

网络出版时间: 2018-11-5 15:39 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20181105.0926.032.html>

YAP、E-cadherin 和 Vimentin 在口腔鳞癌中的表达及临床意义

程如玉¹, 韩瑞¹, 王尚华¹, 丁翔¹, 丁丹丹¹, 冯振中², 徐锦程¹

摘要 采用免疫组化法检测 54 例口腔鳞癌及其癌旁组织中 Yes 相关蛋白 (YAP) 与上皮间质转化 (EMT) 相关蛋白 E-cadherin、Vimentin 的表达情况, 探讨其临床意义。YAP、Vimentin 在口腔鳞癌中的阳性表达高于癌旁组织 ($P < 0.01$), E-cadherin 的阳性表达低于癌旁组织 ($P < 0.01$); YAP 的阳性率与病理分级、淋巴结转移相关 ($P < 0.05$); E-cadherin、Vimentin 的阳性率与临床分期、病理分级、淋巴结转移相关 ($P < 0.05$); YAP 与 E-cadherin 的表达呈负相关性 ($r = -0.424, P < 0.01$), 与 Vimentin 的表达呈正相关性 ($r = 0.519, P < 0.01$)。YAP 可能通过调控 EMT 过程促进口腔鳞癌的侵袭转移。

关键词 口腔鳞癌; Yes 相关蛋白; 上皮间质转化; 侵袭和转移

中图分类号 R 739.8

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)12-1964-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.12.032

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC) 简称口腔鳞癌, 是颌面部最常见的恶性肿瘤

之一, 其侵袭和转移是导致患者 5 年生存率较低的主要原因^[1-2]。大量研究^[3-4]表明上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT) 不仅参与正常胚胎的发育和生成, 而且与肿瘤的侵袭和转移关系密切。Yes 相关蛋白(Yes-associated protein, YAP) 作为 Hippo 信号通路中起中心作用的开关蛋白, 在细胞的正常发育过程中结合转录因子 TEAD 促进下游基因的表达, 进而促进细胞增殖生长。虽然 YAP 在多数肿瘤中扮演着促癌基因的角色, 但在某些情况下, 其促凋亡作用致使 YAP 作为促癌基因遭到质疑。YAP 是否通过促进 EMT 进程, 在 OSCC 侵袭和转移中发挥重要作用, 目前尚无相关报道。该研究旨在通过检测 YAP 和 EMT 相关蛋白 E-cadherin 和 Vimentin 在 OSCC 中的表达情况, 进而探究其与临床病理参数的关系, 以为 OSCC 相关机制研究提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本选择 收集蚌埠医学院第一附属医院口腔颌面外科 2013 年 1 月~2016 年 12 月手术切除的经病理科完好存档的 OSCC 石蜡组织标本 54 例。要求原发部位在口腔, 术前未行放疗、化疗及其他影响肿瘤的治疗, 术后病理证实为 OSCC。同时选择

2018-07-26 接收

基金项目: 安徽省高校省级自然科学基金项目(编号: KJ2016A480)

作者单位: 蚌埠医学院第一附属医院¹ 口腔科、² 病理科, 蚌埠 233004

作者简介: 程如玉, 女, 硕士研究生;

徐锦程, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: xjch9999@163.com

were established by using two kinds of titanium meshes for reconstruction. Meanwhile, by means of loading application and simulating masticatory movement, the each part of stress distribution and displacement variation of two titanium meshes after repairing was observed. The results showed that the individual titanium mesh with approximate alveolar ridge aesthetic form was designed. The finite element comparison analysis showed that the total stress of the upper jaw bone was reduced by about 50% after the repairing. And after the restoration of personalized titanium mesh, the stress of the Von Mises in front teeth, titanium mesh, implantation, and anterior tooth restorer was slightly higher than that of conventional printed titanium mesh, and the difference was about 0.63%~24.03%. The stress cloud distribution of the two was relatively uniform, and the maximum stress value varied in 4.43~5.53 MPa. The displacement deformation of each structure was not obvious, which was basically 0.05 mm. The new individual titanium mesh has unique alveolar ridge shape, and its special structure will not produce stress concentration. It is helpful for the aesthetic reconstruction of the later stage of implant surgery, and the finite element method provides a better theoretical basis for the clinical aesthetic design and reconstruction of maxillofacial bone.

