

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.17.030

DDX5、E-cadherin 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义*

王振东¹ 赵雪琴² 郭蒲君¹ 周琳³ 夏彦民³ 姜涛^{3Δ}

(1 临汾市人民医院心胸外科 山西 临汾 041000; 2 临汾市人民医院病理科 山西 临汾 041000;

3 第四军医大学附属唐都医院胸外科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:探讨 DEAD-box 家族的 DDX5(RNA 解旋酶)和 E-钙黏蛋白(E-cadherin)在非小细胞肺癌(NSCLC)组织中表达,并分析其临床病理意义。**方法:**采用免疫组织化学方法(SP 法)和 Western blot 法检测手术切除的 NSCLC 组织 74 例及癌旁组织(距肿瘤 >5 cm) 36 例中 DDX5 和 E-cadherin 的表达情况,并对其与 NSCLC 患者的临床病理特征的相关性进行统计学分析。**结果:**NSCLC 组织中 DDX5 的阳性表达率显著高于癌旁组织(63.5% vs 30.6%), E-cadherin 的阳性表达率显著低于癌旁组织(60.8% vs 100%),差异均具有统计学意义($P < 0.05$); DDX5 和 E-cadherin 蛋白的表达水平与 NSCLC 的 TNM 分期以及淋巴结是否转移具有显著相关性($P < 0.05$),但二者与 NSCLC 患者的年龄、性别和肿瘤组织类型均无显著相关性($P > 0.05$)。DDX5 和 E-cadherin 蛋白的表达呈显著负相关($r = -0.327, P < 0.05$)。**结论:**DDX5 的过度表达及 E-cadherin 的表达下调可能参与了 NSCLC 的发生发展,且二者在其中可能也具有相互作用的关系。

关键词:非小细胞肺癌; DDX5; E-钙黏蛋白

中图分类号:R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)17-3320-05

The Expressions and Clinical Significances of DDX5 and E-cadherin in the Non-small Cell Lung Cancer*

WANG Zhen-dong¹, ZHAO Xue-qin², GUO Pu-jun¹, ZHOU Lin³, XIA Yan-min³, JIANG Tao^{3Δ}

(1 Department of thoracic surgery, Linfen people Hospital, Linfen, Shanxi, 041000, China;

2 Department of pathology, Linfen people Hospital, Linfen, Shanxi, 041000, China;

3 Department of thoracic surgery, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expressions and clinical significances of DEAD-box RNA helicase 5 (DDX5) and E-cadherin in the non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** The expressions of DDX5 and E-cadherin were measured with immunohistochemistry technique and western blot in 74 cases of non-small cell lung cancer tissues and 36 cases of adjacent normal tissues (5 cm away from carcinoma tissues) resected by surgery. The correlation of DDX5 and E-cadherin expressions and the clinical pathological features of NSCLC were also analyzed. **Results:** The expression of DDX5 was higher in NSCLC compared with the adjacent normal tissues (63.5% vs 30.6%) ($P < 0.05$). The expression of E-cadherin was lower in NSCLC compared with the adjacent normal tissues (60.8% vs 100%) ($P < 0.05$). The expressions of DDX5 and E-cadherin in NSCLC were related to the lymph node metastasis and pathological stage of the tumor ($P < 0.05$). But there was no significant correlation with the age, sex and pathological type of NSCLC ($P > 0.05$). A negative correlation was found between the expression of DDX5 and E-cadherin ($r = -0.327, P < 0.05$). **Conclusions:** Overexpression of DDX5 and down-regulation of E-cadherin might be involved in the development of NSCLC, DDX5 and E-cadherin might interact mutually.

