

CDX2 在人体组织中的表达及临床意义

宋 艳, 李 凌, 孙耘田

宋艳, 李凌, 孙耘田, 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤医院病理科
北京市 100021

宋艳, 女, 1978-12-26 生, 汉族. 2004 年协和医科大学肿瘤医院肿瘤研究所临床病理学硕士, 住院医师.

通讯作者: 李凌, 100021, 北京市, 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤医院病理科.
电话: 010-87788498

收稿日期: 2005-03-01 接受日期: 2005-03-23

Expression of caudal-related homeobox transcription factor 2 in normal human epithelia and epithelial neoplasms

Yan Song, Ling Li, Yun-Tian Sun

Yan Song, Ling Li, Yun-Tian Sun, Department of Pathology, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100021, China
Correspondence to: Dr. Ling Li, Department of Pathology, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100021, China.
Received: 2005-03-01 Accepted: 2005-03-23

Abstract

AIM: To evaluate the expression of caudal-related homeobox transcription factor 2 (CDX2) in various normal epithelia and epithelial neoplasm and its clinical significance.

METHODS: Three hundred and ten specimens were collected, including normal epithelia ($n = 73$), epithelial neoplasms ($n = 199$) and lymph node-metastatic adenocarcinomas ($n = 38$). The expression of CDX2 was detected in all the tissues by microarray technique and immunohistochemistry.

RESULTS: For the digestive tract, the positive rates of CDX2 expression in normal epithelia, epithelial neoplasms and lymph node-metastatic adenocarcinomas were higher than those in the corresponding tissues of other organs (94.7%, 76.5%, 76.9% vs 14.8%, 8.4%, 4.0%; $P < 0.01$). The level of CDX2 expression in tissues from duodenum colon and rectum are higher than those from stomach and esophagus ($H = 59.585$, $P < 0.01$). Most tissues from non-gastrointestinal tract exhibited negative CDX2 expression, except bile duct, ovary, pancreas and cervix showed relatively weaker CDX2 expression.

CONCLUSION: CDX2 is specifically expressed in the epithelia of duodenum, colon and rectum and it can be used as an important marker in the pathological diagnosis.

Key Words: Caudal-related homeobox transcription factor 2; Epithelium; Neoplasm

Song Y, Li L, Sun YT. Expression of caudal-related homeobox transcription factor 2 in normal human epithelia and epithelial neoplasms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(11):1310-1313

摘要

目的: 探讨CDX2在各种正常上皮和上皮性肿瘤中的表达及其应用价值.

方法: 应用 310 例不同部位人体组织(正常组织 73 例, 上皮性肿瘤组织 199 例及引流区淋巴结转移性腺癌组织 38 例), 制备组织芯片, 进行 CDX2 免疫组织化学染色.

结果: 在消化道正常上皮、上皮性肿瘤和淋巴结转移性腺癌中, CDX2 的表达明显高于其他部位的相应组织($P < 0.01$), 消化道 CDX2 的阳性表达率分别为 94.7%, 76.5%, 76.9%, 其他部位正常上皮、上皮性肿瘤和淋巴结转移性腺癌 CDX2 的阳性表达率分别为 14.8%, 8.4%, 4.0%. 在消化道各器官中, 十二指肠、结肠和直肠的表达率高于胃和食管($H = 59.585$, $P < 0.01$). 消化道外其他部位的正常组织和上皮性肿瘤中, 除胆管、卵巢、胰腺和宫颈呈部分阳性外, 其他部位均未见表达.

结论: CDX2 抗体局限表达于十二指肠, 结肠及直肠, 特异性强, 可作为肠上皮特异性标记物在病理诊断中推广应用.

关键词: CDX2; 上皮; 肿瘤

宋艳, 李凌, 孙耘田. CDX2 在人体组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2005;13(11):1310-1313
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1310.asp>

0 引言

在哺乳动物胃肠道的发育中, 果蝇相关同源异型框转录因子 CDX2 (caudal-related homeobox transcription factor 2) 发挥着关键作用^[1-4]. 在小鼠胚胎发育早期, CDX2 是内胚层细胞向肠上皮转化的关键因素, 随发育过程的进展其表达局限于肠上皮中^[1-3]. 国外近年来的基础研究显示, CDX2 基因也存在于人体基因组, 其表达产物广泛存在于胚胎的消化道腺上皮中^[3-4], 2001 年 CDX2 抗体的问世, 为人体组织中 CDX2 表达

的研究开辟了广阔的前景. 我们选取人体多个不同部位的正常上皮组织、上皮性肿瘤组织及引流区淋巴结转移性癌组织, 进行系统的免疫组化观察, 分析其表达的部位特异性, 探讨其临床应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 随机采取本院2001-2002年病理标本中正常上皮组织73例, 上皮性肿瘤组织199例, 引流区淋巴结转移性腺癌组织38例. CDX2抗体由美国的Biogenex公司提供, 稀释浓度为1:50.

