

E-cad-β-cat复合体表达及临床病理特征与食管癌预后的关系

林香春, 吴静, 王沧海, 魏南, 寇炜, 姬瑞, 路红

林香春, 吴静, 王沧海, 魏南, 北京大学第九临床医院 北京世纪坛医院消化科 北京市 100038
寇炜, 西北民族大学医学院 甘肃省兰州市 730000
姬瑞, 路红, 兰州大学第一医院消化科 甘肃省兰州市 730000
作者贡献分布: 林香春与吴静对此文所作贡献均等; 此课题由吴静与林香春设计; 研究过程由林香春, 吴静, 寇炜, 姬瑞及路红完成; 数据分析由林香春, 吴静, 王沧海及魏南参与; 本论文写作由林香春, 吴静及王沧海完成。
通讯作者: 吴静, 100038, 北京市, 北京大学第九临床医院, 北京世纪坛医院消化科. wujing36@163.com
收稿日期: 2008-08-11 修回日期: 2008-10-20
接受日期: 2008-10-21 在线出版日期: 2008-11-18

E-cadherin-β-catenin complex expression and clinicopathologic properties in esophageal carcinoma patients and their relationship with the prognosis

Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Cang-Hai Wang, Nan Wei, Wei Kou, Rui Ji, Hong Lu

Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Cang-Hai Wang, Nan Wei, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Ninth Hospital Affiliated to Beijing University; Beijing Shijitan Hospital, Beijing 100038, China
Wei Kou, Medical College of Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Rui Ji, Hong Lu, Department of Gastroenterology and Hepatology, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Correspondence to: Jing Wu, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Ninth Hospital Affiliated to Beijing University; Beijing Shijitan Hospital, Beijing 100038, China. wujing36@163.com
Received: 2008-08-11 Revised: 2008-10-20
Accepted: 2008-10-21 Published online: 2008-11-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of E-cadherin (E-cad) and β-catenin (β-cat) complex in esophageal carcinoma (EC) tissue and the clinicopathologic properties in EC patients and to further explore their relationship with the prognosis.

METHODS: The data of 67 EC patients undergoing radical esophagectomy from 1998 to 2001 were reviewed and analyzed. The expression of

E-cad and β-cat in the resected esophageal carcinoma tissue was detected using immunohistochemical technique. The prognostic factors were analyzed by Kaplan-Meier univariate and Cox multivariate survival analyses.

RESULTS: The univariate Kaplan-Meier analysis showed that age, the degree of tumor differentiation, depth of invasion, lymph node metastasis and the expression of E-cad and β-cat complex were very important prognostic factors for EC patients. The multivariate analysis demonstrated that the degree of tumor differentiation and depth of invasion, lymph node metastasis were independent prognostic factors ($P = 0.039, 0.006, 0.020$), Risk degree were 2.675, 3.077, 2.958 while E-cad-β-cat could not be used as independent prognostic factors for EC patients.

CONCLUSION: Both the expression of E-cad - β-cat complex and clinicopathologic properties are very important for prognosis of EC patients. The clinicopathologic properties could be used as independent markers for predicting the prognosis. The degree of tumor differentiation is the most important prognostic factor.

Key Words: E-cadherin; β-catenin; Esophageal carcinoma; Prognosis

Lin XC, Wu J, Wang CH, Wei N, Kou W, Ji R, Lu H. E-cadherin-β-catenin complex expression and clinicopathologic properties in esophageal carcinoma patients and their relationship with the prognosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(32): 3687-3691

摘要

目的: 探讨食管癌患者E-钙粘蛋白(E-cadherin, E-cad)和β-连环素(β-catenin, β-cat)复合体表达及临床病理特征与食管癌患者术后生存的关系。

方法: 收集1998-2001年本院行食管癌根治术后的标本67例, 应用免疫组织化学S-P法进行E-cad和β-cat复合体测定, 结合病理学特征与

背景资料

侵袭转移是肿瘤细胞的主要生物学特性, 也是造成肿瘤患者死亡的主要原因。E-cadherin为重要的细胞黏附分子, 其所介导的黏附系统已被公认为“浸润抑制系统”。

同行评议者

王健生, 副教授, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科; 吕宾, 教授, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院、浙江省东方医院)消化科

