

3 项指标在结肠息肉中的表达及意义^{*}

张海玲¹, 马春涛², 刘欣¹

(1. 河北省石家庄市第一医院消化内科, 河北石家庄 050000;

2. 石家庄市心脑血管医院普外科, 河北石家庄 050000)

摘要:目的 探讨 P 钙黏蛋白(P-ca)、上皮性钙黏附因子(E-ca)、β-连环蛋白(β-ca)在结肠息肉中的表达及意义。方法 选取 120 例结肠息肉患者为研究对象, 其中增生性息肉组、管状腺瘤组、绒毛状腺瘤组各 40 例, 同期选取 20 例体检健康者纳入正常黏膜组, 采用免疫组织化学(S-P)方法检测结肠组织石蜡切片中 P-ca、E-ca 及 β-ca 表达情况, 采用免疫印迹试验检测 P-ca、E-ca 及 β-ca 蛋白表达水平。结果 P-ca 在正常结肠黏膜组织中几乎不表达, 在结肠息肉组织中阳性信号位于细胞膜及细胞质上, 且随病情进展阳性表达率逐渐上升($P<0.05$); E-ca 阳性表达于细胞膜上, 且随着病情进展阳性表达率呈明显下降趋势($P<0.05$), β-ca 在正常结肠黏膜组织中表达于细胞膜上, 在结肠息肉组织中出现细胞质或细胞核异位表达, 且随病情进展细胞质或细胞核阳性表达率逐渐上升($P<0.05$)。结论 P-ca、β-ca 在结肠息肉中上调表达, E-ca 下调表达, 三者与结肠息肉的发生及发展紧密相关。

关键词:结肠息肉; P 钙黏蛋白; 上皮性钙黏附因子; β-连环蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.04.015

中图法分类号:R446.8

文章编号:1673-4130(2018)04-0435-04

文献标识码:A

Expression and significance of P-cadherin, E-cadherin, and β-catenin in colon polyps^{*}

ZHANG Hailing¹, MA Chuntao², LIU Xin¹

(1. Department of Gastroenterology Medicine, the First Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang, Hebei 050000, China; 2. Department of General Surgery,

Cardiovascular and Cerebrovascular Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

Abstract: **Objective** To explore the expressions and significance of P-cadherin(P-ca), E-cadherin(E-ca), and β-catenin(β-ca) in colon polyps. **Methods** A total of 120 patients with colon polyps were selected and divided into the hyperplastic polyp group(40 cases), the tubular adenoma group(40 cases) and the villous adenoma group(40 cases). Other 20 healthy normal persons in the same period were selected as the control group. Immunohistochemistry(S-P) method was used to detect the expressions of P-ca, E-ca, and β-ca of subjects in paraffin sections of colonic polyp tissue and normal colonic mucosa. Western blotting semiquantitative method was used to detect the expression levels of P-ca, E-ca, and β-ca protein. **Results** P-ca was almost not expressing in normal colonic mucosa, and positive signals in colon polyps tissue located in the cytoplasm and cell membrane, with the progression of the positive expression rate, it gradually increased($P<0.05$). Positive-expression of E-ca was in the cell membrane, with the progress of the disease, the positive-expression rate significantly decreased($P<0.05$), β-ca expressed on the cell membrane in normal colonic mucosa tissue, with cytoplasmic of nuclear ectopic expression in the colon polyps group, with the progress of the disease, the positive rate of cytoplasm of nucleus gradually increased($P<0.05$). **Conclusion** P-ca and β-ca show up-regulated expression in colon polyps, and E-ca show down-regulate expression, these three indicators were related closely to the occurrence and development of colon polyps.

Key words: colonic polyps; P-cadherin; E-cadherin; β-catenin

结直肠癌是临床上常见的消化道恶性肿瘤之一^[1], 发病率仅次于胃癌、食道癌。近年来, 我国结直

肠癌发病率及病死率呈现明显升高趋势, 对我国居民的身体健康及生命安全造成了巨大威胁^[2]。有研究

^{*} 基金项目: 石家庄市科技局科技支撑计划项目(12146883)。

作者简介: 张海玲, 女, 主治医师, 主要从事消化内科相关疾病诊治研究。

本文引用格式: 张海玲, 马春涛, 刘欣. 3 项指标在结肠息肉中的表达及意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(4): 435-437.

