

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.32.015

· 临床研究 ·

E-cadherin 在胃癌术后复发预测中的临床意义*

杭振宁 童超 徐斌 王士琪 白 槟 赵青川[△]

(第四军医大学西京消化病医院消化外科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨 E-cadherin 在胃癌术后复发预测中的临床意义。**方法:**选择我院 2006 年 1 月至 2010 年 7 月收治的胃癌或者胃食管连接部癌行胃癌根治性切除术后 259 例患者为研究对象,将其分为术后复发组(115 例)和术后未复发组(144 例),采用免疫组织化学方法检测其 E-cadherin 的表达,并分析 E-cadherin 的异常表达与胃癌术后复发的相关性。**结果:**胃癌癌旁正常组织与胃癌组织间 E-cadherin 的表达有显著差异($P<0.05$);胃癌术后复发与未复发患者的胃癌组织 E-cadherin 的表达比较有显著差异($P<0.05$)。E-cadherin 的异常表达与胃癌的浸润深度、淋巴结转移和 TNM 分期显著相关($P<0.05$)。单因素 Logistic 回归分析发现,E-cadherin 的异常表达的与胃癌术后复发有显著的相关性($P=0.039$, $RR=1.711$, 95%CI 为 1.486-1.970)。**结论:**E-cadherin 的异常表达与胃癌根治性切除术后复发显著相关。

关键词: E-cadherin; 胃癌; 复发; 预后**中图分类号:** R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)32-6260-05

The Clinical Significance of E-cadherin in Predicting the Recurrence of Gastric Cancer after Curative Resection*

HANG Zhen-ning, TONG Chao, XU Bin, WANG Shi-qi, BAI Bin, ZHAO Qing-chuan[△]

(Department of Digestive Surgery, Xijing Digestive disease hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To study the clinical significance of E-cadherin in predicting the recurrence of gastric cancer after curative resection. **Methods:** We studied 259 patients, including 115 patients in recurrent group and 144 patients in non-recurrent group, who suffered gastric or gastroesophageal junction cancer after radical resection in our hospital from January 2006 to July 2010, the expression of E-cadherin in gastric cancer patients with recurrence and non-recurrence after radical resection by were detected by immunohistochemistry and the correlation between abnormal expression of E-cadherin and gastric cancer recurrence were analyzed. **Results:** There were significant differences of E-cadherin expression between normal gastric tissues and gastric cancer tissues ($P<0.05$); the E-cadherin expression of gastric cancer tissues of recurrent and non-recurrent patients with gastric cancer after surgery also had significant differences ($P<0.05$). Abnormal E-cadherin expression was significantly associated with the depth of invasion, lymph node metastasis and TNM staging of patients with gastric cancer ($P<0.05$); Univariate Logistic regression analysis showed that abnormal expression of E-cadherin was correlated with the recurrence of gastric cancer after surgery ($P=0.039$, $RR=1.711$, 95% CI=1.486-1.970). **Conclusion:** The abnormal expression of E-cadherin may be associated with the recurrence of gastric cancer after curative resection.

Key words: E-cadherin; Gastric cancer; Recurrence; Prognosis**Chinese Library Classification:** R735.2 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2014)32-6260-05

前言

胃癌(gastric cancer, GC)是世界范围内发病率第四的恶性肿瘤,也是肿瘤相关死亡的第二大因素。2013 第 2 版 NCCN 胃癌指南建议对于胃癌细胞浸润转移范围仍局限于粘膜内以及尚未出现周围淋巴结转移的患者,只需要行胃癌根治性切除术,不需要化疗^[1,2]。然而,在临床上,有一部分早期胃癌患者手术切除肿瘤后依然出现复发转移的现象。E-cadherin 是一种细胞粘附蛋白,主要表达于上皮细胞连接部,参与调节细胞的分

化和维持上皮结构^[3]。本研究通过检测胃正常组织和胃癌组织中 E-cadherin 的表达,比较胃癌术后复发和未复发患者 E-cadherin 表达的差异,旨在探讨 E-cadherin 能否作为预测胃癌术后预后的标记物,为指导早期胃癌术后患者的临床治疗提供线索。

1 材料与方法

1.1 研究对象和试剂

1.1.1 研究对象 选择我院 2006 年 1 月至 2010 年 7 月收治的胃癌或者胃食管连接部癌患者为研究对象,收集其胃癌组织蜡

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81370564)

