组织化学方法检测62例老年胃癌组织中EGFR和HER-3的表达情况，并统计分析EGFR和HER-3的表达与患者临床病理特征的关系及其对预后的影响。**结果：**EGFR在细胞膜和/或细胞质表达，HER-3在细胞膜表达。EGFR的阳性表达与患者的性别、肿瘤大小、肿瘤分化程度无关(P>0.05)，而与肿瘤侵犯层次、淋巴结转移及TNM分期密切相关(P<0.05)。HER-3的阳性表达与患者的性别、肿瘤大小、侵犯层次无关(P>0.05)，而与肿瘤分化程度、淋巴结转移及TNM分期密切相关(P<0.05)。Spearman相关性分析结果表明EGFR的表达和HER-3的表达无相关性(r=−0.015，P=0.908)。Kaplan-Meier生存分析显示EGFR，HER-3阳性表达的患者3年生存率均明显低于阴性表达者(P<0.05)。Cox风险回归多因素生存分析显示EGFR阳性表达(P=0.012)、淋巴结转移(P=0.038)、TNM分期(P=0.011)是影响老年胃癌患者生存的独立预后因素。**结论：**EGFR和HER-3的阳性表达与老年胃癌的临床病理特征及预后密切相关，两者可作为评估老年胃癌预后的参考指标。

[关键词]　老年胃癌；EGFR；HER-3；预后

Expression of EGFR and HER-3 in elderly patients with gastric cancer and its association with the prognosis

XU Lei[1], SUN Zhichao[1], FENG Xiaoxing[2]

(1. Department of Pathology, Second People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang Jiangsu 222002;
2. Department of Pathology, Third People's Hospital of Wuxi, Wuxi Jiangsu 214041, China)

Abstract　**Objective:** To investigate the expressions of EGFR and HER-3 protein in elderly patients with gastric cancer and its association with the prognosis. **Methods:** The expressions of EGFR and HER-3 protein in 62 elderly patients with gastric cancer were detected by immunohistochemical staining. The prognosis and the clinicopathologic characters with the relation of the expressions of EGFR and HER-3 protein were analyzed. **Results:** EGFR were expressed on the cell membranes or cytoplasm and HER-3 was expressed on the membranes. No correlation was found in EGFR with gender, tumor size, and cell differentiation (P>0.05). However, EGFR was associated with lymph nodes metastasis, tumor invasion level and TNM stage (P<0.05). HER-3 was associated with lymph nodes metastasis, TNM stage and cell differentiation (P<0.05). And it had no relation in HER-3 with gender, tumor size,

收稿日期 (Date of reception)：2018–06–13
通信作者 (Corresponding author)：徐磊，Email: xuleineil@163.com

and tumor invasion level. The Spearman rank correlation analysis showed that there was no correlation between the expressions of EGFR and HER-3 protein (r=−0.015, P=0.908). Kaplan-Meier survival analysis revealed that 3-year survival rate of patients with positive expression of EGFR or HER-3 were shorter than negative patients (P<0.05). Multivariate analysis with the Cox regression models showed that expression of EGFR protein (P=0.012, lymph node metastasis (P=0.038) and TNM stage (P=0.011) were significantly associated with poor prognosis. **Conclusion:** The expressions of EGFR and HER-3 are related to the prognosis and the clinicopathologic characters of elderly patients with gastric cancer. They could be the index of the prognosis for elderly patients with gastric cancer.

