

N-cadherin 和 vimentin 在直肠腺癌中的表达及其临床意义

张俊君¹, 郭 轶^{2△}

(1. 重庆市巴南区中医院肛肠外科 401320; 2. 重庆市中医院普外科 400021)

摘要:目的 探讨 N 钙黏蛋白(neuronal cadherin, N-cadherin)和波形蛋白(vimentin)在原发性直肠腺癌中的表达及其临床意义。方法 选择手术切除并经病理证实的 58 例原发性直肠腺癌组织和距肿瘤 5 cm 以上的正常直肠黏膜组织,采用免疫组织化学 SP 法检测组织中 N-cadherin 和 vimentin 的表达并与临床资料进行相关性分析。结果 直肠腺癌组织中 N-cadherin 和 vimentin 阳性表达率[53.4%(31/58)、46.6%(27/58)]明显高于正常直肠黏膜组织[3.4%(2/58)、1.7%(1/58)]($P < 0.01$); N-cadherin 和 vimentin 的阳性率与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、远处转移和 TNM 分期呈正相关($P < 0.05$),与肿瘤分化程度无相关性($P > 0.05$)。结论 N-cadherin 和 vimentin 的表达与原发直肠腺癌的转移密切相关,检测 N-cadherin 和 vimentin 的表达可作为判断直肠腺癌转移和预后的指标之一。

关键词:黏蛋白类;波形蛋白;直肠肿瘤;腺癌;肿瘤转移

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.08.014

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)08-0935-02

The expression of N-cadherin and vimentin in rectum adenocarcinoma and their clinical value

Zhang Junjun¹, Guo Yi^{2△}

(1. Department of Anorectal Surgery, the Traditional Chinese Medicine Hospital of Banan District in Chongqing City, Chongqing 401320, China; 2. Department of General Surgery, the Traditional Chinese Medicine Hospital of Chongqing, Chongqing 400021, China)

Abstract: Objective To observe the expression of neuronal cadherin(N-cadherin) and vimentin in primary rectum adenocarcinoma tissues and their clinical value. **Methods** 58 cases of primary rectum adenocarcinoma tissues after surgical resection and confirmed by pathology, and normal rectum tissues that at least 5 cm away from the tumor were selected. The immunohistochemical SP method was used to detect the expression of N-cadherin and vimentin and analyzed their correlation. **Results** In rectum adenocarcinoma tissues, the positive expression rate of N-cadherin and vimentin[53.4%(31/58), 46.6%(27/58)] were significantly higher than those of in normal rectum mucosa tissues[3.4%(2/58), 1.7%(1/58)], ($P < 0.01$). The expressions of N-cadherin and vimentin were positively correlated with the depth of cancer invasion, lymph node metastasis, distant metastasis and tumor-node-metastasis(TNM) stage($P < 0.05$), but without correlated with the tumor cell differentiation($P > 0.05$). **Conclusion** N-cadherin and vimentin have close relationships with metastasis of rectum adenocarcinoma, to detect the expressions of N-cadherin and vimentin is of a effective method to judge the metastasis and prognosis of rectum adenocarcinoma.

Key words: mucins; vimentin; rectum neoplasms; adenocarcinoma; neoplasms metastasis

直肠腺癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一,全球发病率差异较大^[1],在我国直肠癌的发病率在恶性肿瘤中排第 3 位。随着生活水平的提高和饮食习惯的改变,直肠腺癌的发病率和病死率呈现逐渐增高的趋势^[2]。外科手术联合辅助化疗是当前直肠腺癌治疗的主要方法,但是肿瘤转移仍是直肠腺癌患者死亡的主要原因,因此预防肿瘤转移成为提高直肠腺癌预后的关键^[3]。N 钙黏蛋白(N-cadherin)和波形蛋白(vimentin)被证实是与多种恶性肿瘤转移相关的蛋白^[4-5],本文对直肠腺癌组织中 N-cadherin 和 vimentin 的表达进行检测,并结合临床病理特征进行综合分析,以探讨 N-cadherin 和 vimentin 表达与直肠腺癌转移的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 58 例直肠腺癌患者标本为 2012 年 3 月至 2013 年 3 月重庆市巴南区中医院手术切除的直肠腺癌组织及与其相对应的正常直肠黏膜组织标本(距肿瘤组织大于 5 cm),均为原发性腺癌。其中男 42 例,女 16 例,年龄 37~79 岁,平均

