

[J]. 中国校医 2017 31(8):567

[5] KARAKAYALI FY ,TEZCANER T ,MORAY G. Anorectal function and outcomes after transanal minimally invasive surgery for rectal tumors [J]. J Minim Access Surg 2015 , 11(4) : 257

[6] YANGM ,REHMANAU ,ZUOC ,et al. A novel histologic grading scheme based on poorly differentiated clusters is applicable to treated rectal cancer and is associated with established histopathological prognosticators [J]. Cancer Med 2016 5(7) : 1510

[7] CHAND M ,SIDDIQUI MR ,SWIFT I ,et al. Sytematic review of prognostic importance of extramural venous invasive on rec-tal cancer [J]. World J Gastroenterol 2016 22(4) : 1721

[8] BRUKETA T ,MAJEROVIC M ,AUGUSTIN G. Rectal cancer and Fournier’s gangrene-current knowledge and therapeutic options [J]. World J Gastroenterol ,2015 ,21(30) :9002

[9] PIERRE B. Influence of sex on the survival of patients with esophageal cancer [J]. J Clin Oncol 2012 30(18) :2265

[10] 吴敏杰,吕双,王立东,等. 食管鳞癌浸润深度(T分期)与淋巴结转移的关系[J]. 肿瘤基础与临床 2016 29(2) :93

[11] 张惠娟,张朋,王立东,等. 食管鳞癌分化程度与淋巴结转移的关系[J]. 肿瘤基础与临床 2014 27(5) :369

[12] 姬玲粉,范宗民,王立东,等. 食管鳞癌大体类型与淋巴结转移的关系[J]. 河南医学研究 2016 25(4) :587

(2018-12-17 收稿 责任编辑王曼)

doi: 10. 13705/j. issn. 1671-6825. 2018. 12. 083

## 食管鳞癌组织中 E-cadherin 蛋白表达及对术后预后的影响

韩少华<sup>1)</sup>, 万里新<sup>2)</sup>, 李秀敏<sup>3)</sup>, 王海玲<sup>1)</sup>, 董金城<sup>4)</sup>, 靳艳<sup>1,5)</sup>, 杨洋<sup>1,6)</sup>, 肖凡凯<sup>1)</sup>, 宋昕<sup>1)</sup>, 胡守佳<sup>1)</sup>, 赵学科<sup>1)</sup>, 王建坡<sup>7)</sup>, 王立东<sup>1)</sup>

1) 郑州大学第一附属医院河南省食管癌重点开放实验室; 省部共建食管癌防治国家重点实验室 郑州 450052 2) 南阳市中心医院肿瘤科 河南南阳 473003 3) 新乡医学院第三附属医院胃肠科 河南新乡 453003 4) 淇县人民医院内科 河南淇县 456750 5) 新乡医学院基础医学院组织学与胚胎学教研室 河南新乡 453003 6) 郑州大学基础医学院病理学与病理生理学教研室 郑州 450001 7) 安阳市肿瘤医院肿瘤防治办公室 河南安阳 455000

关键词 食管鳞癌; E-cadherin; 术后预后

中图分类号 R735.1

摘要 目的: 探讨食管鳞癌组织中 E-cadherin 蛋白表达对术后预后的影响。方法: 5 620 例 1985 年至 2016 年间收集的食管鳞癌患者生物样本及临床病理信息均来自河南省食管癌重点开放实验室建立的 50 万例食管癌和贲门癌临床信息数据库, 利用组织芯片和 SP 免疫组化法测定患者食管鳞癌组织中 E-cadherin 的表达。结果: 男性患者中, 分化程度低、淋巴结转移阳性、病理分期晚的患者 E-cadherin 表达强于分化程度高、淋巴结转移阴性、病理分期早者( $P < 0.05$ )。女性患者中, 淋巴结转移阳性、病理分期晚的患者 E-cadherin 表达强于淋巴结转移阴性、病理分期早者( $P < 0.05$ )。Cox 回归分析结果显示, E-cadherin 阳性表达不是女性患者术后预后的独立影响因素( $P = 0.089$ ); 但是男性患者的术后预后独立危险因素  $HR(95\% CI)$  为 1.126(1.066 ~ 1.189)。结论: 癌组织中 E-cadherin 蛋白阳性表达是食管鳞癌男性患者术后预后的危险因素。

