

E-cd/ -cat 复合体在膀胱癌中的表达及临床意义

周 岩¹, 陶秀林¹, 李先承², 宋希双²

E-cadherin/ -catenin Complex Expression in Human Bladder Carcinoma and Its Clinical

Significance

ZHOU Yan¹, TAO Xiu -lin¹, LI Xian -cheng², SONG Xi -shuang²

1. Department of Urology, Taizhou Municipal Hospital, Taizhou 318000, China; 2. Department of Urology, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University

Abstract: Objective To elucidate the expression of E-cadherin/ -catenin (E-cd/ -cat) complex and its clinical significance in human bladder carcinoma. **Methods** The immunohistochemical staining with streptavidin peroxidase conjugated method (S-P) was used to examine the expression of E-cd/ -cat complex in 72 cases of human bladder carcinoma and 5 cases of normal bladder mucosa. **Results** E-cd/ -cat complex was expressed in a normal membranous pattern in all normal bladder mucosa specimens. The abnormal expression of E-cd/ -cat was found in 41/72 (56.9%) , 31/72 (43.1%) tumors, respectively. A highly significant correlation was observed between expression of E-cd and -cat ($P < 0.01$). There was a significant correlation between the abnormal expression of E-cd/ -cat complex and WHO grade and TNM stage ($P < 0.05$). The abnormal expression of -cat was correlated with poor survival of all tumors ($P < 0.01$). **Conclusion** The abnormal expression of E-cd/ -cat complex plays an important role in the differentiation and malignant progression of human bladder carcinoma. -cat may be a valuable prognostic marker of survival.

Keywords: E-cadherin; Catenin; Bladder carcinoma; Prognostic marker

摘要:目的 探讨上皮钙黏蛋白/ -连接素(E-cd/ -cat)复合体在膀胱癌中的表达及临床意义。方法应用免疫组织化学法(S-P法)检测72例膀胱癌和5例正常膀胱黏膜石蜡包埋标本中E-cd/ -cat复合体的表达情况。结果 所有5例正常膀胱黏膜E-cd/ -cat复合体正常表达。E-cd、-cat异常表达率分别为41/72(56.9%)、31/72(43.1%)。E-cd和-cat表达具有显著相关性($P < 0.01$)。E-cd/ -cat复合体异常表达率与膀胱癌的病理分级和临床分期密切相关($P < 0.05$)。-cat异常表达与膀胱癌的预后密切相关($P < 0.01$)。结论 E-cd/ -cat复合体的异常表达与膀胱癌的分化和侵袭程度密切相关。-cat是判断膀胱癌预后的有价值指标。

关键词: 上皮钙黏蛋白; 连接素; 膀胱癌; 预后指标

中图分类号: R737.14 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)07-0398-02

0 引言

细胞黏附分子在肿瘤侵袭、转移中的作用越来越引起人们的重视。E-cd/ -cat复合体被认为是细胞间黏附和上皮形态完整性维持的重要媒介,它的改变可能导致细胞分化的缺失而促使癌细胞的侵袭及转移。大量的临床病理研究表明E-cd表达下调与多种肿瘤的分化和侵袭密切相关。本研究采用免疫组化法(S-P)观察E-cd/ -cat复合体在72例膀胱癌组织中的表达情况,并探讨E-cd/ -cat复合体表达在膀胱癌发生中的作用及其对膀胱癌患者生存的预后价值。

1 资料和方法

1.1 临床资料 72例标本取自大连医科大学附属

第一医院泌尿外科1994~2000年存档的原发初发膀胱移行细胞癌标本。男61例,女11例,年龄31~85岁,平均61岁。行TURBT8例,行膀胱部分切除56例,行膀胱全切8例,所有病例术前均未经放疗及化疗。肿瘤病理分级采用WHO三级法,其中G₁期21例,G₂期25例,G₃期26例。临床分期按UICC-TNM法,表浅性膀胱癌(Tis~T₁期)26例,浸润性膀胱癌(T₂~T₄期)46例。其中术后随访68例,随访满5年40例。转移16例,死亡15例,复发41例。