作者简介:杭振宁(1983-),男,硕士研究生,主要研究方向:胃癌的复发及其机制

[△] 通讯作者:赵青川,电话:029-84771503, E-mail: zhaopc@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2014-05-05 接受日期:2014-05-30)

块 259 例和相应癌旁组织蜡块 146 例,制成病理组织芯片,重新切片备用。

1.1.2 实验试剂 鼠抗人 E-cadherin 单克隆抗体由 RD SYETENS 公司提供,即用型快捷免疫组化 MaxVision™ 试剂盒由福州迈新生物技术开发有限公司提供,即用型正常山羊血清、DAB 显色剂由武汉柏世德生物技术有限公司提供。

1.2 实验方法和步骤

1.2.1 实验分组 本研究共纳入患者 259 例,根据术后患者的复发情况,将其分为术后复发组(115 例)和术后未复发组(144 例)。入组标准:①年龄 18-70 岁,性别不限;②胃癌根治术后,术式包括全胃切除,胃大部切除,R0,切缘未见癌组织,进行淋巴清扫 D1-D0;③所有患者无术前新辅助放化疗,TNM 分期 T1-T2N0 期患者术后未行辅助化疗或免疫治疗者,其余分期者不限(参考 2013 年第 2 版 NCCN 胃癌治疗指南);④随访 3 年以上(包括术后 3 年内死亡病例),资料完整者。排除标准:①胃癌行姑息性手术者或已有周围侵犯行多脏器切除者;② TNM 分期 T1-T2N0 期患者术前、术后曾行辅助放化疗或免疫治疗者;③随访不足 3 年或资料不完整者。

复发转移组与未复发转移组的年龄、性别、组织学分型比较均无统计学差异($P>0.05$);浸润深度(pT)、淋巴结转移(pN)、TMN 分期比较有统计学差异(P 均 <0.01)。见表 1。

表 1 复发组与未复发组患者的一般临床资料比较

Table 1 Comparison of the general clinical information between recurrent and non-recurrent patients after radical resection of gastric cancer

	Recurrent group	Non-recurrent group	P value*
Age(year) (mean± SD)	58± 4.3	57± 5.4	0.784
Median ages(year)	59	59	
Gender			0.781
Female n(%)	84(73.0)	102(70.8)	
Male n(%)	31(27.0)	42(29.2)	
depth of invasion (pT) ** n(%)			<0.01
pT1	7(6.1)	44(30.6)	
pT2	32(27.8)	43(29.9)	
pT3	61(53.0)	48(33.3)	
pT4	15(13.0)	9(6.3)	
lymphaticnode metastasis (pN)** n(%)			<0.01
pN0	18(15.7)	57(39.6)	
pN1	19(16.5)	35(24.3)	
pN2	21(18.3)	29(20.1)	
pN3	57(49.6)	23(16.0)	
TMN stage** n(%)			<0.01
IA+IB(T2N0)	18(15.7)	52(36.1)	
II+IB(T1N1)	27(23.5)	47(32.6)	
III	63(54.8)	45(31.3)	
IV	7(6.1)	0(0)	

*Note: Age, sex, the P value using t test, the rest by chi-square test;** reference of Version 2 2013 NCCN guidelines AJCC gastric cancer TNM staging.

1.2.2 病理组织芯片的制备

1.2.2.1 芯片微阵列设计 在构建组织芯片之前,预先计算待检测样本的数量,将组织芯片设计成 2 组,一组为癌组织芯片组,另一组为癌周围正常组织芯片组,考虑到组织芯片蜡块的制备、组织芯片蜡块的切片以及实验其他各个步骤的熟练程度及为了降低组织芯片制作的难度,将癌组织芯片设计为在常规的载玻片上放置 24 个样本,癌周围正常组织芯片设计为在常规的载玻片上放置 117 个样本。

1.2.2.2 收集病例及相关蜡块 对挑选出胃癌组织及其周围正常组织蜡块,预先分别切片,进行 HE 染色,通过镜下观察找到切边中具有代表性的位置,并在切片对应的供体蜡块标本上进行相应的点标记,包括典型的癌组织和其周围的正常组织,以便精确打孔。

