

Ezrin、E-cadherin 在判断良恶性肺结节及肺腺癌有无淋巴结转移中的应用研究

付鹏飞 朱敏 马玉花 姜敏 梁飞 王超
(新疆克拉玛依市中心医院 新疆 克拉玛依 834000)

摘要:目的 研究埃兹蛋白(Ezrin)和上皮型钙依赖性粘附蛋白(E-cadherin)在良恶性肺结节和肺腺癌中的表达情况,其在肺腺癌病程进展中的作用以及肺腺癌有无淋巴结转移相关性。方法以2020年11月到2021年11月期间来医院就诊的180例患者,作为此次实验的目标对象。经临床检测后,发现其中良性肺结节患者有100例,肺腺癌80例,有无淋巴结转移各40例。对比Ezrin和E-cadherin在两组患者的指征数据水平与淋巴结转移关联性。结果正常细胞样本的Ezrin、E-cadherin高表达率高于肺腺癌细胞样本($P<0.05$);有淋巴结转移组织样本Ezrin高表达率高于无淋巴结转移, E-cadherin高表达率低于无淋巴结转移组织样本($P<0.05$)。结论 Ezrin、E-cadherin对肺腺癌病程进展、和淋巴结转移密切相关,在肺腺癌发病机制研究中发挥重要作用,为今后的临床防治给予一定指导。

关键词:埃兹蛋白;上皮型钙依赖性粘附蛋白;淋巴结转移

相关资料显示, Ezrin 为细胞骨架连接蛋白, 其会参与调节肿瘤细胞的生长和转移, 而 E-cadherin 非独立性因素对肺腺癌细胞的侵袭和转移的也有着一定的作用^[1]。本研究拟收集本院良性肺结节、肺腺癌(有无淋巴结转移)组织样本, 采用免疫组织化学方法进行检测, 对比 Ezrin 和 E-cadherin 分别在良恶性肺结节、有无淋巴结转移的肺腺癌原发灶中的表达差异以及它们表达的相关性和一致性情况, 从而探讨 Ezrin 在肺腺癌诊断和淋巴转移判断中的作用, 现将研究结果报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

以2020年11月到2021年11月期间来医院就诊的180例患者, 作为此次实验的目标对象。经临床检测后, 发现其中良性肺结节患者有100例, 肺腺癌80例, 有无淋巴结转移各40例。患者年龄53-82岁, 平均(65.27±2.05)岁, 男女比例为95:85。参加该次探究患者, 均愿意签下实验同意书, 纳入实验研究。对比每位患者年龄、性别等病历资料未见差异($P>0.05$)。

1.2 方法

准备:医生选取离癌细胞边缘2.0cm以上的确诊患者的石蜡病理样本, 进行连续切片, 其厚度为4um左右, 贴在载玻片上, 然后在60℃烘箱中持续烘烤4h后, 放于4℃恒温条件下进行保存, 留以备用。

脱蜡、水化:①将所有组织切片标本置于60摄氏度烤箱中, 并且以60摄氏度的恒定温度进行烘烤20分钟。②所有操作均在避光条件下进行, 应用二甲苯溶液浸入10min予以脱蜡, 梯度酒精(无水乙醇)浸入5min实施脱水, 首次完成后, 取出切片再将其依据由大到小的顺序, 分别放于95%、85%、70%乙醇溶液中, 时间均5min, 最后把切片放于蒸馏水中5min, 该项程序反复3次。

染色:①阻断内源性过氧化物酶失活, 将切片利用PBS洗涤3次, 每次持续5min, 并向其中加入3% H_2O_2 , 于37℃环境下孵育10min。②抗原修复: 切片放于PH=6的0.01M枸橼酸缓冲液中, 用煮沸至95-98℃, 大约需要15-20min, 取出冷却至少20min后, 用冷水洗涤气缸, 加速冷却至室温, 然后用PBS洗涤3x5分钟。③将切片放于5%正常羊血清液后封管, 在37℃室温下孵育10min, 倾去上清液, 勿洗。④滴加一抗1:75Ezrin、1:80E-cadherin并放于37℃室温下孵育60min, 后将切片置于4℃恒温箱过夜, 再PBS洗涤3x5分钟。⑤滴加上述二抗, 37℃室温下孵育40min, 后将切片置于4℃恒温箱过夜, 再PBS洗涤3x5分钟。⑥滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液, 37℃室温下孵育30min, 再PBS洗涤3x5分钟。⑦在1ml H_2O_2 中滴1滴DAB, 对切片进行染色, 充分混合后, 将切片置于观察显色情况, 自来水彻底洗涤后, 再使用苏木素进行30s复染, 常规脱水, 透明, 干燥, 封片。

