

# 贲门癌中 c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 的表达

郑宇,杜彬,钟雪云

Clinicopathological Study on c-erbB-2, Metastasis-associated Protein 1 (MTA1) and E-cadherin Expression in Gastric Cardia Cancer

ZHENG Yu, DU Bin, ZHONG Xue-yun

Department of Pathology, Jinan University Medical College, Guangzhou 510632, China

Corresponding Author: ZHONG Xue-yun

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression of c-erbB-2, MTA1 and E-cadherin and relationship between the expression of these proteins and the tumor biological behavior, as well as relationship between these proteins in gastric cardia cancer. **Methods** Immunohistochemical technique was used to detect the expression of c-erbB-2, MTA1 and E-cadherin among 60 gastric cardia cancer samples and 18 cases of adjacent mucosa tissue. **Results** c-erbB-2 over-expression was positively correlated with the depth of invasion, lymphatic metastasis and was inversely correlated with the cancer differentiation ( $P < 0.05$ ). MTA1 over-expression was not associated with the depth of cancer invasion, and was significantly positively correlated with lymphatic metastasis, inversely correlated with the differentiation level ( $P < 0.05$ ). E-cadherin low-expression was inversely correlated with the depth of invasion, lymphatic metastasis, and was not associated with the differentiation level ( $P < 0.05$ ). By using the Spearman Correlation test to analyze the data, there was a positive correlation between MTA1 and c-erbB-2 expression, ( $r_s = 0.276$ ,  $P < 0.05$ ). And an inverse correlation between MTA1 and E-cadherin expression, ( $r_s = -0.293$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Over-expression of c-erbB-2, MTA1 and low-expression of E-cadherin may play an important role in invasion and metastasis of gastric cardia cancer.

**Key words:** Gastric cardia cancer; c-erbB-2; MTA1; E-cadherin; Immunohistochemistry

**摘要:** **目的** 探讨 c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 蛋白在贲门癌组织中的表达与肿瘤生物学行为的相关性,以及它们三者之间的相关性。**方法** 采用免疫组织化学方法对 60 例贲门癌组织和 18 例癌旁组织中 c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 蛋白的表达情况进行检测。**结果** c-erbB-2 的表达与贲门癌的浸润、转移呈正相关,与分化程度呈负相关 ( $P < 0.05$ )。MTA1 的表达与贲门癌的浸润深度无显著相关性,与贲门癌的淋巴结转移呈正相关,与分化程度呈负相关 ( $P < 0.05$ )。E-cadherin 的表达与贲门癌的浸润深度、转移呈负相关 ( $P < 0.05$ ),与分化程度无关。Spearman 等级相关分析显示,c-erbB-2 与 MTA1 的表达呈显著正相关 ( $r_s = 0.276$ ,  $P < 0.05$ ),MTA1 与 E-cadherin 的表达呈负相关 ( $r_s = -0.293$ ,  $P < 0.05$ )。**结论** c-erbB-2 与 MTA1 的高表达及 E-cadherin 的表达减少可能是促进贲门癌浸润和转移的重要因素。

**关键词:** 贲门癌; c-erbB-2; MTA1; E-cadherin; 免疫组织化学

**中图分类号:** R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2006)01-0017-03

## 0 引言

贲门癌的浸润、转移是其患者主要的致死原因。肿瘤的侵袭转移是一个复杂的病变过程,涉及多个基因的改变。c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 基因被认为与多种恶性肿瘤的侵袭和转移密切相关,但

它们与贲门癌的浸润、转移则尚无研究阐明。本研究采用 SP 免疫组织化学方法,检测了 60 例贲门癌组织和 18 例癌旁组织中 c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 的表达情况,并初步分析它们与贲门癌浸润转移等临床病理特征的关系。

