

## EGFR、MTDH、ERCC1 在口腔特殊亚型的鳞状细胞癌中的表达及临床意义

陈蔚华\* 裴婧 贾云香

(南昌大学附属口腔医院病理科,江西省口腔生物医学重点实验室 江西 南昌 330006)

**[摘要]** 目的:探讨 EGFR、MTDH、ERCC1 在口腔特殊亚型的鳞状细胞癌(简称鳞癌)中的表达意义,为其治疗提供依据。方法:运用免疫组化二步法检测口腔特殊亚型鳞状细胞癌的 EGFR、MTDH、ERCC1 的表达情况。结果:口腔腺鳞癌比基底样鳞癌、乳头状鳞癌和梭形细胞癌中的 EGFR 表达高,后三者又比疣状癌的表达高( $P < 0.05$ );腺鳞癌比基底样鳞癌、乳头状鳞癌和疣状癌中的 MTDH、ERCC1 表达高,后三者又比梭形细胞癌的表达高( $P < 0.05$ );腺鳞癌比基底样鳞癌的淋巴结转移率高,基底样鳞癌比乳头状鳞癌、梭形细胞癌和疣状癌的淋巴结转移率高( $P < 0.05$ )。结论:EGFR、MTDH 和 ERCC1 的表达水平可以作为评估口腔特殊亚型鳞状细胞癌种类的重要生物学指标,为口腔特殊亚型鳞状细胞癌治疗提供基础与依据。

**[关键词]** 口腔鳞状细胞癌 特殊亚型 ERCC1 MTDH EGFR

**[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671—7651(2018)06—0623—04

**[doi]** 10.13701/j.cnki.kqyxj.2018.06.012

### Expression and Clinical Significance of EGFR, MTDH, and ERCC1 in Special Subtypes of Oral Squamous Carcinoma.

CHEN Wei-hua\*, PEI Jing, JIA Yun-xiang. Department of Pathology, Affiliated Stomatological Hospital of Nanchang University, The Key Laboratory of Oral Biomedicine of Jiangxi Province, Nanchang 330006, China.

**[Abstract]** **Objective:** To explore the expression of EGFR, MTDH, and ERCC1 in special subtypes of oral squamous cell carcinoma. **Methods:** Immunohistochemistry polymer was applied to detect special subtypes of oral squamous cell carcinoma. **Results:** The expression of EGFR in oral adenosquamous carcinoma was higher than that of basaloid squamous cell carcinoma, papillary squamous cell carcinoma, and spindle cell carcinoma, and the expression in verrucous carcinoma was the weakest( $P < 0.05$ ). The expressions of MTDH and ERCC1 in oral adenosquamous carcinoma were higher than those of basaloid squamous cell carcinoma, papillary squamous cell carcinoma, and verrucous carcinoma, and the expressions in spindle cell carcinoma was the weakest( $P < 0.05$ ). The metastasis rate of lymph nodes in oral adenosquamous carcinoma was higher than that of basaloid squamous cell carcinoma, and the rates in papillary squamous cell carcinoma, spindle cell carcinoma, and verrucous carcinoma were weaker( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The levels of EGFR, MTDH, and ERCC1 can be used as important biomarkers for evaluation, which may provide the basis for the treatments of special subtypes of oral squamous cell carcinoma.

**[Key words]** Oral squamous carcinoma Special subtypes EGFR MTDH ERCC1

鳞状细胞癌(简称鳞癌)是头颈部的最常见的恶性肿瘤。发生于口腔的特殊亚型的鳞状细胞癌有梭形细胞癌、腺鳞癌、乳头状鳞癌、基底样鳞状细胞癌和疣状癌<sup>[1]</sup>。虽同为鳞状细胞癌,它们的临床表现、

组织学表现和生物学行为各不相同。本文将这几类特殊亚型鳞癌进行免疫组化研究。

### 1 材料与方法

1.1.1 标本及其临床病理资料 选取南昌大学附属口腔医院病理科 2002 年月~2014 年月手术标本 72 例,男 48 例,女 24 例,年龄 34~84 岁,中位年龄 64.5 岁。其中病理类型为梭形细胞癌 4 例,腺鳞癌 6 例,乳头状鳞癌 10 例,基底样鳞癌 14 例,疣状癌 38 例,另选择外伤手术的牙龈黏膜 1 例作为正常对

