

E-cad 及 EpCAM 在子宫内膜癌中的表达及意义

周猷伟, 方旖骅, 杨媛媛, 颜士杰

摘要 目的 研究上皮型钙黏素(E-cad)及上皮细胞黏附分子(EpCAM)在子宫内膜癌中的表达及其在子宫内膜癌的发生、发展和预后中的意义。方法 应用免疫组化PV法检测30例正常增生期子宫内膜、30例单纯性增生子宫内膜、30例复杂型或伴不典型增生子宫内膜和40例子宫内膜癌中E-cad及EpCAM的表达情况,并结合临床进行分析。结果 E-cad在正常增生期子宫内膜至癌性内膜的发展过程中以及随着子宫内膜癌患者肌层浸润深度的增加、淋巴转移及FIGO临床分期的增加,其表达阳性率逐渐下降,EpCAM则反之($P < 0.05$);E-cad及EpCAM在子宫内膜癌组织中的表达呈负相关($P < 0.05$)。结论 子宫内膜癌中E-cad蛋白的低表达与EpCAM蛋白的高表达和两者之间的负相关与子宫内膜癌的恶性程度及预后有关,同时提示了以Wnt信号通路为基础的分子靶向治疗的可能性。

关键词 子宫内膜癌;上皮型钙黏素;上皮细胞黏附分子

中图分类号 R 711.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)05-0629-04

子宫内膜癌是发生于子宫内膜的一组上皮性恶性肿瘤,以来源于子宫内膜腺体的腺癌最常见,是女性生殖道最常见的恶性肿瘤之一^[1]。近年来,子宫内膜癌的发病率在世界范围内呈上升趋势,其病因仍不十分明确。上皮型钙黏素(E-cadherins,E-cad)是一类介导同种细胞间相互黏附的钙依赖性跨膜糖蛋白,广泛存在于机体上皮组织,是维持上皮细胞形态、结构完整性和极性的重要分子^[2]。上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule,EpCAM)是一种单次跨膜蛋白,几乎表达于所有的腺癌中,多位于细胞间紧密连接处,具有参与调节细胞间黏附,介导信号转导、细胞迁移、增殖及分化等作用^[3]。目前,对于E-cad和EpCAM在子宫内膜癌的发生、发

展过程中的表达变化仍不清楚。为此,该研究通过免疫组化PV法检测E-cad及EpCAM在40例子宫内膜癌组织中的表达情况,探讨其表达变化在子宫内膜癌的发生、发展和预后中的意义。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取安徽医科大学第一附属医院妇产科2012年1月~2013年1月收治资料完整的经手术治疗的子宫内膜癌患者40例,年龄42~77(54.37±7.75)岁。按照国际妇产科联盟(FIGO,1988)子宫内膜癌病理分期方法进行病理组织学分级,其中G1为16例,G2为12例,G3为12例;同时按照FIGO(2009)子宫内膜癌的手术-病理分期,I期为17例,II期为13例,III期为10例;其中肌层浸润深度<1/2肌层为26例,≥1/2肌层为14例;无淋巴转移者27例,有淋巴转移者13例;腺癌37例,鳞癌3例。患者术前均未行放疗、化疗和激素治疗,标本均经病理学诊断复核。另取经诊断性刮宫或手术切除子宫患者的子宫内膜存档蜡块,经病理证实为正常增生期子宫内膜30例、单纯性增生子宫内膜30例、复杂型或伴不典型增生子宫内膜30例,作为对照。

1.2 主要试剂及实验方法 标本经10%福尔马林固定,石蜡包埋,切成4μm厚的切片。采用免疫组化PV法进行染色。即用型鼠抗人E-cad单克隆抗体(货号为ZM-0092)、通用型二步法检测试剂盒(PV-6000)、DAB试剂盒购自北京中杉金桥生物制品公司;纯化的鼠抗人EpCAM单克隆抗体(货号为SC-66020)购自美国Santa Cruz公司,稀释倍数为1:100。染色步骤参照说明书进行。用既往阳性切片作为阳性对照,用PBS代替一抗作为阴性对照。

