

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00404

• 论 著 •

CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 在胃癌中的表达及临床意义

王秀丽^{1,2}, 刘惠敏^{1*}

1. 第二军医大学长征医院病理科, 上海 200003

2. 解放军 150 中心医院检验科, 洛阳 471031

[摘要] **目的** 探讨 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 在胃癌组织中的表达及临床意义。**方法** 应用免疫组织化学 S-P 法检测 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 在 77 例胃癌组织和 30 例正常胃黏膜组织中的表达, 并分析它们与胃癌临床病理特征的关系。**结果** CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 在正常胃黏膜组织和胃癌组织中的阳性表达率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 的表达与胃癌的组织学类型、分化程度、浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期密切相关 ($P < 0.05$), 而与性别、年龄、肿瘤大小无关。CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 阳性表达者的术后 1、3、5 年生存率明显高于阴性表达者 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 表达与胃癌发生发展、组织学类型、分化程度、浸润及转移能力相关。检测胃癌组织中 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 的表达有助于判断胃癌的预后。

[关键词] 胃肿瘤; CDX-2; PTEN; E-cadherin; NM23; 免疫组织化学**[中图分类号]** R 735.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)04-0404-04

Expression of CDX-2, PTEN, E-cadherin and NM23 in gastric cancer and its clinical significance

WANG Xiu-li^{1,2}, LIU Hui-min^{1*}

1. Department of Pathology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

2. Department of Laboratory Medicine, No. 150 Hospital of PLA, Luoyang 471031, Henan, China

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of CDX-2, PTEN, E-cadherin and NM23 in gastric cancer and its clinical significance. **Methods** Immunohistochemical S-P method was used to detect expression of CDX-2, PTEN, E-cadherin and NM23 in 77 gastric cancer specimens and 30 normal stomach mucosal tissues, and then the relationship of the expression with clinical pathology parameters was analyzed. **Results** The positive rates of CDX-2, PTEN, E-cadherin and NM23 were significantly higher in gastric cancer tissues than those in the normal gastric tissues ($P < 0.05$). The expression of CDX-2, PTEN, E-cadherin and NM23 was correlated with the differentiation, histological type, infiltration, lymph node metastasis and TNM stage of the tumors ($P < 0.05$), but not with patients' gender, age or tumor size ($P > 0.05$). The 1-, 3- and 5-year survival rates of CDX-2, PTEN, E-cadherin and NM23 positive patients were higher than those of negative patients ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** The expression of CDX-2, PTEN, E-cadherin, NM23 in gastric cancer is related to the differentiation, infiltration, lymph node metastasis and TNM stage of gastric cancer, and detecting their expression in gastric cancer may help to judge the prognosis of gastric cancer.

[Key words] stomach neoplasms; CDX-2; PTEN; E-cadherin; NM23; immunohistochemistry

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(4):404-407]

胃癌是严重危害人类健康的常见恶性肿瘤之一。现阶段研究表明, 胃癌从形成到发展受到多种因素的协同作用, 涉及多个基因和多种分子水平变化, 如癌基因、抑癌基因、肿瘤转移抑制基因、DNA 错配修复基因、凋亡相关基因、端粒酶等^[1]。其中, 癌基因和抑癌基因与肿瘤发生有关, 而肿瘤转移与转移抑制基因和转移促进基因高度相关。近年来研究显示, CDX-2 在胃黏膜细胞中的异位表达和

PTEN 基因表达减弱在胃癌发展中起着重要作用^[2-3], E-cadherin 和 NM23 能协同抑制胃癌侵袭转移^[4]。本研究应用免疫组织化学法检测了肿瘤抑制基因 CDX-2、PTEN 和肿瘤转移抑制基因 E-cadherin、NM23 在胃癌中的表达, 分析其与组织学分型、分化程度、浸润深度、淋巴结转移和生存率的关系, 旨在探讨 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 在胃癌发生、发展、转移和评估预后中的意义。

[收稿日期] 2009-09-26

[接受日期] 2010-01-07

[作者简介] 王秀丽, 硕士生, 主管技师。E-mail: wangxiuli705@163.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81886121, E-mail: tracylee324@yahoo.com.cn

