

文章编号:1005-6947(2007)05-0497-04

· 简要论著 ·

# E-钙黏附素和环氧化酶-2在胰腺癌中的表达及其临床意义

丁伟, 刁红亮

(新疆医科大学附属肿瘤医院 胸肝外科, 新疆 乌鲁木齐 830011)

**摘要:**为探讨 E-钙黏附素(E-cad)及环氧化酶-2(COX-2)在胰腺癌组织中的表达及其与胰腺癌临床病理特点的关系。笔者应用免疫组化技术检测 56 例胰腺癌组织、10 例正常胰腺组织、6 例癌旁组织和 12 例转移淋巴结组织中 E-cad 及 COX-2 的表达。结果显示,正常胰腺及癌旁组织中 E-cad 均呈强阳性表达;正常胰腺组织中 COX-2 均呈阴性表达,癌旁组织中仅 1 例(16.7%)呈现阳性表达。胰腺癌组织中,E-cad 异常表达者 62.5%,COX-2 表达阳性 78.6%;E-cad 和 COX-2 在癌组织中的表达与在癌旁和正常胰腺组织中的表达之间比较差异均有显著性( $P < 0.01$ )。E-cad 和 COX-2 在胰腺癌中的异常表达与胰腺癌的淋巴结转移、TNM 分期、周围神经侵犯和 1 年生存率有关,组间差异有显著性( $P < 0.05$ ),而与发病年龄、性别、肿块大小无相关。Kaplan-meier 生存分析,E-cad 和 COX-2 在胰腺癌中的异常表达者与正常表达者生存时间差异无显著性( $P > 0.05$ )。提示 E-cad 和 COX-2 在胰腺癌中的异常表达可能在胰腺癌发生、发展过程中起重要作用,联合检测 E-cad 和 COX-2 可望成为评价胰腺癌生物学特性的有用指标。

[中国普通外科杂志,2007,16(5):497-500]

**关键词:** 胰腺肿瘤; E-钙黏素; 环氧化酶-2; 免疫组织化学; 预后

**中图分类号:** R735.9

**文献标识码:** B

近期研究表明,环氧化酶-2(COX-2)和 E-钙黏附素(E-cad)与多种肿瘤发生、发展和预后有关,但有关联合检测 COX-2 和 E-cad 在胰腺癌中的表达和作用研究尚罕见报道。笔者应用免疫组织化学方法检测 56 例胰腺癌和癌旁组织及其转移淋巴结中 E-cad 和 COX-2 的表达情况,以及它们与胰腺癌临床病理因素之间的关系,以探讨两者在胰腺癌发生发展中的作用和对预后的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本来源

1.1.1 胰腺癌组 选取新疆医科大学附属肿瘤医院和第二附属医院及新疆克拉玛依市中心医院于 1998 年 1 月—2003 年 12 月手术切除标本共 56 例,病理确诊为胰腺癌,男 35 例,女 21 例,年

龄 37~76 岁。肿瘤样本的肿瘤分期按 AJCCTNM (1997) 的标准, I 期 5 例, II 期 13 例, III 期 28 例, IV 期 10 例。

1.1.2 癌旁组织组 距癌变组织 3 cm 的胰腺组织共 6 例。

1.1.3 淋巴结转移组 获得有癌转移的淋巴结组织 12 例。

1.1.4 正常胰腺组织组 来自正常人尸体和胆总管下端癌行胰十二指肠切除术胰腺标本共 10 例。所有患者术前均未行放疗和化疗,有完整的临床、病理和随访资料。

### 1.2 检测方法

全部标本经病理学复检明确诊断。取石蜡包埋组织 4~5  $\mu\text{m}$  连续切片,用免疫组化方法检测 E-cad 和 COX-2,用已知的正常胰腺标本作为 E-cad 检测的阳性对照;用已知的有 COX-2 表达的胰腺癌标本作为 COX-2 检测的阳性对照。以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗为阴性空白对照。E-cad 和 COX-2 单克隆抗体及试剂盒均购自北京