## Impact of E-cadherin protein expression in esophageal squamous cell carcinoma tissue on postoperation prognosis

HAN Shaohua<sup>1)</sup>, WAN Lixin<sup>2)</sup>, LI Xiumin<sup>3)</sup>, WANG Hailing<sup>1)</sup>, DONG Jincheng<sup>4)</sup>, JIN Yan<sup>1,5)</sup>, YANG

【基金项目】国家自然科学基金项目(U1804262 81872032); 河南省科技重大专项(161100311300); 河南省自然科学基金项目(162300410238)  
【作者简介】王立东 通信作者 男, 1958年8月生 博士 教授 研究方向: 食管、贲门癌变机制及防治 E-mail: ldwang2007@126.com

Yang<sup>1 6)</sup>, XIAO Fankai<sup>1)</sup>, SONG Xin<sup>1)</sup>, HU Shoujia<sup>1)</sup>, ZHAO Xueke<sup>1)</sup>, WANG Jianpo<sup>7)</sup>, WANG Lidong<sup>1)</sup>

1) Henan Key Laboratory of Esophageal Cancer Research, the First Affiliated Hospital, Zhengzhou University; State Key Laboratory of Esophageal Cancer Prevention and Treatment, Zhengzhou 450052 2) Department of Oncology, Nanyang City Center Hospital, Nanyang, Henan 473003 3) Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003 4) Department of Internal Medicine, Qixian People's Hospital, Qixian, Henan 456750 5) Department of Histology and Embryology, Basic Medical College, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003 6) Department of Pathology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001 7) Office of Cancer Prevention and Control, Anyang Tumor Hospital, Anyang, Henan 455000

**Keywords** esophageal squamous cell carcinoma; E-cadherin; postoperation prognosis

**Abstract** **Aim:** To investigate the effects of E-cadherin protein expression on survival of the patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). **Methods:** The biological samples and clinicopathological information of 5 620 patients with ESCC collected during 1985 - 2016 were derived from the clinical information database of 500 000 cases of esophageal and gastric cardia carcinoma of Henan key laboratory of esophageal cancer research. The expression of E-cadherin in ESCC tissue was determined by tissue microarray technology and SP immunohistochemical staining method. **Results:** The expression of E-cadherin was more in the female patients with lymph node metastasis and high pathological staging ( $P < 0.05$ ), which was higher in the male patients with low differentiation degree, lymph node metastasis and high pathological staging ( $P < 0.05$ ). The results of Cox regression showed that E-cadherin positive expression was the independent influencing factors of prognosis for the male patients ( $HR$  was 1.126, 95%  $CI$  was 1.066 - 1.189); but not for the female patients ( $P = 0.089$ ). **Conclusion:** E-cadherin positive expression may be a risk factor for the prognosis of the male ESCC patients.

食管癌是世界上最常见的九大恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率居高不下,发现晚和复发转移一直是食管癌研究的重大难题<sup>[1-2]</sup>。中国作为食管癌高发国家之一,其病理类型主要为鳞癌。E-cadherin是钙黏附蛋白家族的成员之一,是一种细胞骨架黏蛋白,在正常上皮组织中发挥调控细胞分化,维持细胞结构完整性和极性等重要作用。近年来的研究<sup>[3-4]</sup>表明,E-cadherin的表达减少或丢失与肿瘤临床病理表现有一定关系,然而,E-cadherin蛋白表达对食管癌预后的影响仍存在争议。本研究利用50万例食管癌和贲门癌临床信息数据库的资料,在大样本的基础上分析E-cadherin蛋白表达与食管鳞癌患者术后预后的关系,报道如下。

## 1 对象与方法

1.1 研究对象 从河南省食管癌重点开放实验室50万例食管癌和贲门癌临床信息数据库中选取1985年至2016年入库的研究对象。纳入标准:确诊为食管鳞癌且经手术治疗,术前均未接受过针对肿瘤的治疗(化疗、放疗等),临床病理信息完整且组织标本经HE染色、显微镜观察确认细胞结构完整、无坏死。排除脱片造成的不能判断免疫组化染色结果者。入组患者5 620例,男3 652例,确诊年龄(60.4 ± 8.4)岁,女1 968例,确诊年龄(61.5 ±

