

· 临床论著 ·

P120 连环蛋白亚型 1 在非小细胞肺癌中的表达 及与 E-cadherin 表达的关系

于涓瀚 苗原 刘洋 张勇 徐洪涛 王恩华

【摘要】 目的 探讨 p120 连环蛋白(p120ctn)亚型 1 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的表达及与临床病理因素、E-cadherin 表达之间的关系。**方法** 采用免疫组织化学 S-P 法检测 94 例 NSCLC 及相应癌旁正常肺组织中 p120ctn 亚型 1 和 E-cadherin 的表达。**结果** 免疫组化结果显示 p120 亚型 1 在正常支气管上皮细胞中表达阳性率为 16.0% (15/94), 其在 NSCLC 组织中表达阳性率为 46.8% (44/94), 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。无淋巴结转移组中 p120ctn 亚型 1 阳性率 35.2% (19/54) 显著低于淋巴结转移组 62.5% (25/40, $P < 0.05$)。I、II 期 NSCLC 患者 p120ctn 亚型 1 表达阳性率为 40.6% (28/69), 显著低于其在 III、IV 期患者肿瘤细胞的亚型 1 阳性率 [64.0% (16/25), $P < 0.05$]。E-cadherin 的表达与 NSCLC 各临床病理因素均无关($P > 0.05$)。Spearman 相关性分析发现, NSCLC 中 p120ctn 亚型 1 的表达与 E-cadherin 的异常表达具有相关性($r = 0.286, P < 0.05$)。**结论** p120ctn 亚型 1 在 NSCLC 组织中的表达显著高于正常肺组织, 并且其表达与 NSCLC 的 TNM 分期及淋巴结转移相关。p120ctn 亚型 1 的表达与 E-cadherin 的异常表达具有相关性。

【关键词】 癌, 非小细胞肺; 钙黏着糖蛋白类; 免疫组织化学; p120ctn 亚型 1

P120ctn isoform 1 correlates with abnormal expression of E-cadherin in non-small cell lung cancer YU

Juan-han, MIAO Yuan, LIU Yang, ZHANG Yong, XU Hong-tao, WANG En-hua. Department of Pathology, College of Basic Medical Sciences of China Medical University, Shenyang 110001, China

Corresponding author: WANG En-hua, Email: wangeh@hotmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression and correlation of p120ctn isoform 1 and E-cadherin in non-small cell lung cancer (NSCLC), and analyze their relationships with the clinicopathological parameters of NSCLC. **Methods** The expression of p120ctn isoform 1 and E-cadherin were examined in 94 NSCLC tissues by immunohistochemistry method. **Results** The immunohistochemistry results showed that the positive expression rate of p120ctn isoform 1 in NSCLC was 46.8% (44/94), much higher than that in normal lung tissues (16.0%, 23/94) ($P < 0.01$). The expression of p120ctn isoform 1 in NSCLC was positively correlated with lymphatic metastasis and higher TNM stage ($P < 0.05$). There was no correlation between the expression of E-cadherin and clinicopathological factors ($P > 0.05$). Spearman's results showed that the positive expression of p120ctn isoform 1 was correlated with abnormal expression of E-cadherin ($r = 0.286, P < 0.05$). **Conclusions** The expression of p120ctn isoform is significantly up-regulated in NSCLC, and positively correlated with lymphatic metastasis and higher TNM stage. The expression of p120ctn isoform 1 is correlated with abnormal expression of E-cadherin.

【Key words】 Carcinoma, non-small-cell lung; Cadherins; Immunohistochemistry; p120ctn isoform 1

p120 连环蛋白(p120ctn)是 Amadillo 基因家族的成员。根据其剪切部位的不同, p120ctn 可以分为 1~4 四种亚型^[1]。现在的研究表明, p120ctn 不同亚型的表达具有组织特异性, 而且 p120ctn 各亚型在调节肿瘤细胞的生物学行为的过程中可能具有不同的作用^[2-4]。