Key words: Non-small cell lung cancer (NSCLC); DDX5; E-cadherin

Chinese Library Classification(CLC): R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)17-3320-05

前言

肺癌的发病率和死亡率已经成为全世界恶性肿瘤之首^[1],全球每年肺癌的新发病例超过 150 万例,中国已经成为肺癌的高发国家之一^[2]。肺癌的主要病因为各种室内外空气污染,包括吸烟、煤烟、工业石棉以及放射线等。大约有 85% 的肺癌为非

小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC), 70%~80% 患者在确诊时已属晚期,有一半的 NSCLC 患者初诊时就发生了远处转移,失去了手术机会,导致总体 NSCLC 的 5 年生存率为 15.9% 左右^[3],尤其是发生肺癌转移的患者 5 年生存率只有 4%。近年来,尽管采取了化疗、放疗、靶向治疗以及生物治疗等综合措施的个体化的治疗策略,但 NSCLC 患者预后仍然很差^[4]。

* 基金项目:陕西省自然科学基金研究计划项目(2014JM2-8144)

作者简介:王振东(1978-),博士研究生,主治医师,主要研究方向:胸腔外科,电话:13110499954, E-mail: wzd5957@126.com

Δ 通讯作者:姜涛(1964-),博士生导师,教授,主要研究方向:胸腔外科, E-mail: jiangtaochest@163.com

(收稿日期:2016-12-03 接受日期:2016-12-26)

因此,深入研究 NSCLC 的发生发展分子机制,寻找 NSCLC 诊断和治疗的新标志物,发展新的肺癌治疗的干预靶点是临床上迫切需要解决的问题。

DEAD-box 蛋白家族是氨基酸序列中包含有 D-E-A-D 固定序列。研究显示 DDX5 蛋白具有依赖 ATP 的 RNA 解旋酶作用,且其在癌症中经常过度表达,具有促进多种肿瘤发生和进展的作用^[5]。在肺癌中,DDX5 蛋白可能具有促进非小细胞肺癌增殖的作用^[6]。上皮型钙黏蛋白 E-cadherin 是细胞间起粘附作用的一种跨膜糖蛋白,分子量为 120 KDa,属钙黏蛋白超家族成员,是调节细胞间、细胞与基质间黏附性的重要分子。目前研究认为 E-cadherin 在肿瘤发生、侵袭、转移的过程中起着重要作用^[7,8]。本研究观察了 NSCLC 组织中 DDX5 和 E-cadherin 的表达情况,并探讨其与患者临床病理特征的相关性,以期为研究 NSCLC 侵袭转移的机制提供更多的参考依据。

1 资料与方法

1.1 材料

选取第四军医大学唐都医院胸腔外科 2011 年 1 月 -2013 年 7 月手术切除 NSCLC 标本 74 例及癌旁组织(距肿瘤 >5 cm) 36 例。其中男性 48 例,女性 26 例,年龄 32 岁至 78 岁,平均年龄(61.6± 9.91)岁,肺鳞癌 39 例,肺腺癌 35 例;临床分期采用国际抗癌联盟 (UICC)2002 年标准行 TNM 分期,I 期 16 人,II 期 25 人,III 期 33 例;N023 人,N1~N251 人。所有患者手术前均未接受过化疗、放疗等其他方式治疗,并且均已经病理诊断证实,且无其他恶性疾病及自身免疫性疾病。部分组织分装冻存管,并贴标签,冻存于液氮罐中,余下组织由 10%中性福尔马林固定,石蜡包埋切片后行 HE 染色。全部病理资料通过两名资深病理诊断医生复审确定诊断。

1.2 主要试剂

兔抗人 DDX5 单克隆抗体、兔抗人 E-cadherin 单克隆抗体购于美国 Sigma 公司;DAB 试剂盒由北京中杉金桥公司提供;ECL 显色液由西安晶彩科技有限公司提供;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体由康为世纪生物科技有限公司提供;兔抗人 β -actin 抗体由 Fermentas 公司提供;兔 SP 超敏检测试剂盒、枸橼酸钠粉由上海瑞齐生物科技有限公司提供。

1.3 实验方法

1.3.1 免疫组织化学染色 组织标本常规包埋、切片,随后常规脱蜡、脱水,再经过尿素消化,采用柠檬酸盐缓冲液加热进行抗原修复;通过滴加 3%的 H_2O_2 温浴 30 min 消除内源性过氧化物酶;然后滴加山羊血清封闭 30 min,甩去血清滴加兔抗人 DDX5 抗体和兔抗人 E-cadherin 抗体,放于 4℃ 冰箱;过夜后放于 37℃ 孵箱复温 45 min;随后轻轻甩去一抗,用 PBS 清洗,然后滴加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG,37℃ 孵育 30 min;通过 DAB 显色,在显微镜下观察组织染色变化情况,根据情况终止染色;苏木素复染,封片,拍照。阴性对照用 0.1 mol/L 的 PBS 液代替一抗。

