

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.08.031

E-cadherin 在鼻咽癌组织中的表达及临床意义*

张 玉 孙 迪 郭汝涛[△] 尤庆山 李香兰

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要 目的:检测鼻咽癌组织中上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)的表达情况,探讨 E-cad 与肿瘤侵袭、转移的关系。**方法:**收集临床确诊的存档鼻咽低分化鳞癌石蜡标本 40 例,鼻炎标本 20 例。将每个标本的 4 长切片分别进行 HE 染色、免疫组化 PV 二步法及阴性对照。HE 确认病理类型,结合临床资料进行 TNM 分期,根据 PV 二步法染色结果检测 E-cadherin 的表达,所得结果用 SPSS17.0 进行统计学检验。**结果:**E-cadherin 在鼻咽癌组织对比中呈不同程度的降低($P=0.002$),与性别、年龄无明显相关,与 T 分期($P=0.023$)、淋巴结转移($P=0.001$)、TNM 分期($P=0.000$)显著相关。**结论:**1:E-cadherin 在鼻咽癌组和对照组的表达有显著的差别,可能参与了鼻咽癌的发生发展。2:E-cadherin 的表达与肿瘤的淋巴结转移和病理分期有相关性,但与年龄和性别无相关性。E-cadherin 的表达缺失是肿瘤远处转移的重要指标。3:E-cadherin 表达水平可能作为肿瘤侵袭,预测鼻咽癌颈部淋巴结隐匿性转移的潜在肿瘤标志物。

关键词:鼻咽癌;免疫组化;E-cadherin

中图分类号:R739.63,R730.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)08-1513-05

Expression of E-cadherin in Nasopharyngeal Carcinoma and Their Clinical Significances*

ZHANG Yu, SUN Di, GUO Ru-tao[△], YOU Qing-shan, LI Xing-lan

(The Third Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of E-cadherin, as well as their correlations with the invasion and metastasis of nasopharyngeal carcinoma.**Methods:** 40 cases of nasopharyngeal poorly differentiated squamous cell carcinoma and 20 cases of rhinitis tissues were selected, each of the four sections specimens were HE staining, immunohistochemical PV method and negative control. E-cadherin expression was detected according to the PV staining results. The results of statistical tests conducted by SPSS17.0. **Results:** E-cadherin was decreased or completely loss in nasopharyngeal carcinoma ($P=0.002$), lymph node metastasis ($p=0.001$) and TNM stage ($P=0.000$), not with gender and age. **Conclusions:** 1. The expression of E-cadherin in case and control group have a significant difference, which indicate that E-cadherin may have been involved in the tumor occurrence and development. 2. E-cadherin loss of expression, may be a biological maker in nasopharyngeal carcinoma. The levels of E-cadherin were useful molecular markers for evaluating malignancy degree and lymph node metastasis of in nasopharyngeal carcinoma. 3. Expression of E-cadherin is an independent predictor of lymph node metastases in nasopharyngeal carcinoma, and it might be a tumor marker for occult lymph node metastases.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma; Immunohistochemistry; E-cadherin

Chinese Library Classification: R739.63, R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)08-1513-05

前言

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)为我国多发的恶性肿瘤,这种来源于上皮源性的恶性肿瘤,发病率在头颈部肿瘤中居首位。鼻咽癌绝大多数是鳞状细胞癌,通常发生在鼻咽部咽隐窝,顶后壁和侧壁^[1]。白种人中很少见,常见于中国南方的广东、广西、福建^[2,3]。世界卫生组织将鼻咽癌根据组织学类型分为^[4]:1型角化性鳞状细胞癌,具有分化良好的细胞产生角蛋白。2型非角化的鳞状细胞癌,不产生角蛋白。3型也是非角化

的细胞,但 2、3 型有所区别,3 型是高度的变异类型细胞(透明细胞、梭形细胞、原始细胞)。2、3 型是伴随 EB 病毒(EBV)而且有良好的预后。1 型中一般不感染 EBV^[5]。然而,最新数据说明,几乎所有的鼻咽癌肿瘤组织学亚型都可能 EBV 感染,所以,这些证据也证明了 EBV 是鼻咽癌的致病病因^[6]。也可以说 EBV 使鼻咽癌独特于其他头颈肿瘤。放疗是 NPC 治疗的标准治疗方法,同时辅助化疗也提高了鼻咽癌的生存率^[7]。鼻咽癌的预后取决于肿瘤大小、淋巴结累及、远处转移(TNM 分期)^[8]。较高存活率在 I 期和 II 期病人,5 年生存率近乎 100%。但 III 期 IV 期