■相关报道

研究表明E-cad-β-cat复合体在多种恶性肿瘤中表达异常,但由于肿瘤转移的分子机制十分复杂,不同的研究者观察的结果不甚一致。

患者生存期进行Kaplan-Meier单因素分析和Cox回归多因素模型分析。

结果:食管癌患者的年龄、肿瘤的分化程度、浸润深度、淋巴结转移以及E-cad和β-cat表达是影响患者预后的重要因素;浸润深度、病理分级和淋巴结转移可作为独立的预后预测因子($P = 0.039, 0.006, 0.020$), 风险度分别为2.675, 3.077, 2.958。而E-cad和β-cat不可作为独立的因子。

结论:食管癌患者E-cad和β-cat复合体异常表达和食管癌的临床病理特征是影响患者预后的重要因素,且后者是独立的预后预测因素,其中分化程度最为重要。

关键词: E-钙粘蛋白; β-连环素; 食管癌; 预后

林香春, 吴静, 王沧海, 魏南, 寇炜, 姬瑞, 路红. E-cad-β-cat复合体表达及临床病理特征与食管癌预后的关系. 世界华人消化杂志 2008; 16(32): 3687-3691

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3687.asp>

0 引言

食管癌是我国常见的消化系恶性肿瘤,居肿瘤死亡的第4位,其侵袭转移是食管癌患者死亡的首要原因。研究表明, E-钙粘蛋白(E-cadherin, E-cad)作为细胞黏附分子,其表达下调或功能障碍与恶性肿瘤细胞分化及侵袭转移有关^[1]。连环素(catenin, cat)最初是对上皮钙粘蛋白进行免疫沉淀研究时发现,经典家族包括α、β、γ-catenin,其中β-cat是复合体功能调控的重要环节。β-catenin不仅能通过Wnt信号通路影响细胞增殖周期,而且能与E-cad形成E-cad和β-cat复合体而介导同种细胞间的黏附^[2]。多种因素可以影响这种复合物的稳定性,导致E-cad黏附能力下降,影响细胞间的黏附^[3],促使肿瘤的发生发展,同时与患者的预后有关。我们采用超敏感SP免疫组化方法,探讨食管癌患者E-cad和β-cat复合体表达和临床病理特征与食管癌患者术后生存的关系,以期临床治疗提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集1998-2001年本院行食管癌根治术后的标本67例,年龄28-78(中位51.5)岁,男55例,女12例。全部病例均有完整的临床资料,术前均未行放疗及其他治疗,病理类型均为鳞癌。依据肿瘤UICC分类,高分化鳞癌(G1)7例、中分化鳞癌(G2)25例、低分化(G3)33例、未分化(G4)2

例。有淋巴结转移36例,无淋巴结转移31例。对67例患者进行3年随访观察,其中回访50例。

1.2 方法 采用免疫组织化学SP方法检测E-cad和β-cat表达。切除组织经40 g/L甲醛溶液固定,石蜡包埋,连续4 μm厚度切片,分别进行HE染色和E-cad和β-cat免疫组织化学染色。用PBS代替一抗作阴性对照,癌旁正常组织作为阳性内对照。鼠抗人mAb E-cad及鼠抗人mAb β-cat为美国Sigma公司产品;超敏SP组化试剂盒,链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(streptavidin-peroxidase), DAB显色剂及其他常用试剂购置于福州迈新生物技术开发公司。

染色评估分别由两位病理医生完成,一致性达90%以上。E-cad和β-cat表达染色标准以细胞膜有明确棕褐色着色为阳性。根据文献将染色半定量计分为0-3分。0分:细胞膜、浆均未染色;1分:细胞质染色为主;2分:细胞膜、浆混合染色;3分:正常细胞呈细胞膜连续染色。在同一张肿瘤组织切片中,因分化程度的差异,染色也存在差异,此种情况则以主导染色计分;若染色差异超过20%,则以混合染色计分。失去连续细胞膜染色为异常染色,即0-2分为异常染色。