## 1 资料与方法

1.1 资料 实验组贲门癌标本 60 例为广东省揭阳市人民医院未经过治疗的手术标本,其中男 46 例,女 14 例;最大年龄 73 岁,最小年龄 43 岁。根据

收稿日期:2005-08-03;修回日期:2005-10-06

基金项目:国家科技部重大基础研究前期研究专项资助项目(2002CCC00400);广东省自然科学基金研究团队资助项目(015012)

作者单位:510632 广州,暨南大学医学院病理学教研室  
通讯作者:钟雪云

2002 年 WHO 关于胃肿瘤的分类将其分为乳头状腺癌、管状腺癌、未分化癌等。其中,腺鳞癌 1 例,未分化癌 2 例,乳头状腺癌 6 例,管状腺癌 51 例。为了方便统计,将乳头状腺癌与高分化管状腺癌列入高分化腺癌组,将未分化癌列入低分化腺癌组,并将高分化腺癌组与中分化腺癌组合并为一组。以 18 例癌旁组织为对照组。

1.2 标本及切片 所有标本经常规甲醛固定、石蜡包埋。每例组织蜡块 4 μm 连续切片 10 张,其中 1 张切片 HE 染色作光镜下诊断复查,另 3 张切片作 c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 免疫组织化学染色,其余备用。

1.3 主要试剂 一抗分别为美国 Santa Cruz 公司的浓缩型山羊抗人 MTA1 多克隆抗体(工作浓度 1:200)以及福州迈新公司的即用型鼠抗人 c-erbB-2 单克隆抗体和鼠抗人 E-cadherin 单克隆抗体及即用型 SP 超敏试剂盒,严格按 SP 法步骤操作。用 PBS 液代替一抗作为阴性对照,已知阳性标本作阳性对照。

1.4 免疫组织化学染色 采用 SP 法,常规脱蜡至水化,以枸橼酸盐缓冲液微波炉抗原修复法修复抗原,其他步骤均严格按照说明书操作。

1.5 结果判断 c-erbB-2 阳性染色主要定位在细胞膜,部分细胞胞浆也有阳性表达,呈棕黄色颗粒状,见图 1;MTA1 蛋白主要在细胞核表达,部分细胞胞浆也呈阳性反应,呈棕黄色颗粒状,见图 2;E-cadherin 阳性部位定位于细胞膜,呈棕黄色颗粒状,见图 3。阳性结果判定具体如下:阳性细胞数量计 0~4 分:无计 0 分, 25%计 1 分, 26%~50%计 2 分, 51%~75%计 3 分, >75%计 4 分。染色强度计 0~3 分:无色计 0 分,浅黄色计 1 分,棕黄色计

2 分,棕褐色计 3 分。将两项指标评分相乘,根据总分分为四级:即 0 分为阴性(-), 1~2 分为弱阳性(+), 3~4 分为阳性(++), 大于 4 分则为强阳性(+++)。

1.6 统计学处理 在 SPSS 10.0 统计软件包上行<sup>2</sup>检验和 Spearman 等级相关分析,  $P < 0.05$  为有显著差异。

## 2 结果

2.1 c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 在贲门癌组织中的表达 见表 1。

2.2 c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 在贲门癌组织中的表达的相关性分析

对 c-erbB-2 与 MTA1 在贲门癌中的表达情况,通过统计学分析结果显示两者的表达密切相关( $\chi^2 = 21.600, P = 0.000$ )。Spearman 等级相关分析提示 c-erbB-2 表达与 MTA1 表达呈正相关( $r_s = 0.276, P < 0.05$ )。

对 MTA1 与 E-cadherin 在贲门癌中的表达情况,经统计学分析结果亦显示其表达密切( $\chi^2 = 8.154, P = 0.004$ ),Spearman 等级相关分析提示 MTA1 表达与 E-cadherin 表达呈负相关( $r_s = -0.293, P < 0.05$ )。