8.0)岁;参考UICC/AJCC制定的第6版食管癌TNM分期标准,I期221例,II期2 828例,III期2 343例,IV期228例;浸润程度:黏膜层185例,肌层1 324例,纤维膜3 998例,纤维膜外113例;淋巴结转移阳性2 568例,阴性3 052例;组织分化程度:高分化485例,中分化3 209例,低分化1 926例。

1.2 食管鳞癌组织中E-cadherin蛋白的检测 将入选患者蜡块标本中癌组织集中区域进行标记并设计7 × 16微列阵,以0.15 mm直径打孔,重新制成组织芯片模型并固定,然后进行免疫组化染色。兔抗E-cadherin抗体(GB13083-1,1:500)、PBS(pH 7.4)、柠檬酸抗原修复液(pH 6.0)、免疫组化染色试剂盒(G1210-2)均为武汉Servicebio技术开发有限公司产品。按照试剂标准流程进行实验。石蜡切片经二甲苯、无水乙醇梯度脱蜡至水,柠檬酸抗原修复,体积分数3%双氧水避光孵育以阻断内源性过氧化物酶,BSA血清封闭,加兔抗E-cadherin抗体4℃孵育过夜,加二抗(G1210-2,即用型),DAB显色,苏木精复染,常规脱水、透明、封片。以已知的阳性切片作为阳性对照,以PBS代替一抗作阴性对照,400倍光镜下观察。E-cadherin蛋白免疫阳性细胞表现为细胞膜棕黄色颗粒状均质着色,细胞质几乎不着色。结果判定采用本实验室已建立的ABC法<sup>[5-6]</sup>。根据阳性细胞染色程度判定:无染色为0

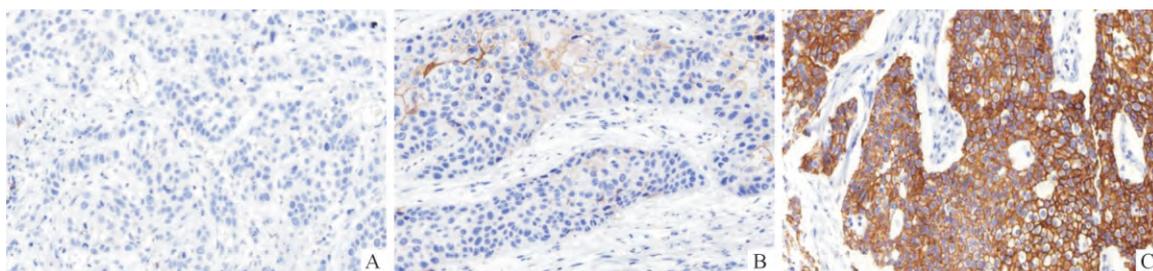
分;胞膜有淡黄色颗粒,明显高于背景者为1分;有较多棕黄色颗粒者为2分;有大量深棕黄色颗粒者为3分。每张切片于400倍镜下计数全部阳性细胞数和细胞总数,计算阳性细胞百分比, $<5\%$ 为0分, $5\% \sim 25\%$ 为1分, $25\% \sim 50\%$ 为2分, $\geq 50\%$ 为3分。两项评分相加0~1分为阴性,2~3分为弱阳性,4分以上为强阳性。

1.3 随访 确诊后开始跟踪随访,记录患者死亡时间及死亡原因,随访截止时间为2018年6月8日,终点事件为死亡。随访方式有电话随访、走访入户调查、村医及村干部问询、肿瘤登记册查询等。

1.4 统计学处理 采用SPSS 21.0进行分析。不同临床特征患者癌组织中E-cadherin蛋白表达的比较采用秩和检验。采用Kaplan-Meier法绘制不同临床病理特征患者的生存曲线并进行log-rank检验;采用Cox回归模型筛选食管鳞癌术后预后的独立影响因素。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

2.1 食管鳞癌组织中E-cadherin蛋白的表达 免疫组化染色结果见图1。不同临床病理特征食管鳞癌患者癌组织中E-cadherin蛋白表达的比较见表1、2。



A: 阴性; B 弱阳性; C: 强阳性

图1 食管鳞癌组织中E-cadherin的表达(SP法,  $\times 400$ )