1.3 免疫组化染色结果判断 以细胞膜出现明显的线性棕黄色着色为阳性细胞,无着色或与背景颜色一致为阴性细胞。免疫组化染色强度参照Form-witz评分方法^[4],E-cad及EpCAM细胞计分为:无阳性细胞为0分,阳性细胞百分率1%~25%为1分,26%~50%为2分,>50%为3分;根据多数细胞的着色强度计算强度得分,无显色为0分,浅黄色

2014-02-17 接收

基金项目:安徽省高等学校省级自然科学基金项目(编号:KJ2009B011Z)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院妇产科,合肥 230022

作者简介:周猷伟,男,硕士研究生;

杨媛媛,女,副主任医师,责任作者,E-mail:wlj69513@ sina.com;

颜士杰,女,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:ysj5851@126.com

为1分,深黄色为2分,棕黄色为3分。依据二者的乘积,将染色情况分为三级:0分为(-);1~3分为(+);4~9分为(++)。

1.4 统计学处理 应用SPSS 13.0统计软件进行分析,各组间的比较采用χ²检验和Fisher概率法。

2 结果

2.1 E-cad在各组的表达情况 E-cad主要表达于细胞膜,部分细胞胞质着色。从正常增生期子宫内膜至癌性内膜的进展过程中,E-cad的表达强度逐渐下降,见图1。E-cad在正常增生期子宫内膜中表达最强,阳性率为93.3%(28/30),而在癌性内膜中表达最弱,阳性率为42.5%(17/40),在单纯性增生子宫内膜和复杂型或伴不典型增生子宫内膜中的表达介于二者之间,阳性率分别为73.3%(22/30)和53.3%(16/30),见表1。

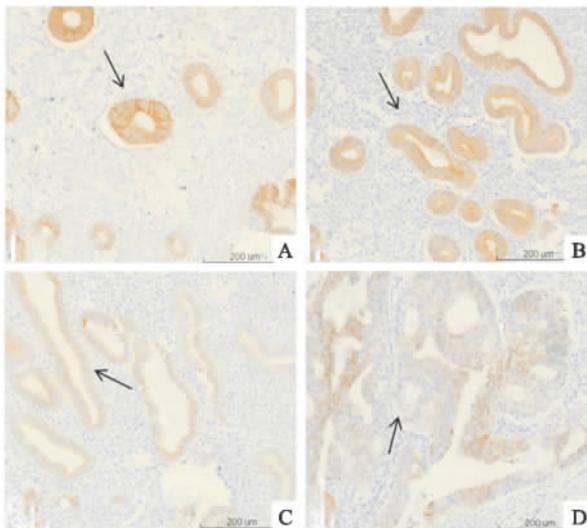


图1 E-cad在各组子宫内膜组织中的表达 PV×40

A:正常增生期子宫内膜;B:单纯性增生子宫内膜;C:复杂型或伴不典型增生子宫内膜;D:子宫内膜癌

表1 E-cad在各组的表达情况

组别	n	结果(n)			阳性率 (%)
		-	+	++	
正常增生期子宫内膜	30	2	6	22	93.3
单纯性增生子宫内膜	30	8	6	16	73.3
复杂型或伴不典型增生子宫内膜	30	14	6	10	53.3 ^{△△}
子宫内膜癌	40	23	8	9	42.5 ^{△△▲▲}

与正常增生期子宫内膜比较:△△P<0.01;与单纯性增生子宫内膜比较:▲▲P<0.01

2.2 EpCAM在各组的表达情况 EpCAM主要表达于细胞膜,部分胞质或核着色。从正常增生期子

宫内膜、单纯性增生子宫内膜、复杂型或伴不典型增生子宫内膜至子宫内膜癌的进展过程中,EpCAM的表达强度逐渐增加,见图2,阳性率分别为33.3%、46.7%、66.7%和77.5%,见表2。

