

DOI:10. 11798/j. issn. 1007-1520. 201506009

· 论 著 ·

E-cadherin 与 β -catenin 在鼻内翻性乳头状瘤中的表达及其临床意义

戴勇传¹, 林虹¹, 张旭¹, 苏金龙¹, 刘建华¹, 尤易文²

(1. 兴化市人民医院耳鼻咽喉科, 江苏 兴化 225700; 2. 南通大学附属医院耳鼻咽喉科, 江苏 南通 226019)

摘要: **目的** 研究 E-cadherin 与 β -catenin 在鼻内翻性乳头状瘤中的表达及其临床意义。**方法** 应用免疫组织化学方法检测 E-cadherin、 β -catenin 在 40 例鼻内翻性乳头状瘤组织标本中的表达情况,并同时检测其在 15 例下鼻甲组织标本以及 15 例鼻腔鼻窦鳞状细胞癌组织标本的表达作为对照研究,观察并比较 E-cadherin、 β -catenin 在 3 种鼻病组织的表达情况,并分析鼻内翻性乳头状瘤中 E-cadherin、 β -catenin 的表达与临床病理指标的关系。**结果** ①E-cadherin、 β -catenin 在鼻内翻性乳头状瘤中的表达强于下鼻甲组织,而弱于鼻腔鼻窦鳞状细胞癌。差异有统计学意义($P < 0.05$)。②E-cadherin 按鼻内翻性乳头状瘤无不典型增生、伴不典型增生、伴恶变分组比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 9.925, P < 0.05$)。 β -catenin 按鼻内翻性乳头状瘤无不典型增生、伴不典型增生、伴恶变分组比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 8.998, P < 0.05$)。③E-cadherin、 β -catenin 分别按鼻内翻性乳头状瘤患者的性别、年龄、临床分期、有无复发分组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** E-cadherin、 β -catenin 在鼻内翻性乳头状瘤中存在异常表达,并且其与鼻内翻性乳头状瘤病理分化密切相关。

关键词:鼻内翻性乳头状瘤;E-cadherin; β -catenin;免疫组织化学
中图分类号:R739.62 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-1520(2015)06-0470-05

Expression and its clinical significance of E-cadherin and β -catenin proteins in nasal inverted papilloma

DAI Yong-chuan, LIN Hong, ZHANG Xu, SU Jin-long, LIU Jian-Hua, YOU Yi-wen
(Department of Otolaryngology, the First People's Hospital of Xinghua City, Xinghua 225700, China)

Abstract: **Objective** To study the expression of E-cadherin and β -catenin in nasal inverted papilloma (NIP) and the relationship between the expression and clinicopathologic features of this tumor. **Methods** Immunohistochemical technique was used for detecting the expression of E-cadherin and β -catenin in 40 specimens of NIP, 15 of inferior turbinate (IT) and 15 of nasal squamous cell carcinoma (NSCC). The relationships between the expression levels of E-cadherin, β -catenin and the clinicopathologic characteristics were then analyzed. **Results** ①The expression of E-cadherin and β -catenin in NIP was significantly higher than that in IT, but lower than in NSCC. The differences were statistically significant (all $P < 0.05$). ②Among the subgroups of NIP (with or without dysplasia and malignant transformation), the differences of expression of E-cadherin and β -catenin were all statistically significant (all $P < 0.05$). ③There were no correlations between aberrant expression of E-cadherin and β -catenin and patients' sex, age, and clinical stage or recurrence of NIP ($P > 0.05$). **Conclusion** The expression of E-cadherin and β -catenin in NIP is aberrant, which is closely related with differentiation of the tumor.

