

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2796(2006)10-0923-04

E-钙黏附素及  $\beta$ -连环蛋白在上皮性卵巢癌中的表达及临床意义于月成<sup>1</sup>, 辛晓燕<sup>1</sup>, 李红梅<sup>2</sup>, 杨勇<sup>3</sup>, 李奇灵<sup>1</sup>, 张明<sup>2</sup>, 王晓红<sup>1</sup>(第四军医大学西京医院:<sup>1</sup> 妇产科,<sup>2</sup> 免疫科, 陕西 西安 710033, <sup>3</sup> 延安大学医学院附属医院妇产科, 陕西 延安 716000)**Expressions of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in human primary epithelial ovarian carcinomas and their clinical significance**YU Yue-Cheng<sup>1</sup>, XIN Xiao-Yan<sup>1</sup>, LI Hong-Mei<sup>2</sup>, YANG Yong<sup>3</sup>, LI Qi-Ling<sup>1</sup>, ZHANG Ming<sup>2</sup>, WANG Xiao-Hong<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynaecology, <sup>3</sup>Department of Clinical Immunology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China, <sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynaecology, Affiliated Hospital, Medical College, Yan'an University, Yan'an 716000, China

**【Abstract】** AIM: To evaluate the relationship between the expressions of E-cadherin,  $\beta$ -catenin and the biologic behavior of primary epithelial ovarian carcinomas. **METHODS:** The levels of E-cadherin and  $\beta$ -catenin expressions were examined in 30 cases of normal ovarian tissue and 80 cases of primary epithelial ovarian carcinomas by immunohistochemical technique, and the expressions was classified and analyzed statistically according to pathological grading, lymphatic metastasis and clinical staging. **RESULTS:** In comparison with the normal ovarian tissue, the expression of E-cadherin was significantly decreased in the poorly differentiated tumor and in the advanced patients ( $P < 0.05$ ) and also in the tumor tissues from the patients with local lymphnode metastases ( $P < 0.05$ ). On the contrary, the expression of  $\beta$ -catenin was significantly increased in all kinds of primary epithelial ovarian carcinomas ( $P < 0.05$ ), and it was upregulated along with the progressing of clinical stage ( $P < 0.05$ ); it was the same in the tumor tissues from the patients with local lymphnode metastases ( $P < 0.05$ ), but no differences were found in relation to cell differentiation ( $P > 0.05$ ). **CONCLUSION:** The downregulation of E-cadherin and the upregulation of  $\beta$ -catenin are correlated with the malignant behavior of primary epithelial ovarian carcinoma, and the examination of E-cadherin and  $\beta$ -catenin expression in primary epithelial ovarian carcinoma can help to evaluate its clinical prognosis.

**【Keywords】** ovarian neoplasms; cadherins;  $\beta$ -catenin; cell adhesion molecules; Immunohistochemistry

**【摘要】**目的: 研究上皮性卵巢癌组织中 E-钙黏附素(E-cadherin)、 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)表达情况, 探讨其表达与上皮性卵巢癌生物学行为的关系。方法: 应用免疫组化方法, 检测

38例正常卵巢组织和80例上皮性卵巢癌组织中 E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 蛋白表达的情况, 并结合卵巢癌的病理分级、淋巴结转移情况和临床分期对其表达进行分类和统计分析。结果: 相对于正常卵巢组织, E-cadherin 在上皮性卵巢癌组织中表达明显降低( $P < 0.05$ ), 且随细胞分化程度降低而减少( $P < 0.05$ ), 随临床分期的增加而降低( $P < 0.05$ ), 伴有区域性淋巴结转移者, E-cadherin 表达明显降低( $P < 0.05$ );  $\beta$ -catenin 在上皮性卵巢癌组织中表达明显增高( $P < 0.05$ ), 其表达量随临床分期的增加而增加( $P < 0.05$ ), 伴有区域性淋巴结转移者其表达增高( $P < 0.05$ ), 与细胞分化程度无关( $P > 0.05$ )。结论: E-cadherin 的表达降低及  $\beta$ -catenin 的表达增高与上皮性卵巢癌的生物学行为密切相关, 两者在上皮性卵巢癌组织中的表达呈负相关, E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 表达水平的高低可作为判断上皮性卵巢恶性肿瘤患者预后的指标。