1 资料和方法

1.1 临床病理资料 收集解放军 150 中心医院 2002 年 3 月至 2003 年 3 月间手术切除的胃癌根治标本 77 例,临床病理资料以病历记录为准,其中男性 47 例,女性 30 例,年龄 25-75 岁,中位年龄 50 岁,所有患者术前均未作放、化疗及生物治疗。所有标本均为手术后 12 h 内收集,经 4% 中性甲醛固定,石蜡包埋,4 μm 厚连续切片,H-E 染色作病理学检查证实。分为肿瘤组和正常组。(1)肿瘤组:共 77 例标本,肿瘤直径: $>5\text{ cm}$ 者 36 例, $\leq 5\text{ cm}$ 者 41 例;Laurén 分型^[5]:肠型 49 例,弥漫型 28 例;肿瘤细胞分化程度:高中分化 55 例,低分化 22 例;浸润程度:黏膜内癌 14 例,侵及肌层 16 例,浆膜层 36 例,侵及全层伴远处转移 11 例;淋巴结转移:无转移 37 例,有转移 40 例;TNM 分期^[5]:I-II 期 28 例,III-IV 期 49 例。(2)正常组:共 30 例标本,全部为胃癌根治标本距离边缘 5 cm 以上切缘处组织,并经病理学证实无癌浸润、肠化生及异常增生。

1.2 免疫组织化学法检测 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23

1.2.1 主要试剂 (1)即用型鼠抗人 CDX-2(MAB-0216)、PTEN(MAB-0369)、NM23(MAB-0139)单克隆抗体,福州迈新生物技术公司产品;鼠抗人 E-cadherin(MAB-4A2),丹麦 DAKO 公司产品。(2)即用型免疫组织化学染色超敏 S-P 试剂盒(KIT-9720),福州迈新生物技术公司产品。

1.2.2 S-P 免疫组织化学染色法 按试剂盒说明书步骤操作:石蜡切片经常规脱蜡至水;微波炉处理切片 15 min,修复抗原;滴加 3% 甲醇- H_2O_2 ,室温下孵育 10 min,阻断内源性过氧化物酶活性;加 1 滴第一抗体,置于 4℃ 冰箱中过夜;加 1 滴生物素标记的第二抗体,室温下孵育 10 min;加 1 滴链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液,室温下孵育 10 min;DAB 显色,苏木精复染细胞核,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。用 PBS 液代替第一抗体作阴性对照,用已知的阳性标本作阳性对照。

1.2.3 结果判定 CDX-2、PTEN 阳性染色位于细胞核,E-cadherin 阳性染色位于细胞膜,NM23 阳性染色主要位于细胞质,少数细胞核亦表达,所有阳性信号均为棕黄色颗粒状。免疫组化染色的标记指数 (labelling index, LI) 按以下方法计算^[6]:每张切片在低倍镜下选择组织结构良好、背景清晰的 5 个阳性细胞最密集的区域,每个区域在高倍镜下,计数 100 个细胞中的阳性细胞数(不包括间质细胞和其他非肿瘤细胞),取 5 个区域阳性细胞数的平均值作为标

记指数。按标记指数分为 4 级:10%~25% 为 I 级(评分为 1 分),26%~50% 为 II 级(评分为 2 分),51%~75% 为 III 级(评分为 3 分),76%~100% 为 IV 级(评分为 4 分)。切片染色强度分为 3 级:淡黄色为 I 级(评分为 1 分),棕黄色为 II 级(评分为 2 分),棕褐色为 III 级(评分为 3 分)。每张切片两种评分之乘积为该切片最后的表达强度积分,13 分记为(+),46 分为(++),8 分以上为(+++)。

