

**Monoclonal Mouse  
Anti-Human  
E-cadherin  
Clone NCH-38**

---

**ENGLISH**  
**Code M3612**

**Intended use**

For In Vitro Diagnostic Use.

Monoclonal Mouse Anti-Human E-cadherin, clone NCH-38 (Anti-E-cadherin, NCH-38) is intended for laboratory use to identify qualitatively by light microscopy E-cadherin positive cells in normal and neoplastic tissues using immunohistochemical (IHC) test methods. The clinical interpretation of any positive staining or its absence should be complemented by morphological and histological studies with proper controls. Evaluations should be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified individual.

**Synonyms**

E-CD, uvomorulin, L-CAM, Arc-1, or cell-CAM 120/180<sup>1-3</sup>

**Summary and explanation**

E-cadherin is a 120 kD transmembrane cell adhesion molecule. The gene has been localized on chromosome 16q22.1. In its extracellular domain, E-cadherin is involved in cell-cell adhesion through calcium-regulated homophilic interactions, whereas in its intracellular domain, E-cadherin connects to the actin cytoskeleton via catenins. E-cadherin has a significant function in intercellular adhesion of epithelial cells, the establishment of epithelial polarization, glandular differentiation, and stratification. It is localized mainly in the adherens junctions and concentrates the urokinase plasminogen and the epidermal growth factor receptor to cell contact sites.<sup>5,6</sup> Down-regulation of E-cadherin expression has been observed in a number of carcinomas and is usually associated with advanced stage and progression.<sup>5-8</sup>

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

**Reagent provided**

Monoclonal Mouse antibody provided in liquid form as tissue culture supernatant in 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 and 0.015 mol/L sodium azide. This product contains stabilizing protein.

Clone: NCH-38<sup>4</sup> Isotype: IgG<sub>1</sub>, kappa  
Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial.

M3612 may be used at a dilution range of 1:50 to 1:100 when performing IHC using the LSAB2, HRP, Liquid DAB detection system. These are guidelines only. Optimal antibody concentrations may vary depending specimen and preparation method and should be determined by each individual laboratory.

**Immunogen**

E-cadherin (uvomorulin) and GST recombinant protein<sup>4</sup>

**Specificity**

Anti-E-cadherin, NCH-38 recognizes the 120 kD mature form and 82 kD fragment of E-cadherin in Western blots of A431 cells lysates.<sup>4</sup>

**Materials required, but not supplied**

Refer to the "General Instructions for Immunohistochemical Staining" and/or the Detection System "Instructions." Suggested diluent for IHC procedures:

Antibody Diluent (code S0809)

The following negative control is recommended for IHC procedures:

Mouse IgG<sub>1</sub> (code X0931)

**Precautions**

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, NaN<sub>3</sub> may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.<sup>9</sup>
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused reagents should be disposed of according to local, State, and Federal regulations.

**Storage**

Store at 2–8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

## Specimen preparation

### Paraffin Sections

Anti-E-cadherin, NCH-38 can be used on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. The deparaffinized tissue sections must be treated with heat prior to the IHC staining procedure. Target retrieval involves immersion of tissue sections in a pre-heated buffer solution and maintaining heat, either in a water bath (95–99 °C), a steamer (95–99 °C) or an autoclave (121 °C). For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Silanized Slides (code S3003) is recommended. Target Retrieval Solution (code S1700) or 10x Concentrate (code S1699) is recommended using a 20-minute heating protocol.

### Cryostat Sections and Cell Smears

Anti-E-cadherin, NCH-38 can be used for labeling acetone-fixed cryostat sections or fixed cell smears. Target or antigen retrieval is not required.

## Staining procedure

Follow the procedure for the detection system selected.

## Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-E-cadherin, NCH-38 is membranous and/or cytoplasmic.

