

• 论 著 •

肝素结合样表皮生长因子和 C-erbB-2 检测对于卵巢良恶性肿瘤鉴别诊断及程度的临床意义

杨天平

(江苏省张家港市中医医院检验科 215600)

摘要:目的 探讨肝素结合样表皮生长因子(HB-EGF)和 C-erbB-2 检测在卵巢良恶性肿瘤鉴别诊断及判断病情程度的临床价值。**方法** 收集该院 2014 年 8 月至 2015 年 7 月因卵巢肿瘤行手术治疗的患者 80 例,其中良性卵巢瘤各 20 例,上皮性卵巢癌 40 例,Ⅰ期 13 例,Ⅱ期 14 例,Ⅲ~Ⅳ期 13 例。另选取 30 例志愿者的正常子宫内膜卵巢组织。采用流式细胞术检测 HB-EGF、C-erbB-2 的表达情况;使用免疫组织化学法检测子宫内膜癌和正常子宫内膜的 C-erbB-2 表达。**结果** HB-EGF 和 C-erbB-2 在卵巢癌组织中阳性细胞率显著高于良性卵巢瘤,差异有统计学意义($P<0.05$);C-erbB-2 在正常子宫内膜低表达,在子宫内膜癌的含量比正常子宫表达增高,差异有统计学意义($P<0.05$);子宫内膜癌的病理分期不同,C-erbB-2 表达也不同,Ⅰ、Ⅱ期明显低于Ⅲ、Ⅳ期,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** C-erbB-2 蛋白高表达与子宫内膜癌的发生、发展相关,检测 C-erbB-2 有助于临床评估子宫内膜癌的生物行为学和预后。

关键词:肝素结合样表皮生长因子; C-erbB-2; 卵巢癌; 肿瘤
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.021 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)19-2713-03

Study of HB EGF, C-erbB-2 test in differential diagnosis of ovarian benign and malignant tumor and determine the meaning of a complex condition

YANG Tianping

(Department of Laboratory, Zhangjiagang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhangjiagang, JiangSu 215600, China)

Abstract: Objective To study HB-EGF, C-erbB-2 test in differential diagnosis of ovarian benign and malignant tumor and determine the meaning of a complex condition. **Methods** Totally 80 cases of patients with ovarian tumors were collected from August 2014 to July 2015, including 20 cases benign ovarian tumor, and 40 cases epithelial ovarian cancer, 13 cases of I period, II period in 14 cases, III~IV period 13 cases. At the same time, normal endometrium ovarian tissue from 30 cases volunteers were collected. HB EGF, C-erbB-2 expression in ovarian tissue were detected by using flow cytometry. The immune histochemical method was used to detect C-erbB-2 expression from 40 examples carcinoma, 30 cases of normal endometrium intrauterine membrane. **Results** The rate of positive cells of HB-EGF, C-erbB-2 was significantly higher than that of benign ovarian tumor ($P<0.05$); C-erbB-2 for lower expression in normal endometrium, endometrial carcinoma in content was higher than the normal uterus express, the difference was statistically significant ($P<0.05$); Endometrial cancer of different pathological staging, C-erbB-2 expression was different also, including C-erbB-2 expression in endometrial carcinoma of stage I, II significantly below III, IV period, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The high expression of C-erbB-2 protein is associated with the occurrence and development of endometrial carcinoma, C-erbB-2 testing could help to clinically evaluate the biological behavior and prognosis of endometrial carcinoma.

Key words: HB-EGF; C-erbB-2; ovarian cancer; tumor

卵巢癌病死率较高,居女性生殖器 3 大恶性肿瘤之首位,其中 85%~90% 的卵巢瘤为上皮来源^[1]。早期卵巢瘤,即Ⅰ~Ⅱ期手术联合化疗等综合治疗效果较为满意,其 5 年生存率较高,可高达 90% 左右^[2]。卵巢位于盆腔深部,大多数患者由于未及时就诊而至晚期^[3]。现探讨肝素结合样表皮生长因子(HB-EGF)和 C-erbB-2 检测对卵巢良恶性肿瘤鉴别诊断及判断病情程度的临床意义,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择该院 2014 年 8 月至 2015 年 7 月因卵巢肿瘤行手术治疗的患者 80 例(观察组),年龄 32~60 岁,平均年龄(42.1±3.1)岁。纳入标准:(1)早期可无症状;妇科检查时偶然发现。(2)下腹不适感:最早为下腹或盆腔下坠感。(3)腹部肿物:当囊肿长大呈球形,腹部可扪及肿物。(4)压迫症状:肿瘤巨大时可出现压迫症状,出现尿频或尿潴留,大便不

