

胃黏液腺癌组织 hTERT 与 E-cadherin 和 catenin- β 的表达意义

王仰坤, 蒙念龙, 陈松涛, 郝 艳, 郭艳博, 张 轶

王仰坤, 蒙念龙, 陈松涛, 郝艳, 郭艳博, 张轶, 中国解放军第 150 中心医院检验病理科 河南省洛阳市 471031

王仰坤, 男, 1954-10-25 生, 河南省项城市人, 汉族, 中国解放军第 150 中心医院检验病理科主任, 主任医师, 主要从事消化系统疾病的病理研究。

通讯作者: 王仰坤, 471031, 河南省洛阳市, 中国解放军第 150 中心医院检验病理科, yklwang@163.com

电话: 0379-64180564

收稿日期: 2005-02-14 接受日期: 2005-03-22

Significance of hTERT, E-Cadherin and Catenin- β expression in stomach mucinous adenocarcinoma

Yang-Kun Wang, Nian-Long Meng, Song-Tao Chen, Yan Hao, Yan-Bo Guo, Yi Zhang

Yang-Kun Wang, Nian-Long Meng, Song-Tao Chen, Yan Hao, Yan-Bo Guo, Yi Zhang, Department of Pathology, the 150 Central Hospital of Chinese PLA, Luoyang 471031, Henan Province, China

Correspondence to: Yang-Kun Wang, Department of Pathology, the 150 Central Hospital of Chinese PLA, Luoyang 471031, Henan Province, China. yklwang@163.com

Received: 2005-02-14 Accepted: 2005-03-22

Abstract

AIM: To study the significance of human telomerase reverse transcriptase (hTERT), E-Cadherin (E-cad) and Catenin- β (β -cat) expression in the tissues of stomach mucinous adenocarcinoma.

METHODS: The expression of hTERT, E-cad and β -cat were detected by immunohistochemical staining and *in situ* hybridization in 92 cases of stomach mucinous adenocarcinomas.

RESULTS: The expression of hTERT is negative outside and positive inside of mucinous adenocarcinoma cells, and its expression in pure mucinous adenocarcinoma, papillary mucinous adenocarcinoma, signet-ring cell mucinous adenocarcinoma and mixed cell mucinous adenocarcinoma is 88.9%, 85.4%, 100.0% and 95.8% respectively. The expression ratio become higher with the malignant degree, but no significant difference was found ($P>0.05$). The expression of E-cad is 100.0% in both pure and papillary mucinous adenocarcinoma, but is 38.9% and 62.5% in signet-ring cell and mixed cell mucinous adenocarcinoma respectively, which showed that E-cad expression was

decreased with malignant degree ($P<0.01$). The expression of β -cat was also decreased with malignant degree.

CONCLUSION: The positive level of hTERT, E-cad and β -cat is related to the histopathological types of stomach mucinous adenocarcinoma, and they are important in the judgement of prognosis.

Key Words: Stomach neoplasms; Mucinous adenocarcinoma; Histopathology; Telomerase reverse transcriptase; Immunohistochemistry; E-Cadherin; Catenin- β

Wang YK, Meng NL, Chen ST, Hao Y, Guo YB, Zhang Y. Significance of hTERT, E-Cadherin and Catenin- β expression in stomach mucinous adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(12):1421-1424

摘要

目的: 探讨胃黏液腺癌组织中端粒酶活化催化亚单位(hTERT)与 E-cadherin(E-cad), catenin- β (β -cat)的表达意义。

方法: 采用原位杂交和免疫组织化学技术, 检测 92 例胃黏液腺癌组织中 hTERT 和 E-cad, β -cat 的表达。

结果: hTERT 在胃黏液腺癌组织中细胞外黏液阴性, 细胞内黏液阳性; 单纯黏液癌、腺管乳头结构黏液癌、印戒细胞黏液癌和混合细胞黏液癌表达分别为 88.9%, 85.4%, 100.0% 和 95.8%, 显示恶性程度越高其表达率越高, 但差异无显著性($P>0.05$)。E-cad 在单纯黏液癌和腺管乳头结构黏液癌的表达率为 100.0%, 而印戒细胞黏液癌和混合细胞黏液癌分别为 38.9% 和 62.5%, 显示恶性程度高表达率降低, 差异有显著性($P<0.01$)。 β -cat 在胃含黏液癌中显示出恶性程度高其表达强度明显减弱。

