

• 论 著 •

LSD1 与 E-钙黏蛋白在胃癌中的表达及预后意义

吴红梅¹, 杨 洋²

(陕西省宝鸡市人民医院:1. 病理科;2. 普外科 721000)

摘要:目的 探讨赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1(LSD1)和 E-钙黏蛋白的表达与胃癌患者临床病理特征及对胃癌预后的意义。方法 收集 2012 年 1 月至 2013 年 12 月该院收治的胃癌患者行手术切除的胃癌组织 98 例及健康胃组织 76 例。采用免疫组织化学技术检测手术标本中的 LSD1、E-钙黏蛋白的表达情况,术后通过随访了解患者生存状况,随访截止 2015 年 9 月。分析两者与胃癌患者临床病理特征的关系、在胃癌组织中表达的相关性及对患者生存状况的影响。结果 LSD1 的表达定位于细胞核,在胃癌细胞中的阳性表达率为 63.3%,高于健康胃组织的 45.9%,数据比较差异有统计学意义($P<0.05$);E-钙黏蛋白定位于大多数腺细胞的细胞质膜,在胃癌细胞中 E-钙黏蛋白的阳性表达率为 63.2%显著低于健康胃组织 80.3%,2 组比较差异均有统计学意义($P<0.05$);LSD1 在不同的病理学分级的低、中、高分化的阳性表达率分别为 81.6%、73.3%、40.0%,在 TNM 分期的 I~II、III~IV 期中阳性表达率分别为 56.6%、84.4%,在无和有淋巴结转移中分别为 34.8%、73.3%,差异均有统计学意义($P<0.05$);E-钙黏蛋白在不同的病理学分级的低、中、高分化的阳性表达率分别为 52.6%、56.7%、80.0%;在 TNM 分期的 I~II、III~IV 期中阳性表达率分别为 62.3%、31.1%;在无和有淋巴结转移中分别为 95.6%、52.0%,差异均有统计学意义($P<0.05$),LSD1 与 E-钙黏蛋白在胃癌中的表达呈负相关($r=-0.335, P<0.05$)。LSD1 阳性表达的患者生存时间为(34.7±2.6)个月,2 年总体生存率为 34.8%,LSD1 阴性表达的患者生存时间为(46.8±3.5)个月,2 年总体生存率为 60.2%,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。E-钙黏蛋白阳性表达的患者生存时间为(43.9±2.5)个月,2 年总体生存率为 45.3%,LSD1 阴性表达的患者生存时间为(30.2±3.2)个月,2 年总体生存率为 28.5%,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 LSD1 在低分化胃癌、较晚 TNM 分期的胃癌组织中及有淋巴结转移的阳性表达率显著提高,而 E-钙黏蛋白显著降低;2 种蛋白的表达均为影响胃癌患者生存期的因素,且 LSD1 与 E-钙黏蛋白的表达呈负相关,阳性表达 LSD1 及阴性表达 E-钙黏蛋白的胃癌患者预后较差。

关键词:赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1; E-钙黏蛋白; 胃癌; 淋巴结转移

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.08.028 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)08-1122-04

Expression of LSD1 and E-cadherin in gastric cancer and its prognosis significance

WU Hongmei¹, YANG Yang²

(1. Department of Pathology; 2. Department of General Surgery, Baoji Municipal People's Hospital, Baoji, Shaanxi 721000, China)

