

图3 CDX2在组织中的表达(×200)
A. 正常结肠黏膜组织;B. 结肠直肠癌组织

表1 结肠直肠癌与正常结肠直肠黏膜中SOX9、CDX2和e-cadherin的表达[n(%)]

组别	n	SOX9 表达	CDX2 表达	e-cadherin 表达
		+	+	+
结肠直肠癌	68	48(70.59)**	49(72.06)*	26(38.24)**
正常结肠直肠黏膜	20	2(10)	20(100)	20(100)

与正常结肠直肠黏膜相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$

表2 结肠直肠癌中SOX9、CDX2和e-cadherin的表达与结肠直肠癌临床病理参数间的关系(n)

临床病理特征	n	SOX-9 表达				CDX2 表达				e-cadherin 表达			
		+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P
年龄(岁)				0.45	0.504			0.42	0.518			0.13	0.720
≥60	40	27	13			30	10			16	24		
<60	28	21	7			19	9			10	18		
性别				0.33	0.565			0.06	0.801			0.12	0.730
男性	41	30	11			30	11			15	26		
女性	27	18	9			19	8			11	16		
肿块大小(cm)				10.44	0.001			0.73	0.394			0.03	0.869
≥5	27	25	2			21	6			10	17		
<5	41	23	18			28	13			16	25		
分化程度				8.89	0.012			8.21	0.017			7.57	0.023
高	15	6	9			14	1			9	6		
中	30	23	7			23	7			13	17		
低	23	19	4			12	11			4	19		
TNM 分期				19.56	0.000			23.49	0.000			11.26	0.004
I~II	30	13	17			28	2			18	12		
III	29	26	3			20	9			7	22		
IV	9	9	0			1	8			1	8		
淋巴结转移				17.74	0.000			9.44	0.002			9.49	0.002
有	37	34	3			21	16			8	29		
无	31	14	17			28	3			18	13		
远处转移				2.84	0.092			10.10	0.001			2.04	0.153
有	9	9	0			2	7			1	8		
无	59	39	20			47	12			25	34		

阴性表达的19例结肠直肠癌中,e-cadherin无阳性表达。相关性分析表明CDX2和e-cadherin的阳性表达间存在正相关($r=0.490,\chi^2=16.32,P<0.01$)。

讨 论

SOX 是一类 SRY (sex determination region of Y chromosome) 相关基因构成的控制发育的基因家族,

癌患者的 TNM 分期、淋巴结转移、远处转移(P 均 <0.01)、分化程度($P<0.05$)有关,与年龄、性别、肿瘤大小无关($P>0.05$)。e-cadherin 的低表达与结肠直肠癌患者的 TNM 分期、淋巴结转移(P 均 <0.01)、分化程度($P<0.05$)有关,与年龄、性别、肿瘤大小、远处转移无关($P>0.05$,表2)。

3. 结肠直肠癌中SOX9、CDX2和e-cadherin表达的相关性分析:SOX9 阳性表达的48例结肠直肠癌中,CDX2有31例、e-cadherin有14例阳性表达;SOX9 阴性表达的20例结肠直肠癌中,CDX2有18例、e-cadherin有12例阳性表达。相关性分析表明结肠直肠癌中SOX9与CDX2和e-cadherin的阳性表达间呈负相关($r=-0.258,\chi^2=4.53,P<0.05;r=-0.289,\chi^2=5.68,P<0.05$)。CDX2 阳性表达的49例结肠直肠癌中,e-cadherin有26例阳性表达;CDX2

编码一系列SOX家族的转录因子,其所有成员的共同特点是含有一个高度保守的HMG-box(high mobility group box)结合域^[1]。人类的SOX9基因定位于17q24.3~q25.1,编码509个氨基酸的多肽,可能是目前SOX家族中研究最为广泛的转录因子之一,是人体早期胚胎发育的重要相关基因。近年来的研究显示,