E-cadherin 是介导上皮细胞黏附的分子之一, 在维持上皮细胞形态、极性和细胞黏附中起着重要的作用。正常组织中, E-cadherin 在细胞膜表达, 此时 p120ctn 可以与细胞膜上的 E-cadherin 复合体结合, 稳定 E-cadherin 复合体的表达, 增强细胞间的黏附, 抑制肿瘤的发生; 而 E-cadherin 表达缺失的肿瘤细胞中, 细胞膜上的 E-cadherin/catenin 复合体崩解, p120ctn 也脱落至细胞质内, 此时细胞质内 p120ctn 各亚型的作用尚不明确。本研究采用免疫组化方法检测 p120 亚型 1 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的表达情

况,并探讨其表达与临床病理因素和 E-cadherin 表达之间的关系。

资料与方法

一、资料来源

94 例原发性 NSCLC 及相应癌旁正常肺组织标本收集自中国医科大学附属第一医院病理科存档蜡块。其中男 56 例,女 38 例,平均年龄 57.8 岁。按 UICC (2002) 肿瘤 TNM 分期标准: I 期 51 例, II 期 18 例, III 期 22 例, IV 期 3 例。按 WHO (2004) 肺癌分类标准: 鳞状细胞癌 57 例,腺癌 37 例。高分化 17 例,中分化 53 例,低分化 24 例。有淋巴结转移 40 例。所有患者术前均未接受放、化疗。所有标本的使用均获得了中国医科大学伦理委员会同意。

二、方法

1. 免疫组织化学染色: 组织经中性甲醛固定、石蜡包埋,制成 4 μm 切片,经脱蜡,脱苯,水化后,行抗 p120ctn 亚型 1 (Abcam Cambridge MA, 美国) 和抗 E-cadherin (Santa Cruz Biotechnology, 美国) 免疫组织化学染色。S-P 超敏免疫组织化学试剂盒 (KIT-9710) 及 DAB 酶底物显色试剂盒 (DAB-0031) 购于福州迈新生物技术开发公司。染色方法按链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶 (S-P) 法试剂盒说明书步骤进行,抗 p120ctn 亚型 1 (1:100),抗 E-cadherin (1:150) 经高压修复预处理 (2 min),抗原修复液为 pH 6.0 柠檬酸缓冲液。经 DAB 染色后,苏木素对比染色,中性树脂胶封片。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

2. 结果判定: 在 400 倍镜下选肿瘤细胞阳性染色集中区域,每张切片计数 100 个瘤细胞,由两名病理医师双盲观测。E-cadherin 评分方法: E-cadherin 在正常支气管上皮呈连续的细胞膜阳性表达, NSCLC 中, E-cadherin 呈清楚、连续细胞膜着色且阳性细胞数 $\geq 90\%$ 定义为正常表达; 细胞膜表达减弱、消失和 (或) 细胞质中出现 $\geq 10\%$ 的阳性表达均定义为异常表达。p120 亚型 1 评分方法: 肿瘤细胞按染色强度分为 4 个等级: 0 分为无染色, 1 分为浅黄色, 2 分为棕黄色, 3 分为棕褐色, 再按照肿瘤阳性细胞所占的百分数分为 5 组: 0 分, $< 10\%$; 1 分, $10\% \sim 25\%$; 2 分, $26\% \sim 50\%$; 3 分, $51\% \sim 75\%$; 4 分, $> 75\%$ 。总分数 0 ~ 2 分定义为阴性表达, 2 分以上定义为阳性表达。

三、统计学分析

p120ctn 亚型 1 及 E-cadherin 的表达与 NSCLC 临床病理因素关系采用 χ^2 检验和 Spearman 等级相关分析。应用 SPSS 14.0 统计分析软件进行数据处理。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结果

一、NSCLC 中 p120ctn 亚型 1 的表达情况及与临床病理因素之间的关系

免疫组织化学染色表明 (图 1): 在正常支气管上皮细胞中 p120 亚型 1 在正常支气管上皮细胞中不表达或仅呈胞质内的弱表达, 其表达阳性率为 16.0% (15/94) (图 1A)。NSCLC 组织中, p120 亚型 1 在肿瘤细胞胞质中表达强度增加, 其阳性表达率为 46.8% (44/94) (图 1C, 1E)。

