

• 临床检验研究论著 •

E-cadherin 蛋白表达与宫颈癌的相关性研究

袁 俊

(武汉市东西湖区人民医院检验科,湖北武汉 430040)

摘要:目的 研究上皮钙黏附素(E-cadherin,E-CD)蛋白在宫颈癌组织中的表达及其临床意义。方法 收集 78 例宫颈癌患者的临床资料及宫颈部瘤体和 46 例正常宫颈活检组织石蜡标本。采用免疫组化 S-P 法检测宫颈癌及正常宫颈组织中 E-cadherin 蛋白的表达情况。结果 E-cadherin 蛋白在宫颈癌组织中的阳性表达率为 34.6%(27/78),在正常宫颈组织中的阳性表达率为 93.5%(43/46),E-cadherin 蛋白在正常宫颈组织中的阳性表达率明显高于宫颈癌组织($P<0.05$);E-cadherin 阳性率与患者 TNM 分期、有无颈淋巴结转移、有无远处转移关系密切($P<0.05$);盆腔淋巴结转移和 E-cadherin 表达是宫颈癌远处转移的独立因素($P<0.05$)。结论 E-cadherin 蛋白在组织中的异常表达可为临床诊断宫颈癌的发生、发展,以及侵袭转移等提供新的诊断指标。

关键词:宫颈癌; 上皮钙黏附素; 远处转移

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.08.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)08-0964-03

The study of relationship between expression of E-cadherin protein and cervical carcinoma

Yuan Jun

(Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Dongxihu District, Wuhan, Hubei 430040, China)

Abstract: Objective To assess the relationship between expression of E-cadherin and cervical carcinoma. **Methods** The clinical in formations were collected from 78 cases of cervical carcinoma and 46 cases of normal cervical biopsy paraffin blocks. The expression of E-cadherin protein in cervical carcinoma and normal cervical tissue were detected by immunohistochemical SP method. **Results** The negative expression rate of E-cadherin protein in cervical carcinoma was 34.6% (27/78), which was significantly lower than that of normal cervical tissue (93.5%, 43/46, $P<0.05$). The positive rate was significantly related with TNM stage, lymph node metastasis and distant metastasis ($P<0.05$). The factors predicting distant metastasis in cervical carcinoma were pelvic lymph node metastasis and negative expression of E-cadherin protein ($P<0.05$). **Conclusion** E-cadherin protein expression related with distant metastasis in cervical carcinoma, and can be used as predictor of distant metastasis.

Key words: cervical carcinoma; E-cadherin; distant metastasis

宫颈癌是最常见的女性生殖道恶性肿瘤,多发于我国的中部地区。研究表明,宫颈癌的发生过程较复杂,可能与机体内的许多基因和分子水平变化密切相关^[1]。上皮钙黏附素(E-cadherin)蛋白是一类介导细胞与细胞间相互黏附的钙依赖性跨膜糖蛋白^[2]。研究证明,肿瘤细胞间的黏附下降,可能是导致肿瘤发展、侵袭及恶化的重要原因之一,而 E-cadherin 蛋白表达的下降则是导致细胞间黏附下降的重要因素之一^[3-4]。因此,E-cadherin 蛋白的表达与肿瘤细胞分化、侵袭转移密切相关。本研究以此为研究依据,采用免疫组化的方法在相同实验条件下测定 78 例宫颈癌和 46 例正常宫颈组织标本中的 E-Cadherin 蛋白的表达水平,了解 E-cadherin 蛋白在宫颈癌组织及正常宫颈组织中的表达水平,分析和探讨 E-cadherin 蛋白在宫颈癌发生、发展及侵袭转移中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2009 年 1 月至 2012 年 12 月间在本院妇产科行手术及活检的宫颈组织标本共 124 例,其中宫颈癌 78 例(均经病理确诊),年龄 25~64 岁,平均(48.3±13.1)岁;正常宫颈组织 46 例,年龄 28~58 岁,平均(41.3±10.6)岁,正常宫颈组织作为对照观察。组织标本均经 10% 甲醛固定,石