Key words 3D printing; titanium mesh; finite element analysis

癌旁正常上皮组织标本(经扩大切除,距离癌组织边缘 3 cm 以上) 54 例作为对照组。

1.1.2 病例资料 男 34 例,女 20 例;年龄 28 ~ 77 岁,中位年龄 52 岁;高分化 18 例,中分化 18 例,低分化 18 例;有淋巴结转移 24 例,无淋巴结转移 30 例;舌癌 24 例,唇癌 14 例,牙龈癌 10 例,口底癌 6 例;根据 WHO 临床分期标准分为 I 期 24 例,II 期 9 例,III 期 7 例,IV 期 14 例。本研究涉及的组织标本经医院伦理委员会批准,患者知情同意。

1.1.3 主要试剂 兔抗人 YAP 多克隆抗体 (ABP52720) 购自武汉艾美捷科技有限公司;兔抗人 E-cadherin 和 Vimentin 单克隆抗体 (MAB-0589、MAB-0735)、即用型免疫组化 EliVision™ plus 试剂盒 (KIT-9901)、DAB 显色剂购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.2 实验方法 所有组织标本经 4% 甲醛固定,常规石蜡包埋 4 ~ 5 μm 连续切片后,具体染色步骤严格按照 EliVision™ plus/HRP 免疫组化说明书进行。一抗 YAP、E-cadherin 及 Vimentin 稀释比例均为 1 : 300。磷酸盐缓冲液 (PBS) 代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判定 每张组织切片由 2 名病理科高年资医师在双盲下阅片。显微镜高倍视野下 ($\times 400$) 随机选择具有代表性的 5 个视野,根据周榕等^[5]、陈颖等^[6]判断标准进行评分:①染色程度:无着色 0 分;淡黄色 1 分;棕黄色 2 分;棕褐色 3 分;②阳性染色细胞百分比: < 5 % 0 分;6% ~ 25 % 1 分;26 % ~ 50 % 2 分; > 50 % 3 分。总评分按① \times

②计算,总分 < 3 分记为阴性反应 (-), ≥ 3 分为阳性反应 (+)。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 24.0 软件进行统计分析。分析 YAP、E-cadherin 及 Vimentin 的表达与临床病理参数之间的关系采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Pearson 检验,检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 YAP、E-cadherin 和 Vimentin 在 OSCC 和癌旁组织中的表达 YAP 阳性染色主要定位于细胞核和(或)细胞质,E-cadherin 阳性染色主要定位于细胞膜,Vimentin 阳性染色定位于细胞质。三者在 OSCC 和癌旁组织中的阳性表达率组间差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 1、表 1。

2.2 YAP、E-cadherin 和 Vimentin 的表达与 OSCC 临床参数的关系 YAP 的表达与 OSCC 的分化程度及有无淋巴结转移相关,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),而与临床分期、性别、年龄、发病部位均无关 ($P > 0.05$)。E-cadherin 和 Vimentin 的表达与 OSCC 临床分期、分化程度及有无淋巴结转移相关,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),而与患者性别、年龄、发病部位均无关 ($P > 0.05$),见表 2。

2.3 YAP、E-cadherin 和 Vimentin 在 OSCC 中表达的相关性 相关性分析显示,YAP 的表达与 E-cadherin 的表达呈负相关性 ($r = -0.424$, $P = 0.002$) 与 Vimentin 表达呈正相关性 ($r = 0.519$, $P = 0.001$),见表 3。

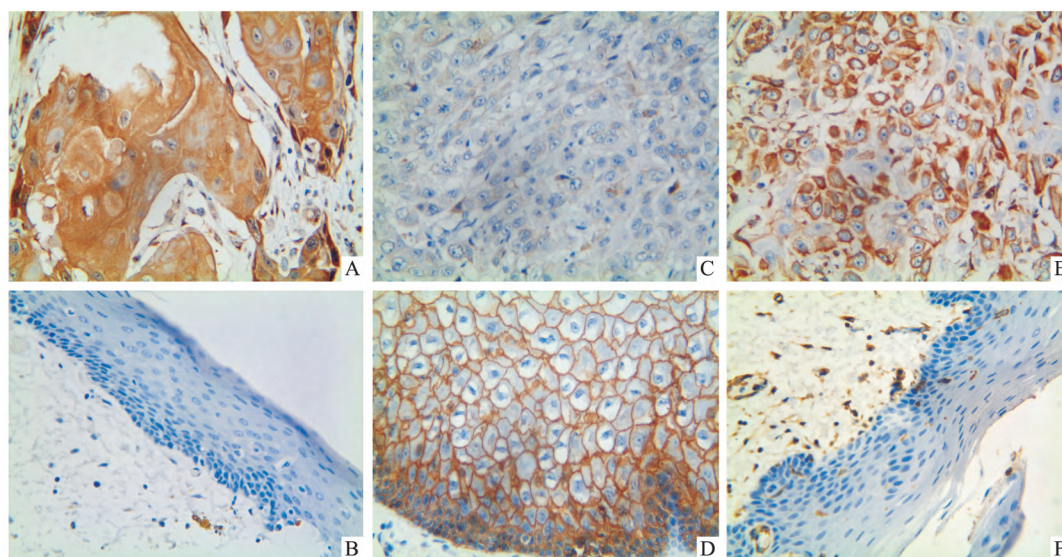


图 1 OSCC 和癌旁组织中 YAP、E-cadherin 和 Vimentin 的表达 SP $\times 400$

A、B: YAP 在 OSCC 及癌旁组织中的表达; C、D: E-cadherin 在 OSCC 及癌旁组织中的表达; E、F: Vimentin 在 OSCC 及癌旁组织中的表达