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(11541167)

作者简介:张玉(1983-),女,硕士,主要研究方向:恶性胸腔积液,电话:13845082691, E-mail:zhangyu19830714@126.com

[△] 通讯作者:郭汝涛,电话:0451-86298519, E-mail: trust_trust@163.com

(收稿日期:2013-07-11 接受日期:2013-08-07)

放化疗联合治疗后复发或转移的患者仍高达 82%^[9,10]。更不幸的是,大部分鼻咽癌患者是在晚期被发现,因为主诉(颈部淋巴结肿大、头痛、鼻腔出血和听觉障碍等)的非特异性、因此延误了肿瘤治疗的时机^[1]。对此,有针对性治疗鼻咽癌的方法仍需要研究。导致鼻咽癌肿瘤必须首先阐明分子的变化。

鼻咽癌早期症状多为颈部淋巴结肿大、头痛、鼻腔出血和听觉障碍等,正因其不典型症状,到医院就诊时大部分已属中晚期,由此降低了病人长期生存期。放射治疗是鼻咽癌的首选治疗方法,尽管诊断、手术、放化疗等在过去 30 多年中取得了一定的进展,多学科综合治疗已成共识,但鼻咽癌的治疗效果并不乐观,5 年生存率仍徘徊在 50%-60%。资料显示鼻咽癌的治疗效果与病期密切相关,放疗后 I 期的 5 年生存率近乎 100%,IV 期则不到 30%。而鼻咽癌筛查和早期诊断是患者获得早发现的最佳途径,能够起到早发现早治疗的作用。鼻咽癌主要的死因为远处转移(44.3%-45.5%)和局部复发(27.7%~34.3%)因此,明确鼻咽癌的发生发展机制,提高鼻咽癌的早期诊断,改进治疗措施,减少远处转移的发生就尤为重要。

上皮钙粘素 E-cadherin(E-钙黏蛋白),是一类主要介导同质细胞间粘附的钙依赖性跨膜糖蛋白。E-cadherin 功能的抑制,可促进癌细胞自原发部位脱落,发生肿瘤的浸润和转移。当 E-cadherin 表达降低,尤其是功能性的膜表面的 E-cadherin 表达下调或功能障碍时,细胞间的粘附能力就会下降,肿瘤细胞则彼此松动、分离,进而自原发灶脱落,逐步浸润深层、并向局部淋巴结及远处转移。对不同肿瘤的深入研究发现,E-钙黏蛋白减低型肿瘤浸润力强于保存型,淋巴结转移率也较高。有学者提出 E-cadherin 的丢失可能是肿瘤发生的晚期事件,可能与各种可逆性渐进性肿瘤形成事件有关,包括染色体重排,启动子甲基化和转录调节的改变。

E-cadherin 表达下降与肿瘤的侵袭和进展密切相关。但 E-cadherin 与鼻咽癌的相关性研究并不多见。本实验就 E-cadherin 在鼻咽癌和鼻炎组织中的表达对比,探讨它与鼻咽癌的分期、浸润转移及其相关性,有可能为鼻咽癌的治疗(主要指基因治疗,同时也包括药物治疗)的进一步研究提供可能的实验和理论基础。

1 材料与方法

1.1 组织标本来源

临床材料:经本院病理科证实,随即抽取 2005-2009 年鼻咽癌石蜡包埋标本病例 40 例,鼻炎炎症石蜡切片 20 例。且此四十例鼻咽癌患者必须在病理证实后在我院已行治疗有明确的病例,病理检查前未发现有其他系统恶性肿瘤,亦无非甾体类抗炎药和糖皮质激素长期服用史。

