

T-cadherin 和 LMP-1 在鼻咽癌中的表达及相关性研究

董超¹⁾, 任艳鑫²⁾, 杨润祥¹⁾, 庄莉¹⁾, 任宏轩¹⁾

(1) 昆明医科大学第三附属医院肿瘤内二科; 2) 头颈外科, 云南昆明 650118)

[摘要] **目的** 检测鼻咽癌组织中 T-cadherin 和 LMP-1 的表达情况, 探讨两者的相关性及 T-cadherin 与鼻咽癌临床病理特征的关系. **方法** 采用免疫组化 SP 法检测 50 例鼻咽癌组织和 20 例鼻咽炎症组织中 T-cadherin 及 LMP-1 表达, 并结合临床病理特征进行分析. **结果** T-cadherin 在鼻咽炎症组织阳性表达率为 100% (20/20), 而在鼻咽癌组织中的阳性表达率仅为 40% (20/50). 经 χ^2 检验两者差异有显著性意义 ($P < 0.01$). LMP-1 在鼻咽癌组织中阳性表达率为 64.0% (32/50), 而在鼻咽炎症组织阳性表达率为 20.0% (4/20). 经 χ^2 检验两者差异有显著意义 ($P < 0.01$). Spearman 相关分析显示鼻咽癌组织中 LMP-1 与 T-cadherin 的表达呈负相关. T-cadherin 在鼻咽癌组织中的表达情况与 TNM 分期和颈淋巴结转移负相关. T-cadherin 在鼻咽癌组织中的表达情况与患者年龄、性别、肿瘤瘤体直径大小等因素无显著相关. **结论** 在鼻咽癌组织中存在 T-cadherin 的表达缺失或低水平表达, 与 LMP-1 在鼻咽癌组织中异常高表达呈负相关, 提示 T-cadherin 和 LMP-1 在鼻咽癌的发生、发展和转移中起着重要的作用.

[关键词] T-cadherin; 鼻咽癌; LMP-1; 免疫组织化学

[中图分类号] R735.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 12 - 0055 - 06

Expression and Correlation of T-cadherin and LMP-1 in Nasopharyngeal Carcinoma

DONG Chao, REN Yan - xin, YANG Run - xiang, ZHUANG Li, REN Hong - xuan

(1) Second Dept. of Medical Oncology; 2) Dept. of Head and Neck Surgery, The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650018, China)

[Abstract] **Objective** To research the expression of T-cadherin and LMP-1 in nasopharyngeal carcinoma (NPC), investigate the correlation between them and the relationship between abnormal expression of T-cadherin gene and the clinicopathological characteristics of nasopharyngeal carcinoma. **Methods** Expression of T-cadherin and LMP-1 in 50 NPCs and 20 nasopharyngitis tissues was detected by SP immunohistochemical method. The relationship between T-cadherin differential expression and clinical pathological factors in nasopharyngeal carcinoma was analyzed. **Results** In NPC and nasopharyngitis tissue, the positive expression rates of T-cadherin were 40% and 100% ($P < 0.01$), and those of LMP-1 were 64% and 20% ($P < 0.01$) respectively. Spearman correlation analysis showed that the expression of T-cadherin and LMP-1 was negatively correlated in NPC. The expression of T-cadherin in NPC was correlated with TNM stage and lymph node metastasis. T-cadherin expression had no significant correlation with age, gender and tumor diameter. **Conclusion** T-cadherin expression in NPC is significantly lower and negatively correlated with LMP-1 expression, suggesting the abnormal expression of T-cadherin and LMP-1 in NPC may play an important role in the initiation, progression and metastasis of NPC.

[Key words] T-cadherin; Nasopharyngeal carcinoma; LMP-1; Immunohistochemistry

[基金项目] 云南省教育厅科学研究基金资助项目 (09Y0172)

[作者简介] 董超 (1979~), 女, 河南洛阳市人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤内科诊断和治疗工作.

鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 是我国常见高发肿瘤之一, 发病隐匿, 早期易出现淋巴结转移, 患者的预后与肿瘤转移密切相关. 研究发现 EB 病毒不仅与鼻咽癌的发生有关, 还参与鼻咽癌的侵袭和转移, EB 病毒编码的潜伏膜蛋白 1 (Epstein-Barrvirus-encoded latent membrane protein 1, LMP1) 可以影响肿瘤细胞的粘附作用^[1], 有利于肿瘤的转移. T-cadherin 的主要生物学功能是介导同种细胞间的黏附和迁移, 肿瘤细胞间通过 cadherin 的作用发生黏附, 不易脱落. 当 T-cadherin 表达下降时, 细胞间的黏附力减弱, 易引起肿瘤的转移. 目前国内对 T-cadherin 在鼻咽癌中与 EB 病毒关系的研究报道还较鲜见. 本研究选取鼻咽癌组织作为研究对象, 鼻咽炎症组织作为对照, 同时检测鼻咽癌组织和鼻咽炎症组织中 T-cadherin 和 LMP-1 的表达情况, 探讨两者的相关性及 T-cadherin 与鼻咽癌临床病理特征之间的关系. 以期为鼻咽癌的临床诊断和治疗提供一条新的思路.

1 材料与方法

1.1 材料

选取 2000 年 2 月至 2005 年 12 月昆明医科大学附属第三医院病理科存档的蜡块标本共 70 例 (均为活检或手术切除的标本), 其中包括鼻咽部非特异性炎症组织 20 例, 鼻咽癌标本 50 例. 男性 33 例, 女性 17 例, 患者年龄在 14~84 岁, 平均 49.23 岁. 病理分级: 中高分化 10 例, 低分化 40 例. 有淋巴结转移的 37 例, 无淋巴结转移的 13 例. TNM 分期: I 期 11 例, II 期 19 例, III 期 16 例, IV 期 4 例. 所有标本经免疫组化证实且术前未经任何治疗. 将所有蜡块标本经自动连续切片连续切片, 每张切片厚 4 μm , 一张 HE 染色核实诊断, 2 张免疫组织化学染色, 其余备用.

1.2 试剂

即用型 T-cadherin 兔抗人多克隆抗体; 浓缩型 LMP-1 鼠抗人单克隆抗体 SP 免疫组化通用试剂盒; EDTA 抗原修复液; DAB 显色剂磷酸盐缓冲液 (PBS); 多聚赖氨酸防脱片剂; 柠檬酸型抗原修复缓冲液等.

1.3 方法

把所有经中性福尔马林处理、石蜡包埋的蜡块标本经自动连续切片连续切片切取厚 4 μm 的切片贴覆于经多聚-L-赖氨酸防脱片处理的载玻片上. 采用免

疫组化 SP 法, 按照 SP 检测试剂盒说明书所示步骤操作. 同时用购自北京中山公司的阳性对照片作为阳性对照, PBS 代替一抗作为阴性对照.

1.4 结果判定

T-cadherin 阳性染色主要位于细胞膜和基底细胞的基底层; LMP-1 主要表达于细胞膜及胞浆中. 结合染色反应强度和阳性细胞数量两个方面进行半定量记分法判定^[2]: 按染色强度评分标准: 0 分为无色, 1 分为浅黄色, 2 分为棕黄色, 3 分为棕褐色; 阳性细胞评分标准: 显微镜下随机取 5 个视野, 根据每个视野中阳性细胞的比例进行评分 0 分 < 5%; 1 分为 5%~10%; 2 分为 11%~50%; 3 分为 51%~80%; 4 分为 > 80%. 免疫组化评分标准: 两者得分相乘, 0 分为阴性 (-), 1~4 分为弱阳性 (+), 5~8 分为中度阳性 (++), 9~12 分为强阳性 (+++).