Abstract: Objective To study the relationship between expression of histone lysine specific demethylase 1(LSD1) and E-cadherin with clinicopathological features in the patients with gastric cancer and its prognosis significance. **Methods** Ninety-eight gastric tissue samples operatively resected from the patients with gastric cancer in our hospital from January 2012 to December 2013 and 76 normal gastric tissue samples were collected. The immunohistochemical technology was used to detect the expression of LSD1 and E-cadherin in surgical specimens. The patients' survival situation was understood by postoperative follow-up. The follow-up was until September 2015. The relationship between LSD1 and E-cadherin with the clinicopathological features in the patients with gastric cancer, its relevance in gastric cancer expression and impact on survival situation of patients. **Results** The LSD1 expression was localized in the nucleus, the positive expression in gastric cancer cells was 63.3%, which was higher than 45.9% in normal gastric tissues, the difference was statistically significant($P<0.05$); E-cadherin was present in the cytoplasmic membrane of most glandular cells, the positive expression rate of E-cadherin protein in gastric cancer cells was 63.2%, which was significantly lower than 80.3% in normal gastric tissues, the difference was statistically significant($P<0.05$); the positive expression rates LSD1 in low, medium and high differentiations of different pathological grading were 81.6%, 73.3% and 40.0% respectively; which in the TNM stage I-II and III-IV were 56.6% and 84.4% respectively; which with and without lymph node metastasis were 34.8% and 73.3% respectively, the differences were statistically significant($P<0.05$); the positive expression rates of E-cadherin in low, medium and high differentiations of different pathological grading were 52.6%, 56.7% and 80.0% respectively; which in the TNM stage I-II and III-IV were 62.3% and 31.1% respectively; which with and without lymph node metastasis were 95.6% and 52.0% respectively, the differences were statistically significant($P<0.05$); LSD1 and E-cadherin expression in gastric cancer had a negative correlation($r=-0.335, P<0.05$). The survival time in the patients with LSD1 positive expression was (34.7±2.6) months, and the 2-years overall survival rate was 34.8%, the survival time in the patients with LSD1 negative expression was (46.8±3.5) months, and the 2-years overall survival rate was 60.2%, the differences between the two groups were statistically

significant($P<0.05$); the survival time in the patients with E-cadherin positive expression was (43.9 ± 2.5) months, and the 2-years overall survival was 45.3%, the survival time in the patients with LSD1 negative expression was (30.2 ± 3.2) months, and the 2-years overall survival rate was 28.5%, the differences between the two groups were statistically significant($P<0.05$). **Conclusion** The positive expression of LSD1 in poorly differentiated gastric cancer, gastric cancer tissue of late TNM stage and lymph node metastasis is significantly increased, while the E-cadherin is significantly decreased; the expression of the two proteins are the factors affecting the survival period in the patients with gastric cancer, moreover LSD1 is negatively correlated with E-cadherin expression, the gastric cancer patients with LSD1 positive expression and E-cadherin negative expression would have poorer prognosis.

Key words: histone lysine specific demethylase 1; e-cadherin; gastric cancer; lymph node metastasis

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一,其发病率居各类肿瘤的首位,病死率高^[1]。胃癌患者的治疗往往容易受到多种因素的影响,导致患者治疗效果不佳或预后效果较差,因此,对影响胃癌患者治疗和预后效果的特异性因子进行研究,对提高胃癌患者的生存质量有着重要意义。赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1(LSD1)是第一个被发现的组蛋白特异性去甲基化酶,过表达 LSD1 能促进多种肿瘤细胞的增值、侵袭和转移^[2]。E-钙黏蛋白是一类重要的细胞黏附分子,介导细胞-细胞黏附^[3]。E-钙黏蛋白主要存在于人和动物上皮细胞,对于维持上皮细胞形态和组织完整性发挥重要作用,也抑制肿瘤的侵袭转移,影响原发肿瘤的早期生长和继发肿瘤的增殖生长。E-钙黏蛋白可通过多个环节影响肿瘤细胞浸润迁移。E-钙黏蛋白编码基因的突变、功能的缺失或转录和翻译异常,都可以作用于靶细胞,使其容易从组织分离,并向外周浸润生长,为转移创造条件。在多数恶性肿瘤中存在 E-钙黏蛋白复合体黏附功能失常,使得肿瘤细胞易于向远处转移^[4-5]。本研究旨在通过检测 LSD1 和 E-钙黏蛋白的表达情况,分析两者与胃癌患者临床病理特征的关系、在胃癌组织中表达的相关性及对患者生存状况的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 1 月至 2013 年 12 月本院收治的胃癌患者行手术切除的胃癌组织 98 例,其中男 57 例,女 41 例;≥50 岁者 60 例,<50 岁者 38 例。TNM 分期的 I~II 期 53 例、III~IV 期 45 例,其中 I 期胃癌标本 33 例,II 期胃癌标本 20 例,III 期胃癌标本 24 例,IV 期胃癌标本 21 例。按不同的病理学分级,其中低分化腺癌 27 例,中分化腺癌 28 例,高分化腺癌 30 例,黏液腺癌 7 例,黏液细胞癌 6 例。胃体部癌实施全胃切除术 39 例,近端胃切除 23 例,远端切除术者 16 例,合并脾切除术 11 例,幽门部癌实施远端胃切除术合并行脾切除术 9 例。有淋巴结转移 75 例,无淋巴结转移 23 例。患者基本资料差异无统计学意义($P>0.05$)。入组患者定期随访,本研究通过本院伦理委员会批准,患者及家属术前均签署手术知情同意书。另选 76 例健康胃组织作为对照。纳入标准:经医院确诊为胃癌,有完整的临床资料;所有入选患者均未新发患者,术前均未接受过放疗、化疗及其他治疗;患者无心、肺等器官性疾病。排除标准:患有自身免疫性疾病、重大脏器功能障碍、精

