

## E-cadherin 和 COX-2 蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义

鲁海珍 刘尚梅

**摘要 目的:**研究胃癌及癌旁组织中 E-钙粘附素(E-cadherin)和环氧合酶(cyclooxygenase:COX)-2 的表达,探讨蛋白表达与临床病理指标及与癌旁黏膜表达的关系。**方法:**采用组织芯片及免疫组织化学技术,对胃癌组织 121 例及 118 例和癌旁组织 113 例及 111 例。分别检测 E-cadherin 及 COX-2,并分析二者蛋白表达情况与临床病理指标相关性。**结果:**胃癌 E-cadherin 阳性率为 76.9%(93/121),其表达降低与肿瘤大体分型( $P=0.014$ )、Lauren 分型( $P<0.001$ )、肿瘤分化( $P=0.004$ )及 pTNM 分期( $P=0.024$ )等显著相关,分化差分期晚的肿瘤 E-cadherin 表达要显著低于分化好分期早的肿瘤。癌旁黏膜组织 E-cadherin 均呈阳性表达,与肿瘤无显著相关。COX-2 蛋白阳性率为 38.1%(45/118),其过表达与淋巴结转移相关( $P=0.048$ ),有淋巴结转移的表达率高,与其它病理指标无明显相关性。**结论:**E-cadherin 及 COX-2 分别从肿瘤分化、分期及淋巴结转移等方面预测胃癌患者预后,二者互补,联合应用可做为临床预后判断的参考指标。

**关键词** 胃肿瘤 E-cadherin COX-2

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2013.08.007

### Correlation of E-cadherin and COX-2 expression with clinicopathologic features of gastric adenocarcinoma

Haizhen LU, Shangmei LIU

Correspondence to: Shangmei LIU; E-mail: liu\_shangmei@sina.com

Department of Pathology, Cancer Institute and Hospital of Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100021, China

**Abstract Objective:** This work aimed to evaluate the expressions of E-cadherin and cyclooxygenase-2 (COX-2) in primary gastric carcinoma and adjacent mucosa, and to investigate the correlation between abnormal expression of the said proteins and the clinicopathologic features of gastric adenocarcinoma. **Methods:** Immunohistochemical staining was used to determine the expression of E-cadherin and COX-2 on tissue microarray slices obtained from gastric carcinoma and adjacent mucosa of over 100 cases from the Cancer Institute and Hospital of Chinese Academy of Medical Science between February 2005 and October 2006. **Results:** The positive expressions of E-cadherin and COX-2 were 76.9% (93/121) and 38.1% (45/118), respectively, in gastric carcinoma, whereas E-cadherin expression was 100% in 113 cases with adjacent mucosa. The positive expression of E-cadherin was significantly correlated with clinical characteristics such as gross type ( $P=0.014$ ), differentiation ( $P=0.004$ ), and pTNM stage ( $P=0.024$ ). COX-2 expression was higher in gastric cancer cases with lymph node metastasis than those without, and the result was significantly different ( $P=0.048$ ). **Conclusion:** E-cadherin is a tumor-inhibiting factor and COX-2 is a carcinogen. Positive expression of E-cadherin and negative expression of COX-2 are correlated with better prognosis. E-cadherin and COX-2 may thus be used as potential markers of tumor progression and prognosis.

**Keywords:** gastric tumor, E-cadherin, COX-2

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,预后较差,是全球癌症第二死因<sup>[1]</sup>。肿瘤的发生发展是多基因参与的多步骤过程,其中包括控制细胞增殖的抑癌基因失活和促进细胞增殖的癌基因激活。E-钙粘附素(E-cadherin)是钙离子介导的跨膜糖蛋白家族中一员,其结构和功能异常可导致细胞间粘附能力减弱,在肿瘤形成及进展中发挥重要作用。环氧合酶(cyclooxygenase:COX)-2 是一种诱导型前列腺素合成过程中的限速酶,它将花生四烯酸代谢成各种前列腺素产物,参与维持机体的各种生理和病理功能<sup>[2]</sup>。本

