

钙黏附蛋白 E 和类赖氨酰氧化酶 2 在胆管癌中的表达及其相关性研究

王建华(湖南省常德市第四人民医院消化内科 415000)

【摘要】 目的 探讨类赖氨酰氧化酶 2(LOXL2)和钙黏附蛋白 E(E-cadherin)在胆管癌中的表达,并分析两者表达水平的相互关系。**方法** 应用免疫组织化学(SP)法和聚合酶链式反应(RT-PCR)技术检测胆管癌组织中 E-cadherin 和 LOXL2 的表达情况。**结果** E-cadherin 在胆管癌组的表达明显低于癌旁组织组和正常胆管组,差异有统计学意义($P<0.05$);LOXL2 在胆管癌组的表达明显高于癌旁组织组和正常胆管组,差异有统计学意义($P<0.05$)。E-cadherin 和 LOXL2 在胆管癌中的表达呈负相关。**结论** E-cadherin 的表达减弱和 LOXL2 的表达增高共同参与胆管癌的发生和发展。

【关键词】 钙黏附蛋白 E; 类赖氨酰氧化酶 2; 胆管癌; 浸润和转移; 免疫组织化学方法; 聚合酶链式反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.12.033 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)12-1742-03

The effect and relationship of E-cadherin and lysyl oxidase-like 2 in the invasion and metastasis of cholangiocarcinoma
WANG Jian-hua (Department of Gastroenterology, The Fourth People's Hospital of Changde City, Hunan, 415000, China)

【Abstract】 Objective To explore the expression of E-cadherin and LOXL2 in cholangiocarcinoma, and analyzed their relationship between the two factors in cholangiocarcinoma. **Methods** SP and RT-PCR were used to detect E-cadherin and LOXL2 in cholangiocarcinoma. **Results** The expression of E-cadherin was significantly lower in cholangiocarcinoma than that in adjacent cholangiocarcinoma and normal bile duct. The expression of LOXL2 was significantly higher in cholangiocarcinoma than that in adjacent cholangiocarcinoma and normal bile duct. The expression of E-cadherin was negatively related to that of LOXL2. **Conclusion** Both the down-regulation of E-cadherin and the up-regulation of LOXL2 were related to the occurrence and development of cholangiocarcinoma.

【Key words】 E-cadherin; LOXL2; cholangiocarcinoma; invasion and metastasis; SP; RT-PCR

胆管癌是发生于肝内或肝外胆管上皮的恶性肿瘤,恶性程度高。影响胆管癌患者治疗和远期生存率的主要因素是肿瘤的浸润和转移。本研究应用免疫组织化学(SP)法和聚合酶链式反应(RT-PCR)技术检测胆管癌中钙黏附蛋白 E(E-cadherin)和类赖氨酰氧化酶 2(LOXL2)基因的表达水平,并分析两者的相关性,对探讨胆管癌浸润、转移的分子机制具有重要的意义。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 该院 2011 年 1 月至 2013 年 12 月外科手术的 47 例胆管癌患者的癌组织标本(胆管癌组);47 例胆管癌癌旁组织标本(距癌组织 ≥ 1 cm)(癌旁组织组)。所有患者术前均未接受过放疗和化疗,标本均经病理检查证实。取同期就诊于该院的良性胆管疾病患者的正常胆管标本 20 例(正常胆管组)。

1.2 检测方法 应用 SP 法和 RT-PCR 技术检测 E-cadherin 和 LOXL2 在所有标本组织中的表达水平。

1.3 仪器与试剂 YAUQUANG 生物组织脱水机, TB-718 生理组织包埋机, AS325 转轮式切片机, 电子恒温水箱, 光学显微镜, 旋涡振荡器, 干式恒温器 K10CD, 匀浆机, 低温冷冻离心