1.2.2.3 制作流程 (1)受体蜡块制备:用 97.5 克莱卡石蜡和 2.5 克蜂蜡(2.5%)混合,制作成 36 mm 长 26 mm 宽 17 mm 高的空白蜡块,共 15 块;在该蜡块 30 mm× 20 mm 范围内设计 6× 4 点组织阵列,共 13 块(癌组织蜡块),组织四周预留 0.5 cm-1.0 cm 空间;另一组蜡块 30 mm× 20 mm 范围内设计 13× 9 点组织阵列,共 2 块(癌组织周围正常组织蜡块),组织四周预留 0.5 cm-0.7 cm 空间,用组织仪打孔制成病例组织芯片蜡块。(2)在组织芯片受体蜡块打孔,孔径分别为 3.0 mm 和 1.0 mm,孔间距分别为 1.0 mm 和 0.5 mm。(3)在供体蜡块上标记的部位分别打孔采集组织芯,孔径同样分别为 3.0 mm 和 1.0 mm。(4)将组织芯分别转移到相应的受体模块的孔中。(5)将构建好的组织芯片蜡块放入塑料盒子内,严密固定防止移位。将盒子放入 55℃ 温箱中约 10 分钟,待蜡块即将完全溶解时,迅速取出塑料盒子,并放置于室内,室温下逐渐冷却。待蜡块完全冷却,取下蜡块,置于 4℃ 冰箱中保存备用。(6)组织芯片的切片:预先将备用组织芯片蜡块放置于 4℃ 中预冷 4h,取出组织芯片蜡块夹在切片机上修正。之后将组织芯片蜡块贴附于 -20℃ 预冷冰袋上约 5-10 min 左右,迅速固定蜡块,快速连续切片,厚度设计为 4 μm。将切得的 4 μm 连续切片漂在凉水中,让其自然展开,按顺序将切片转移至 45℃ 的温水中展片 2 min 左右,提取切片,展开平摊于浸有 APES 切片黏合剂的载玻片上晾干,60℃ 中烤片 3 min 左右,58℃ 中继续烤片 18 h,-20℃ 保存备用。

1.2.3 免疫组织化学染色 (1)取出组织芯片,室温下静置 30 分钟,后 60℃ 下烤片 1 小时。(2)序贯二甲苯脱蜡和梯度酒精脱水:二甲苯 I 5 分钟,二甲苯 II 5 分钟,100%酒精 I 5 分钟,100%酒精 II 5 分钟,95%酒精 I 5 分钟,95%酒精 II 5 分钟,1× PBS 液洗涤 5 分钟,3 次。(3)抗原修复:组织芯片置于已煮沸的 0.01 mol/L 枸橼酸缓冲液(pH6.0)中高压锅继续煮沸,至高压锅排气 2 分钟后,取下高压锅,置于自来水下冲冷 10 分钟,打开锅盖,继续自来水冲洗加速冷却至室温,约 10 分钟左右,后 1× PBS 液洗涤 5 分钟,3 次。(4)双氧水灭活内源性过氧化物酶:将切片放入用蒸馏水新鲜配置的 3%双氧水中,室温 10 分钟,1× PBS 液洗涤 5 分钟,3 次。(5)滴加 10%正常山羊血清封闭液,37℃ 温育 30 分钟,倾去封闭液。(6)滴加 PBS 稀释后一抗,抗体浓度为 20 μg/ml,置于 4℃ 冰箱过夜。(7)取出过夜组织芯片,1× PBS 液洗涤 5 分钟,3 次。(8)滴加生物素标记二

抗,37℃ 温育 30 分钟。(9)取出组织芯片,1× PBS 液洗涤 5 分钟,3 次,滴加新鲜配置的 DAB 显色液,避光显色,显微镜下控制显色程度。(10)1× PBS 液或自来水冲洗 10 分钟终止显色,苏木素衬染细胞核,显微镜下控制细胞核染色程度,自来水冲洗 15 分钟。(11)盐酸酒精冲洗,氨水返蓝。(12)序贯乙醇梯度脱水,二甲苯透明:95%酒精 5 分钟,二甲苯 I 10 分钟,二甲苯 II 10 分钟。(13)中性树脂封片,37℃ 干燥 48 小时后,显微镜观察并拍照留存。

1.3 统计学分析

采用 SPSS17.0.0 软件分析数据。以个数和百分比描述分类变量,组间比较使用卡方检验或 Fisher 精确检验,两组间计量资料的比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 E-cadherin 的表达比较