Keywords elderly patients with gastric cancer; EGFR; HER-3; prognosis

胃癌是常见的恶性肿瘤之一，其发病率在消化道癌中占第1位，并随着年龄增长而增高[1]。随着我国人口老龄化，老年胃癌的发病率呈上升趋势。分子靶向治疗已逐渐应用于胃癌的治疗，靶向治疗的关键在于分析肿瘤的分子特性，从而找到潜在的治疗靶点。EGFR与HER-3同属于人类表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor，HER)家族。研究[2-3]表明：EGFR可抑制肿瘤细胞的凋亡，促进细胞恶变；HER-3在多种肿瘤中表达，作为信号转导通路的主要激活因子，调控肿瘤细胞生长、浸润、转移等过程[3]。本研究检测EGFR和HER-3在老年胃癌组织中的表达及其与临床病理特征和预后的关系，旨在为老年胃癌的靶向治疗提供理论依据。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2008至2016年在连云港市第二人民医院诊治的老年胃癌病例进行回顾性研究，纳入有完整病理学资料和随访资料的病例，剔除死因不明、3个月内死亡、转移性肿瘤以及无法手术的病例，共有62例符合研究标准，其中男39例，女23例，年龄61~87(中位71)岁，组织学类型均为腺癌，并取其中10例癌旁正常组织(距离癌组织5 cm以上)作为对照。肿瘤≥5 cm共25例，<5 cm共37例；高-中分化35例，低分化27例；侵犯浅、深肌层30例，侵犯全层及浆膜外32例；有淋巴结转移34例，无淋巴结转移28例；TNM分期为I~II期26例，III~IV期36例。所有入选患者随访时间不少于3年，只有确定为术后因胃癌死亡者视为随访结束，随访中断的视为删失，中位随访时间为30个月。

1.2 试剂

鼠抗人HER-3单克隆抗体(克隆号DAK-H3-IC)购自美国Abcam公司，鼠抗人EFGR单克隆抗体、SP试剂盒、二氨基联苯氨(DAB)显色液均购自上海长岛生物技术有限公司，其中EGFR为浓缩型抗体，工作浓度为1:50。

1.3 方法

采用免疫组织化学SP法，组织标本均经4%中性甲醛液固定，石蜡包埋组织以4 μm厚。进行连续切片、烤干；将各切片在37 ℃恒温箱内过夜预温；二甲苯脱蜡；乙醇水化；蒸馏水冲洗；微波抗原修复；蒸馏水新鲜配制3%H_2O_2，室温孵育15 min以灭活内源性过氧化物酶；滴加正常山羊血清封闭，室温孵育30 min；滴加抗体；滴加DAB显色液，镜下控制反应时间；冲洗，复染，分化，封片。选用已知阳性切片作为阳性对照，并以PBS液代替一抗作空白对照。

1.4 结果判定

EGFR在细胞膜和/或细胞质中表达(图1)，HER-3在细胞膜表达(图2)，以细胞膜或细胞质出现棕黄色或黄色为阳性细胞。由两人分别计数5个随机高倍镜(×400)视野下阳性细胞数、计数阳性细胞百分率和染色强度，取平均值。采用半定量积分法，综合考虑阳性细胞百分数和显色强度来判定结果。

1.5 统计学处理

采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析。EGFR和HER-3的表达与胃癌临床病理特征间的关系行χ^2检验，生存分析采用Kaplan-Meier法，EGFR和HER-3相关性分析采用Spearman检验，影响预后的多因素分析采用Cox风险回归方法。检验水准α=0.05，P<0.05为差异有统计学意义。

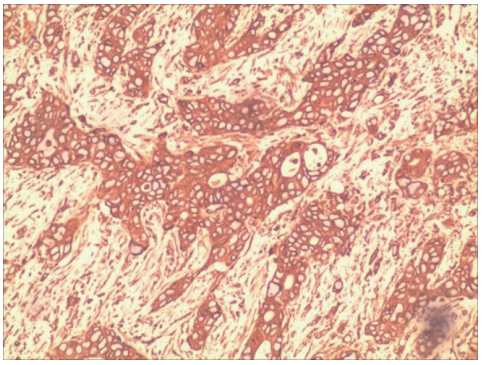

图1 EGFR在老年胃癌患者中的表达(SP，×400)