机, Real-Time 检测仪 ABI-7500。SP 免疫组织化学染色试剂盒, DAB 显色试剂盒, LOXL2 鼠抗人单克隆抗体, SYBRGreen PCR 试剂盒, 逆转录 cDNA 合成试剂盒。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件对数据资料进行分析。计数资料采用 χ^2 检验, 计量资料使用 wilcoxon 秩和检验, 相关分析应用 Spearman 等级相关分析, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

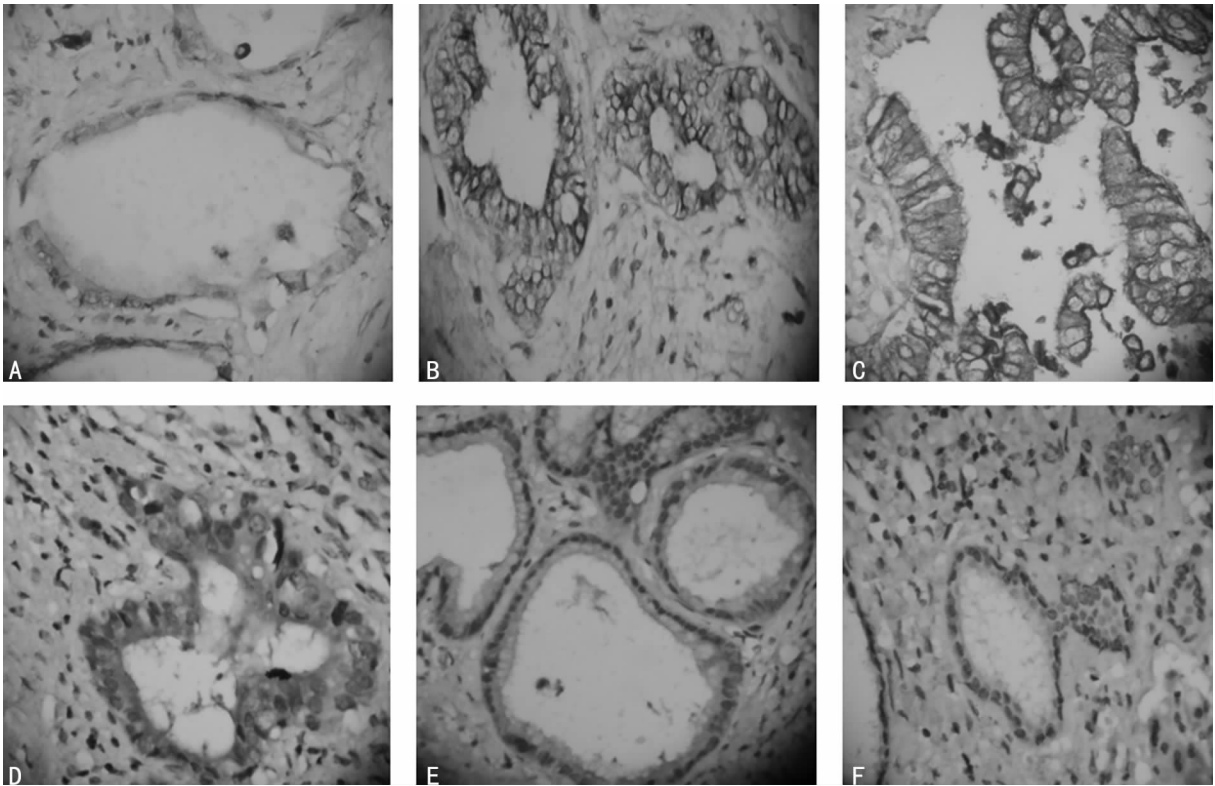
2 结果

2.1 SP 法检测 3 组患者 E-cadherin 和 LOXL2 的结果比较见图 1 和表 1。

2.2 RT-PCR 检测 3 组患者 E-cadherin 和 LOXL2 结果比较见图 2 和表 2。

表 1 3 组患者 E-cadherin 和 LOXL2 表达水平结果比较[n(%)]