蜡包埋。

1.2 方法 鼠抗人 E-cadherin 抗体购自美国 Santa Cruz 公司,S-P 免疫组化试剂盒购自美国 Zymed 公司,DAB 显色试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。石蜡标本以 4 μm 厚连续切片,3-氨基联苯胺(DAB)染色,烤片,然后脱蜡和水化,用 30 mL/L 过氧化氢-甲醇(H₂O₂-CH₃OH)处理 10 min(灭活内源性的过氧化物酶),枸橼酸盐缓冲液洗 3 次,并微波修复,用血清封闭,滴加 1:100 的鼠抗人 E-cadherin 抗体 4 ℃ 孵育,过夜,分别滴加生物素化 IgG 和 S-P 复合物,DAB 显色剂显色 30 min,蒸馏水冲洗,苏木精复染 2 min 后脱水,甘油胶封片。常规抗体稀释液代替 E-cadherin 抗体作为阴性对照。

1.3 结果判断标准 S-P 染色后,E-cadherin 蛋白在细胞膜出现棕黄色颗粒为阳性表达。每张切片随机选取 5 个高倍视野,计数每个视野的阳性细胞数,并记录其平均值。以染色强度及阳性表达细胞数进行分级^[5],阳性细胞数少于 35% 为 1 分,35%~65% 为 2 分,>65% 为 3 分。同时观察每个视野的阳性细胞的着色深浅并计分:无色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。最后根据两者乘积判定阳性等级:0 分为阴性,1~2 分为弱阳性,>3 分为强阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验,用 Kaplan-Meier 法计算转移风险,用 Logistic 回归分析判断宫颈癌远处转移的危险因素,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 E-cadherin 蛋白在宫颈癌组织中的表达情况 78 例宫颈癌组织中,E-cadherin 阴性表达 51 例(65.4%),E-cadherin 阳性表达 27 例(34.6%);阳性表达标本中 21 例为弱阳性,6 例

为强阳性。46 例正常宫颈组织中,E-cadherin 阴性表达 3 例(6.5%),E-cadherin 阳性表达 43 例(93.5%),阳性表达标本中 8 例为弱阳性,35 例为强阳性。宫颈癌与正常宫颈组织中 E-cadherin 阳性表率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 E-cadherin 蛋白表达与宫颈癌患者临床病理特点的关系

E-cadherin 阳性率与患者 TNM 分期、颈淋巴结转移、远处转移关系密切($P < 0.05$),见表 1。

表 1 E-cadherin 蛋白表达与鼻咽癌患者临床病理特点的关系

指标	n	E-cadherin 阳性(n)	E-cadherin 阴性(n)	阳性率(%)	χ^2	P
年龄(岁)						
<40	27	11	16	40.7	3.197	0.079
40~50	26	8	18	30.8		
>50	25	8	17	32.0		
TNM 分期						
T1、T2	47	18	29	38.3	3.949	0.047
T3、T4	31	9	22	29.0		
淋巴结转移						
无转移	52	21	31	40.4	4.447	0.033
有转移	26	6	20	23.1		
复发情况						
无复发	40	14	21	35.0	0.020	0.889
有复发	38	13	20	34.2		
远处转移						
无转移	56	22	34	39.3	4.428	0.035
有转移	22	5	17	22.7		

2.3 宫颈癌远处转移的危险因素的 Logistic 回归分析 以是否有远处转移为因变量,以患者的年龄(≤ 50 岁/ > 50 岁)、TNM 分期、盆腔淋巴结转移(有/无)和 E-cadherin 蛋白表达(阳性/阴性)4 个变量为自变量,进行 Logistic 回归分析。盆腔淋巴结转移和 E-cadherin 表达是宫颈癌远处转移的独立因素($P < 0.05$),而年龄、TNM 分期这些因素与宫颈癌远处转移无明显相关性($P > 0.05$),见表 2。

表 2 宫颈癌患者远处转移危险因素的 Logistic 回归分析

自变量	β	Wald	OR 值	P
年龄	-1.366	2.238	0.233	0.158
分期	-0.967	0.812	0.366	0.356
盆腔淋巴结转移	2.553	3.816	9.260	0.037
E-cadherin 蛋白表达	2.068	6.718	8.080	0.009

