

BTBD7 和 E-cadherin 在 126 例宫颈鳞状细胞癌中的表达及意义

赵莉莉, 张瑞丽, 杨筱青

(郑州市妇幼保健院, 河南 郑州 450012)

摘要: [目的] 探讨 BTB/POZ 结构域蛋白 7(BTB/POZ domain containing protein 7, BTBD7) 和 E-钙黏附蛋白(epithelia cadherin, E-cadherin) 在宫颈鳞状细胞癌中的表达及意义。[方法] 用免疫组化 SP 法检测 126 例宫颈鳞状细胞癌和 42 例正常宫颈组织中 BTBD7 和 E-cadherin 的表达, 并分析宫颈鳞状细胞癌组织中的表达及与临床病理特征和预后的关系。[结果] BTBD7 和 E-cadherin 在 126 例宫颈鳞状细胞癌组织中的阳性率分别为 70.6%(89/126) 和 27.8%(35/126), 在正常组织中的阳性表达率分别为 16.7%(7/42) 和 100.0%(42/42), 差异均有统计学意义 ($P<0.001$)。BTBD7、E-cadherin 在宫颈鳞状细胞癌组织中的表达与肿瘤的局部浸润、分化程度、FIGO 分期和淋巴结转移显著性相关 ($P<0.05$)。宫颈鳞状细胞癌组织中 BTBD7 和 E-cadherin 表达呈负相关 ($r=-0.223, \chi^2=6.245, P=0.012$)。多因素 Cox 回归分析显示 FIGO 分期、淋巴结转移和 BTBD7 表达水平是宫颈鳞状细胞癌预后的独立因素 ($P<0.05$)。[结论] BTBD7 在宫颈鳞状细胞癌的进展中起一定作用, 同时对于预测宫颈癌的预后具有一定的意义。

关键词: 宫颈鳞状细胞癌; BTBD7; E-钙黏附蛋白

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2020)09-0813-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.09.B012

Expression of BTBD7 and E-Cadherin in 126 Cases with Cervical Squamous Cell Carcinoma and Its Significance

ZHAO Li-li, ZHANG Rui-li, YANG Xiao-qing

(Zhengzhou Maternal and Child Health Hospital, Zhengzhou 450012, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression and significance of BTB/POZ domain containing protein 7(BTBD7) and E-cadherin in cervical squamous cell carcinoma. [Methods] The expression of BTBD7 and E-cadherin was detected with immunohistochemical SP method in 126 samples of cervical squamous cell carcinoma and 42 samples of normal cervical tissues. The relationship of the expression of BTBD7 and E-cadherin with clinicopathological features of cervical squamous cell carcinoma was analyzed with multivariate Cox regression. [Results] The positive rates of BTBD7 and E-cadherin in 126 cases of cervical squamous cell carcinoma were 70.6%(89/126) and 27.8%(35/126), respectively, and the positive expression rates in normal cervical tissues were 16.7%(7/42) and 100.0%(42/42) ($P<0.05$). The expression of BTBD7 and E-cadherin in cervical squamous cell carcinoma was significantly correlated with local invasion, differentiation, FIGO stage and lymph node metastasis ($P<0.05$). There was a negative correlation between BTBD7 and E-cadherin expression in cervical squamous cell carcinoma ($r=-0.223, \chi^2=6.245, P=0.012$). Multivariate Cox regression analysis showed that the FIGO stage, lymph node metastasis and BTBD7 expression were independent prognostic factors of cervical squamous cell carcinoma ($P<0.05$). [Conclusion] BTBD7 may be involved in the progression of cervical squamous cell carcinoma and has a certain significance for predicting the prognosis of cervical cancer.