表1 不同临床病理特征男性食管鳞癌患者癌组织中E-cadherin表达的比较

临床病理特征	n	E-cadherin 表达			Z/H(P)
		阴性	弱阳性	强阳性	
确诊年龄					
<60岁	1 810	366	1 000	444	0.700(0.482)
$\geq 60$ 岁	1 842	337	1 059	446	
浸润程度					
黏膜层	100	17	58	25	1.770(0.621)
肌层	788	146	436	206	
纤维膜	2 679	523	1 518	638	
纤维膜外	85	17	47	21	
淋巴结转移					
阴性	1 923	392	1 131	400	4.618(<0.001)
阳性	1 729	311	928	490	
分化程度					
高分化	295	42	206	47	23.560(<0.001)
中分化	2 074	341	1 190	543	
低分化	1 283	320	663	300	
病理分期					
I期	130	20	86	24	26.620(<0.001)
II期	1 779	366	1 041	372	
III期	1 583	294	854	435	
IV期	160	23	78	59	

表2 不同临床病理特征女性食管鳞癌患者癌组织中E-cadherin表达的比较

临床病理特征	n	E-cadherin 表达			Z/H(P)
		阴性	弱阳性	强阳性	
确诊年龄					
<60岁	871	180	475	216	0.620(0.535)
$\geq 60$ 岁	1 097	196	638	263	
浸润程度					
黏膜层	85	19	48	18	1.010(0.799)
肌层	536	94	313	129	
纤维膜	1 319	257	737	325	
纤维膜外	28	6	15	7	
淋巴结转移					
阴性	1 129	222	663	244	2.622(0.009)
阳性	839	154	450	235	
分化程度					
高分化	190	23	115	52	5.550(0.062)
中分化	1 135	207	661	267	
低分化	643	146	337	160	
病理分期					
I期	91	18	52	21	7.950(0.047)
II期	1 049	204	621	224	
III期	760	143	406	211	
IV期	68	11	34	23	

男性患者中,分化程度低、淋巴结转移阳性、病理分期高的患者 E-cadherin 表达强于分化程度高、淋巴结转移阴性、病理分期低者 ( $P < 0.05$ )。女性患者中,淋巴结转移阳性、病理分期高的患者 E-cadherin 表达强于淋巴结转移阴性、病理分期低者 ( $P < 0.05$ )。

2.2 术后预后影响因素分析 Kaplan-Meier 生存分析结果见表 3、表 4。男性患者中,E-cadherin 不同表达组间生存曲线有差异,表达越强,中位生存期越短。而女性患者中,E-cadherin 不同表达组间生存曲线差异无统计学意义。

Cox 回归分析变量赋值见表 5。回归分析结果(表 6、7)显示: E-cadherin 表达不是食管鳞癌女性患者术后预后的独立影响因素( $P = 0.089$ ),但是男性患者术后预后的独立危险因素( $P < 0.001$ )。

表 3 不同临床病理特征男性食管癌患者的 Kaplan-Meier 生存分析

临床病理特征	n	中位生存期 ( $T_{75}$ , $T_{25}$ ) /a	$\chi^2$	P
确诊年龄				
<60 岁	1 810	3.16(1.48, 6.93)	43.800	<0.001
≥60 岁	1 842	2.57(1.21, 5.29)		
浸润程度			46.601	<0.001
黏膜层	100	5.72(2.18, 5.72)		
肌层	788	3.21(1.64, 7.43)		
纤维膜	2 679	2.75(1.21, 5.68)		
纤维膜外	85	2.25(1.14, 5.25)		
淋巴结转移			210.331	<0.001
阴性	1 923	3.55(1.65, 8.98)		
阳性	1 729	2.25(1.09, 4.38)		
分化程度			93.670	<0.001
高分化	295	5.43(2.21, 14.87)		
中分化	2 074	2.99(1.33, 6.37)		
低分化	1 286	2.48(1.19, 4.74)		
TNM 分期			253.870	<0.001
I 期	130	8.03(3.48, 8.03)		
II 期	1 779	3.36(1.59, 8.06)		
III 期	1 583	2.35(1.12, 4.54)		
IV 期	160	1.81(0.92, 3.41)		
E-cadherin 表达			16.220	<0.001
阴性	703	3.15(1.33, 7.10)		
弱阳性	2 059	2.87(1.27, 6.35)		
强阳性	890	2.76(1.36, 5.05)		