Key words:Nasal inverted papilloma; E-cadherin; β -catenin; Immunohistochemistry

鼻内翻性乳头状瘤是一种发生于鼻腔鼻窦黏膜上皮源性肿瘤,其组织学检查虽属于良性肿瘤,但在临床上具有呈破坏性生长,易复发,可恶变的生物学特点,故称之为边缘性肿瘤。因此对于鼻内翻性乳头状瘤的分子研究具有至关重要的作用。已有大量研究表明 E-cadherin、 β -catenin 在许多恶性肿瘤细胞膜通常低表达,并且这种异常表达与多种恶性肿

基金项目:江苏大学医学临床科技发展基金(JLY20140154)。
作者简介:戴勇传,男,医学硕士,副主任医师。
通信作者:戴勇传,Email:1662438963@qq.com

瘤的侵袭和转移密切相关。但目前国内外有关 E-cadherin、 β -catenin 在鼻内翻性乳头状瘤中的研究甚少,为此本文主要研究 E-cadherin、 β -catenin 在鼻内翻性乳头状瘤中的表达及其临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集南通大学附属医院耳鼻咽喉科 2009 ~ 2012 年手术切除的鼻内翻性乳头状瘤组织存档蜡块 40 例作为实验组,其中男 30 例,女 10 例,年龄 29 ~ 79 岁;按 Krouse 分期:I 期 10 例,II 期 21 例,III 期 3 例,IV 期 6 例;随访时间为 12 ~ 48 个月,按有无复发分组:未复发 30 例,复发 10 例;按病理分化分组:其中无不典型增生 14 例,伴不典型增生 20 例,伴恶变 6 例。患者详细临床资料见表 1。同期另取 2010 ~ 2013 年下鼻甲组织存档蜡块 15 例以及鼻腔鼻窦鳞状细胞癌组织存档蜡块 15 例作为对照组,所选病例临床资料完整,术前均未行放疗及化疗,术后均经病理证实。

1.2 主要试剂

兔抗人 E-cadherin 单克隆抗体、兔抗人 β -catenin 单克隆抗体试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术公司。

1.3 实验方法

免疫组化具体步骤:常规切片,脱蜡,水化;切片微波炉抗原修复;PBS 液 (PH7.4) 冲洗 3 min $\times$ 3 次;切片加 50 μ l、3% H_2O_2 溶液,室温下孵育 10 min;PBS 液 (PH 7.4) 冲洗 3 min $\times$ 3 次;每张切片滴加 50 μ l 动物血清,室温孵育 10 min,PBS 液 (PH 7.4) 冲洗 3 min $\times$ 3 次;除去 PBS 液,分别滴加 50 μ l 兔抗人 E-cadherin 工作液或 β -catenin 工作液,4 $^{\circ}$ C 过夜;PBS 液 (PH7.4) 冲洗 5 min $\times$ 3 次;除去 PBS 液,每张切片加 50 μ l 生物素标记第二抗体,室温下孵育 30 min;PBS 液 (PH7.4) 冲洗 3 min $\times$ 3 次;除去 PBS 液,每张切片加 100 μ l 新鲜配制的 DAB 液显色;蒸馏水冲洗,苏木素复染,水洗,梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封片。

1.4 结果判定

由两位不知晓患者资料的病理师分别观察计算得出结果。

1.4.1 E-cadherin 判定标准 以细胞膜出现连续均匀棕黄色为正常表达,根据许良中等^[1]的评价方法,细胞膜免疫反应积分 = 比例积分 $\times$ 强度积分,按

染色范围(阳性细胞占总体细胞的百分数)评分:阴性为 0 分, $\leq 10\%$ 为 1 分;11% ~ 50% 为 2 分;51% ~ 75% 为 3 分; $> 75\%$ 为 4 分。按染色强度评分:无显色为 0 分;浅黄色为 1 分;棕黄色为 2 分;棕褐色为 3 分。免疫反应积分 ≤ 6 为异常表达, > 6 分为正常表达。

1.4.2 β -catenin 判定标准 按照 Maruyama 等^[2]从细胞膜、细胞质、细胞核 3 方面判断 β -catenin 在细胞内的分布,其中细胞膜表达评分参照上述 E-cadherin 判定标准,另外无论以上细胞膜表达如何,当 β -catenin 定位于细胞浆和(或)细胞核,且细胞浆和(或)细胞核出现棕褐色颗粒表示异位表达。最后将 β -catenin 膜表达减少、浆和(或)核异位表达统一定义为异常表达。