SOX9 的异常表达可能与人类多种肿瘤有关。SOX9 通过促进侵袭和转移参与肿瘤的进展,检测 SOX9 的表达可有助于预测结直肠癌病人的临床结果^[2,3]。方义湖等^[4]研究发现,SOX9 在结直肠癌中高表达,且 SOX9 高表达的结直肠癌预后差。本研究结果显示 SOX9 在结直肠癌组织中高表达,明显高于正常结直肠黏膜,差异有统计学意义。此外,SOX9 的高表达与结直肠癌患者的肿瘤大小、TNM 分期、有无淋巴结转移、分化程度有关,与年龄、性别、远处转移无关。提示 SOX9 参与结直肠癌的发生、发展及转移,因此,对 SOX9 与结直肠癌关系的研究有利于进一步了解结直肠癌发生、发展及转移机制,为化学预防和治疗提供新途径。

CDX2 是一种特异性的核转录因子,是尾型同源框基因家族中的一员,全长 22kb ~ 23kb,位于染色体 13q12 ~ q13 区,CDX2 基因可能是一种肿瘤抑制基因。近年来的研究表明,CDX2 能调节细胞的增殖、分化、细胞黏附、迁移和肿瘤的发生^[5]。在转录因子调控肠上皮细胞的增殖和分化中,CDX2 是一个关键的节点,CDX2 基因表达的变化和失控对消化道肿瘤的发生和发展可起到重要作用^[6,7]。本研究结果显示 CDX2 在结直肠癌组织中的表达和正常结直肠黏膜相比降低,差异有统计学意义,CDX2 的低表达与结直肠癌患者的分化程度、TNM 分期、淋巴结转移、远处转移有关,与年龄、性别、肿瘤大小无关,与路喜安等^[8]研究结果一致。提示 CDX2 在结直肠癌的发生和发展及转移过程中起着重要作用,与 CDX2 作为一种可能的肠源性肿瘤抑制基因的观点相符合。

上皮钙黏素(e-cadherin)是钙依赖性黏附分子家族的经典亚族成员。e-cadherin 结构和功能异常导致肿瘤细胞间的黏附作用减弱,肿瘤细胞的活动能力和活动范围增加,是肿瘤细胞脱离原发病灶并获得侵袭转移能力的重要因素。目前认为,e-cadherin 表达下降与患者的不良预后相关^[9]。本研究结果显示,大肠癌 e-cadherin 的低表达与正常大肠黏膜、Dukes 分期、有无淋巴结转移显著相关,与组织分化程度、浸润深度相关,但与肿瘤的大小,有无远处转移无关。提示其表达降低或缺失与结直肠癌发生、发展和转移有关。

恶性肿瘤的形成和转移是一个多基因、多因子共同作用的结果。研究表明,SOX9 是 Wnt 信号传导途径下游的一个重要的转录调控因子,它可以抑制肠癌细胞 CDX2 的表达^[10]。本研究显示,结直肠癌中 SOX9 与 CDX2 的表达间存在负相关。同时,肿瘤的

发生、发展从某种意义上而言,是一个逆分化的过程。因此,作者推测,一方面,SOX9 可能通过抑制 CDX2 的表达,从而促进了肿瘤的演进。另一方面,CDX2 可能通过抑制 Wnt 信号传导途径的激活,从而进一步抑制了其下游的目标基因 SOX9 的表达。研究表明,CDX2 与 e-cadherin 有着复杂的相互作用,它们相互影响,相互制约,形成复杂的调节环路,并参与多种组织细胞之间的功能与代谢,但总体来说表现为表达的协同性^[7]。本研究显示,结直肠癌中 CDX2 与 e-cadherin 的阳性表达间存在正相关,这可能与 CDX2 能破坏受体酪氨酸激酶的活力,从而提高 e-cadherin 到细胞膜的运输有关^[11]。另外,本研究显示,结直肠癌中 SOX9 与 e-cadherin 的阳性表达间存在负相关,可能与 SOX9 能抑制 CDX2 的表达,从而进一步抑制 e-cadherin 的表达有关,具体机制有待于进一步的研究。