胃癌癌旁正常组织、胃癌根治性切除术后复发患者癌组织和胃癌根治性切除术后未复发患者癌组织中 E-cadherin 的表达如图 1 所示。全部患者胃癌癌旁正常组织 E-cadherin 的阳性表达率为 72.2%,胃癌组织 E-cadherin 的阳性表达率为 27.6%,两者间有显著差异($P < 0.05$);复发患者胃癌组织 E-cadherin 的阳性表达率为 34.7%,未复发患者 E-cadherin 的阳性表达率为 16.5%,两者间有显著差异($P < 0.05$),见表 2。

2.2 E-cadherin 的表达与胃癌浸润深度、淋巴结转移和 TNM 分期的相关性

在复发组与未复发组,随着浸润深度、淋巴结转移数量和 TNM 分期的增加,E-cadherin 异常表达的百分率均呈逐渐上升

的趋势(P 均 < 0.05),见表 3。不同的浸润深度、淋巴结转移数量和 TNM 分期时,复发组和未复发组 E-cadherin 的异常表达均有显著差异(P 均 < 0.05),见表 3。

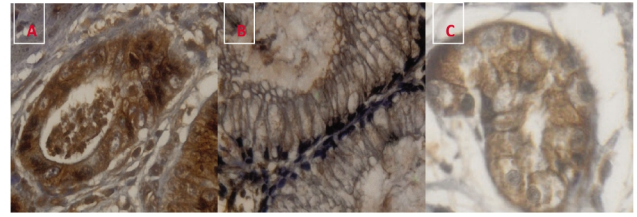


图 1 胃癌癌旁正常组织、术后复发胃癌患者癌组织、术后未复发胃癌患者癌组织 E-cadherin 表达的比较(200×)

Fig. 1 Comparison of the expression of E-cadherin between normal tissue adjacent to gastric cancer, carcinoma tissue of recurrent and non-recurrent patients with gastric cancer after radical resection (200×)

表 2 E-cadherin 在癌旁正常组织和癌组织中表达的比较

Table 2 Comparison of the expression of E-cadherin between Normal gastric tissue and Carcinoma tissue

	Normal gastric tissue	Gastric carcinoma tissue		Total
		Carcinoma tissue of recurrent patients	Carcinoma tissue of non-recurrent patients	
Positive expression(n)	187	50	19	69
Negative expression(n)	72	94	96	190
Rate of Positive expression(%)	72.2	34.7	16.5	27.6

表 3 复发组与未复发组患者不同浸润深度、淋巴结转移数目和 TNM 分期时 E-cadherin 异常表达的比较

Table 3 Comparison of the abnormal expression of E-cadherin between recurrent and non-recurrent patients after radical resection of gastric cancer with different pT, pN and pTNM stages

	Recurrent group	Non-recurrent group	P value**
Depth of invasion (pT) %* (n)			0.0429
pT1	71.4(5/7)	45.5(20/44)	0.0003
pT2	78.1(25/32)	51.2(22/43)	0.0001
pT3	83.6(51/61)	89.6(43/48)	0.3083
pT4	100(15/15)	100(9/9)	1
Lymphatic node metastasis(pN) %* (n)			0.0495
pN0	77.8(14/18)	47.3(27/57)	0.0001
pN1	68.4(13/19)	51.4(20/35)	0.0209
pN2	80.9(17/21)	86.2(25/29)	0.4464
pN3	91.3(52/57)	95.6(22/23)	0.4068
TNM stage(pTNM) %* (n)			< 0.01
IA+IB(T2N0)	55.6(10/18)	40.4(21/52)	0.0472
II+IB(T1N1)	81.5(21/27)	68.0(33/47)	0.0332
III	93.6(58/63)	84.4(39/45)	0.04
IV	100(7/7)	0(0)	-

*Note: The ratio means the proportion of recurrence or non-recurrence patients accounted for each group respectively; **P values is calculated by the ratios, using the chi-square test.