临床病例资料:男 28 例,女 12 例。年龄 13-73 岁,平均年龄 48.9 岁。病理证实前均无鼻咽部手术,放疗,化疗。I 期 3 例,II 期 11 例,III 期 10 例,IVA 期 13 例,IVB 期 3 例,其中有 34 例有颈部淋巴结转移,3 例患者远处转移。病理分型均为低分化鳞癌。另准备 20 例病理证实为鼻炎粘膜组织。其中男 13 例,女 7 例,年龄 23~40 岁,中位年龄 47 岁,作为对照组。所有标本均用 10%福尔马林固定,石蜡包埋。

1.2 实验方法

1.2.1 HE 染色 染色步骤如下:

- ① 石蜡切片,常规脱蜡(组织切片置于二甲苯中浸泡 6 分钟,更换二甲苯后浸泡 6 分钟),水化(分别置于无水乙醇、95%乙醇、75%乙醇中各浸泡 4 分钟);
 - ② 苏木素液染色 10 分钟,水洗 3 分钟;
 - ③ 1%盐酸酒精分化 30 秒;
 - ④ 返蓝,自来水冲洗 3 分钟;
 - ⑤ 5%伊红浸染 3 分钟;
 - ⑥ 梯度酒精脱水(浓度由低到高),二甲苯透明;
 - ⑦ 中性树脂胶封片;
- 封好片子后置于通风柜中晾干。

1.2.2 免疫组化染色(PV 二步法) ① 常规脱蜡(组织切片置于二甲苯中浸泡 10 分钟,更换二甲苯后再浸泡 10 分钟),水化(分别置于无水乙醇、95%乙醇、75%乙醇中各浸泡 5 分钟)。

- ② 3% H_2O_2 去离子水孵育 10 分钟,阻断内源性过氧化物酶。
- ③ PBS 冲洗 3 次,每次三分钟。
- ④ 滴加一抗,37 度孵育 2 小时,PBS 冲洗 3 次,每次三分钟。
- ⑤ 滴加 PV-6001 兔 IgG 抗体 -HRP 多聚体,温室孵育 30 分钟。
- ⑥ PBS 冲洗 3 次,每次三分钟。
- ⑦ DAB 显色;
- ⑧ 蒸馏水充分冲洗;
- ⑨ 苏木素复染 30 秒,0.1%盐酸酒精分化,蒸馏水冲洗,返蓝。

⑩ 放入蒸馏水中 8 分钟,依次放入 80%、95%及 100%酒精各 10 分钟,放入二甲苯 I、II 各 5 分钟进行透明;干燥环境中中性树脂封片,镜检,专用显微镜下照相。

1.2.3 结果判断 染色结果判断:在临床和病理资料双盲的情况下,所有切片均有 2 名优经验的病理科医师协助观察。低倍镜观察(100 倍)观察全片情况,然后随机选取 5 个高倍镜视野(400 倍),采用 cellcounter 细胞计数软件计数。

E-cadherin 阳性表达位于细胞膜和细胞浆,上皮细胞均可见阳性表达可呈连续的线状,为淡黄色到棕黄色颗粒。E-cadherin 根据阳性细胞所占的百分率参照统一的分级标准:(-)阴性,无着色,阳性细胞数占 0-25%;(+)弱阳性,阳性细胞率占 26-50%;(++)阳性,阳性细胞数占 51-75%。(+++)强阳性,阳性细胞数 >75%。

1.2.4 统计学分析方法 统计学处理采用 SPSS17.0 软件包进行。E-cadherin 与鼻咽癌临床病理因素之间的分析采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性, $P < 0.01$ 为差异有明显显著性。

2 结果

2.1 鼻咽癌组织和鼻咽炎性组织中 E-cadherin 的表达情况

E-cadherin 阳性表达位于胞膜或胞浆,上皮细胞均可见阳性表达呈连续的线状,为淡黄色到棕黄色颗粒。与鼻咽炎性组织阳性对照比较,E-cadherin 在鼻咽癌细胞胞膜表达减弱,甚至缺失。在 20 例正常鼻咽粘膜标本中均呈阳性和强阳性表达,其中强阳性 16 例,阳性 2 例,无弱阳性和阴性表达 2 例。低表达