58.5 岁。患者术前均未接受放、化疗及其他药物治疗。所有患者按美国癌症联合会(AJCC)标准^[6]行 TNM 分期。

1.2 主要试剂 N-cadherin 抗体和 vimentin 抗体购自 Santa cruz 公司;免疫组织化学 SP 试剂盒、免疫组织化学二抗和 DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥公司。

1.3 免疫组织化学检测 免疫组织化学 SP 法检测按试剂盒说明书操作。N-cadherin 抗体和 vimentin 抗体按 1:50 稀释,以磷酸盐缓冲液代替一抗作阴性对照。阳性结果判定:N-cadherin 和 vimentin 阳性染色主要表现为细胞质和细胞膜出现棕黄色信号。同一切片按染色强度分级评分:0 分无染色,1 分轻度染色,2 分中度染色,3 分强染色;按细胞染色比率评分:0 分 0,1 分 1%~25%,2 分 26%~50%,3 分 51%~75%,4 分 76%~100%。结果判定标准:两者相加低于 4 分者为阴性,两者相加大于或等于 4 分者为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件对数据进行 χ^2 检验和 Fisher 确切概率检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

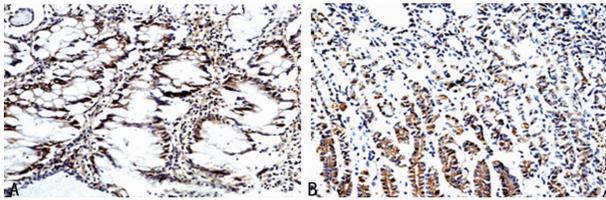
2 结 果

2.1 N-cadherin、vimentin 在直肠腺癌中的表达 在直肠腺癌组织中,N-cadherin 主要表达于肿瘤细胞的细胞(图 1A),阳性率为 53.4%(31/58),明显高于正常直肠黏膜组织中的 3.4%(2/58)($P<0.01$)。在直肠腺癌组织中,vimentin 同样主要表达于肿瘤细胞的胞质(图 1B),阳性率为 46.6%(27/58),明显高于正常直肠黏膜组织中的 1.7%(1/58)($P<0.01$)。见表 1。

表 1 N-cadherin 和 vimentin 在直肠腺癌组织及正常直肠黏膜组织中的阳性表达[n(%)]

蛋白	n	直肠腺癌组织	正常直肠黏膜组织	P
N-cadherin	58	31(53.4) ^a	2(3.4)	<0.01
vimentin	58	27(46.6) ^a	1(1.7)	<0.01

^a: $P<0.01$,与正常直肠黏膜组织相比较。



A:N-cadherin;B:vimentin。

图 1 N-cadherin 和 vimentin 在直肠腺癌组织中的高表达($\times 200$)

2.2 N-cadherin、vimentin 的表达与直肠腺癌临床病理分期的相关性 在直肠腺癌组织中,N-cadherin 和 vimentin 的表达均与直肠腺癌的肿瘤 T 分期、N 分期、M 分期和 TNM 分期呈正相关,差异有统计学意义($P<0.05$)。但 N-cadherin 和 vimentin 的表达均与直肠腺癌的肿瘤细胞分化程度无相关性($P>0.05$)。见表 2。

表 2 N-cadherin 和 vimentin 表达与直肠腺癌临床病理分期的相关性

临床病理分期	n	N-cadherin		P	vimentin		P
		阳性	阴性		阳性	阴性	
肿瘤分化				>0.05			>0.05
高分化	11	6	5		5	6	
中分化	31	16	15		14	17	
低分化	16	9	7		8	8	
T 分期				<0.01			<0.01
T ₁ +T ₂	20	5	15		4	16	
T ₃ +T ₄	38	26	12		23	15	
N 分期				<0.01			<0.01
N ₀	29	7	22		6	23	
N ₁ +N ₂	29	24	5		21	8	
M 分期				<0.01			<0.05
M ₀	43	18	25		16	27	
M ₁	15	13	2		11	4	
TNM 分期				<0.01			<0.01
I 期+II 期	31	9	22		7	24	
III 期+IV 期	27	22	5		20	7	