研究通过对胃癌及癌旁组织上述蛋白表达情况的检测,对比肿瘤与癌旁组织及临床病理指标的关系,探讨二者在胃癌诊断及进展预后等方面的作用。

#### 1 材料与方法

##### 1.1 一般资料

选取 2005 年 2 月至 2006 年 10 月中国医学科学院肿瘤医院外科行胃癌根治术手术患者病例 121 例,术前均未行放疗。基本资料:男 96 例(79.3%),女 25 例(20.7%); $\geq 50$  岁 101 例(83.5%), $< 50$  岁 20 例(16.5%);贲门 45 例(37.2%),胃体 28 例(23.1%),胃

窦42例(34.7%),全胃6例(5.0%);肿瘤体积 $\geq 6$  cm 75例(62.0%)。对所有病例进行病理切片复阅,选取肿瘤及癌旁黏膜位点进行组织微阵列制作。由于脱片,最终对121例胃癌及113例癌旁黏膜行E-cadherin,对118例胃癌及111例癌旁行COX-2免疫组织化学检测。

1.2 组织芯片制作

结合原HE切片,选取有代表性的肿瘤、癌旁、远端黏膜等位点在供体蜡块做出标记,对应取材,打入受体蜡块相应孔中,取材钢针内径为0.6 mm,深度3.0 mm。受体蜡块制作完成后,4  $\mu$ m厚度切片,70 $^{\circ}$ C烤片1 h,室温保存,以备免疫组织化学检测。

1.3 免疫组织化学染色

所选抗体均购自福州迈新生物技术公司,均为工作液。E-cadherin为鼠抗人单克隆抗体,克隆号为A42C7; COX-2为兔抗人单克隆抗体,克隆号为SP21。实验步骤采用S-P法,石蜡切片经脱蜡、梯度酒精水化后进行抗原修复,具体为pH6.0枸橼酸盐缓冲液抗原修复,微波炉加热。抗原修复盒内液体温度保持在95 $^{\circ}$ C并持续20 min,试剂A阻断内源性过氧化物酶活性,试剂B封闭血清,一抗4 $^{\circ}$ C过夜,试剂C信号放大,DAB染色及封片。

1.4 结果判读

免疫组化结果根据阳性细胞数目比例及着色强度判断,<5%为0分,5%~25%为1分,26%~50%为2分,>50%为3分。未着色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。以二者得分相乘,0分记为阴性(-),1~3分为弱阳性(1+),4分为中度阳性(2+),6分和9分为强阳性(3+)。

1.5 统计学方法

统计学分析应用SPSS 16.0 for windows软件包,采用Pearson卡方检验和Fisher精确检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

对121例肿瘤组织进行E-cadherin免疫组织化学染色(图1),表达阳性为93例(76.9%),阴性28例(23.1%),弱阳、中阳和强阳性的表达率分别为33.9%、42.1%和0.9%,对比临床病理指标,显示该蛋白表达与肿瘤大体分型( $P=0.014$ )、Lauren分型( $P=0.001$ )、肿瘤分化( $P=0.004$ )及pTNM分期( $P=0.024$ )等显著相关(表1)。结果显示浸润型、Lauren分型为弥漫型、肿瘤分化差及pTNM分期高的肿瘤组织E-cadherin缺失或弱表达要显著高于局限型分化好及分期早的肿瘤。E-cadherin蛋白表达与患者性别、年龄、肿瘤大小、浸润深度及淋巴结转移无明显相关性。113例癌旁黏膜组织E-cadherin均呈阳性表达,E-cadherin在肿瘤及癌旁黏膜组织表达之间无显著相关性( $P=0.673$ )。

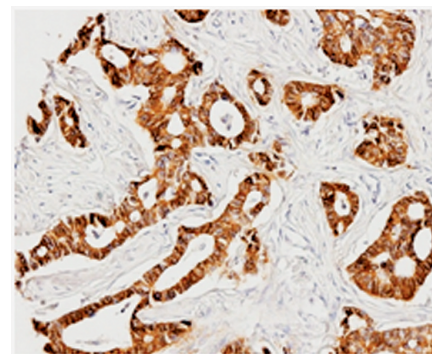


图1 E-cadherin蛋白免疫组化强阳性表达(S-P法 $\times 100$ )

