

N-cadherin、MMP-9 在直肠癌中表达的临床意义

杨 猛¹, 刘 霞², 赵恭华², 王 跃², 贾振庚³

Studies on the Clinical Significance of N-cadherin、MMP-9 in Rectal Cancer

YANG Meng¹, LIU Xia², ZHAO Gong-hua², WANG Yue², JIA Zhen-geng³

1. China-Japan Friendship Institute of Clinical Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Science Peking Union Medical College, Beijing 100029, China; 2. Department of Pathology, China-Japan Friendship Hospital, 3. Department of General Surgery

Abstract: Objective Studies on the clinical significance of N-cadherin、MMP-9 in Rectal Cancer. Methods

The expression of N-cadherin、MMP-9 of 80 cases of rectal cancer were studied with immunohistochemical two steps technique. Results (1) The expressive rate of N-cadherin of Rectal Cancer was 41.25%. The expression of A-B grade and C-D grade were 28.9% and 57.1% respectively ($P < 0.05$). The expression of lymph node metastasis and no lymph node metastasis were 58.6% and 31.4% respectively ($P < 0.05$); The expression of liver metastasis and no liver metastasis were 69.2% and 35.8% respectively ($P < 0.05$). (2) The expressive rate of MMP-9 of Rectal Cancer was 60%. The expression of A-B grade and C-D grade were 40% and 85.7% respectively ($P < 0.01$); The expression of lymph node metastasis and no lymph node metastasis were 82.8% and 47.1% respectively; The expression of liver metastasis and no liver metastasis were 84.6% and 55.2% respectively ($P < 0.05$). (3) The mean survival time and 5-year survival rate in cases with positive N-cadherin and MMP-9 expression were significantly shorter than that of cases with negative expression. Conclusion The expression of N-cadherin、MMP-9 was closely related to the rectal cancer, and would be a valuable prognostic marker.

Key words: Rectal cancer; N-cadherin; MMP-9; Immunohistochemistry; Prognosis

摘 要:目的 探讨 N-钙黏附素(N-cadherin)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)在直肠癌中表达的临床意义。方法 采用免疫组织化学两步法对 80 例直肠癌组织中的 N-cadherin、MMP-9 表达进行检测。结果 (1) N-cadherin 在直肠癌组织中的阳性表达率为 41.25%, 其中 A、B 期患者和 C、D 期患者分别为 28.9% 和 57.1% ($P < 0.05$); 淋巴结转移组和无淋巴结转移组分别为 58.6% 和 31.4% ($P < 0.05$); 肝转移组和无肝转移组阳性表达率分别为 69.2%、35.8% ($P < 0.05$)。 (2) MMP-9 在直肠癌组织中的阳性表达率为 60%, 其中 A、B 期患者和 C、D 期患者阳性表达率分别为 40%、85.7% ($P < 0.01$); 淋巴结转移组和无淋巴结转移组阳性表达分别为 82.8%、47.1% ($P < 0.01$), 发生肝转移组和无肝转移组阳性表达率分别为 84.6%、55.2% ($P < 0.05$)。 (3) Kaplan-Meier 分析, N-cadherin、MMP-9 阳性表达者的生存时间和 5 年生存率明显低于 N-cadherin、MMP-9 阴性表达者 ($P < 0.01$)。结论 N-cadherin、MMP-9 的表达与直肠癌关系密切, 对判断其预后可能具有重要意义。

关键词: 直肠癌; N-cadherin; MMP-9; 免疫组织化学; 预后

中图分类号: R735.3⁺7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)02-0105-03

0 引言

近来研究发现^[1], 肿瘤细胞的浸润和转移包括肿瘤细胞通过黏附作用脱离原发灶, 移动到基底膜, 降解细胞外基质, 突破组织屏障结构, 局部浸润或远距离及全身组织扩散, 其中钙黏附素(Cadherin)和基质金属蛋白酶(MMPs, matrix metalloproteinases)在肿瘤细胞的黏附和降解细胞外基质(ECM)中分别发挥重要作用。本文采用免疫组织化学方法对

中日友好医院 1995 年 1 月~1998 年 12 月间随访资料齐全的 80 例原发性直肠癌标本进行了 N-cadherin、MMP-9 的检测, 并分析其与预后的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

采用中日友好医院 1995 年 1 月~1998 年 12 月间手术切除的 80 例资料齐全的直肠癌石蜡包埋标本, 其中男 50 例, 女 30 例, 年龄 23~82 岁, 中位年龄 56 岁, 术前均未行放化疗。病理类型包括高分化腺癌 3 例, 中分化腺癌 55 例, 低分化腺癌 9 例, 黏液腺癌 11 例, 印戒细胞癌 2 例。TNM 分期按