结论: hTERT, E-cad 和 β -cat 阳性表达水平与胃含黏液腺癌组织病理学分型显著相关, 对临床判断预后具有重要意义。

关键词: 胃肿瘤; 黏液腺癌; 分型 / 组织病理学; 端粒 / 末端转移酶; 免疫组织化学; E-cad, β -cat

王仰坤, 蒙念龙, 陈松涛, 郝艳, 郭艳博, 张轶. 胃黏液腺癌组织 hTERT 与 E-cadherin 和 catenin- β 的表达意义. *世界华人消化杂志* 2005;13(12):1421-1424
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1421.asp>

0 引言

胃黏液腺癌比较常见,临床病理工作中通常以黏液物质占优势或黏液成分大于肿瘤的50%称为胃黏液腺癌^[1].黏液腺癌不同于黏液分泌增强,前者细胞外黏液浸润到间质内形成黏液湖;而后者扩张的腺腔内充满黏液,细胞外黏液不浸润到间质内形成黏液湖.经随访观察,胃腺癌中伴有黏液量 $\leq 10\%$,其预后不同,端粒酶与胃肿瘤的发生发展以及恶性进程有良好的相关性,端粒酶是维持癌细胞永生化的关键分子^[2-5].我们采用原位杂交组织化学法和免疫组织化学方法对92例胃黏液腺癌中端粒酶活化催化亚单位(hTERT)与E-cadherin(E-cad)钙黏附蛋白-E和catenin- β (β -cat) β -连接素的表达,探讨胃黏液腺癌分型的意义及其预后.

1 材料和方法

1.1 材料 我院1999-10/2004-10月经手术切除的胃黏液腺癌92例.男53例,女39例.平均年龄65.7岁.根据诊断标准^[6-7],结合黏液腺癌黏液性质和量,以及伴有的癌细胞的不同,分为单纯黏液癌、腺管乳头结构黏液癌、印戒细胞黏液癌和混合细胞黏液癌4个类型^[2].分别在肿瘤两端(含胃和肿瘤),肿瘤内、外和肿瘤中心5个位置切取组织块.标本经40 g/L液固定,常规石蜡包埋,4 μ m厚度连续切片,分别做HE,原位杂交和免疫组化染色.

1.2 方法 采用原位杂交检测试剂盒并按其说明进行.石蜡切片经常规脱蜡至水,30 mL/L H₂O₂处理8 min以灭活内源性酶,暴露mRNA核酸片段:每片滴加30 g/L柠檬酸新鲜稀释的胃蛋白酶37℃消化20min,预杂交:每张切片滴加预杂交液20 μ L 42℃ 3 h(吸取多余液

体,不洗);每张切片滴加杂交液20 μ L 42℃ 16 h,杂交后洗涤,滴加封闭液37℃ 30 min,生物素化鼠抗地高辛37℃ 60 min, SABC37℃ 20 min,生物素化过氧化物酶37℃ 20 min, DAB显色,苏木素复染,酒精脱水、二甲苯透明、封片.以不加探针切片为阴性对照.结果判断:瘤细胞胞质着色呈棕黄色.阴性(-):阳性细胞数 $<5\%$;弱阳性(+):阳性细胞数5-25%;中度阳性(++):阳性细胞数25-50%;强阳性(+++):阳性细胞数 $>50\%$.主要试剂:地高辛标记的TERT寡核苷酸探针购于武汉博士德公司(MK1158).针对人端粒酶TERT靶基因的mRNA序列为:(1)5'-GCCGC TGGTT ACGTT CGTGC GCGC CTGGG-3';(2)5'-TTCTA CCGGA AGAGT GTCTG GAGCA AGTTG-3';(3)5'-CGGCG ACATG GAGAA CAAGC TGTTC GCGGG-3'.