Subject words: cervical squamous cell carcinoma; BTBD7; E-cadherin

宫颈鳞状细胞癌是女性生殖系统中常见的恶性肿瘤之一, 其死亡的主要原因是恶性肿瘤细胞的浸润和转移。研究表明, BTB/POZ 结构域蛋白 7(BTB/

POZ domain containing protein 7, BTBD7) 在恶性肿瘤组织中调控上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT), 促进恶性肿瘤细胞进展、浸润及转移^[1], 如唾液腺腺样囊性癌^[2]、非小细胞肺癌^[3]、肝癌^[4]等; 另外, 恶性肿瘤组织中 BTBD7 表达与 E-钙黏附蛋白(epithelia cadherin, E-cadherin) 生成有密切关系^[2,5]。

通信作者: 杨筱青, 科主任, 副主任医师, 硕士; 郑州市妇幼保健院妇产科, 河南省郑州市金水区金水路 41 号(450012); E-mail: zzyangxq002@126.com

收稿日期: 2019-11-15; **修回日期:** 2020-01-02

E-cadherin 在维持正常上皮组织结构完整性及抑制细胞离散等方面扮演着重要的角色,其表达下降能促进恶性肿瘤细胞的浸润和转移^[6]。本实验采用免疫组化 SP 法检测 BTBD7、E-cadherin 在宫颈鳞状细胞癌组织中的表达,并探讨其表达与临床病理特征的关系及意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取郑州市妇幼保健院病理科 2013 年 1 月至 2013 年 10 月存档石蜡包埋宫颈鳞状细胞癌组织标本 126 例和正常宫颈组织(因子宫肌瘤行子宫全切术的正常宫颈组织)标本 42 例,均经病理证实。126 例宫颈鳞状细胞癌患者,年龄 30~67 岁,其中 ≥ 45 岁 74 例、 < 45 岁 52 例;高分化 43 例、中分化 62 例、低分化 21 例;局部浸润 39 例、无局部浸润 87 例;淋巴结转移 44 例,无淋巴结转移 82 例;根据 2009 年 FIGO 临床分期标准:Ⅰ期 50 例、Ⅱ期 71 例、Ⅲ期 5 例。所有患者术前均未经放化疗及生物治疗,均有完整的临床病理资料。随访截止日期为 2018 年 10 月,生存期是指从手术日期到随访截止日期,或因复发转移、其他疾病而死亡的日期为止。

1.2 主要试剂

兔抗人抗体 BTBD7 购于上海熹恒生物科技有限公司;兔抗人 E-cadherin 抗体购于武汉博士康生物工程有限公司;SP 试剂盒及 DAB 显色试剂盒购自北京艾然生物科技有限公司。

1.3 免疫组化方法

所有标本组织取得后均经 10% 福尔马林固定,常规脱水,石蜡包埋,制成 $4\mu\text{m}$ 厚切片,操作步骤严格按试剂盒说明书进行,一抗均按 100 倍稀释。用已知阳性片作对照,以 PBS 液代替一抗作空白对照。结果判定采用双盲法,两位资深病理科医师观察每张切片,以染色强度和阳性细胞比例综合评定^[7],首先将染色强度计分:0 分为无色,1 分为淡黄色,2 分为棕黄色,3 分为棕褐色;再将阳性细胞百分比计

分, $< 5\%$ 为 0 分,5%~25% 为 1 分,25%~50% 为 2 分,50%~75% 为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分。用染色强度得分和细胞数得分之和作为判断标准,若积分 > 3 分为阳性, ≤ 3 分为阴性。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计学分析。率的比较采用 χ^2 检验;相关性采用 Spearman 等级相关性分析,生存分析采用 Kaplan-Meier 和 Log-rank 方法分别绘制和比较生存曲线以及多因素 Cox 风险比例模型。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈鳞状细胞癌和正常宫颈组织中 BTBD7、E-cadherin 表达

宫颈鳞状细胞癌、正常宫颈组织 BTBD7 主要表达于细胞质,呈淡黄色至棕褐色颗粒;E-cadherin 主要定位于细胞膜和胞浆,呈棕褐色颗粒(Figure 1)。BTBD7 在宫颈鳞状细胞癌和正常宫颈组织表达率分别为 70.6% 和 16.7%,两组差异有统计学意义($\chi^2 = 37.463, P < 0.001$);E-cadherin 在宫颈鳞状细胞癌和正常宫颈表达率分别为 27.8% 和 100%,两组差异有

