

E-钙黏附蛋白在乳腺浸润性导管癌中表达的分析

杨亮, 王斌, 朱丽萍, 吴涛, 赵倩, 迪力夏提·金斯汗, 杜露, 王波, 王喜艳

摘要 目的 探讨乳腺浸润性导管癌中 E-钙黏附蛋白(E-cadherin) 的表达及其相关因素。方法 采用免疫组织化学方法检测 30 例良性乳腺组织及 450 例乳腺浸润性导管癌病理组织切片中 E-cadherin 的表达情况, 采用 χ^2 检验及 Logistic 回归分析影响 E-cadherin 表达的影响因素及临床意义。结果 30 例纤维腺瘤中 E-cadherin 均呈高表达, E-cadherin 在 157 例无转移的癌组织中有 77 例高表达, 高表达率为 49.04% (77/157), 293 例有转移的癌组织中有 87 例高表达, 高表达率为 29.69% (87/293), 两组差异有统计学意义($\chi^2 = 16.53, P = 0.001$), E-cadherin 免疫组化染色高表达和低表达在年龄、淋巴结是否转移、肿块大小、ER 表达、分子分型及肿瘤组织学分级中差异有统计学意义($P < 0.05$), 而在肿瘤分期、是否绝经、CerbB-2 及 Ki-67 表达情况中差异无统计学意义, Logistic 回归分析提示: 淋巴结是否转移、肿块大小、ER 表达、分子分型及肿瘤细胞组织学分级是影响 E-cadherin 表达的影响因素。结论 E-cadherin 表达与淋巴结是否转移、ER 表达、分子分型及肿瘤组织学分级相关。

关键词 乳腺癌; E-钙黏蛋白; 淋巴结转移; 分子分型

中图分类号 R 735.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2017)03-0397-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.03.020

上皮-钙粘蛋白(E-cadherin) 是细胞黏附分子中的一员, 是上皮细胞的主要黏附分子。细胞黏附性改变和肿瘤浸润转移有关。研究^[1-3]显示 E-cadherin 在多种肿瘤中表达异常, 并与肿瘤的浸润转移密切相关。为探讨 E-cadherin 蛋白在乳腺癌组织中的表达影响因素及临床意义, 采用免疫组织化学法对 450 例乳腺癌组织中的 E-cadherin 蛋白进行了检测, 与乳腺癌各临床病理参数结合, 分析其表达的影响因素及在乳腺浸润性导管癌中表达的意义。

2016-12-01 接收

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(编号: 2016D01C353)

作者单位: 新疆医科大学附属肿瘤医院乳腺外科一病区, 乌鲁木齐 830011

作者简介: 杨亮, 男, 博士研究生, 主治医师;

王喜艳, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: wangxiyan2415@163.com

1 材料与方法

1.1 研究对象 研究人员使用计算机随机选取 2010 年 1 月~2011 年 1 月就诊于新疆医科大学附属肿瘤医院的初诊原发乳腺浸润性导管癌患者 512 例石蜡标本, 排除不符合入组标本 62 例; 乳腺良性病变标本 30 例。所有标本经过 10% 中性福尔马林溶液固定, 石蜡包埋后 4 μm 连续病理切片。

1.2 研究病例纳入标准 ① 乳腺病理确诊; ② 入院前无放疗、化疗及内分泌治疗史; ③ 卡式(karnofsky performance status, KPS) 评分 ≥ 80 分, 接受手术治疗, 所有样本由 3 位病理学专家进行过组织病理学鉴定为乳腺浸润性导管癌; ④ 无其他系统恶性肿瘤病史; ⑤ 手术前同意标本采集并签署知情同意书; ⑥ 经过新疆医科大学附属肿瘤医院伦理委员会批准。

1.3 研究病例排除标准 排除乳腺浸润性小叶癌及原位癌, 术前行化疗、放疗或内分泌治疗, 排除乳腺癌转移肿瘤及其他特殊类型乳腺肿瘤(肉瘤、微乳头状癌、淋巴瘤、炎性乳腺癌、妊娠期乳腺癌等)。