率 10%。40 例鼻咽癌中,其中阴性表达和弱阳性表达 30 例,阳性 6 例,强阳性 4 例,低表达率 75%。E-cadherin 蛋白在鼻咽炎性粘膜上皮与在鼻咽癌组织中的表达有显著性差异(P<0.01),在癌组织中 E-cadherin 蛋白呈不同程度的降低(见下表)。

表 1 鼻咽癌组织和鼻咽炎性组织 E-cadherin 的表达情况

Table1 The expression of E-cadherin in Nasopharyngeal carcinoma and nasopharyngitis

组别 (Groups)	例数 (Number of cases)	E-cadherin				低表达率(%) (Low expression rate)	x ²	p 值 (P values)
		-	+	++	+++			
鼻咽癌组织 (Nasopharyngeal carcinoma)	40	16	13	6	5	72.5%	12.845	0.002
鼻炎组织 (Nasopharyngitis)	20	2	3	6	9	25%		

2.2 E-cadherin 的表达与鼻咽癌临床病理因素的关系

将 E-cadherin 的表达情况与鼻咽癌患者的临床资料及病理资料比较,发现在不同的年龄组(≤ 51 岁和 >51 岁)、不同性别组合不同发病部位组 E-cadherin 表达阳性率并无显著性的

差异(P>0.05)。而在鼻咽癌肿瘤侵袭

性、淋巴结转移、临床分期 E-cadherin 表达阳性率的差异有明显的显著性(P<0.05)。原发灶浸润达 T3/T4 组,伴有淋巴结转移的癌组织中,E-cadherin 的表达程度显著降低。

表 2 E-cadherin 蛋白表达与鼻咽癌临床病理特征的关系

Table2 E-cadherin protein expression and clinical pathological features of NPC

组别 (Groups)	例数 (Number of cases)	E-cadherin			P 值 (P values)
		(-/+)	++	+++	
性别 (Sex)					0.599
男 (Male)	28	19	5	4	
女 (Female)	12	10	1	1	
年龄 (Age)					0.637
≤ 51	20	15	2	3	
>51	20	14	4	2	
原发灶 (Primary tumor)					0.023
T1-2	24	13	5	6	
T3-4	16	15	1	0	
临床分期 (Clinical stage)					0.000
I	3	0	0	3	
II	11	8	1	0	
III	10	8	2	0	
IV	16	13	3	0	
淋巴结转移 (Lymph node metastasis)					0.001
无(No)	6	1	2	3	
有(Yes)	34	28	3	2	

3 讨论

3.1 E-cadherin 的结构

E-cadherin 为钙依赖性黏附蛋白超家族成员之一,这一家族还包括神经细胞钙黏素,胎盘钙黏素和肝细胞钙黏素等。人类 E-cad 编码基因定位于 16 号染色体 q22.1 附近,基因组 DNA 长 100kb,含 16 个外显子,15 个内含子,于 1993 年被克隆,它由跨膜区、细胞外区和细胞内区三部分组成。其细胞外

区包括 5 个命名为 EC1-EC5 的串联结构域,每个结构域约含 110 个氨基酸残基,其中 EC1 结构域中有保守 His-Ala-Val 序列,介导同嗜性细胞粘附。结构域之间有短的高度保守的序列。E-钙粘素(E-cadherin, E-cad)是一类介导上皮细胞-细胞间粘附作用的钙依赖性跨膜糖蛋白,分子中存在一个疏水基团,位于跨膜区;氨基末端位于细胞膜外,是钙离子的结合位点,具有高度敏感性,与钙离子结合后使细胞外的球形结构变成棒状,从而介导细胞之间的黏附作用,这一作用为一可逆过程;羧基

末端位于细胞质内,与肌动蛋白相连,由 α 、 β 、 γ 三个亚单位及P120ctn等其他一些连接蛋白组成复合物^[12]。其中 α -catenin本身不与E-cad直接结合,而是一端与结合在E-cad上的 β -catenin和 γ -catenin形成复合体,另一端与肌动蛋白细胞骨架结合,将E-cad传输进来的信号转到细胞骨架上以发挥作用。对维持细胞形态和调节细胞运动、黏附具有重要作用。E-cadherin它普遍存在于各类上皮细胞,主要介导同种细胞间的黏附反应,并起到细胞骨架的作用,是维护细胞形态和结构完整性的重要分子。细胞膜上的E-cadherin通过其胞内部分与 β -catenin蛋白连接形成的E-cadherin- β -catenin复合体参与Wnt信号途径。但鼻咽癌发展的关键信号是Wnt途径和转录因子NF- κ B和 β -连环蛋白(β -catenin)机制。