畅,压迫横膈引起呼吸困难、心慌;影响下肢静脉血流,引起腹壁及两下肢浮肿。(5)疼痛:肿瘤出现蒂扭转时可致腹部剧烈疼痛。(6)妇科检查:多为子宫 1 侧、呈囊性、表面光滑、可活动、与子宫不粘连,蒂长时可扪及。阴道后穹窿常有胀满感,有时可触及肿瘤下界。(7)超声波检查:显示卵巢肿瘤内有液性回声^[4]。良性卵巢瘤、交界性卵巢瘤各 20 例;上皮性卵巢瘤 40 例,Ⅰ期 10 例,Ⅱ期 11 例,Ⅲ~Ⅳ期 9 例。另选取 30 例正常子宫内膜卵巢组织的志愿者作为对照组,年龄 33~59 岁,平均年龄(41.8±4.3)岁。2 组研究对象的年龄、体质量等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 检测 HB-EGF 和 C-erbB-2 在卵巢组织中的表达:采用流式细胞术检测卵巢肿瘤组织中 HB-EGF 与 C-erbB-2 的平均荧光强度与阳性细胞率。鼠抗人 C-erbB-2 单克隆抗体(美国 BD 公司生产);鼠抗人 HB-EGF 单克隆抗体(美国 Santa

Cruz 公司生产);FACScan 流式细胞测试仪器(美国 BD 公司生产)。PBS 溶液中剪碎、研磨、过滤,在术中取卵巢肿瘤组织,1 500 r/min,5 min,弃上清液,将 PBS 溶液调整为单细胞悬液,其中细胞数为 5×10^5 mL,再取 100 mL 鼠抗人 HB-EGF-抗 1 μ L 悬液,水浴加热,震荡,37 $^{\circ}$ C,50 min;通过 PBS 漂洗、离心,弃上清液,再加入 FITC 标记羊抗鼠 2 抗 1 μ L,避光反应 30 min,再经 PBS 漂洗、离心,弃上清液,进行抗原表达测定时检测 10 000 个肿瘤细胞。C-erbB-2 抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司)与免疫组织化学 SP 试剂盒,具体操作步骤按试剂盒说明书。阳性对照:已知阳性乳腺导管浸润癌切片,阴性对照:PBS 缓冲液。

1.3 观察指标 HB-EGF 和 C-erbB-2 在良性卵巢瘤、交界性

表 1 3 组研究对象 HB-EGF 和 C-erbB-2 检测阳性细胞率结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	HB-EGF		C-erbB-2	
		阳性细胞率	平均荧光强度	阳性细胞率	平均荧光强度
良性卵巢瘤组	20	19.7 \pm 6.8	31.2 \pm 6.8	21.6 \pm 10.1	28.3 \pm 6.9
交界性卵巢瘤组	20	36.5 \pm 10.9	35.1 \pm 10.8	32.7 \pm 11.2	33.6 \pm 8.2
上皮性卵巢癌组	40	56.2 \pm 11.7	49.6 \pm 18.7	49.6 \pm 13.7	42.2 \pm 8.9

2.2 C-erbB-2 蛋白在正常子宫内膜与子宫内膜癌的表达结果比较 C-erbB-2 在正常子宫内膜低表达,在子宫内膜癌的含量比正常子宫表达增高,差异有统计学意义($\chi^2=24.75,P<0.05$)。见表 2。

表 2 C-erbB-2 蛋白在正常子宫内膜与子宫内膜癌的表达结果比较[n(%)]

类别	n	C-erbB-2 阳性	C-erbB-2 阴性
正常子宫内膜	30	22(73.33)	8(26.67)
子宫内膜癌	40	4(10.00)	36(90.00)

2.3 C-erbB-2 表达与子宫内膜癌病理分期的关系 子宫内膜癌的病理分期不同,C-erbB-2 表达也不同,I、II 期明显低于 III、IV 期,差异有统计学意义($\chi^2=8.34,\chi^2=5.09,P<0.05$)。见表 3。

表 3 C-erbB-2 表达与子宫内膜癌病理分期的关系[n(%)]

病理分期	n	C-erbB-2 阳性
I 期	13	4(30.77)
II 期	14	5(38.46)
III~IV 期	13	8(61.54)

3 讨 论

近年来子宫内膜癌的发病率不断增加,其发病率占女性生殖系统恶性肿瘤的 20%~30%,是妇科常见的恶性肿瘤,且发病年龄呈现低龄化的趋势,严重威胁女性健康^[4-5]。然而子宫内膜癌的确切发生原因与机制尚不清楚,目前认为其发生与雌激素长期刺激并缺乏孕激素拮抗有关。