1.2 主要试剂 鼠抗人E-cd(HECD-1)单克隆抗体,为Maxim公司产品。羊抗人-cat多克隆抗体,为Santacruz公司产品。以上产品均为即用型。S-P试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。

1.3 实验方法 免疫组化法采用S-P法。所有石蜡包埋标本均作约4μm厚的连续组织切片3张,1

收稿日期:2003-06-26; 修回日期:2003-10-27

作者单位:1.318000 浙江台州市立医院泌尿外科;2. 大连医科大学附属第一医院泌尿外科

张做 HE 染色,以核对诊断,另 2 张做免疫组化染色。取 5 例正常膀胱黏膜作阳性对照组。所有标本均在同一条件下严格按 S-P 法实验操作步骤进行。用已知阳性胃黏膜组织做阳性对照,PBS 代替一抗做阴性对照。

1.4 结果判定^[1] 细胞膜呈棕黄色颗粒为阳性细胞。染色结果分为:(1) 正常表达:肿瘤组织染色方式及强度与正常膀胱黏膜染色相同且切片内阳性细胞数 90%。(2) 异常染色:包括异质性表达(细胞膜染色强弱不等,染色阴阳性细胞混杂,且切片阳性细胞数 <90%);阴性表达(细胞膜染色缺失);胞浆胞核染色。

1.5 统计方法 采用 ² 检验及 Spearman 相关分析。生存分析应用 logrank 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 E-cd/ -cat 复合体在膀胱癌中表达情况 5 例正常膀胱移行上皮细胞 E-cd、-cat 表达均呈阳性膜染色,定位于细胞间连接处,上皮细胞与基底膜交界处未见染色。E-cd 表达强度较 -cat 表达弱。72 例膀胱癌中 E-cd、-cat 异常表达率分别为 41/72 (56.9%)、31/72 (43.1%)。异常表达以异质性表达为主。本组尚未见到典型的胞浆染色及胞核染色情况。两种蛋白一致性染色为 54/72 (75%),E-cd 和 -cat 表达之间存在明显的相关性($P < 0.01$)。

2.2 E-cd/ -cat 复合体表达与膀胱癌的分级、分期关系 E-cd/ -cat 复合体各组成成分的异常表达率在膀胱癌各组病理分级间比较差异有显著性($P < 0.01$),在膀胱癌的临床分期分组间比较差异有显著性($P < 0.05$),其异常表达率随膀胱癌的病理分级、临床分期增加而升高,见表 1。

表 1 72 例膀胱癌中 E-cd/ -cat 复合体异常表达与膀胱癌的分级、分期的关系

临床病理	例数 (n=72)	E-cd 表达 异常率(%)	-cat 表达 异常率(%)
病理分级			
G ₁	21	6 (28.6)	3 (14.3)
G ₂	25	14 (56.0)	9 (36.0)
G ₃	26	21 (80.8)	19 (73.1)
临床分期			
Tis ~ T ₁	26	10 (38.5)	6 (23.1)
T ₂ ~ T ₄	46	31 (67.4)	25 (54.3)

2.3 E-cd/ -cat 复合体表达与膀胱癌生存预后的关系 本组随访 68 例,转移 16 例,死亡 15 例。生存分析显示:在所有膀胱癌患者中,-cat 正常表达组 5 年累计生存率为 78.87%,-cat 异常表达组 5 年累计生存率为 47.42%,两组生存时间比较差异有

显著性($P < 0.01$);E-cd 正常表达组与异常表达组生存时间比较未见差异有显著性($P > 0.05$)。在 43 例浸润性膀胱癌中,未见 E-cd/ -cat 复合体异常表达与膀胱癌术后生存预后具有相关性($P > 0.05$)。因表浅性膀胱癌组无 1 例死亡,故未对其进行生存分析,见图 1、2。