1.4 病例资料基本情况 乳腺癌患者年龄在 28~75(49.30 \pm 10.48) 岁, 绝经前患者 317 例, 绝经后患者 133 例。

1.5 方法 采用免疫组织化学染色 SP 法, 乳腺癌标本脱蜡、水化, 按试剂说明书步骤采用免疫组化 SP 法染色, 抗原修复采用微波法。E-cadherin 蛋白阳性的良性纤维腺瘤为阳性对照, 显微镜下随机选取 5 个视野, 每个视野计数 100 个细胞。

1.6 E-cadherin 染色结果的判断标准 由 3 位病理医师分别判定免疫组织化学染色结果。免疫组织化学染色后的切片, 每例随机观察 5 个视野($\times 400$), 观察着色程度并计算镜下阳性细胞数百分比。E-cadherin 表达以半定量法判定: 中等以上染色阳性细胞数 0%~10% 为 0 分, 11%~25% 为 1 分, 26%~50% 为 2 分, 51%~75% 为 3 分, >75% 为 4 分; ≤ 2 分为低表达或阴性组, ≥ 3 分为高表达或阳性组。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件进行

分析,单因素分析采用 χ^2 检验或确切概率方法,多因素分析采用 Logistic 回归分析方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 E-cadherin 在良性乳腺增生组织中的表达

在良性乳腺纤维腺瘤中,E-cadherin 主要分布在腺导管上皮和腺泡上皮细胞胞膜,在细胞膜上呈阳性棕黄色颗粒着色。30 例均为高表达,见图 1。

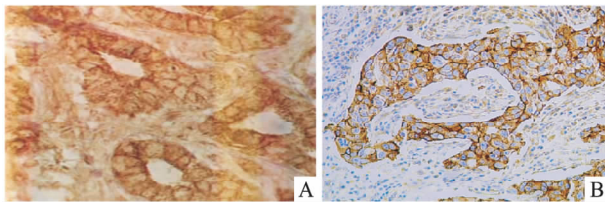


图 1 E-cadherin 在乳腺良、恶性组织中的表达

A: E-cadherin 在乳腺纤维腺瘤中高表达 SP $\times 400$; B: E-cadherin 在乳腺癌病灶中呈高表达 SP $\times 200$

2.2 E-cadherin 在乳腺浸润性导管癌中的表达

乳腺癌腺上皮细胞及间质细胞膜上 E-cadherin 染色阳性,呈棕黄色颗粒,见图 1。E-cadherin -、+ 为低表达或阴性表达,++、+++ 为高表达或阳性表达。淋巴结转移定义:指腋下淋巴结、前哨淋巴结镜下宏转移,同时包括淋巴结微转移,直径 < 2.0 mm 的肿瘤转移病灶、成簇肿瘤细胞及单个肿瘤细胞。E-cadherin 在浸润性乳腺导管癌细胞胞膜表达减弱,甚至缺失,见图 2。在 450 例浸润性乳腺导管癌组织中,E-cadherin 高表达比率为 36.44%,其中在 157 例无转移的癌组织中高表达比率为 49.04% (77/157),而在 293 例有淋巴结转移的癌组织中的高表达比率为 29.69% (87/293),检验表明 E-cadherin 在有转移的癌组织异常表达与无转移的癌组织表达比较亦明显增高,E-cadherin 的异常表达(低表达)与淋巴结转移密切相关 ($\chi^2 = 10.528, P < 0.001$),见表 1。

表 1 乳腺浸润性导管癌淋巴结转移与 E-cadherin 表达的关系

E-cadherin	n	淋巴结转移 [n(%)]		χ^2 值	P 值
		有	无		
阳性	164	87(53.0)	77(47.0)	16.528	0.001
阴性	286	206(72.0)	80(28.0)		

2.3 E-cadherin 在乳腺浸润性导管癌中的表达与乳腺癌病理临床特征的关系

乳腺浸润性导管癌细

胞膜上 E-cadherin 免疫组化染色高表达和低表达在年龄、淋巴结是否转移、肿块大小、雌激素受体(estrogen receptor, ER) 表达、分子分型及肿瘤组织学分级中差异有统计学意义 ($P < 0.05$),而在民族、是否绝经、CerbB-2 及 Ki-67 表达情况中差异无统计学意义。见表 2。