表1 YAP、E-cadherin 及 Vimentin 在 OSCC 和癌旁组织中的表达 [n(%)]

项目	n	YAP	χ^2 值	P 值	E-cadherin	χ^2 值	P 值	Vimentin	χ^2 值	P 值
肿瘤组织	54	46(85.2)	59.341	<0.01	26(48.1)	25.579	<0.01	30(55.6)	29.017	<0.01
癌旁组织	54	6(12.5)			50(92.6)			4(7.4)		

表2 YAP、E-cadherin 和 Vimentin 的表达与 OSCC 临床病理参数的关系 [n(%)]

病理参数	n	YAP 阳性	P 值	E-cadherin 阳性	P 值	Vimentin 阳性	P 值
性别							
男	34	28(82.35)	0.445	15(44.12)	0.440	18(52.94)	0.614
女	20	18(90.00)		11(55.00)		12(60.00)	
年龄(岁)							
≤65	38	32(84.21)	0.756	18(47.37)	0.860	20(52.63)	0.505
>65	16	14(87.50)		8(50.00)		10(62.50)	
部位							
舌	24	20(83.33)	0.176	14(58.33)	0.063	14(58.33)	0.074
唇	14	10(71.43)		6(42.86)		10(71.43)	
牙龈	10	10(100.00)		6(60.00)		2(20.00)	
口底	6	6(100.00)		0(0.00)		4(66.67)	
分期							
I ~ II	33	27(81.82)	0.383	20(60.61)	0.022	12(36.36)	<0.001
III ~ IV	21	19(90.48)		6(28.57)		18(85.71)	
分化							
低	18	17(94.44)	0.016	14(77.78)	0.009	16(88.89)	0.001
中	18	14(77.78)		6(33.33)		12(66.67)	
高	18	6(33.33)		6(33.33)		5(27.78)	
淋巴转移							
无	30	22(73.33)	0.006	20(66.67)	0.002	6(20.00)	<0.001
有	24	24(100.00)		6(25.00)		24(100.00)	

表3 OSCC 组织中 YAP、E-cadherin 和 Vimentin 的相关性分析(n)

YAP	E-cadherin		总计	r 值	P 值	Vimentin		总计	r 值	P 值
	+	-				+	-			
+	20	26	46	-0.424	0.002	30	16	46	0.519	0.001
-	7	1	8			0	8	8		
总计	27	27	54			30	24	54		

3 讨论

EMT 是指上皮样细胞表型在某些诱导因素的作用下向间质样细胞表型转化的过程。研究^[7-8]表明 EMT 是癌细胞获得侵袭和迁移能力的首要环节。细胞经历 EMT 后表现出多种上皮标志物的表达下调和间质标志物的表达上调,其中以 E-cadherin 和 Vimentin 最为典型。E-cadherin 仅在上皮细胞中表达,具有维持细胞极性、构建与相邻细胞及外基质间黏附连接的作用,其表达减少是癌症进展、侵袭和转移的前提条件。Vimentin 稳定表达于间叶细胞,作用与 E-cadherin 相反,其出现预示着癌细胞发生了间叶表型转变。本研究结果显示,E-cadherin 在 OSCC 中的表达较癌旁组织明显降低,在高分化、无淋巴结转移组高表达,在中低分化、有淋巴结转移组低

表达;而 Vimentin 在 OSCC 中的表达较癌旁组织明显增高,在高分化、无淋巴结转移组低表达,在中低分化、有淋巴结转移组高表达。表明随着 OSCC 恶性程度的提高,癌细胞获得 EMT 表型,发生了 EMT 现象。

Hippo 信号通路是高度保守的信号转导通路, YAP 作为其下游的关键效应蛋白,具有促进细胞增殖、抑制细胞凋亡和促进细胞恶性转化的作用^[9]。本研究结果显示: YAP 在 OSCC 中的表达显著高于癌旁组织, YAP 的阳性率与淋巴结转移、病理分级亦有相关性,与 Yoshikawa et al^[10]的研究结果基本相符。但与之相悖的是, YAP 的阳性率与临床分期无关,这可能与样本量较少有关,有扩大样本量乃至更深一步研究的必要。除此之外,本研究结果还表明: 高分化 OSCC 中 YAP 多单独表达于细胞质,而