我们对 p120ctn 亚型 1 在 NSCLC 组织中的表达情况与肺癌患者临床病理因素之间的关系进行了统计分析 (表 1)。结果显示, 淋巴结转移组中 p120ctn 亚型 1 的阳性率为 62.5% (25/40), 显著高于无淋巴结转移组 [35.2% (19/54), $P < 0.05$], 同时, I、II 期 NSCLC 患者 p120ctn 亚型 1 表达阳性率为 40.6% (28/69), 显著低于其在 III、IV 期患者肿瘤细胞的亚型 1 阳性率 [64.0% (16/25), $P < 0.05$], 但 p120ctn 亚型 1 的表达与 NSCLC 患者的性别、年龄、组织学类型及分化程度等均无关 ($P > 0.05$)。

表 1 NSCLC 患者 p120ctn 亚型 1 及 E-cadherin 表达与临床病理因素之间的关系

临床病理因素	例数	p120ctn 亚型 1		E-cadherin	
		异常表达 [例, (%)]	P 值	异常表达 [例, (%)]	P 值
年龄			0.755		0.149
≤55 岁	39	19 (48.7)		25 (64.1)	
>55 岁	55	25 (45.5)		27 (49.1)	
性别			0.609		0.393
男	56	25 (44.6)		33 (58.9)	
女	38	19 (50.0)		19 (50.0)	
组织学类型			0.893		0.058
鳞状细胞癌	57	27 (47.4)		36 (63.2)	
腺癌	37	17 (45.9)		16 (43.2)	
分化程度			0.559		0.544
高-中分化	70	34 (48.6)		40 (57.1)	
低分化	24	10 (41.7)		12 (50.0)	
TNM 分期			0.044		0.936
I、II 期	69	28 (40.6)		38 (55.1)	
III、IV 期	25	16 (64.0)		14 (56.0)	
淋巴结转移			0.009		0.957
无	54	19 (35.2)		30 (55.6)	
有	40	25 (62.5)		22 (55.0)	

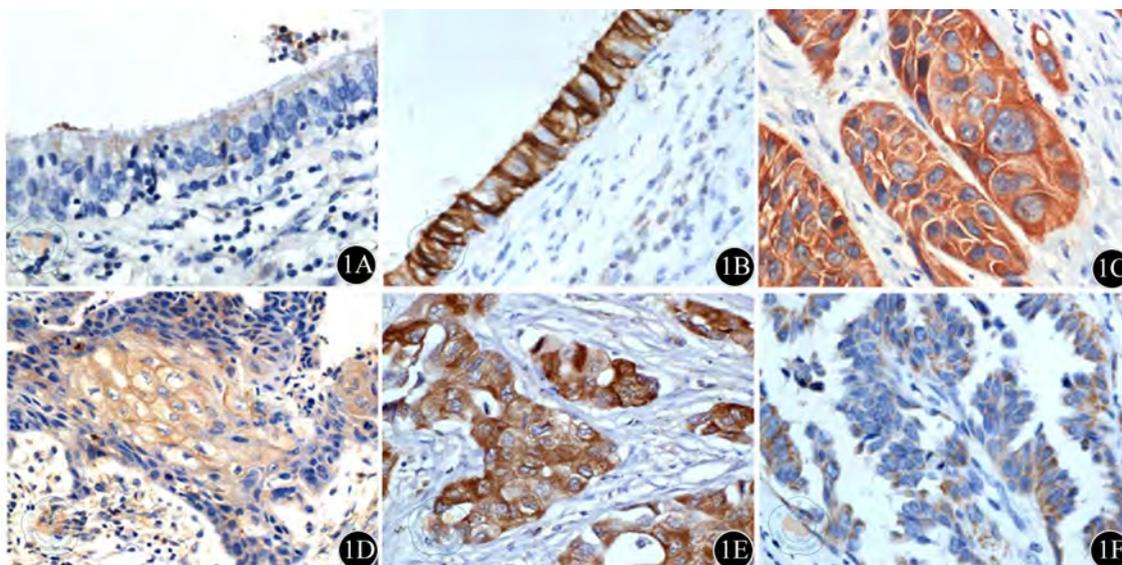


图1 p120ctn亚型1和E-cadherin在非小细胞肺癌及癌旁正常肺组织中表达情况(SP×400): p120ctn亚型1在支气管上皮中呈无表达或弱表达(1A); E-cadherin在支气管上皮呈连续的细胞膜强阳性表达(1B)。p120ctn亚型1在肺鳞状细胞癌(1C)和肺腺癌(1E)组织中呈胞质内阳性表达。E-cadherin在肺鳞状细胞癌(1D)和肺腺癌(1F)组织中出现细胞膜表达下降或胞质内异常表达