2.3 胃癌术后复发的单因素 Logistic 回归分析

单因素 Logistic 回归分析发现,E-cadherin 的异常表达的

与胃癌术后复发有显著的相关性 ($P = 0.039$, $RR = 1.711$, 95% CI 为 1.486-1.970),并且浸润深度、淋巴结转移数量和 TNM 分期

也与胃癌术后复发有显著相关(P 均 <0.05),而年龄和性别与胃癌术后复发无显著相关(P 均 >0.05),见表 4。

表 4 胃癌术后复发的单因素 Logistic 回归分析

Table 4 Univariate logistic analysis of the risk factors of recurrence of gastric cancer after curative resection

	Recurrent rate (%)	P value*	RR (95%CI) **
Age		0.320	2.33 (0.64-8.54)
≤ 60y	45.2(62/137)		
>60y	43.4(53/122)		
Gender		0.812	2.79 (0.77-10.04)
Female	45.2(84/186)		
Male	42.5 (31/73)		
depth of invasion		0.006	11.0 (2.00-60.5)
pT1	13.7(7/51)		
pT2	42.7(32/75)		
pT3	56.0(61/109)		
pT4	62.5(15/24)		
lymphaticnode metastasis		0.024	8.25 (1.33-51.2)
pN0	24.0(18/75)		
pN1	35.2(19/54)		
pN2	42.0(21/50)		
pN3	71.3(57/80)		
TMN stage		<0.001	12.0 (2.70-53.3)
IA+IB(T2N0)	25.7(18/70)		
II+IB(T1N1)	36.5(27/74)		
III	58.4(63/108)		
IV	100(7/7)		
E-cadherin expression		0.039	1711(1486-1970)
abnormal expression	50.5(96/190)		
normal expression	27.5(19/69)		

*Note:Significant difference were determined with $p<0.05$;**RR: relative risk, CI: confidence interval.

3 讨论

目前的研究表明粘附分子参与了胃癌细胞的转移过程。E-cadherin 是一种细胞粘附蛋白,由 CDH1 基因编码^[3,4],主要表达于上皮细胞连接部,辅助细胞发生、分化,维持上皮结构,并与肿瘤侵袭和转移有关^[5,13-15]。E-cadherin 的表达在多种肿瘤中都被不同程度的地抑制甚至缺失^[6-8]。乳腺小叶癌患者 E-cadherin 存在明显的异常表达^[9-11],50%弥漫性胃癌患者 CDH1 处于失活状态^[12]。E-cadherin 编码基因 CDH1 的突变引起遗传的弥漫性胃癌(eHDGC)约占胃癌的 1-3%^[16-18]。约 70%携带 CDH1 的突变基因的人群终生都有罹患弥漫性胃癌的高风险^[19],以粘膜内 T1a 期胃癌为最早的临床表现,被称为“早期遗传的弥漫性胃癌(eHDGC)”^[20]。多病灶的 eHDGC 的肿瘤细胞的 E-cadherin 表达较低,提示肿瘤细胞的 CDH1 基因被抑制或者丢失。研究还发现至少 50%的患者受到二次打击均由于 CDH1 基因的启动子高甲基化^[21]。研究者还发现,CDH1 基因的启动子甲基化方式来自每一个病灶的单等位基因且具有特异性,这就

说明每个 eHDGC 都具有独立的单克隆源,而且还是肿瘤发展的早期事件^[22]。很显然,启动子甲基化被认为是多发病灶的弥散性胃癌 E-cadherin 下调的主要机制^[13]。但是 eHDGC 是低增生并且没有激活 Wnt 信号通路^[23]。同时,很多研究还发现 E-cadherin 与许多粘附分子或者信号传导通路有协同作用。E-cadherin 与 β -catenin 同为 E-cadherin 复合体的组成成分^[23],共同参与细胞粘附的过程,这在胃癌的发展的过程中共同其促进作用^[24]。近年,又有研究发现,血浆中游离的 E-cadherin 异常表达也与胃癌有一定的相关性^[25]。因此,目前认为 E-cadherin 表达的缺乏可能是胃癌启动的一个因素。