统计学处理 采用SPSS10.0分析软件包行统计学处理。各相关指标间进行Spearman等级相关分析。应用Kaplan-Meier曲线分析食管癌患者各项临床指标对其预后的影响,显著性检验采用时序检验(Log-rank test)。建立Cox回归多因素模型分析(Forward法),筛选影响食管癌预后的多种因素。

2 结果

2.1 E-cad和β-cat表达与食管癌预后的关系 本组67例食管癌中,最后获得随访50例,随访时间为3-50 mo,随访成功率74.63%。平均生存期26.45±2.17 mo;3年生存率为24%。

50例随访者中, E-cad表达正常者23例,平均生存时间33.54±3.09 mo,生存3年以上者9例,生存率为39.13%;表达异常者27例平均生存时间为20.21±2.43 mo,生存3年以上者3例,生存率为11.11%。结果表明, E-cad表达正常(阳性表达)与表达异常(阴性表达)之间的3年生存率相比有显著性差异($P = 0.0032 < 0.01$)(图1-2, 表1)。

50例随访者中β-cat正常表达者为24例,平均生存时间31.23±3.30 mo,生存3年以上者9例,生存率为37.50%;26例β-cat异常表达者,平均生存时间21.68±2.43 mo,生存3年以上者3例,生

表 1 50例食管癌患者单因素生存分析(Kaplan-Meier)

变量	n	平均存活时间(mo)	P
年龄			
≥50	24	17.53 ± 2.23	0.0308
<50	26	25.03 ± 2.80	
性别			
男	25	20.95 ± 2.45	0.6617
女	25	21.02 ± 2.78	
肿瘤大小(cm)			
≥3	26	20.11 ± 2.41	0.4867
<3	24	22.00 ± 2.28	
肿瘤大体形态			
溃疡型	18	20.52 ± 3.26	
蕈伞型	17	18.68 ± 3.01	0.8491
浸润型	15	24.15 ± 3.24	
病理分级			
高/中分化	20	36.34 ± 3.36	0.0002
低分化	30	19.26 ± 1.85	
浸润深度			
T ₁ /T ₂	23	34.59 ± 3.34	0.0004
T ₃ /T ₄	27	19.33 ± 1.96	
淋巴结转移			
N ₀	23	32.98 ± 3.18	0.0064
N ₁	27	20.42 ± 2.32	
E-cad			
阳性	23	33.54 ± 3.09	0.0032
阴性	27	20.21 ± 2.43	
β-cat			
阳性	24	31.23 ± 3.30	0.0343
阴性	26	21.68 ± 2.43	

存率为11.54%。结果表明, β-cat正常表达(阳性表达)者生存时间显著高于异常表达(阴性表达)者(P = 0.0343 < 0.05, 图3-4, 表1)。

2.2 临床病理特征与食管癌预后的关系 采用Kaplan-Meier法统计食管癌患者各项临床病理特征对其预后的影响, 并绘制生存曲线。时序检验(Log-rank test)发现, 食管癌患者年龄、病理分级、浸润深度、淋巴结转移, 以及E-cad、β-cat表达是影响患者预后的重要因素(表1)。结果发现: 年龄小于50岁的患者平均生存时间明显高于年龄大于50岁者(P < 0.01); 病理分级为高/中分化食管癌者平均生存时间显著高于低分化食管癌(P < 0.01); 癌细胞局限于黏膜层和肌层内(T₁/T₁)食管癌的平均生存时间显著高于癌细胞浸润至外膜者(P < 0.01); 淋巴结未转移(N₀)食管癌者平均生存时间显著高于淋巴结转移(N₁)食管癌(P < 0.01)。