收稿日期:2006-09-30; 修订日期:2007-01-18。

**作者简介:**丁伟,男,山东人,新疆医科大学附属肿瘤医院副教授,主要从事肝胆胰肿瘤基础与临床方面的研究。

**通讯作者:**刁红亮 E-mail:dhlsun@126.com

中山生物技术有限公司。

免疫组化染色采用 S-P 法。主要步骤如下:石蜡切片脱蜡至水,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 甲醇封闭内源性过氧化物酶 30 min,微波(750 W)加热至 95℃ 修复抗原;依次加入鼠抗人单抗(一抗:E-cad 和 COX-2,4℃ 过夜)和生物素化兔抗鼠(二抗:IgG 1:100,30 min),S-P/HRP 复合物(1:100,30 min),以上步骤均以 PBS 冲洗,5 min × 3;DAB 显色,苏木精复染细胞核;常规脱水、透明、封片。每批染色均设阳性对照(正常)和阴性对照,严格按试剂盒推荐方法染色。

### 1.3 结果判断标准

由 2 名未参与实验的病理医生观察所有切片,每一切片观察 5 个不相连的视野。

1.3.1 E-cad 染色结果判断标准 以正常胰腺腺泡及导管上皮细胞 E-cad 表达模式为阳性对照,癌细胞染色与正常胰腺组织相同者为阳性(+);全部癌细胞染色一致性降低或灶性降低者为异质性(±);癌细胞染色完全消失者为阴性(-),异质性和阴性为异常表达。

1.3.2 COX-2 染色结果判断标准 COX-2 染色定位于细胞质中,呈褐色着色。细胞染色 > 80% 为强阳性(++);细胞染色 10% ~ 80% 为阳性(+);细胞染色 < 10% 为阴性(-)。在转移淋巴结中 E-cad 和 COX-2 的表达仅分 2 类:如出现黄染则为阳性(+),完全缺乏者为阴性(-)。阴性为异常表达。

### 1.4 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件。采用  $\chi^2$  检验及精确概率法分析组间差异。用 Spearmans 等级相关校正公式分析 E-cad 和 COX-2 的相关性。用 Kaplan-Meier 进行生存分析。

## 2 结果

### 2.1 E-cad 在正常胰腺、癌旁组织、胰腺癌及转移淋巴结中的表达

E-cad 在正常胰腺和癌旁组织中 100% 呈强阳性表达,且均匀定位于细胞膜表面;E-cad 在转移淋巴结中 6 例(50%)呈阳性表达;在癌组织中,21 例(37.5%)阳性表达,35 例(62.5%)表达明显下降或缺失,与非癌组织比较差异有显著性( $P < 0.01$ );

表 1 E-cad 在正常胰腺组织和癌组织的表达

组别	例数	E-cad 表达			
		低表达	高表达	阳性	阳性率(%)
正常胰腺组织和癌旁组织	16	2	14	16	100.0
转移淋巴结组织	12	2	4	6	50.0
胰腺癌组织	56	12	9	21	37.5 <sup>†</sup>

注:†  $P < 0.01$

### 2.2 COX-2 在癌旁、正常胰腺组织、胰腺癌及转移淋巴结中的表达

COX-2 在正常胰腺组织中未见有表达,在癌旁组织中有 1 例表达;在转移淋巴结中有 6 例(50%)可见 COX-2 的表达;56 例胰腺癌组织中有 44 例(78.6%)呈阳性表达,与非癌组织相比有非常显著性差异( $P < 0.01$ )(表 2)

表 2 COX-2 在正常胰腺组织和癌组织的表达

组别	例数	COX-2 表达			
		低表达	高表达	阳性	阳性率(%)
正常胰腺组织和癌旁组织	16	1	0	1	6.25
转移淋巴结组织	12	2	4	6	50.0 <sup>†</sup>
胰腺癌组织	56	12	32	44	78.6 <sup>†</sup>

注:†  $P < 0.01$

### 2.3 E-cad 表达与 COX-2 表达的相关性

E-cad 及 COX-2 在胰腺癌组织中的表达均出现不同程度的异常,与在正常组织中的表达相比,差异均有显著性( $P < 0.05$ )。采用 Spearmans 等级相关分析,两者表达呈显著负相关( $r_s = -0.572$ ,  $P < 0.05$ )。(表 3)