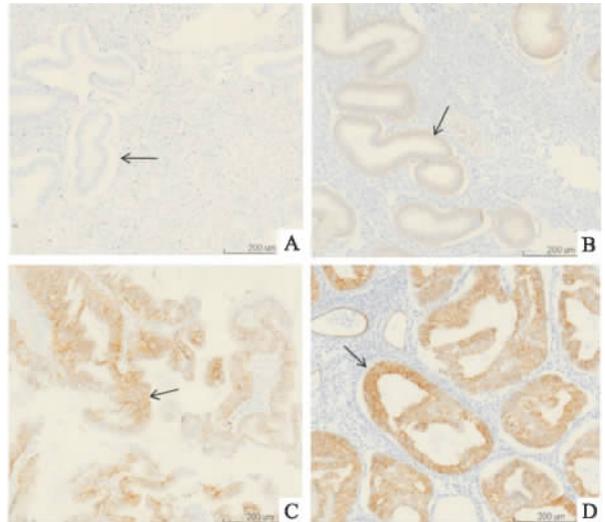


图2 EpCAM在各组子宫内膜组织中的表达 PV×40

A:正常增生期子宫内膜;B:单纯性增生子宫内膜;C:复杂型或伴不典型增生子宫内膜;D:子宫内膜癌

表2 EpCAM在各组的表达情况

组别	n	结果(n)			阳性率 (%)
		-	+	++	
正常增生期子宫内膜	30	20	7	3	33.3
单纯性增生子宫内膜	30	16	8	6	46.7
复杂型或伴不典型增生子宫内膜	30	10	8	12	66.7 ^{△△}
子宫内膜癌	40	9	11	20	77.5 ^{△△▲▲}

与正常增生子宫内膜比较:△△P<0.01;与单纯性增生子宫内膜比较:▲▲P<0.01

2.3 E-cad及EpCAM的表达与子宫内膜癌临床指标的关系 E-cad的表达与子宫内膜癌患者的肌层浸润深度、淋巴结转移、手术-病理分期均有关。E-cad在病理分级G1、G2、G3患者表达阳性率分别为43.8%、41.7%和41.7%,组间差异无统计学意义;肌层浸润深度<1/2患者E-cad的表达高于浸润深度≥1/2的患者(P<0.05);无淋巴转移者表达高于有淋巴转移者(P<0.05);临床I、II、III期患者表达阳性率分别为64.7%、30.8%和20.0%,组间差异有统计学意义(P<0.05)。EpCAM的表达随着肌层浸润深度的增加、淋巴转移及FIGO临床分期的增加而逐渐增强(P<0.05),见表3。

2.4 子宫内膜癌组织中E-cad及EpCAM表达的相关性 E-cad及EpCAM在子宫内膜癌组织中的

表达呈负相关($\chi^2 = 4.198, P = 0.04$),见表4。

表3 E-cad 及 EpCAM 表达与子宫内膜癌临床指标的关系(n)

项目	n	E-cad			P 值	EpCAM			P 值
		-	+	++		-	+	++	
病理分级									
G1	16	9	3	4	>0.05	4	4	8	>0.05
G2	12	7	3	2		3	3	6	
G3	12	7	2	3		2	4	6	
肌层浸润深度									
<1/2	26	12	6	8	<0.05	9	10	7	<0.05
≥1/2	14	11	2	1		0	1	13	
淋巴结转移情况									
无	27	12	7	8	<0.05	9	8	10	<0.05
有	13	11	1	1		0	3	10	
临床分期									
I	17	6	5	6	<0.05	6	2	9	<0.05
II	13	9	2	2		3	5	5	
III	10	8	1	1		0	4	6	