参考文献

- 1 吴姗,徐恩萍. SOX9 与人类肿瘤相关性研究进展[J]. 中华病理学杂志,2010,39(9):646-648
- 2 Zhou CJ, Guo JQ, Zhu KX, *et al.* Elevated expression of SOX9 is related with the progression of gastric carcinoma[J]. Diagn Cytopathol, 2011,39(2):105-109
- 3 Lu B, Fang Y, Xu J, *et al.* Analysis of SOX9 expression in colorectal cancer[J]. Am J Clin Pathol, 2008,130(6):897-904
- 4 方义湖,徐芳英,黄琼,等. SOX9 在结直肠癌中的表达及其意义[J]. 实用肿瘤杂志,2008,23(5):425-428
- 5 Coskun M, Troelsen JT, Nielsen OH. The role of CDX2 in intestinal homeostasis and inflammation[J]. Biochim Biophys Acta, 2011,1812(3):283-289
- 6 Boyd M, Hansen M, Jensen TG, *et al.* Genome-wide analysis of CDX2 binding in intestinal epithelial cells (Caco-2)[J]. J Biol Chem, 2010,285(33):25115-25125
- 7 方义湖,来茂德. 结直肠肿瘤的新标记—CDX2[J]. 国际遗传学杂志,2006,29(4):311-316
- 8 路喜安,齐广强,杨周亮,等. 结直肠癌中 CDX2、PTEN、Ki-67 的表达及 DNA 倍体分析[J]. 肿瘤研究与临床,2009,21(9):588-590
- 9 陈维香,费绍华,祝蕾,等. 结直肠癌组织中钙黏附素表达与淋巴结微转移的关系[J]. 中华胃肠外科杂志,2010,13(4):300-301
- 10 Blache P, van de Wetering M, Duluc I, *et al.* SOX9 is an intestine crypt transcription factor, is regulated by the Wnt pathway, and represses the CDX2 and MUC2 genes[J]. J Cell Biol, 2004,166(1):37-47
- 11 Funakoshi S, Kong J, Crissey MA, *et al.* Intestine-specific transcription factor Cdx2 induces e-cadherin function by enhancing the trafficking of E-cadherin to the cell membrane[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2010,299(5):1054-1067

(收稿:2011-07-28)

(修回:2011-08-30)

总之,血管钙化在 MHD 患者非常常见,X 线片是临床评价血管钙化简便易行的方法。在血管钙化的诸多危险因素中,除不可控制因素外,纠正钙磷代谢紊乱,服用不含钙的磷结合剂,控制碱性磷酸酶水平,积极保护残余肾功能,增加透析频率等,有利于减轻维持性血液透析患者血管钙化程度,减少 CVD 等不良临床事件,是我们临床工作中的重要任务。

参考文献

- 1 London GM, Marchais SJ, Guerin AP, et al. Arteriosclerosis, vascular calcification and cardiovascular disease in uremia[J]. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 2005, 14(6): 538-542
- 2 Rogers NM, Teubner DJ, Coates PT. Calcific uremic arteriopathy: advances in pathogenesis and treatment[J]. *Semin Dial*, 2007, 20(2): 150-157
- 3 Adragao T, Pires A, Lucas C, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2004, 19: 1480-1488
- 4 Hujairi NM, Afzali B, Goldsmith DJ. Cardiac Calcification in renal patients: what we know and don't know[J]. *Am J Kidney Dis*, 2004, 43(2): 234-243
- 5 Li XW, Giachelli CM. Sodium-dependent phosphate cotransporters and vascular calcification[J]. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 2007, 16(4): 325-328
- 6 Son BK, Kozaki K, Iijima K, et al. Statins protect human aortic smooth muscle cells from inorganic phosphate-induced calcification by restoring gas6-axl survival pathway[J]. *Circ Res*, 2006, 98(8): 1024-1031
- 7 Lyemere VP, Proudfoot D, Weissberg PL, et al. Vascular smooth muscle cell phenotypic plasticity and the regulation of vascular calcification[J]. *J Intern Med*, 2006, 260(3): 192-210
- 8 吴秀娟,刘毅,孙文学,等.抑制性消减杂交方法筛选大鼠血管钙化相关基因的研究[J]. *中华肾脏病杂志*, 2010, 26(2): 543-549
- 9 Yip CY, Chen JH, Zhao R, et al. Calcification by valve interstitial cells is regulated by the stiffness of the extracellular matrix[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29: 936-942

(收稿:2011-07-13)

(修回:2011-07-27)