2.3 c-erbB-2/MTA1 联合表达与贲门癌浸润和转移的相关性

在 22 例 c-erbB-2(-)/MTA1(-)的贲门癌标本中,有 7 例浸润至浆膜层(31.8%),5 例发生淋巴结转移(22.7%);而在 26 例 c-erbB-2(+)/MTA1(+)的贲门癌标本中,有 19 例浸润至浆膜层(73.1%),20 例发生淋巴结转移(76.9%)。分别比较两组浸润至浆膜层的阳性率以及淋巴结转移率,

表 1 c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 在贲门癌组织中的表达情况

临床病理特征	例数	阴性(-)	阳性(+)	阳性(++)	阳性(+++)	阳性率(%)	P
浸润深度							
肌层	20	14/9/4	3/2/9	1/4/4	2/5/3	30.0/55.0/80.0	0.018/1.000/0.039
浆膜层	40	15/18/19	15/8/4	6/5/7	4/9/10	62.5/55.0/52.5	
淋巴结转移							
无	27	17/16/6	4/1/8	4/2/8	2/8/5	37.0/40.7/77.8	0.040/0.045/0.020
有	33	12/11/17	14/9/5	3/7/3	4/6/8	63.6/66.7/48.5	
分化程度							
高、中分化腺癌	40	24/22/15	10/6/10	4/4/7	2/8/8	40.0/45.0/62.5	0.016/0.039/0.735
低分化腺癌	19	5/5/8	8/4/3	3/5/3	3/5/5	73.7/73.7/57.9	
组织类型							
贲门癌组织	60	29/27/23	31/33/37	(表达阳性)		51.7/55.0/61.7	0.028/0.001/0.030
癌旁组织	18	14/16/2	4/2/16	(表达阳性)		22.2/11.1/88.9	

表中数据分别代表 c-erbB-2/MTA1/E-cadherin 的例数与结果

均有显著性差异,  $P$  值分别是 0.004 和 0.000。

#### 2.4 MTA1/ E-cadherin 联合表达与贲门癌浸润和转移的相关性

在 22 例 MTA1(-)/ E-cadherin(+) 的贲门癌标本中, 有 10 例浸润至浆膜层(45.5%), 8 例发生淋巴结转移(36.4%); 而在 18 例 MTA1(+)/ E-cadherin(-) 的贲门癌标本中, 有 15 例浸润至浆膜层(83.3%), 16 例发生淋巴结转移(88.9%)。两组浸润至浆膜层的阳性率以及淋巴结转移率相比均有显著性差异,  $P$  值分别是 0.014 和 0.001。

### 3 讨论

恶性肿瘤的浸润转移是导致患者死亡的主要原因, 也是临床治疗的主要难点。因此寻找较好的检测指标判断肿瘤的浸润、转移等生物学特性, 为临床及时提供最佳的治疗方案十分重要。

c-erbB-2 原癌基因也称为 Her-2 或 neu 基因, 该基因表达产物 p185 结构同源生长因子受体(EGFR), 是一种跨膜蛋白, 可接受 EGF 样物质的信息从而刺激细胞增殖。c-erbB-2 基因的过表达与乳腺癌、卵巢癌和胃癌等多种肿瘤的发生、转移及预后密切相关。本研究发现 c-erbB-2 的高表达可能阻止贲门癌癌细胞分化成熟, 并发现 c-erbB-2 的表达与贲门癌的侵袭、转移呈正相关, 说明 c-erbB-2 的高表达增强了贲门癌细胞的浸润和转移能力。