本研究表明,HB-EGF 和 C-erbB-2 在卵巢瘤组织中阳性细胞率显著高于良性卵巢瘤,差异有统计学意义($P<0.05$);C-erbB-2 在正常子宫内膜低表达,在子宫内膜癌的含量比正常子宫表达增高,差异有统计学意义($P<0.05$);子宫内膜癌的病理分期不同,C-erbB-2 表达也不同,I、II 期明显低于

卵巢瘤、上皮性卵巢癌中的阳性细胞率及平均荧光强度比较;C-erbB-2 蛋白在正常子宫内膜与子宫内膜癌中的表达情况比较;C-erbB-2 表达与子宫内膜癌病理分期的关系。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件对数据进行分析,定性资料采用独立样本 R \times C 列联表资料的 χ^2 检验;定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,使用配对设计资料的 t 检验或 2 组独立样本资料的 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组研究对象 HB-EGF 和 C-erbB-2 检测阳性细胞率结果比较 HB-EGF 和 C-erbB-2 在卵巢瘤组织中阳性细胞率显著高于良性卵巢瘤,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

III、IV 期,差异有统计学意义($P<0.05$)。HB-EGF 是由巨噬细胞、血管内皮细胞和平滑肌细胞等分泌产生,分布在人类和动物的多种组织中,如皮肤、骨骼、肌、肺、中枢神经系统等,且具有广泛的生物学作用^[6-7]。HB-EGF 生物活性与 EGF 类似,促细胞分裂较强,高于 EGF^[8]。跨膜蛋白分子(proHB-EGF)是 HB-EGF 的前体,通过一系列的生物化学反应降解后产生游离 HB-EGF(sHB-EGF)^[9]。邻近细胞的增殖及抑制邻近细胞的凋亡可通过 proHB-EGF 促进。有研究表明 HB-EGF 与生殖内分泌有极其密切的关系^[10]。通常表达在子宫内膜、早孕绒毛及蜕膜等组织中,对子宫内膜生长与分化均具有促进作用,因此在维持胎盘功能与介导胚泡黏附与着床方面起着非常重要的作用。C-erbB-2 癌基因又称 HER-2/neu 基因,是一种促癌基因,其编码有跨膜受体糖蛋白(P185),分别由 185 个氨基酸残基组成,且具有表皮生长因子受体和受体氨基酸激酶的活性和功能^[11]。在正常情况下,C-erbB-2 基因参与细胞生长与分化的调节,处于非激活状态,当受到某些致癌因素的作用后,其激活形式主要以基因扩增方式进行。有研究表明,C-erbB-2 基因扩增与蛋白表达之间具有很强的相关性,因此如果想反映基因扩增情况,可通过检测 C-erbB-2 的表达产物 P185^[12]。在人类正常上皮组织中 C-erbB-2 有少量表达,其表达能力与这些组织的再生修复有关,导致癌基因激活的原因为 C-erbB-2 癌基因过表达和扩增,并参与细胞的生长调控,因此癌细胞的生长增殖和细胞癌变受到促进。本研究结果显示,C-erbB-2 在子宫内膜癌的发生与发展可能由于细胞凋亡,是由 C-erbB-2 分子内区的 C 末端介导,通过抑制凋亡、促进细胞 C-erbB-2 在激活后而存活,进一步促进肿瘤形成。

综上所述,HB-EGF 和 C-erbB-2 检测可作为卵巢良恶性肿瘤鉴别诊断的辅助指标,子宫内膜癌的发生与 C-erbB-2 蛋白的高表达密切相关,临床可通过检测 C-erbB-2 评估子宫内膜癌的生物行为学和预后,推荐 HER-2/neu 蛋白作为临床共价疫苗投入临床研究。

的疗法中获益^[12-14]。此外,一些具有预后价值的基因(如 B-raf)也会一起被检测,除了测序法,MALDI MS 方法因高灵敏度、高特异性、检测时间短和样品处理容易而受到关注^[15]。由于免疫组织化学方法对标本的要求低、费用低,也受到部分学者的应用,但由于无法区分突变型和野生型 K-ras 肿瘤患者而受到一定的限制,设计针对突变型 K-ras 的单克隆抗体也就成为将来发展的一个方向^[16]。

致谢:本研究受到上海赛安生物医药科技有限公司彭南求及赵新泰教授的技术支持。

参考文献

[1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Ward E and forman D: global cancer statistics[Z]. 2011;69-90.

[2] Siegel R. Naishadham D and jemal: a cancer statistics, 2013[Z]. 2013;11-30.

[3] Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1. 1, cancer incidence and mortality world wide: IARC cancer base No. 11, Lyon, 2014. <http://globocan.iarc.fr>. Accessed; 20 Apr 2015.