## Performance characteristics

### Normal Tissues

E-cadherin expression has been demonstrated by immunohistochemistry in (40/40) normal urothelium specimens (frozen and paraffin).<sup>8</sup> Normal human mammary gland has been found to strongly express E-cadherin in the intercellular borders of the luminal cells of both the interlobular ducts and the intralobular terminal ducts and ductules but expression was much weaker in myoepithelial cells of ducts and ductules (frozen and paraffin).<sup>10</sup> Squamous epithelial cells in esophagus were found to be strongly immunoreactive (15/15) on cell-cell boundaries, except in the most superficial keratinizing layer. Also, E-cadherin was immunolocalized in normal gastric mucosa at the cell-cell boundaries of the foveolar epithelia as well as in gastric crypts and deep gastric glands (frozen and paraffin).<sup>1,2</sup> In normal endometrium, almost all the glands revealed strong E-cadherin expression (frozen).<sup>11</sup> E-cadherin immunoreactivity has been localized in normal skin along the lateral and upper surfaces of basal keratinocytes at intercellular borders but was absent at the basal cell surface. In the suprabasal layers of skin, E-cadherin expression was localized uniformly around the periphery of the cells, however no expression was seen in the superficial corneal layer. The adnexal structures of skin also demonstrated E-cadherin immunoreactivity including membrane staining of the outer root sheath cells (the inner sheath cells were negative), acinar germinative cells in the sebaceous glands and sweat gland cells of skin. No E-cadherin expression was demonstrated in the dermis of normal skin (paraffin).<sup>5</sup> E-cadherin was also strongly expressed in epithelial cells of normal prostate, especially in areas of cell-cell contact (frozen).<sup>3</sup>

### Abnormal Tissues

E-cadherin immunoreactivity has been demonstrated in a variety of abnormal cell types.<sup>1-3,5-8,10,11</sup> Table 1 summarizes expression of E-cadherin in abnormal tissues.

**Table 1. Abnormal Tissue Reactivity**

<i>Tissue Type</i>	<i>Positive and Negative Tissue Element Staining and Staining Pattern</i>
Bladder: Primary transitional cell carcinoma of the bladder <sup>a,b</sup>	13/40 positive, homogeneous (membranous) 13/40 positive, heterogeneous 14/40 negative High Grade (grade IIb and III): 10/24 positive Low Grade (grade I and IIa): 16/16 positive Superficial stage (Ta and T1): 21/22 positive Invasive stage (T2, T3 and T4): 5/18 positive
Breast cancer: Node negative <sup>b</sup> (without chemotherapy or hormonal therapy)	136/168 positive
Breast carcinoma: Ductal <sup>a,b</sup>	55/87 <sup>a</sup> strong positive, majority of cells 29/87 <sup>a</sup> weaker positive, heterogeneous 14/24 <sup>b</sup> strong positive, majority of cells 10/24 <sup>b</sup> weaker positive, heterogeneous
Breast carcinoma: Lobular <sup>a,b</sup>	3/21 <sup>a</sup> positive focal—very sparse intercellular membrane—or weak cytoplasmic 3/14 <sup>b</sup> positive, focal—very sparse intercellular membrane—or weak cytoplasmic
Esophagus: Squamous cell carcinoma <sup>a</sup>	4/15 positive 10/15 positive, heterogeneous or weak
Gastric carcinoma <sup>b</sup>	108/413 positive, homogeneous linear expression and comparable to normal gastric mucosa 95/413 positive, moderately reduced linear or dotted intercellular staining in 20–60% tumor cells 86/413 positive, highly reduced finely dotted intercellular staining in <20% cells 124/413 negative or weak dotted immunoreactivity <5% cells. Special pattern of E-cadherin expression was present in a small percentage of signet ring-cell carcinomas and of undifferentiated carcinomas, where a strong intracytoplasmic “plaque-like” expression of E-cadherin could be demonstrated, sometimes in combination with a very weak immunoreactivity at tumor-cell membrane.
Endometriosis <sup>a</sup>	3/9 positive 6/9 positive, heterogeneous