**【关键词】** 卵巢肿瘤; 钙粘着糖蛋白类;  $\beta$ -catenin; 细胞黏附分子; 免疫组织化学

**【中图分类号】** R737.33

**【文献标识码】** A

## 0 引言

肿瘤的转移是在多个相关基因调控下发生的。根据经典的肿瘤细胞侵袭三步学说, 肿瘤细胞从原发部位脱落、迁移是肿瘤转移的重要环节, 这一过程与肿瘤细胞黏附功能的降低密切相关<sup>[1]</sup>。上皮钙黏附素(E-cadherin)是维持上皮细胞极性及其细胞间黏附连接的主要分子, 当其表达降低或缺失时, 细胞间的黏附能力减弱和肿瘤细胞的运动能力增强, 使肿瘤细胞容易脱落并发生侵袭、转移<sup>[2]</sup>。 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)以 C 端 42 个氨基酸的基团结合到 E-cadherin 的胞质尾段, 形成钙黏附素-Cat 复合体, 是调节上皮钙黏附素功能的位点, 它在细胞中的分布影响黏附的强度<sup>[3]</sup>。我们采用免疫组化方法, 检测 E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 在正常卵巢组织及上皮性卵巢癌中表达情况, 探讨其表达与上皮性卵巢癌细胞生物学行为的关系, 评价其对于卵巢癌诊断与治疗的指导价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 鼠抗人 E-cadherin,  $\beta$ -catenin mAb (1:50) 和辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 抗体试剂盒 SABC kit 购自 Santa Cruse 公司。取西京医院妇

收稿日期 2006-01-16; 接受日期 2006-03-07

作者简介: 于月成, 博士生(导师辛晓燕), 主治医师, 讲师。Tel: (029) 81927099 Email: yuyuecheng@126.com

产科 2000/2004 卵巢上皮癌标本 80 例, 均经病理检查确定诊断。患者年龄  $49.2 \pm 9.5$  (29 ~ 64) 岁, 术前均未接受放、化疗。根据 WHO 卵巢上皮性癌分级方法: I 级 28 例, II 级 36 例, III 级 16 例, 伴区域淋巴结转移者 35 例, 无淋巴结转移者 45 例。按 FIGO 临床分期标准: I 期 12 例, II 期 17 例, III 期 31 例, IV 期 20 例。取同期行宫颈鳞癌根治术的正常卵巢组织 38 例作为对照。

## 1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色 标本均经 100 mL/L 甲醛固定, 石蜡包埋, 连续切片厚  $4 \mu\text{m}$ 。SABC 免疫组化染色参照 SABC kit 中产品使用说明书进行, 以 PBS 代替一抗作为阴性对照, 阳性对照采用已知的阳性的乳腺癌切片。每次染色均设阴性和阳性对照。

1.2.2 结果判定 参照 Obashi 等<sup>[4]</sup>方法, 每张切片在 400 倍镜下观察 10 个视野, 每个视野计数 100 个上皮细胞或肿瘤细胞, 共计 1000 个肿瘤细胞。计算出每张切片的阳性细胞百分数。<10% 为 -, 11% ~ 25% 为 +, 26% ~ 50% 为 ++, 51% ~ 75% 为 +++, >75% 为 +++。

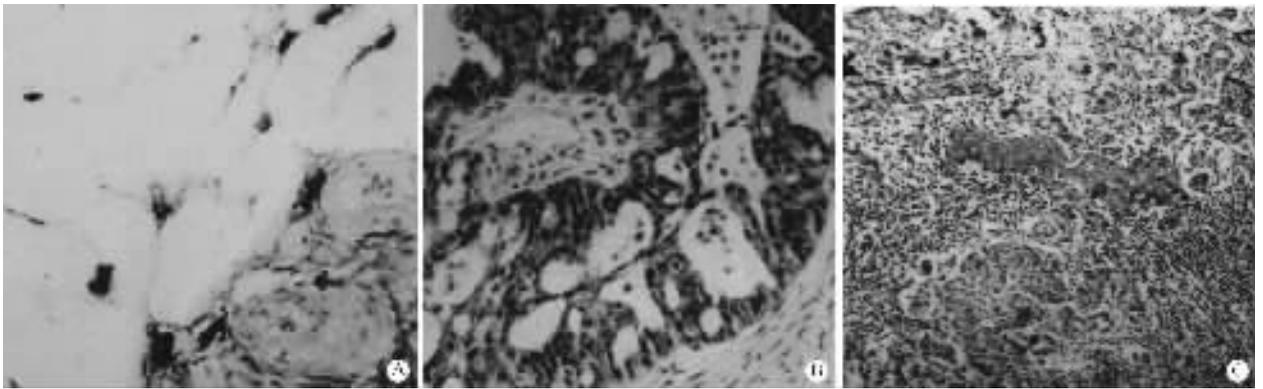
统计学处理: 采用 SPSS12.0 统计软件, 组间率的比较用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  认为有统计学意义。