1.5 统计学分析

应用 SPSS 统计软件对试验结果进行分析处理. 组间阳性率的比较及阳性率与临床病理特征之间的相关性分析用 χ^2 检验, T-cadherin 表达与 LMP-1 之间的相关性采用 Spearman 等级相关分析. 检验水准: $\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 T-cadherin 及 LMP-1 在鼻咽癌组织和鼻咽炎症组织表达分布情况

T-cadherin 阳性染色主要位于细胞膜和基底细胞的基底层, 尤以细胞与细胞连接处最为明显, 为浅黄色到棕黄色颗粒. LMP-1 的表达位于细胞膜及胞浆中, 呈棕色颗粒状分布, 胞核阴性 (见图 1~4).



图 1 鼻咽癌组织 T-cadherin 呈弱阳性

Fig. 1 T-cadherin showed weakly positive in nasopharyngeal carcinoma

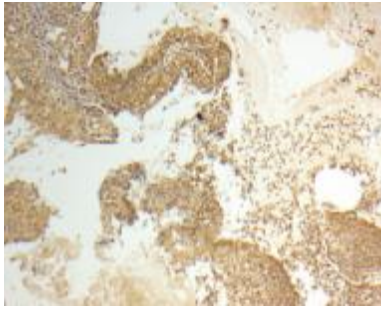


图 2 鼻咽炎症组织 T-cadherin 呈强阳性

Fig. 2 T-cadherin showed strongly positive in nasopharyngitis tissue

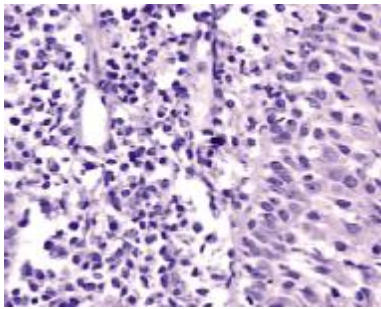


图 3 LMP-1 在鼻咽炎症组织中阴性表达

Fig. 3 LMP-1 was negative in nasopharyngitis tissue

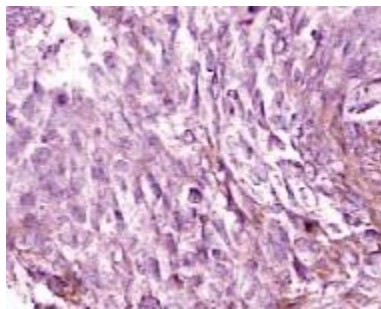


图 4 LMP-1 在鼻咽癌组织中阳性表达

Fig. 4 LMP-1 was positive in nasopharyngeal carcinoma

2.2 鼻咽癌组织和鼻咽炎症组织中 T-cadherin 的表达

肿瘤组织的 T-cadherin 阳性表达率明显低于炎症组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 1.

2.3 鼻咽部癌症组织和炎症组织中 LMP-1 的表达

肿瘤组织的 LMP-1 阳性表达率明显高于炎症组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 2.

2.4 鼻咽癌组织中 T-cadherin 的表达与临床病理特征的关系

50 例鼻咽癌组织标本中, 淋巴结转移组的阳性表达率为 27.03% (10/37), 无淋巴结转移组的阳性表达率为 76.92% (10/13), 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$). 表明 T-cadherin 的表达与淋巴结转移呈负相关. 50 例鼻咽癌标本中, I、II 期 30 例, T-cadherin 阳性表达率为 56.67% (17/30), III、IV 期 20 例, T-cadherin 阳性表达率为 15.00% (3/20), 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), T-cadherin 表达与临床分期呈负相关, 见表 3.

2.5 鼻咽癌中 T-cadherin 表达与病理分化程度的关系

50 例鼻咽癌组织标本中, 中高分化鳞癌 10 例, 其中 T-cadherin 阳性表达率 20.00%; 低分化鳞癌 40 例, 阳性表达率为 20.00%, 经统计学分析, 两者差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4.

2.6 鼻咽癌中 T-cadherin 的表达与年龄性别的关系

χ^2 检验, 50 例鼻咽癌患者 T-cadherin 表达与性别、年龄无相关性 ($P > 0.05$), 见表 5、6.