表 3 E-cad 与 COX-2 在胰腺癌中异常表达的关系

E-cad 表达	Cox-2 表达例数(%)		合计
	(-)	(+)	
(+)	8(14.3)	13(23.2)	21
(-)	4(7.4)	31(55.4)	35
合计	12	44	56

注: $\chi^2 = 5.543$ ,  $P = 0.0186$   $r_s = -0.572$

### 2.4 COX-2 和 E-cad 表达和胰腺癌临床病理特征的关系

COX-2 和 E-cad 的表达与胰腺导管腺癌的 TNM 分期、淋巴结转移、神经浸润、生存时间有关( $P = 0.02, 0.01, 0.04, 0.03$ ),而与年龄、性别和肿瘤大小和无关(表 4)。

### 2.5 胰腺癌患者的生存率分析

56例患者均获随访,随访时间为0.5~3年,Kaplan-Meier生存分析 E-cad在胰腺癌中表达降低和

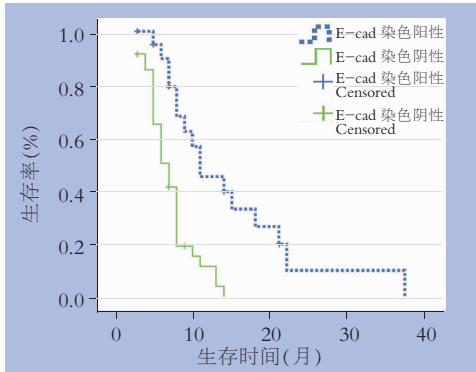


图1 E-cad 染色阳性组与阴性组 Kaplan-Meier 生存曲线

COX-2在胰腺癌中表达阳性者,生存时间短于正常表达者,但差异无显著性( $P>0.05$ )(图1-2)。

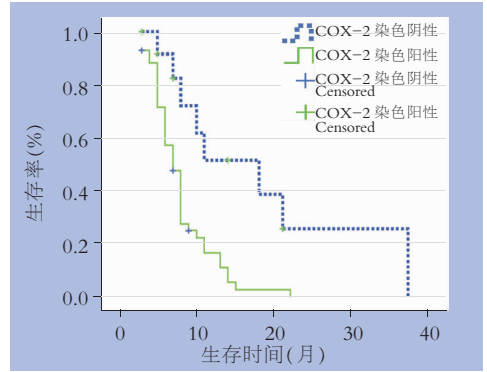


图2 COX-2 染色阳性组与阴性组 Kaplan-Meier 生存曲线

表4 COX-2和E-cad的异常表达与胰腺癌临床病理参数之间的关系

病理参数	n	E-cad		Cox-2		P值
		正常(%)	异常(%)	正常(%)	异常(%)	
年龄(岁)						
≤55	19	7(36.8)	12(63.2)	4(21.1)	15(78.9)	>0.05
>55	37	14(37.8)	23(62.2)	8(21.6)	29(78.4)	
性别						
女	21	10(47.6)	11(52.4)	4(19.1)	17(80.9)	>0.05
男	35	11(31.4)	24(68.6)	8(22.9)	27(77.1)	
肿瘤大小(cm)						
≤5	33	13(39.4)	20(60.6)	7(21.2)	26(78.8)	>0.05
>5	23	8(34.8)	15(65.2)	5(21.7)	18(78.3)	
TNM分期						
I, II	18	12(66.7)	6(33.3)	9(50.0)	9(50.0)	<0.05
III, IV	38	9(23.7)	29(76.3)	3(7.9)	35(92.1)	
浸润状态						
有	37	12(32.4)	25(67.6)	7(18.9)	30(81.1)	>0.05
无	19	9(47.4)	10(52.6)	5(26.3)	14(73.7)	
淋巴结转移						
无	19	11(57.9)	8(42.1)	10(52.6)	9(47.4)	<0.05
有	37	10(27.0)	27(73.0)	2(5.4)	35(79.5)	
神经侵犯						
(-)	33	16(48.5)	17(51.5)	10(30.3)	3(9.7)	<0.05
(+)	23	5(21.7)	18(78.3)①	2(8.7)	21(91.3)	
生存时间(月)						
>12	11	7(63.6)	4(36.4)	5(45.5)	6(54.5)	<0.05
≤12	45	14(31.1)	31(68.9)	7(15.6)	38(84.4)	

