

文章编号:1005-6947(2008)04-0397-03

· 简要论著 ·

# EphA2 和 E-cadherin 在胃癌中的表达及其意义

袁伟杰, 陈志康, 伍绍斌, 葛杰, 胡斌, 陈子华

(中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南 长沙, 410008)

**摘要:**目的 探讨 EphA2 与 E-cadherin 在胃癌组织中的表达及其意义。方法 采用免疫组织化学 SP 法检测 EphA2 与 E-cadherin 蛋白在胃癌组织、癌旁组织和远癌胃组织中的表达情况, 分析它们与胃癌临床病理特征之间的关系及两种蛋白间的相关性。结果 EphA2 在胃癌组织中呈高表达 ( $P < 0.01$ ), 其高表达与胃癌的浸润深度、肿瘤 TNM 分期以及淋巴结转移有关 ( $P < 0.05$ ); E-cadherin 在胃癌组织中呈低表达 ( $P < 0.01$ ), 其低表达与胃癌的浸润深度、肿瘤分化程度、肿瘤 TNM 分期以及淋巴结转移有关 ( $P < 0.05$ ); 胃癌组织中 EphA2 和 E-cadherin 蛋白表达呈负相关 ( $r = -0.602$ ,  $P < 0.001$ )。结论 EphA2 的高表达和 E-cadherin 的低表达与胃癌的发展和转移密切相关, EphA2 可望作为胃癌治疗的新靶点。  
[中国普通外科杂志, 2008, 17(4): 397-399]

**关键词:** 胃肿瘤; EphA2; E-cadherin; 免疫组织化学

**中图分类号:** R 735.2

**文献标识码:** B

侵袭转移、术后复发是胃癌患者主要死亡原因, 研究胃癌发展、侵袭转移的机制具有重要意义。EphA2 受体和上皮型钙黏蛋白 (E-cadherin, E-cad) 是近年来研究的热点。本研究采用免疫组织化学 SP 法检测 EphA2 与 E-cadherin 在胃癌组织中的表达, 以探讨其在胃癌发展、转移中的作用以及两者可能的内在联系。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 标本来源及分组 (1) 胃癌组: 54 例, 标本均为本院普外科 2006 年 3 月—2006 年 11 月手术切除的胃癌患者的癌组织; 其中男 33 例, 女 21 例, 年龄 34 ~ 75 岁, 中位年龄 57.6 岁。所有患者术前未接受化疗、放疗、免疫治疗以及其他针对肿瘤的治疗。参照全国胃癌诊治统一方案及我院病理科提供的资料, 高分化或中分化腺癌 23 例, 低分化或未分化腺癌 31 例。按照国际抗癌联盟 1997 年 TNM 分期标准进行肿瘤分期: I ~ II 期 24 例, III ~ IV 期 30 例。(2) 癌旁组: 54 例,

取自相应胃癌患者距肿瘤边缘 2cm 的组织标本, 经病理证实无癌细胞和增生。(3) 远癌胃组织组: 54 例, 取自相应胃癌患者距肿瘤边缘 6cm 的胃黏膜组织, 经病理证实无癌细胞。

1.1.2 试剂 兔抗人 EphA2 多克隆抗体和兔抗人 E-cadherin 多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司; 即用型 SP 免疫组化染色试剂盒和 DAB 显色剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 免疫组化操作步骤 采用 SP 法检测 EphA2 与 E-cadherin 的表达。检测方法按试剂盒说明书进行。用已知阳性的乳腺癌切片作为 EphA2 的阳性对照, 已知阳性的正常乳腺组织切片作 E-cadherin 的阳性对照。以磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 结果判定 EphA2 蛋白主要在细胞浆内表达, 以胞浆内出现棕黄色染色为阳性染色; 以阳性细胞百分率和染色强度为判定标准。结果判定参照文献报道<sup>[1]</sup>, 评分标准: 阳性细胞  $< 10\%$  为 1 分;  $10\% \sim 50\%$  为 2 分;  $> 50\%$  为 3 分。染色强弱计分, 阴性为 0 分; 淡黄色染色为 1 分; 中度黄色染色为 2 分; 棕黄色染色为 3 分。按照“阳性细胞  $\times$  染色强弱”计总分, 总分  $\leq 3$  为阴性 (-),  $3 < \text{总分} \leq 6$  为阳性 (+), 总分  $> 6$  为强阳性(++)。E-cadherin 阳性细胞为细胞膜或细胞

