

脑胶质瘤 ADAM17 与 EGFR 的表达及临床意义

呼铁民 褚会松 田 甜 王昆鹏 杨国军 杨立军 王维兴

【摘要】目的 探讨解聚素-金属蛋白酶 17(ADAM17)与表皮生长因子受体(EGFR)在脑胶质瘤组织中的表达及临床意义。方法 选择 2014 年 2 月至 2016 年 8 月手术切除 68 例新鲜脑胶质瘤标本,其中高级别胶质瘤 42 例,低级别胶质瘤 26 例。另选择同期颅脑损伤内减压术获取的正常脑组织标本 10 例为对照组。采用免疫印迹法和免疫组化染色检测 ADAM17 和 EGFR 表达。结果 高级别胶质瘤 ADAM17 和 EGFR 表达水平明显高于低级别胶质瘤( $P<0.05$ ),而低级别胶质瘤 ADAM17 和 EGFR 表达水平均明显高于对照组( $P<0.05$ )。胶质瘤表达水平呈明显正相关( $r=0.444, P<0.001$ )。结论 随着脑胶质瘤恶性程度的增加,EGFR 和 ADAM17 表达水平明显升高,提示 EGFR、ADAM17 可作为脑胶质瘤恶性程度的评估指标。

【关键词】脑胶质瘤;解聚素-金属蛋白酶 17;表皮生长因子受体;基因表达  
【文章编号】1009-153X(2017)08-0557-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; Q 786

Expressions of ADAM17 and EGFR in gliomas tissues and their clinical meanings

HU Tie-min, CHU Hui-song, TIAN Tian, WANG Kun-peng, YANG Guo-jun, YANG Li-jun, WANG Wei-xing. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital, Chengde Medical College, Chengde 067000, China

【Abstract】Objective To investigate the expressions of adisintegrin and metalloproteinase 17 (ADAM17) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in the gliomas tissues and their clinical meanings. Methods The expression levels of ADAM17 and EGFR were determined by western blot and immunohischemical technique in 68 samples of fresh gliomas tissues, of which, 42 were derived from the high-grade gliomas and 26 from the low-grade gliomas, and in 10 samples of normal brain tissues derived from the patients with traumatic brain injury undergoing surgery. The relationship between ADAM17 and EGFR was analyzed. Results The expression level of ADAM17 was significantly higher in high-grade gliomas than low-grade gliomas ( $P<0.01$ ), of which the expression level of ADAM17 was significantly higher than the normal brain tissues ( $P<0.01$ ). The EGFR protein was not detected in the normal brain tissues. The expression level of EGFR was significantly higher in high-grade gliomas than low-grade gliomas ( $P<0.01$ ). The positive expression rate of ADAM17 [95.24% (40/42)] was significantly higher in high-grade gliomas than that [61.54% (16/26)] in low-grade gliomas, of which the positive expression rate of ADAM17 was significantly higher than that [20.00% (2/10)] in the normal brain tissues ( $P<0.01$ ). The positive expression rate of EGFR was significantly higher in high-grade gliomas than that in low-grade gliomas ( $P<0.01$ ). The expression of ADAM17 was positively related to the expression of EGFR ( $P<0.01$ ). Conclusions The expressions of EGFR and ADAM17 rise as the malignant degree of brain glioma increases. It is suggested that the high expression levels of ADAM17 and EGFR are closely related to proliferation of glioma cells.

【Key words】Gliomas; Adisintegrin and metalloproteinase 17; Epidermal growth factor receptor; Expression; Clinical meaning

脑胶质瘤为颅内常见的恶性肿瘤之一,即使采用手术联合放、化疗等综合治疗手段能改善病情,但难以达到理想的预后效果<sup>[1]</sup>。多种细胞因子和基因在脑胶质瘤发生与发展中起重要作用<sup>[2]</sup>。解聚素-金属蛋白酶 17 (adisintegrin and metalloproteinase 17, ADAM17)属于细胞膜表面糖蛋白,能释放或激活多种生物活性因子<sup>[3]</sup>。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)能使细胞内信号传导通路激活,对细胞生物学活性进行调节。ADAM17 和