神疾病等;有放化疗史患者;临床病理资料不全,不能接受电话随访者。

1.2 仪器与试剂 鼠抗人 E-钙黏蛋白单克隆抗体、兔抗人抗-KDM1/LSD1 单克隆抗体均购于福州迈新生物技术开发有限公司,SP 鼠组织检测试剂盒购于北京中杉生物技术开发公司。

1.3 免疫组织化学染色检测 试验步骤严格按照说明书进行检测 LSD1 和 E-钙黏蛋白的表达。阳性表现为细胞膜和/或细胞质出现棕黄色或棕褐色颗粒。随机选择 5 个不同高倍镜视野($\times 400$),每个视野计数 500 个癌细胞,计算阳性细胞百分比。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,计数资料用例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,比较采用独立样本 t 检验;总生存的比较采用 Kaplan-Meier 分析,采用 Log-rank 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。有统计学意义的相关因素行多因素 Logistic 回归分析。

2 结果

2.1 LSD1 和 E-钙黏蛋白免疫组织化学染色结果 LSD1 在胃癌细胞中的阳性表达率 63.3%(62/98)高于健康胃组织的 46.1%(35/76),E-钙黏蛋白的阳性表达率 63.2%(48/98)显著低于健康胃组织的 80.3%(61/76),两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 LSD1 和 E-钙黏蛋白免疫组织化学染色结果[n(%)]

组织类别	<i>n</i>	LSD1 阳性	E-钙黏蛋白阳性
胃癌组织	98	62(63.3)	48(63.2)
健康胃组织	76	35(46.1)	61(80.3)
χ^2		4.852	4.158
<i>P</i>		0.034	0.045

2.2 LSD1 和 E-钙黏蛋白表达和临床病理特征的关系 LSD1 和 E-钙黏蛋白分别在不同的病理学分级程度、TNM 分期和有无淋巴结转移的表达比较,比较差异均有统计学意义($P<0.05$);而 LSD1 和 E-钙黏蛋白与不同性别、年龄、肿瘤直径无显著相关,比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 LSD1 和 E-钙黏蛋白表达和临床病理特征的关系

临床病理特征	<i>n</i>	LSD1 阳性[n(%)]	χ^2	<i>P</i>	E-钙黏蛋白阳性[n(%)]	χ^2	<i>P</i>
性别							
男	57	40(70.2)	3.563	0.054	34(59.6)	2.917	0.072
女	41	24(58.5)			24(58.5)		