**基金项目** 江西省科技厅社会发展科技支撑项目(编号:20111BBG70027-5)

**作者简介** 陈蔚华(1968~)女,浙江余姚人,硕士,副主任医师,主要从事口腔颌面部肿瘤和口腔黏膜病的病理研究。

\* 通讯作者 陈蔚华,电话:0791—86360643

照。上述标本均经 10% 中性甲醛固定后常规制作石蜡包埋切片,切片厚度为 4 微米。

1.1.2 主要试剂 即用型免疫组化二步法(非生物素)试剂盒,兔抗人 MTDH 多克隆抗体、兔抗人 EGFR 单克隆抗体、鼠抗人 ERCC1 单克隆抗体、DAB 封片剂均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法 4 微米连续切片,分别进行 HE 染色和免疫组化二步法染色,每批试验均选取阳性对照,PBS 代替一抗作为空白对照。

1.3 结果判断标准 EGFR 定位于细胞膜,在 400 倍高倍镜下 5 个视野计数肿瘤细胞,按照阳性肿瘤细胞占肿瘤细胞的比例进行评价: $<5\%$ (0), $5\% \sim 24\%$ (1), $25 \sim 49\%$ (2), $50\% \sim 74\%$ (3), $\geq 75\%$ (4);着色强度计分:浅黄色(1),棕黄色(2),深棕色(3)。最终 2 种计分所得分值之积: $\leq 1$  为阴性, $2 \sim 4$  为低表达, $5 \sim 8$  为中度表达, $\geq 9$  为高表达<sup>[2]</sup>。

MTDH 定位于细胞浆和(或)细胞膜,阳性细胞率计分: $<5\%$ (0), $6\% \sim 25\%$ (1), $26\% \sim 50\%$ (2), $51\% \sim 75\%$ (3), $>75\%$ (4);着色强度计分:不着色(0),浅黄色(1),棕黄色(2),深棕色(3)。2 种积分所得分值之和 $\leq 1$  为阴性,2 为弱阳性, $3 \sim 4$  为阳性, $\geq 5$  为强阳性<sup>[3]</sup>。

ERCC1 定位于细胞核,阳性细胞率计分:无阳性细胞(0), $1\% \sim 25\%$ (1), $26\% \sim 50\%$ (2), $51\% \sim 75\%$ (3), $>75\%$ (4);着色强度计分:不着色(0),浅黄色(1),棕黄色(2),深棕色(3)。2 种计分所得分值之积 0 为阴性, $\leq 4$  为低表达, $5 \sim 8$  为中等表达, $\geq 9$  强表达。其中  $5 \sim 12$  视为过表达<sup>[4]</sup>。

1.4 统计学方法 所有资料输入 SPSS 统计软件包进行检验,Kruskal-Wallis  $H$  检验, $\chi^2$  检验。检验水准 $=0.05$ , $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各种特殊亚型口腔鳞癌 EGFR 的表达情况

由表 1 可见 EGFR 在五种特殊类型的鳞癌中表达有差异,两两比较后发现,腺鳞癌比基底样鳞癌、乳头状鳞癌和梭形细胞癌中的 EGFR 表达高(图 1),后三者又比疣状癌的表达高,各鳞癌亚型 EGFR 表达数据差异比较有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.2 各种特殊亚型口腔鳞癌 MTDH 的表达情况

由表 2 可见,MTDH 在五种特殊类型的鳞癌中表达有差异,两两比较后发现,腺鳞癌比基底样鳞癌、乳头状鳞癌和疣状癌中的 MTDH 表达高(图 2),后三者又比梭形细胞癌的表达高,数据比较有统计学意

义( $P < 0.05$ )。

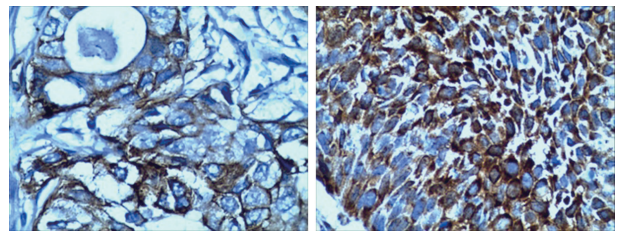


图 1 EGFR 在腺鳞癌中的表达(免疫组化染色,×100)

图 2 MTDH 在基底样鳞癌中的表达(免疫组化染色,×400)

Fig. 1 The expression of EGFR in adenosquamous cell carcinoma (IHC, ×100).