组别	n	E-cadherin 蛋白表达	LOXL2 蛋白表达
胆管癌组	47	10(21.3)	32(68.1)
癌旁组织组	47	35(74.5)	5(10.6)
正常胆管组	20	19(95.0)	2(10.0)



注：A、B、C 分别为胆管癌、癌旁组织、正常胆管中 E-cadherin 蛋白的表达；D、E、F 分别为胆管癌、癌旁组织、正常胆管中 LOXL2 蛋白的表达。

图 1 3 组患者 E-cadherin 和 LOXL2 蛋白的表达

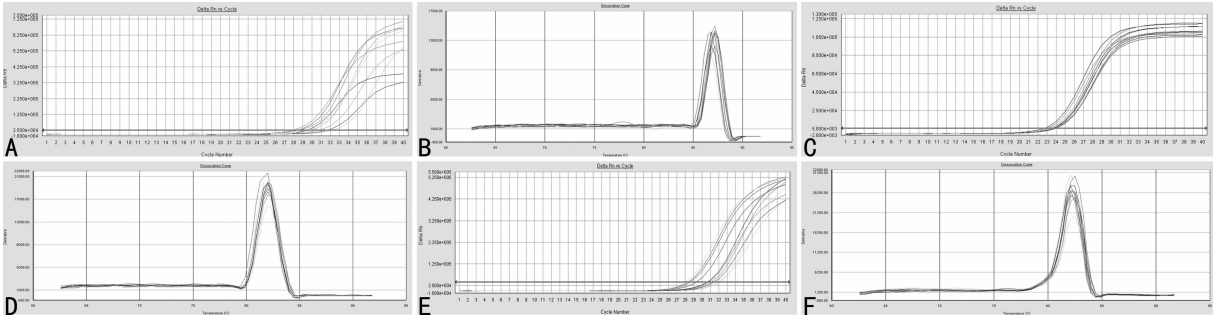
表 2 3 组患者 E-cadherin 和 LOXL2 mRNA 表达结果比较

组别	n	E-cadherin	LOXL2
胆管癌组	47	0.0796(0.0396,0.1282)	8.1769(0.5351,15.6202)
癌旁组织组	47	1.0831(0.2191,1.3758)	0.5796(0.3923,0.8356)
正常胆管组	20	1.1796(0.9692,1.2676)	0.5067(0.2194,0.7413)

2.3 胆管癌组织中 E-cadherin 和 LOXL2 表达的相关性 胆管癌组织中 E-cadherin 和 LOXL2 表达呈负相关。见表 3。

表 3 胆管癌中 E-cadherin 和 LOXL2 蛋白表达的相互关系(n)

E-cadherin 表达	LOXL2 表达				合计
	—	+	++	+++	
—	3	2	3	7	15
+	3	2	3	5	13
++	4	1	1	3	9
+++	5	3	2	0	10
合计	15	8	9	15	47



注：A、C、E 分别为胆管癌组中 β -actin mRNA、E-cadherin mRNA、LOXL2 mRNA 荧光定量扩增曲线；B、D、F 分别为胆管癌组织中 β -actin mRNA、E-cadherin mRNA、LOXL2 mRNA 荧光定量融解曲线。

图 2 3 组患者 E-cadherin 和 LOXL2 mRNA 的表达

3 讨 论

肿瘤的浸润和转移是多基因参与、多步骤完成的复杂过程，其中肿瘤细胞黏附、运动能力的改变，与细胞外基质间的相互作用是肿瘤发生浸润、转移的基础，也是其关键环节^[1]。

3.1 E-cadherin 在胆管癌中的表达及其与临床参数的关系 Chen 等^[2]用实验证实了 E-cadherin 可以限制 L 细胞侵袭。Peina-Slaus 等^[3]应用 SP 法检测了 60 例人脑膜瘤中 E-cadherin 的表达，