表4 E-cad 及 EpCAM 在子宫内膜癌中的表达相关性

E-cad	EpCAM		合计
	阴性	阳性	
阴性	2	21	23
阳性	7	10	17
合计	9	31	40

3 讨论

3.1 E-cad 蛋白的表达与子宫内膜癌的相关性

钙黏附素家族是一类介导同种细胞间相互黏附的钙依赖性跨膜糖蛋白,其中 E-cad 是参与形成和维护细胞间连接最重要的分子之一,广泛表达于上皮细胞膜的侧缘和细胞间黏附区。本研究显示,在从正常增生期子宫内膜到癌性内膜的进展过程中,E-cad 表达强度下降,从正常内膜到复杂型或伴不典型增生内膜,再发展至癌性内膜这个过程并无明确界限,细胞间失去相互连接,成为肿瘤发生、发展的基础,即 E-cad 表达异常或缺失可能参与启动了这一过程。E-cad 在上皮极性和完整性维持等方面发挥作用,促使不同细胞间形成如缝隙连接、桥粒连接等,同时可促进旁分泌信号的传递,具有传递信息和稳定细胞的作用^[5]。同时本研究显示,E-cad 在子宫内膜癌中的表达随着肌层浸润深度的增加、淋巴转移及 FIGO 临床分期的增加而逐渐降低,提示 E-cad 表达明显异常或缺失与肿瘤细胞高侵袭力密切相关,导致肿瘤细胞黏附性下降并促进其浸润、局部复发、淋巴转移和远处播散。Caldeira et al^[6]发现,E-

cad 在具有侵袭性组织学特性的肿瘤细胞中表达下降或缺失,在浸润性生长的肿瘤中其表达异常的发生率显著高于膨胀性生长的肿瘤。

3.2 EpCAM 蛋白的表达与子宫内膜癌的相关性

EpCAM 是一种由位于 2p21 染色体的肿瘤相关钙信号转导 1 基因编码,属于黏附分子家族的单次跨膜 I 型糖蛋白。本研究显示,从正常增生期子宫内膜到癌性内膜的进展过程中,EpCAM 表达强度增加,提示 EpCAM 在子宫内膜癌的发生发展中可能起着启动从正常增生期子宫内膜到癌性内膜这一过程的功能。Maetzel et al^[7]发现,EpCAM 通过参与 β -连环蛋白依赖的 Wnt 级联反应激活 c-myc、cyclinA/E 等原癌基因的表达而具有致癌作用,同时发现通过调节细胞内 EpCAM 蛋白降解可激活 EpCAM 作为有丝分裂信号传导器的功能。本研究显示,EpCAM 在子宫内膜癌中的表达随着肌层浸润深度的增加、淋巴转移及 FIGO 临床分期的增加而逐渐增加,提示 EpCAM 蛋白可能是子宫内膜癌侵袭转移的重要指示因子,对判断患者的病情发展及预后具有重要的参考价值。Du et al^[8]发现,EpCAM 在胃癌转移灶中的表达明显高于原发灶,通过 siRNA 使 EpCAM 表达降低可以抑制胃癌细胞的侵袭性和迁移能力,提示 EpCAM 可能具有促进癌细胞转移的作用。

3.3 E-cad 与 EpCAM 蛋白表达的相关性

E-cad 通过与胞质内配体连接素(cad) α 、 β 、 γ 形成复合体而发挥作用,其中 β -cat 既是 Wnt 信号传导途径中的重要成分,又可以在 α 和 γ -cat 的作用下维持细胞间的黏附。E-cad 蛋白表达下降可能会影响 Wnt- β -cat 信号通路完整性,使细胞内游离的 β -cat 增加,导致与肿瘤转移相关基因的异常表达。EpCAM 可通过 Wnt- β -cat 信号通路激活原癌基因的表达以致使其具有致癌作用。本研究显示 E-cad 与 EpCAM 在子宫内膜癌中的表达呈负相关。E-cad 与 EpCAM 均可通过 Wnt 信号通路发挥作用,两者可能存在相互影响,在子宫内膜癌患者中 E-cad 蛋白的低表达与 EpCAM 蛋白的高表达可能共同促进癌症的侵袭转移。Gostner et al^[9]发现,EpCAM 在乳腺癌细胞中呈高表达,而 Wnt 信号通路分泌型卷曲相关蛋白 1 表达却下降,提示 EpCAM 参与 Wnt 信号通路的激活。EpCAM 既可以调节同源细胞间的黏附,抑制细胞迁移;同时 EpCAM 又可以通过破坏 α -cat 和 F-肌动蛋白间的连接,从而破坏 E-cad 介导的细胞间黏

附作用^[10]。

综上所述,E-cad 与 EpCAM 在子宫内膜癌的发生、发展过程中具有重要作用,联合检测 E-cad 与 EpCAM 可能增加子宫内膜癌的早期诊断率,并为子宫内膜癌的病情监测、综合治疗、预后判断提供依据。E-cad 与 EpCAM 可以通过 Wnt 信号通路发挥作用,两者之间相互影响,因此以 Wnt 信号通路中的酶为靶点来调节 E-cad 与 EpCAM 的信号转导,可能成为子宫内膜癌的治疗靶点,从而提高子宫内膜癌的远期生存率。

参考文献

[1] 谢 幸,苟文丽. 妇产科学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社, 2013:313.