Fig. 2 The expression of MTDH in basaloid squamous cell carcinoma (IHC, ×400).

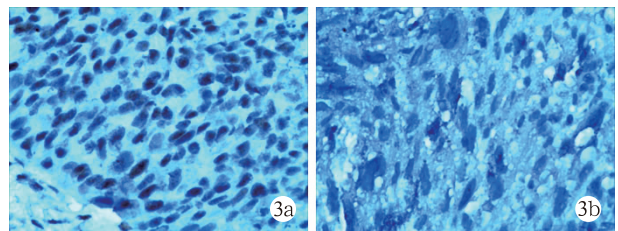


图 3 ERCC1 在基底样鳞癌(3a)和梭形细胞癌(3b)中的表达(免疫组化染色,×400)

Fig. 3 The expression of ERCC1 in basaloid squamous cell carcinoma (IHC, ×400) and spindle cell carcinoma (IHC, ×400).

表 1 EGFR 在特殊亚型口腔鳞癌中的表达

Table 1 The expression of EGFR in special subtypes of oral squamous carcinoma

鳞癌亚型	阴性	低表达	中表达	高表达	合计
梭形细胞癌	0	0	4	0	4
腺鳞癌	0	0	0	6	6
乳头状鳞癌	0	2	0	8	10
基底样鳞癌	0	0	8	6	14
疣状癌	0	18	16	4	38
合计	0	20	28	24	72

注: $P < 0.05$

表 2 MTDH 在特殊亚型口腔鳞癌中的表达

Table 2 The expression of MTDH in special subtypes of oral squamous carcinoma

鳞癌亚型	阴性	弱阳性	阳性	强阳性	合计
梭形细胞癌	4	0	0	0	4
腺鳞癌	0	3	3	0	6
乳头状鳞癌	2	4	4	0	10
基底样鳞癌	4	10	0	0	14
疣状癌	8	22	6	2	38
合计	18	39	13	2	72

注: $P < 0.05$

### 2.3 各种特殊亚型口腔鳞癌 ERCC1 的表达情况

由表 3 可见,ERCC1 在 5 种特殊类型的鳞癌中表达

有差异,两两比较后发现,腺鳞癌比基底样鳞癌、乳头状鳞癌和疣状癌中的 ERCC1 表达高,后三者又比梭形细胞癌的表达高( $P < 0.05$ ),见图 3。

表 3 ERCC1 在特殊亚型口腔鳞癌中的表达

Table 3 The expression of ERCC1 in special subtypes of oral squamous carcinoma 例

鳞癌亚型	阴性	低表达	高表达	合计
梭形细胞癌	4	0	0	4
腺鳞癌	0	0	6	6
乳头状鳞癌	2	2	6	10
基底样鳞癌	0	4	10	14
疣状癌	4	18	16	38
合计	10	24	38	72

注: $P < 0.05$

2.4 各种特殊亚型的口腔鳞癌的淋巴结转移情况  
由表 4 可见,淋巴结转移率在 5 种特殊类型的鳞癌中表达有差异,两两比较后发现,腺鳞癌比基底样鳞癌的淋巴结转移率高,基底样鳞癌比乳头状鳞癌、梭形细胞癌和疣状癌的淋巴结转移率高( $P < 0.05$ ),后三者之间无明显差异。

表 4 特殊亚型口腔鳞癌中的淋巴结转移情况

Table 4 Lymph node metastasis in special subtypes of oral squamous carcinoma 例

鳞癌亚型	无	转移	转移率/%	合计
梭形细胞癌	4	0	0.0	4
腺鳞癌	0	6	100.0	6
乳头状鳞癌	10	0	0.0	10
基底样鳞癌	10	4	28.6	14
疣状癌	38	0	0.0	38
合计	62	10	13.9	72

注: $P < 0.05$

### 3 讨论

梭形细胞癌是鳞癌中形态学上具有双相表现的亚型;腺鳞癌是指肿瘤具备鳞癌和腺癌两种成分;乳头状鳞状细胞癌可能与人类乳头状瘤病毒感染有关;基底样鳞状细胞癌是高级别的鳞癌亚型,疣状癌是高分化的鳞癌亚型<sup>[1]</sup>。