续表 2 LSD1 和 E-钙黏蛋白表达和临床病理特征的关系

临床病理特征	<i>n</i>	LSD1 阳性[<i>n</i> (%)]	χ^2	<i>P</i>	E-钙黏蛋白阳性[<i>n</i> (%)]	χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)							
<50	38	22(57.9)	3.217	0.060	25(65.8)	2.845	0.084
≥50	60	42(70.0)			41(68.3)		
肿瘤直径(cm)							
<4	45	32(71.1)	3.068	0.067	26(57.8)	2.802	0.087
≥4	53	34(64.2)			36(67.9)		
病理学分化程度							
低分化	38	31(81.6)	4.214	0.043	20(52.6)	5.024	0.025
中分化	30	22(73.3)			17(56.7)		
高分化	30	12(40.0)			24(80.0)		
TNM 分期							
I ~ II 期	53	30(56.6)	4.405	0.041	33(62.3)	7.832	0.007
III ~ IV 期	45	38(84.4)			14(31.1)		
有无淋巴结转移							
无	23	8(34.8)	4.876	0.032	22(95.6)	5.381	0.021
有	75	55(73.3)			39(52.0)		

2.3 LSD1 和 E-钙黏蛋白表达与胃癌患者生存状况的关系

LSD1 阳性表达的患者生存时间和总体生存率与 LSD1 阴性表达的患者生存时间和总体生存率比较,差异有统计学意义($P<0.05$);E-钙黏蛋白阳性表达的患者生存时间和总体生存率与 LSD1 阴性表达的患者生存时间和总体生存率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 LSD1 和 E-钙黏蛋白表达与胃癌患者生存状况的关系

指标类别	生存时间($\bar{x}\pm s$,月)	总体生存率(%)	χ^2	<i>P</i>
LSD1 阳性	34.7±2.6	34.8	4.625	0.036
LSD1 阴性	46.8±3.5	60.2		
E-钙黏蛋白阳性	43.9±2.5	45.3	4.925	0.028
E-钙黏蛋白阴性	30.2±3.2	28.5		

2.4 LSD1、E-钙黏蛋白在胃癌中表达的相关性 根据上述结果发现,LSD1 与 E-韩黏蛋白的表达可能存在一定相关性,因此采用 Spearman 等级秩和检验分析 LSD1 与 E-钙黏蛋白在胃癌组织中表达的相关性,发现 LSD1 与 E-钙黏蛋白在胃癌中的表达呈负相关($r=-0.335,P=0.001$)。见表 4。

表 4 LSD1、E-钙黏蛋白在胃癌中的表达的相关性(*n*)

LSD1	E-钙黏蛋白				合计	<i>r</i>	<i>P</i>
	—	+	++	+++			
—	10	8	11	7	36	-0.335	0.001
+	4	3	3	4	14		
++	8	4	7	3	22		
+++	11	8	3	6	26		
合计	50	21	14	13	98		

3 讨 论

表观遗传学是指在 DNA 序列不变的前提下基因表达或细胞表型的可遗传变化,主要包括 DNA 甲基化、组蛋白共价修饰、染色质重塑、基因沉默和 RNA 编辑^[6]。它可对基因产生可逆化修饰而激活或阻断基因的转录与翻译,在肿瘤的发生、增值、侵袭转移甚至耐药的过程中发挥重要作用^[7-8]。LSD1 是人类历史上确认的第一个组蛋白去甲基化酶,属于胺氧化酶家族成员,可去除组蛋白 H3K4、H3K9 和非组蛋白底物赖氨酸的甲基,调控其生物学功能^[9]。LSD1 在多种肿瘤中高表达,用 LSD1 抑制剂或 RNAi 降低 LSD1 活性或表达量可抑制肿瘤生长,其发现正式确认组蛋白甲基化动态平衡过程,这对组蛋白修饰表观遗传学发展提供了全新的研究思路^[10]。钙黏蛋白是一类钙依赖性细胞黏附分子,其家族有若干成员,其中 E-钙黏蛋白为上皮型钙黏蛋白^[11],E-钙黏蛋白存在于正常上皮细胞中以维持组织结构的完整性,主要介导细胞-细胞间黏附,将上皮细胞紧紧地连接起来,从而维持上皮组织正常的形态及细胞的极性。它是一个单次跨膜糖蛋白,具有侵袭抑制因子的作用,其表达的减少或功能异常可以促进肿瘤的侵袭和转移^[12]。在绝大多数恶性肿瘤中,都存在由 E-钙黏蛋白介导的细胞-细胞黏附功能的削弱或丧失。这使得肿瘤细胞容易脱离原发病灶,易于向周围组织侵袭,并为肿瘤转移提供必要条件。而肿瘤的转移多伴有 E-钙黏蛋白的下调。E-钙黏蛋白的下调涉及的机制包括基因突变、DNA 甲基化和转录因子调控,钙黏蛋白转换主要就是通过转录因子调控得以实现^[13]。