1.3 免疫组化染色 采用SP法.鼠抗人E-cad mAb(4A2)和鼠抗人 β -cat mAb(CAT-5H10)为美国DAKO公司产品,S-P试剂盒购自福州迈新生物技术公司.用PBS液代替第一抗体作阴性对照,用已知的阳性标本作阳性对照.阳性结果计算以阳性肿瘤细胞数 $>10\%$ 定为阳性(例数).结果判定:E-cad表达定位于细胞膜,为棕黄色颗粒状,无着色为(-),着色细胞数 $<25\%$ 为(+),25-75%为(++), $>75\%$ 为(+++); β -cat表达定位于细胞膜、细胞质和(或)细胞核,为棕黄色颗粒状,着色细胞数 $<10\%$ 为(-),10-90%为(+), $>90\%$ 为(++).

统计学处理 采用 χ^2 检验进行统计学分析.

2 结果

单纯黏液癌,组织学上为大片黏液湖形成,有纤维结缔组织间质,黏液湖内漂浮较少的癌细胞(图1A),

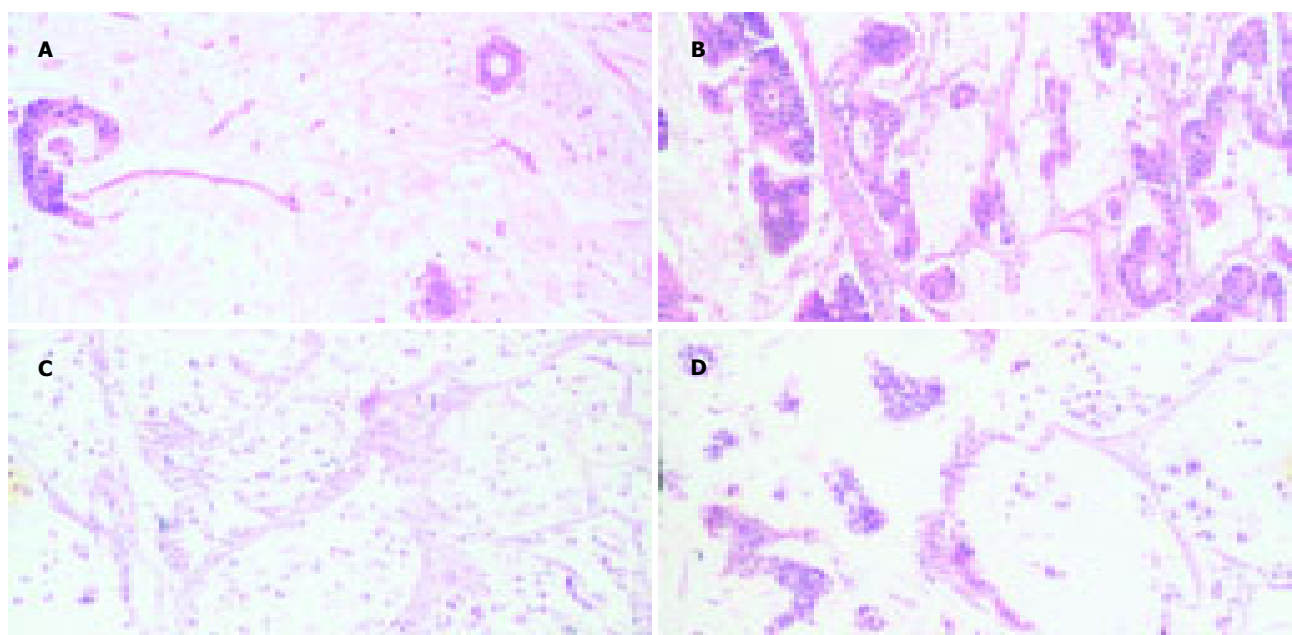


图1 胃黏液癌 HE $\times 200$. A: 单纯黏液癌; B: 腺管乳头结构黏液癌; C: 印戒细胞黏液癌; D: 混合细胞黏液癌.

