

钙黏附素和 β - 连接素与宫颈上皮内瘤变进展的关系

张娟娟¹ 陈永平² 张天峰¹ 吴秀霞¹

(深圳市第五人民医院¹ 妇科微创治疗中心² 病理科 广东 深圳 518001)

摘要 目的 观察钙黏附素(E-cadherin)和 β - 连接素(β -catenin)在不同级别宫颈上皮内瘤变组织中的表达,探讨其与宫颈上皮内瘤变进展的关系。**方法** :采用免疫组化法检测 51 例宫颈组织病理存档石蜡包埋组织钙黏附素 (E-cadherin) 和 β - 连接素 (β -catenin)的表达,阳性信号采用图像分析仪进行定量分析。**结果** :E-cadherin 在柱状上皮移位组及 CIN I 组、CIN II 组、CIN III 组中的平均光密度值 (AOD) 分别为 0.0866 ± 0.0392 、 0.073 ± 0.0122 、 0.0467 ± 0.0056 、 0.0396 ± 0.0097 β -catenin 在柱状上皮移位组及 CIN I 组、CIN II 组、CIN III 组中的平均光密度值 (AOD) 分别为 0.1101 ± 0.0116 、 0.1016 ± 0.0108 、 0.0711 ± 0.0062 、 0.0515 ± 0.0091 。随着 CIN 病变的升级,钙黏附素和 β - 连接素的表达均呈下降趋势,二者的平均光密度值 (AOD) 正相关($r=2.546$, $P=0.018<0.05$)。**结论** 钙黏附素、 β - 连接素与宫颈上皮内瘤变的进展相关,在估计 CIN 的预后中有一定意义。

关键词 钙黏附素 ; β - 连接素 宫颈上皮内瘤变 宫颈肿瘤 免疫组化

中图分类号 R737.33 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 18-3491-03

Expression and the Significance of E-cadherin and β -catenin in Cervical Intraepithelial Neoplasia

ZHANG Juan-juan¹, CHEN Yong-ping², ZHANG Tian-feng¹, WU Xiu-xia¹

(1 Department of Gynecology, 2 Department of Pathology, Shenzhen Luohu People's Hospital, Shenzhen, Guangdong, 518001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and the significance of E-cadherin and β -catenin in cervical intraepithelial neoplasia. To analysis whether a relationship between expression of E-cadherin and β -catenin and progression of cervical intraepithelial neoplasia. **Methods:** E-cadherin and β -catenin expressions in 51 cases of CIN and columnar ectopy was detected by Immunohistochemistry method and automatic image analysis technique. **Results:** The AOD values of E-cadherin in the columnar ectopy group, CIN I group, CIN II group and CIN III group are separately: 0.0866 ± 0.0392 , 0.073 ± 0.0122 , 0.0467 ± 0.0056 , 0.0396 ± 0.0097 . The AOD values of β -catenin in the columnar ectopy group, CIN I group, CIN II group and CIN III group are separately: 0.1101 ± 0.0116 , 0.1016 ± 0.0108 , 0.0711 ± 0.0062 , 0.0515 ± 0.0091 . The expressions of E-cadherin and β -catenin in cervical intraepithelial neoplasias are positive correlation notably ($r=2.546$, $P<0.05$). **Conclusions:** The results indicate that decreased E-cadherin and β -catenin expression might be related to the progression of cervical intraepithelial neoplasia, the two indicator might be a useful tool to evaluate the prognosis of CIN.

Key words: E-cadherin; β -catenin; Cervical Intraepithelial Neoplasm; Cervical Carcinoma; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification (CLC): 737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)18-3491-03

前言

近年来,宫颈癌发病率呈现出发病率升高及年轻化趋势^[1]。宫颈上皮内瘤变 CIN 指的是宫颈癌前病变至原位癌连续过程,CIN 的自然病程可能有 3 种结局,即病变消退、维持不变和病变进展。目前临床仅仅根据形态学改变无法判定究竟哪种癌前病变可能消退,进展或持续存在,因此,如果使用某种特异的分子生物学指标能够辅助判定宫颈癌前病变的转归,对于临床采用不同的治疗手段将有重要的指导价值。本文采用免疫组化法对宫颈柱状上皮移位组织、子宫颈上皮内瘤变(CIN)组织进行钙黏附素(E-cad)和 β - 连接素(β -cat)检测,探讨其与宫颈上皮内瘤变进展的关系,现报道如下:

1 材料与方法

作者简介 张娟娟(1970-),女,硕士,妇产科副主任医师,研究方向 妇科肿瘤。联系电话 0755-82255501 ;15012553919 ; Email:juanjuanyisheng@163.com
(收稿日期 2011-02-21 接受日期 2011-03-15)