收稿日期: 2007-12-20; 修订日期: 2008-03-13。

作者简介: 袁伟杰, 男, 中南大学湘雅医院博士研究生, 主要从事胃肠道肿瘤方面的研究。

通讯作者: 陈子华 E-mail: zihuac@yahoo.com

浆着棕黄色,细胞膜染色呈颗粒或线状,细胞浆染色呈斑片状。结果判定参照 Turashvili 分级法<sup>[2]</sup>。E-cadherin 表达分3级:阴性(-),细胞无棕色染色且阳性细胞数 < 10%;阳性(+),细胞浅棕黄色染色且阳性细胞数为 10% ~ 50%;强阳性(++),细胞棕黄色染色且阳性细胞数 > 50%。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 版统计软件对实验数据进行统计分析。比较组间差异的显著性采用 Wilcoxon 秩和检验;免疫组化结果与临床病理特征比较采用四格表  $\chi^2$  检验;EphA2 与 E-cadherin 之间的相关性检验采用 Spearman 等级相关分析。 $P < 0.05$  认为有统计学意义。

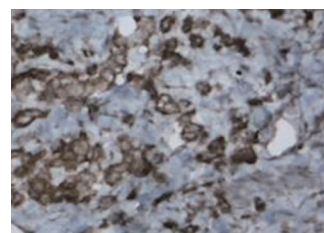


图1 低分化胃癌 EphA2 强阳性表达 (SP × 400 倍)

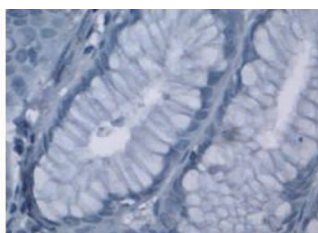


图2 远癌胃组织 EphA2 阴性表达 (SP × 400 倍)

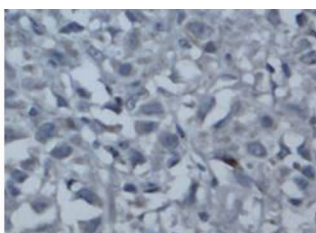


图3 低分化胃癌 E-cadherin 阴性表达 (SP × 400 倍)

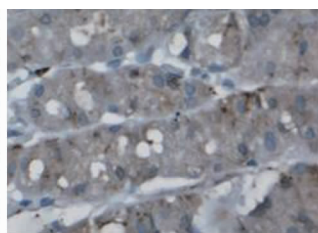


图4 远癌胃组织 E-cadherin 强阳性表达 (SP × 400 倍)

## 2 结果

### 2.1 EphA2 蛋白和 E-cadherin 蛋白在不同组织中的表达情况

EphA2 蛋白阳性表达率在胃癌组为 64.8% (35/54), 癌旁组为 38.9% (21/54), 远癌组为 24.1% (13/54) (图 1-2)。E-cadherin 蛋白阳性表达率在胃癌组为 37.0% (20/54), 癌旁组为 85.2% (46/54), 远癌组为 96.3% (52/54) (图 3-4)。胃癌组与癌旁组、远癌组的 EphA2 和 E-cadherin 表达差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 而癌旁组与远癌组的 EphA2 和 E-cadherin 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。

表1 EphA2 和 E-cadherin 蛋白在胃癌组、癌旁组以及远癌组中的表达(例)

组别	n	EphA2			E-cadherin		
		(-)	(+)	(++)	(-)	(+)	(++)
胃癌组	54	19	22	13	34	15	5
癌旁组	54	33	14	7	8	19	27
远癌组	54	41	12	1	2	11	41