Wnt受体蛋白结合属于突变家族(FZ),在经典的途径里,其能活化细胞内的级联反应,包括糖元合成酶激酶3(GSK-3)和限瘤性结肠息肉病(APC)蛋白,最终导致了稳定的核转运。核内 β -catenin干扰多个转录因子引起细胞增生和分化。正常细胞胞质内的 β -catenin与细胞内的E-cadherin结合,对维持细胞黏附也起一定作用^[13]。异常的Wnt信号在其他的头颈癌肿瘤、肺癌、结肠直肠癌、黑色素瘤、白血病也有所涉及^[14]。延长Wnt信号活化了Akt,它们共同激活磷酸化的GSK-3 β ^[15]。磷酸化的GSK-3 β 是无活性的,从而使 β -catenin积聚。虽然这个Wnt路径的作用在鼻咽癌中尚未充分探究,但已有大量的证据证明鼻咽癌发展中异常的Wnt信号扮演了一个重要角色。大多数鼻咽癌肿瘤实验显示Wnt路径有93%的蛋白质失调增加了Wnt蛋白的表达,75%抑制了Wnt抑制因子(WIF)的表达^[16,17]。这些结果表明,异常的Wnt信号非常重要。Wnt路径是正调节 β -catenin和核内积累的关键。Wnt信号途径与发育过程、肿瘤的发生发展密切相关,而 β -catenin被认为是Wnt信号途径的中心环节或信使。E-cadherin的丢失可以导致E-cadherin- β -catenin复合体的解离,致使 β -catenin游离于胞浆,而Wnt蛋白是另一个可以决定 β -catenin命运的因子,它通过抑制蛋白降解而稳定 β -catenin。因此,Wnt蛋白和/或E-cadherin的丢失可以协同作用于 β -catenin,致使后者在胞浆中积聚,进而进入细胞核,使TCF/LEF(T cell factor/Lymphoid enhancer factor)活化而启动Wnt信号途径,引起下游靶基因的转录,如肿瘤相关基因MMPs(matrix metalloproteinases,MMPs)、CD44和c-Myc。研究表明,人类多种肿瘤都存在不同程度的E-cadherin的减少或缺失以及Wnt信号途径的异常激活。当肿瘤细胞E-cadherin发生基因突变、转录抑制、启动子区域CpG高度甲基化或翻译紊乱时,其功能发生障碍,致使肿瘤细胞浸润性生长、分化程度降低及易脱离原发灶而出现局部或远处转移。

3.2 E-cad的功能

3.2.1 参与组织发生 E-cad是一类跨膜糖蛋白,具有同质黏附作用,对于胚胎细胞的早期分化和成体组织的构建有重要作用。在组织发生过程中,通过调节钙黏蛋白的数量和种类可决定胚胎细胞间的相互作用,参与细胞间的黏附、分离和迁移过程,从而参与器官形成过程^[18]。李纾等^[19]对E-cad在出生后小鼠牙齿中的表达和意义进行了研究发现,E-cad在牙齿发育后期参与冠部釉质形成及矿化相关的成釉细胞和中间层细胞的分化,而根部在上皮根鞘断裂后仍有表达,并参与牙根发育。