3 讨 论

近年来,肿瘤分子生物学研究表明,恶性肿瘤形成和转移的发生是一个多基因、多因子相互协同的结果。因此,研究肿瘤标志物或相关抗原与肿瘤的关系,对肿瘤的诊断、防治、预后及术后辅助治疗提供依据,都具有十分重要的意义^[6]。

E-cadherin 基因定位于染色体 16q22.1 上,表达蛋白属同种细胞亲和型上皮细胞黏附分子,其细胞质末端通过 α 、 β 、 γ 连环素间接与细胞骨架分子连接形成复合体,在维持正常上皮细胞形态、细胞极性和组织结构完整性及稳定性中发挥重要作用^[7-9]。通过对黑色素细胞瘤、乳腺上皮恶性转化、头颈部鳞状细胞癌、膀胱癌、结直肠癌等多种癌变组织的研究表明,E-cadherin 蛋白是肿瘤恶性转化、侵袭转移的抑制因素,其表达下调或功能丧失与肿瘤失分化、浸润性生长、转移及不良预后等密切相关^[10-11]。目前研究认为,癌变组织与正常组织中的 E-cadherin 蛋白表达如果存在差异,提示 E-cadherin 蛋白的表达可能是影响肿瘤发生、发展、浸润及转移侵袭的重要因素之一。

本研究显示,宫颈癌组织中的 E-cadherin 蛋白的阳性表达率(34.6%)显著低于正常宫颈组织(93.5%),差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 E-cadherin 蛋白可能是宫颈癌发生的重要抑制性因素之一。同时,本研究还发现 E-cadherin 阳性率与患者 TNM 分期、颈淋巴结转移、远处转移关系密切,该结果表明 E-cadherin 蛋白的表达程度可以反映出宫颈癌的恶性程度。Logistic 回归分析结果显示:盆腔淋巴结转移和 E-cadherin 表达是宫颈癌远处转移的独立因素($P < 0.05$),而年龄、TNM 分期这些因素与宫颈癌远处转移无明显相关性($P > 0.05$)。以

上结果可以说明 E-cadherin 阳性表达抑制宫颈癌患者的盆腔淋巴结转移和远处转移。对于 E-cadherin 蛋白在肿瘤组织中异常表达的原因,目前研究认为主要受 3 个方面的调控:(1)转录因子与 E-cadherin 蛋白启动子结合抑制基因转录;(2)表型遗传修饰,启动子甲基化或乙酰化的调节;(3)基因遗传性的改变,如 E-cadherin 蛋白基因突变、杂合子缺失。

综上所述,E-cadherin 蛋白在组织中的异常表达可为临床诊断宫颈癌的发生、发展,以及侵袭转移等提供新的诊断指标。E-cadherin 蛋白的表达可能与肿瘤细胞的分化程度直接相关,对于肿瘤转移与 E-cadherin 蛋白表达的关系还有待于进一步的深入研究。

参考文献

[1] Cheng Y,Zhou Y,Jiang W, et al. Significance of E-cadherin, beta-catenin, and vimentin expression as postoperative prognosis indicators in cervical squamous cell carcinoma[J]. Hum Pathol, 2012, 43(8): 1213-1220.

[2] Koay MH, Crook M, Stewart CJ. Cyclin D1, E-cadherin and beta-catenin expression in FIGO Stage IA cervical squamous carcinoma: diagnostic value and evidence for epithelial-mesenchymal transition[J]. Histopathology, 2012, 61(6): 1125-1133.

[3] Attaleb M, Elhamadani W, Khyatti M, et al. Status of p16 (INK4a) and E-cadherin gene promoter methylation in Moroccan patients with cervical carcinoma[J]. Oncol Res, 2009, 18(4): 185-192.

[4] Murakami A, Nakagawa T, Fukushima C, et al. Relationship be-

tween decreased expression of squamous cell carcinoma antigen 2 and E-cadherin in primary cervical cancer lesions and lymph node metastasis[J]. Oncol Rep, 2008, 19(1): 99-104.

[5] 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志, 1996, 6(4): 229-231.