Figure 1 Expression of EGFR in elderly patients with gastric cancer (SP, ×400)

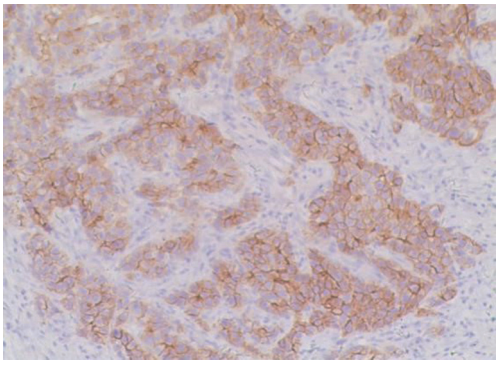

图2 HER-3在老年胃癌患者中的表达(SP，×400)

Figure 2 Expression of HER-3 in elderly patients with gastric cancer (SP, ×400)

2 结果

2.1 老年胃癌组织 EGFR 表达与临床病理特征的关系

在62例老年胃癌组织中，EGFR的阳性表达率为53.2%(33/62)，而10例癌旁胃黏膜中未见EGFR的表达。EGFR的阳性表达与患者的性别、肿瘤大小、肿瘤分化程度均无关(P>0.05)，EGFR的阳性表达与淋巴结转移、侵犯层次、TNM分期密切相关(P<0.05，表1)。

表1 老年胃癌患者组织中EGFR和HER-3的表达与临床病理特征的关系

Table 1 Relationship between the expression of EGFR and HER-3 protein and the clinicopathological features of elderly patients with gastric cancer

临床病理特征	n	EGFR蛋白表达				HER-3蛋白表达			
		阴性	阳性	阳性率/%	P	阴性	阳性	阳性率/%	P
性别					0.237				0.258
男	39	16	23	59.0		13	26	66.7	
女	23	13	10	43.5		11	12	52.2	
肿瘤大小/cm					0.162				0.155
≥5	25	9	16	64.0		7	18	72.0	
<5	37	20	17	45.9		17	20	54.1	
分化程度					0.482				0.004
高/中分化	35	15	20	57.1		19	16	45.7	
低分化	27	14	13	48.1		5	22	81.5	
侵犯层次					0.002				0.84
浅、深肌层	30	20	10	33.3		12	18	60.0	
全层及浆膜外	32	9	23	71.9		12	20	62.5	
淋巴结转移					0.046				0.001
有	34	12	22	64.7		7	27	79.4	
无	28	17	11	39.3		17	11	39.3	
TNM分期					0.013				0.038
I+II	26	17	9	34.6		14	12	46.2	
III+IV	36	12	24	66.7		10	26	72.2	

2.2 老年胃癌组织中 HER-3 表达与临床病理特征的关系

在62例老年胃癌组织中，HER-3的阳性表达率为61.3%(38/62)，而10例癌旁胃黏膜中未见HER-3的表达。HER-3的阳性表达与患者的性别、肿瘤大小、侵犯层次均无关(P>0.05)，HER-3的阳性表达与淋巴结转移、肿瘤分化程度、TNM分期密切相关(P<0.05，表1)。

2.3 EGFR 和 HER-3 表达的相关性

Spearman相关性分析结果表明：EGFR的表达和HER-3的表达无相关性(r=−0.015，P=0.908；表2)。

2.4 EGFR 和 HER-3 的表达与老年胃癌患者 3 年生存率的关系

EGFR阳性表达组3年生存率为22.3%，EGFR阴性表达组3年生存率为49.3%，log-rank检验结果显示：两组3年生存率差异有统计学意义(P=0.032，图3)。HER-3阳性表达组3年生存率为33.1%，HER-3阴性表达组3年生存率为54.8%，log-rank检验结果显示：两组3年生存率差异有统计学意义(P=0.002，图3)。