[4] Fang JY, Richardson BC. The MAPK signalling pathways and colorectal cancer[J]. Lancet Oncology, 2005, 6(5): 322-327.

[5] Tougeron D, Lecomte T, Pages J, et al. Effect of low-frequency KRAS mutations on the response to anti-EGFR therapy in metastatic colorectal cancer[J]. Journal of Clinical Oncology, 2012, 30(15): 1267-1273.

[6] Yuan ZX, Wang XY, Qin QY, et al. The prognostic role of BRAF mutation in metastatic colorectal cancer receiving Anti-EGFR monoclonal antibodies: a Meta-Analysis[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e65995.

[7] De Roock W, Claes B, Bernasconi D, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective

consortium analysis[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(8): 753-762.

[8] Cox AD, Der CJ. Ras history; the saga continues[J]. Small GTPases, 2010, 1(1): 2-27.

[9] Ruzzo A, Graziano F, Canestrari E, et al. Molecular predictors of efficacy to anti-EGFR agents in colorectal cancer patients[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2010, 10(1): 68-79.

[10] Tentler JJ, Nallapareddy S, Tan AC, et al. Identification of predictive markers of response to the MEK1/2 inhibitor selumetinib(AZD6244) in K-ras-Mutated colorectal cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2010, 9(12): 3351-3362.

[11] Malumbres M, Barbacid M. RAS oncogenes; the first 30 years[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(6): 459-465.

[12] Tol J, Nagtegaal ID, Punt CJ. BRAF mutation in metastatic colorectal cancer[J]. N Engl J Med, 2009, 361(1): 98-99.

[13] Lievre A, Laurent-Puig P. Predictive value of KRAS mutations in chemoresistant CRC[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2009, 6(6): 306-307.

[14] 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.

[15] Fumagalli D, Gavin PG, Taniyama Y, et al. A rapid, sensitive, reproducible and cost-effective method for mutation profiling of colon cancer and metastatic lymph nodes[Z]. 2010;101.

[16] Piton N, Borrini F, Bolognese A, et al. KRAS and BRAF mutation detection: is immunohistochemistry a possible alternative to molecular biology in colorectal cancer[J]. Gastroenterol Res Pract, 2015, 23(4): 753-759.

(收稿日期:2016-02-24 修回日期:2016-04-19)

(上接第 2714 页)

参考文献

[1] 黄啸,蔡树模,范建立,等.晚期卵巢上皮性癌的综合治疗和预后分析[J].中华妇产科杂志,2002,37(5):291-293.

[2] Kerbrat P, Lhomme C, Fervers B, et al. Ovarian cancer[J]. Br J Cancer, 2001, 84(Suppl 2): 18-23.

[3] Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, et al. The HE4(WT-DC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma[J]. Cancer Res, 2003, 63(13): 3695-3700.

[4] 张琼,余娟平,徐伟文. HE4 在早期卵巢癌诊断中的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2013, 5(1): 44-45.

[5] 宁映霞,邓宇傲,曹建国. DFOG 抑制卵巢癌 A2780 细胞系球形成细胞自我更新与活化 FoxO3a 相关[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2014, 20(2): 1-4.

[6] 胡月子,张冉. IL12B 基因多态性与卵巢癌的相关性研究[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2012, 18(1): 25-27.

[7] 马玉霞,乔惠珍. 子宫内膜癌中癌基因 C-erbB-2 雌激素调节蛋白雌孕激素受体的表达相关性及其临床意义[J]. 内

蒙古医学杂志, 2005, 37(7): 577-580.

[8] 杨金巧,陈琳,幸天勇. 乳腺癌中 C-erbB-2 癌基因与雌、孕激素受体和 PS2 的关系及其预后意义[J]. 四川大学学报(医学版), 2004, 35(3): 334-336.

[9] Bruno S, Darzynkiewicz Z. Cell cycle dependent expression and stability of the nuclear protein detected by Ki-67 antibody in HL-60 cells[J]. Cell Prolif, 1992, 25(1): 31-40.

[10] 王殊,张嘉庆,乔新民,等. 乳腺癌雌激素受体亚型与表皮生长因子受体-2 表达的关系[J]. 中国妇产科临床杂志, 2005, 6(1): 54-56.

[11] 姜展红,杨丽,崔娣,等. 癌相关基因蛋白在子宫内膜癌中表达[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2010, 24(6): 569-571.

[12] 侯庆香,刘蕊,侯庆伦,等. CD44v6 和 C-erbB-2 在子宫内膜癌中的表达[J]. 中国基层医药, 2006, 13(11): 1844-1846.

(收稿日期:2016-03-21 修回日期:2016-05-16)