1.1 材料收集

选取我院经电子阴道镜检查,宫颈活检组织标本 51 例。所有病例 13 种高危人乳头瘤病毒 HPV 检测 (第二代杂交捕获法,Hybrid Capture II) 阳性,年龄 28~49 岁,中位年龄 34 岁。其中柱状上皮移位 (columnar ectopy) 10 例、CIN I 级 9 例、CIN II 级 18 例、CIN III 级 14 例。所有病例术前均未实行放化疗或宫颈物理治疗,资料完整,且经病理证实。全部标本经 10% 福尔马林固定,石蜡包埋。

1.2 主要试剂

E-Cadherin (4A2C7)、Catenin (CAT-5H10) 单克隆抗体 (即用型),通用型 SP 试剂盒 (即用型)、DAB 试剂盒均购自北京中杉金桥公司,采用微波抗原修复 (pH 8.0 枸橼缓冲液)。

1.3 免疫组化

采用 S-P 法染色,切片常规脱蜡水化后,加入过氧化物酶阻断溶液阻断内源性过氧化物酶的活性,抗原修复后加入第一抗体,4℃冰箱过夜后,加入生物素标记的第二抗体,室温下孵育后再加入链霉素抗生物素蛋白 - 过氧化物酶溶液,DAB 显

色,苏木素复染,脱水、透明、封片。用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 结果判定

采用免疫组织化学 S-P 法,用结肠黏膜组织切片作为阳性对照,PBS 液代替一抗作为阴性对照,DAB 显色。光镜下观察并摄片,阳性标准为细胞膜上、细胞质或细胞核内出现棕色颗粒。正常表达为膜表达,在膜上或膜质同时表达,且阳性细胞面积大于观察面积的 80 % 为正常表达。异位表达包括胞质型、异质型,异常表达有胞质型、异质型表达及表达缺失。E-cad、β-cat 免疫反应产物的标记用光密度 (AOD) 表示,每张切片在光镜下随机选取 5 个高倍视野,每个视野系统自动随机测定 3 个不同的部位,提取阳性细胞,输入计算机,采用 Image-pro-plus 5.0 图像分析系统进行定量分析。测量 E-cad 和 β-cat 的平均光密度 (AOD),通过平均光密度的数值来比较其表达强度的高低。

1.5 统计分析

数据采用 SPSS12.0 统计软件处理,实验数据符合正态分布者采用均数± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,进行方差齐性检验,多组间均数比较采用单因素方差分析,两组间比较采用最小显著差异法 (LSD,Least-significant Difference) 检验,非正态数据两组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验,采用 Pearson 直线相关进行相关分析,取 P<0.05 为检验标准。

2 结果

2.1 E-cadherin 在柱状上皮移位组及宫颈上皮内瘤变组织中的表达

E-cadherin 在柱状上皮移位组及 CIN I 组、CIN II 组、CIN

III 组中的平均光密度值 (AOD) 分别为 0.0866± 0.0392、0.073± 0.0122、0.0467± 0.0056、0.0396± 0.0097。E-cadherin 的表达在柱状上皮移位组、不同级别宫颈 CIN 组织中的平均光密度值差异有统计学意义 (P<0.05),组间比较柱状上皮移位组高于 CIN II ~ III 级组;CIN I 级组高于 CIN II ~ III 级组,差异均有显著性意义 (P 值均 <0.05) 柱状上皮移位组与 CIN I 级组差异不显著;CIN II 级组与 CIN III 级组差异不显著 (P 值均 >0.05) (表 1)。

2.2 β-catenin 在柱状上皮移位组织及宫颈上皮内瘤变组织中的表达

β-catenin 在柱状上皮移位组及 CIN I 组、CIN II 组、CIN I-II 组中的平均光密度值 (AOD) 分别为 0.1101± 0.0116、0.1016± 0.0108、0.0711± 0.0062、0.0515± 0.0091。β-catenin 的表达在柱状上皮移位组、不同级别宫颈 CIN 组织中的平均光密度值 (AOD) 差异有统计学意义 (P 值 <0.05),组间比较柱状上皮移位组高于 CIN II ~ III 级组;CIN I 级组高于 CIN II ~ III 级组,差异均有显著性意义 (P 值均 <0.05);柱状上皮移位组与 CIN I 级组差异不显著;CIN II 级组与 CIN III 级组差异不显著 (P 值均 >0.05) (表 2)。