3 讨 论

随着直肠癌诊疗水平的不断提高,直肠癌患者的 5 年生存率明显提高^[7],但是肿瘤转移仍是恶性肿瘤最常见的临床特征之一,并且是导致恶性肿瘤患者死亡的重要因素^[8]。因此,抑制肿瘤转移成为进一步提高恶性肿瘤治疗效果的关键。近期许多研究证实,肿瘤细胞发生上皮间质化(EMT)是导致恶性肿瘤发生转移的重要因素^[9]。EMT 是复杂的分子生物过程^[10],研究证实多种因子参与了 EMT 过程,主要包括上皮特异性分子和间质特异性分子^[11-13]。上皮来源的恶性肿瘤发生 EMT 主要有两个步骤^[14]:首先原发肿瘤细胞间质特性增强,导致细胞间黏附减少,肿瘤细胞脱离原发肿瘤组织并且侵入肿瘤间质;然后肿瘤细胞的运动能力增强从而侵袭进入循环系统并随循环系统到达其他组织形成转移。因此,间质细胞能力的获得在上皮来源肿瘤的转移中起重要作用^[4-5]。

本研究结果显示,在直肠腺癌组织中 N-cadherin 和 vimentin 的表达明显高于正常直肠黏膜组织。本研究还发现在直肠腺癌组织中 N-cadherin 和 vimentin 的表达与肿瘤 T 分期、N 分期、M 分期和 TNM 分期呈正相关,但与肿瘤的分化程度无相关性。N-cadherin 是钙黏附素家族的主要成员,最初被发现存在于神经组织和成纤维细胞等间质细胞中,参与介导细胞与细胞间的动态黏附作用。有研究证实,上皮来源肿瘤中出现 N-cadherin 的高表达与肿瘤生长、迁移、侵袭、淋巴转移和 EMT 呈正相关^[11-12,15]。vimentin 是维持细胞骨架结构的重要蛋白,主要表达在间充质细胞和一些外胚层细胞,与细胞的运动密切相关。有研究证实,上皮来源肿瘤中出现 vimentin 的高表达与肿瘤迁徙、侵袭和转移呈正相关^[5,13,16]。因此,N-cadherin 和 vimentin 的高表达均可提示上皮来源肿瘤发生 EMT,进而发生肿瘤转移。

本研究结果还显示,N-cadherin 和 vimentin 的表达与直肠腺癌的进展和转移密切相关,证实两者在直肠腺癌进展和转移中可能起重要作用。同时 N-cadherin 和 vimentin 是上皮细胞发生间质转化的重要特异性指标,推断直肠腺癌细胞发生 EMT 可能是促进直肠腺癌发生转移的重要机制。因而针对 EMT 的分子靶向治疗可能是治疗直肠腺癌转移的有效途径之一,而 N-cadherin 和 vimentin 作为 EMT 的重要功能蛋白可能作为直肠腺癌分子靶向治疗的重要潜在靶点。

综上所述,N-cadherin 和 vimentin 的高表达与直肠腺癌的进展和转移密切相关,其可能机制是 N-cadherin 和 vimentin 参与并诱导直肠腺癌细胞发生 EMT;N-cadherin 和 vimentin 检测可以作为判断直肠腺癌转移及预后的指标。但 N-cadherin 和 vimentin 在 EMT 过程中的具体作用机制仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009 [J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(4): 225-249.
- [2] 万德森, 陈功. 结直肠癌的流行病学及其危险因素研究近况 [J]. 实用癌症杂志, 2000, 15(2): 220-222.
- [3] Huerta S. Critical concepts in the oncogenesis of adenocarcinoma of the rectum [J]. Crit Rev Oncog, 2012; 17(4): 323-329.
- [4] Nguyen PT, Kudo Y, Yoshida M, et al. (下转第 940 页)