是胰腺癌组织的浸润特性,较早发生淋巴和血液转移。E-cad是一种钙依赖性黏附分子,可使瘤细胞保持密切接触,难以脱离原发部位进入周围组织和脉管,并在介导上皮细胞的正常黏附、维持上皮细胞的稳定中发挥重要作用<sup>[2]</sup>,E-cad被认为是肿瘤侵犯与转移的重要抑制基因,E-cad在大部分胰腺癌中功能丧失<sup>[3]</sup>,是导致肿瘤获得侵犯与转移特性的重要一步<sup>[4]</sup>。Koenig等<sup>[5]</sup>发现,在胰腺癌肿瘤细胞中,肿瘤产生细胞外基质成分通过减少E-cad介导的细胞之间的黏附和促进胰腺癌肿瘤细胞的增殖,其结果有助于侵犯和转移。COX-2是催化花生四烯酸转化为前列腺素的关键酶,存在于核膜和微粒体膜<sup>[6]</sup>。Merati的研究显示,胰腺癌中神经侵犯与胰腺癌中COX-2表达相关,且其在腺体中的表达比实体中更常见<sup>[7]</sup>,COX-2的表达与肿瘤的血管发生<sup>[8]</sup>以及周围神经侵犯有关<sup>[9]</sup>。COX-2在正常组织中水平很低,其启动子及其活性对转录调控有重要意义,其诱导的前列腺素增加了血管内皮生长因子水平,促进了血管的发生<sup>[10]</sup>。流行病学资料显示,长期服用非甾体类抗炎药物的人群,胰腺癌的患病率明显下降<sup>[11]</sup>,此类药物是通过抑制环氧化酶而发挥作用,COX-2基因表达水平增强与胰腺癌的转移和预后密切相关,故推测COX-2可能参与了胰腺癌的发生发展过程。

### 3 讨论

胰腺癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,预后差,手术切除率和5年生存率低<sup>[1]</sup>,原因之一

本研究发现,E-cad在正常胰腺导管上皮细胞均正常表达,在胰腺癌组织中,62.5%(35/56)E-cad表达明显下降或缺失,而在其原发灶E-cad正常表达的胰腺癌组织中,其转移淋巴结E-cad

亦呈阴性表达;E-cad 在低分化、有淋巴结转移、周围神经浸润和临床分期较晚的胰腺癌组织中表达降低更为常见。谷化平等<sup>[12]</sup>发现,在癌旁和正常胃粘膜组织中,E-cad 多呈强阳性表达,在胃癌组织中,E-cad 表达在晚期胃癌均显著低于早、中晚期胃癌,在伴有浆膜浸润和淋巴结转移的胃癌表达低于无浆膜浸润和无淋巴结转移的胃癌( $P < 0.05$ )。推测 E-cad 介导的细胞黏附功能的改变,癌细胞可因 E-cad 基因的改变和功能障碍获得一定的“自由”,为其进一步的浸润、转移提供了必要的分子基础,在胰腺癌的进展中有着重要的作用<sup>[13]</sup>。

本研究结果显示:78.8% 的胰腺癌组织中 COX-2 的表达明显升高,在所有的淋巴结转移灶中均发现有 COX-2 表达,而在正常胰腺组织中则未检测到有 COX-2 的表达;无 COX-2 表达的胰腺癌组织,其转移淋巴结中可见 COX-2 表达。Oshima 等<sup>[14]</sup>发现,剔除了 Apc716 基因的小鼠在肠息肉发生的早期,即有 COX-2 表达的增多;如去除此小鼠的 COX-2 基因,则肠息肉形成受阻。据此认为 COX-2 基因可能与 APC 基因相关联,并相互调控。APC 基因产物又与 E-cad 的配体- $\beta$  连环素相关联。COX-2, E-cad 的表达呈负相关,提示可能是通过 APC 为中介,影响着两者之间的表达。