二、NSCLC 中 E-cadherin 的表达情况与临床病理因素之间的关系

正常肺组织中, E-cadherin 在支气管上皮呈连续的细胞膜阳性表达(图 1B), 而在 NSCLC 中, E-cadherin 出现细胞膜表达降低或细胞质表达增多(图 1D, 1F), 其异常表达率为 55.3% (52/94)。E-cadherin 的异常表达与 NSCLC 的各项临床病理因素均无关($P > 0.05$) (表 1)。

三、NSCLC 中 p120ctn 亚型 1 表达与 E-cadherin 表达之间的关系

Spearman 相关性检验结果表明, p120ctn 亚型 1 的阳性表达与 E-cadherin 的异常表达相关($r = 0.286, P < 0.05$)。

讨 论

p120ctn 是 Amadillo 基因家族的成员。p120ctn 可以与 E-cadherin 的跨膜区域胞内段结合, 从而调节细胞间的黏附。根据剪切部位的不同, p120ctn 可以分为 1~4 四种亚型^[1]。p120ctn 亚型 1 在 NSCLC 中的表达情况及与 E-cadherin 表达之间的关系尚不清楚。

本研究通过免疫组织化学方法证实: p120ctn 亚型 1 在正常支气管上皮中无表达或仅呈胞质内的弱表达, 其阳性表达率仅为 16.0%; 而在 NSCLC 中, p120ctn 亚型 1 在肿瘤细胞胞质中表达, 其阳性表达率为 46.8%, 二者之间比较具有显著性差异。这一结果表明: p120ctn 亚型 1 表达升高可能是 NSCLC 发生过程中的重要分子事件。然而, NSCLC 中 p120ctn 亚型 1 表达

上调的具体机制仍需进一步研究。

E-cadherin 在细胞黏附、信号转导等方面起到重要作用。相邻细胞 E-cadherin 的胞外段在细胞间的连接处通过 Ca^{2+} 依赖型亲同种受体反应形成同型二聚体, 形成拉链式结构并在细胞间形成黏附。当 E-cadherin 表达减少或功能异常时, 会导致肿瘤性转化或细胞移动和转移能力的提高。我们的研究表明, E-cadherin 在正常支气管上皮呈连续细胞膜表达, 而在 NSCLC 肿瘤细胞中出现 E-cadherin 细胞膜表达下降或出现细胞质内的异常表达, 其异常表达率达到 55.3%, 差异具有显著性, 此结果与其他肿瘤中的研究结果相似^[5]。更为重要的是, 我们的研究结果显示 NSCLC 中 E-cadherin 的异常表达与 p120ctn 亚型 1 胞质表达上调呈正相关($r = 0.286, P < 0.05$), 即 p120ctn 亚型 1 在细胞质中的阳性表达总是伴随着 E-cadherin 在细胞膜上表达的减弱或在细胞质内出现异常表达。有研究表明, E-cadherin 胞内段包含两个区域, 即近膜区 (juxtamembrane domain, JMD) 和连环素结合区 (catenin-binding domain, CBD), p120ctn 和 β -catenin 分别与 E-cadherin 胞内段的 JMD 和 CBD 区直接结合, 形成 E-cadherin/catenin 复合体, 从而稳定细胞间连接^[6-8]。结合本研究结果, NSCLC 肿瘤细胞 E-cadherin 胞膜表达减少或出现胞质的异常表达可能是导致 p120ctn 亚型 1 在胞质内蓄积的原因。最近的研究结果显示, 在 E-cadherin 定位于细胞中不同位置的情况下 (细胞膜或细胞质), p120ctn 对肿瘤细胞生长可以起到不同甚至是相反的作用^[9]。在正常组织中, 当 E-cadherin 表达于