本组研究表明,胃癌患者的癌组织及癌周围正常组织上皮细胞均有 E-cadherin 的表达,在胃癌术后复发组和未复发组之中 E-cadherin 的异常表达存在明显差异,并且在胃癌术后复发和未复发的患者中,对比不同的浸润深度、淋巴结转移数量和 TNM 分期,随着浸润深度、淋巴结转移数量的增加以及胃癌的不断进展,E-cadherin 的异常表达的也呈逐渐增加趋势。本研究虽然收集到的病例数总数不少,但根据不同的分组标准,如浸润深度、淋巴结转移数量和 TMN 分期等进行亚组分析时,有些亚组内病例数相对不足,尤其是复发组早期患者的样本量和未复发组晚期患者的样本量,这些不足很可能影响我们对亚组结果的分析,如根据组织分化程度或者组织分型的不同,E-cadherin 的异常表达是否亦存在差异等。但已得出的结果亦能部分表明,E-cadherin 很可能与胃癌细胞的迁徙转移有一定的相关性,随着 E-cadherin 的异常表达增加,胃癌细胞的侵袭性和迁徙转移能力逐渐增加。因此,通过对 E-cadherin 的定量检测,对胃癌患者行胃癌根治性切除术后的复发转移有预测作用,对指导临床施行相应的辅助治疗有一定的价值。

参考文献(References)

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. Int J Cancer, 2010, 127(12): 2893-2917
- [2] Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Parkin DM, et al. Global burden of cancer in 2008: a systematic analysis of disability-adjusted life-years in 12 world regions[J]. Lancet, 2012, 380(9856): 1840-1850
- [3] Huntsman DG, Caldas C. Assignment1 of the E-cadherin gene (CDH1) to chromosome 16q22.1 by radiation hybrid mapping [J]. Cytogenet Cell Genet, 1999, 83 (1-2): 82-83
- [4] Fleming TP, Papenbrock T, Fesenko I, et al. Assembly of tight junctions during early vertebrate development[J]. Cell DevBiol, 2000, 11(4): 291-299
- [5] Graff JR, Gabrielson E, Fujii H, et al. Methylation patterns of the E-cadherin 5' CpG island are unstable and reflect the dynamic, heterogeneous loss of E-cadherin expression during metastatic progression[J]. J Biol Chem, 2000, 275 (4): 2727-2732
- [6] G Berx, Cleton-Jansen AM, Berx G, et al. E-cadherin inactivation in lobular carcinoma in situ of the breast: an early event in tumorigenesis [J]. EMBO J, 1995, 14 (24): 6107-6115
- [7] Schildberg CW, Abba M, Merkel S, et al. Gastric cancer patients less than 50 years of age exhibit significant downregulation of E-cadherin and CDX2 compared to older reference populations[J]. Adv Med Sci, 2014,59(1):142-146

- [8] Bordeira-Carriço R, Ferreira D, Mateus DD, et al. Rescue of wild-type E-cadherin expression from nonsense-mutated cancer cells by a suppressor-tRNA[J]. *Eur J Hum Genet*, 2014,15(1):132-136
- [9] Berx G, Cleton-Jansen AM, Strumane K, et al. E-cadherin is inactivated in a majority of invasive human lobular breast cancers by truncation mutations throughout its extracellular domain [J]. *Oncogene*, 1996,13(9): 1919-1925
- [10] De Leeuw WJ, Berx G, Vos CB, et al. Simultaneous loss of E-cadherin and catenins in invasive lobular breast cancer and lobular carcinoma in situ[J]. *J Pathol*, 1997, 183(4): 404-411
- [11] Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, et al. E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas[J]. *Cancer Res*, 1994, 54(14): 3845-3852
- [12] Cavallaro U, Christofori G. Christofori. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(2): 118-132
- [13] Semb H, Christofori G. The tumor-suppressor function of E-cadherin [J]. *Am. J. Hum. Genet*, 1998, 63(6): 1588-1593
- [14] Wong AS, Gumbiner BM. Adhesion-independent mechanism for suppression of tumor cell invasion by E-cadherin [J]. *J. Cell Biol*, 2003, 161 (6): 1191-1203
- [15] Milne ANI, Carneiro F, O'Morain C, et al. Nature meets nurture: molecular genetics of gastric cancer [J]. *Hum Genet*, 2009, 126(5): 615-628
- [16] Blair V, Martin I, Shaw D, et al. Hereditary diffuse gastric cancer: diagnosis and management [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2006, 4 (3): 262-275
- [17] Chu CM, Chen CJ, Chan DC, et al. CDH1 polymorphisms and haplotypes in sporadic diffuse and intestinal gastric cancer: a case-control study based on direct sequencing analysis [J]. *World J Surg Oncol*, 2014,12:80
- [18] Zhang J, Zhan Z, Wu J, et al. Association among lifestyle, clinical examination, polymorphisms in CDH1 gene and Traditional Chinese Medicine syndrome differentiation of gastric cancer [J]. *J Tradit Chin Med*, 2013,33(5):572-579
- [19] Huntsman DG, Carneiro F, Lewis FR, et al. Early gastric cancer in young, asymptomatic carriers of germ-line E-cadherin mutations[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(25): 1904-1909
- [20] Humar B, P Guilford. Hereditary diffuse gastric cancer: a manifestation of lost cell polarity [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100 (7): 1151-1157
- [21] Humar B, Guilford P. E-cadherin deficiency initiates gastric signet-ring cell carcinoma in mice and man [J]. *Cancer Res*, 2009, 69 (5): 2050-2056
- [22] Machado JC, Oliveira C, Carvalho R, et al. E-cadherin gene (CDH1) promoter methylation as the second hit in sporadic diffuse gastric carcinoma[J]. *Oncogene*, 2001, 20(12): 1525-1528
- [23] Yu XW, Xu Q, Xu Y, et al. Expression of the E-cadherin/ β -catenin/tcf-4 pathway in gastric diseases with relation to Helicobacter pylori infection: clinical and pathological implications[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014,15(1):215-220
- [24] Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009,9(4): 265-273
- [25] Tsalikidis C, Papachristou F, Pitiakoudis M, et al. Soluble E-cadherin as a diagnostic and prognostic marker in gastric carcinoma [J]. *Folia Med (Plovdiv)*, 2013,55(3-4):26-32