本研究结果显示,LSD1 的表达定位于细胞核,在胃癌细胞中的阳性表达率 63.3% 高于健康胃组织的 45.9%;E-钙黏蛋白存在于大多数腺细胞的细胞质膜,在胃癌细胞中 E-钙黏蛋白的阳性表达率为 63.2%,显著低于健康胃组织的 80.3%,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$);LSD1 在不同病理学分级低、中、高分化的阳性表达率分别为 81.6%、73.3%、40.0%,在 TNM 分期的 I ~ II、III ~ IV 期中阳性表达率分别

为 56.6%、84.4%，在无和有淋巴结转移中分别为 34.8%、73.3%，差异均有统计学意义 ($P<0.05$)；E-钙黏蛋白在不同的病理学分级的低、中、高分化的阳性表达率分别为 52.6%、56.7%、80.0%，在 TNM 分期的 I~II、III~IV 期中阳性表达率分别为 62.3%、31.1%，在无和有淋巴结转移中分别为 95.6%、52.0%，差异均有统计学意义 ($P<0.05$)；LSD1 与 E-钙黏蛋白在胃癌中的表达呈负相关；LSD1 阳性表达的患者生存时间为 (34.7 ± 2.6) 个月，2 年总体生存率为 34.8%，LSD1 阴性表达的患者生存时间为 (46.8 ± 3.5) 个月，2 年总体生存率为 60.2%，2 组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)；E-钙黏蛋白阳性表达的患者生存时间为 (43.9 ± 2.5) 个月，2 年总体生存率为 45.3%，LSD1 阴性表达的患者生存时间为 (30.2 ± 3.2) 个月，2 年总体生存率为 28.5%，2 组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。LSD1 和 E-钙黏蛋白分别在不同的病理学分级程度、TNM 分期和有无淋巴结转移的表达比较，比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$)，而 LSD1 和 E-钙黏蛋白与不同性别、年龄、肿瘤直径无显著相关，提示肿瘤的分化与细胞黏附密切相关，而缺乏黏附性的肿瘤易发生淋巴结转移，导致患者预后较差。

相关性分析显示，LSD1 的表达与 E-钙黏蛋白呈负相关 ($P=0.001, r=-0.355$)，表明 LSD1 阳性表达越强则 E-钙黏蛋白阳性表达越弱。LSD1 在 Snail/Slug 介导的 EMT 过程中起非常重要的作用，抑制 LSD1 与 Snail/Slug 的相互作用将不能有效抑制 E-钙黏蛋白的表达。研究结果显示，在靶向沉默 E-钙黏蛋白的癌细胞中，干扰 LSD1 的表达将导致上皮表型部分恢复，同时 E-钙黏蛋白基因启动子区域 H3K4m2 水平的上调，表明 LSD1 在 Snail/Slug 依赖的上皮表型转变抑制中起关键作用。在这个过程中，Snail 的 SNAG 结构域招募 LSD1 并与 CoREST 协同作用于 Snail 的靶基因。LSD1 特异性地去除单甲基和二甲基化的 H3K4，从而抑制靶基因，Snail/Slug 对 E-钙黏蛋白的抑制作用基于 LSD1 对 E-钙黏蛋白启动子区域组蛋白的表观遗传修饰。