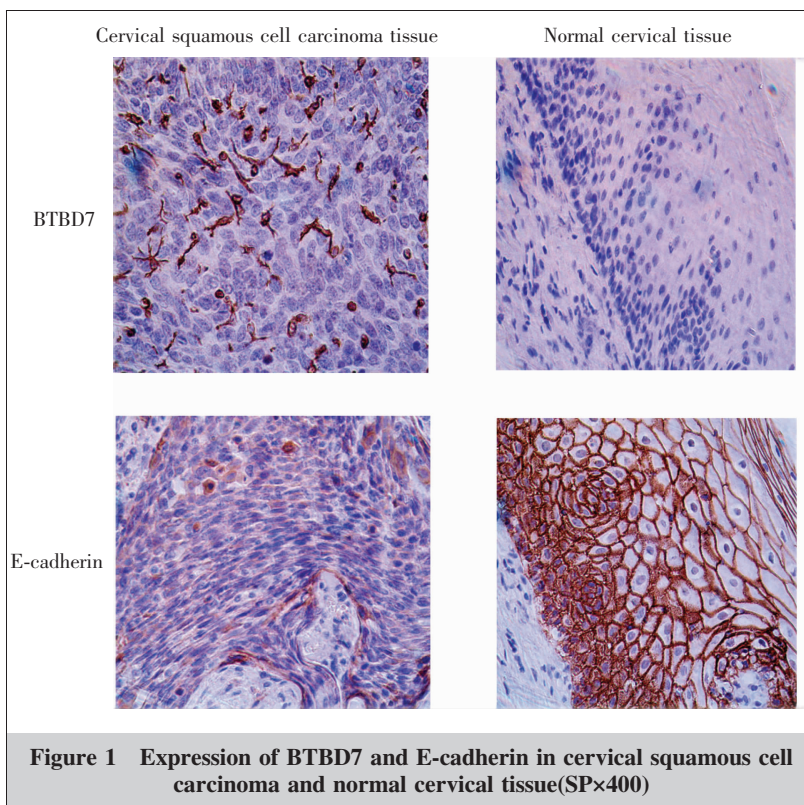


Figure 1 Expression of BTBD7 and E-cadherin in cervical squamous cell carcinoma and normal cervical tissue(SP×400)

统计学意义($\chi^2=66.182, P<0.001$)(Table 1)。

2.2 BTBD7、E-cadherin 表达与临床病理特征间的关系

BTBD7 和 E-cadherin 表达与年龄、肿瘤大小均无关($P>0.05$);BTBD7、E-cadherin 表达与局部浸润、FIGO 分期和淋巴结转移呈显著性相关($P<0.05$)(Table 2)。

2.3 BTBD7 与 E-cadherin 表达相关性

BTBD7 与 E-cadherin 在宫颈鳞状细胞癌组织中表达呈负相关($r=-0.223, \chi^2=6.245, P=0.012$)(Table 3)。

2.4 BTBD7 与 E-cadherin 表达与生存期关系

对 126 例患者进行随访,失访率为 6.4%。BTBD7 阴性表达组患者的生存时间显著性长于阳性表达组($\chi^2=4.303, P<0.001$)(Figure 2);E-cadherin 阴性表达组患者的生存时间明显长于阳性表达组($\chi^2=12.840, P<0.001$)(Figure 3)。

2.5 Cox 模型分析影响宫颈鳞癌患者预后的因素

Cox 模型分析结果显示独立的预后因素分别为淋巴结转移、FIGO 分期和 BTBD7 表达水平($P<0.05$)(Table 4)。

3 讨论

BTBD7 蛋白含有 1130 个氨基酸^[8],调节上皮间转化(epithelial mesenchymal transition, EMT),促进恶性肿瘤细胞浸润、转移^[1]。研究报道,去除或下调 BTBD7 蛋白的表达,则癌细胞之间的黏附能力增强,而减弱癌细胞的运动能力^[5,9]。我们研究发现,BTBD7 在宫颈鳞状细胞癌组织中表达显著性高于正常宫颈组织中表达($P<0.05$)。Daley WP 等^[5]研究显示,癌组织中 BTBD7 表达能增强癌细胞的分离及癌细胞的分离迁移,可支持本研究结果 BTBD7 在宫颈鳞状细胞癌组织中表达与局部浸润有关($P<0.05$)。BTBD7 在宫颈鳞状细胞癌组织中的表达与 FIGO 分期、淋巴结转移有关($P<0.05$),与 Yang L 等^[1]在唾液腺腺样囊性癌中的观点相似,原因可能与 BTBD7 调控 EMT,降低癌细胞之间黏连,促进癌细胞转移^[2]。多因素 Cox 分析结果显示 BTBD7 可作为宫颈鳞状细胞癌预后的独立危险因素,这与 BTBD7 在唾液腺腺样囊性癌^[1]、非小细胞肺癌^[3]、肝癌^[4]等研究结果相似。