显示,结肠息肉患者的结肠癌发病率是无结肠息肉患者的 5 倍,部分增生性息肉、锯齿状腺瘤样息肉等也有明显癌变倾向^[3]。探究结肠息肉发病机制,对于寻找预防结肠息肉发生,干预及阻断其癌变的治疗新靶点,具有十分重要的临床意义^[4]。本研究旨在探讨 P 钙黏蛋白(P-ca)、上皮性钙黏附因子(E-ca)、β-连环蛋白(β-ca)在结肠息肉中的表达及意义,试图阐明结肠息肉发生、发展机制,为临床提供新的治疗及预防靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2015 年 1 月石家庄市第一医院收治的 120 例结肠息肉患者为研究对象,其中男 73 例,女 47 例,年龄 21~63 岁,平均(42.46±4.27)岁,根据组织病理学诊断分为增生性息肉组(40 例)、管状腺瘤组(40 例)和绒毛状腺瘤组(40 例)。增生性息肉组 40 例中,男 23 例,女 17 例,年龄 23~63 岁,平均(43.07±4.36)岁;管状腺瘤组 40 例中,男 26 例,女 14 例,年龄 21~62 岁,平均(42.83±4.15)岁;绒毛状腺瘤组 40 例中,男 24 例,女 16 例,年龄 24~63 岁,平均(42.12±4.20)岁。同期选择 20 例体检健康者为正常黏膜组,其中男 13 例,女 7 例,年龄 24~60 岁,平均(44.02±4.36)岁。4 组研究对象年龄、性别等比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有研究对象均了解本研究,并签署知情同意书,本研究经本院伦理委员会批准进行,且标本采集符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》。

1.2 仪器与试剂 免疫组织化学(S-P)检测试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒购自北京中杉金桥技术公司;兔抗人 P-ca、E-ca、β-ca、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)多克隆抗体购自美国 Cell signaling 公司;BCA 蛋白水平测定试剂盒购自美国 Pierce 公司;SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒购自碧云天研究所;SDS-PAGE 垂直电泳槽购自北京凯元伯乐科技有限公司;凝胶扫描系统购自英国 UVP 公司。

1.3 方法

1.3.1 S-P 方法 结肠息肉及正常结肠黏膜组织标本离体后,立即使用液氮速冻,于-80℃冰箱保存备用。其中正常结肠黏膜组织为距离肛门 20 cm 处黏膜组织。所取标本经 10%甲醛固定,石蜡包埋,制作石蜡切片,采用 S-P 方法,DAB 显色,利用 S-P 试剂盒检测石蜡切片中 P-ca、E-ca、β-ca 的表达,用已知阳性切片作为阳性对照,磷酸缓冲盐(PBS)溶液代替一抗作为阴性对照,具体操作严格按照试剂盒使用说明书进行。

以细胞膜、细胞质、细胞核染色呈现棕黄色颗粒者为阳性表达。染色强度评分标准为:无色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分,阳性细胞所占比例评分标准:0%为 0 分,<25%为 1 分,

25%~50%为 2 分,50%~75%为 3 分,>75%为 4 分。以细胞染色强度与阳性细胞所占百分比评分乘积进行统计学分析。以二者乘积 0~3 分为阴性,标记为-;≥3 分为阳性,标记为+。

1.3.2 免疫印迹试验 将组织匀浆裂解后提取总蛋白,利用 BCA 法,采用 BCA 蛋白水平测定试剂盒检测蛋白水平,具体操作严格按照试剂盒使用说明进行,十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,以 GAPDH 为内参,检测组织中 P-ca、E-ca、β-ca 相对表达量。

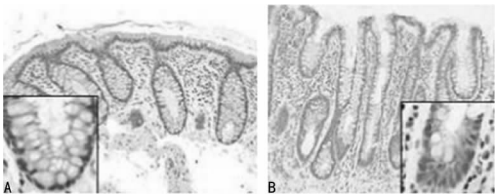
1.4 统计学处理 采用 SPSS19.1 统计软件进行数据处理及统计学分析,计数资料以例数或百分率表示,多组间比较采用 χ^2 检验,多组间中的两组比较采用校正 χ^2 检验,即 Fisher 确切概率法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 P-ca 阳性表达情况 P-ca 阳性信号表达于细胞膜和细胞质上,见图 1;P-ca 在正常结肠黏膜组中阳性表达率为 0.00%,明显低于增生性息肉组($\chi^2=10.141, P=0.001$),增生性息肉组明显低于管状腺瘤组($\chi^2=4.528, P=0.033$),管状腺瘤组明显低于绒毛状腺瘤组($\chi^2=4.114, P=0.043$),差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 P-ca 阳性表达情况