细胞膜时,内源性的 p120ctn 可以稳定 E-cadherin 复合体,和 E-cadherin 一起起到抑制肿瘤的作用;而当肿瘤发生的时候,E-cadherin 表达减弱或缺失或出现胞质内的异常表达,此时内源性的 p120ctn 却起到促进恶性转化细胞生长的作用。Yanagisawa 等^[2]报道,在 E-cadherin 缺失的肿瘤细胞系中,p120 亚型 1 具有促进肿瘤侵袭和转移的作用,即伴随着 E-cadherin 的缺失,p120 亚型 1 具有了促进肿瘤侵袭和转移的作用。我们的研究结果不仅证实 E-cadherin 的异常表达与 p120ctn 亚型 1 胞质阳性表达具有相关性,同时还证实 p120ctn 亚型 1 在胞质内表达上调与 NSCLC 的淋巴结转移及 TNM 分期正相关,表明 p120ctn 亚型 1 表达增多可能促进 NSCLC 的恶性表型,与以往的研究结果相似^[10]。另外,一些研究发现,异常蓄积在细胞质中的 p120 亚型 1 还可能降低了其对 RhoA 和 Rac1 活性的抑制,从而促进肿瘤细胞侵袭的能力^[2,8-9]。

综上所述,我们发现 p120 亚型 1 在 NSCLC 中的表达高于正常肺组织,其表达与 NSCLC 的淋巴结转移及 TNM 分期相关,p120ctn 亚型 1 的表达与 E-cadherin 的异常表达具有相关性。

参 考 文 献

[1] Myster SH, Cavallo R, Anderson CT, et al. Drosophila p120catenin plays a supporting role in cell adhesion but is not an essential adher-

ens junction component. *J Cell Biol*, 2003, 160:433-449.

- [2] Yanagisawa M, Huvelde D, Kreinest P, et al. A p120 catenin isoform switch affects Rho activity, induces tumor cell invasion, and predicts metastatic disease. *J Biol Chem*, 2008, 283:18344-18354.
- [3] Paredes J, Correia AL, Ribeiro AS, et al. Expression of p120-catenin isoforms correlates with genomic and transcriptional phenotype of breast cancer cell lines. *Cell Oncol*, 2007, 29:467-476.
- [4] Fukumoto Y, Shintani Y, Reynolds AB, et al. The regulatory or phosphorylation domain of p120 catenin controls E-cadherin dynamics at the plasma membrane. *Exp Cell Res*, 2008, 314:52-67.
- [5] Yu J, Shi R, Zhang D, et al. Expression of integrin-linked kinase in lung squamous cell carcinoma and adenocarcinoma; correlation with E-cadherin expression, tumor microvessel density and clinical outcome. *Virchows Arch*, 2011, 458:99-107.
- [6] Davis MA, Reynolds AB. Blocked acinar development, E-cadherin reduction, and intraepithelial neoplasia upon ablation of p120-catenin in the mouse salivary gland. *Dev Cell*, 2006, 10:21-31.
- [7] Davis MA, Ireton RC, Reynolds AB. A core function for p120-catenin in cadherin turnover. *J Cell Biol*, 2003, 163:525-534.
- [8] Ireton RC, Davis MA, van Hengel J, et al. A novel role for p120 catenin in E-cadherin function. *J Cell Biol*, 2002, 159:465-476.
- [9] Soto E, Yanagisawa M, Marlow LA, et al. p120 catenin induces opposing effects on tumor cell growth depending on E-cadherin expression. *J Cell Biol*, 2008, 183:737-749.
- [10] Liu Y, Dong QZ, Zhao Y, et al. P120-catenin isoforms 1A and 3A differently affect invasion and proliferation of lung cancer cells. *Exp Cell Res*, 2009, 315:890-898.

(收稿日期:2012-11-08)

(本文编辑:戚红丹)

于涓瀚,苗原,刘洋,等. P120 连环蛋白亚型 1 在非小细胞肺癌中的表达及与 E-cadherin 表达的关系[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2013, 7(3):1064-1067.

中 華 醫 學 會