Figure 1 E-cadherin expression determined by immunohistochemistry (SP method $\times 100$ )

表1 E-cadherin蛋白表达与临床病理参数相关性 (例%)

Table 1 Association of E-cadherin protein expression with clinicopathologic characteristics

Clinico-pathological characteristics		E-cadherin Expression								SUM	P value
		Negative(number)	Percentage	1+(number)	Percentage	2+(number)	Percentage	3+(number)	Percentage		
Macroscopy type	Local	10	19.20	12	23.10	30	57.70	0	0.00	52	0.014
	Infiltrative	18	26.10	29	42.00	21	30.40	1	1.40	69	
Lauren's classification	Intestinal-type	8	13.10	14	23.00	38	62.30	1	1.60	61	<0.001
	Diffuse-type	19	35.20	24	44.40	11	20.40	0	0.00	54	
	Mixed-type	1	16.70	3	50.00	2	33.30	0	0.00	6	
Histological grading	Well	1	50.00	0	0.00	1	50.00	0	0.00	2	0.004
	Moderate	7	15.20	10	21.70	28	60.90	1	2.20	46	
	Low	19	27.90	27	39.70	22	32.40	0	0.00	68	
	Mucinous	1	20.00	4	80.00	0	0.00	0	0.00	5	
pTNM stage	I	3	37.50	3	37.50	2	25.00	0	0.00	8	0.024
	II	2	8.30	4	16.70	18	75.00	0	0.00	24	
	III	14	21.50	26	40.00	24	36.90	1	1.50	65	
	IV	9	37.50	8	33.30	7	29.20	0	0.00	24	

检测 118 例胃癌肿瘤组织 COX-2 蛋白表达(图 2), 阳性率为 38.1%(45/118), 主要为弱阳-中等强度表达, 无强阳性表达。对比 COX-2 蛋白表达与临床病理指标相关性发现, 其过表达仅与肿瘤的淋巴结转移数目显著相关( $P=0.048$ , 表 2), 胃癌无淋巴结转移 COX-2 阴性率为 82.6%(19/23), 阳性率为 17.4%(4/23), 伴有淋巴结转移胃癌组织 COX-2 阴性率为 56.8%(54/95), 阳性率为 43.2%(41/95), 显著高于淋巴结无转移者。结果还显示 COX-2 阴性淋巴结转移率为 74.0%(54/73), 弱阳表达淋巴结转移率为 89.2%(33/37), 中阳转移率为 100%(8/8), 随着 COX-2 蛋白表达由阴性至阳性, 由弱至强的表达, 淋巴结转移比率也显著增高。COX-2 蛋白表达与肿瘤大小、大体分型、浸润深度、肿瘤分化、病理分期等无明显相关性。对 111 例相应癌旁组织检测 COX-2 蛋白表达,

癌旁黏膜组织 COX-2 阴性、弱阳及中阳比率分别为 22.5%(25/111)、62.2%(69/111)和 15.3%(17/111), 与肿瘤组织 COX-2 蛋白表达比率对比无显著相关性( $P=0.274$ )。

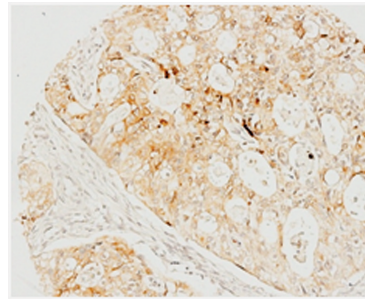


图2 COX-2蛋白免疫组化阳性表达(S-P法×100)

Figure 2 COX-2 expression determined by immunohistochemistry (SP method× 100)

表2 COX-2蛋白表达与淋巴结转移相关性 (例%)