EGFR 在肿瘤细胞增殖、生长、侵袭中均发挥重要作用<sup>[4]</sup>。本研究探讨 ADAM17 与 EGFR 在恶性脑胶质瘤组织中的表达变化及临床意义。

1 材料与方法

1.1 病例入选标准

1.1.1 纳入标准 ①所有病人均对本研究知情,且自愿签署知情同意书;②无代谢性疾病;③首次行手术治疗,且术前未接受化疗、放疗;④经我院伦理委员会审核批准;⑤临床资料完整。

1.1.2 排除标准 ①伴有其他严重合并症;②妊娠期及哺乳期女性;③心、肾等重要器官严重不全。

1.2 标本来源 选择 2014 年 2 月至 2016 年 8 月手术

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2017.08.012  
作者单位:067000 河北承德,承德医学院附属医院神经外科(呼铁民、褚会松、田 甜、王昆鹏、杨国军、杨立军、王维兴)

切除新鲜脑胶质瘤标本68例,其中男36例,女32例;年龄26~75岁,平均 $(45.63\pm 2.44)$ 岁。按2016版WHO肿瘤病理分级<sup>[5]</sup>:高级别胶质瘤(Ⅲ~Ⅳ级)42例(包括胶质母细胞瘤32例,间变性星形细胞瘤10例),低级别胶质瘤(Ⅰ~Ⅱ级)26例(包括少突胶质细胞瘤12例,星形胶质细胞瘤14例)。另选择同期颅脑损伤行减压术获取的正常脑组织标本10例为对照组,其中男6例,女4例;年龄27~74岁,平均 $(45.64\pm 2.46)$ 岁。

### 1.3 检测方法

1.3.1 免疫印记法检测ADAM17、EGFR蛋白表达 常规预冷组织裂解液解冻存的脑组织,并振荡混匀。取50  $\mu$ g脑细胞总蛋白,通过变性、电泳及转膜后,以标准蛋白为参照。加入一抗:兔抗人EGFR多克隆抗体(1:200;广州安必平(LBP)医药科技股份有限公司)和兔抗人ADAM17(1:1 000;美国adcam公司),4  $^{\circ}$ C过夜。然后,加入二抗(1:5 000),室温震荡孵育1 h。化学发光法显影定影,使用北京航空航天大学图像分析系统进行数据分析。

1.3.2 EGFR、ADAM17免疫组化染色 采用S-P法进行免疫组化染色检测,严格参照试剂盒说明书实施操作。以PBS代替一抗为阴性对照,阳性对照为已知阳性表达的胶质瘤标本。EGFR定位于细胞质和细胞膜,以细胞质内有棕黄色颗粒出现为阳性表达,根据染色强度和阳性细胞率分为四个等级:随机视野中无阳性细胞出现为阴性(-);胞浆内浅棕黄色反应均匀分布,阳性细胞数<25%为弱阳性;阳性细胞数25%~50%,胞浆内均匀分布深棕黄色反应为阳性(++);阳性细胞数>50%,胞浆内呈棕黑色反应为强阳性(+++)。ADAM17表达:阴性,细胞膜未着色或无阳性细胞数;弱阳性,阳性细胞数<30%,细胞膜着色不完整(+);阳性,阳性细胞数30%~70%,细胞膜中度着色(++);强阳性,阳性细胞数>70%或细胞膜强着色(+++)。

1.4 统计学方法 采用SPSS 20.0软件分析,正态分布计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用方差分析和 $t$ 检验;计数资料采用 $\chi^2$ 检验,采用Spearman等级相关性检验分析相关性;检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 免疫组化检测结果

2.1.1 ADAM17表达 高级别胶质瘤ADAM17阴性2例,弱阳性8例,阳性12例,强阳性20例;阳性率为95.24%。低级别胶质瘤ADAM17阴性10例,弱阳性

9例,阳性7例;阳性率为61.54%。对照组阴性8例,弱阳性2例;阳性率为20.00%。3组ADAM17阳性率均有统计学差异( $P<0.05$ )。见图1。

2.1.2 EGFR表达 高级别胶质瘤EGFR阴性11例,弱阳性6例,阳性8例,强阳性17例;阳性率为73.81%。低级别胶质瘤EGFR阴性15例,弱阳性2例,阳性6例;阳性率为61.54%。对照组10均为阴性;阳性率为0%。3组EGFR阳性率均有统计学差异( $P<0.05$ )。见图2。