1.2 方法 以40个位点为一芯片, 应用组织芯片机以0.2 cm为间距共制备组织芯片8张. 应用SP三步法对组织进行标记. CDX2抗体定位于核, 按阳性细胞百分率并结合染色强弱综合评定, 胞质着色作为阴性处理. 同时以PBS代替CDX2进行标记以及用相同浓度小鼠IgG进行一抗替代试验作为其阴性对照. +:1-25%阳性表达; ++:26-75%阳性表达; +++:>75%阳性表达.

统计学处理 根据组织来源的不同, 将食管、胃、十二指肠、结肠、直肠等组织分为消化道组, 其他部位的组织分为非消化道组, 两组间比较应用SPSS10.0进行 χ^2 (卡方)检验, 同组间不同部位的比较应用秩和检验.

2 结果

通过组织芯片及经典的SP法进行CDX2的标记, 在310例组织中, 不同部位CDX2蛋白在各种正常组织、上皮性肿瘤组织和淋巴结转移性腺癌组织中的表达情况不同(表1, 表3).

表1 CDX2在不同部位的表达

组织来源		CDX2表达		合计	P
		阳性	阴性		
正常组织	消化道上皮	18	1	19	<0.01
	非消化道上皮	8	46	54	
肿瘤组织	消化道上皮肿瘤	52	16	68	<0.01
	非消化道上皮肿瘤	11	120	131	
淋巴结转移性腺癌	消化道来源	10	3	13	<0.01
	非消化道来源	1	24	25	

在73例正常上皮中, 19例消化道腺上皮的阳性表达率为94.7%, 结肠、直肠、小肠中均为强阳性, 但胃黏膜腺体中表达较弱. 54例非消化道上皮CDX2阳性表达率为14.8%, 主要集中在胰腺、胆管和宫颈的个别腺上皮中有弱阳性表达. CDX2在消化道上皮与非消化道上皮的表达中具有显著的差异. 因消化道腺上皮阴性表达的理论值小于1, 采用四格表 χ^2 检验的确切概率法.

在199例肿瘤组织中, CDX2的表达在82例消化道腺癌的表达率为76.5%, 结肠腺癌、直肠腺癌、十二指肠腺癌、胃腺癌等均呈不同程度的阳性表达. 非消化道的127例癌组织中表达率为8.4%, CDX2的阳性表达主要局限于卵巢的黏液性癌、胆管细胞癌和宫颈腺癌中, 乳腺、腮腺、甲状腺、肾脏、膀胱等的各类型癌组织中均为阴性. 两组间比较具有显著的统计学差异.

在38例不同部位引流区淋巴结转移性癌组织中, CDX2的表达情况同原发癌组织中的表达基本一致, 主要集中于消化道腺癌的淋巴结转移灶中, 13例消化道淋巴结转移性腺癌的表达率为76.9%, 25例非消化道淋巴结转移性腺癌表达率为4.0%. 因样本含量小于40, 采用四格表 χ^2 检验的确切概率法.

无论在正常组织、肿瘤组织或淋巴结转移性癌组织中, CDX2表达均集中结肠等消化道腺上皮中(图1). 经进一步两两比较, CDX2的表达率和表达强弱在胃肠道各部位存在差别, 在十二指肠, 结肠及直肠黏膜和腺癌中, CDX2表达率较高, 呈中高强度表达, 在食管、胃黏膜及腺癌中表达率低且较弱, 食管、胃与十二指肠、结肠及直肠之间存在明显差别, 而十二指肠, 结肠及直肠之间、胃及食管之间无明显差别($H = 59.585$, $P = 0.000$, 表2).

表2 CDX2在消化道不同组织中的表达

组织来源	CDX2表达			
	-	+	++	+++
食管	4	0	0	0
胃	10	10	0	0
十二指肠	0	0	3	0
结肠	8	0	50	6
直肠	2	1	6	4

采用秩和检验, $H = 59.585$, $P = 0.000$.