## 2 结果

2.1 E-cadherin 蛋白表达 正常卵巢上皮组织中 E-cadherin 表达阳性率高, 几乎全部为上皮细胞膜着色, 在细胞相邻的侧面连续分布, 胞质微着色。上皮性卵巢癌 E-cadherin 表达阳性率低, 亦为细胞膜着色, 少数局灶性浅淡着色, 部分切片完全不着色。上皮性卵巢癌组织中 E-cadherin 蛋白表达较正常卵巢组织明显减弱 ( $P < 0.05$ )。E-cadherin 在不同组织类型的卵巢癌上皮表达无明显区别 ( $P > 0.05$ , 图 1 表 1)。

2.2 E-cadherin 表达与上皮性卵巢癌病理分级、临床分期之间的关系 E-cadherin 在上皮卵巢癌组织中的表达与 WHO 病理学分级有密切关系, 分化越差, 表达越低 ( $P < 0.05$ )。卵巢癌临床分期越晚, E-cadherin 表达越低 ( $P < 0.05$ )。有淋巴结转移者 E-cadherin 表达明显低于无淋巴结转移者 ( $P < 0.05$ , 表 2)。

2.3  $\beta$ -catenin 的表达  $\beta$ -catenin 在正常卵巢组织及上皮性卵巢癌细胞胞质中均表达, 但癌组织中表达显著高于正常卵巢组织 ( $P < 0.05$ ), 且呈局灶性分布, 在不同组织类型的卵巢癌上皮表达无明显区别 ( $P > 0.05$ , 表 2, 图 2)。



A: 正常卵巢上皮组织; B: 上皮性卵巢癌组织; C: 转移淋巴结组织。

图 1 E-cadherin 蛋白表达 SP  $\times 200$

表 1 正常卵巢组织和上皮性卵巢癌组织中 E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 的表达

组别	n	E-cadherin 的表达						$\beta$ -catenin 的表达					
		-	+	++	+++	+++	%	-	+	++	+++	+++	%
正常卵巢组织	38	2	2	3	9	22	95	24	8	4	2	0	37
上皮性卵巢癌	80	17	21	21	12	9	79*	10	11	14	19	26	87*
浆液性	37	11	11	7	5	3	70	5	4	7	8	13	86
黏液性	26	3	6	11	3	3	88	3	5	5	6	7	88
子宫内膜样	11	2	3	3	1	2	82	1	1	1	4	4	91
透明细胞	6	1	1	0	3	1	83	1	1	1	1	2	83

\* $P < 0.05$  vs 正常卵巢组织。

2.4  $\beta$ -catenin 的表达与上皮性卵巢癌病理分级、临床分期之间的关系  $\beta$ -catenin 在不同组织类型的卵巢癌上皮表达率很高, 其表达量与 WHO 病理学分级无关 ( $P > 0.05$ ); 卵巢癌临床分期越晚,  $\beta$ -catenin 表达越高 ( $P < 0.05$ ); 有淋巴结转移者  $\beta$ -catenin 表达明显高于无淋巴结转移者 ( $P < 0.05$ , 表 2)。