收稿日期: 2004-04-08; 修回日期: 2004-11-08

作者单位: 1. 100029 北京, 中国协和医科大学、中国医学科学院、中日友好临床医学研究所; 2. 卫生部中日友好医院病理科; 3. 普外科

Dukes 标准 ,A 期 27 例 ,B 期 18 例 ,C 期 19 例 ,D 期 16 例。淋巴结转移:阳性 29 例,阴性 51 例。术中或术后发现肝转移 13 例。术后随访资料齐全,生存期 5 年 38 例, <5 年 42 例。

1.2 标本

取原石蜡包埋组织,重新切成 4μm 切片。

1.3 试剂

鼠抗人 N-cadherin、MMP-9 单克隆抗体, Polymer Helper (即用型), Poly peroxidase 3/anti 3/mouse / rabbit IgG (即用型), DAB 显色剂购自北京中山生物技术有限公司,为美国 ZYMED 公司产品。

1.4 方法

免疫组化染色采用两步法,步骤如下:4μm 切片脱蜡至水,3%过氧化氢(pH 7.4) PBS 溶液室温孵育 10min,微波抗原修复 10min (或不用),室温冷却后,滴加一抗,37℃ 孵育 1~2h 或 4℃ 过夜,滴加 Polymer helper,37℃ 孵育 20min,滴加 Poly peroxidase-anti-mouse IgG,37℃ 孵育 30min,DAB 显色 5~10min,苏木素复染后,脱水透明封片,光镜下观察。用已知阳性切片做阳性对照,PBS 缓冲液代替一抗做阴性对照。

1.5 结果判断

由两位有经验的研究者,在不了解临床病理资料的情况下,分别做出判断。N-cadherin 表达于细胞浆和细胞膜,MMP-9 表达于细胞浆,镜下观察肿瘤细胞浆和膜出现棕黄色颗粒为阳性。每张切片在阳性表达较高区随机选择 10 个高倍镜视野 (×400),连续计数至少 1000 个肿瘤细胞,计算阳性细胞的百分比率:阳性细胞数 < 10% 或无阳性着色为阴性(-),阳性细胞数 10% 为阳性(+)

1.6 统计学分析

数据的统计及分析用 ² 检验。生存过程描述采用 Kaplan-Meier 生存曲线法,并进行 Log-rank 检验。资料用 SPSS10.0 软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 N-cadherin 表达与直肠癌各病理指标的关系

本组 80 例直肠癌中 N-cadherin 阳性表达者 33 例,占 41.25%。正常直肠上皮细胞为阴性。在 Dukes 分期 A、B 期患者和 C、D 期患者阳性表达率分别为 28.9%、57.1%,两者比较有显著性差异 (P < 0.05)。淋巴结转移组和无淋巴结转移组阳性表达率分别为 58.6%、31.4%,两者比较有显著性差异 (P < 0.05)。肝转移组和无肝转移组阳性表达率分别为 69.2%、35.8%,两者比较有显著性差异 (P < 0.05)。N-cadherin 阳性表达率与病人的性别、年

龄、肿瘤大小无关,见表 1,图 1。

2.2 MMP-9 的表达与直肠癌各病理指标的关系

本组 80 例直肠癌中 MMP-9 阳性表达者 48 例,占 60%,正常直肠上皮为阴性。在 Dukes 分期 A、B 期患者和 C、D 期患者阳性表达率分别为 40%、85.7%,两者比较差异极有显著性 (P < 0.01)。淋巴结转移组和无淋巴结转移组阳性表达率分别为 82.8%、47.1%,两者比较差异有显著性 (P < 0.01)。发生肝转移组和无肝转移组阳性表达率分别为 84.6%、55.2%,两者比较差异有显著性 (P < 0.05)。MMP-9 阳性表达率与性别、年龄、肿瘤大小无关,见表 1,图 2。

2.3 N-cadherin、MMP-9 表达与预后的关系

N-cadherin 阴性表达 47 例,平均生存期 62 个月,阳性表达 33 例,平均生存期为 42 月,阴性组 5 年生存率 (59.6%) 高于阳性表达病例 (30.3%),两组比较差异极有显著性 (P < 0.01)。MMP-9 阴性表达 32 例,平均生存期 76.2 个月,阳性表达 48 例,平均生存期为 39 个月,阴性组 5 年生存率 (75%) 显著高于阳性组 (29.1%), (P < 0.01)。见表 1,图 3、4。