2.5 Cox 多因素回归分析

年龄、部位、肿瘤分化程度、侵犯层次及HER-3的阳性表达非影响患者生存的独立因素(P>0.05)；EGFR阳性表达(P=0.012)、淋巴结转移(P=0.038)、TNM分期(P=0.011)是影响老年胃癌患者生存的独立预后因素(表3)。

表2 老年胃癌患者组织中中EGFR和HER-3表达的相互关系

Tabl2 Relationship between EGFR and HER-3 in elderly patients with gastric cancer

EGFR	HER-3	
	阴性	阳性
阴性	11	18
阳性	13	20
r	−0.015	
P	0.908	

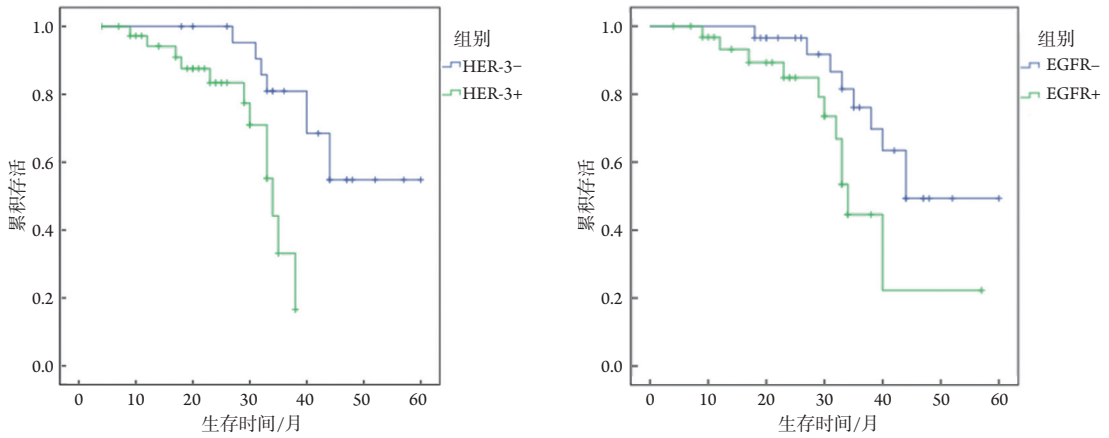

图 3 EGFR 和 HER-3 +/− 患者的生存曲线

Figure3 Survival curve of patients with EGFR and HER-3 +/−

表3 Cox回归模型多因素生存分析

Table3 Multifactor survival analysis of Cox regression model

临床病理特征	偏回归系数	偏回归系数标准误	Wald统计量	自由度	P	相对危险度	95% CI
EGFR	−1.591	0.635	6.274	1	0.012	0.204	0.059~0.707
淋巴结转移	−2.161	1.043	4.295	1	0.038	0.115	0.015~0.889
TNM分期	−2.01	0.789	6.494	1	0.011	0.134	0.029~0.629

3 讨论

老年患者是胃癌患者中的一个主要患者群体，老年患者机体逐渐老化，消化系统出现一系列解剖和生理改变，以至老年胃癌的病理特征和预后等各方面都与非老年患者不同[4]。主要表现在：高-中分化腺癌在老年患者中所占比例要高[5]，男性患者发病率较高，肿瘤侵袭力弱，恶性程度低[6-7]；另外，老年患者免疫功能低下，机体耐受性差，合并症多，预后不良[8]，因此老年胃癌患者可作为独立的研究群体。EGFR和HER-3均属于HER家族，两者均在胃癌、乳腺癌及结直肠癌等肿瘤组织中表达。本研究对EGFR和HER-3在老年胃癌中的表达情况进行初步的观察和探讨，为老年胃癌的靶向治疗提供理论依据。