1.3 随访 采用电话和书信方式对患者进行随访,随访截至 2009 年 3 月,随访时间为 484 个月,中位随访时间为 53.4 个月,随访率为 87.4%。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计学处理,计数资料采用 χ^2 检验,等级分组材料采用秩和检验,相关性分析采用 Spearman 等级相关分析。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 在胃癌及正常胃黏膜组织中的表达 CDX-2 阳性染色部位在细胞核(图 1A、1B),PTEN 阳性染色部位在细胞核(图 1C、1D),E-cadherin 阳性染色部位在细胞膜(图 1E、1F),NM23 阳性染色主要位于细胞质,少数细胞核亦表达(图 1G、1H)。与正常胃黏膜组织相比,胃癌组织中 CDX-2 阳性表达率明显升高($P < 0.05$),而 PTEN、E-cadherin、NM23 阳性表达率明显降低($P < 0.01$,表 1)。在正常胃黏膜组织中 CDX-2 与 PTEN、E-cadherin、NM23 相关关系不密切(r 值分别为 -0.291 、 -0.334 、 -0.312 , P 值分别为 0.119 、 0.071 、 0.093),但 PTEN、E-cadherin、NM23 之间呈正相关(r 值分别为 0.943 、 0.912 、 0.899 , $P = 0.000$);在胃癌组织中 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 呈正相关(r 值分别为 0.671 、 0.790 、 0.693 、 0.865 、 0.896 、 0.928 , $P = 0.000$)。

2.2 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 的表达与胃癌临床病理指标的关系 由表 2 可见,CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 的表达与性别、年龄、肿瘤大小无关($P > 0.05$),而与胃癌的组织学类型、Laurén 分型、分化程度、浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期有关($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.3 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 的表达与胃癌患者预后的关系 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 的表达与胃癌患者 1、3、5 年生存率的关系见表 3,CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 阴性表达组生存率与阳性表达组之间差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),提示 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 蛋白阳性表达者预后较好。

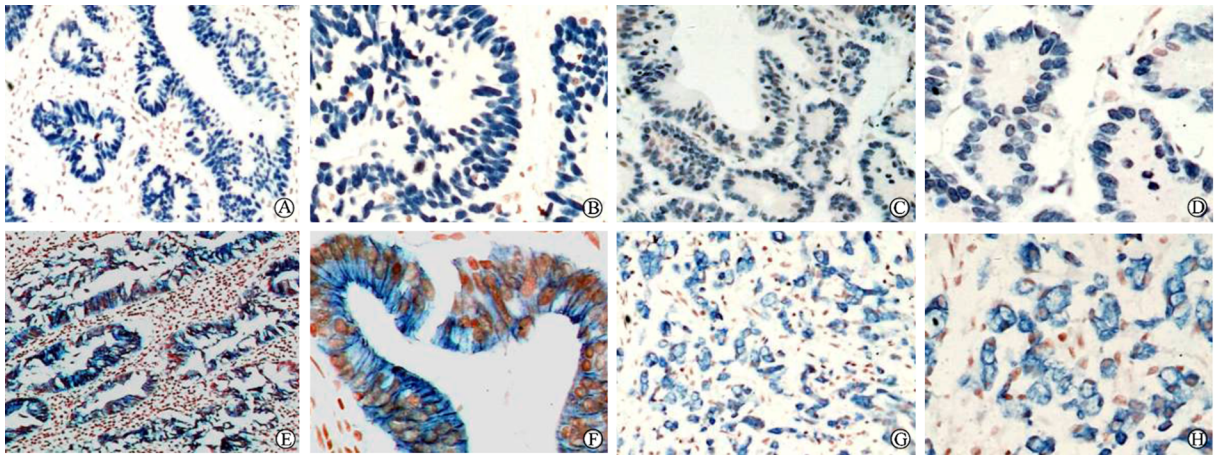


图 1 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 在胃癌组织中的表达

Fig 1 Expression of CDX-2, PTEN, E-cadherin and NM23 in gastric cancer (S-P)

A, B: CDX-2 expression showing a pattern of nuclear staining; C, D: PTEN expression showing a pattern of nuclear staining; E, F: E-cadherin expression showing a pattern of membrane staining; G, H: NM23 expression showing a pattern of cytoplasmic and dot-like nuclear staining. Original magnification: $\times 200$ (A, C, E, G), $\times 400$ (B, D, F, H)

表 1 胃癌及正常胃黏膜组织中 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 表达情况

Tab 1 Expression of CDX-2, PTEN, E-cadherin and NM23 in gastric carcinoma and normal gastric tissue