1.5 统计学处理

运用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,异常表达比较采用卡方检验,相关性检验采用 Pearson 相关性分析,检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 E-cadherin、 β -catenin 在下鼻甲组织、鼻内翻性乳头状瘤组织、及鼻腔鼻窦鳞状细胞癌组织中的表达及比较

E-cadherin 在下鼻甲组织中表达主要定位于细胞膜,呈棕褐色颗粒(图 1A);在鼻内翻性乳头状瘤组织中的细胞膜表达减弱,部分细胞质出现棕褐色颗粒(图 1B);在鼻腔鼻窦鳞状细胞癌组织中的细胞膜明显减弱甚至表达缺失(图 1C)。 β -catenin 在下鼻甲组织中表达主要定位于细胞膜,呈棕褐色颗粒(图 2A);在鼻内翻性乳头状瘤组织中的细胞膜表达减弱,部分细胞质、细胞核表达增加(图 2B);在鼻腔鼻窦鳞状细胞癌组织中细胞膜表达缺失(图 2C)。E-cadherin 在下鼻甲组织、鼻内翻性乳头状瘤组织、及鼻腔鼻窦鳞状细胞癌组织中的异常表达比较见表 1, E-cadherin 蛋白在 3 种鼻病组织异常表达率的比较 $\chi^2 = 24.990$, $P < 0.005$ (NIP vs IT; $\chi^2 = 12.841$, $P = 0.000$) (NIP vs NSCC; $\chi^2 = 4.710$, $P = 0.030$)。 β -catenin 在下鼻甲组织、鼻内翻性乳头状瘤组织、及鼻腔鼻窦鳞状细胞癌组织中的异常表达比较见表 2。 β -catenin 蛋白在 3 种鼻病组织中异常表达率的比较 $\chi^2 = 12.746$, $P < 0.005$ (NIP vs IT; $\chi^2 = 9.531$, $P = 0.002$) (NIP vs NSCC; $\chi^2 = 0.838$, $P = 0.360$)。

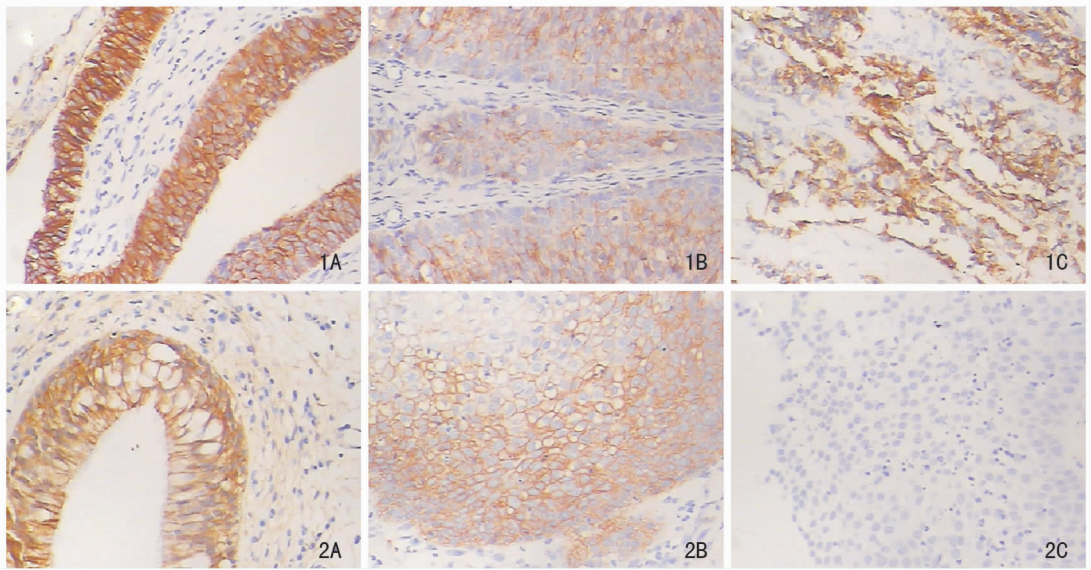


图 1 E-cadherin 在不同组织中的表达情况 A:下鼻甲;B:鼻内翻性乳头状瘤;C:鼻腔鼻窦鳞状细胞癌(免疫组化 × 400);下同 图 2 β-catenin 在不同组织中的表达情况