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)属于 ErbB 受体家族,涉及头颈鳞癌发病机制的信号通路中的重要部分,其信号传导途径异常可促进癌细胞的增殖、转移、肿瘤血管生成及抑制细胞凋亡<sup>[5]</sup>。在 90% 以上的头颈部鳞癌中,EGFR 过表达,治疗效果差,生存率低<sup>[6]</sup>。目前,关于许多 EGFR 单抗靶向治疗头颈鳞癌的临床研究不断开展<sup>[7]</sup>。

易粘蛋白(metadherin, MTDH)又称星形细胞

提升基因(astrocyte elevated gene-1, AEG-1),在食道鳞癌、乳腺癌、前列腺癌中有过度表达,与肿瘤的恶变有关<sup>[8]</sup>。有学者认为 MTDH 的表达与肿瘤的血管生成和转移有关<sup>[9]</sup>,可作为口腔鳞状细胞癌的有价值的预后因素<sup>[10]</sup>。MTDH 的过表达与肿瘤转移的增强和生存期的缩短密切相关,并且使细胞对于化疗药物产生耐药性<sup>[11]</sup>。本实验 MTDH 与口腔鳞癌种类和淋巴结有无转移有密切关系,与之前学者的研究结果相似<sup>[8]</sup>。

有实验表明切除修复交叉互补基因 1(excision repair cross-complementation group 1, ERCC1)的表达可成为头颈癌病人的生存时间的负性预后因素<sup>[12]</sup>。头颈鳞癌的 ERCC1 表达越高,对铂类药物和放射治疗的敏感性越低<sup>[13]</sup>。ERCC1 也许可以作为口腔鳞癌放化疗的预测指标。

此实验结果显示:口腔腺鳞癌中的 EGFR、MTDH、ERCC1 的表达尤为显著,提示腺鳞癌的对化疗药物容易耐药,对放化疗不敏感,治疗效果差,容易淋巴结或远处转移,生存率低,预后是最差的。表达仅次于腺鳞癌的是基底样鳞癌;表达较弱的是乳头状鳞状细胞癌、疣状癌以及梭形细胞癌。由此我们推断:腺鳞癌和基底样鳞癌的恶性程度较高,乳头状鳞癌和疣状癌的预后较好。在此次研究中,梭形细胞癌表达最弱,但因为样本量太少,也无从断定,需要收集更多的样本行进一步的研究。EGFR、MTDH 和 ERCC1 的表达水平可以作为评估口腔特殊类型鳞状细胞癌种类的重要生物学指标,为治疗提供基础与依据。

目前,小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)可以抑制 MTDH、EGFR 和 ERCC1 的表达,抑制肿瘤细胞的生长,降低肿瘤的转移率,提高肿瘤对化疗药物的敏感性<sup>[14,15]</sup>。针对于口腔鳞癌,研发一些小分子抑制剂,有治疗意义。

### 参考文献

- [1] Moghtadaei M, Hashemi Golpayegani MR, et al. Predicting the risk of squamous dysplasia and esophageal squamous cell carcinoma using minimum classification error method [J]. Comput Biol Med, 2014, 45: 51-57
- [2] 马捷,刘莹,朱东旺,等. EGFR 在局部晚期口腔鳞癌中的表达与 TPF 诱导化疗的关系[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2013, 11(3): 209-214
- [3] 周志毅,杨国仪,孙荣超,等. 非小细胞肺癌中 MTDH 及 VEGF 表达的临床病理意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(12): 1294-1296
- [4] 何黎明,郭新程,陶山松,等. CCND1、ORA0V1、ERCC1 在舌鳞状细胞癌中的表达和临床意义[J]. 口腔医学研究, 2015, 31