### 2.2 EphA2 和 E-cadherin 蛋白表达与胃癌临床和病理资料的关系

患者肿瘤的大小与 EphA2 和 E-cadherin 蛋白表达无明显关系;两者在肿瘤大小的分组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。EphA2 蛋白表达与胃癌的浸润深度 ( $P = 0.018$ )、肿瘤 TNM 分期 ( $P = 0.041$ ) 以及淋巴结转移 ( $P = 0.035$ ) 有关, 但与肿瘤分化程度无关 ( $P = 0.272$ )。E-cadherin 低表达与胃癌的浸润深度 ( $P = 0.030$ )、肿瘤分化程度 ( $P = 0.047$ )、肿瘤 TNM 分期 ( $P = 0.020$ ) 以及淋巴结转移 ( $P = 0.015$ ) 有关(表 2)。

表2 EphA2 和 E-cadherin 蛋白表达与胃癌患者临床和病理资料

临床资料	n	EphA2			E-cadherin		
		阳性数	(%)	P	阳性数	(%)	P
肿瘤大小(cm)							
<5	33	20	60.6	0.417	14	42.4	0.304
≥5	21	15	71.4		6	28.6	
浸润层次							
黏膜层、黏膜下层	15	6	40.0	0.018	9	60.0	0.030
肌层、浆膜层	39	29	74.4		11	28.2	
分化程度							
高、中分化	23	13	56.5	0.272	12	52.2	0.047
低、未分化	31	22	71.0		8	25.8	
UICC TNM 分期							
I ~ II	24	12	50.0	0.041	13	54.2	0.020
III ~ IV	30	23	76.7		7	23.3	
淋巴结转移							
有	33	25	75.6	0.035	8	24.2	0.015
无	21	10	47.6		12	57.1	

### 2.3 胃癌组织中 EphA2 和 E-cadherin 蛋白表达的等级相关性

Spearman 等级相关分析显示, EphA2 和 E-cadherin 蛋白表达呈负相关 ( $r = -0.602, P < 0.001$ ) (表 3)。

表 3 EphA2 和 E-cadherin 蛋白在胃癌组织中表达的相关性

EphA2	E-cadherin		
	(-)	(+)	(++)
(-)	4	11	4
(+)	18	3	1
(++)	12	1	0

注:  $r = -0.602, P < 0.001$

### 3 讨论

Eph 是已知受体酪氨酸蛋白激酶家族 (receptor tyrosine kinase, RTK) 中最大的亚族, EphA2 是从人角化细胞 cDNA 文库中筛选出的第一个 Eph 亚族成员, 是该亚族成员被发现具有酪氨酸蛋白激酶活性的第一个基因。EphA2 在上皮细胞中的作用尚不完全清楚。研究表明, Eph 受体及其配体间的相互作用能诱发双向的信号传导过程, 调节细胞生存、生长、迁徙和浸润活动<sup>[3]</sup>。EphA2 广泛表达于上皮来源的细胞中, 包括皮肤表皮、肠道上皮、肺和卵巢组织。有研究发现, EphA2 在恶性黑色素瘤<sup>[4]</sup>、结肠癌<sup>[5]</sup>、卵巢癌<sup>[6]</sup>、胰腺癌<sup>[7]</sup> 中的表达水平明显升高。目前研究认为, EphA2 蛋白高表达的原因主要是由于翻译水平上调或其蛋白质稳定性增加所致<sup>[3]</sup>。本研究发现 EphA2 在胃癌组织中的表达水平明显高于相应癌旁组织和远癌胃组织 ( $P < 0.01$ )。本研究结果还揭示 EphA2 蛋白的高表达与浸润深度、TNM 分期及淋巴结转移有关, 说明在胃癌的发展过程中, EphA2 蛋白的高表达与癌组织的浸润和转移有关。此结果与 Nakamura 等<sup>[8]</sup> 的研究基本一致。