2.3 钙黏附素和 β-连接素在宫颈组织中表达的相关性

柱状上皮移位组、CIN I 级、CIN II 级、CIN III 级中,钙黏附素和 β-连接素的表达均呈下降趋势,比较其阳性细胞分布,E-cad 更广泛,阳性细胞更接近上皮的表层,在细胞浆表达更明显,而 β-catenin 更多出现异位表达及异质性表达。二者的平均光密度值 (AOD) 正相关 (r =2.546,P=0.018<0.05)。钙黏附素及 β-连接素在宫颈组织中的表达有相关性。

表 1 子宫颈病变组织 E-cad 的平均光密度值

Table 1 The expression of E-cadherin in cervical lesions, the average optical density(AOD)

Tissues	Number	AOD ($\bar{x} \pm s$)
Columnar ectopy group	10	0.0866± 0.0392
CIN I group	9	0.073± 0.0122*
CIN II group	18	0.0467± 0.0056
CIN III group	14	0.0396± 0.0097**

Note:*compared with CIN II group and CIN III group,p<0.05;** compared with CIN II group,p>0.05

表 2 子宫颈病变组织 β-连接素的平均光密度值

Table 2 The expression of β-catenin in cervical lesions, the average optical density(AOD)

Tissues	Number	AOD ($\bar{x} \pm s$)
Columnar ectopy group	10	0.1101± 0.0116
CIN I group	9	0.1016± 0.0108*
CIN II group	18	0.0711± 0.0062
CIN III group	14	0.0515± 0.0091**

Note:*compared with CIN II group and CIN III group, p<0.05; ** compared with CIN II group,p>0.05

3 讨论

宫颈癌是严重危害妇女健康的公共卫生问题之一,在宫颈

癌疫苗广泛应用的一个相当长的时间内,筛查以发现和治疗宫颈癌前病变及早期宫颈癌,仍然是宫颈癌预防的重要手段^[2]。各级宫颈上皮内瘤样病变均有发展成宫颈癌的趋势,但 CIN 不一

定均进展为宫颈癌。虽然学者们进行了大量相关研究,但仍未有理想成熟的手段或技术可预测 CIN 孰进孰退。

E-cadherin 是一类介导同种细胞之间相互粘附的钙依赖性跨膜糖蛋白,连接素(catenin, cat)是一组结构相似的细胞内糖蛋白家族,具有信号传导和细胞粘附两大功能,其中以 β -cat 研究较早。E-cadherin 通过与胞质内的 β -catenin 结合,形成 E-cad-cat 复合物共同介导上皮细胞间粘附,在维持上皮细胞的极性与组织结构的形成方面具有重要作用。

研究显示,在从正常宫颈上皮、CIN 以及宫颈浸润癌的不同阶段,细胞膜 E-cadherin 蛋白表达逐渐下降^[3-5]。Carico E^[3]等研究表明,E-cadherin 表达与宫颈组织的组织学发展进程呈相关关系,提示 E-cadherin 表达异常与 CIN 及宫颈癌细胞的去分化有关,E-cadherin 表达异常可能是癌变的原因之一。 β -cat 蛋白在正常宫颈上皮和 CIN 中的表达情况与 E-cad 蛋白表达相似^[5-7], β -cat 蛋白在正常宫颈上皮、CIN 各级和宫颈浸润癌中表达逐渐下降。在 CIN 和宫颈浸润癌中,普遍存在 β -cat 蛋白在胞浆或胞核中的异位表达,而且 β -cat 蛋白在胞浆和胞核中的异位表达的频率则与 CIN 或宫颈浸润癌的分化程度有关。因此, β -cat 蛋白表达的变化也是宫颈癌发生的早期事件。姜梅芳等^[8]通过对正常宫颈、CIN、宫颈鳞状细胞癌病例细胞 β -环连蛋白的表达情况进行免疫组化分析发现,正常宫颈上皮 β -环连蛋白的表达定位于基底层的细胞膜上,而在 CIN 和宫颈鳞状细胞癌患者可见 β -环连蛋白的胞浆和/或细胞核的异常表达,且从 CIN 到宫颈鳞状细胞癌 β -环连蛋白的异常表达率逐渐增强,这表明 β -环连蛋白的异位积聚在宫颈癌变过程中发挥着重要作用。通过检测 β -环连蛋白的异常表达情况对判断癌前病变的发展及预后有一定帮助。E-钙黏素和 β -连接素的异常表达可能是年轻宫颈患者发病的因素之一,并且在宫颈上皮内瘤变进展为宫颈癌的过程中起作用。