2.7 鼻咽癌中 T-cadherin 的表达与陈发肿瘤的关系

根据 CT 或 MRI 检查显示鼻咽原发肿瘤直径大小将 50 例鼻咽癌患者分为局部早期 ($T \leq 3$ cm)、中期 ($6\text{cm} \geq T > 3\text{cm}$)、晚期 ($T > 6$ cm) 3 组. 经统计分析 χ^2 检验, 3 组 T-cadherin 表达无统计学差异 ($P > 0.05$), 见表 7.

2.8 探讨鼻咽癌中 LMP-1 与 T-cadherin 表达的关系

根据 LMP-1 表达情况分为 LMP-1 阳性组和 LMP-1 阴性组, 分析两组 T-cadherin 表达差异. 经统计分析 χ^2 检验, 两组 T-cadherin 表达有统计学差异 ($P < 0.05$) 且呈反比, 见表 8.

表 1 鼻咽部不同组织中 T-cadherin 的表达情况 (n)

Fig. 1 T-cadherin expression in nasopharyngeal carcinoma and nasopharyngitis tissue (n)

组 别	n	T-cadherin 表达				阳性率 (%)
		-	+	++	+++	
鼻咽炎症组	20	0	8	9	3	100**
鼻咽癌组	50	30	4	14	2	40

与鼻咽癌组比较, ** $P < 0.01$

表 2 鼻咽部不同组织中 LMP-1 的表达情况 (n)

Tab. 2 LMP-1 expression in nasopharyngeal carcinoma and nasopharyngitis tissue (n)

组 别	n	LMP-1 表达				阳性率 (%)
		-	+	++	+++	
慢性炎症组	20	16	1	2	1	20
鼻咽癌组	50	18	5	14	13	64**

与慢性炎症组比较, ** $P < 0.01$.

表 3 鼻咽癌组织中 T-cadherin 的表达与临床病理特征的关系 (n)

Tab. 3 The relationship between T-cadherin expression and clinicopathological characteristics of nasopharyngeal carcinoma (n)

临床病理特征	n	T-cadherin 表达				阳性率 (%)
		-	+	++	+++	
淋巴结转移						
有淋巴结转移	37	27	2	5	3	27.03
无淋巴结转移	13	3	5	3	2	76.92
临床分期						
I 期 + II 期	30	13	10	3	4	56.67
III 期 + IV 期	20	17	1	2	0	15.00

表 4 鼻咽癌中 T-cadherin 表达与病理分化程度的关系 (n)

Tab. 4 The relationship between T-cadherin expression and differentiation degree of nasopharyngeal carcinoma (n)

分化程度	n	T-cadherin 表达		阳性率 (%)
		阳性	阴性	
高中分化	10	2	8	20.00
低分化	40	8	32	20.00

表 5 T-cadherin 在鼻咽癌中表达与患者性别的关系 (n)

Tab. 5 The relationship between T-cadherin expression in nasopharyngeal carcinoma and genders of patients (n)

性 别	n	T-cadherin 表达		阳性率 (%)
		阳性	阴性	
男	33	13	20	39.39
女	17	7	10	41.18

表 6 T-cadherin 在鼻咽癌中表达与患者年龄的关系

Tab. 6 The relationship between T-cadherin expression in nasopharyngeal carcinoma and ages of patients

年 龄	n	T-cadherin 表达		阳性率 (%)
		阳性	阴性	
≤ 50	30	12	18	40.00
> 50	20	8	12	40.00

表 7 T-cadherin 在鼻咽癌中表达与原发肿瘤大小的关系 (n)

Tab. 7 The relationship between T-cadherin expression in nasopharyngeal carcinoma and the size of carcinoma (n)

原发肿瘤	n	T-cadherin 表达		阳性率 (%)
		阳性	阴性	
早期	11	5	6	45.45
中期	35	14	21	40.00
晚期	4	1	3	25.00

表 8 T-cadherin 在鼻咽癌中表达与 LMP-1 表达的关系 (n)