Table 2 Association of COX-2 protein expression with lymph node metastasis

Number of lymph node metastasis	COX-2 Expression							
	Negative(number)	Percentage	1+(number)	Percentage	2+(number)	Percentage	3+(number)	SUM P Value
0	19	82.60	4	17.40	0	0.00	0	23
1-6	28	58.30	15	31.30	5	10.40	0	48
7-15	18	66.70	9	33.30	0	0.00	0	27
>15	8	40.00	9	45.00	3	15.00	0	20
	73	61.90	37	31.30	8	6.80	0	118 0.048

### 3 讨论

E-cadherin 作为细胞粘附分子家族中与肿瘤关系最密切成员而倍受关注, 多数与胃癌相关性研究的报道均显示其表达降低与肿瘤的浸润和转移相关, E-cadherin 蛋白表达阳性的胃癌患者 3 年和 5 年生存率较阴性患者明显延长<sup>[3,4]</sup>。一项对 4 383 例胃癌患者 E-cadherin 蛋白表达的 meta 分析显示, 其表达下调与 TNM 分期、肿瘤浸润深度、淋巴结转移、肿瘤分化、血管浸润、组织学分型及远处转移等显著相关<sup>[5]</sup>。本研究显示 E-cadherin 低表达或阴性与肿瘤分化差、病理分期高有关, 这一结果提示肿瘤的分化与细胞粘附性相关, 而缺乏粘附性的肿瘤易发生区域淋巴结或远处转移, 预后相对较差。本研究结果未提示 E-cadherin 与胃癌淋巴结转移相关, 但多数文献报道二者具有相关性<sup>[6,7]</sup>, 这一结果可能我们需要扩大样本量继续观察。在预测胃癌患者预后方面, 血浆可溶性 E-cadherin 也许是一项备选的标记物, 有研究显示在胃癌患者可溶性 E-cadherin 水平越高, 患者预后越差, 尤其是高于 10 000 ng/mL 的 90% 胃癌患者生存率不超过 3 年<sup>[8]</sup>。

本研究同时检测了癌旁黏膜组织 E-cadherin 蛋白表达, 显示肿瘤旁黏膜均呈阳性表达, 进一步提示其在肿瘤发生中具有重要意义。

COX-2 是一种诱导型前列腺素合成过程中的限速酶, 其辅助产生的各种前列腺素产物在维持肿瘤生长、促进肿瘤进展中发挥重要作用。本研究结果显示 COX-2 蛋白在肿瘤中的表达与淋巴结转移相关。COX-2 蛋白表达越强, 淋巴结转移率越高, 对胃癌淋巴结转移的判断具有一定临床意义, 尤其对于活检或早期胃癌病例, 是否可以作为预测有无淋巴结转移的标志物之一值得探讨, 类似结果国内外均有报道<sup>[9,10]</sup>。关于 COX-2 高表达胃癌患者淋巴结转移率高的机制尚需进一步探讨及研究, 有学者同时检测胃癌标本中 COX-2、VEGF-C 蛋白表达及淋巴血管密度, 比较之间关系, 试图解释这一科学问题, 结果发现 COX-2 的表达与 VEGF-C 上调后促进淋巴血管密度增生之间无显著相关性<sup>[11]</sup>。本研究未显示 COX-2 与肿瘤大小、浸润深度、分化程度及临床病理分期相关。但有研究显示 COX-2 与胃癌上述指标显著相关, 为独立预后因子<sup>[12-14]</sup>, 肿瘤直径 >6 cm 的胃癌

COX-2蛋白表达水平显著高于<6 cm, T4病变COX-2表达水平显著高于T3、T2和T1病变。提示较大的肿瘤可能产生较多COX-2及前列腺素,维持肿瘤生长。

E-cadherin及COX-2均为胞膜着色,前者表达降低和后者的高表达均提示肿瘤进展趋势,二者分别从不同方面如肿瘤分化、分期及淋巴结转移显示出上述特性,因此二者联合检测可达到互补目的,对胃癌患者预后具有一定提示意义。