组别	n	-(n)	+(n)	阳性率(%)
正常黏膜组	20	40	0	0.00
增生性息肉组	40	31	9	22.50
管状腺瘤组	40	22	18	45.00
绒毛状腺瘤组	40	13	27	67.50



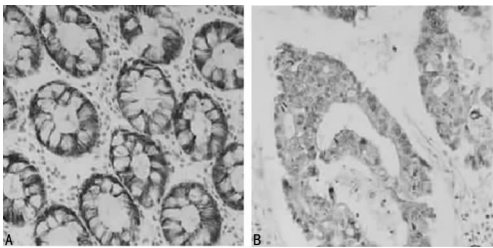
注:A 为正常结肠组织阴性表达;B 为腺瘤组织阳性表达

图 1 结肠组织中 P-ca S-P 染色结果(×100,镶嵌×250)

2.2 E-ca 阳性表达情况 结肠组织中 E-ca S-P 染色结果见图 2。E-ca 在正常结肠黏膜组中阳性表达率为 95.00%,明显高于增生性息肉组($\chi^2=4.114, P=0.043$),增生性息肉组明显高于管状腺瘤组($\chi^2=6.765, P=0.009$),管状腺瘤组明显高于绒毛状腺瘤组($\chi^2=6.373, P=0.012$)。见表 2。

表 2 E-ca 阳性表达情况

组别	n	-(n)	+(n)	阳性率(%)
正常黏膜组	20	2	38	95.00
增生性息肉组	40	8	32	80.00
管状腺瘤组	40	19	21	52.50
绒毛状腺瘤组	40	30	10	25.00



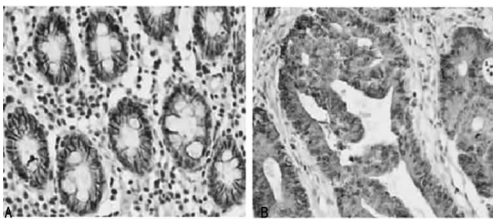
注：A 为正常结肠组织细胞膜强阳性表达；B 为腺瘤组织细胞膜弱阳性表达

图 2 结肠组织中 E-ca S-P 染色结果(×400)

2.3 β-ca 阳性表达情况 β-ca 在正常结肠黏膜组织中主要表达于细胞膜上,在增生性息肉组、管状腺瘤组和绒毛状腺瘤组出现细胞质或细胞核异位表达。见图 3。绒毛状腺瘤组中细胞质阳性表达率为 72.50%,明显高于管状腺瘤组($\chi^2=5.208, P=0.022$),管状腺瘤组明显高于增生性息肉组($\chi^2=4.381, P=0.036$),增生性息肉组明显高于正常黏膜组($\chi^2=11.429, P=0.001$)。见表 3。

表 3 β-ca 细胞质阳性表达情况

组别	n	-(n)	+(n)	阳性率(%)
正常黏膜组	20	40	0	0.00
增生性息肉组	40	30	10	25.00
管状腺瘤组	40	21	19	47.50
绒毛状腺瘤组	40	11	29	72.50



注：A 为正常结肠组织细胞膜及细胞质表达；B 为腺瘤组织细胞核异常表达

图 3 结肠组织中 β-ca S-P 染色结果(400×)

2.4 免疫印迹试验检测结果 正常黏膜组 E-ca 蛋白表达水平明显高于增生性息肉组($P<0.05$),且随着病情进展 E-ca 蛋白表达水平逐渐下降($P<0.05$),P-ca、β-ca 蛋白表达水平逐渐上升($P<0.05$)。与 S-P 结果一致。见图 4。

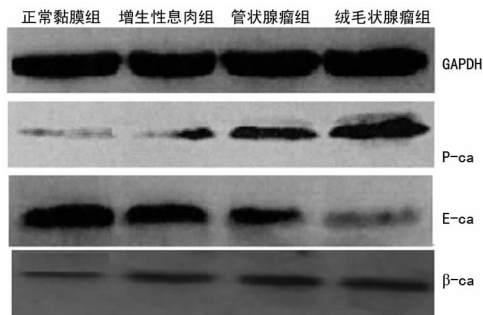


图 4 P-ca、E-ca、β-ca 蛋白表达结果

3 讨 论

结肠癌是临床上常见的恶性肿瘤之一,40~50 岁发病率最高^[5]。近年来,随着人民生活水平提高,以及饮食结构的改变,结肠癌发病率呈明显逐年上升趋势。目前,结肠癌发病机制尚未完全阐明,临床上仍缺乏特效治疗药物。研究表明,患有结肠息肉者,其结肠癌发病率为无结肠息肉者的 5 倍左右^[6],腺瘤样息肉是结肠癌的癌前疾病。因此,阐明结肠息肉发生及进展机制,寻找新的治疗及预防靶点,对于降低结肠癌发病率,预防结肠癌发生具有十分重要的临床意义。