细胞黏附障碍是癌症进展的关键步骤,而 E-cadherin 蛋白在维持正常上皮组织结构的完整性及抑制细胞离散等方面扮演着重要的角色,其表达下降,能促进恶性肿瘤细胞的浸润和转移^[6]。本实验研究结果显示,E-cadherin 表达与宫颈鳞状细胞癌组织的局部浸润、FIGO 分期和淋巴结转移因素均有统计学意义($P<0.05$),这可能与 E-cadherin 蛋白表达下降,导致癌细胞之间的黏附力减弱,从而增强癌细胞的侵袭及转移的能力,与 Shergill K 等^[10]在头颈鳞状细胞癌中的结果相似。

研究发现 BTBD7 与

Table 1 Comparison of BTBD7 and E-cadherin expression in cervical squamous cell carcinoma and normal cervical tissue

Group	N	BTBD7 expression			E-cadherin expression		
		Positive (%)	χ^2	P	Positive (%)	χ^2	P
Normal cervical tissue	42	7(16.7)	37.463	<0.001	42(100.0)	66.182	<0.001
Cervical squamous cell carcinoma	126	89(70.6)			35(27.8)		

Table 2 Comparison of BTBD7 and E-cadherin expression in cervical squamous cell carcinoma with clinicopathological features

Clinical features	N	BTBD7			E-cadherin		
		Positive (%)	χ^2	P	Positive (%)	χ^2	P
Age(years old)			0.084	0.772		0.975	0.323
≥45	74	53(71.6)			23(31.1)		
<45	52	36(69.2)			12(23.1)		
Tumor size			0.225	0.635		0.233	0.630
≤4cm	119	83(69.7)			32(26.9)		
>4cm	7	6(85.1)			3(42.9)		
Local infiltration			5.510	0.019		4.324	0.038
Yes	39	22(56.4)			6(15.4)		
No	87	67(77.0)			29(33.3)		
Degree of pathological differentiation			8.025	0.018		6.608	0.037
High	43	26(60.5)			18(41.9)		
Moderate	62	51(82.3)			12(19.4)		
Low	21	12(57.1)			5(23.8)		
FIGO stage			8.462	0.015		10.782	0.005
I	50	28(56.0)			22(44.0)		
II	71	57(80.3)			12(16.9)		
III	5	4(80.0)			1(20.0)		
Lymph node metastasis			8.438	0.004		6.739	0.009
Yes	44	24(54.5)			6(13.6)		
No	82	65(79.3)			29(35.4)		

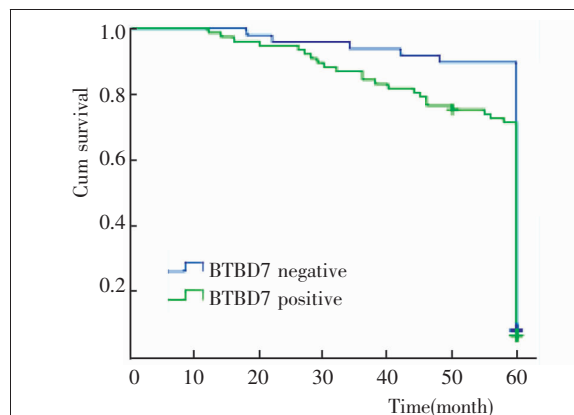


Figure 2 Survival curve of BTBD7 positive expression group and negative expression group

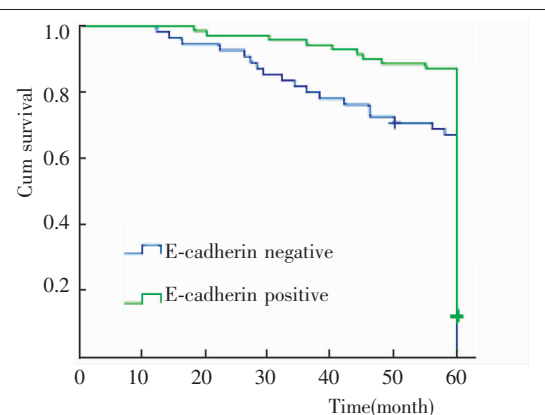


Figure 3 Survival curves of E-cadherin positive expression group and negative expression group