表 4 不同临床病理特征女性食管癌患者的 Kaplan-Meier 生存曲线的比较

临床病理特征	n	中位生存期 ( $T_{75}$ , $T_{25}$ ) /a	$\chi^2$	P
确诊年龄			42.060	<0.001
<60 岁	871	3.83(1.67, 12.15)		
≥60 岁	1 097	2.81(1.21, 5.93)		
浸润程度			21.620	<0.001
黏膜层	85	5.29(1.72, 5.29)		
肌层	536	3.36(1.59, 9.66)		
纤维膜	1 319	3.00(1.24, 6.48)		
纤维膜外	28	2.36(1.05, 7.05)		
淋巴结转移			118.790	<0.001
阴性	1 129	4.00(1.61, 17.22)		
阳性	839	2.24(1.15, 4.63)		
分化程度			25.230	<0.001
高分化	190	4.62(1.60, 14.39)		
中分化	1 135	3.23(1.37, 8.19)		
低分化	643	2.79(1.36, 5.58)		
TNM 分期			141.100	<0.001
I 期	91	11.19(3.41, 11.19)		
II 期	1 049	3.62(1.55, 11.09)		
III 期	760	2.39(1.18, 5.00)		
IV 期	68	1.71(0.67, 3.96)		
E-cadherin 表达			4.540	0.103
阴性	376	3.63(1.35, 10.00)		
弱阳性	1 113	3.04(1.39, 7.55)		
强阳性	479	3.01(1.44, 6.90)		

表 5 变量赋值表

变量	赋值
确诊年龄	1 = “<60 岁”; 2 = “≥60 岁”
浸润程度	1 = 黏膜层; 2 = 肌层; 3 = 纤维膜; 4 = 纤维膜外
E-cadherin 表达	1 = 阴性; 2 = 弱阳性; 3 = 强阳性

表 6 食管鳞癌男性患者术后预后影响因素的 Cox 回归分析结果

变量	$\beta$	SE	P	HR(95% CI)
确诊年龄	0.254	0.037	<0.001	1.289(1.199 ~ 1.385)
浸润程度	0.249	0.035	<0.001	1.283(1.198 ~ 1.374)
E-cadherin 表达	0.118	0.028	<0.001	1.126(1.066 ~ 1.189)

表 7 食管鳞癌女性患者术后预后影响因素的 Cox 回归分析结果

变量	$\beta$	SE	P	HR(95% CI)
确诊年龄	0.353	0.053	<0.001	1.424(1.284 ~ 1.579)
浸润程度	0.223	0.046	<0.001	1.250(1.143 ~ 1.367)
E-cadherin 表达	0.067	0.039	0.089	1.069(0.990 ~ 1.155)

### 3 讨论

E-cadherin 是钙黏蛋白家族成员,是一种重要的跨膜糖蛋白,其基因位于第 16 号染色体,其与连接素( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -catenin)结合形成复合物,介导细胞间黏附,维持上皮组织结构和功能,被认为是细胞间黏附连接、维持细胞极性和组织完整性的重要蛋白<sup>[7]</sup>。E-cadherin 表达低下导致的复合物功能障碍,可影响细胞间黏附。

肿瘤细胞分化程度降低,则极性丧失,细胞间连接减弱,容易发生转移,与肿瘤细胞的侵袭转移和预后不良有关<sup>[8]</sup>。本研究结果显示,E-cadherin 表达与食管鳞癌的组织分化程度、淋巴结转移有关。但是 Luo 和 Siitonen 等<sup>[9-10]</sup>研究发现某些生物标记物在原发肿瘤和配对转移淋巴结组织中的表达并不一致,E-cadherin 在转移淋巴结中的表达强于原发肿瘤组织。因此肿瘤组织中 E-cadherin 的表达与肿瘤侵袭、转移的关系还有待进一步研究。