综上所述，LSD1 在低分化胃癌、较晚 TNM 分期的胃癌组织中及有淋巴结转移的阳性表达率显著提高，而 E-钙黏蛋白显著降低；阳性表达 LSD1 及阴性表达 E-钙黏蛋白的胃癌患者预后较差，并且 2 种蛋白的表达均为影响胃癌患者生存期的因素。

参考文献

[1] 邵根宝,黄晓佳,龚爱华,等. 组蛋白去甲基化酶 LSD1 及

其生物学功能[J]. 遗传,2010,32(4):331-338.
[2] 荆璟,陈公琰. LSD1 在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志,2014,17(6):569-572.
[3] 沈琼,陈陆俊,徐斌,等. 组蛋白赖氨酸去甲基化酶 1 在食管癌中的表达及其意义[J]. 中华实验外科杂志,2015,32(5):1168-1170.
[4] 丁杰,张忠民,廖国庆,等. 赖氨酸特异性去甲基化酶 1 在肿瘤领域的研究进展[J]. 医学与哲学,2015,23(2):57-60.
[5] 李蒙,吴玖斌,张培彤,等. E-钙黏蛋白、N-钙黏蛋白及波形蛋白在肿瘤转移中应用的研究进展[J]. 肿瘤研究与临床,2016,28(2):132-136.
[6] 丁杰,廖国庆,张忠民,等. 转录因子 Slug、E-钙黏蛋白、N-钙黏蛋白在胃肠道间质瘤中的表达及其意义[J]. 中华医学杂志,2012,92(4):264-268.
[7] 王金洵,陈晓耕,林孟波,等. Bcl-6 共抑制因子样蛋白及 E-钙黏蛋白在胃癌中的表达及相关性分析[J]. 重庆医学,2014,43(20):2603-2605.
[8] 赵媛,张连峰,刘蔚,等. 原发性肝细胞癌组织中环氧合酶-2 及 E-钙黏蛋白的表达[J]. 郑州大学学报(医学版),2011,46(4):581-583.
[9] 吴青松,李思荣,卢钦荣,等. 胃癌根治术患者预后分析[J]. 广东医学,2012,33(23):3609-3611.
[10] 杨学超,郝小康,王一理,等. HIF-1 α 、E-钙黏蛋白及 p53 在宫颈癌组织中的表达及临床意义[J]. 中国医学前沿杂志,2015,7(11):29-32.
[11] 郑宝军,潘立峰,邵建富,等. 细胞间黏附分子 1 和 CD44V6 及 E-钙黏蛋白在人胃癌组织中的表达及意义[J]. 中华胃肠外科杂志,2013,10(4):390-392.
[12] 林树森,王锡山,邹德龄,等. E-钙黏蛋白在大肠癌中的表达及意义[J]. 哈尔滨医科大学学报,2011,43(6):576-579.
[13] 阮建彬,臧建业. 组蛋白去甲基化酶 LSD1 的结构和功能研究进展[J]. 中国科学技术大学学报,2012,38(8):930-940.

(收稿日期:2016-11-23 修回日期:2017-01-14)

统计资料类型

统计资料共有三种类型:计量资料、计数资料和等级资料。按变量值性质可将统计资料分为定量资料和定性资料。

定量资料又称计量资料,指通过度量衡的方法,测量每一个观察单位的某项研究指标的量的大小,得到的一系列数据资料,其特点为具有度量衡单位、多为连续性资料、可通过测量得到,如身高、红细胞计数、某一物质在人体内的浓度等有一定单位的资料。

定性资料分为计数资料和等级资料。计数资料为将全体观测单位(受试对象)按某种性质或特征分组,然后分别清点各组观察单位(受试对象)的个数,其特点是没有度量衡单位,多为间断性资料,如某研究根据患者性别将受试对象分为男性组和女性组,男性组有 72 例,女性组有 70 例,即为计数资料。等级资料是介于计量资料和计数资料之间的一种资料,可通过半定量的方法测量,其特点是每一个观察单位(受试对象)没有确切值,各组之间仅有性质上的差别或程度上的不同,如根据某种药物的治疗效果,将患者分为治愈、好转、无效或死亡。