SOX9、CDX2 和 e-cadherin 在结直肠癌中的表达及意义

胡向荣 杨文君 滕晓东

摘要 目的 探讨 Y 染色体性别决定区相关高速泳动族框因子 9(SOX9)、尾型同源盒转录因子 2(CDX2)和上皮钙黏素(e-cadherin)在结直肠癌中的表达及意义。**方法** 采用免疫组织化学 Envision 法检测 68 例结直肠癌和 20 例正常结直肠黏膜组织中 SOX9、CDX2 和 e-cadherin 的表达。**结果** SOX9、CDX2 和 e-cadherin 在结直肠癌组织中表达的阳性率分别为 70.59%、72.06% 和 38.24%,在正常结直肠黏膜组织中表达的阳性率分别 10%、100% 和 100%,差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$)。SOX9 的高表达和 CDX2 及 e-cadherin 的低表达与结直肠癌患者的分化程度、TNM 分期、淋巴结转移有关,SOX9 的高表达与肿瘤大小有关,CDX2 的低表达与远处转移有关。结直肠癌中 SOX9 与 CDX2 和 e-cadherin 的阳性表达存在负相关($r = -0.258$, $P < 0.05$; $r = -0.289$, $P < 0.05$);CDX2 和 e-cadherin 的阳性表达存在正相关($r = 0.490$, $P < 0.01$)。**结论** SOX9、CDX2 和 e-cadherin 在结直肠癌的发生、发展、转移中起着重要作用,三者联合检测可作为判断结直肠癌恶性程度的有效指标。

关键词 结直肠肿瘤 SOX9 CDX2 e-cadherin 免疫组织化学

Expression and Significance of SOX9, CDX2 and E-cadherin in Colorectal Cancer. Hu Xiangrong, Yang Wenjun, Teng Xiaodong. Department of Pathology, Affiliated Hospital, Hangzhou Normal University, Zhejiang 310015, China

Abstract Objective To investigate the expression of SOX9, CDX2 and e-cadherin in colorectal cancer and its significance. **Methods** The Expression of SOX9, CDX2 and E-cadherin were detected in 68 specimens of colorectal cancer and 10 specimens of normal colorectal mucosa by immunohistochemical method Envision. **Results** The positive expression rates of SOX9, CDX2 and e-cadherin in colorectal cancer were 70.59%, 72.06% and 38.24%. That in normal colorectal mucosa were 10%, 100% and 100%. There was sig-

作者单位:310015 杭州师范大学附属医院病理科(胡向荣、杨文君);浙江大学医学院附属第一医院病理科(滕晓东)

通讯作者:胡向荣,电子信箱:tigerand007@163.com

nificant difference between colorectal cancer and normal colorectal mucosa ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$). High expression of SOX9 and low expression of CDX2 and e-cadherin in colorectal cancer were associated with differentiation, TNM staging, lymph node. High expression of SOX9 was associated with tumor diameter. Low expression of CDX2 were associated with distant metastasis. The positive expression of SOX9 was negatively correlated with that of CDX2 and e-cadherin in colorectal cancer ($r = -0.258$, $P < 0.05$; $r = -0.289$, $P < 0.05$). The positive expression of CDX2 were positively correlated with that of e-cadherin ($r = 0.490$, $P < 0.01$). **Conclusion** SOX9, CDX2 and e-cadherin play an important role in the development, progression and metastasis of colorectal cancer. Combined detection of the three factors may serve as valuable markers to evaluate the malignant degree of colorectal cancer.

Key words Colorectal neoplasms; SOX9; CDX2; E-cadherin; Immunohistochemistry

大量的研究表明,结直肠癌的形成和转移的发生是一个多基因、多因子共同作用的结果。研究肿瘤发生和转移的分子机制,寻找其相关的生物标志物是肿瘤学基础与临床研究的主题之一。探讨结直肠癌的分子标志物与临床病理参数及预后的关系,有助于更好地理解结直肠癌的生物学行为。虽然与结直肠癌有关的分子标志物的研究很多,但多为单因素分析,本研究对结直肠癌标本切片采用免疫组化法同步检测 Y 染色体性别决定区相关高速泳动族框因子 9 (SRY-related high mobility group-box gene 9, SOX9)、尾型同源盒转录因子 2 (caudal-related homeobox transcription factor 2, CDX2) 和上皮钙黏素 (epithelia cadherin, e-cadherin) 的表达,以探讨 SOX9、CDX2 和 e-cadherin 在结直肠癌发生、发展、转移中的作用。