1.3 观察指标

①染色结果: 结果应用双盲法读取, 当两人计数一致时, 将其作为最后结果, 计数接近, 取平均值, 计数不同, 由第三人判决。

②评分标准: 切片置于高倍显微镜下观察, 取5组视野, 然后, 依据是否显现棕黄色颗粒评判, 并对阳性细胞进行计数^[2]。再利用半定量法检测染色强度, 共4级别, 未染色0级、浅棕1级、棕色2级、深棕3级。染色密度: 1级≤10%、2级11%-50%、3级51%-75%、4级>75%。结果=密度x强度, 得分为0-2(-)、3-5(+)、6-9(++), 9-12(++), 低表达<6分, 高表达≥6分。

1.4 统计学分析

利用SPSS22.0行统计学分析, 计量($\bar{x} \pm s$), 结果t检验; 计数(%), 结果 χ^2 检验。

2 结果

2.1 组织样本 Ezrin、E-cadherin 表达情况

良性肺结节细胞样本的 Ezrin、E-cadherin 高表达率高于肺腺癌细胞样本($P<0.05$), 见表1。

表1 组织细胞样本中 Ezrin、E-cadherin 表达情况 [n=90(%)]

组别	肺腺癌细胞		X^2	P
	样本(80例)	良性肺结节细胞样本(100例)		
Ezrin 高	50 (62.50)	20 (20.00)	15.720	<0.05
Ezrin 低	30 (33.33)	80 (88.89)		
E-cadherin 高	55 (68.75)	61 (61.00)	17.316	<0.05
E-cadherin 低	25 (31.25)	39 (43.33)		

2.2 肺腺癌组织组样本中 Ezrin、E-cadherin 表达与淋巴结转移相关性

有淋巴结转移组织样本 Ezrin 高表达率高于无淋巴结转移, E-cadherin 高表达率低于无淋巴结转移组织样本($P<0.05$), 如表2。

表2 肺腺癌组织组样本中 Ezrin、E-cadherin 表达与淋巴结转移相关性 [n(%)]

组别	肺腺癌组织组样本		X^2	P
	有转移(40例)	无转移(40例)		
Ezrin 高	31 (77.50)	15 (37.50)	12.618	<0.05
Ezrin 低	9 (20.00)	25 (55.56)		
E-cadherin 高	10 (25.00)	23 (57.50)	10.443	<0.05
E-cadherin 低	30 (66.67)	17 (42.50)		

3 讨论

(下转第15页)

(上接第 2 页)

2021 年数据统计,全世界约有 1950 万肺腺癌新患病例与 980 万癌症死亡病例,到 2022 年,全球将会比去年增加 222 万新肺腺癌病例与 170 万肺腺癌死亡病例,且我国肺腺癌新病例占据约 35% 左右,死亡病例,约占 37.8% 左右^[1]。肺腺癌的产生、病程进展、病灶部位的转移等各项因素非常复杂,通常与肿瘤细胞自身、肿瘤微环境因素具有相关性^[2]。侵袭与转移是肺腺癌细胞的显著生物学特征,其过程极为复杂且多程序,是致使手术及放化疗失败,造成人们死亡的重要因素。相关研究发现,恶性肿瘤增殖、转移方式是淋巴转移^[3]。肺腺癌的病程进展与有无淋巴结转移会影响治疗效果,并与肺腺癌的预后有关。

此次结果显示,正常细胞样本的 Ezrin、E-cadherin 高表达率高于肺腺癌细胞样本 ($P < 0.05$);有淋巴结转移组织样本 Ezrin 高表达率高于无淋巴转移, E-cadherin 高表达率低于无淋巴转移组织样本 ($P < 0.05$)。

综上所述, Ezrin 和 E-cadherin 表达情况与肺腺癌细胞为负相关性,其可预见肺腺癌细胞的分化、病理分期和淋巴结转移,是判断肺腺癌患者预后的生物学特征。

参考文献

[1]张潇文,方韶韩,耿国军,姜杰.早期肺腺癌腋窝淋巴结伴全身多发转移 1 例报告[J].《中国微创外科杂志》,2022,22(1):89-91.

[2]阿衣夏木古丽·艾则孜,刘洪柏,马丽丽,韩忠诚.血清甘露糖结合凝集素相关丝氨酸蛋白酶-2 和半乳糖凝集素-3 水平与老年肺腺癌患者淋巴结转移的相关性分析[J].《中华实用诊断与治疗杂志》,2021,10(12):1198-1201.

[3]彭晔,符立辉,黄鹏达.磨玻璃结节样多灶性肺腺癌 CT 征象与分化程度和淋巴结转移的关系[J].《河北医学》,2022,6(3):407-412.

[4]李琛,严磊,鲁一帆,等.淋巴结阳性比率对评估肺腺癌患者预后的价值研究[J].《现代医药卫生》,2022,38(7):1124-1129,1133.

[5]虞林湘,章斌,施义,等.HES5 蛋白与肺腺癌患者病情及预后的相关性研究[J].《临床和实验医学杂志》,2020,1(19):165-166.

基金项目:克拉玛依市中心医院院级项目

项目编号 YK2020-3

依托平台:新疆临床基因检测与生物医学信息重点实验室