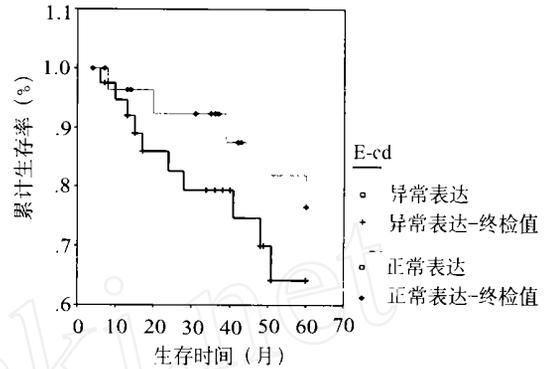


图 1 E-cd 表达与所有膀胱癌生存率的关系

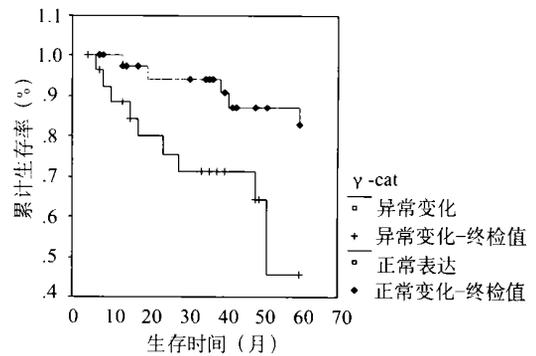


图 2 -cat 表达与所有膀胱癌生存率的关系

3 讨论

上皮钙黏蛋白(E-cd)是一种介导同种上皮细胞间黏附的钙依赖性跨膜糖蛋白,主要分布于同种上皮侧面的细胞连接处,是促进上皮细胞黏附,维持上皮分化和完整性的重要分子。E-cd 与其胞内蛋白-连接素(Cat)(包括 -cat、-cat、-cat)形成上皮钙黏蛋白/连接素复合体即 E-cd/cat 复合体,该复合体对上皮细胞间黏附功能的维持是十分重要的^[2]。

本研究显示,E-cd/ -cat 复合体在正常膀胱上皮中各组成成分表达均在细胞连接处呈膜性强表达,这反映了这类黏附分子正常细胞定位。E-cd/ -cat 复合体异常表达在膀胱癌中占 62.5%,其中以异质性表达为主,这反映了肿瘤发展过程中 E-cd/ -cat 复合体表达的不稳定性。另外,在膀胱癌中 E-cd 与 -cat 表达之间具有明显的相关性,两种蛋白表达的一致性为 75.0%,可以推测 E-cd/ -cat 复合体在膀胱癌的发生机制中可能起协同作用。其中,E-cd 与 -cat 同时正常表达率为 27/72 (37.5%),而肿瘤 (下转第 405 页)

酶本身不一定具有抑制凋亡作用,其对凋亡的调节可能是通过端粒长度的变化所致,因为端粒长度的维持,染色体的稳定是凋亡的一个抑制因素,而端粒的缩短可触发细胞凋亡,另外凋亡调节基因如 bcl-2 对端粒酶活性也有重要调节作用。孕激素的作用则相反,能增加细胞凋亡。由于孕激素不改变细胞端粒酶活性,故其对细胞凋亡的作用可能是通过其他途径。

本组资料还观察到,雌激素作用于 HHUA 细胞 48 小时后,端粒酶活性显著升高,与对照比较差异有显著性,但此后端粒酶活性又逐渐下降,原因可能是由于雌激素存在半衰期所致。这种时效性对今后体内实验中的给药间隔、给药剂量具有指导意义。

目前,抑制端粒酶活性已成为肿瘤治疗的热点,如维甲酸、干扰素^[7]、转染野生型 p53^[8],究其机制均是通过不同方式抑制了 hTERT 表达。本实验采用雌激素直接增加 hTERT 的表达,提示抗雌激素疗法确实有道理可循。抗雌激素疗法特异性强、简便易行,在肿瘤治疗中具有非常重要意义,具有广阔应用前景。

参考文献:

- [1] Duan W, Ran gan A, Vanka yalapati H, et al. Desi gnands ynthesis offluoro quinophenoxazines that interact with human telomeric G - quadruplexes and their biolo gicaleffects[J]. Mol Cancer Ther, 2001, 1 (2) :103-120.
- [2] Halling KC, Kin gw, Sokolova IA, et al. A com parison of BTA stat, hemo globin distick, telomerase and V ysis UroV ysonassa ys for the detection of urothelial carcinoma in urine[J]. JUrol, 2002, 167 (5) :2001-2006.
- [3] Mishra S, Tri pathi S, Misra K. S ynthesis of a novel anticancer prodr u gdesi gned totar gettelomerase sequence[J]. Nucleic Acids Res Suppl, 2002, 12 (2) :277-278.
- [4] Mckay RA, Koba yashi D, Ya jima T, et al. Characterization of a po tent and specific class of antisense oligonucleotide inhibitor of human protein kinase C -alpha expression[J]. JBiol Chem, 1999, 274 (24) :1715-1722.
- [5] Larsen CJ. Telomerase and cancer: a therapeutic breakthrough for acul -de sac[J]. Bull Cancer, 2000, 87 (4) :305-306.
- [6] Feng RH, Zhu ZG, Li JF, et al. Inhibition of human telomerase in MKN-45 cell line by antisense TRex pression vector induces cell apoptosis and growth arrest[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8 (3) :436-440.
- [7] Benjamin S, Baran N, Manor H. Interference of telomerase expression in human cells[J]. Mol Cell Biol, 2000, 20 (12) :4224-4237.
- [8] Norrback KF, Hultdin M, Dahlenborg K, et al. Telomerase regulation and telomere dynamics in germinal centers[J]. Eur J Haematol, 2001, 67 (5-6) :309-317.

[编辑: 贺文; 校对: 周永红]

(上接第 399 页)

依然发生,提示 E-cd/-cat 复合体的正常表达不一定完全反映其蛋白功能的真实存在。

体外实验研究显示,E-cd 在膀胱癌发生及侵袭中有重要作用^[3]。E-cd 只与 -cat、-cat 相连不足以改变肿瘤的细胞恶性行为,并提示 -cat 在肿瘤的恶变中作用是十分必要的^[4]。

本研究表明,E-cd/-cat 复合体在人类膀胱癌的异常表达率随膀胱癌病理分级、临床分期的增加而升高,亦即随着膀胱癌的组织分化程度、肿瘤浸润深度的加深 E-cd/-cat 复合体异常表达率递增,亦说明 E-cd/-cat 复合体在膀胱的发生和侵袭机制中起一定的作用。这与 shimazui^[5] 报告的结果相一致。

有研究表明 E-cd 表达与膀胱癌的生存预后相关^[3]。本实验生存分析并未显示 E-cd 表达与膀胱癌生存相关,却显示 -cat 异常表达与膀胱癌的生存预后相关性,这与 syrigos^[6] 的研究结果相同。提示 -cat 有可能成为一新的评价膀胱癌生存预后的指标。并且对 -cat 表达异常的病人需早期积极治疗。

综上所述,E-cd/-cat 复合体表达在膀胱癌的

发生和侵袭转移中起到一定作用。-cat 异常表达反映了膀胱癌的不良预后,可以作为反映膀胱癌生存预后指标。

参考文献:

- [1] Nakanishi K, Kawai T, Torikata C, et al. E -cadherin expression in urothelial carcinoma[J]. Int J Cancer, 1997, 74 (4) :446-449.
- [2] Nagafuchi A, Takeichi M. Cell binding function of E -cadherin is regulated by the cytoplasmic domain[J]. EMBO J, 1988, 7 (12) :3679-3684.
- [3] Fixen UH, Behren J, Sachs M, et al. E -cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells[J]. J Cell Biol, 1991, 113 (1) :173-185.
- [4] Navarro P, Lozano E, Cano A. Expression of E -cadherin is not sufficient to modify tumor morphology and tumorigenic behavior of murine pind carcinoma cells. Possible involvement of Plakoglobin[J]. J Cell Sci, 1993, 105 (4) :923-934.
- [5] Shimazui T, Schalken JT, Girodi LA, et al. Pro gnostic value of cadherin-associated molecules -1, -2, and -catenin and p120cas in bladder tumors[J]. Cancer Res, 1996, 56 (18) :4154-4158.
- [6] Syrigos KN, Harrington K, Waxman J, et al. Altered -catenin expression correlates with poor survival in patients with bladder cancer[J]. JUrol, 1998, 160 (5) :1889-1893.

[编辑: 刘红武; 校对: 周永红]