3 讨论

特异性强且敏感性高的胃肠道腺上皮特异性抗体对于鉴别起源于胃肠道的腺癌起着重要的作用, 目前此类抗体较少, 绒毛膜蛋白Villin虽在消化道腺上皮中敏感性较高, 但在消化道以外的组织中也可检测到较强的表达, 如子宫内膜样癌和肾细胞癌等^[1]. 同源异型框基因及蛋白CDX2的发现, 弥补了这方面的空白. 位于人体13q23的CDX2基因, 由3个外显子和2个内含子构成, 与之对应的CDX2蛋白包含311个单氨基酸, 通过螺旋-环-螺旋的方式结合于DNA的相应区域, 以转录因子的形式调节DNA的表达^[2]. 在生物体发育过程中, CDX2在胃肠道上皮的形成过程中发挥着关键性

表3 CDX2 在不同组织中的表达

		正常上皮组织	上皮性肿瘤	淋巴结转移性腺癌
消化道	食管		腺癌2例-	1例-
			肠型腺癌4例+	2例-
		4例+	1例-	2例+++
		1例-	弥漫型腺癌2例-	
	胃		类癌	1例-
	十二指肠	2例++	腺癌1例++	
		8例++	腺癌	
		1例+++	高分化10例++	
			5例++	
			中分化6例+++	
			4例++	
			低分化12例+++	
			5例++	
	结肠		腺癌8例-	5例+++
		2例++	腺癌4例++	
		1例+++	鳞癌1例-	
	直肠		类癌1例-	
			1例+	3例+++
消化道外	肝细胞	6例-	肝细胞癌7例-	2例-
	胆管	2例+	胆管细胞癌6例-	
			1例+	
	外分泌腺体			
	胰腺	3例+		
	肾脏	5例-	肾细胞癌7例-	2例-
			移行细胞癌2例-	
	膀胱	1例-	腺癌5例-	
		颈管3例+	宫颈腺癌2例-	
		4例-	1例+	
	子宫	内膜8例-	子宫内膜腺癌5例-	1例+
			浆液性腺癌36例-	
			黏液性腺癌8例+	
			黏液性腺癌1例-	
			子宫内膜样癌5例-	
			透明细胞癌8例-	
	卵巢		移行细胞癌2例-	
			浸润性导管癌4例	
	乳腺	5例-	-	5例-
			乳头状癌3例-	
	甲状腺	5例-	髓样癌2例-	4例-
	肾上腺	1例-	皮质腺瘤5例-	
			黏液表皮样癌2例	
	胰腺	2例-	-	
			腺样囊腺癌2例-	
			多形性腺瘤癌变1例-	
			腺癌2例-	
			1例+	
间皮	肺	9例-	肺泡细胞癌6例-	
			小细胞癌2例-	
			鳞癌1例-	11例-
			恶性上皮型间皮瘤3例-	

作用. 胚胎及组织学研究表明, 在小鼠中, CDX2 蛋白在胚胎发育的早期广泛分布于滋养叶及内胚层细胞, 并随发育阶段的进展呈局限性趋势, CDX2 的表达异常将导致胃肠道上皮异常发育及瘤样病变的出现^[3-8]. 在本组正常组织、肿瘤组织和淋巴结转移性癌的CDX2表达比较中, 我们可以看出CDX2抗体在人体组织中呈明显的肠道特异性表达趋势, 在结肠及直肠为主的消化道腺上皮及其相关肿瘤中呈中高强度特异性的表达; 其他部位的正常上皮及其来源的肿瘤中, CDX2 的阳性表达仅限于胰腺、胆管和个别女性生殖系统的黏液性上皮和黏液性腺癌中, 表达较弱. 在胃肠道各器官腺上皮中, 平均秩次分析表明, 不同组织间的表达也存在着显著的差异, 起源于食管和胃的腺上皮或腺癌微弱表达或基本不表达, 而十二指肠、结肠和直肠的腺上皮和腺癌表达较强, 说明了CDX2抗体的肠道特异性分布趋势, 从蛋白表达的角度验证了人体组织中CDX2蛋白在成人肠黏膜组织中的局限性表达. 本结果与 Moskaluk *et al*^[1, 9] 的研究高度一致.