表 2 E-cadherin 表达与乳腺癌临床病理特征的关系

项目	n	E-cadherin 表达 (n)		高表达率 (%)	χ^2 值	P 值
		高表达	低表达			
民族						
汉族	314	110	204	35.032	0.895	0.344
维吾尔族	136	54	82	39.706		
年龄(岁)						
≤ 35	110	29	81	26.364	8.373	0.015
36~59	253	95	158	37.549		
≥ 60	87	40	47	45.977		
是否绝经						
否	317	114	203	35.962	0.108	0.743
是	133	50	83	37.594		
淋巴结阳性数目(个)						
无转移	157	77	80	49.044	18.796	0.001
1~3	203	66	137	32.512		
≥ 4	90	21	69	23.333		
乳腺肿块直径(cm)						
≤ 2	107	53	54	49.533	10.520	0.005
2~5	274	90	184	32.847		
≥ 5	69	21	48	30.435		
ER						
阳性	283	120	163	42.403	11.688	0.001
阴性	167	44	123	26.347		
组织学分级						
I	90	51	39	56.667	22.770	0.001
II	258	88	170	34.109		
III	102	25	77	24.510		
CerbB-2						
阳性	85	25	60	29.411	2.238	0.135
阴性	365	139	226	38.082		
Ki-67(%)						
≤ 14	41	20	21	48.780	2.964	0.085
> 15	409	144	265	35.208		
分子分型						
Luminal A	62	22	40	35.484	17.466	0.001
Luminal B	249	84	165	33.735		
HER-2 +	47	30	17	63.830		
三阴性	92	28	64	30.435		

2.4 E-cadherin 在乳腺浸润性导管癌中的表达多

因素分析 乳腺浸润性导管癌 E-cadherin 异常表达(低表达)的独立影响因素依次为淋巴结转移、分子分型、肿块大小、ER 表达及肿瘤细胞组织学分级,随着淋巴结转移的逐渐增多、肿块变大、分级增高,E-cadherin 越趋向于异常表达,同时 E-cadherin 表达

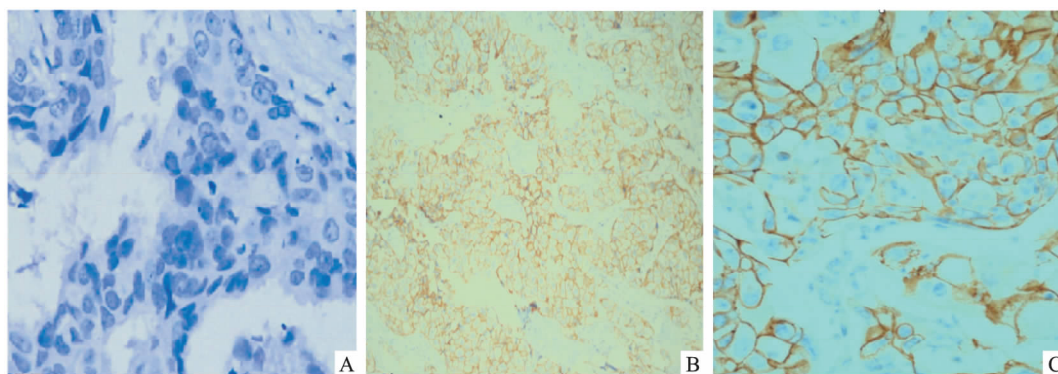


图2 E-cadherin 在乳腺浸润性导管癌灶中的表达情况

A: E-cadherin 不表达(-); B: E-cadherin 低表达(+); C: E-cadherin 高表达(++)

和肿瘤分化程度(分级)、分型(ER 表达情况)相关。见表3、4。

表3 影响乳腺癌 E-cadherin 表达的
临床病理因素 Logistic 回归变量赋值表

变量	变量分类及赋值
E-cadherin	低表达 = 1, 高表达 = 2
年龄	≤35 岁 = 1, 36 ~ 59 岁 = 2, ≥60 岁 = 3
组织学分级	I 级 = 1, II 级 = 2, III 级 = 3
肿瘤直径	T1 = 1, T2 = 2, T3 = 3
腋窝淋巴结转移	N0 = 1, N1 = 2, N2 = 3, N3 = 4
ER	阳性 = 1, 阴性 = 2
分子分型	Luminal A = 1, Luminal B = 2, HER-2(+) = 3, 三阴性 = 4