Tab. 8 T-cadherin in nasopharyngeal carcinoma in expression and LMP-1 the relationship between the expression (n)

组别	n	T-cadherin 表达		阳性率 (%)
		阳性	阴性	
LMP-1 阳性组	32	5	27	15.62
LMP-1 阴性组	18	15	3	83.33

3 讨论

钙黏蛋白 (Cadherin) 是一类是钙离子依赖的单链糖蛋白粘附分子, 主要功能包括调节钙介导的细胞粘附、细胞极性、形态形成以及参与细胞间的识别和信号转导机制来调节正常细胞生长的接触抑制, 近年来成为肿瘤细胞侵袭和转移研究的热点之一. T-cadherin (Truncated-cadherin) 即 T-钙黏蛋白, 亦被称为 H-钙黏蛋白、钙黏蛋白-13 或 CDH13, 首先在鸡的胚胎脑组织中被发现^[3]. T-cadherin 与其它钙黏蛋白不同的独特之处就是无跨膜区和胞浆区. 研究发现 T-cadherin 与大多数通过跨膜区和胞内区发挥粘附作用的经典钙粘蛋白所介导的细胞粘附机制明显不同, 它不仅具有粘附作用, 而且还发挥识别信号的作用^[4]. 越来越多的研究显示 T-cadherin 可抑制肿瘤上皮细胞的生长, 对肿瘤的血管生成起着肯定的作用. T-cadherin 的高表达可抑制表皮生长因子诱导的细胞生长和侵袭性反应, 说明它可能参与了肿瘤的发生和发展过程^[5].

原发恶性肿瘤转移发生的首要条件就是肿瘤细胞能从原发灶脱落, 而这一生物学特性和 cadherin 的功能有密切关系. 大量的研究表明, T-钙粘蛋白在人类癌细胞中的表达减少, 当 cadherin 表达下降时, 肿瘤细胞的黏附力减弱, 从而易引起肿瘤的转移. 推测它的功能或许是作为一种肿瘤抑制基因起作用. 人类基因组中, DNA 甲基化是一种表观遗传修饰, 它与肿瘤的发生关系密切. 在许多类型的恶性肿瘤中均发现有 T-钙黏蛋白基因异常的甲基化现象, 而且异常甲基化的基因数量非常高.

T-cadherin 基因在消化道肿瘤^[6,7]中并未发生缺失突变, 但由于其启动子异常甲基化导致 T-cadherin 基因失活, 进而导致其蛋白表达水平显著下降或缺失, 说明在恶性肿瘤中启动子的甲基化和 T-cadherin 表达下调直接相关.

戴志慧等^[8]应用免疫组化方法研究证实 T-cadherin 分子的表达与癌旁结肠组织相比, 结肠癌组织中 T-cadherin 的表达显著降低, 并发现 T-cadherin 分子表达的高低与临床病理特征有着密切的关系, 随着肿瘤恶性程度的进展以及淋巴结的转移, T-cadherin 分子的表达进行性下降. Sun 等^[9]在对鼻咽癌患者的研究中发现 T-cadherin 分子的缺失表达与鼻咽癌的发生发展有关系, 且 T-cadherin 基因启动子甲基化是 T-cadherin 基因在鼻咽癌中失活的主要机制.

本研究发现: T-cadherin 阳性染色主要位于细胞膜和基底细胞的基底层, 尤以细胞与细胞连接处最为明显, 为浅黄色到棕黄色颗粒. 鼻咽炎症组织中 T-cadherin 均呈强阳性或阳性染色, 细胞浆内不染色; 而在部分鼻咽癌组织中肿瘤细胞黄色到棕黄色染色颗粒数目明显减少或不染色. T-cadherin 在鼻咽炎症组织阳性表达率为 100% (20/20), 而在鼻咽癌组织中的阳性表达率仅为 40% (20/50). 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$). LMP-1 在鼻咽癌组织中阳性表达率 64.0% (32/50), 而在鼻咽炎症组织阳性表达率为 20.0% (4/20). 经 χ^2 检验, 差异亦有统计学意义 ($P < 0.01$). 本研究结果还显示 T-cadherin 在鼻咽