2.3 Cox多元回归分析-E-cad和β-cat及食管癌患

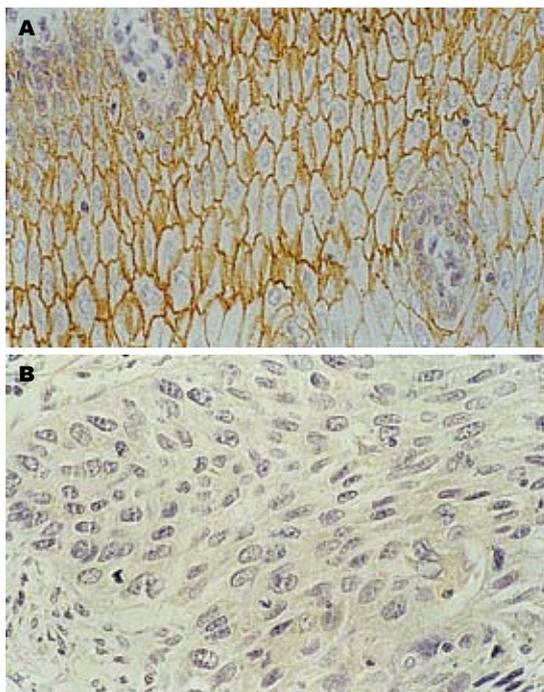


图 1 E-cad在鳞癌中的表达(SP × 400)。A: 在高/中分化鳞癌E-cad表达正常(阳性表达); B: 在未分化鳞癌E-cad表达异常(阴性表达)。

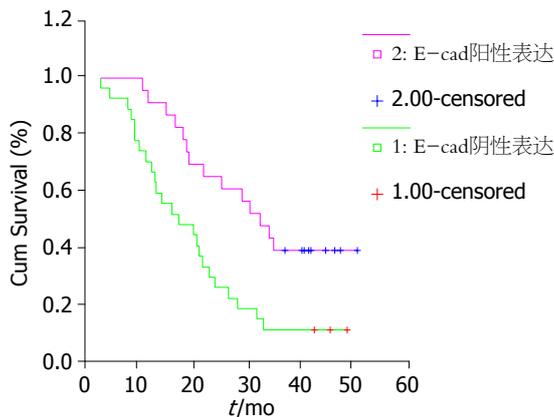


图 2 食管癌组织中E-cad的表达与患者的生存期之间的关系。

者的临床病理特征等因素与预后的关系 采用Cox多元回归分析方法将50例食管癌患者的临床病理特征-浸润深度、淋巴结转移和分化程度以及E-cad和β-cat等因素作为多变量进行预后预测分析。结果表明, 浸润深度(P = 0.038)、病理分级(P = 0.006)和淋巴结转移(P = 0.022)可作为独立的预后预测因子, 而E-cad和β-cat不能作为独立的因子(表2)。

3 讨论

近年, 随着食管癌和贲门癌发病率的逐年升高, 对食管癌患者恶性程度的评定、治疗方式的选择以及术后生存期的判断已受到广泛关注^[4]。

应用要点

本文检测67例食管癌手术标本中E-cad-β-cat复合体的表达, 并结合病理学特征与患者生存期进行分析, 具有重要的临床指导意义。

同行评价

该文题目简明,能够准确反映研究工作的科学问题和内容,应用常规免疫组化SP法研究了E-cad- β -cat复合体表达及临床病理特征与食管癌预后的关系,具有一定的临床参考价值。

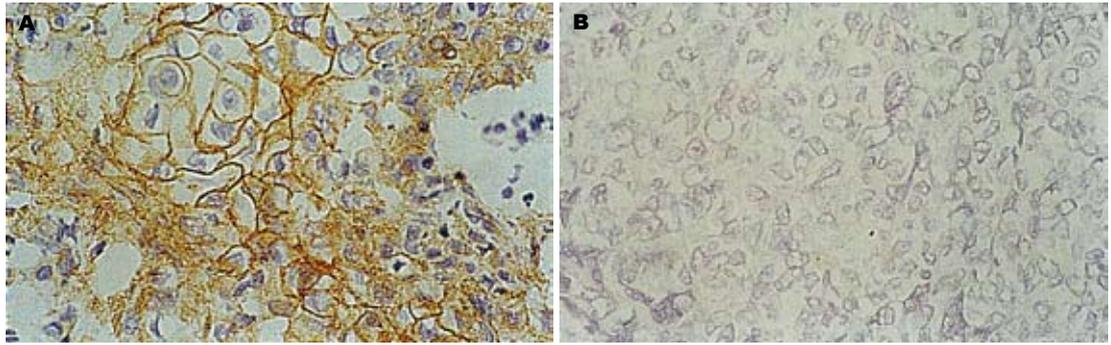


图3 β -cat在鳞癌中的表达(SP \times 400). A: 在高/中分化鳞癌 β -cat表达正常(阳性表达); B: 在未分化鳞癌 β -cat表达异常(阴性表达).