MTA1 (metastasis-associated protein 1) 是一种新近发现的肿瘤转移相关基因, 它与许多恶性肿瘤的浸润转移密切相关, 如乳腺癌、食道癌、肝癌<sup>[1-4]</sup>等。MTA1 促进恶性肿瘤的浸润和转移的确切机制目前还不清楚。MTA1 蛋白能与组蛋白去乙酰化酶(HDACs) 结合, 募集 HDACs 到目标基因的启动子区域, 通过去除组蛋白的乙酰基来重塑染色质结构, 使其变得更加紧密而不利于转录<sup>[3]</sup>, MTA1 或许可以通过此种功能直接或者间接作用于某些抑制肿瘤浸润转移的基因, 下调其转录。Hofer 等<sup>[4]</sup>的研究发现 MTA1 可以显著改变细胞角蛋白丝系统的组装及细胞骨架蛋白的定位, 并使细胞获得更具侵袭性和转移性的表型。MTA1 可能通过以上这些途径实现其促进肿瘤浸润转移的目的。本实验发现 MTA1 的高表达能促进贲门癌的淋巴结转移, 亦可能阻碍贲门癌细胞分化。但本研究发现 MTA1 阳性率与癌浸润深度无显著性差异, 这与一些学者的研究报道不一致, 可能因本实验采用免疫组织化学染色来研究 MTA1 蛋白的表达, 而某些学者为 mRNA 水平的研究, 研究方法的差异可能导致

结果不一致。

E-cadherin (上皮细胞钙粘素) 是钙粘素家族中的一员, 它主要分布于各种上皮细胞中。它通过胞浆连环素与细胞骨架蛋白相连, 是介导细胞之间以及细胞与细胞外基质粘附的主要分子之一。近年来研究认为 E-cadherin 粘附功能的丧失是肿瘤细胞获得高侵袭性的关键<sup>[5-7]</sup>。本实验亦证实了这一观点, 发现 E-cadherin 表达减少会明显促进贲门癌的浸润、转移。

通过对上述三种蛋白之间的相关性进行分析, 发现在贲门癌组织中, c-erbB-2 与 MTA1 的表达呈正相关, 而 MTA1 与 E-cadherin 的表达则呈负相关。这表明, 在贲门癌的浸润转移过程中, c-erbB-2 与 MTA1 的高表达及 E-cadherin 的表达减少可能起着重要的作用。c-erbB-2 与 MTA1 或 MTA1 与 E-cadherin 之间存在着某种内在联系, 使它们相互协调作用, 导致肿瘤的浸润与转移。因此, 联合检测 c-erbB-2/ MTA1 和/或 MTA1/ E-cadherin 可以较客观准确地作为判断贲门癌浸润和转移的生物学指标, 为贲门癌的治疗及预后提供依据。

(本文图见第 70 页)

#### 参考文献:

- [1] Toh Y, Ohga T, Endo K, Adachi E, Kusumoto H, Haraguchi M, Okamura T, Nicolson GL. Expression of the metastasis-associated MTA1 protein and its relationship to deacetylation of the histone H4 in esophageal squamous cell carcinomas. [J] Int J Cancer, 2004, 110(3): 362-367.
- [2] Moon WS, Chang K, Tarnawski AS. Overexpression of metastatic tumor antigen 1 in hepatocellular carcinoma: Relationship to vascular invasion and estrogen receptor-alpha [J]. Hum Pathol, 2004, 35(4): 424-429.
- [3] Kumar R, Wang RA, Bagheri-Yarmand R. Emerging roles of MTA family members in human cancers [J]. Semin Oncol, 2003, 30 (5 Suppl 16): 30-37.
- [4] Hofer MD, Menke A, Genze F, et al. Expression of MTA1 promotes motility and invasiveness of PANC-1 pancreatic carcinoma cells [J]. Br J Cancer, 2004, 90 (2): 455-462.
- [5] Shiozaki H, Oka H, Inoue M, Tamura S, Monden M. E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells [J]. Cancer, 1996, 77(8 Suppl): 1605-1613.
- [6] Siitonen SM, Kononen JT, Helin HJ, et al. Reduced E-cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer [J]. Am J Clin Pathol, 1996, 105(4): 394-402.
- [7] Richmond PJM, Karayiannakis AJ, Nagafuchi A. Aberrant E-cadherin and alpha-catenin expression in prostate cancer: correlation with patient survival [J]. Cancer Res, 1997, 57 (15): 3189-3193.