COX-2 和 E-cad 的表达与胰腺导管腺癌的 TNM 分期、淋巴结转移、神经浸润、生存时间有关,而与年龄,性别和肿瘤大小和无关,与吕丽红等<sup>[15]</sup>研究结果基本相同。本文随访结果显示, E-cad 和 COX-2 在胰腺癌中的异常表达者生存时间低于正常表达者,但差异无显著性。COX-2 和 E-cad 异常表达可能在胰腺癌发生、发展中起重要作用,两者之间有依从性。术后对胰腺癌标本进行 COX-2 和 E-cad 的联合检测,有助于临床医生对肿瘤的生物特性作出正确判断,有可能为胰腺癌的治疗提供新的靶点。

#### 参考文献:

[1] Jemal A, Tiwari RC, Murray T, *et al.* Cancer statistics, 2004 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2004, 54(7): 8-29.  
 [2] Bremnes RM, Veve R, Hirsch FR, *et al.* The E-cadherin cell-cell adhesion complex and lung cancer invasion, metastasis, and prognosis [J]. *Lung Cancer*, 2002, 36(2): 115-124.

[3] Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Polychronidis A, *et al.* Expression patterns of alpha-, beta- and gamma-catenin in pancreatic cancer: correlation with E-cadherin expression, pathological features and prognosis [J]. *Anticancer Res*, 2001, 21(6A): 4127-4134.  
 [4] Shereen Keleg, Peter Buchler, Roman Ludwig, *et al.* Invasion and metastasis in pancreatic cancer [J]. *Mol Cancer*, 2003, 2(1): 1186-1476.  
 [5] Koenig A, Mueller C, Hasel C, *et al.* Collagen Type I Induces Disruption of E-Cadherin-Mediated Cell-Cell Contacts and Promotes Proliferation of Pancreatic Carcinoma Cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(9): 4662-4671.  
 [6] Vezza R, Habib A, Li h, *et al.* Regulation of cyclooxygenases by protein kinase C, Evidence against the importance of direct enzyme phosphorylation [J], *J Biol Chem*, 1996, 271(47): 30028-30033.  
 [7] Merati K, Siadaty M, Andea A, *et al.* Expression of inflammatory modulator COX-2 in pancreatic ductal adenocarcinoma and its relationship to pathologic and clinical parameters [J]. *Am J Clin Oncol*, 2001, 24(5): 447-452.  
 [8] Aoki T, Nagakawa Y, Tsuchida A, *et al.* Expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in pancreatic tumors [J]. *Oncol Rep*, 2002, 9(4): 761-765.  
 [9] Merati K, Said SM, Andea A, *et al.* Expression of inflammatory modulator COX-2 in pancreatic ductal adenocarcinoma and its relationship to pathologic and clinical parameters [J]. *Am J Clin Oncol*, 2001, 24(5): 447-452.  
 [10] Eibl G, Bruemmer D, Okada Y, *et al.* PGE is generated by specific COX-2 activity and increases VEGF production in COX-2-expressing human pancreatic cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 306(4): 887-897.  
 [11] Crane CH, Mason K, Janjan NA, *et al.* Initial experience combining cyclooxygenase-2 inhibition with chemoradiation for locally advanced pancreatic cancer [J]. *Am J Clin Oncol*, 2003, 26(4): 81-84.  
 [12] 谷化平,尚培忠,周翠平. CD44v6 和 E-上皮钙黏附素在胃癌中的表达与预后的关系 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(4): 304-305.  
 [13] 李玉军,纪祥瑞. E 钙黏附素和  $\alpha$  连环素的表达与胰腺癌生物学行为的关系 [J]. *中华消化杂志*, 2002, 22(3): 150-152.  
 [14] Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, *et al.* Suppression of intestinal polyposis in APC716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2) [J]. *Cell*, 1996, 87(5): 803.  
 [15] 吕丽红,张波,曾庆东,等. 5-LOXmRNA 和 COX-2mRNA 在胰腺癌中的表达及其临床意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2006, 15(6): 420-422.