表2 Cox多元回归分析与预后相关危险因素

协变量	回归系数	标准误	统计量	ν	P值	风险度
部位	0.022	0.316	0.005	1	0.944	1.023
大小	0.392	0.373	1.102	1	0.294	1.480
病理形态	-0.485	0.366	1.757	1	0.185	0.616
浸润深度	0.984	0.477	4.248	1	0.039	2.675
病理分级	1.124	0.405	7.690	1	0.006	3.077
淋巴结	1.085	0.466	5.420	1	0.020	2.958
E-cad	-0.130	0.486	0.072	1	0.788	0.878
β -cat	0.217	0.558	1.154	1	0.695	1.244

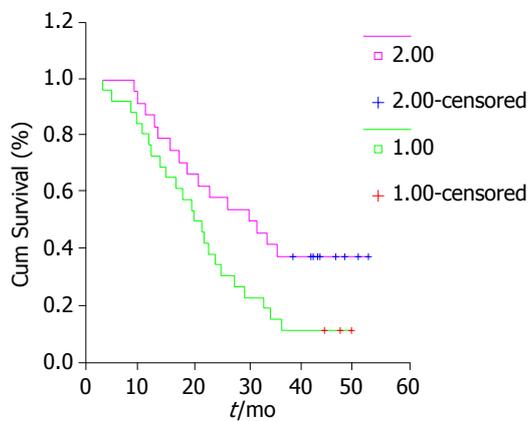


图4 食管癌组织中 β -cat的表达与患者的生存期之间的关系.

侵袭转移是肿瘤细胞的主要生物学特性,也是造成肿瘤患者死亡的主要原因. E-cadherin为重要的细胞黏附分子,是一类建立细胞间紧密连接,维持细胞极性,保持组织结构完整的钙依赖性跨膜糖蛋白. 作为抑癌基因,其所介导的黏附系统已被公认为“浸润抑制系统”^[5],能抑制肿瘤细胞从原发灶脱落,为重要的肿瘤转移抑制因素之一. E-cad的功能不仅需要钙离子存在,还需要与其配体-连接素(β -catenin, β -cat)结合成E-cad- β -cat复合体才能发挥作用. E-cad- β -

cat复合体在多种恶性肿瘤中表达异常^[6-8],其结构与功能的变化直接关系到癌细胞分化和侵袭力. 然而, E-cad- β -cat复合体在肿瘤转移中所起的具体作用及其机制,不同的研究者观察的结果不甚一致,其原因与肿瘤转移的分子机制十分复杂,影响因素众多有关^[9-11].

我们采用Kaplan-Meier法对9个影响食管癌患者术后生存的因素进行单因素分析,结果发现食管癌患者的年龄、病理分级、浸润深度、淋巴结转移,以及E-cad、 β -cat表达是影响患者预后的重要因素,与以往的研究一致^[12-13]. 提示E-cad表达下调或失去表达,使癌细胞极性丧失、去分化,具备侵袭性生长的特点,而 β -cat表达下调或功能障碍, E-cad将无法实现稳固的细胞-细胞黏附. 因此, E-cad- β -cat复合体异常表达导致的黏附功能下降可促进肿瘤的浸润和转移,从而影响肿瘤患者的生存期. 同时,我们也采用Cox回归多因素模型分析,以避免多因素的相互影响,结果发现肿瘤病理分级、浸润深度、淋巴结转移,可作为独立的预后预测因子,而E-cad和 β -cat不能作为独立的因子,不同于以往的研究^[13-15]. 由于E-cad和 β -cat异常表达与食管癌的浸润深度,病理分级,淋巴结转移及生存期和患者的3年生存率有密切的关系,我们认为此结果

可能与样本数量偏少有关. 故关于E-cad和β-cat作为独立的预后指标需进一步大样本研究.