EGFR是第一个被发现与肿瘤的发生直接相关的细胞表面受体，通过与配体结合，受体二聚化，进而磷酸化而激活，促进DNA的合成和癌基因的表达，调节细胞生长和分裂，促进肿瘤细胞增殖、血管生成、侵袭和转移[9]。本研究结果显示：EGFR在老年胃癌的阳性表达率为53.2%，与既往研究[10]结果(老年胃癌EGFR表达率为49%)相类似。EGFR的阳性表达与淋巴结转移、侵犯层次、TNM分期密切相关($P<0.05$)，与Gao等[11]研究结果一致。此外，EGFR阳性表达组的3年生存率为22.3%，而EGFR阴性表达组3年生存率为49.3%，两者两组3年生存率差异有统计学意义($P=0.032$)，且经Cox多因素回归分析，EGFR阳性表达是影响老年胃癌患者生存的独立预后因素($P=0.012$)，提示伴随着EGFR的表达，肿瘤细胞获得了更强的侵袭和转移能力，说明EGFR在老年胃癌组的阳性表达与患者预后不良相关。一项关于EGFR与胃癌患者预后的Meta分析[12]也证实了此观点。

HER-3结构同EGFR类似，差别主要表现在胞内区氨基酸顺序及催化位点发生了变化，HER-3是一个主要的信号受体，是转导通路的主要激活因子，通过与EGFR形成异二聚体，激活下游转导通路，从而调控肿瘤细胞生长、凋亡等过程[13]。Hayashi等[14]研究认为：HER-3阳性表达与胃癌分化程度、淋巴结转移以及TNM分期密切相关，HER-3阳性表达的患者预后差，HER-3逐渐成为了肿瘤治疗的新靶点。本研究结果显示：HER-3在老年胃癌的阳性表达率61.3%，低于谭翠等[15]报道的82.2%，可能与年龄分组、实验方法及判读标准有关。此外，低分化胃癌组HER-3的表达明显高于高-中分化组($P=0.004$)，有淋巴结转移组的HER-3的表达显著高于无淋巴结转移组($P=0.001$)，TNM分期III+IV期组的HER-3的表达显著高于I+II期组($P=0.038$)。因此推测HER-3参与了胃癌侵袭、转移等恶性生物学行为。HER-3阳性表达组的3年生存率为33.1%，而HER-3阴性表达组3年生存率为54.8%，两组3年生存率差异有统计学意义($P=0.012$)，但Cox多因素回归分析显示HER-3阳性表达并非影响老年胃癌患者生存的独立预后因素，与李刚等[16]的研究结果不一致，考虑老年胃癌患者这一群体的特殊性、影响预后的因素多且复杂、病例数尚少，可通过扩大样本，继续随访病例，可能发现更有意义的结论。

EGFR和HER-3蛋白结构和功能上相似，且相互依赖，HER-3还作为负反馈调节器及旁路激活途径引起抗EGFR等多种靶向治疗的耐药[17]，因此可以认为两者对胃癌的发生、发展是紧密联系而并非独立起作用，本研究显示：EGFR和HER-3的阳性表达均与老年胃癌的临床病理特征及预后密切相关，两者可作为评估老年胃癌预后的参考指标。虽然Spearman相关性分析未显示两者有相关性，但考虑到老年患者的群体特殊性、胃癌发展机制以及EGFR家族网络的复杂性，需要进一步扩大样本，以及在老年胃癌的分子病理学上做进一步的研究。

参考文献

1. 汤钊猷. 现代肿瘤学[M]. 上海：上海医科大学出版社, 2000: 695-734.
   TANG Xiaoyou. Modern oncology[M]. Shanghai: Shanghai Medical College Publishing Company, 2000: 695-734.
2. Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, et al. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(35): 5924-5930.
3. Smirnova T, Zhou ZN, Flinn RJ, et al. Phosphoinositide 3-kinase signaling is critical for ErbB3-driven breast cancer cell motility and metastasis[J]. Oncogene, 2011, 31(6): 706-715.
4. 董碧蓉. 老年病学[M]. 成都：四川大学出版社, 2009: 221.
   DONG Birong. Presbyteries[M]. Chengdu: Sichuan College Publishing Company, 2009: 221.
5. Jin Y, Qiu MZ, Wang DS, et al. Adjuvant chemotherapy for elderly patients with gastric cancer after D2 gastrectomy[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53149.
6. Park HJ, Ahn JY, Jung HY, et al. Clinical characteristics and outcomes

for gastric cancer patients aged 18-30 years[J]. Gastric Cancer, 2014, 17(4): 649-660.