近年来,大量研究证实,上皮间质转化(EMT)过程参与结肠癌的发生及发展,并且受多种蛋白及通路调控^[7-8]。EMT 是指上皮细胞在生理状态或者病理情况下向具有间质表型细胞转化的生物学现象^[9],是一种可逆的、瞬时性过程。EMT 过程主要包括以下几个特征:(1)E-ca 表达下降,细胞黏附能力下降,导致细胞趋于松散;(2)细胞骨架由角蛋白形式重排为波形蛋白形式;(3)上皮细胞形态发生改变,由圆形或者方形重新排列成梭形,且呈松散状;(4)间质细胞特性获得^[10-11]。P-ca 是主要见于胎盘及上皮组织的钙黏蛋白家族成员^[12-13],对于细胞、组织形态发生、生长分化等起重要作用,目前,有关 P-ca 在结肠组织中表达研究相对较少。E-ca 是钙黏蛋白家族成员,对于维持细胞间黏附、上皮完整性及极性具有十分重要的作用^[14],β-ca 目前被认为是一种原癌基因编码蛋白,其在细胞质中的高表达是激活 WNT 通路的关键所在^[15]。

本研究结果表明,P-ca 在正常结肠黏膜组织中几乎不表达,在增生性息肉、管状腺瘤和绒毛状腺瘤组织中阳性信号位于细胞膜及细胞质上,且随病情进展阳性表达率逐渐上升,提示 P-ca 参与结肠息肉发生及疾病进展。E-ca 阳性表达于细胞膜上,且随着病情进展阳性表达率呈明显下降趋势,提示结肠息肉组织上皮细胞正常修复能力随疾病进展逐渐降低,E-ca 缺损可能引发结肠组织重塑,从而形成息肉组织。β-ca 在正常结肠黏膜组织中表达于细胞膜上,在增生性息肉组、管状腺瘤组和绒毛状腺瘤组出现细胞质或细胞核异位表达,且随病情进展细胞质或细胞核阳性表达率逐渐上升,β-ca 是 Wnt 通路中的关键因子,细胞核/质内 β-ca 积聚可导致细胞增殖及分化失控,导致息肉组织形成,提示 β-ca 分布异位与息肉形成密切相关;免疫印记试验结果与 S-P 结果一致,提示 P-ca、β-ca 在结肠息肉中上调表达,E-ca 下调表达,三者与结肠息肉的发生及发展相关。

综上所述,本研究结果表明,P-ca、E-ca、β-ca 与结肠息肉的发生及发展密切相关,三者有望成为结肠息肉诊断及治疗新靶点,本研究仍存在样本量较少等不足之处,三者参与结肠息肉发生、发(下转第 442 页)

[3] HAMED I A, AKHLAGHI F, SEYEDI S J, et al. Evaluation of group B Streptococci colonization rate in pregnant women and their newborn[J]. Acta Med Iran, 2012, 50 (12):805-808.

[4] BERTI F, CAMPISI E, TONIOLO C, et al. Structure of the type IX group B Streptococcus capsular polysaccharide and its evolutionary relationship with types V and VII[J]. J Biol Chem, 2014, 289(34):23437-23448.

[5] MADHI S A, CUTLAND C L, JOSE L, et al. Safety and immunogenicity of an investigational maternal trivalent group B streptococcus vaccine in healthy women and their infants; a randomised phase 1b/2 trial[J]. Lancet Infect Dis, 2016, 16(8):923-934.

[6] PARK C J, VANDEL N M, RUPRAI D K, et al. Detection of group B streptococcal colonization in pregnant women using direct latex agglutination testing of selective broth[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(1):408-409.

[7] 王丽, 叶巍, 马杰. 实时荧光 PCR 技术和细菌培养法检测妊娠晚期孕妇定植 B 群链球菌临床分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(16):2220-2221.