Skin: Melanocytic naevi <sup>b</sup>	20/20 positive membranous, superficial compartment of naevi and at the borders between naevus cell nests and keratinocytes of the surrounding epidermis. Junctional naevus cell nests were more heterogeneous than in the epidermal component or diffusely cytoplasmic. Melanocytic cells in the papillary dermis were negative.
Skin: Malignant melanoma <sup>b</sup>	13/70 positive, membranous 30/70 positive, heterogeneous 11/70 cytoplasmic 16/70 negative  Immunoreactivity associated with histological types of melanomas: 1/34 superficial spreading melanoma-positive, membranous 18/34 superficial spreading melanoma-positive, heterogeneous 8/34 superficial spreading melanoma-cytoplasmic 7/34 superficial spreading melanoma-negative 3/8 nodular melanoma-positive, heterogeneous 2/8 nodular melanoma-cytoplasmic 3/8 nodular melanoma-negative 4/9 lentigo malignant melanoma-positive, heterogeneous 1/9 lentigo malignant melanoma-cytoplasmic 4/9 lentigo malignant melanoma-negative 1/8 lentiginous melanoma-positive, membranous 5/8 lentiginous melanoma-positive, heterogeneous 2/8 lentiginous melanoma-negative 11/11 metastatic melanoma-positive, membranous
Prostate cancer: Primary tumors <sup>a</sup>	44/84 positive, homogeneous 27/84 positive, heterogeneous 13/84 negative
Metastatic lesions <sup>a</sup>	2/8 positive, homogeneous 5/8 positive, heterogeneous 1/8 negative Most differentiated cancers demonstrated strong and uniformly positive immunoreactivity at the cell-cell boundaries, whereas an increasing percentage of less well differentiated to poorly differentiated tumors demonstrated heterogeneous or negative immunoreactivity.

<sup>a</sup>Testing was performed on cryostat sections

<sup>b</sup>Testing was performed on paraffin-embedded formalin-fixed tissue sections

## FRANÇAIS

### Code M3612

#### Utilisation prévue

Pour diagnostic in vitro.

Le clone NCH-38 monoclonal de souris anti-E-cadhérine humaine (NHC-38 anti-E-cadhérine) est destiné à une utilisation en laboratoire pour identifier qualitativement, par microscopie optique, les cellules positives à l'E-cadhérine dans des tissus normaux et néoplasiques, à l'aide de méthodes de test immunohistochimiques (IHC). L'interprétation clinique de tout marquage positif ou de toute absence doit être complétée par des études morphologiques et histologiques à l'aide de témoins appropriés. Les évaluations doivent être réalisées uniquement par un professionnel agréé dans le contexte de l'histoire clinique du patient et d'autres examens.

#### Synonymes

E-CD, uvomoruline, L-CAM, Arc-1, ou molécule d'adhésion cellulaire (CAM) 120/180<sup>1-3</sup>

#### Résumé et explication

L'E-cadhérine est une molécule d'adhésion cellulaire transmembranaire de 120 kD. Ce gène a été localisé sur le chromosome 16q22.1. Dans son domaine extracellulaire, l'E-cadhérine joue un rôle dans l'adhésion cellule-cellule par l'intermédiaire d'interactions homophiles régulées par le calcium, alors que dans son domaine intracellulaire, l'E-cadhérine se lie au cytosquelette d'actine par l'intermédiaire de caténines. L'E-cadhérine joue un rôle important dans l'adhésion intercellulaire des cellules épithéliales, l'établissement de la polarisation épithéliale, la différenciation glandulaire et la stratification. Elle se situe principalement sur les jonctions d'adhésion et concentre l'urokinase du plasminogène et le récepteur du facteur de croissance épidermique sur les sites de contact intercellulaires.<sup>5,6</sup> Une régulation négative de l'expression de l'E-cadhérine a été observée dans certains carcinomes; elle est généralement associée à un stade avancé et à un niveau de progression élevé.<sup>5-8</sup>

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection concernant les procédures IHC pour : 1) Principe de procédure, 2) Matériaux requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

## Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris fourni sous forme liquide comme surnageant de culture tissulaire dans un tampon Tris-HCl à 0,05 mol/L, de pH 7,2, contenant de l'azide de sodium à 0,015 mol/L. Ce produit contient une protéine stabilisante.

Clone: NCH-38<sup>4</sup> Isotype: IgG<sub>1</sub>, kappa  
Concentration de l'IgG de souris en mg/L : Voir l'étiquette sur le flacon.

Le produit M3612 peut s'utiliser à un taux de dilution de 1:50 à 1:100 lors d'une analyse IHC sur un système de détection LSAB2, HRP, Liquid DAB. Il ne s'agit là que de recommandations. Les concentrations d'anticorps optimales peuvent varier selon l'échantillon et la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire particulier.