表 1 E-cadherin 蛋白在 3 种组织中的表达(例,%)

组别	例数	E-cadherin 表达		E-cadherin 异常表达率
		异常	正常	
下鼻甲	15	2	13	13.3
鼻内翻性乳头性瘤	40	27	13	67.5
鼻腔鼻窦鳞状细胞癌	15	15	0	100

表 2 β-catenin 蛋白在 IT、NIP、NSCC 组织中的表达(例,%)

组别	例数	β-catenin 表达		β-catenin 异常表达率
		异常	正常	
下鼻甲	15	2	13	13.3
鼻内翻性乳头性瘤	40	24	16	60.0
鼻腔鼻窦鳞状细胞癌	15	11	4	73.3

2.2 E-cadherin,β-catenin 在鼻内翻性乳头状瘤组织中异常表达与临床病理指标的关系

鼻内翻性乳头状瘤组织中 E-cadherin,β-catenin 的异常表达与患者的性别、年龄、临床分期、有无复发之间无统计学意义($P>0.05$),鼻内翻性乳头状瘤中 E-cadherin 的异常表达与患者病理分化之间进行比较,差异有统计学意义($\chi^2=9.925,P<0.05$)。鼻内翻性乳头状瘤中 β-catenin 的异常表达与患者病理分化之间进行比较,差异具有统计学意义($\chi^2=8.998,P<0.05$)。具体结果见表 3。

表 3 鼻内翻性乳头状瘤组织 E-cadherin、β-catenin 表达与临床病理指标的关系(例)

临床病理指标	例数	E-cadherin 表达				β-catenin 表达			
		异常	正常	χ^2	P	异常	正常	χ^2	P
性别									
男	30	21	9	0.038	0.845	17	13	0.139	0.709
女	10	6	4			7	3		
年龄									
≥60	12	7	5	0.195	0.658	7	5	0.000	1.000
<60	28	20	8			17	11		
临床分期									
I、II	31	20	11	0.118	0.731	18	13	0.006	0.938
III、IV	9	7	2			6	3		
复发									
无	30	19	11	0.342	0.559	16	14	1.250	0.264
有	10	8	2			8	2		
病理分化									
无不典型增生	14	5	9	9.925	0.01	4	10	8.998	0.025
伴不典型增生	20	17	3			15	5		
伴恶变	6	5	1			5	1		

2.3 E-cadherin 蛋白与 β -catenin 蛋白在鼻内翻性乳头性瘤组织中的表达及相关性

40 例鼻内翻性乳头性瘤组织中 E-cadherin 异常表达 27 例, β -catenin 异常表达 24 例,E-cadherin 与 β -catenin 同时异常表达 18 例,同时正常表达 7 例,采用 Pearson 相关性分析,差异有统计学意义($r=0.196,P<0.05$),提示 E-cadherin 与 β -catenin 在 NIP 组织中异常表达呈正相关。具体结果见表 4。

表 4 E-cadherin 蛋白与 β -catenin 蛋白在鼻内翻性乳头性瘤组织中的表达及相关性(例)

E-cadherin 表达	β -catenin 表达		合计
	异常	正常	
异常	18	9	27
正常	6	7	13

3 讨论

研究表明 E-cadherin 是一类 Ca^{2+} 依赖的细胞黏附分子,主要定位于人类上皮细胞的细胞膜,介导同型上皮细胞间黏附,对维持上皮细胞极性及组织结构的完整性起重要作用^[3-5]。当肿瘤细胞 E-cadherin 表达降低或缺失,介导同型上皮细胞间黏附能力下降,肿瘤细胞之间的连接趋于松散,促进恶性肿瘤的侵袭和转移。因此,E-cadherin 被公认为肿瘤抑制因子。Kaur 等^[6]研究表明 E-cadherin 的膜表达减少或缺失与口腔鳞状细胞癌的分化和转移密切相关。马杰等^[7]研究发现 E-cadherin 在食道癌组织中的表达明显降低,并且与食道癌的分期、分化有关。以上研究表明 E-cadherin 在口腔鳞状细胞癌及食管癌细胞膜低表达并且与分化有关。本研究也发现 E-cadherin 在鼻内翻性乳头状瘤组织中存在细胞膜表达减弱,并且与鼻内翻性乳头状瘤的病理分化程度密切相关。这与 Koo 等^[8]报道的结果相符。