## 3 讨论

浸润和转移是卵巢癌最重要的生物学特征之一, 也是临床上卵巢癌患者治疗失败和死亡的主要原因。

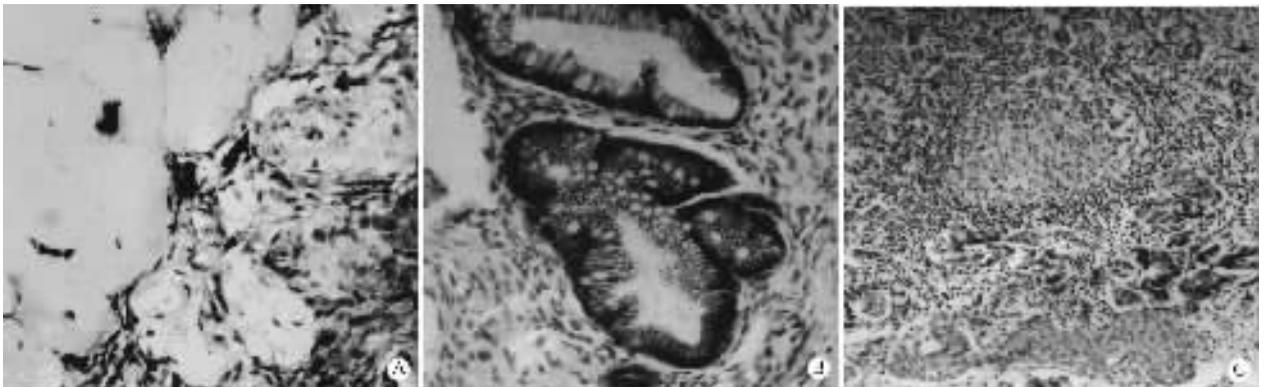
E-cadherin 是一种钙依赖性跨膜糖蛋白,为钙依赖糖黏附蛋白家族成员之一,分布于上皮细胞,是维持上皮细胞极性及细胞间黏附连接主要分子。同一细胞上相邻的两个 E-cadherin 分子的胞膜外区形成二聚体结构,相邻细胞间的二聚体互相黏附,增加细胞之间的黏着力<sup>[5]</sup>。E-cadherin 分子胞质内段通过与  $\beta$ -catenin 形成复合体来锚定于肌动蛋白细胞骨架上,可以改变相邻细胞的结构,使得细胞间的接触更加紧密,并可限制细胞的活动能力和活动范围,E-cadherin 是维持正常上皮细胞间黏附的重要分子。其表达降低或功能抑制可使细胞去分化从而导致肿瘤发生,并且有助于肿瘤细胞浸润生长和由原发灶脱落转移,因此 E-cadherin 可能是多种上皮性肿瘤发生、侵袭及转移的抑制因素<sup>[6]</sup>。体外实验发现,将上皮钙黏附素的 cDNA 转染入高度浸润的癌细胞后,细胞浸润能力消失,将上皮钙黏附素的反义 mRNA 导入癌细胞内阻断上皮钙黏附素表达,又可重新诱发浸润反应<sup>[7]</sup>。这说明,上皮钙黏附素表达的降低可使肿瘤细胞更易于从原发灶脱离,通过淋巴、血运而转移。本研究结果显示:E-cadherin 在上皮性卵巢癌组织中的表达随临床分期的增加而降低,癌细胞分化越差,其表达也越

低,有淋巴结转移者,E-cadherin 表达明显下降。这证实了 E-cadherin 表达的高低与上皮性卵巢癌转移密切相关。

表2 上皮性卵巢癌中 E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 表达与病理分级、临床分期与淋巴结转移的关系

组别	n	E-cadherin 的表达						$\beta$ -catenin 的表达					
		-	+	++	+++	+++	%	-	+	++	+++	+++	%
上皮性卵巢癌	80	17	21	21	12	9	79	10	11	14	19	26	87
病理分级													
G1	28	3	7	7	5	6	89	4	4	5	7	8	86
G2	36	9	8	10	6	3	75	4	5	6	10	11	89
G3	16	5	6	4	1	0	69*	2	2	3	2	7	87*
临床分期													
I	12	1	1	4	3	3	92	3	1	2	3	3	75
II	17	2	4	4	4	3	88	2	3	4	3	5	88
III	31	7	10	7	5	2	77	4	4	5	8	10	87
IV	20	7	6	6	0	1	65°	1	3	3	5	8	95°
淋巴结转移													
有	35	13	11	7	3	1	63	8	7	8	6	6	77
无	45	4	10	14	9	8	91°	2	4	6	13	20	96°

\* $P < 0.05$  vs G1; ° $P < 0.05$  vs I期; ° $P < 0.05$  vs 有淋巴结转移。



A: 正常卵巢上皮组织 B: 上皮性卵巢癌组织 C: 转移淋巴结组织。

图2  $\beta$ -catenin 蛋白表达情况

本实验显示了  $\beta$ -catenin 在各种卵巢癌组织细胞胞质中表达显著高于正常的卵巢组织。以往一些研究报道的在肿瘤细胞中  $\beta$ -catenin 表达降低或者缺失指的是细胞内膜与 E-cadherin 结合的  $\beta$ -catenin<sup>[8]</sup>。与本实验一致的是另外一个关于子宫内膜样卵巢癌  $\beta$ -catenin 的研究,都是在胞质中高表达<sup>[9]</sup>。本实验显示  $\beta$ -catenin 在有些宫内膜样卵巢癌组织中细胞浆和细胞核都表达,结果提示这些  $\beta$ -catenin 在某些卵巢癌肿瘤中可能与正常细胞的黏附功能无关,形成参与了新的不同生物学功能。分子生物学研究显示  $\beta$ -