3.2.2 E-cad的抑癌作用 在已发现的黏附系统中,E-cad发挥主要作用。它不仅参与组织发生,而且参与细胞与细胞之间的信息传递交流,维持细胞的极性。在钙离子存在的条件下,上皮细胞膜外的黏附分子可与相邻上皮细胞同种粘附分子相互作用,形成二聚体,成为“拉链式”结构,紧密粘附在仪器^[20]。在胞浆区通过连接蛋白与细胞中的肌动蛋白相连,使棘层附着于细胞骨架。Nagfuchi^[21]等用全长的E-cadDNA转染内源性E-cad表达很低的纤维原细胞使其高表达E-cad,转然后纤维原细胞获得钙离子依赖的高聚合能力,聚集程度与E-cad的表达呈正相关。同时,表达E-cad的细胞不再形成单层细胞,而是紧密聚集成簇,这一结果提供了E-cad具有细胞粘附和维持细胞形态功能的直接证据。当E-cad具有足够活性时,上皮细胞之间的相互作用很难被打破。而当E-cad的活性降低时,则会引起肿瘤细胞从原发部位脱落形成转移。目前的基础与临床研究均表明,E-cad表达的下降或丧失与肿瘤低分化,高侵袭,高转移和肿瘤复发呈正相关,是预示肿瘤进展及预后的重要指标之一,是肿瘤侵袭转移的抑制因子^[22,23]。

本实验结果显示,E-cadherin蛋白在鼻咽癌组织中的阳性表达率为27.5%,鼻咽炎性组织为72.5%($P < 0.05$),E-cadherin基因一般被认为是一种转移抑制基因。在鼻咽癌的临床病理特征方面,有淋巴结转移者,E-cadherin表达均明显低于无淋巴结转移者,因此E-cadherin表达程度与鼻咽癌的浸润转移能力呈负相关。这间接证实了在实体肿瘤内,E-cadherin表达有助于诱导肿瘤细胞的分化,具有降低转移发生率的作用。E-cadherin在发挥细胞粘附功能上起关键作用,两者功能的破坏则是肿瘤细胞发生浸润转移的关键步骤之一。在正常鼻咽组织中E-cadherin有72.5%呈阳性表达,在鼻咽癌组织中不仅表达强度下降,而且阳性表达率也明显下降,同时还显示其表达强度和阳性表达率与肿瘤分期及淋巴结转移密切相关,这提示了E-cadherin表达可能抑制肿瘤细胞的侵袭和转移。T3T4的E-cadherin蛋白表达减弱明显高于T1T2,说明随着浸润深度的加深,E-cadherin减弱表达率升高,提示E-cadherin蛋白减弱表达可能与浸润程度呈负相关。其机制可能是E-cadherin的减弱表达倒是其接到的细胞-细胞间的粘附性降低,使肿瘤细胞得以脱离原发灶并获得穿透基底膜而进入基质的能力。E-cadherin减弱表达可能与鼻咽癌的淋巴结转移有关,但其在淋巴结转移的各个步骤中,具体到哪几步起作用 and 起作用的程度,目前还不清楚,有待进一步研究。我们的研究结果:E-cadherin的阳性表达与鼻咽癌侵袭性、淋巴结转移、TNM分期有关($P < 0.05$),说明E-cadherin表达降低是鼻咽癌重要的恶性生物学指标,本实验将在今后有机会的情况下进一步研究与其样本患者生存期有无关系。

总之,E-cadherin表达的差异与鼻咽癌的发生发展、浸润剂转移能力、有较显著的相关性。因此,E-cadherin可作为评价鼻咽癌生物学特性较好的客观指标之一。但E-cadherin阳性表达率数值的高低可能与抗体来源、免疫组化方法及结果判定标准等不确定因素有关。而且恶性肿瘤的分化程度、侵袭力、转移性是极其复杂的问题,不是某一两个因素所左右的,E-cadherin与肿瘤的关系还有待更多的实验加以验证和探讨。对E-cadherin与肿瘤相关性的深入研究将有助于我们进一步揭示肿瘤

的浸润和转移机制,找到一只肿瘤转移的靶点或预测肿瘤患者预后的指标。

参考文献(References)