[6] Zhong LP, Li J, Zhang CP, et al. Expression of E-cadherin in cervical lymph nodes from primary oral squamous cell carcinoma patients[J]. Arch Oral Biol, 2007, 52(8): 740-747.

[7] Movaghar B, Askarian S. Expression of e-cadherin, leukemia inhibitory factor and progesterone receptor in mouse blastocysts after ovarian stimulation[J]. Cell J, 2012, 14(3): 225-230.

[8] Del Valle I, Rudloff S, Carles A, et al. E-cadherin is required for the proper activation of the Lifr/Gp130 signaling pathway in mouse embryonic stem cells[J]. Development, 2013, 26(21): 1344-1347.

[9] Song S, Eckerle S, Onichtchouk D, et al. Pou5f1-dependent EGF expression controls e-cadherin endocytosis, cell adhesion, and zebrafish epiboly movements[J]. Dev Cell, 2013, 24(5): 486-501.

[10] 张荣荣, 王红, 张萍, 等. 宫颈癌组织中 Twist 与 E-cadherin 蛋白的表达及其意义[J]. 海南医学, 2013, 24(8): 1105-1107.

[11] 刘冬玲, 李娜萍. MMP-14、VEGF、E-cadherin 与子宫颈癌生物学行为的相关性研究[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2006, 35(6): 774-777.

(收稿日期: 2013-11-26)

(上接第 963 页)

骨发育的影响,在新生儿用药中受到限制,临床几乎不使用该类药物。所有菌株而对阿米卡星高度敏感,耐药率为 0.0%,但由于阿米卡星有较强的肾毒性和耳毒性,新生儿肾组织尚未发育完全,故临床亦多不选用该药。

综上所述,随着临床广谱抗菌药物的大量应用,病原菌的耐药性也在不断变化。本研究发现,肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌中产 ESBLs 菌株检出率较高,耐药情况不容忽视。因此,医护人员应增强无菌意识,认真做好新生儿科病房的消毒隔离,严格消毒医用器械,减少侵入性诊疗操作,控制院内感染,减少患儿住院时间,合理使用预防性抗菌药物。加强对本地区的细菌耐药性监测,根据患儿的病情需要,及时进行细菌培养及药敏试验,尽量根据药敏结果用药,对于延缓细菌耐药性的产生,避免产 ESBLs 菌株的形成,具有重要的临床意义。

参考文献

[1] 谢小军, 宋作林, 黄玲. 新生儿下呼吸道感染病原体分布及耐药性分析[J]. 中国医药, 2010, 5(11): 1063-1064.

[2] 魏莉. 新生儿下呼吸道感染病原菌耐药性与临床因素相关性研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2009, 17(4): 476-477.

[3] Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms[J]. J Hosp Infect, 2009, 73(4): 345-

354.

[4] 赖宇豪. 249 株小儿肺炎克雷伯菌的耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(12): 1605-1606.

[5] 顾乐平, 黄晓平, 蔡瑞云. 产 ESBLs 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌的分布及耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(1): 46-48.

[6] 李永祥, 宋秀兰, 丁曙光, 等. 肺炎克雷伯菌与大肠埃希菌产 ESBLs 及耐药性变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(6): 734-736.

[7] 陈弘群, 余荣环, 程玉, 等. 产 ESBLs 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌医院感染危险因素及耐药性分析[J]. 临床肺科杂志, 2005, 10(4): 506-507.

[8] 李智山, 周乐翔. 产超广谱 β -内酰胺酶菌株的调查及体外药敏监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12(5): 76.

[9] 侯晓娜, 汤森, 杨婧, 等. 产超广谱 β -内酰胺酶细菌的耐药性研究[J]. 中国实验诊断学, 2007, 11(11): 1515-1516.

[10] 周伟, 江咏梅, 朱凯, 等. 新生儿下呼吸道感染病原菌种类及药敏分析[J]. 中国感染控制杂志, 2004, 3(3): 252-254.

[11] 范宁, 程新岗, 谢立民. 儿童下呼吸道感染大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2013, 12(2): 137-139.

[12] 钟皎, 胡锡池, 严子禾, 等. 产 ESBLs 的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的耐药性分析[J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(4): 372-374.

(收稿日期: 2013-12-18)