Table 3 Correlation of BTBD7 and E-cadherin expression in cervical squamous cell carcinoma

BTBD7 expression	E-cadherin expression		<i>r</i>	χ^2	<i>P</i>
	Positive	Negative			
Positive	19	70	-0.223	6.245	0.012
Negative	16	21			
Total	35	91			

Table 4 Multi-factor Cox proportional hazard model analysis results

Clinical features	B	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	RR	95% CI
Lymph node metastasis	0.718	0.205	12.194	<0.001	2.049	1.370~3.066
FIGO stage	0.768	0.195	15.475	<0.001	2.156	1.470~3.161
BTBD7 expression	0.594	0.199	8.899	<0.001	1.812	1.226~2.677

E-cadherin 密切相关,BTBD7 抑制 E-cadherin 蛋白的表达^[2,5,9],从而促进癌细胞的迁移及浸润;BTBD7 通过激活 rhoc-rock2 -fak 信号通路导致上皮间转化^[4],而 E-cadherin 蛋白是 EMT 的关键因子^[11]。由此我们推知 BTBD7 通过激活 rhoc-rock2 -fak 信号通路调控 E-cadherin 蛋白的表达,这可以解释我们研究的结果 BTBD7 与 E-cadherin 表达呈负相关性;或许还有其他的机制来解释 BTBD7 和 E-cadherin 之间的关系,有待进一步研究。

综上,BTBD7 能够促进恶性肿瘤细胞浸润、转移,期望 BTBD7 为宫颈鳞状细胞癌临床治疗提供新的靶点。

参考文献:

- [1] Yang L,Wang T,Zhang J,et al. Expression of BTBD7 in primary salivary adenoid cystic carcinoma and correlation with Slug and prognosis[J]. Cancer Biomark,2016,17(2):179-185.
- [2] Yang L,Wang T,Zhang J,et al. BTBD7 silencing inhibited epithelial-mesenchymal transition (EMT) via regulating Slug expression in human salivary adenoid cystic carcinoma[J]. Cancer Biomark,2017,20(4):461-468.
- [3] Luo FY,Liu ZH,Hu QH,et al. Association of BTBD7 with metastasis and poor prognosis in non-small-cell lung cancer patients [J]. J Cancer,2015,6(5):477-481.
- [4] Tao YM,Huang JL,Zeng S,et al. BTB/POZ domain-containing protein 7: epithelial-mesenchymal transition promoter and prognostic biomarker of hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology,2013,57(6):2326-2337.
- [5] Daley WP,Matsumoto K,Doyle AD,et al. BTBD7 is essential for region-specific epithelial cell dynamics and branching morphogenesis in vivo[J]. Development,2017,144(12):2200-2211.
- [6] Saltanatpour Z,Johari B,Alizadeh A,et al. Enrichment of cancer stem-like cells by the induction of epithelial-mesenchymal transition using lentiviral vector carrying E-cadherin shRNA in HT29 cell line[J]. J Cell Physiol,2019,234(12):22935-22946.
- [7] Ping J,Tian J,Fan JH,et al. Expression of Wnt5a in cervical squamous cell carcinoma and its clinical significance [J]. Journal of Chinese Oncology,2016,22(8):648-352. [平静,田杰,范菊花,等. Wnt5a 在宫颈鳞状细胞癌中的表达及其临床意义 [J]. 肿瘤学杂志,2016,22(8):648-352.]
- [8] Onodera T,Sakai T,Hsu JC,et al. BTBD7 regulates epithelial cell dynamics and branching morphogenesis [J]. Science,2010,329(5991):562-565.
- [9] Fan C,Miao Y,Zhang X,et al. BTBD7 contributes to reduced E-cadherin expression and predicts poor prognosis in non-small cell lung cancer[J]. BMC Cancer,2014,14:704.
- [10] Shergill K,Sen A,Pillai HJ. Role of E-cadherin and cyclin D1 as predictive markers of aggression and clonal expansion in head and neck squamous cell carcinoma[J]. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg,2018,44(4):182-190.
- [11] Dang DK,Makena MR,Llongueras JP,et al. A Ca2+ATPase regulates E-cadherin biogenesis and epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells [J]. Mol Cancer Res,2019,17(8):1735-1747.