[2] Leblanc U ,Poncelet C ,Soriano O ,et al. Alteration of CD44 and cadherins expression: possible association with augmented aggressiveness and invasiveness of endometrial carcinoma [J]. Virchows Arch 2001 438(1) :78 -85.

[3] Kurtz J E ,Dufour P. Adecatumumab: an anti-EpCAM monoclonal antibody from the bench to the bedside [J]. Expert Opin Biol T-

her 2010 10(6) :951 -8.

[4] Sillem M ,Hahn U ,Coddington C C ,et al. Ectopic growth of endometrium depends on its structural integrity and proteolytic activity in the cynomolgus monkey (Macaca fascicularis) model of endometriosis [J]. Fertil Steril 1998 66(3) :468 -73.

[5] Perret E ,Leung A ,Feracci H ,et al. Trans-bonded pairs of E-cadherin exhibit a remarkable hierarchy of mechanical strengths [J]. Proc Natl Acad Sci 2004 101(47) :16472 -7.

[6] Caldeira J R ,Prado E C ,Quevedo F C ,et al. CDH1 promoter hypermethylation and E-cadherin protein expression in infiltrating breast cancer [J]. BMC Cancer 2006 6(1) :48 -56.

[7] Maetzel D ,Denzel S ,Mack B ,et al. Nuclear signalling by tumour-associated antigen EpCAM [J]. Nat Cell Biol 2009 11(2) :162 -71.

[8] Du W ,Ji H ,Cao S ,et al. EpCAM: A potential antimetastatic target for gastric cancer [J]. Dig Dis Sci 2010 55(8) :2165 -71.

[9] Gostner J M ,Fong D ,Wrulich O A ,et al. Effects of EpCAM overexpression on human breast cancer cell lines [J]. BMC Cancer 2011 11:45.

[10] Winter M J ,Nagelkerken B ,Mertens A E ,et al. Expression of EpCAM shifts the state of cadherin-mediated adhesions from strong to weak [J]. Exp Cell Res 2003 285(1) :50 -8.

Expression and significance of E-cad and EpCAM in endometrial carcinoma

Zhou Youwei , Fang Yihua , Yang Yuanyuan , et al

(Dept of Obstetrics and Gynecology ,The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University ,Hefei 230022)

Abstract Objective To study the expression of E-cadherins (E-cad) and epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) in endometrial carcinoma and to explore the significance of E-cad and EpCAM in the initiation , progression and prognosis of endometrial carcinoma. **Methods** The expressions of E-cad and EpCAM in 30 specimens of normal proliferative phase endometrium , 30 specimens of simple hyperplasia endometrium , 30 specimens of complex hyperplasia or by atypical hyperplasia endometrium and 40 specimens of endometrial carcinoma were detected by immunohistochemical PV method , which were analysed with clinical feature. **Results** The positive expression rate of the E-cad gradually declined in the process from normal proliferative phase endometrium to endometrial carcinoma as well as patients with an increase in the depth of myometrial invasion , lymph node metastasis and FIGO clinical stage , and EpCAM is opposite ($P < 0.05$); the expression of E-cad and EpCAM in endometrial carcinoma was negatively correlated ($P < 0.05$). **Conclusion** The low expression of E-cad and high expression of EpCAM in endometrial carcinoma and the negative correlation between them are connected with malignant degree and prognosis in endometrial carcinoma , which suggests the possibility of the Wnt signaling pathway-based molecular targeted therapy.

Key words endometrial carcinoma; E-cadherins; epithelial cell adhesion molecule