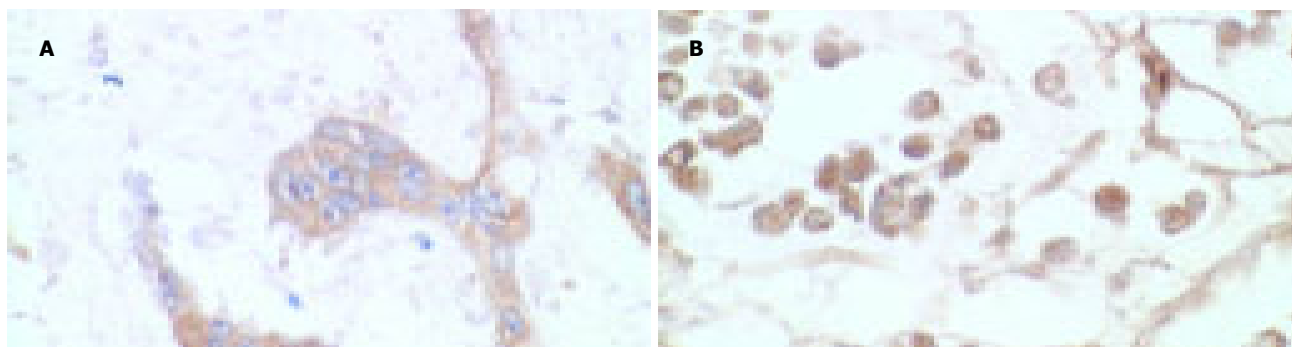


图2 胃黏液癌 hTERT mRNA 表达 (原位杂交 $\times 400$). A: 腺管乳头结构黏液癌; B: 印戒细胞黏液癌.

癌细胞面积占黏液成分的 10%–30%, 有时在癌肿与正常黏膜交界处可见腺癌细胞. 腺管乳头结构黏液癌, 组织学上为腺管乳头结构和黏液湖成分 (图 1B). 印戒细胞黏液癌, 组织学上为大片印戒状癌细胞和黏液湖成分 (图 1C). 混合细胞黏液癌, 组织学上混合有分化腺癌、未分化癌、印戒细胞癌多种癌组织与黏液湖成分 (图 1D). hTERT mRNA 杂交的阳性信号定位于细胞质. 单纯黏液癌和腺管乳头结构黏液癌属分化的腺癌细胞, 见复层上皮细胞的细胞质阳性, 黏液部分不着色 (图 2A). 印戒细胞黏液癌和混合细胞黏液癌属分化差的腺癌细胞, 形成巢团状的癌细胞的细胞质阳性 (图 2B). 单纯黏液癌、腺管乳头结构黏液癌、印戒细胞黏液癌和混合细胞黏液癌表达分别为 88.9%、85.4%、100.0% 和 95.8%, 显示出恶性程度越高其表达率越高, 其表达强度亦增强, 但差异无显著性 ($P>0.05$, 表 1).

E-cad、 β -cat 表达和分布: E-cad 位于细胞质 (图 3A), 在单纯黏液癌和腺管乳头结构黏液癌的表达

达率为 100.0%, 而印戒细胞黏液癌和混合细胞黏液癌分别为 38.9% 和 62.5%, 显示恶性程度高表达率降低, 差异有显著性 ($P<0.01$). β -cat 表达主要定位于细胞膜 (图 3B), 少数表达细胞质和 (或) 细胞核, 结果显示恶性程度高其表达强度明显减弱. hTERT 与 E-cad, β -cat 阳性表达与胃含黏液腺癌组织病理学分型显著相关, 对临床判断预后具有重要意义. hTERT 与 E-cad、 β -cat 的表达水平不相关; E-cad, β -cat 的表达密切相关 (表 1).