1.3.2 免疫组织化学染色结果判定 采用双盲评分方法,在显微镜下取 5 个高倍观察视野(400×)片的平均值为阳性细胞染色强度的评分值。排除非特异性着色,排除明显血管硬化及出血区域,以每个 NSCLC 细胞区域的 100 个阳性染色细胞数为

计数单位,通过把染色细胞数量的评分值和染色强度评分值相加定为总分^[9]。DDX5 染色主要位于细胞核内,E-cadherin 染色主要位于细胞膜上;按阳性细胞百分率评分:≤ 25% 为 0 分,26%~50% 为 1 分,51%~75% 为 2 分,>75% 为 3 分;按染色强度评分:0 分为无显色,1 分为浅棕,2 分为棕黄色,3 分为棕褐色;将上述两项得分相加,1~2 分判为 "+",3~4 分为 "++",5~6 分为 "+++"。其中 "++" 和 "+++" 为阳性表达^[10]。

1.3.3 免疫印迹方法 将液氮罐中冻存的组织取出,在冰屑上将组织剪碎,然后将含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液加入组织中,接着在匀浆器中研磨,充分匀浆后,在 4℃,13000 r/min 离心 10 min;通过 BCA 法对上清液进行蛋白质定量;取每个样品 30 μ g,应用 SDS-PAGE 凝胶电泳系统电泳,将电泳膜上蛋白转移至 PVDF 膜上,用 5%脱脂奶粉在室温条件下封闭 2 h,TB-ST 清洗后,分别加入兔抗人 DDX5 抗体(1:500)、兔抗人 E-cadherin 抗体(1:500)和兔抗人 β -actin 抗体(1:1000),4℃ 过夜;第二天洗膜后,取辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 孵育标本 1 h,ECL 显影,拍照。

1.4 统计学分析

所有数据采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析。计量资料以 Mean± SD 表示,采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验;DDX5 与 E-cadherin 的相关性使用 Spearman 等级相关检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 组织及癌旁组织中 DDX5 和 E-cadherin 的表达比较

DDX5 阳性表达主要定位于肿瘤细胞核内,阳性表达为棕黄色染色,部分细胞质中可见有局灶性黄染,见图 1。E-cadherin 阳性表达主要定位于细胞膜上,显示呈棕黄色颗粒,见图 2。NSCLC 组织中 DDX5 阳性表达率为 63.5%(47/74),癌旁组织 DDX5 阳性表达率为 30.6%(11/36),二者比较差异具有显著性($P < 0.05$);NSCLC 组织中 E-cadherin 阳性表达率为 60.8%(45/74),显著低于癌旁组织 100%($P < 0.05$)。见表 1。

取保存的 NSCLC 组织标本和癌旁组织标本进行 Western blot 实验。用 Image J 检测蛋白质条带的吸光度值,以 DDX5/ β -actin 及 E-cadherin/ β -actin 的比值计算 DDX5 和 E-cadherin 的相对表达量,结果显示:NSCLC 组织中 DDX5/ β -actin 高于癌旁组织(0.84± 0.27 vs 0.28± 0.11, $P < 0.001$),见图 3;NSCLC 组织中 E-cadherin/ β -actin 低于癌旁组织(0.27± 0.10 vs 0.78± 0.26, $P < 0.01$),见图 3。

2.2 DDX5 和 E-cadherin 的表达与 NSCLC 患者临床病理特征的关系

在 NSCLC 组织中,DDX5 在无淋巴结转移组中阳性表达率为 43.5%(10/23),淋巴结转移组中的阳性表达率 72.6%(37/51),差异有统计学意义($P < 0.05$);DDX5 在 I + II 期 NSCLC 中的表达(43.9%,18/41)显著低于 III 期 NSCLC 中的表达(87.9%,29/33)($P < 0.05$)。E-cadherin 在无淋巴结转移组阳性表达率为 73.9%(17/23),高于淋巴结转移组的阳性表达率 54.9%(28/51),差异有统计学意义($P < 0.05$);E-cadherin 在 I + II 期 NSCLC 中的表达(73.2%,30/41)显著高于 III 期 NSCLC 中的表达(45.5%,15/33)($P < 0.05$)。此外,实验结果提示 DDX5 和