本研究分别对不同级别 CIN 的研究显示,E-cadherin 及 β -catenin 的表达随着 CIN 级别的升高呈递减趋势,其差异有显著性($P < 0.05$)。提示 E-cadherin 表达与宫颈上皮病理发展过程密切相关,随着 CIN 的进展,E-cadherin 及 β -catenin 的表达逐渐受到抑制而减弱,细胞间粘附连接作用也逐渐降低,是细胞逐渐失分化并获得侵袭能力的过程。在 CIN 中,普遍存在 β -catenin 蛋白在胞浆中的异位表达,而且 β -catenin 蛋白在胞浆中的异位表达的频率则与 CIN 级别有关。因此, β -catenin 蛋白表达的变化也是宫颈癌病变的早期, β -catenin 蛋白的异常表达可能与 CIN 的进展相关。

钙黏附素及 β -连接素分别在各组间比较显示 柱状上皮移位组高于 CIN II、III 级组;CIN I 级组高于 CIN II、III 级组,差异均有显著性意义(P 值均 < 0.05) 柱状上皮移位组与 CIN I 级组差异不显著 (P 值 > 0.05) CIN II 级组与 CIN III 级组差异不显著(P 值 > 0.05)。提示高度鳞状上皮内病变与低度鳞状上皮内病变在肿瘤进展中的预后不同。提示临床上应积极处理 CIN

III,重视 CIN II 的随访。

综上所述,钙黏附素及 β -连接素作为肿瘤生物学指标,可能在宫颈癌的早期筛查、诊断、治疗及预后判断中具有一定意义。检测宫颈细胞中某些特异性生物分子,可望提高诊断的特异性,降低漏诊率。个别的生物标志物的异常并不足以说明病变一定将发展为宫颈癌,但可以作为宫颈癌筛查的分子分级标志物,为宫颈疾病分级提供比目前常用的形态学分级更准确、更有临床指导意义的分子病理学分级。另外,传统单纯的细胞病理学检查只能通过经验对各个级别宫颈病变的晋级情况做出很粗略的估计,检测相关的生物标志物可了解宫颈病变的分级,为临床提供很好的科学评估指标,有利于临床医生客观评估患者情况,进行早期治疗和合理随访。

参考文献 (References)

- [1] 郎景和.子宫颈癌预防的现代策略[J].中国医学科学院学报,2007,9(5):575-578
Lang Jing-He. Modern Prevention Strategies of Cervical Cancer [J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 2007, 9(5):575-578
- [2] 陈国斌,李晴综述,刘植华.宫颈癌筛查现状与展望[J].中国肿瘤,2010,19(7):438-441
Chen Guo-Bin, Li Qing, Liu Zhi-Hua. Current Status and Prospect of Cervical Cancer Screening [J]. China Cancer, 2010, 19(7):438-441
- [3] Carico E, Atlante M, Bucci B, et al. E-Cadherin and α -Catenin Expression during Tumor Progression of Cervical Carcinoma [J]. Gynecologic Oncology, 2001, 80:156-161
- [4] Branca M, Giorgi C, Ciotti M. Down-regulation of E-cadherin is closely associated with progression of cervical intraepithelial neoplasia (CIN), but not with high-risk human papillomavirus (HPV) or disease outcome in cervical cancer [J]. Eur J Gynaecol Onco, 2006, 27(3): 215-223
- [5] Rodriguez Sastre MA, Gonzalez Maya L, Delgado R. Abnormal distribution of E-cadherin and beta-catenin in different histologic types of cancer of the uterine cervix[J]. Gynecol Oncol, 2005, 97(2):330-336
- [6] 丁晖,吴宜林,刘凤英,等.宫颈病变组织中 E-cad 和 β -cat 的表达及其意义[J].肿瘤防治杂志,2005,12(1):52-55
Ding Hui, Wu Yi-lin, Liu Feng-ying, et al. Clinical significance of E-cad and β -cat expressions in CIN and cervical squamous cell carcinoma [J]. Journal of Qilu Oncology, 2005, 12(1):52-55
- [7] 张丽颖,李福琴,艾丽敏,等. β -连环素与上皮型钙粘蛋白在宫颈鳞癌中的表达及意义[J].哈尔滨医科大学学报,2003,37:500-502
Zhang Li-ying, Li Fu-qin, Ai Li-min, et al. Expression of β -catenin and E-cadherin and their significance in cervical squamous carcinoma [J]. Journal of Harbin Medical University, 2003, 37:500-502
- [8] 姜梅芳,朱继红,苏文英,等.E-钙粘蛋白、 β -环连蛋白、上皮细胞粘附分子在宫颈鳞状细胞癌变过程中的表达 [J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(1):79-81
Jiang Mei-fang, Zhu Ji-hong, Su Wen-ying, et al. Expression of E-cadherin, β -catenin and epithelial cadherin in cervical squamous carcinoma [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2008, 23(1):79-81