2.2 免疫印记法检测结果 高级别胶质瘤ADAM17和EGFR蛋白表达水平均明显高于低级别胶质瘤( $P<0.05$ ),而低级别胶质瘤ADAM17和EGFR蛋白表达水平均明显高于对照组( $P<0.05$ )。见表1和图3、4。

2.3 胶质瘤ADAM17、EGFR表达的相关性 68例脑胶质瘤组织中,ADAM17和EGFR两者双阴性表达率为14.71%(10/68),双阳性表达率为57.35%(39/68);两者表达水平呈明显正相关( $r=0.444$ ,  $P<0.001$ )。

## 3 讨论

ADAM属于糖蛋白家族,也属于锌离子依赖的金属蛋白酶家族<sup>[6]</sup>,在细胞融合、粘附以及信号传递等方面起重要作用,与肿瘤发生与发展存在密切的相关性<sup>[7]</sup>。ADAM17具有多种生物学功能:①能降解细胞外基质和基底膜,在肿瘤侵袭和转移中可起重要作用;②能经转化生长因子、剪切脱落双调蛋白等多种EGFR的配体,从细胞膜外功能区使蛋白脱落,可使多种转录分子释放或激活,进而使肿瘤细胞的增殖能力和运动能力提高<sup>[8]</sup>。研究显示,胶质瘤ADAM17表达水平与淋巴结转移数量有密切的联系,呈正相关<sup>[9]</sup>。脑胶质瘤组织ADAM17水平明显高于正常脑组织,而且ADAM17表达水平与胶质瘤恶性程度密切相关<sup>[10]</sup>。

EGFR为表皮生长因子家族成员,乳腺癌、子宫颈癌等多种肿瘤组织呈高表达<sup>[11]</sup>。EGFR属于膜表面受体,具有酪氨酸激酶活性,能抑制血管生成、破坏细胞周期等,对肿瘤细胞的迁徙、凋亡及转移等均可造成影响。EGFR经细胞内信号传导系统导致肿瘤细胞恶化和生长失控:①激活PI3K-Akt通路,抑制细胞凋亡,能使下游血管内皮生长因子活化,对肿瘤内微血管网的生成起到促进作用,促使肿瘤发生与发展;②经ERK途径使DNA复制启动,导致细胞分化、增殖,对细胞周期起到调节作用。王文华等

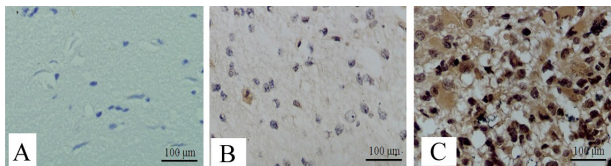


图 1 解聚素-金属蛋白酶 17 免疫组化染色图 (×400)  
A. 正常脑组织; B. 低级别胶质瘤; C. 高级别胶质瘤

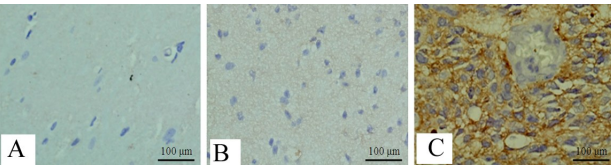


图 2 表皮生长因子受体免疫组化染色图 (×400)  
A. 正常脑组织; B. 低级别胶质瘤; C. 高级别胶质瘤

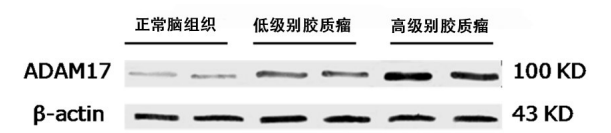


图 3 ADAM17 电泳图  
ADAM17: 解聚素-金属蛋白酶 17



图 4 EGFR 电泳图  
EGFR: 表皮生长因子受体

表 1 不同组织 EGFR、ADAM17 蛋白表达水平比较		
组织	ADAM17 表达值	EGFR 表达值
正常脑组织	0.15±0.03	
低级别胶质瘤	0.32±0.06*	0.46±0.08*
高级别胶质瘤	0.80±0.15**	1.10±0.25**