近年来研究发现 β -catenin 在细胞内具有双重作用,一是参与上皮细胞间黏附,可以和细胞膜 E-cadherin 相连,进而与细胞骨架蛋白形成稳定连接。 β -catenin 另一个作用是参与 Wnt/ β -catenin 信号通路并承担传递信号的角色。正常成熟细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路未被激活, β -catenin 主要定位于细胞膜参与细胞间黏附。胞浆内少量的 β -catenin 与 AXIN、APC、GSK3 β 、CK1 形成降解复合体,从而维持细胞内 β -catenin 处于低水平状态^[9]。当有

Wnt 信号, β -catenin 从降解复合体中脱落,并在细胞质稳定、累积并易位入细胞核,进而与转录因子 TCF/LEF 结合形成 β -catenin/TCF/LEF 转录复合体而启动下游靶基因 c-myc, cyclinD1 等的转录,调节细胞的分化和增殖,导致肿瘤的发生^[10]。相关研究中 Li 等^[11]研究发现非小细胞肺癌组织 β -catenin 核表达增加与肿瘤的不良预后有关。Stanczak A 等^[12]研究报道直肠癌细胞中存在 β -catenin 蛋白的异常表达,并且其在细胞核内高表达是一个不利的预后因素。Wang 等^[13]研究指出直肠癌细胞 β -catenin 蛋白核内高表达与肝转移呈正相关,本实验中发现 β -catenin 在鼻内翻性乳头状瘤组织中的细胞膜表达减弱,部分细胞质、细胞核表达增加,进一步对 β -catenin 异常表达在鼻内翻性乳头状瘤组织细胞中分布情况进行初步分析,24 例 β -catenin 异常表达中异位表达占 13 例,特别是鼻内翻性乳头状瘤伴恶变的 β -catenin 异常表达病例中均发现有 β -catenin 异位表达,证明本研究中 β -catenin 异位表达情况与其在以上肿瘤的报道相符。Laxmidevi 等^[14]研究表明口腔鳞状细胞癌细胞膜 β -catenin 表达减少,细胞质表达增加并且与肿瘤的低分化密切相关。本研究也发现 β -catenin 的异常表达与鼻内翻性乳头状瘤病理分化程度密切相关。孙德重等^[15]的研究表明鼻内翻性乳头状瘤中普遍存在 β -catenin 的异常表达, β -catenin 膜表达降低与鼻内翻性乳头状瘤患者的性别,复发与否无关,与不典型增生程度有关,与本研究结果一致。

E-cadherin、 β -catenin 是上皮细胞黏附系统的重要组成部分,从理论上讲将 E-cadherin、 β -catenin 作为一个整体进行研究有一定的临床意义。本研究发现 E-cadherin、 β -catenin 在鼻内翻性乳头状瘤组织中异常表达呈正相关,并且 E-cadherin、 β -catenin 的异常表达都与鼻内翻性乳头状瘤恶变密切相关,因此,联合检测 E-cadherin、 β -catenin 的表达对预测鼻内翻性乳头状瘤恶变、评估预后、指导临床治疗等方面可能具有重要意义。

参考文献:

[1] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志,1996,6(4):229-231.

[2] Maruyama K, Ochiai A, Akimoto S,et al. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer[J]. Oncology, 2000,59(4):302-309.

[3] David JM, Rajasekaran AK. Dishonorable discharge: the oncogen-

ic roles of cleaved E-cadherin fragments[J]. Cancer Res, 2012,72 (12):2917-2923.