[8] ELAILA NA, TENCY I, CLAEYS G, et al. Comparison of culture with two different Qpcr assays for detection of rectovaginal carriage of Streptococcus agalactiae (group B streptococci) in pregnant women[J]. Res Microbiol, 2011, 162(5):499-505.

[9] WOLF J, HAAS B, HOOF R, et al. Development and evaluation of Taqman assays for the differentiation of *Dickeya* (sub) species[J]. Eur J Plant Pathol, 2014, 138 (4):695-709.

[10] SCHRAG S J, ZYWICKI S, FARLEY M, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis[J]. N Engl J Med, 2000, 342(1):15-20.

[11] VERANI J R, SPINA N L, LYNFIELD R, et al. Early-onset group B streptococcal disease in the United States: potential for further reduction[J]. Obstet Gynecol, 2014, 123(4):828-837.

[12] Barton M, Hawkes M, Moore D, et al. Guidelines for the prevention and management of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a perspective for Canadian health care practitioners[J]. Vaccine, 2012, 30 (28):4123.

[13] BELLAIS S, SIX A, FOUET A, et al. Capsular switching in group B Streptococcus CC17 hypervirulent clone: a future challenge for polysaccharide vaccine development[J]. J Infect Dis, 2012, 206(11):1745-1752.

[14] YAO K, POULSEN K, MAIONE D, et al. Capsular gene typing of Streptococcus agalactiae compared to serotyping by latex agglutination[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(2):503-507.

[15] MCAVIN J C, REILLY P A, ROUDABUSH R M, et al. Sensitive and specific method for rapid identification of Streptococcus pneumoniae using real-time fluorescence PCR[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(10):3446-3451.

(收稿日期:2017-07-20 修回日期:2017-09-26)

(上接第 437 页)
展的具体作用机制,有待进一步深入研究。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 结直肠癌诊疗规范(2015 年版)[J]. 中华外科杂志, 2015, 53 (12):1177-1191.

[2] 李道娟, 李倩, 贺宇彤. 结直肠癌流行病学趋势[J]. 肿瘤防治研究, 2015, 42(3):305-310.

[3] ZIPPI M, MATTEI E, COCCO A, et al. Characteristics of colon polyps among asymptomatic patients undergoing first time colorectal cancer screening colonoscopy[J]. Italian J Med, 2015, 9(Suppl 2):S122-125.

[4] 沈胤晨, 石远凯, 韩晓红. 结直肠癌靶向治疗研究进展[J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(6):430-433.

[5] 郭金萍, 朱琳, 苏银霞, 等. 结直肠癌危险因素及临床流行病学特征研究[J]. 实用癌症杂志, 2015, 30(4):544-546.

[6] 魏会平, 宋小青, 常月锋. 家族性结肠息肉并结肠癌一家系[J]. 中华医学遗传学杂志, 2014, 31(5):29-32.

[7] 李晓晴, 李袁飞. 结肠癌上皮间质转化信号通路机制研究[J]. 国际肿瘤学杂志, 2016, 43(5):19-21.

[8] 李晓晴. 上皮间质转化相关标志物在结肠癌及结肠癌肝转移组织表达差异研究[D]. 太原:山西医科大学, 2016.

[9] 胡彦建, 韩明子, 胡彦华. 上皮间质转化在原发性肝癌侵袭, 转移中的作用[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2014, 23 (1):117-120.

[10] 尤伟强, 盛能全, 王志刚. 上皮间质转化在结直肠癌侵袭转移中的作用机制[J]. 国际外科学杂志, 2016, 43(5):349-352.

[11] 朱蕾, 隋华, 邓皖利. 信号通路调控上皮间质转化参与肿瘤侵袭转移的分子机制[J]. 国际肿瘤学杂志, 2014, 41 (3):172-177.

[12] VAN MARCK V, STOVE C, JACOBS K, et al. P-ca in adhesion and invasion: opposite roles in colon and bladder carcinoma[J]. Inter J Cancer, 2011, 128(5):1031-1044.

[13] 甘亚平. 胃贲门腺癌 P-ca 表达与临床特征的相关性研究[J]. 湖北科技学报(医学版), 2016, 30(3):194-196.

[14] 岳峰, 单铁英, 袁征, 等. Id-2 和 E-ca 在直肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. 医学临床研究, 2015, 32(1):83-86.

[15] 陈顺华, 尹玉, 曹立宇, 等. YAP1 和 β -ca 在大肠癌中的表达及相关性研究[J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(6):836-840.

(收稿日期:2017-08-17 修回日期:2017-10-23)