#### 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics 2002[J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2):74-108.
- 2 Cao Y, Prescott SM. Many actions of cyclooxygenase-2 in cellular dynamics and in cancer[J]. J Cell Physiol, 2002, 190(3):279-286.
- 3 Graziano F, Arduini F, Ruzzo A, et al. Prognostic analysis of E-cadherin gene promoter hypermethylation in patients with surgically resected, node-positive, diffuse gastric cancer[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(8):2784-2789.
- 4 Uchikado Y, Okumura H, Ishigami S, et al. Increased Slug and decreased E-cadherin expression is related to poor prognosis in patients with gastric cancer[J]. Gastric Cancer, 2011, 14(1):41-49.
- 5 Xing X, Tang YB, Yuan G, et al. The prognostic value of E-cadherin in gastric cancer: A meta-analysis[J]. Int J Cancer, 2012, Published online.
- 6 Zhou Y, Li G, Wu J, et al. Clinicopathological significance of E-cadherin, VEGF, and MMPs in gastric cancer[J]. Tumour Biol, 2010, 31(6):549-558.
- 7 Tang B, Peng ZH, Yu PW, et al. Expression and significance of Cx43 and E-cadherin in gastric cancer and metastatic lymph nodes[J]. Med Oncol, 2011, 28(2):502-508.
- 8 Chan AO, Chu KM, Lam SK, et al. Soluble E-cadherin is an independent pretherapeutic factor for long-term survival in gastric cancer[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(12):2288-2293.
- 9 姬社青, 花亚伟, 庄 兢, 等. COX-2、p53、PCNA和nm23异常表达与胃癌生物学行为的关系[J]. 癌症, 2002, 21(6):619-624.
- 10 Uefuji K, Ichikura T, Mochizuki H. Cyclooxygenase-2 expression is related to prostaglandin biosynthesis and angiogenesis in human gastric cancer[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(1):135-138.
- 11 Gou HF, Chen XC, Zhu J, et al. Expressions of COX-2 and VEGF-C in gastric cancer: correlations with lymphangiogenesis and prognostic implications[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2011, 30:14.
- 12 Han SL, Tang HJ, Hua YW, et al. Expression of COX-2 in stomach cancers and its relation to their biological features[J]. Dig Surg, 2003, 20(2):107-114.
- 13 Fujita T, Matsui M, Takaku K, et al. Size- and invasion-dependent increase in cyclooxygenase 2 levels in human colorectal carcinomas[J]. Cancer Res, 1998, 58(21):4823-4826.
- 14 Mrena J, Wiksten JP, Kokkola A, et al. COX-2 is associated with proliferation and apoptosis markers and serves as an independent prognostic factor in gastric cancer[J]. Tumour Biol, 2010, 31(1):1-7.

(2013-01-10收稿)

(2013-02-21修回)

(本文编辑:贾树明)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## Cancer Biology & Medicine 欢迎投稿

Cancer Biology & Medicine (ISSN 2095-3941, CN 12-1431/R), 季刊, 国内外公开发行人, 由中国科学技术协会主管、中国抗癌协会主办, 作为中国抗癌协会国内外学术交流的重要媒介, 向国际学术界展示中国肿瘤防治研究成果, 向国内肿瘤学相关专业人员介绍全球肿瘤学前沿进展。以肿瘤临床医师、基础研究人员、相关交叉学科专业人员及医学生为读者对象。收稿范畴: 肿瘤表观遗传学、肿瘤干细胞生物学、肿瘤预防与流行病学、肿瘤标志物、肿瘤影像学、肿瘤临床试验、抗肿瘤药敏感性与耐药机制、肿瘤靶向治疗、肿瘤生物治疗、肿瘤个体化医学与多学科综合治疗。栏目设置: 述评、论著、综述、临床指南、会议报道、病例报告、读者来信等。采用开放存取 (Open Access, OA) 出版模式, 不收取版面费, 每期内容发布于www.cancerbiomed.org, 全文免费下载, 欢迎关注与投稿。

网站: www.cancerbiomed.org

投稿网址: http://www.editorialmanager.com/cocr

E-mail: editor@cancerbiomed.org

电话: 022-23522919