中低分化 OSCC 中 YAP 可在细胞核及细胞质中均表达。这一现象表明: 不同分化的 OSCC 细胞内已发生分子生物学变化, 而 YAP 可能在其中起到了重要的作用。故细胞核 YAP 的高表达或许可作为评判 OSCC 进展及预后不良的指标之一。

有文献^[11-12]报道, YAP 对 EMT 起到潜在的诱导作用。本研究结果显示, YAP 的高表达伴随着 E-cadherin 表达的下调和 Vimentin 表达的上调, 即 YAP 在 OSCC 中与 E-cadherin 的表达呈负相关性, 与 Vimentin 的表达呈正相关性。这在一定程度上也表明了 YAP 可能作为诱导基因之一促进了 EMT 进程。其可能机制是 YAP 作为转录共激活因子, 通过与 Smad 蛋白家族结合, 进而激活转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 的活性, TGF- β 合成和释放增加, 导致细胞脱黏附、运动迁徙能力增强, 从而促进 OSCC 的侵袭和转移。

参考文献

- [1] Feng Z, Xu Q S, Wang C, et al. Clinicopathological features, management and outcome of patients with poorly-differentiated oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2017, 45(9): 1478-85.
- [2] Kullage S, Jose M, Shanbhag V K L, et al. Qualitative analysis of connective tissue stroma in different grades of oral squamous cell carcinoma: a histochemical study [J]. *Indian J Dent Res*, 2017, 28(4): 355-61.
- [3] Yu F X, Zhao B, Guan K L. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer [J]. *Cell*, 2015, 163(4): 811-28.
- [4] Nguyen L T, Tretiakova M S, Silvis M R, et al. ERG activates the YAP1 transcriptional program and induces the development of age-related prostate tumors [J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(6): 797-808.
- [5] 周榕, 石超吉, 韩永, 等. YAP 蛋白在口腔鳞癌中的表达及对肿瘤细胞迁移、侵袭的影响 [J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2016, 14(3): 203-8.
- [6] 陈颖, 姜昊声, 马俐君, 等. RhoGDI2 与 EMT 相关蛋白在结直肠癌组织中表达的临床意义及相关性 [J]. *中国实验诊断学*, 2015, 19(9): 1465-9.
- [7] Lee C, Siu A, Ramos D M. Multicellular spheroids as a model for hypoxia-induced EMT [J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(12): 6259-63.
- [8] Nagamine E, Hirayama K, Matsuda K, et al. Invasive front grading and epithelial-mesenchymal transition in canine oral and cutaneous squamous cell carcinomas [J]. *Vet Pathol*, 2017, 54(5): 783-91.
- [9] Zanconato F, Cordenonsi M, Piccolo S. YAP/TAZ at the roots of cancer [J]. *Cancer Cell*, 2016, 29(6): 783-803.
- [10] Yoshikawa K, Noguchi K, Nakano Y, et al. The Hippo pathway transcriptional co-activator, YAP, confers resistance to cisplatin in human oral squamous cell carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(6): 2364-70.
- [11] Liu Y, He K, Hu Y, et al. YAP modulates TGF- β 1-induced simultaneous apoptosis and EMT through upregulation of the EGF receptor [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45523.
- [12] Perumal N, Perumal M, Halagowder D, et al. Morin attenuates diethylnitrosamine-induced rat liver fibrosis and hepatic stellate cell activation by co-ordinated regulation of Hippo/Yap and TGF- β 1/Smad signaling [J]. *Biochimie*, 2017, 140: 10-19.

Expression and clinical significance of YAP, E-cadherin and Vimentin in oral squamous cell carcinoma

Cheng Ruyu, Han Rui, Wang Shanghua, et al

(Dept of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical University, Bengbu 233004)

Abstract The immunohistochemical method was used to detect the expression of Yes-associated protein (YAP), epithelial mesenchymal transition (EMT) associated proteins E-cadherin and Vimentin in 54 cases of oral squamous cell carcinoma and adjacent tissues, then the clinical significance was discussed. The positive expression of YAP and Vimentin in oral squamous cell carcinoma was higher than that of adjacent tissues ($P < 0.01$), the positive expression of E-cadherin was lower than that of adjacent tissues ($P < 0.01$). The positive rate of YAP was correlated with pathological grades and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The positive rate of E-cadherin and Vimentin was correlated with clinical stages, pathological grades and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The expression of YAP was negatively correlated with E-cadherin ($r = -0.424$, $P < 0.01$) but positively correlated with Vimentin in oral squamous cell carcinoma ($r = 0.519$, $P < 0.01$). YAP may promote the invasion and metastasis of oral squamous cell carcinoma by regulating epithelial mesenchymal transition.

Key words oral squamous cell carcinoma; Yes-associated protein; epithelial mesenchymal transition; invasion and metastasis