发现 70% 的脑膜瘤样本中 E-cadherin 表达下调，提示 E-cadherin 的不稳定性在脑膜瘤的发生、发展中起着重要作用。Zhang 等^[4]应用 Western 印迹和 RT-PCR 技术检测了胆管癌细胞株 QBC939 和 FRH 0201，结果表明 snail 的激活和 E-cadherin 的抑制可能依赖人核转录因子(NF- κ B)的激活，NF- κ B 促进 snail 上调，从而抑制 E-cadherin 表达，最终促进胆管癌的浸润、转移。本研究采用 RT-PCR 技术检测结果显示，E-cadherin 的表达在胆管癌组、癌旁组织

组、正常胆管组中差异有统计学意义($P < 0.05$)。本组结果表明,胆管癌患者 E-cadherin 表达减弱,与相关报道一致。E-cadherin 的表达减弱与胆管癌的浸润、转移密切相关,其机制可能是 E-cadherin 减少或缺失,导致细胞间的黏附减弱,原有的细胞外基质降解、形成新的细胞-基质黏附,细胞运动能力增强,从而促进肿瘤的浸润、转移。

3.2 LOXL2 在胆管癌中的表达及其与临床参数的关系

Peinado 等^[5]研究报道 LOXL2 的高表达与肿瘤的浸润、转移呈正相关,甚至在 MDCK 上皮细胞系中 LOXL2 过度表达可诱导完整的上皮间质转变(EMT)过程,伴随着上皮标志物的丢失和间质标志物的表达增加。Li 等^[6]研究发现,CC 细胞株 QBC939 中 HCVc 可诱导 EMT,其可能的机制是通过 LOXL2 的途径。Peng 等^[7]对胃癌组织表达相关分析显示,LOXL2 通过 Src/FAK 通路而不是 snail/E-cadherin 通路促进侵袭。本研究应用 RT-PCR 技术检测 LOXL2 的表达在胆管癌组、癌旁组织组、正常胆管组中差异有统计学意义($P < 0.05$),提示胆管癌患者 LOXL2 的表达增强,与其他研究一致。LOXL2 的表达增强与胆管癌的浸润、转移相关,其机制可能是 LOXL2 的表达增强,通过缺氧调节作用,参与上皮间质转化,促进 ECM 重构等作用导致肿瘤的浸润、转移。

3.3 E-cadherin 和 LOXL2 在胆管癌浸润转移中的相互关系

本研究在胆管癌组织中对 E-cadherin 和 LOXL2 的表达进行相关性实验,发现两者呈负相关关系($r = -0.464$, $P = 0.001$)。Peinado 等^[5]研究表明,赖氨酰氧化酶基因家族的 2 个成员 LOXL2 和 LOXL3 与 snail 相互影响,相互协同下调 E-cadherin 的表达。Schiectke 等^[8]的研究也表明,LOXL2 是 HIF-1 的一个直接靶基因,赖氨酰氧化酶的激活能抑制 E-cadherin 蛋白的表达,并且可导致缺氧从而抑制 E-cadherin 蛋白的表达,最终影响细胞的转化且促进细胞的浸润。本组实验结果与 Peinado 等的研究结果一致,E-cadherin 的表达减弱和 LOXL2 的表达增高共同参与了胆管癌浸润、转移的发生和发展。E-cadherin 和 LOXL2 的相关性机制可能是 LOXL2 导致缺氧从而抑制 E-cadherin 蛋白的表达;另外,LOXL2 表达增高参与 snail 介导的 E-cadherin 沉默,导致 E-cadherin 表达减弱或缺失,致使细胞间的黏附减弱,原有的细胞外基质降解、形成新的细胞-基质黏附,细胞运动能力增强,同时 LOXL2 增高可直接诱导 EMT 形成,从而提高胆管癌细胞向他处浸润转移的能力,最终促进胆管癌的浸润、转移。