- [3] Morrison K, Witte K, Mayers JR, et al. Roles of acidic phospholipids and nucleotides in regulating membrane binding and activity of a calcium-independent phospholipase A2 isoform[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(46):38824-38834.
- [4] Pawlowic MC, Zhang K. Leishmania parasites possess a platelet-activating factor acetylhydrolase important for virulence[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2012, 186(1):11-20.
- [5] Roller DG, Axelrod M, Capaldo BJ, et al. Synthetic lethal screening with small-molecule inhibitors provides a pathway to rational combination therapies for melanoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(11):2505-2515.
- [6] Fernández-Galilea M, Pérez-Matute P, Prieto-Hontoria PL, et al. Effects of lipoic acid on lipolysis in 3T3-L1 adipocytes[J]. *J Lipid Res*, 2012, 53(11):2296-2306.
- [7] Mansalis KA, Klein DA, Demartini SD, et al. Pleural findings in a patient with persistent pulmonary effusions from systemic amyloidosis[J]. *Amyloid*, 2011, 18(1):29-31.
- [8] Yang WZ, Yu JM, Li JS, et al. Genome characterization of a novel porcine bocavirus[J]. *Arch Virol*, 2012, 157(11):2125-2132.
- [9] Song D, Li B, Yan E, et al. Chronic treatment with anti-bipolar drugs causes intracellular alkalinization in astrocytes, altering their functions[J]. *Neurochem Res*, 2012, 37(11):2524-2540.
- [10] Wang L, Yin J, Nickles HT, et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction requires connexin 40-mediated endothelial signal conduction[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(11):4218-4230.
- [11] Romero JR, Preis SR, Beiser AS, et al. Lipoprotein phospholipase A2 and cerebral microbleeds in the framingham heart study[J]. *Stroke*, 2012, 43(11):3091-3094.
- [12] Orman MA, Ierapetritou MG, Berthiaume F, et al. Long-term dynamic profiling of inflammatory mediators in double-hit burn and sepsis animal models[J]. *Cytokine*, 2012, 58(2):307-315.
- [13] Maass DL, White J, Horton JW. IL-1beta and IL-6 act synergistically with TNF-alpha to alter cardiac contractile function after burn trauma[J]. *Shock*, 2002, 18(4):360-366.
- [14] Gregson J, Stirnadel-Farrant HA, Doobaree IU, et al. Variation of lipoprotein associated phospholipase A2 across demographic characteristics and cardiovascular risk factors: a systematic review of the literature[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 225(1):11-21.

(收稿日期:2013-10-26 修回日期:2014-01-14)

(上接第 936 页)

- N-cadherin expression is involved in malignant behavior of head and neck cancer in relation to epithelial-mesenchymal transition[J]. *Histol Histopathol*, 2011, 26(2):147-156.
- [5] Satelli A, Li S. Vimentin in cancer and its potential as a molecular target for cancer therapy[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(18):3033-3046.
- [6] Tong LL, Gao P, Wang ZN, et al. Is the seventh edition of the UICC/AJCC TNM staging system reasonable for patients with tumor deposits in colorectal cancer? [J]. *Ann Surg*, 2012, 255(2):208-213.
- [7] Edwards BK, Ward E, Kohler BA, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates [J]. *Cancer*, 2010, 116(3):544-573.
- [8] Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges[J]. *Nat Med*, 2006, 12(8):895-904.
- [9] Christiansen JJ, Rajasekaran AK. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(17):8319-8326.
- [10] Voulgari A, Pintzas A. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: mechanisms, markers and strategies to overcome drug resistance in the clinic[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1796(2):75-90.
- [11] Kowalski PJ, Rubin MA, Kleer CG. E-cadherin expression in primary carcinomas of the breast and its distant metastases[J]. *Breast Cancer Res*, 2003, 5(6):217-222.
- [12] Nakajima S, Doi R, Toyoda E, et al. N-cadherin expression and epithelial-mesenchymal transition in pancreatic carcinoma. [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(12):4125-4133.
- [13] Ngan CY, Yamamoto H, Seshimo I, et al. Quantitative evaluation of vimentin expression in tumour stroma of colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(6):986-992.
- [14] Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(8):563-572.
- [15] Hazan RB, Phillips GR, Qiao RF, et al. Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion, and metastasis[J]. *J Cell Biol*, 2000, 148(4):779-790.
- [16] McInroy L, Määttä A. Down-regulation of vimentin expression inhibits carcinoma cell migration and adhesion [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 360(1):109-114.

(收稿日期:2013-10-17 修回日期:2013-12-20)