表 1 80 例直肠癌患者临床病理指标与 N-cadherin 和 MMP-9 表达的关系

因素	例数	N-cadherin 表达			MMP-9 表达		P	
		阳性	阴性	P	阳性	阴性		
性别	男	50	23	27	>0.05	30	20	>0.05
	女	30	10	20		18	12	
年龄(岁)	>56	43	16	27	>0.05	25	18	>0.05
	<56	37	17	20		23	14	
淋巴结转移	N+	29	17	12	<0.05	24	5	<0.01
	N-	51	16	35		24	27	
肿瘤大小	>4cm	40	19	21	>0.05	26	14	>0.05
	<4cm	40	14	26		22	18	
肝脏转移	+	13	9	4	<0.05	11	2	<0.05
	-	67	24	43		37	30	
Dukes 分期	A B	45	13	32	<0.05	18	27	<0.01
	C D	35	20	15		30	5	
生存期	<5 年	42	23	19	<0.01	34	8	<0.01
	>5 年	38	10	28		14	24	

3 讨论

3.1 钙黏附素为一种细胞黏附分子,是钙依赖性跨膜糖蛋白,在上皮细胞间的黏附上起重要作用。钙黏附素有几种亚型,如 N-cadherin (神经型), E-Cadherin (上皮型), P-Cadherin (胎盘型) 等^[2]。已有许多研究表明^[3,4],上皮肿瘤的发生、发展与 E-Cadherin 的低表达程度密切相关,肿瘤恶性程度越高, E-Cadherin 低表达的异常比率越高。N-cadherin 常见于神经外胚层和中胚层,最近研究表明^[5-10], N-cadherin 的反常高表达可促进肿瘤的浸润和转移,其促使癌细胞不仅从癌组织块上脱离,而且促使癌

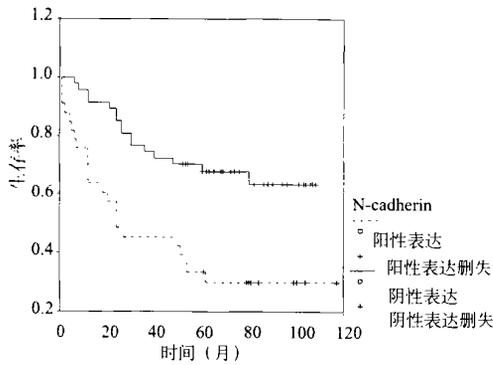


图 3 直肠癌组织中 N-cadherin 阳性和阴性表达的 Kaplan-Meier 生存曲线

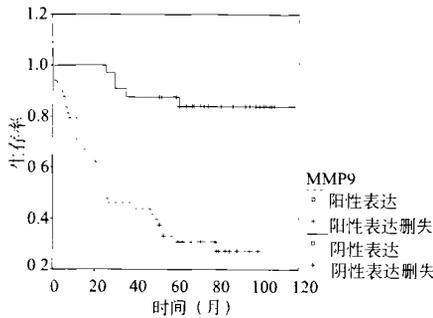


图 4 直肠癌组织中 MMP-9 阳性和阴性表达的 Kaplan-Meier 生存曲线

细胞与内皮或基质成分黏附,与 E-cadherin 的作用恰好相反,并且其作用比 E-cadherin 低表达更为明显和直接。N-cadherin 和 E-cadherin 都属经典钙黏附素,在介导细胞-细胞之间的黏附时作用机制是一样的,但在肿瘤浸润、转移上的作用却截然相反,具体机制还不清楚,有待于进一步研究。N-cadherin 与直肠癌的关系国内外还未见相关报道。本研究结果提示,80 例直肠癌中 N-cadherin 阳性表达率为 41.25%; N-cadherin 阳性表达率在 C、D 期(57.1%)显著高于 A、B 期(28.9%);淋巴结转移组(58.6%)显著高于无淋巴结转移组(31.4%);肝转移组(69.2%)显著高于无肝转移组(35.8%)。表明 N-cadherin 高表达者,直肠癌细胞的浸润性和转移性均增高,我们认为 N-cadherin 表达增高可增强细胞黏附性从而促进浸润和转移。