材料与方法

1. 对象:笔者医院病理科 2010 年 1 月~2011 年 5 月间资料完整的根治性结直肠癌手术切除标本 68 例,其中男性 41 例,女性 27 例。患者年龄 32~83 岁,平均年龄 57.6 岁。高分化 15 例、中分化 30 例、低分化 23 例。根据 UICC 临床病理分期诊断标准(UICC 2002 第六版, TNM 分期): I 期 5 例、II 期 25 例、III 期 29 例、IV 期 9 例。另取 20 例(因其他疾病所切除的结直肠正常肠段)经病理检查无异常的结直肠组织活检标本做对照。所有病例术前均未接受化疗及放疗,均用 10% 中性甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,作厚 4 μ m 的连续切片。

2. 主要试剂和方法:羊抗人多克隆抗体 SOX9 为美国 Santa Cruz 公司产品,一抗工作浓度为 1:200。即用型兔抗人 CDX2、e-cadherin 多克隆抗体均为北京中杉金桥生物技术公司产品。免疫组化 Envision 法染色步骤按说明书操作。

3. 结果判定:SOX9 和 CDX2 的阳性表达主要定位于细胞核,以细胞核染色强度和细胞核阳性百分率得分之积进行判定,随机选择 5 个高倍镜视野($\times 400$)进行判断:阳性肿瘤细胞数 $< 5\%$ 为 0 分; $5\% \sim 25\%$ 为 1 分; $26\% \sim 50\%$ 为 2 分; $> 50\%$ 为 3 分。染色强度:不着色者为 0 分;淡黄色为 1 分;深黄色或棕黄色为 2 分;棕褐色为 3 分。阳性细胞比例与染色强度得分之积为最终所得分数。所得分数 ≤ 3 分者为阴性, > 3 分者为阳性。e-cadherin:细胞膜染成棕黄色为阳性染

色,切片内阳性染色细胞率 $\geq 90\%$ 为 e-cadherin 表达阳性;如切片内阳性表达率 $< 90\%$,或仅为细胞质或无染色阳性细胞为表达阴性。

4. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,率的比较采用 χ^2 检验,相关性分析采用 Spearman 等级相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. SOX9、CDX2 和 e-cadherin 在正常结直肠黏膜和结直肠癌组织中的表达:SOX9、e-cadherin 在结直肠癌和正常结直肠黏膜中的阳性表达有非常显著性差异($\chi^2 = 23.12$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 23.63$, $P < 0.01$) (图 1、图 2)。CDX2 在结直肠癌和正常结直肠黏膜中的阳性表达有显著性差异($\chi^2 = 5.57$, $P < 0.05$) (图 3、表 1)。

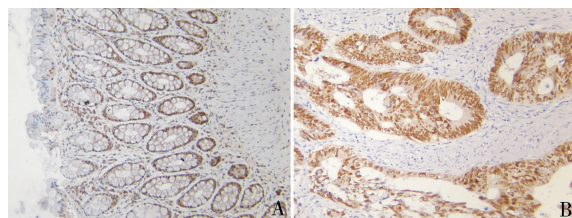


图 1 SOX9 在组织中的表达 ($\times 200$)
A. 正常结直肠黏膜组织; B. 结直肠癌组织

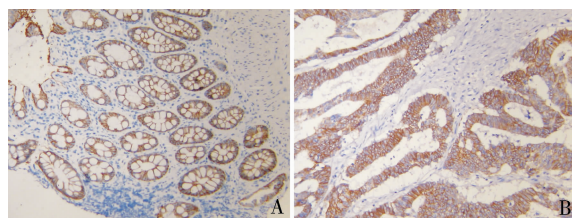


图 2 e-cadherin 在组织中的表达 ($\times 200$)
A. 正常结直肠黏膜组织; B. 结直肠癌组织

2. SOX9、CDX2 和 e-cadherin 在结直肠癌中的表达与结直肠癌临床病理参数的关系:SOX9 的高表达与结直肠癌患者的肿瘤大小、TNM 分期、淋巴结转移 (P 均 < 0.01)、分化程度 ($P < 0.05$) 有关。与年龄、性别、远处转移无关。CDX2 的低表达与结直肠