E-cadherin 的表达与患者的年龄、性别和肿瘤组织类型无关 (P>0.05),见表 1。

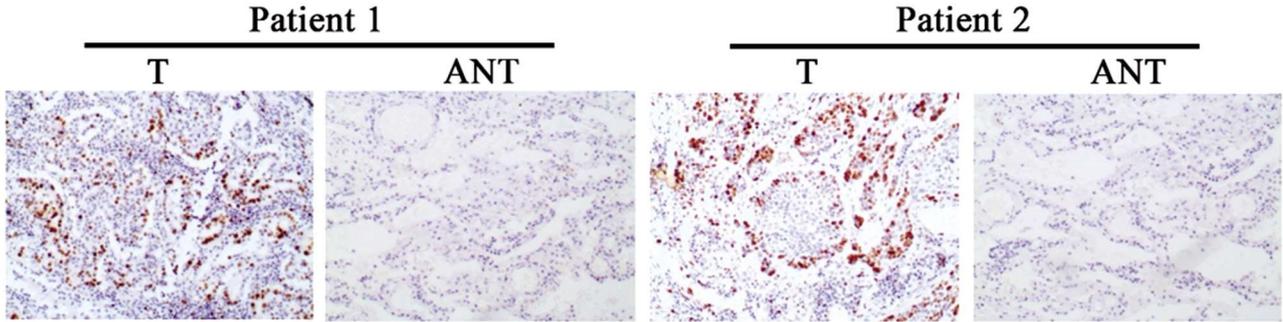


图 1 免疫组化检测 DDX5 在 NSCLC 和癌旁组织中的表达 (× 100)

Fig.1 Expression of DDX5 in NSCLC and Adjacent normal tissues by immunohistochemistry (× 100)

T: Tumor tissues (NSCLC); ANT: Adjacent normal tissues

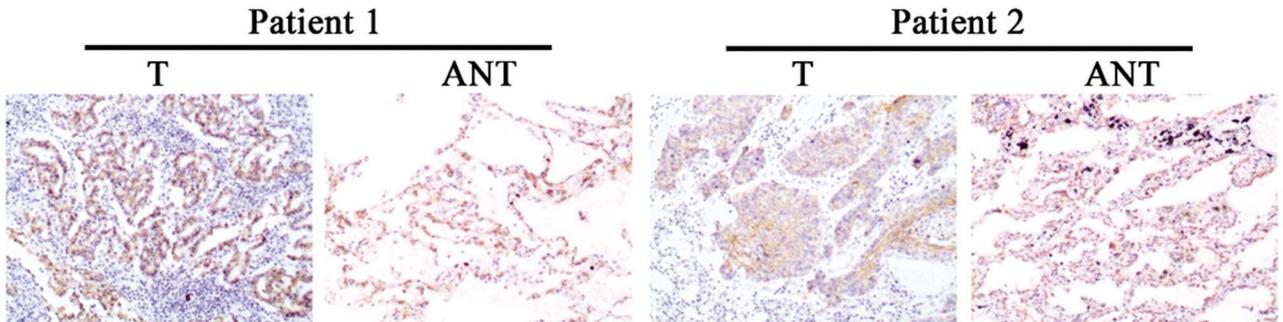


图 2 免疫组化检测 E-cadherin 在 NSCLC 和癌旁组织中的表达 (× 100)

Fig.2 Expression of E-cadherin in NSCLC and Adjacent normal tissues by immunohistochemistry (× 100)