3.2 基质金属蛋白酶是一组结构中含 Zn²⁺ 和 Ca²⁺ 的蛋白水解酶家族, MMP-9 的主要底物均为 I 型胶原,故也称为 I 型胶原酶(明胶酶)。I 型胶原为基底膜中结构蛋白,对维持基底膜的完整性至关重要。由于 I 型胶原独特的螺旋结构,因此大部分蛋白酶对其无降解作用,但 MMP-9 可以降解 I 型胶原和层黏连蛋白等成分,破坏基底膜的完整性^[11],这是肿瘤浸润和转移的先决条件。本组结果提示,80 例直肠癌中 MMP-9 阳性表达率为 60%,其在 C、D 期(85.7%)显著高于 A、B 期(40%);淋巴结转移组(82.8%)显著高于无淋巴结

转移组(47.1%);肝转移组(84.6%)显著高于无肝转移组(55.2%),我们认为 MMP-9 可作为直肠癌浸润转移重要的分子标记物。

3.3 有研究认为^[5],N-cadherin 阳性的乳腺癌细胞对 MMP-9 活性的增高非常敏感,这意味着 MMP-9 可介导 N-cadherin 的浸润作用,二者有很好的相关性。研究表明^[1]肿瘤侵袭和转移与细胞黏附和细胞外基质的降解有关,本组研究也证实直肠癌组织中 N-cadherin 和 MMP-9 的表达与直肠癌的浸润和转移有关,提示直肠癌侵袭进展中的黏附作用和细胞外基质降解作用是 N-cadherin 和 MMP-9 共同作用的结果。

3.4 我们的研究发现,N-cadherin 和 MMP-9 阳性表达病例的平均生存时间和 5 年生存率均明显低于阴性表达的病例,提示 N-cadherin 和 MMP-9 阳性表达者预后不良,可作为独立的预后指标。

(本文图见封 2)

参考文献:

- [1] Lauwaet T, Oliveira MJ, Mareel M, et al. Molecular mechanisms of invasion by cancer cells, leukocytes and microorganisms[J]. Microbes and Infection, 2000, 2(8): 923-931.
- [2] Yap AS, Niesen CM, Gumbiner BM. The juxtamembrane region of the cadherin cytoplasmic tail support lateral clustering, adhesive strengthening, and interaction with P120^{cas} [J]. J Cell Biol, 1998, 141(3): 779-789.
- [3] Dorudi S, Hanby AM, Poulson R, et al. Level of expression of E-cadherin mRNA in colorectal cancer correlated with clinical outcome[J]. Br J Cancer, 1995, 71(3): 614-616.
- [4] Van der Wurff AA, Vermeulen SJ, et al. Pattern of alpha and beta-catenin and E-cadherin expression in colorectal adenomas and carcinomas[J]. J Pathol, 1997, 182(3): 325-330.
- [5] Hanza RB, Philips GR, Qiao RF, et al. Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion and metastasis[J]. J Cell Biol, 2000, 148(4): 779-790.
- [6] Li G, Satyamoorthy K, Herlyn M. N-cadherin-mediated intercellular interactions promote survival and migration of melanoma cells[J]. Cancer Res, 2001, 61(9): 3819-3825.
- [7] Islam S, Carey TE, Wolf GT, et al. Expression of N-cadherin by human squamous carcinoma cells induces a scattered fibroblastic phenotype with disrupted cell-cell adhesion[J]. J Cell Biol, 1996, 135(6Pt1): 1643-1654.
- [8] Tran NL, Nagle RB, Cress AE, et al. N-cadherin expression in human prostate carcinoma cell lines. An epithelial-mesenchymal transformation mediating adhesion with stromal cells [J]. Am J Pathol, 1999, 155(3): 787-798.
- [9] Li G, Herlyn M. Dynamics of intercellular communication during melanoma development [J]. Mol Med Today, 2000, 6(4): 163-169.
- [10] Tomita K, van Bokhoven A, van Leenders GJ, et al. Cadherin switching in human prostate cancer progression [J]. Cancer Res, 2000, 60(3): 3650-3654.
- [11] Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis[J]. J Pathol, 1999, 189(3): 300-308.