癌组织中的表达率与 TNM 分期和颈淋巴结转移呈负相关,提示与肿瘤的转移能力相比, T-cadherin 的下调可能与肿瘤的侵袭能力有更紧密的联系,可作为一个鼻咽癌早期诊断的生物学标志物^[9]. T-cadherin 在鼻咽癌组织中的表达率与患者年龄、性别、肿瘤瘤体直径大小等因素无显著相关. Spearman 相关分析显示鼻咽癌组织中 LMP-1 与 T-cadherin 的表达. 该结果提示 EB 病毒感染并表达 LMP-1 可以促使鼻咽癌进展,这也进一步提示 EB 病毒感染与鼻咽癌发生、发展的病原学关系.

T-钙粘蛋白这个钙粘蛋白家族的新型成员,与肿瘤的发生、发展有着密切的联系. T-钙粘蛋白异常甲基化的检测或许可成为在临床中筛选高危患者复发或预后的标记,另外使用去甲基化治疗可能会为基因治疗提供一个新的靶点. T-钙粘蛋白是一种新的血管生成的调节因子^[10],把它作为调节异常的新生血管生成的治疗靶点加以开发,可以起到阻止新生血管生成的作用. 关于评价 T-钙粘蛋白是否是肿瘤抗血管生成治疗的适合靶点正在研究中. 就目前的研究进展来看,对其进一步的研究也许会为肿瘤的诊断和治疗带来新的契机.

[参考文献]

- [1] ZHANG Q,ZHANG Z W,WANG C K,et al. Proteome analysis of the transformation potential of the Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 in nasopharyngeal epithelial cells NP69 [J]. *Molecular & Cellular Biochemistry*,2008,314(1-2):73-83.
- [2] JOSHI M B,PHILIPPOVA M,IVANOV D. T-cadherin protects endothelial cells from Oxidative stress induced apoptosis [J]. *FASEB*,2005,10:1 096-1 119.
- [3] MASTERSON JO,DEA S. Posttranslational truncation of E-cadherin and significance for tumor progression [J]. *Cells Tissues Organs*,2007,185(1-3):175-179.
- [4] PHILIPPOVA M,IVANOV D,TKACHUK V,et al. Polarisation of T-cadherin to the leading edge of migrating vascular cells in vitro:a function in vascular cell motility [J]. *Histochem Cell Biol*,2003,120(5):353-360.
- [5] KIPMEN-KORGUN D,OSIHOW K,ZORATTIC,et al. T-cadherin mediates low-density lipoprotein-initiated cell proliferation via the Ca²⁺-tyrosine kinase-Erk1/2 pathway [J]. *Cardiovasc Pharmacol*,2005,45(5):418-430.
- [6] JIN Z,CHENG Y,OLARU A,et al. Promoter hypermethylation of CDH13 is a common, early event in human esophageal adenocarcinogenesis and correlates with clinical risk factors [J]. *Int J Cancer*,2008,123(10):2 331-2 336.
- [7] HIBI K,NAKAO A. Lymph node metastasis is infrequent in patients with highly-methylated colorectal cancer [J]. *Anticancer Res*,2006,26(1A):55-58.
- [8] 戴志慧,严群,李兆明,等. 结直肠癌中 T-cadherin 分子表达异常及意义 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*,2008,37(1):121-122.
- [9] SUND,ZHANG Z,VAN DO N,et al. Aberrant methylation of CDH13 gene in nasopharyngeal carcinoma could serve as a potential diagnostic biomarker [J]. *Oral Oncol*,2007,43(1):82-87.
- [10] GHOSH S,JOSHI M B,IVANOV D,et al. Use of multicellular tumor spheroids to dissect endothelial cell-tumor cell interactions: a role for T-cadherin in tumor angiogenesis [J]. *FEBS Lett*,2007,581(23):4 523-4 528.

(2012-09-12 收稿)