研究<sup>[11-13]</sup>证实,E-cadherin 和连接素的共同作用与食管癌的预后相关。Ishiguro 等<sup>[3]</sup>则认为癌组织中  $\beta$ -catenin 的表达与食管癌患者的预后无关,而 E-cadherin 与  $\beta$ -catenin 则协同起作用,影响食管癌患者的预后。因此,目前人们对 E-cadherin 表达评判食管癌预后的价值看法不一。本研究利用大样本、长时间随访数据,对癌组织中 E-cadherin 表达与食管鳞癌患者术后生存状况的关系进行了探讨,结果显示,E-cadherin 阳性表达是男性食管鳞癌患者术后预后的独立危险因素,但不是女性患者的术后预后影响因素。多项研究<sup>[14-16]</sup>结果显示,女性食管鳞癌患者的术后生存状况优于男性,这一现象可能与女性体内激素水平、受体水平、婚育状态有关。

分子生物学指标是精准预防、精准治疗、个体化治疗的必然条件。本研究结果提示 E-cadherin 是男性食管鳞癌患者术后预后的独立影响因素,但其分子机制仍不清楚,有待进一步研究。此外单一指标能否对预后做出准确的判断,也值得进一步探讨。

#### 参考文献

[1] LAGERGREN J,SMYTH E,CUNNINGHAM D,et al. Oesophageal cancer[J]. Lancet 2017,390(10110):2383  
 [2] 王立东,宋昕,赵学科,等.食管癌环境和遗传危险因素交互作用的分子基础和精准预防[J].中国肿瘤临床,2016,43(12):515  
 [3] ISHIGURO H,WAKASUGI T,TERASHITA Y,et al. De-

creased expression of CDH1 or CTNNB1 affects poor prognosis of patients with esophageal cancer[J]. World J Surg Oncol 2016,14(1):240  
 [4] LIN Y,SHEN LY,FU H,et al. P21,COX-2,and E-cadherin are potential prognostic factors for esophageal squamous cell carcinoma[J]. Dis Esophagus 2017,30(2):1  
 [5] 李韶华,丁广成,王立东,等.同一个体食管贲门双原发癌组织 Survivin 和 E-cadherin 的蛋白表达[J].中华肿瘤防治杂志 2009,16(10):764  
 [6] 赵学科,周福有,张连群,等.食管癌变过程中 PLCE1 蛋白的表达[J].河南大学学报(医学版) 2012,31(3):203  
 [7] WHEELOCK MJ,JOHNSON KR. Cadherins as modulators of cellula phenotype[J]. Annu Rev Cell Dev Biol,2003,19:207  
 [8] LIU F,GU LN,SHAN BE,et al. Biomarker for EMT and EMT in breast carcinoma: a review[J]. J Clin Med,2016,5(7):65  
 [9] LUO KJ,HU Y,WEN J,et al. CyclinD1,p53,E-cadherin,and VEGF discordant expression in paired regional metastatic lymph nodes of esophageal squamous cell carcinoma: a tissue array analysis[J]. J Surg Oncol 2011,104(3):236  
 [10] SIITONEN SM,KONONEN JT,HELIN HJ,et al. Reduced E-cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer[J]. Am J Clin Pathol,1996,105(4):394  
 [11] FANG WK,LIAO LD,GU W,et al. Down-regulated  $\gamma$ -catenin expression is associated with tumor aggressiveness in esophageal cancer[J]. World J Gastroenterol,2014,20(19):5839  
 [12] SETOYAMA T,NATSUGOE S,OKUMURA H,et al. Alpha-catenin is a significant prognostic factor than E-cadherin in esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Surg Oncol,2007,95(2):148  
 [13] ZHANG G,ZHOU X,XUE L,et al. Accumulation of cytoplasmic beta-catenin correlates with reduced expression of E-cadherin, but not with phosphorylated Akt in esophageal squamous cell carcinoma: immunohistochemical study[J]. Pathol Int,2005,55(6):310  
 [14] 汤萨,黄佳,董金城,等.性别对高、低发区食管癌患者生存期的影响[J].肿瘤防治研究 2014,41(3):203  
 [15] 张冬云,刘冉,库建伟,等.婚育因素对中国女性食管鳞状细胞癌患者的生存影响[J].世界华人消化杂志,2015,23(22):3517  
 [16] 王启鸣.性激素及其受体与食管癌变的关系[D].郑州:郑州大学,2003.

(2018-12-17 收稿 责任编辑王 曼)