注:与正常脑组织相应值比,\* $P<0.05$ ;与低级别胶质瘤相应值比,# $P<0.05$ ;ADAM17:解聚素-金属蛋白酶 17; EGFR:表皮生长因子受体

[12] 研究显示,肿瘤临床分期、大小与 EGFR 的表达水平存在密切相关性。脑胶质瘤 EGFR 表达水平明显增高,在恶性胶质瘤中常出现突变、重排、过度表达和扩增,诱使细胞生长失控,导致胶质瘤细胞异常的浸润、增殖及扩增等。本研究结果显示,正常脑组织 EGFR 呈阴性表达,随胶质瘤级别增高,其表达水平明显增高。另外,本研究相关性分析显示,胶质瘤 ADAM17 与 EGFR 呈正相关,说明 EGFR 与 ADAM17 密切相关,ADAM17 对 EGFR 可能具有调节作用。

【参考文献】

[1] 郭桂华,庄雅娟,邱虹,等. 半乳糖凝集素 3 及基质金属蛋白酶 2 在人脑胶质瘤中的表达及意义[J]. 中国综合临床,2014,30(7):735-738.

[2] 朱建军,李春生. 血清 CXCL9 和 TIMP-1 水平对脑胶质瘤诊断价值的评价[J]. 标记免疫分析与临床,2015,22(7):651-653.

[3] 周泉,李艳,童永清. 脑胶质瘤个体化治疗和分子诊断的研究进展[J]. 职业与健康,2016,32(3):426-429.

[4] 沈照立,薛飞,沈睿,等. 解聚素-金属蛋白酶 17 和上皮生长因子受体在人脑胶质瘤中的表达及其临床意义[J]. 中国医药导报,2014,11(31):27-30.

[5] Louis DN, Perry A, Relfemberger G, et al. The 2016 WHO classification of tumours of the central nervous system [J]. Acta Neuropathol, 2016, 131: 803-820.

[6] 王鹏,杨勇,王景文,等. LRIG1、EGFR、E-Cadherin 及 N-Cadherin 在胶质瘤中表达及其临床意义[J]. 临床神经外科杂志,2016,13(2):118-126.

[7] Klingler S, Guo BF, Yao J, et al. Development of resistance to EGFR-targeted therapy in malignant glioma can occur through EGFR-dependent and -independent mechanisms [J]. Cancer Res, 2015, 75(10): 2109-2119.

[8] 李连进,佟建洲,崔敬,等. VEGF、EGFR、PDGF 在人脑胶质瘤中的表达及其与恶性程度和预后的关系[J]. 海南医学,2016,27(14):2251-2254.

[9] Bhattacharya DJ, Chaudhuri S, Singh MK, et al. T11TS inhibits Angiopoietin-1/Tie-2 signaling, EGFR activation and Raf/MEK/ERK pathway in brain endothelial cells restraining angiogenesis in glioma model [J]. Exp Mol Pathol, 2015, 98(3): 455-466.

[10] 刘金戈,许建平,王亚丽,等. 人脑胶质瘤中 PRDX-1、EGFR、PI3K、PTEN 的表达及相关性[J]. 诊断病理学杂志,2014,21(3):165-168.

[11] Wu ZC, Wang GG, Xu SQ, et al. Effects of tetrandrine on glioma cell malignant phenotype via inhibition of ADAM17 [J]. Tumour Biol, 2014, 35(3): 2205-2210.

[12] 王文华,薛飞,沈照立,等. RhoC 和 EGFR 在人脑胶质瘤中的表达及其临床意义[J]. 现代中西医结合杂志,2014,23(11):1165-1169.

(2017-05-09 收稿,2017-06-23 修回)