T: Tumor tissues (NSCLC); ANT: Adjacent normal tissues

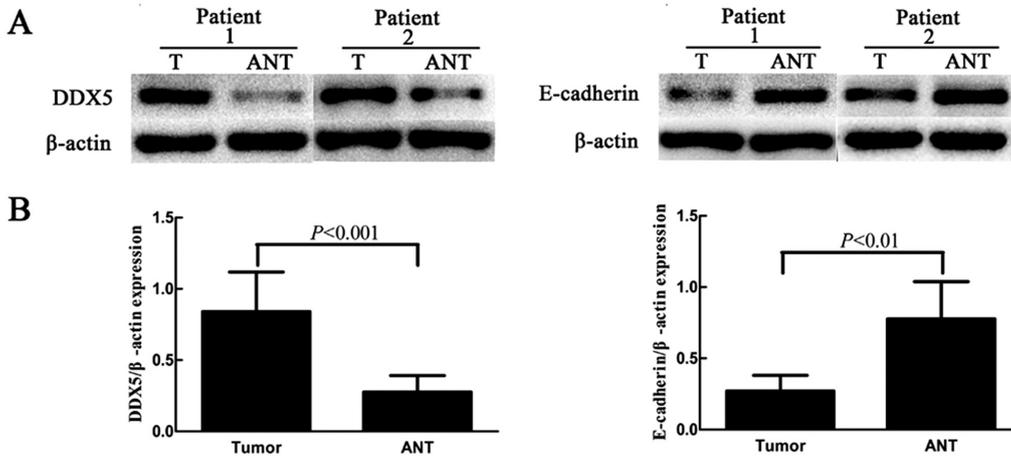


图 3 Western blot 显示 DDX5 和 E-cadherin 在 NSCLC 和癌旁组织中的表达

Fig.3 Expressions of DDX5 and E-cadherin in NSCLC and Adjacent normal tissues by Western blot

A: The Western blot of DDX5 and E-cadherin in NSCLC and adjacent normal tissues; B: The analysis of relative protein levels of DDX5 and E-cadherin;

T: Tumor tissues (NSCLC); ANT: Adjacent normal tissues

2.3 NSCLC 组织中 DDX5 与 E-cadherin 表达的相关性

DDX5 阳性表达组中 E-cadherin 的阳性表达率为 42.6 % (20/47), DDX5 阴性表达组中 E-cadherin 的阳性表达率为 92.6 % (25/47); E-cadherin 阳性表达组中 DDX5 的阳性表达率为 44.4 % (20/45), E-cadherin 阴性表达组中 DDX5 的阳性表达率为 93.1 % (27/29); Spearman's 相关性分析表明 DDX5 与 E-cadherin 在 NSCLC 中的表达呈负相关($r=-0.327, P<0.05$),见表 2。

3 讨论

DDX5 蛋白是 1980 年在研究抗猴病毒 SV-40 T 抗原抗体之间的交叉反应时被发现的, 可以消耗 ATP 解开 RNA 链。DDX5 蛋白质与 RNA 解旋酶 eIF4A 具有同源性, 是一个依赖于 ATP 的 RNA 解旋酶。DDX5 蛋白质主要起调控细胞的生长和分化作用^[1]。DDX5 属于 DEAD-box 家族, 包含 DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 为标志的序列。这些保守序列区域是构成结合 RNA、结合和水解 ATP、以及分子间相互作用的关键的一级氨基酸序列^[2]。RNA 解旋酶参与 mRNA 以及 miRNA 的加工和

降解过程, 细胞中 miRNA 对肿瘤细胞的调控起重要作用^[13]。DDX5 和 DDX17 是 DEAD-box 家族两个高度同源的 RNA 解旋酶, 二者均具有刺激细胞增殖、抑制细胞凋亡的作用^[14]。DDX5 在结肠癌、乳腺癌、前列腺癌等细胞中过度表达, 在癌症组织中可能起着重要的作用。激活 Wnt 信号后由 β -catenin 和 DDX5 以及 TCF4 之间形成一个转录调控的正反馈环路促进

乳腺癌增殖^[15]。对体内及体外的神经胶质瘤细胞的研究显示 DDX5 的异常表达促进肿瘤细胞增殖^[16]。NSCLC 中 DDX5 的异常表达可能是发生在肿瘤发生的早期。DDX5 可以通过促进 β -catenin 核易位, 使 NSCLC 细胞增殖^[6]。研究显示通过 PDGF 诱导 DDX5 磷酸化后可以促进 β -catenin 核易位, 并进一步使细胞发生表皮间质化转变(EMT)^[17]。