[编辑:张麟]

### 贲门癌中 c-erbB-2、MTA1 及 E-cadherin 的表达

(正文见 17 页)

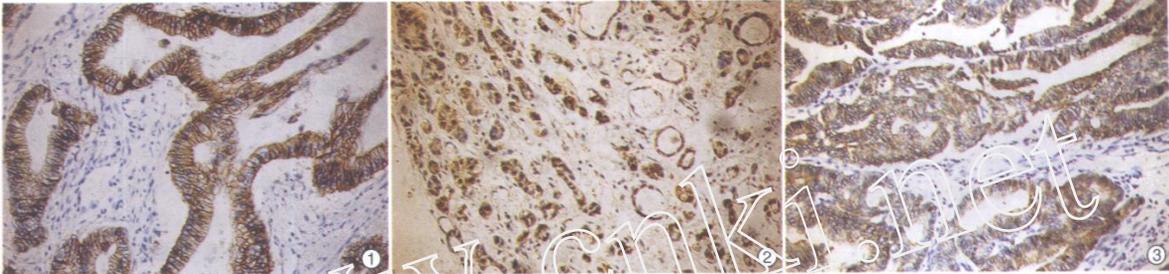


图 1 贲门癌细胞 c-erbB-2 表达阳性, c-erbB-2 蛋白表达于细胞膜及细胞浆 (SP × 200)  
 图 2 贲门癌细胞 MTA1 表达阳性, MTA1 蛋白表达于细胞核及细胞浆 (SP × 200)  
 图 3 部分贲门癌细胞 E-cadherin 表达阳性, E-cadherin 蛋白表达于细胞膜 (SP × 200)

### survivin、VEGF 在非小细胞肺癌中的表达 及相关性研究

(正文见 5 页)

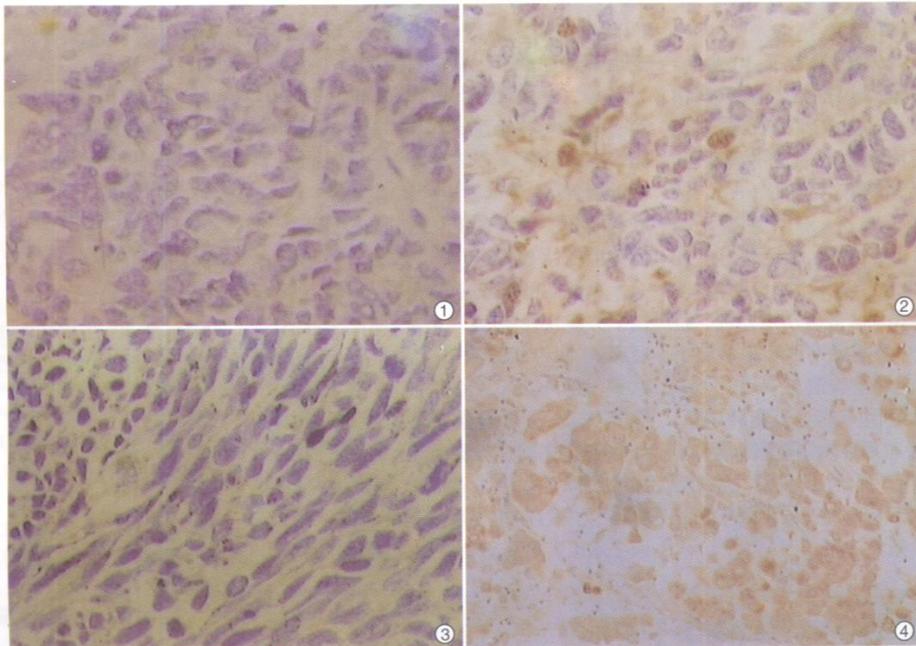


图 1 survivin 在肺癌组织中表达阴性(SP × 400) 图 2 survivin 在肺癌组织中表达阳性(SP × 400)  
 图 3 VEGF 在肺癌组织中表达阴性(SP × 400) 图 4 VEGF 在肺癌组织中表达阳性(SP × 400)