表4 乳腺癌组织中 E-cadherin 表达与临床病理特征关系的
Logistic 多因素回归分析

因素	B	SE	Wald χ^2	P 值	OR 值	95% CI
年龄	0.675	0.357	1.676	0.064	1.071	0.844 ~ 3.129
组织学分级	1.415	0.210	2.041	0.046	1.203	0.977 ~ 3.215
肿瘤直径	1.685	0.342	4.136	0.010	1.715	1.037 ~ 4.637
淋巴结转移	1.781	0.414	6.533	0.003	2.460	2.068 ~ 5.152
ER	1.304	0.218	1.841	0.041	1.302	0.984 ~ 3.343
分子分型	1.710	0.533	6.145	0.013	1.660	1.018 ~ 4.602
常量	1.242	1.043	1.805	0.154	3.210	-

3 讨论

乳腺癌的发病率在不断的增长,已成为中国女性最常见的恶性肿瘤^[4-5]。乳腺癌转移仍严重影响预后,并且是导致死亡的主要原因^[6]。诊断为早期乳腺癌的患者在接受辅助治疗后,其中仍有 30% 的患者最终会出现局部复发或转移^[7]。乳腺癌术后复发、转移是困扰临床的难题。

恶性肿瘤浸润及转移机制中首先是细胞黏附性

改变,黏附分子介导的肿瘤细胞彼此之间的黏附力减少,肿瘤出现倾向浸润及转移。因此细胞间黏附性下降是导致肿瘤转移的因素之一。

E-钙黏蛋白是一种细胞黏附糖蛋白,其不仅是肿瘤细胞侵袭转移抑制剂,也是正常细胞生长接触抑制剂。研究^[8-9]显示癌细胞发生上皮间质转化时 E-cadherin 表达下降或功能缺失,细胞间黏附力下降、极性丢失,向周围组织浸润生长,并可脱离癌灶发生转移。E-钙粘蛋白成为钙粘蛋白家族成员中研究的热点之一。目前研究^[10-12]显示 E-cadherin 参与不同肿瘤的早期发生、浸润及转移。其表达与多种肿瘤的浸润转移、临床预后有密切联系^[13-14]。

本研究提示 E-cadherin 低表达或者缺失与淋巴结转移呈正相关性,有局部淋巴结转移乳腺癌患者的阴性表达率明显高于无局部淋巴结转移乳腺癌患者,二者之间差异有统计学意义。推测在机体正常情况下 E-cadherin 发挥正常作用维持细胞形态,随着肿瘤发生发展 E-cadherin 遭破坏,在细胞与细胞间的表达能力下降,导致细胞自肿瘤组织中脱落进而引起肿瘤的转移,这说明 E-cadherin 与乳腺导管癌的浸润和转移密切相关,可以作为预测浸润性乳腺导管癌淋巴结转移的肿瘤标志物。数据分析研究^[15]显示 E-cadherin 高表达相关因素和年龄、淋巴结是否转移、肿块大小、ER 表达、分子分型及肿瘤细胞组织学分级有关,其差异有统计学意义,通过多因素 Logistic 回归研究分析发现淋巴结转移、分子分型、肿块大小、ER 表达及瘤细胞分级为乳腺浸润性导管癌 E-cadherin 表达的独立影响因素,和部分学者研究一致,E-cadherin 表达、信号传导通路及调控机制仍需要大量研究。