表 1 DDX5 和 E-cadherin 表达与 NSCLC 临床病理特征间的关系

Table 1 Correlation of the expressions of DDX5 and E-cadherin with the clinicopathological features of NSCLC patients

Groups	n	DDX5			E-cadherin		
		Positive	Negative	P	Positive	Negative	P
Tumor tissues	74	47	27		45	29	
Adjacent normal tissues	36	11	25	<0.05	36	0	<0.05
Gender							
Female	26	16	10		15	11	
Male	48	31	17	>0.05	30	18	>0.05
Age(years old)							
<60	29	18	11		18	11	
≥ 60	45	29	16	>0.05	27	18	>0.05
Histological types							
Squamous cell carcinoma	39	24	15		24	15	
Adenocarcinoma	35	23	12	>0.05	21	14	>0.05
Lymphatic metastasis							
Yes	51	37	14		28	23	
No	23	10	13	<0.05	17	6	<0.05
TNM stages							
I - II	41	21	20		30	11	
III	33	26	7	<0.05	15	18	<0.05

表 2 DDX5 和 E-cadherin 在非小细胞肺癌中表达的相关性分析

Table 2 Correlation of the expressions of DDX5 with E-cadherin in the NSCLC patients

DDX5	E-cadherin		Total	r	P
	+	-			
+	20	27	47		
-	25	2	27	-0.327	<0.05
Total	45	29	74		

E-cadherin 是细胞黏附分子家族中的重要成员之一, 其重要作用在于维护正常上皮细胞的形态和结构完整性^[18]。癌细胞从原发瘤脱落是肿瘤转移的先决条件之一, 而 E-cadherin 黏附功能的丧失就是细胞获得去分化和高侵袭性的关键^[19]。E-cadherin 正常表达的作用是介导同种细胞之间连接和黏附, 使肿瘤细胞保持密切接触, 难以脱离原发组织, 具有抑制肿瘤侵袭和转移的功能^[20]。近年来研究表明在包括 NSCLC 在内的多种肿瘤中, 肿瘤的侵袭和转移与 E-cadherin 表达降低有显著的相关性^[21]。本实验结果显示 NSCLC 组织中 E-cadherin 的阳性表达率(60.8%), 显著低于癌旁肺组织中 E-cadherin 的阳性表达率(100%), 且 E-cadherin 的表达与 NSCLC 淋巴结转移密切相关, 提示 E-cadherin 在 NSCLC 组织中的表达明显降低, 其在 NSCLC 的发生和进展中可能起重要作用。

此外, 研究结果表明 DDX5 和 E-cadherin 在 NSCLC 组织中的表达呈负相关。E-cadherin 蛋白表达下降或丢失可能是肿瘤发生侵袭的早期事件; 相反, DDX5 表达增加可能是促进肿瘤发生发展。因此, 其在肺癌侵袭和转移过程可能存在相互影响。有研究显示 β -catenin 在胞质中紧密链接 E-cadherin 起着维持胞质中黏附分子的链接作用^[22]。在乳腺癌细胞中, 研究显示 DDX5 与 β -catenin 具有相互作用, 可促进肿瘤进展。有研究显示 NSCLC 细胞中 DDX5 促进 β -catenin 核易位, 进而可能影响 E-cadherin 的表达, 导致 NSCLC 细胞粘附力下降, 进而促进肿瘤转移。我们推测在 NSCLC 组织中 DDX5 可能通过 E-cadherin 起促进癌细胞进展的作用, 但其具体分子机制仍需要进一步研究证实。

参考文献(References)