- [1] Sham JS, Wei WI, Zong YS, et al. Detection of subclinical nasopharyngeal carcinoma by fiberoptic endoscopy and multiple biopsy[J]. *Lancet*, 1990,335:371-374
- [2] Parkin DM, Muir CS. Cancer incidence in five continents. Comparability and quality of data [J]. *IARC Sci Publ*, 1992,120: 45-173
- [3] Nielsen NH, Mikkelsen F, Hansen JP. Nasopharyngeal cancer in Greenland. The incidence in an Arctic Eskimo population [J]. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1977,85:850-858
- [4] Shanmugaratnam K, Sobin L. Histologic typing of tumours of the upper respiratory tract and ear[M]. 2nd ed. Geneva: WHO;1991
- [5] Marks JE, Phillips JL, Menck HR. The National Cancer Data Base report on the relationship of race and national origin to the histology of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer*, 1998,83:582-588
- [6] Vasef MA, Ferlito A, Weiss LM. Nasopharyngeal carcinoma, with emphasis on its relationship to Epstein-Barr virus[J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1997,106:348-356
- [7] Al-Sarraf M, LeBlanc M, Giri PG, et al. Chemoradiotherapy versus radiotherapy in patients with advanced nasopharyngeal cancer: phase III randomized Intergroup study 0099 [J]. *Clin Oncol*, 1998,16: 1310-1317
- [8] Sham JS, Choy D. Prognostic factors of nasopharyngeal carcinoma: a review of 759 patients[J]. *Br J Radiol*, 1990,63:51-58
- [9] Cheng SH, Jian JJ, Tsai SY, et al. Long-term survival of nasopharyngeal carcinoma following concomitant radiotherapy and chemotherapy[J]. *Radiat Oncol Biol Phys*, 2000,48:1323-1330
- [10] Yamashita S, Kondo M, Hashimoto S. Squamous cell carcinoma of the nasopharynx. An analysis of failure patterns after radiation therapy[J]. *Acta Radiol Oncol*, 1985,24:315-320
- [11] Lee AW, Foo W, Law SC, et al. Nasopharyngeal carcinoma: presenting symptoms and duration before diagnosis [J]. *Hong Kong Med J*, 1997,3:355-361
- [12] Hinck L, Nathke I, Papkoff J. Dynamics of cadherin catenin in complex formation; novel Protein interactions and Pathway of complex assembly[J]. *Cell Biol*, 1994,125:1327-1340
- [13] Jou T, Stewart D, Stappert J, et al. Genetic and biochemical dissection of protein linkages in the cadherin-catenin complex [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995,92:5067-5071
- [14] Mazieres J, He B, You L, et al. Wnt signaling in lung cancer [J]. *Cancer Lett*, 2005,222:1-10
- [15] Lo A, Liu Y, Wang X, et al. Alterations of biologic properties and gene expression in nasopharyngeal epithelial cells by the Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein [J]. *Lab Invest*, 2003,83: 697-709
- [16] Shi W, Bastianutto C, Li A, et al. Multiple dysregulated pathways in nasopharyngeal carcinoma revealed by gene expression profiling [J]. *Cancer*, 2006,119:246-247
- [17] Zeng ZY, Zhou YH, Zhang WL, et al. Gene expression profiling of nasopharyngeal carcinoma reveals the abnormally regulated Wnt signaling pathway [J]. *Hum Pathol*, 2007,38:120-133
- [18] Zeisberg M, Kalluri R. A putative catenin-cadherin system mediates morphogenesis of the *Caenorhabditis elegans* embryo [J]. *Cell Biol*, 1998,141(1):297-308
- [19] 李纾,刘琳,潘克清,等. E-钙黏蛋白在出生后小鼠牙齿发育中的表达和意义[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2004,14(12):670-673
- Li Shu, Liu Lin, Pan Ke-qing, et al. Expression and significance of E-cadherin protein during mouse tooth development after birth [J]. *Chinese Journal of Conservative Dentistry*, 2004,14(12):670-673
- [20] Shapiro L, Fannon AM, Kwong PD, et al. Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins [J]. *Nature*, 1995,375(6520):327-337
- [21] Nagafuchi A, Shirayoshi Y, Okazaki K, et al. Transformation of cell adhesion properties by exogenously introduced E-cadherin cDNA [J]. *Nature*, 1987,329(6137):341-343
- [22] Tamura G, Yin J, Wang S, et al. E-cadherin gene promoter hypermethylation in primary human gastric carcinomas [J]. *Natl Cancer Inst*, 2000,92(7):569-573
- [23] Cheng HW, Chow V, Lam KY, et al. Loss of E-cadherin expression resulting from promoter hypermethylation in oral tongue carcinoma and its prognostic significance [J]. *Cancer*, 2002,94(2):386-392