catenin 是一个具有双重功能的蛋白,一是与 E-cadherin 形成复合物参与 Wnt 信号转导,二是在细胞核内作为基因转录子激活与细胞增殖的相关基因如 Myc 和 CDH1,钙黏素很可能在细胞胞内与  $\beta$ -连环蛋白结合,抑制其核转位,从而对细胞、增殖具有负性调控作用<sup>[10-11]</sup>。钙黏素对  $\beta$ -连环蛋白的负性调控作用可以受到生长因子受体和酪氨酸激酶的抑制,它们通过激活抑制剂 Slug/Snail 来降低 E-钙黏素转录,或破坏细胞表面钙黏素/连环蛋白复合物,从而抑制细胞间黏附并促进  $\beta$ -连环蛋白信号传递。 $\beta$ -连环蛋白信

号通路的关键在于其在胞质中的稳定性和聚集性。β-连环蛋白在细胞间黏附过程中,是连接钙黏素与细胞骨架肌动蛋白的结构调节蛋白<sup>[12]</sup>。β-连环蛋白具有紧密结合 I 型钙黏素胞质区的能力,并通过 β-连环蛋白将钙黏素与细胞骨架肌动蛋白结合,从而在组织结构和发挥钙黏素的功能上起重要作用<sup>[13]</sup>。

本研究结果显示,在上皮性卵巢恶性肿瘤,E-cadherin 表达随临床分期的增加而降低,有淋巴结转移者,E-cadherin 表达明显下降。而 β-catenin 在胞质内的表达则与 E-cadherin 相反,但是其表达量在不同的卵巢癌组织、临床分期及转移高低等都没有显著差异。因此,E-cadherin 表达的降低及 β-catenin 的增高及 β-catenin 在胞质及细胞核的表达可能与上皮性卵巢恶性肿瘤的增殖、发生发展及转移密切相关,可能会成为临床上进行卵巢癌治疗和估计卵巢癌预后的一个有效指标。

**【参考文献】**

[1] Naora H, Montell DJ. Ovarian cancer metastasis: Integrating insights from disparate model organisms [ J ]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(5): 355-366.  
 [2] Chan J K, Wong CS. Loss of E-cadherin is the fundamental defect in diffuse type gastric carcinoma and infiltrating lobular carcinoma of the breast [ J ]. Adv Anat Pathol, 2001, 8(3): 165-172.  
 [3] Shiozaki H, Oka M, Inoue M, et al. E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells [ J ]. Cancer, 1996, 77(8): 1605-1613.

[4] Obashi K, Nemoto T, Nakamura K, et al. Increased expression of matrix metalloproteinase 7 and 9 and membrane type 1-matrix metalloproteinase in esophageal squamous cell carcinomas [ J ]. Cancer, 2000, 88(10): 2201-2209.  
 [5] Wang HD, Ren J, Zhang L. CDH1 germline mutations in familial gastric cancer [ J ]. World J Gastroenterol, 2004, 10(21): 3088-3093.  
 [6] Avizienyte E, Fincham VJ, Brunton VG, et al. Src SH3/2 domain-mediated peripheral accumulation of Src and phospho-myosin is linked to deregulation of E-cadherin and the epithelial-mesenchymal transition [ J ]. Mol Biol Cell, 2004, 15(9): 2794-2803.  
 [7] Machado JC, Soares P, Carneiro F, et al. E-cadherin gen mutations provide a genetic basis for the phenotypic divergence of gastric carcinomas [ J ]. Lab Invest, 1999, 79(4): 459-465.  
 [8] Davies BR, Worsley SD, Ponder BAJ. Expression of E-cadherin, acatenin and h-catenin in normal ovarian epithelium and epithelial ovarian cancers [ J ]. Histopathology, 1998, 32(1): 59-80.  
 [9] Wright K, Wilson P, Morland S, et al. Beta-catenin mutation and expression analysis in ovarian cancer: Exon 3 mutations and nuclear translocation in 16% of endometrioid tumors [ J ]. Int J Cancer, 1999, 82(5): 625-629.  
 [10] Peifer M, Polakis P. Wnt signaling in oncogenesis and embryogenesis-a look outside the nucleus [ J ]. Science, 2000, 287(5458): 1606-1609.  
 [11] Bremner RM, Vevre R, Hirsch FR, et al. The E-cadherin cell-cell adhesion complex and lung cancer invasion, metastasis, and prognosis [ J ]. Lung Cancer, 2002, 36(2): 115-124.  
 [12] Jamora C, Fuchs E. Intercellular adhesion, signalling and the cytoskeleton [ J ]. Nat Cell Biol, 2002, 4(4): E101-E108.  
 [13] Gumbiner BM. Regulation of cadherin adhesive activity [ J ]. J Cell Biol, 2000, 7148(3): 399-404.