以上结果显示黏附分子E-cad-β-cat复合体的功能随着肿瘤的发生、发展而遭破坏, 使上皮细胞间的黏附力下降, 癌细胞从肿瘤组织中脱落, 导致肿瘤的转移. 提示E-cad-β-cat复合体表达下降为肿瘤的恶性侵袭行为, 且预示患者预后不良^[7]. 食管癌组织中E-cad-β-cat复合体表达减少或缺失, 与肿瘤的发生发展、浸润和转移密切相关. 临床工作中应寻求一些影响食管癌患者侵袭转移的因素, 有必要将临床病理特征与E-cad和β-cat这些指标综合分析, 以便早期对高危人群进行评估, 为改善预后提供可靠的依据.

4 参考文献

- 1 Lin YC, Wu MY, Li DR, Wu XY, Zheng RM. Prognostic and clinicopathological features of E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, gamma-catenin and cyclin D1 expression in human esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3235-3239
- 2 吴静, 薛群基, 刘维民, 王爱勤, 寇伟. E-钙粘蛋白与食管癌侵袭转移的关系. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1618-1620
- 3 Joo M, Lee HK, Kang YK. Expression of E-cadherin, beta-catenin, CD44s and CD44v6 in gastric adenocarcinoma: relationship with lymph node metastasis. *Anticancer Res* 2003; 23: 1581-1588
- 4 Eksteen JA, Latchford A, Thomas SJ, Jankowski JA. Commentary: Regional variations in oesophageal and gastric cardia cancers--implications and practice. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 1425-1427
- 5 Lioni M, Brafford P, Andl C, Rustgi A, El-Deiry W, Herlyn M, Smalley KS. Dysregulation of claudin-4 leads to loss of E-cadherin expression and the increased invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells. *Am J Pathol* 2007; 170: 709-721
- 6 Uchikado Y, Natsugoe S, Okumura H, Setoyama T, Matsumoto M, Ishigami S, Aikou T. Slug Expression in the E-cadherin preserved tumors is related to prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1174-1180
- 7 顾国利, 魏学明, 王石林, 任力, 郑爱民, 黄蓉蓉, 胡益云. 大肠癌E-cadherin, beta-catenin, MMP-7表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 375-380
- 8 Falkenback D, Nilbert M, Oberg S, Johansson J. Prognostic value of cell adhesion in esophageal adenocarcinomas. *Dis Esophagus* 2008; 21: 97-102
- 9 Shabani HK, Kitange G, Tsunoda K, Anda T, Tokunaga Y, Shibata S, Kaminogo M, Hayashi T, Ayabe H, Iseki M. Immunohistochemical expression of E-cadherin in metastatic brain tumors. *Brain Tumor Pathol* 2003; 20: 7-12
- 10 张秀凤, 王益民, 王瑞, 魏丽珍, 李琰, 郭伟, 王娜, 张慧. E-钙粘蛋白基因多态性与食管癌、贲门癌的关系. *癌症* 2005; 24: 513-519
- 11 Setoyama T, Natsugoe S, Okumura H, Matsumoto M, Uchikado Y, Yokomakura N, Ishigami S, Aikou T. alpha-catenin is a significant prognostic factor than E-cadherin in esophageal squamous cell carcinoma. *J Surg Oncol* 2007; 95: 148-155
- 12 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70
- 13 吴永廉, 郑建盛, 陈秀娇. α-cat和β-cat及E-cad在食管癌组织中的表达及其临床意义. *中华肿瘤防治杂志* 2006; 13: 752-755
- 14 Zhai B, Yan HX, Liu SQ, Chen L, Wu MC, Wang HY. Reduced expression of E-cadherin/catenin complex in hepatocellular carcinomas. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5665-5673
- 15 马杰, 李宝生, 闫婧, 孙菊杰, 孙兰萍, 李俞慧. 食管癌组织中E-cadherin的表达及其与临床病理特征和预后关系的研究. *中华肿瘤防治杂志* 2008; 15: 31-34

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang *et al*”的右上角注角码; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣 *et al*^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和*World Journal of Gastroenterology*(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页. (常务副总编辑: 张海宁 2008-11-18)