(6) : 597—600

- [5] Su NW, Leu YS, Lee JC, et al. EGF and EGFR genetic polymorphisms predict prognosis in locally advanced pharyngolaryngeal squamous cell carcinoma patients receiving postoperative concurrent chemoradiotherapy [J]. *Onco Targets Ther*, 2014, 7 : 2197—2204
- [6] Price KA, Cohen EE. Mechanisms of and therapeutic approaches for overcoming resistance to epidermal growth factor(EGFR)—targeted therapy in squamous cell carcinoma of the head and neck(SCCHN) [J]. *Oral Oncol*, 2015,51(5) : 399—408
- [7] Cohen RB. Current challenges and clinical investigations of epidermal growth factor receptor (EGFR) — and ErbB family—targeted agents in the treatment of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) [J]. *Cancer Treat Rev*, 2014, 40(4) : 567—577
- [8] Benhabbour SR, Luft JC, Kim D, et al. *In vitro* and *in vivo* assessment of targeting lipid—based nanoparticles to the epidermal growth factor—receptor (EGFR) using a novel Hep-tameric Z ~ (EGFR) domain [J]. *J Control Release*, 2012, 158(1) : 63—71
- [9] Sarkar D, Fisher PB. AEG—1/MTDH/LYRIC: clinical significance [J]. *Adv Cancer Res*, 2013, 120 : 39—74
- [10] Xia X, Du R, Zhao L. Expression of AEG—1 and microves-sel density correlates with metastasis and prognosis of oral squamous carcinoma [J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(4) : 858—865
- [11] 邓年丰,冯云枝.舌鳞状细胞癌组织中 EphA7 和 MTDH 表达及其临床病理意义[J].中南大学学报(医学版),2011,36(12) : 1195—1198
- [12] Gao Y, Liu D. The roles of excision repair cross—complementation group1 in objective response after cisplatin—based concurrent chemoradiotherapy and survival in head and neck cancers: A systematic review and meta—analysis [J]. *Oral Oncol*, 2015,51(6) : 570—577
- [13] Chiu TJ, Chen CH, Chien CY, et al. High ERCC1 expression predicts cisplatin—based chemotherapy resistance and poor outcome in unresectable squamous cell carcinoma of head and neck in a betel—chewing area [J]. *J Transl Med*, 2011, 9(1) : 31
- [14] 王君芳,王巍,李晓刚,等.口腔鳞癌细胞 EGFR 的表达与顺铂敏感性关系的研究[J].口腔颌面外科杂志,2011,21(5) : 318—321
- [15] 王启明,谢晓冬.MTDH 与肿瘤关系的研究进展[J].中华肿瘤防治杂志,2011,18(14) : 1138—1140
- [收稿日期:2017—12—21] (本文编辑 李四群)

## 唇腭裂易感基因研究取得新进展

武汉大学口腔医学院边专教授团队和安徽医科大学孙良丹教授团队合作完成的唇腭裂易感基因研究取得新进展,相关成果以“Genome—wide analyses of non—syndromic cleft lip with palate identify fourteen novel loci and genetic heterogeneity”(《非综合征型唇腭裂全基因组关联分析发现了 14 个新的易感位点和遗传异质性》)为题,于 2017 年 2 月 24 日在 Nature 子刊 Nature Communications 在线发表。该研究受国家自然科学基金(81120108010, 81470727, 81300870 and 81571438)、国家重点研发计划(2016YFC1000505)、973 前期项目(2012CB722404)等多项基金资助。

唇腭裂是人类最常见的颅颌面出生缺陷,其引起的软组织畸形和不同程度的骨组织缺损,会对患儿的进食、面部美观、语音发展、心理和社会交往等方面造成严重影响,给患儿家庭和社会带来了巨大的医疗负担。唇腭裂的发生与不同的人种、环境、社会经济条件等多种影响因素相关,中国新生儿唇腭裂发生率约为 1.42/1000,为发病率最高的地区之一,非综合征型唇腭裂(Non—Syndromic Cleft Lip with Palate, NSCLP)是最常见且最严重的亚型,因此,对其发病机制的研究对于提高我国出生人口质量有着重要的意义。

NSCLP 是在遗传因素与环境因素相互作用下发生的,其中,遗传因素发挥了重要作用。边专教授课题组利用目前已知最大的唇腭裂研究队列,采用全基因组关联分析(Genome—Wide Association Study, GWAS),发现了 14 个新的 NSCLP 相关易感基因,并验证了以往 GWAS 报道的 12 个易感位点,在此基础之上的跨表型、跨人种的验证分析,进一步提供了有力的遗传学证据,说明唇腭裂的发生在不同的临床表型和不同的人种之间具有较强的遗传异质性。本项目的研究结果不仅加深了对非综合征型唇腭裂遗传机制的认识,也为建立适合中国人群的唇腭裂孕前一围受孕期风险评价指标、预警模型和早期干预防控策略的制定提供依据。