(上接第 6252 页)

- [8] Ferrari G, Agnoletti L, Comini L, et al. Oxidative stress during myocardial ischemia and heart failure [J]. *Eur Heart J*, 1998,19(suppl B):B2-B11
- [9] Forrest VJ, Kang YH, McClain DE, et al. Oxidative stress-induced apoptosis prevented by trolox [J]. *Free Radic Biol Med*, 1994, 16: 675-684
- [10] 东方,高世勇,季宇彬. Ca^{2+} 介导的细胞凋亡通路研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2008,29(13):1602-1604
Dong Fang, Gao Shi-yong, Ji Yu-bin. Progress of research on Ca^{2+} mediated apoptosis pathway [J]. *Journal of Qiqihar Medical College*, 2008,29(13):1602-1604
- [11] Peng TI, Jve MJ. Mitochondrial swelling and generative of reactive oxygen species induced by photoirradiation are heterogeneously distributed [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2004, 1011:112-122
- [12] Lennons V, Martins J, Cottert G. Dose-dependend induction of apoptosis in human tumor cell lines by widely diverging stimuli [J]. *Cell Prolif*, 1991, 24:203-214
- [13] 徐长庆,张伟华. 心血管系统钙敏感受体的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2010,26(2):409-413
Xu Chang-qing, Zhang Wei-hua. Investigation progress of CaSR in cardiovascular system [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2010, 26(2):409-413
- [14] McCarty Mark F. Practical prevention of cardiac remodeling and atrial fibrillation with full-spectrum antioxidant therapy and ancillary strategies [J]. *Med Hypotheses*, 2010,75(2): 141-147
- [15] Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling [J]. *Annual Review of Biochemisly*, 2000, 69:217-245
- [16] Wang X. The expanding role of mitochondria in apoptosis [J]. *Genes Dev*, 2001,15(22):2922-2933
- [17] Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation [J]. *Science*, 1998, 281(5381):1305-1308
- [18] Nakamura K, Bossy-Wetzel E, Burns K, et al. Michalak M Changes in endoplasmic reticulum luminal environment affect cell sensitivity to apoptosis [J]. *Cell Biol*, 2000, 150(4):731-740
- [19] Ferri FK, Kroemer G. Organelle-specific initiation of cell death pathways [J]. *Nat Cell Bid*, 2001,31(11):255-263
- [20] 冯全洲,李天德,王兆霞,等. 钙离子拮抗剂对大鼠心肌梗死后心肌细胞凋亡的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2004,16(3):133-136
Feng Quan-zhou, Li Tian-de, Wang Zhao-xiao, et al. Effects of Ca^{2+} antagonist on cardiomyocytic apoptosis after experimental myocardial infarction [J]. *Chin Crit Care Med*, 2004,16(3):133-136