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132
- [3] Ettinger DS, Akerley W, Borghaei H, et al. Non-small cell lung cancer, version 2.2013[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2013, 11(6): 645-653
- [4] Lu B, Zhang H, Zhang T, et al. Topoisomerase I expression is associated with prognosis in postoperative non-small cell lung cancer patients[J]. *Thorac Cancer*, 2016, 7(4): 486-494
- [5] Abdelhaleem M. Do human RNA helicases have a role in cancer?[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1704(1): 37-46
- [6] Wang Z, Luo Z, Zhou L, et al. DDX5 promotes proliferation and tumorigenesis of non-small-cell lung cancer cells by activating β -catenin signaling pathway [J]. *Cancer Sci*, 2015, 106 (10): 1303-1312
- [7] Chen CL, Wang SH, Chan PC, et al. Phosphorylation of E-cadherin at threonine 790 by protein kinase C δ reduces β -catenin binding and suppresses the function of E-cadherin [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 37260-37276
- [8] Zhang P, Hong H, Sun X, et al. MicroRNA-10b regulates epithelial-mesenchymal transition by modulating KLF4/Notch1/E-cadherin in cisplatin-resistant nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(2): 141-156
- [9] Du C, Yi X, Liu W, et al. MTDH mediates trastuzumab resistance in HER2 positive breast cancer by decreasing PTEN expression through an NF κ B-dependent pathway[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 869
- [10] Warth A, Cortis J, Soltermann A, et al. Tumour cell proliferation (Ki-67) in non-small cell lung cancer: a critical reappraisal of its prognostic role[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(6): 1222-1229
- [11] Jones K, Wei C, Schoser B, et al. Reduction of toxic RNAs in myotonic dystrophies type 1 and type 2 by the RNA helicase p68/DDX5 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(26): 8041-8045
- [12] 朱玉萍, 沈涛, 王抒, 等. RNA 解旋酶 Ddx5(p68)和 Ddx17(p72)的特点和功能[J]. *生理科学进展*, 2012, 43(04): 294-297
- Zhu Yu-ping, Shen-tao, Wang Shu, et al. The characters and function of RNA helicase DDX5(p68) and Ddx17(p72)[J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2012, 43(04): 294-297
- [13] 吉丛, 喻长远, 陈志华. 肺癌诊治和预后判断分子标志 miRNA[J]. *中国肿瘤临床*, 2014, (41):1333-1336
- Ji Cong, Yu Chang-yuan, Chen Zhi-hua. Molecular marker miRNA for the diagnosis, treatment and prognosis of lung cancer [J]. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2014, 41(20): 1333-1336
- [14] Fuller-Pace FV. The DEAD box proteins DDX5 (p68) and DDX17 (p72): multi-tasking transcriptional regulators [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1829(8): 756-763
- [15] Guturi KK, Sarkar M, Bhowmik A, et al. DEAD-box protein p68 is regulated by β -catenin/transcription factor 4 to maintain a positive feed back loop in control of breast cancer progression [J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(6): 496
- [16] Jalal C, Uhlmann-Schiffler H, Stahl H. Redundant role of DEAD box proteins p68 (Ddx5) and p72/p82 (Ddx17) in ribosome biogenesis and cell proliferation[J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(11): 3590-3601
- [17] Yang L, Lin C, Liu ZR. P68 RNA helicase mediates PDGF-induced epithelial mesenchymal transition by displacing Axin from β -catenin[J]. *Cell*, 2006, 127(1): 139-155
- [18] Sridevi U, Jain A, Nagalaxmi V, et al. Expression of E-cadherin in normal oral mucosa, in oral precancerous lesions and in oral carcinomas[J]. *Eur J Dent*, 2015, 9(3): 364-372
- [19] Sung R, Kang L, Han JH, et al. Differential expression of E-cadherin, β -catenin, and S100A4 in intestinal type and nonintestinal type ampulla of Vater cancers[J]. *Gut Liver*, 2014, 8(1): 94-101
- [20] Xiao S, Liu L, Lu X, et al. The prognostic significance of bromodomain PHD-finger transcription factor in colorectal carcinoma and association with vimentin and E-cadherin [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015, 141(8): 1465-1474
- [21] Braga V. Spatial integration of E-cadherin adhesion, signalling and the epithelial cytoskeleton[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2016, 42: 138-145
- [22] Fagotto F. Looking beyond the Wnt pathway for the deep nature of β -catenin[J]. *EMBO Rep*, 2013, 14(5): 422-433