CDX2 基因敲除的小鼠中, 多发性息肉样病变的出现使人们怀疑肠道的各种多发性息肉综合征与CDX2基因的突变密切相关^[6], 然而, 目前未见这方面的确切证据. 有些学者支持CDX2 基因作为抑癌基因的潜在作用, 认为随分化程度的降低, CDX2 的表达减弱^[10-12], 部分分子生物学及免疫组化方面的工作支持了这一观点: Hinoi 的研究显示, CDX2 在高分化及中分化结肠癌细胞系中表达较强, 在结肠大细胞低分化癌细胞系中表达缺失及出现微卫星不稳定性, 提示CDX2 的表达随分化降低而减弱^[10]; Bai *et al*^[12-13]则观察到由胃黏膜肠上皮化生到向胃腺癌转化的过程中, CDX2 表达降低. 但在其他学者的报道及本研究中, CDX2 的表达与细胞的分化程度未见明确的联系, Werling *et al*^[1]的研究中, 74例结肠癌均呈中到强阳性表达, Barbareschi *et al*^[14]关于结肠腺癌的CDX2 表达研究中, 58例不同分化程度的腺癌均呈强阳性表达, 本组42例CDX2 阳性表达的结肠腺癌中, 表达强度均较一致, 呈中到高强度的表达. Seno *et al*^[15]发现89%的慢性萎缩性胃炎及64%的肠型胃癌CDX2 阳性, 而正常胃黏膜腺上皮及其他类型胃癌中CDX2 阴性, 在本组研究中, 部分正常胃黏膜腺上皮及肠型胃癌均有部分病例CDX2 阳性表达, 前者的阳性可能与本次选取的正常黏膜全部选自胃癌患者, 腺体伴有不同程度的腺体肠化有关. 在胃肠道以外的其他肿瘤中, Werling *et al*^[1]认为卵巢和膀胱的黏液性肿瘤偶而可检测到CDX2 阳性表达, 而本组中主要在卵巢的黏液性肿瘤中检测到CDX2 的较强表达, 膀胱肿瘤中未见表达. 有学者报道, 消化道的类癌可出现CDX2 的阳性表达, 认为CDX2 可能与

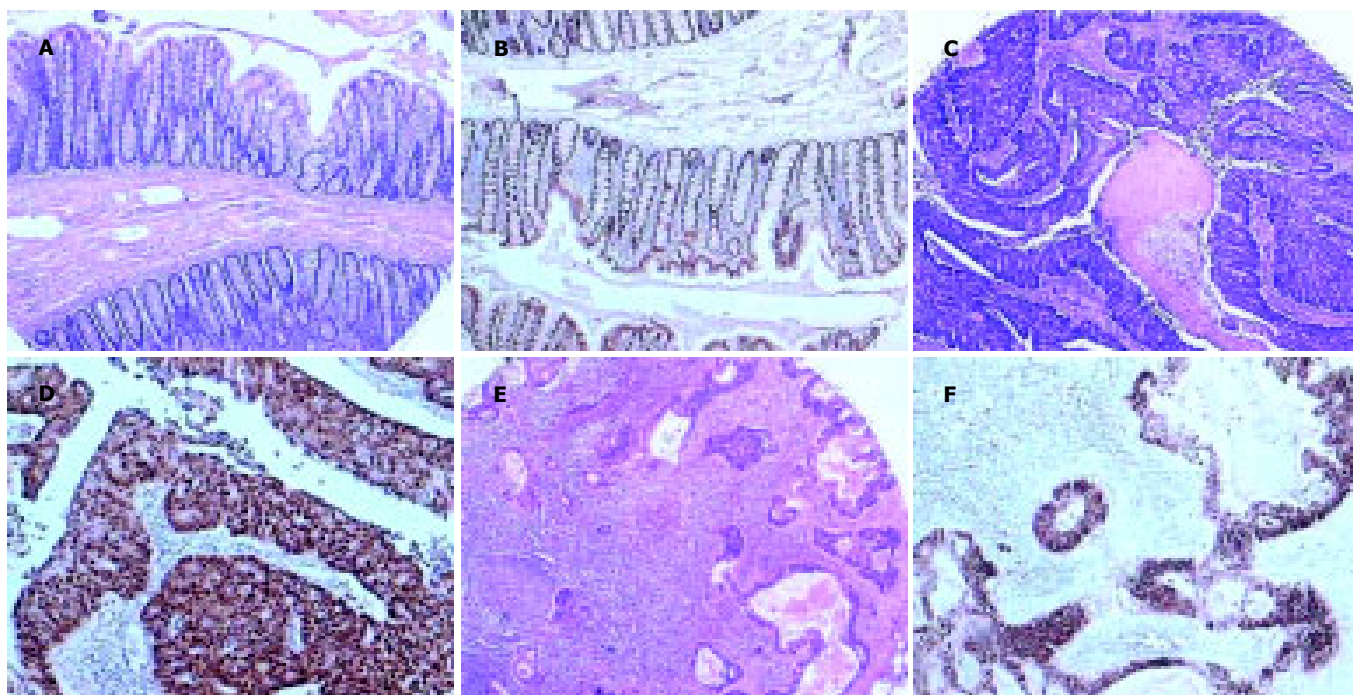


图1 CDX2在结肠正常黏膜、腺癌和淋巴结转移性腺癌中的表达. A: 结肠正常黏膜; B: CDX2在结肠正常黏膜中强阳性表达; C: 结肠腺癌; D: CDX2在结肠腺癌中强阳性表达; E: 淋巴结转移性结肠腺癌; F: CDX2在淋巴结转移性结肠腺癌中强阳性表达.