综上所述,本研究结果表明胆管癌组织中 E-cadherin 的表

达减弱,LOXL2 的表达增强,两者在胆管癌浸润、转移中的表达呈负相关,E-cadherin 表达减弱和 LOXL2 表达增强与胆管癌的分化程度低、肿瘤分期高、淋巴结转移和组织器官转移密切相关,主要机制可能是两者相互作用导致胆管癌细胞间的黏附功能减弱或丧失,EMT 形成,从而促进胆管癌细胞的浸润、转移。研究胆管癌中两者的表达及其相互关系对进一步了解胆管癌浸润转移的机制及评估预后具有重要的临床意义。

参考文献

- [1] Zheng XH, Wang SG. Advance in the study of invasion and metastasis of cholangiocarcinoma[J]. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi, 2007, 15(3): 276-281.
- [2] Chen WC, Obrink C. Cell-cell contacts mediated by E-cadherin restrict invasive behavior of L-cells[J]. J Cell Biol, 1991, 114 (2): 319-322.
- [3] Peina-Slaus N, Nikuseva Marti T, Deak AJ, et al. Genetic and protein changes of E-cadherin in meningiomas[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 136(5): 695-702.
- [4] Zhang K, Zhaos J, Liu X, et al. Activation of NF- κ B up-regulates snail and consequent repression of E-cadherin in cholangiocarcinoma cell invasion[J]. Hepatogastroenterology, 2011, 58(105): 1-7.
- [5] Peinado H, Cruz M, Olmeda D, et al. A molecular role for lysyl oxidase-like 2 enzyme in snail regulation and tumor progression[J]. EMBO J, 2010, 24(11): 3446-3458.
- [6] Li T, Li D, Cheng L, et al. Epithelial-mesenchymal transition induced by hepatitis C virus core protein in cholangiocarcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2010, 17(6): 1937-1944.
- [7] Peng L, Ran YL, Hu H, et al. Secreted LOXL2 is a novel therapeutic target that promotes gastric cancer metastasis via the Src/FAK pathway[J]. Carcinogenesis, 2012, 30 (24): 1660-1669.
- [8] Schietke R, Warnecke C, Wacker I, et al. The lysyl oxidases LOX and LOXL2 are necessary and sufficient to repress E-cadherin in hypoxia: insights into cellular transformation processes mediated by HIF-1[J]. J Biol Chem, 2011, 285(9): 6658-6669.

(收稿日期: 2014-12-15 修回日期: 2015-02-05)

(上接第 1741 页)

骨折相关知识的掌握比对照组更加全面,心理承受力明显提高,患者主动配合治疗,严格遵守健康教育指导内容,合理饮食、正确用药、强化功能锻炼,提高了患者的治愈率,降低并发症发生,改善护患关系,提高护理满意度,而且加强了护理人员对科学理论依据的认识,丰富了专业技能,同时循证护理强调证据在护理实践中的作用,将法学的思想融入到护理理念中,当出现医疗纠纷时,将成为护理人员维护自身合法权益,为纠纷提供证据的有力数据。因此循证护理备受护理人员推崇,而最终受益者是广大患者。

综上所述,运用循证护理对老年骨折患者实施健康教育,能提高患者对骨折相关知识的掌握,自觉采取有利于健康的行为,有效预防老年骨折患者相关并发症的发生,从而提高生活质量,提高患者对护理健康教育的满意度。

参考文献

- [1] 邱春丽,卢智珍,陈历娟,等. 临床护理实习开展健康教育对医院实施优质护理服务的影响[J]. 医学信息: 下半月, 2013, 26(4): 16-17.
- [2] 米光明,王彦. 护理健康教育学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2014: 13-14.
- [3] 李天明,王平,邹晓霞. 循证护理对临床护理管理的启示[J]. 护理管理杂志, 2011, 11(3): 227-228.
- [4] 庄素定,陈国强,罗玲英. 护理程序在老年髌部骨折患者健康教育中的应用[J]. 当代护士, 2008, 5(2): 98-99.
- [5] 桑翠玲,尹冬梅,苏维芳. 循证护理在重症急性胰腺炎中的应用[J]. 河北医药, 2011, 28(1): 256-257.

(收稿日期: 2014-12-18 修回日期: 2015-02-20)