编辑 王 睿

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2006)10-0926-01

**中西医结合治疗陈旧性腕舟骨骨折 11 例**

王永岭<sup>1</sup>, 张 宁<sup>2</sup>, 周 宁<sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 武警唐山医院外一科, <sup>2</sup> 唐山市第二医院分院麻醉科, 河北 唐山 063004 )

**【关键词】** 中西医结合, 骨折  
**【中图分类号】** R683 **【文献标识码】** B

1 临床资料 1997/2005 采用中西医结合方法治疗陈旧性腕舟骨骨折 11(男 4,女 7)例,年龄 18~59(平均 35)岁,左腕 5 例,右腕 6 例,均有外伤史,病程 2 mo~2.5 a,均有腕关节疼痛、活动受限等症状,X 光片确诊,骨折均为舟骨腰部骨折,骨折线增宽,有囊性变。均予前臂石膏管型固定,腕关节置于背伸 30°尺偏 10°,拇指在对掌位置,前臂居中立位,石膏范围上达肘下,下致拇指近侧指节的远端及其他各指的掌骨头部。除拇指外,其他各指尚可自由活动。固定时间因骨折不同而异,通常每 1~2 mo 除去石膏摄 X 线片一次,前臂石膏管型固定时间 4~16(平均 6)mo。固定期间,应避免用力握拳及手撑打等动作,肩肘的活动则不必限制。固定期间,配合口服麝香接骨胶囊,去除石膏后行功能锻炼,并用郭氏上肢熏洗方(荆

芥 15 防风 15 伸筋草 30 透骨草 15 千年健 15 升麻 15 桂枝 15 钩藤 30 苏木 30 川椒 5 威灵仙 15)熏洗患手 2/d,每次持续约 50 min。患腕经过长时间的固定及口服接骨药物,舟骨骨折裂隙逐渐缩小,囊肿消失,硬化带吸收。去内固定后 9 例患腕功能经锻炼和中药熏洗,完全恢复。

2 讨论 腕舟骨是近排腕骨中最长的一块,易受桡骨茎突背侧的凿力,导致骨折。舟骨腰部因横跨腕关节活动线上,且骨折后受剪力较大,难以固定,对骨折愈合极为不利。骨折延缓连接的患者大部分存在骨性愈合的可能性,在仔细研究排除十分明确的骨不愈合因素后可首选保守治疗,例如针对性地加用外固定或延长外固定时间,继续观察,随访<sup>[1]</sup>。中药熏蒸是通过药力和热力的有机结合,药物在热力的作用下,可使皮肤温度升高,扩张局部的毛细血管,加速血液循环,促进新陈代谢,增加药物渗透能力,从而促进患处皮肤对药物的吸收,促进了血液和淋巴液的循环,这一点对周围没有骨膜的舟状骨尤为重要<sup>[2]</sup>。中医中药采用辨证施治,散瘀止痛,续筋接骨的作用,可促进其骨折愈合,拆石膏后腕关节一般多僵硬,用中药熏洗,可使局部血液循环加快,活血化痰,舒筋接骨,使腕关节恢复正常功能。

**【参考文献】**

[1] 刘 珊, 祁 俊. 骨折不愈合与延迟愈合的成因与治疗 [ J ]. 中华创伤骨科杂志, 2005, 7(5): 407.  
 [2] 庄星辉. 小夹板背伸位固定配合熏蒸法治疗腕舟状骨骨折 [ J ]. 中国中医骨伤科杂志, 2000, 8(6): 42.

编辑 潘伯荣

收稿日期 2005-10-11; 接受日期 2005-11-20  
 作者简介 王永岭, 学士, 医师. Tel: (0315)5907024 Email: violints@163.com