参考文献

- [1] 李琴, 谢琼. 鼻咽癌组织 Ezrin、E-cadherin 表达及其与肿瘤侵袭、转移及患者预后的关系 [J]. 山东医药, 2016, 56(40): 94-6.
- [2] 陈仕才, 杨国华, 李建昌, 等. CD133 和 E-cadherin 在结直肠癌组织中的表达及意义 [J]. 广东医学, 2016, 37(15): 2264-7.
- [3] 倪卓然, 谢坤, 赵红川, 等. 肝细胞癌组织中 Shh、Gli1、Snail、E-cadherin 表达的临床研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(4): 536-41.
- [4] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer Statistics 2016 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.
- [5] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-32.
- [6] Milioli H H, Santos Sousa K, Kaviski R, et al. Comparative proteomics of primary breast carcinomas and lymph node metastases outlining markers of tumor invasion [J]. Cancer Genomics Proteomics, 2015, 12(2): 89-101.
- [7] Berman A T, Thukral A D, Hwang W T, et al. Incidence and patterns of distant metastases for patients with early stage breast cancer after breast conservation treatment [J]. Clin Breast Cancer, 2013, 13(2): 88-94.
- [8] Paredes J, Figueiredo J, Albergaria A, et al. Epithelial E-and P-cadherins: role and clinical significance in cancer [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1826(2): 297-311.
- [9] Ye Y, Tian H, Lange A R, et al. The genesis and unique properties of the lymphovascular tumor embolus are because of calpain-regulated proteolysis of E-cadherin [J]. Oncogene, 2013, 32(13): 1702-13.
- [10] 田茗源, 王林辉, 张雄, 等. 肺癌组织中 E-cadherin 和 Vimentin 的表达及其与上皮-间质转化的相关性 [J]. 中国生物制品学杂志, 2011, 24(9): 1068-71.
- [11] Wendt M K, Taylor M A, Schiemann B J, et al. Down-regulation of epithelial cadherin is required to initiate metastatic outgrowth of breast cancer [J]. Mol Biol Cell, 2011, 22(14): 2423-35.
- [12] Bodnar L, Stanczak A, Cierniak S. Wnt/ β -catenin pathway as a potential prognostic and predictive marker in patients with advanced ovarian cancer [J]. J Ovarian Res, 2014, 7(1): 1-10.
- [13] Kabbage M, Trimeche M, Ben Nasr H, et al. Expression of the molecular chaperone α B-crystallin in infiltrating ductal breast carcinomas and the significance thereof: an immunohistochemical and proteomics-based strategy [J]. Tumour Biol, 2012, 33(6): 2279-88.
- [14] Li Y, Tang Y, Zhou R, et al. Genetic polymorphism in the 3'-untranslated region of the E-cadherin gene is associated with risk of different cancers [J]. Mol Carcinog, 2011, 50(11): 857-62.
- [15] Kashiwagi S, Yashiro M, Takashima T, et al. Significance of E-cadherin expression in triple-negative breast cancer [J]. Br J Cancer, 2010, 103(2): 249-55.

Expression of E-calcium binding protein in invasive ductal carcinoma of breast

Yang Liang, Wang Bin, Zhu Liping, et al

(Dept of Breast Surgery, Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011)

Abstract Objective To investigate the expression of E-calcium binding protein (E-cadherin) in invasive ductal carcinoma of breast and its related factors. **Methods** The immunohistochemical method was used to detect E-cadherin expression in 30 cases of benign breast tissue and 450 cases of breast invasive ductal carcinoma, using the chi-square test and logistic regression analysis of factors influencing the effects of E-cadherin expression and its clinical significance. **Results** 30 cases of breast fibroadenoma were positive expression of E-cadherin; E-cadherin high expression was 49.04% (77/157) in 157 cases of non metastatic breast cancer; E-cadherin high expression was 29.69% (87/293) in lymph node metastasis of 293 cases breast cancer. The expression of E-cadherin in breast cancer without lymph node metastasis and lymph node metastasis group had significant difference ($\chi^2 = 16.53$, $P = 0.001$). E-cadherin high expression and low expression in age, lymph node metastasis, tumor size, ER expression and molecular typing and tumor grade were statistically significant ($P < 0.05$), but in tumor staging and menopause, CerbB-2, Ki-67 expression, the difference were not statistically significant. Logistic regression analysis showed that lymph node metastasis, tumor size, ER expression, molecular typing and grading of tumor cells were the factors influencing the effects of E-cadherin expression. **Conclusion** E-cadherin expression is related to lymph node metastasis, ER expression, molecular typing and tumor grade.

Key words breast cancer; E-cadherin; lymph node metastasis; molecular typing