7. Kim DY, Joo JK, Ryu SY, et al. Clinicopathologic characteristics of gastric carcinoma inelderly patients: a comparison with young patients[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(1): 22-26.

8. 赵林, 应红艳, 管梅, 等. 老年胃癌的临床特点[J]. 中国医学科学院学报, 2010, 32(4): 412-416.
ZHAO Lin, YING Hongyan, GUAN Mei, et al. Clinical characteristics of gastric cancer in the elderly patients[J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 2010, 32(4): 412-416.

9. Tamás P, Solti Z, Bauer P, et al. Mechanism of epidermal growth factor regulation of Vav2, a guanine nucleotide exchange factor for Rac[J]. J Biol Chem, 2003, 278(7): 5163-5171.

10. 余晓完, 高戈, 黄东红, 等. 老年胃癌组织中表皮生长因子受体、人类表皮生长因子受体2及基质金属蛋白酶7的表达及其相关性[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(14): 3492-3494.
YU Xiaowan, GAO Ge, HUANG Donghong, et al. The expression and associativity of EGFR, HER-2 and MMP7 in elderly patients with gastric cancer[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2017, 37(14): 3492-3494.

11. Gao M, Liang XJ, Zhang ZS, et al. Relationship between expression of EGFR in gastric cancer tissue and clinicopathological features[J]. Asian Pac J Trop Med, 2013, 6(4): 260-264.

12. Chen C, Yang JM, Hu TT, et al. Prognostic role of human epidermal growth factor receptor in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Arch Med Res, 2013, 44(5): 380-389.

13. Smirnova T, Zhou ZN, Flinn RJ, et al. Phosphoinositide 3-kinase signaling is critical for ErbB3-driven breast cancer cell motility and metastasis[J]. Oncogene, 2012, 31(6): 706-715.

14. Hayashi M, Inokuchi M, Takagi Y, et al. High expression of HER3 is associated with a decreased survival in gastric cancer[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(23): 7843-7839.

15. 谭翠, 张志刚, 陈健宁, 等. HER家族在胃癌中表达及过表达的临床病理意义[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2012, 33(3): 361-367.
TAN Cui, ZHANG Zhigang, CHEN Jianning, et al. clinicopathological significance of expression and overexpression of HER family in gastric cancer[J]. Journal of Sun Yat-Sen University. Medical Sciences, 2012, 33(3): 361-367.

16. 李刚, 顾荣民, 文旭, 等. 人表皮生长因子受体家族在胃癌中表达的临床意义[J]. 中华胃肠外科杂志, 2013, 16(7): 668-672.
LI Gang, GU Rongmin, WEN Xu, et al. Clinical significance of human epidermal growth factor receptor family molecules expression in gastric cancer[J]. Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery, 2013, 16(7): 668-672.

17. Koutras AK, Fountzilas G, Kalogeras KT, et al. The upgraded role of HER3 and HER4 receptors in breast cancer[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2010, 74(2): 73-78.

本文引用：徐磊, 孙志超, 冯晓星. EGFR和HER-3在老年胃癌组织中的表达及其与预后的关系[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(9): 1840-1845. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.09.004

Cite this article as: XU Lei, SUN Zhichao, FENG Xiaoxing. Expression of EGFR and HER-3 in elderly patients with gastric cancer and its association with the prognosis[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2018, 38(9): 1840-1845. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.09.004