3 讨论

人体正常组织除生殖细胞及少数造血干细胞外, 端粒酶均处于失活状态, 而恶性肿瘤细胞端粒酶表达率 90%, 端粒酶激活后, 持续合成端粒 DNA, 维持端粒长度稳定不变, 从而使细胞获得无限增殖的能力, 因此端粒酶的活化和端粒长度的稳定对肿瘤细胞的生长和无限增殖是至关重要的. 国内外研究表

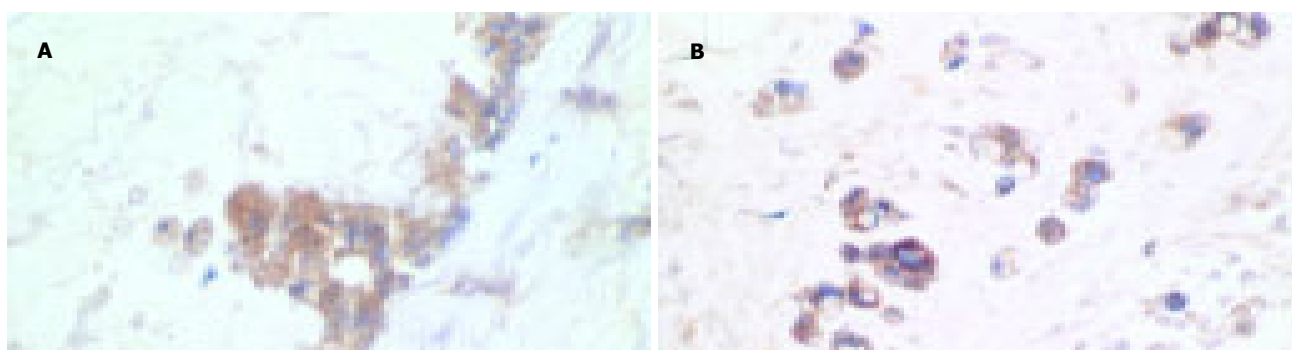


图3 胃黏液癌 E-cad 和 β -cat 阳性表达 (SP $\times 400$). A: 腺管乳头结构黏液癌; B: 印戒细胞黏液癌.

表1 胃黏液腺癌 hTERT mRNA、E-cad、 β -cat 的表达

黏液癌类型	n	hTERT mRNA					E-cad 阳性					β -cat 阳性			
		-	+	++	+++	(%)	-	+	++	+++	(%)	-	+	++	+++
单纯	9	1	4	3	1	88.9	0	2	5	2	100.0	0	0	2	7
腺管乳头结构	41	6	20	11	4	85.4	0	9	20	12	100.0	0	6	12	23
印戒细胞	18	0	3	7	8	100.0	11	4	3	0	38.9	0	8	6	4
混合细胞	24	1	5	11	7	95.8	9	11	8	2	62.5	0	3	8	15

明,端粒酶与胃癌的发生、发展有关系密切.Yasui *et al*^[4]发现胃癌组织中hTERT强表达.Suzuki *et al*^[5]发现胃癌和癌前病变中均有hTERT表达.本结果显示,细胞外黏液阴性,细胞内黏液阳性;单纯黏液癌、腺管乳头结构黏液癌其表达率低与印戒细胞黏液癌、混合细胞黏液癌,显示出恶性程度越高其表达率越高,但差异无显著性($P>0.05$),hTERT的表达水平与胃含黏液腺癌的分型密切相关.