消化道神经内分泌癌的起源有关^[9],但在本次选取的3例胃和直肠类癌中,CDX2在1例中阳性表达,相关工作有待进一步开展.少数正常组织、肿瘤组织或淋巴结转移性癌中,CDX2抗体在胞质中可能出现干扰性表达,内源性生物素可能是造成此类结果的原因.

总之,CDX2抗体阳性表达定位于细胞核,内源性生物素的干扰较小,特异性高,利于抗体的检测,可作为肠道上皮特异性的标记物在病理诊断中推广应用.

4 参考文献

- Werling RW, Yaziji H, Bacchi CE, Gown AM. CDX2, a Highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2003;27:303-310
- Drummond F, Putt W, Fox M, Edwards YH. Cloning and chromosome assignment of the human CDX2 gene. *Ann Hum Genet* 1997;61(Pt 5):393-400
- James R, Erler T, Kazenwadel J. Structure of the murine homeobox gene cdx2. Expression in embryonic and adult intestinal epithelium. *J Biol Chem* 1994;269:15229-15237
- Silberg DG, Swain GP, Suh ER, Traber PG. Cdx1 and cdx2 expression during intestinal development. *Gastroenterology* 2000;119:961-971
- Beck F, Chawengsaksophak K, Waring P, Playford RJ, Furness JB. Reprogramming of intestinal differentiation and intercalary regeneration in Cdx2 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:7318-7323
- Tamai Y, Nakajima R, Ishikawa T, Takaku K, Seldin MF, Taketo MM. Colonic hamartoma development by anomalous duplication in Cdx2 knockout mice. *Cancer Res* 1999;59:2965-2970
- Mutoh H, Hakamata Y, Sato K, Eda A, Yanaka I, Honda S, Osawa H, Kaneko Y, Sugano K. Conversion of gastric mucosa to intestinal metaplasia in Cdx2-expressing transgenic mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;294:470-479
- Silberg DG, Sullivan J, Kang E, Swain GP, Moffett J, Sund NJ, Sackett SD, Kaestner KH. Cdx2 ectopic expression induces gastric intestinal metaplasia in transgenic mice. *Gastroenterology* 2002;122:689-696
- Moskaluk CA, Zhang H, Powell SM, Cerilli LA, Hampton GM, Frierson HF Jr. Cdx2 protein expression in normal and malignant human tissues: an immunohistochemical survey using tissue microarrays. *Mod Pathol* 2003;16:913-919
- Hinoi T, Tani M, Lucas PC, Caca K, Dunn RL, Macri E, Loda M, Appelman HD, Cho KR, Fearon ER. Loss of CDX2 expression and microsatellite instability are prominent features of large cell minimally differentiated carcinomas of the colon. *Am J Pathol* 2001;159:2239-2248
- Bonhomme C, Duluc I, Martin E, Chawengsaksophak K, Chenard MP, Keding M, Berk F, Freund JN, Domon-Dell C. The Cdx2 homeobox gene has a tumour suppressor function in the distal colon in addition to a homeotic role during gut development. *Gut* 2003;52:1465-1471
- Freund JN, Domon-Dell C, Keding M, Duluc I. The Cdx-1 and Cdx-2 homeobox genes in the intestine. *Biochem Cell Biol* 1998;76:957-969
- Bai YQ, Yamamoto H, Akiyama Y, Tanaka H, Takizawa T, Koike M, Kenji Yagi O, Saitoh K, Takeshita K, Iwai T, Yuasa Y. Ectopic expression of homeodomain protein CDX2 in intestinal metaplasia and carcinomas of the stomach. *Cancer Lett* 2002;176:47-55
- Barbareschi M, Murer B, Colby TV, Chilosi M, Macri E, Loda M, Doglioni C. CDX2 homeobox gene expression is a reliable marker of colorectal adenocarcinoma metastases to the lungs. *Am J Surg Pathol* 2003;27:141-149
- Seno H, Oshima M, Taniguchi MA, Usami K, Ishikawa TO, Chiba T, Taketo MM. CDX2 expression in the stomach with intestinal metaplasia and intestinal-type cancer: Prognostic implications. *Int J Oncol* 2002;21:769-774