Group	N	CDX-2(n)			P	PTEN(n)			P	E-cadherin(n)			P	NM23(n)			P
		+	++	+++		+	++	+++		+	++	+++		+	++	+++	
Normal	30	0	0	0	<0.05	5	13	12	<0.01	5	13	11	<0.01	3	10	14	<0.01
Carcinoma	77	4	22	18		27	6	3		5	20	15		20	13	5	

表 2 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 表达与胃癌临床病理指标的关系

Tab 2 Relationship between expression of CDX-2, PTEN, E-cadherin, NM23 and clinical pathology characters of gastric cancer

Item	N	CDX-2(n)		P	PTEN(n)		P	E-cadherin(n)		P	NM23(n)		P
		-	+ -+++		-	+ -+++		-	+ -+++		-	+ -+++	
Sex													
Male	47	10	37	>0.05	17	30	>0.05	13	34	>0.05	15	32	>0.05
Female	30	23	7		24	6		24	6		24	6	
Age(year)													
≤50	35	14	21	>0.05	18	17	>0.05	17	18	>0.05	17	18	>0.05
>50	42	19	23		23	19		20	22		22	20	
Tumor size d/cm													
≤5	41	8	33	>0.05	18	23	>0.05	15	26	>0.05	13	28	>0.05
>5	36	25	11		23	13		22	14		26	10	
Laurén classification													
Intestinal carcinomas	49	12	37	<0.01	21	28	<0.01	19	30	<0.05	14	35	<0.05
Diffuse carcinomas	28	21	7		20	8		18	10		25	3	
Differentiation degree													
Well/moderately	55	16	39	<0.05	25	30	<0.01	22	33	<0.05	22	32	<0.05
Poorly/undifferentiated	22	17	5		16	6		15	7		16	6	
Invasion depth													
Lamina propria/submucosa	14	3	11	<0.01	2	12	<0.01	1	13	<0.01	3	11	<0.01
Muscularis propria	16	4	11		6	10		3	13		5	11	
Adventitia	36	16	20		24	12		24	12		23	13	
Adjacent structures	11	9	2		9	2		9	2		8	3	
Lymphatic metastasis													
Yes	37	9	28	<0.01	12	25	<0.01	8	29	<0.01	17	20	<0.01
No	40	24	16		29	11		29	11		22	18	
TNM stage													
I - II	28	5	23	<0.01	4	24	<0.01	7	21	<0.01	9	19	<0.01
III - IV	49	28	21		37	12		30	19		30	19	

表3 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 表达与胃癌患者1、3、5年生存率的关系

Tab 3 Relationship between expression of CDX-2, PTEN, E-cadherin, NM23 and prognosis of gastric cancer patients

Survival rate	(%)							
	CDX-2		PTEN		E-cadherin		NM23	
	-	+、-、-	-	+、-、-	-	+、-、-	-	+、-、-
1 year	76.4	93.4*	71.4	91.2**	78.4	100**	81.3	99.1**
3 years	51.3	75.1*	41.5	77.3**	54.1	97.2**	50.1	94.3**
5 years	20.1	40.4*	10.3	41.3**	29.1	92.3**	16.4	87.8**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs negative(-) group

3 讨论

近年来,基因表达在评价胃癌预后中的作用越来越受到临床医生的重视。本研究应用免疫组织化学法检测了抑癌基因 CDX-2、PTEN 和肿瘤转移抑制基因 E-cadherin、NM23 在胃癌和正常胃黏膜中的表达,发现与正常胃黏膜组织相比,胃癌组织中 CDX-2 阳性表达率明显升高,而 PTEN、E-cadherin、NM23 阳性表达率明显降低($P < 0.01$)。说明这4个基因均与胃癌的发生发展相关。