[4] Baranwal S, Alahari SK. Molecular mechanisms controlling E-cadherin expression in breast cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009,384(1):6-11.

[5] Tian X, Liu Z, Niu B, et al. E-cadherin/ β -catenin complex and the epithelial barrier[J]. J Biomed Biotechnol, 2011, 2011: 567305.

[6] Kaur G, Carnelio S, Rao N, et al. Expression of E-cadherin in primary oral squamous cell carcinoma and metastatic lymph nodes: an immunohistochemical study[J]. Indian J Dent Res, 2009,20 (1):71-76.

[7] 马杰,李宝生,闫婧,等. 食道癌组织中 E-cadherin 的表达及其与临床病理特征和预后关系的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008,15(1):31-34.

[8] Koo BS, Jung BJ, Kim SG, et al. Altered expression of E-cadherin and β -catenin in malignant transformation of sinonasal inverted papillomas[J]. Rhinology, 2011,49(4):479-485.

[9] 赵远,王永忠. 上皮钙粘蛋白和 β -连环蛋白的研究进展[J]. 江苏医药, 2011,37(13):1581-1584.

[10] Moon RT. Wnt/ β -catenin pathway[J]. Sci STKE, 2005,15: (271):cm1.

[11] Li XQ, Yang XL, Zhang G, et al. Nuclear β -catenin accumulation is associated with increased expression of Nanog protein and predicts poor prognosis of non-small cell lung cancer[J]. J Transl Med, 2013,11(2):114.

[12] Stanczak A, Stec R, Bodnar L, et al. Prognostic Significance of Wnt-1, β -catenin and E-cadherin Expression in Advanced Colorectal Carcinoma[J]. Pathol. Oncol. Res, 2011, 17(8):955-963.

[13] Wang L, Cheng H, Liu Y, et al. Prognostic value of nuclear β -catenin overexpression at invasive front in colorectal cancer for synchronous liver metastasis[J]. Ann Surg Oncol, 2011,18(6):1553-1559.

[14] Laxmidevi LB, Angadi PV, Pillai RK, et al. Aberrant β -catenin expression in the histologic differentiation of oral squamous cell carcinoma and verrucous carcinoma: an immunohistochemical study[J]. J Oral Sci, 2010,52(4):633-640.

[15] 孙德重,祝小林,文卫平,等. β -连环素及 Notch 1 蛋白质在鼻内翻性乳头状瘤中的表达及意义[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2009,16(11):619-622.

(修回日期:2015-10-01)

· 读者·作者·编者 ·

参考文献及其标引格式

1 期刊格式

[序号] 作者. 题名[J]. 期刊名称, 出版年份, 卷号(期号):起-止页码.

例如:

[1] 谢金,徐明安,周汝环,等. 全麻支撑喉镜下喉内镜手术中并发症的处理[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2008,14 (2):135-136.

[2] Pinar E, Calli C, Oncel S, et al. Preoperative clinical prediction of difficult laryngeal exposure in suspension laryngoscopy [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2009, 266(5):699-703.

2 书籍格式

[序号] 著者. 书名[M]. 版次(第 1 版可省略). 出版地:出版者, 出版年份:起-止页码.

例如:

[3] 党跃武,谭祥金. 信息管理导论[M]. 第 2 版. 北京:高等教育出版社, 2006:123-126.

[4] Sheldon M. Ross. Stochastic Processes[M]. New York: Wiley, 1983:10-15.

3 会议论文格式

[序号] 作者. 题名[A]. 编者(可选项). 文集名[C]. 出版地:出版者, 出版年份. 起-止页码(可选项)

例如:

[5] 赵秀珍. 关于计算机学科中几个量和单位用法的建议[A]. 中国高等学校自然科学学报研究会编. 科技编辑学论文集[C]. 北京:北京师范大学出版社, 1997. 125-129.

[6] Bao F, Deng RH, Mao W. Efficient and practical fail exchange protocols with off-line TTP[A]. Proc of the 1998 IEEE Symposium on Security and Privacy[C]. Oakland: IEEE Computer Press, 1998. 77-85.