[编辑: 刘红武; 校对: 杨 卉]

环氧化酶-2 及 COX-2mRNA 在脑膜瘤中的表达及意义

(正文见 65 页)

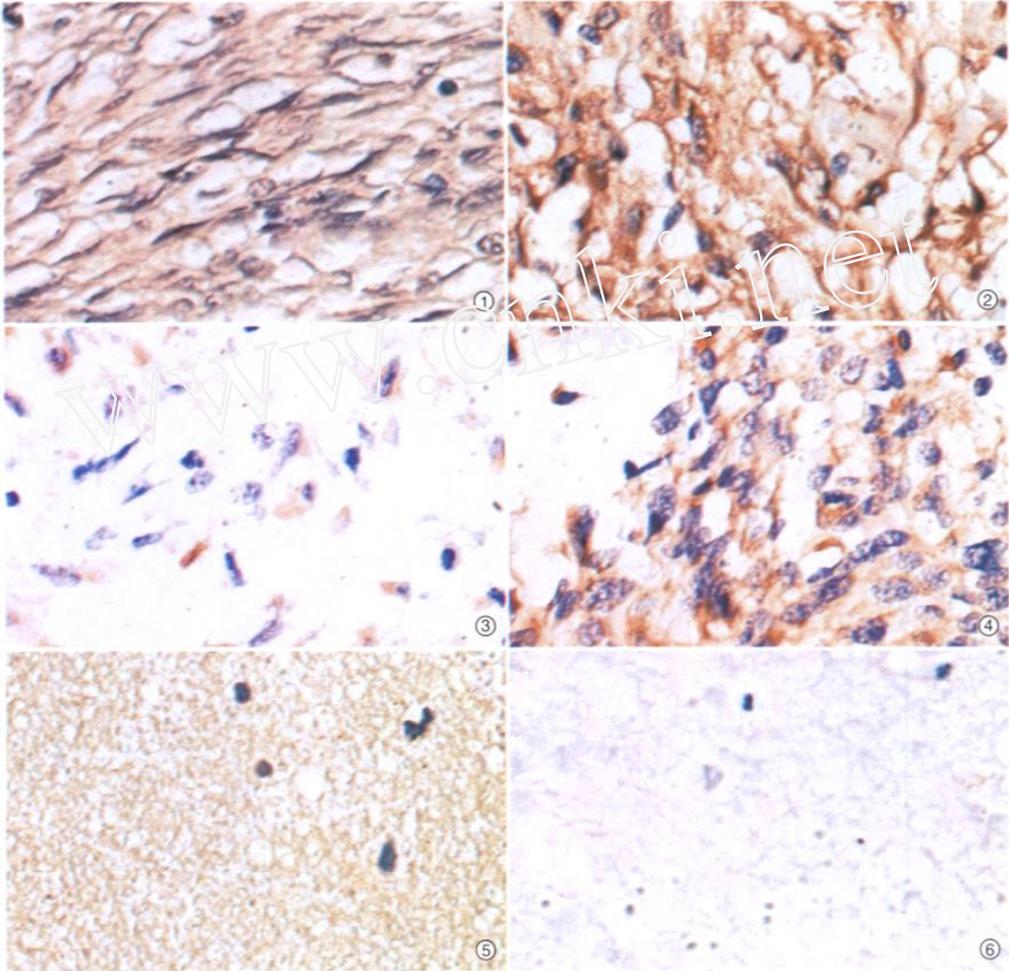


图1 COX-2 蛋白在良性脑膜瘤中的阳性表达
图3 COX-2mRNA 在良性脑膜瘤中的阳性表达
图5 COX-2 蛋白在对照组中的阴性表达

图2 COX-2 蛋白在恶性脑膜瘤中的阳性表达
图4 COX-2mRNA 在恶性脑膜瘤中的阳性表达
图6 COX-2mRNA 在对照组中的阴性表达

N-cadherin、MMP-9 在直肠癌中表达的临床意义

(正文见 105 页)

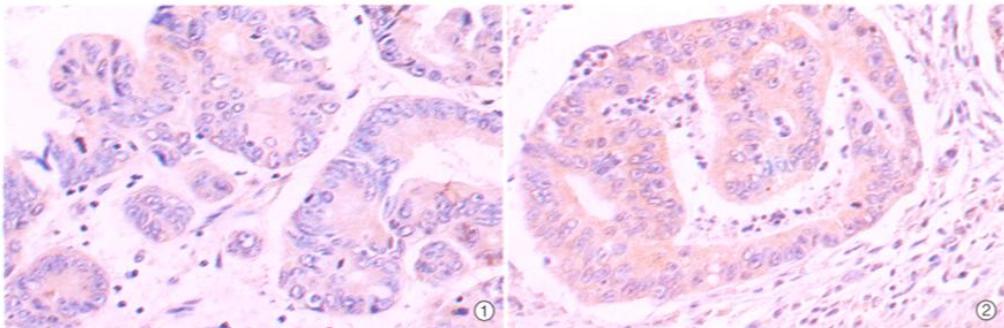


图1 N-cadherin 在直肠癌细胞浆中的表达 ×200

图2 MMP-9 在直肠癌细胞浆中的表达 ×200