CDX-2 可引导正常肠道上皮细胞的发育、分化、增殖、凋亡,并维持其正常形态,虽然它在正常胃黏膜中组织中不表达,但在胃黏膜肠化生和肠型胃癌可以部分相似地表达^[7-8],本研究发现 CDX-2 在胃癌组织中呈高表达,且其表达与胃癌组织类型独立相关,肠型胃癌高于弥漫型胃癌($P < 0.01$),与葛杰等^[9]的报道一致,提示 CDX-2 与胃癌组织类型相关。PTEN 基因可以抑制肿瘤细胞浸润转移,加速细胞凋亡,阻止细胞增殖;当 PTEN 表达减弱或缺乏时,可使胃黏膜上皮易于发生恶性转化,在胃癌发生中起一定作用^[10-12]。PTEN 可以通过刺激 CDX-2 启动子转录活性增强 CDX-2 的表达^[13],提示在肠上皮化生至肠型胃癌的转变中 PTEN 对 CDX-2 的表达可能起到一定的调节作用。E-cadherin 能维持正常上皮细胞形态,促进细胞间发生黏附,控制细胞的移动,保证细胞极性及其组织结构完整性。NM23 的编码产物为二磷酸核苷激酶(NDPK),NM23/NDPK 可介导 GDP 向 GTP 的转化,而这一过程与细胞增殖调控密切相关的磷脂酰肌醇信号通路系统中的重要中介蛋白——G 蛋白的活性有关。此外,NDPK 提供的 GTP 可直接影响微管、微丝等细胞骨架蛋白的生物活动,通过参与调节细胞内微管系统的状态而抑制癌细胞的转移。

影响胃癌患者预后的关键因素就是肿瘤分化程度、浸润胃壁的深度、淋巴结转移和 TNM 分期。本研究结果显示 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 的阳性表达在上述几方面有显著差异,而且四者之间呈

现一致的正相关关系,因此,检测胃癌中 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 的表达,可以作为评估胃癌预后的指标。本研究的随访结果发现 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 阳性表达者较阴性表达者生存率明显提高,进一步证实了 CDX-2、PTEN、E-cadherin、NM23 可以作为评估胃癌预后的可靠指标。

[参考文献]

- [1] 秦新裕,刘凤林. 胃癌基因研究进展[J]. 中华胃肠外科杂志, 2007,10:407-109.
- [2] 刘贵生,龚均,程鹏,张军,常英,强磊. 肠特异性转录因子 CDX2 在不同亚型肠化生及胃癌组织中的表达[J]. 癌症, 2006,25:185-189.
- [3] 王强,赵滢,张天彪,寇有为. Survivin、PTEN 在胃癌组织中的表达以及相关性的研究[J]. 中国医科大学学报, 2009,38:273.
- [4] 王东华,易继林. 胃癌中 E-cadherin 和 nm23-h1 的表达与转移的关系[J]. 临床外科杂志, 2007,15:675.
- [5] Hamilton S R, Aaltonen L A. 消化系统肿瘤病理学和遗传学[M]. 虞积耀,崔全才 主译. 北京:人民卫生出版社, 2006:40-55.
- [6] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志, 1996,6:229-231.
- [7] Ge J, Chen Z, Wu S, Yuan W, Hu B, Chen Z. A clinicopathological study on the expression of cadherin-17 and caudal-related homeobox transcription factor (CDX2) in human gastric carcinoma[J]. Clin Oncol, 2008,20:275-283.
- [8] 刘仕琪,牛建华,彭心宇,木拉提,秦江梅,袁明. CDX-2 在胃癌及癌前病变中的表达及其意义[J]. 中国普通外科杂志, 2009,18:402-403.
- [9] 葛杰,陈子华,陈志康,袁伟杰. CDX-2 和 E-钙粘附素在胃癌组织中的表达及临床意义[J]. 南方医科大学学报, 2008,28:279-281.
- [10] Bai Z, Ye Y, Chen D, Shen D, Xu F, Cui Z, et al. Homeoprotein Cdx2 and nuclear PTEN expression profiles are related to gastric cancer prognosis[J]. APMIS, 2007,115:1383-1390.
- [11] 张峰,李茂竹,李海兵,张新. PTEN 在胃癌中的表达及其临床意义[J]. 临床医学, 2009,29:96-97.
- [12] 张以忠,赵瑞波,杨淑艳,钟秀宏,郑中华,赵丽微. PTEN 表达在胃癌发生及分化中的作用[J]. 现代肿瘤医学, 2009,17:673-674.
- [13] 许海泉,王邦茂,章明放,阎雪燕. Cdx2 和 PTEN 在胃黏膜肠上皮化生及肠型胃癌组织中的表达[J]. 天津医科大学学报, 2004,10:510-513.