E-cad 通过同质性细胞黏附,使肿瘤呈膨胀性生长,瘤细胞之间保持密切的接触,难以脱离原发瘤侵入周围组织及血管,从而抑制肿瘤侵袭和转移^[8].本组单纯黏液癌和腺管乳头结构黏液癌均有不同程度的表达,其表达率为100.0%,而印戒细胞黏液癌和混合细胞黏液癌分别为38.9%和62.5%,结果显示恶性程度高者,其表达率降低,差异有显著性($P<0.01$). β -cat 是由CTNNB1基因编码的多功能蛋白质,具有介导细胞间黏附与信号转导两大功能.目前研究显示 β -cat 编码基因在多种肿瘤中存在突变与异常表达,并与肿瘤的发生、发展及预后有关^[9].本组胃含黏液腺癌组织中的 β -cat 表达结果,恶性程度高其表达强度明显减弱,可对临床判断预后作为重要指标. β -cat 是一种多功能蛋白,对肿瘤预后的作用还在于通过影响与E-cad 复合物的形成,促进肿瘤细胞的侵袭和转移.本组92例胃含黏液腺癌组织中的E-cad, β -cat 表达显示出二者密切相关.文献报道E-cad 过表达可封闭 β -cat 的转录能力,有效地封闭靶基因的表达从而阻止细胞

的增殖转移,当E-cad 失去与 β -cat 的连接而丧失黏附功能,可导致癌细胞运动能力提高,增强侵袭力^[10]. β -cat 在其失控将使癌细胞获得高度的侵袭转移能力的重要作用是E-cad 介导的黏附连接或紧密联结复合物中通常处于结合状态,在E-cad 和细胞骨架连接中起重要的桥梁作用,使E-cad 保持黏附功能.

4 参考文献

- 1 陈忠年,沈铭昌,郭慕依.实用外科病理学.上海:上海医科大学出版社,1997:320-346
- 2 王仰坤,蔡丰波,闫辉,李华信,王秀丽,于涵,陈松涛,李顺飞.含黏液腺癌的胃癌组织病理学的分型与预后的关系.中国普通外科杂志 2004;13:285-289
- 3 Miyachi K, Fujita M, Tanaka N, Sasaki K, Sunagawa M. Correlation between telomerase activity and telomeric-repeat binding factors in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2002;21:269-275
- 4 Yasui W, Tahara E, Tahara H, Fujimoto J, Naka K, Nakayama J, Ishikawa F, Ide T, Tahara E. Immunohistochemical detection of human telomerase reverse transcriptase in normal mucosa and precancerous lesions of the stomach. *Jpn J Cancer Res* 1999;90:589-595
- 5 Suzuki K, Kashimura H, Ohkawa J, Itabashi M, Watanabe T, Sawahata T, Nakahara A, Muto H, Tanaka N. Expression of human telomerase catalytic subunit gene in cancerous and precancerous gastric conditions. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:744-751
- 6 刘彤华.诊断病理学.北京:人民卫生出版社,1994:47-114
- 7 刘复生,刘彤华.肿瘤病理学.北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1997:705-793
- 8 Lim SC, Jang IG, Kim YC, Park KO. The role of E-cadherin expression in non-small cell lung cancer. *J Korean Med Sci* 2000;15:501-506
- 9 Joo M, Lee HK, Kang YK. Expression of beta-catenin in hepatocellular carcinoma in relation to tumor cell proliferation and cyclin D1 expression. *J Korean Med Sci* 2003;18:211-217
- 10 Jamora C, Fuchs E. Intercellular adhesion, signalling and the cytoskeleton. *Nat Cell Biol* 2002;4:E101-E108

编辑 潘伯荣 审读 张海宁

世界华人消化杂志获得2003年度百种中国杰出学术期刊

本刊讯 期刊的学术质量是一个综合指标,1999年中国科技信息所研制了中国科技期刊综合指标评价体系,该指标体系已应用于中国科协一年一度的期刊择优资助工作中.综合指标评价体系是根据期刊的多项重要指标,如被引总频次、影响因子、即年指标、基金论文比、他引总引比、扩散因子等,对期刊分学科进行综合打分.通过对中国科技论文与引文数据库收录的科技期刊进行综合评定,今年中国科学技术信息研究所评出了第三届中国百种杰出学术期刊.世界华人消化杂志 荣获2003年度百种中国杰出学术期刊称号.(世界胃肠病学杂志 2005-02-17)