E-cadherin 是一种存在于细胞膜上的钙依赖性跨膜糖蛋白, 是一种抑癌基因。E-cadherin 在维系癌细胞的上皮形态和功能方面起着某种关键性作用; 其表达程度及功能活性状态直接影响着癌细胞的脱落和再黏着, 一旦这种系统受损, 癌细胞可获得侵袭能力。在多种肿瘤实验中均证实了 E-cadherin 对于恶性肿瘤的浸润和转移有一定的抑制作用。本研究显示胃癌组 E-cadherin 表达阳性率明显高于癌旁组和远癌组, 且 E-cadherin 的低表达与胃癌的浸润深度、分化程度、TNM 分期、淋巴结转移有关。此结果亦与其他学者的研究结果一致<sup>[9]</sup>。提示对胃癌组织进行 E-cadherin 检测, 有助于了解及判断胃癌的恶性程度。

本研究结果显示两种蛋白的表达存在负相关 ( $r = -0.602, P < 0.001$ ), 提示在胃癌细胞中由于 EphA2 的上调和 E-cadherin 的下调相互影响, 从而使信号转导发生异常。研究表明, 在上皮细胞, E-cadherin 与 EphA2 协同定位在细胞间连接位点, E-cadherin 功能和表达的改变将影响 EphA2 的磷酸化和亚细胞定位, 参与调控 EphA2 与其配体的结合及后续降解, 从而间接调控 EphA 的功能转化及蛋白表达; EphA2 的配体结合及功能活化依赖适当的 E-cadherin 蛋白表达及功能定位。E-cadherin 的功能可以被 Eph 受体和配体调节, 表明 E-cadherin 在肿瘤细胞的生物学行为可能通过 EphA2 发挥作用<sup>[10]</sup>。

本研究显示 EphA2 的高表达和 E-cadherin 的低表达与胃癌的发展和转移密切相关, 临床上联合检测 EphA2 和 E-cadherin 的表达可能作为胃癌恶性程度的判定指标。EphA2 有望成为一个治疗胃癌的新靶点, 对其结构和功能的深入研究将为肿瘤的防治开辟新的思路。

#### 参考文献:

- [1] Straume O, Akslen LA. Importance of vascular phenotype by basic fibroblast growth factor, and influence of the angiogenic factors basic fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor-1 and ephrin-A1/EphA2 on melanoma progression [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160 (3): 1009 - 1019.
- [2] Turashvili G, Bouchal J, Baumforth K, et al. Novel markers for differentiation of lobular and ductal invasive breast carcinomas by laser microdissection and microarray analysis [J]. *BMC Cancer*, 2007, 27 (7): 55 - 64.
- [3] Walker-Daniels J, Hess AR, Hendrix MJ, et al. Differential regulation of EphA2 in normal and malignant cells [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162 (4): 1037 - 1042.
- [4] Hess AR, Seftor EA, Gruman LM, et al. VE-cadherin regulates EphA2 in aggressive melanoma cells through a novel signaling pathway: implications for vasculogenic mimicry [J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5 (2): 228 - 233.
- [5] 蒋萍, 李景和, 罗庚求, 等. 大肠癌组织中 EphA2, VEGF 和 MMP9 蛋白的表达及其相关性研究 [J]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16 (7): 696 - 699.
- [6] Lin YG, Han LY, Kamat AA, et al. EphA2 overexpression is associated with angiogenesis in ovarian cancer [J]. *Cancer*, 2007, 109 (2): 332 - 340.
- [7] 冯延平, 黄涛, 高军, 等. EphA2 与 E-cadherin 在胰腺癌中的表达及其意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14 (12): 914 - 916.
- [8] Nakamura R, Kataoka H, Sato N, et al. EPHA2/EFNA1 expression in human gastric cancer [J]. *Cancer Sci*, 2005, 96 (1): 42 - 47.
- [9] Lee KH, Shin SJ, Kim KO, et al. Relationship between E-cadherin, matrix metalloproteinase-7 gene expression and clinicopathological features in gastric carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2006, 16 (4): 823 - 830.
- [10] Saito T, Masuda N, Miyazaki T. Expression of EphA2 and E-cadherin in colorectal cancer: correlation with cancer metastasis [J]. *Oncol Rep*, 2004, 11 (3): 605 - 611.