## Immunogène

E-cadhérine (uvomoruline) et protéine recombinante GST<sup>4</sup>

## Spécificité

Le NCH-38 anti-E-cadhérine reconnaît la forme mature de l'E-cadhérine de 120 kD et le fragment de l'E-cadhérine de 82 kD lors des procédures de transfert de type Western sur des lysats de cellules A431.<sup>4</sup>

## Matériaux requis, mais non fournis

Se référer aux Dako's *Instructions Générales relatives à la procédure de Marquage Immunohistochimique* et/ou aux instructions du système de détection. Diluant suggéré pour les procédures d'IHC :

Antibody Diluent (code S0809)

Il est conseillé d'utiliser le contrôle négatif suivant lors de procédure d'IHC :

Mouse IgG<sub>1</sub> (code X0931)

## Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, le NaN<sub>3</sub> peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.<sup>9</sup>
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les réactifs non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations locales et nationales.

## Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que des échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

## Préparation des échantillons

### Coupes en paraffine

Le NCH-38 anti-E-cadhérine peut être utilisé avec des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Les coupes de tissus déparaffinées doivent être traitées par la chaleur avant le début de la procédure de coloration immunohistochimique (IHC). La restauration de la cible implique d'immerger les coupes de tissus dans une solution tampon préalablement chauffée et de maintenir une température élevée, soit dans un bain-marie (95 à 99 °C), soit dans un four à vapeur (95 à 99 °C), soit encore dans un autoclave (121 °C). Pour assurer une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est conseillé d'utiliser des lames silanisées (code S3003). Dans le cadre d'un protocole de chauffage durant 20 minutes, il est recommandé d'utiliser la solution Target Retrieval Solution (code S1700) ou 10x concentrée (code S1699).

### Coupes au cryostat et frottis cellulaires

Le NCH-38 anti-E-cadhérine peut être utilisé pour le marquage de coupes au cryostat fixées à l'acétone ou de frottis cellulaires fixés. Il n'est pas nécessaire de restaurer la cible ou l'antigène.

## Protocole d'immunomarquage

Suivre la procédure recommandée pour le système de détection sélectionné.

## Interprétation du marquage

Le modèle de coloration cellulaire du NCH-38 anti-E-cadhérine est membranaire et/ou cytoplasmique.

## Performances

### Tissus normaux

L'expression de l'E-cadhérine a été démontrée par immunohistochimie dans des échantillons (congelés et inclus en paraffine) d'urothélium normaux (40/40).<sup>8</sup> Les glandes mammaires humaines normales expriment fortement l'E-cadhérine dans les bordures intercellulaires des cellules luminales des canaux interlobulaires et des canaux et canalicules terminaux intralobulaires, mais l'expression est beaucoup plus faible dans les cellules myoépithéliales des canaux et conduits (congelées et incluses en paraffine).<sup>10</sup> Les cellules épithéliales squameuses de l'œsophage se sont avérées fortement immunoréactives (15/15) sur les frontières cellule-cellule, sauf dans la couche kératinisante la plus superficielle. En outre, l'E-cadhérine est immunolocalisée dans la muqueuse gastrique normale des frontières cellule-cellule des épithéliums foveolaires, ainsi que dans les cryptes gastriques et les glandes gastriques profondes (congelées et incluses en paraffine).<sup>1, 2</sup> Dans l'endomètre normal, presque toutes les glandes ont montré une forte expression de l'E-cadhérine (congelée).<sup>11</sup> L'immunoréactivité de l'E-cadhérine a été localisée dans la peau normale le long des surfaces latérale et supérieure des kératinocytes basaux sur les bordures intercellulaires, mais elle était absente de la surface des cellules basales. Dans les couches suprabasales de la peau, l'expression de l'E-cadhérine était uniformément localisée autour de la périphérie des cellules. Cependant, aucune expression n'a été détectée sur la couche

cornéenne superficielle. Les structures des annexes de la peau ont également fait preuve d'une immunoréactivité à l'E-cadhérine en montrant notamment une coloration membranaire des cellules de la gaine épithéliale externe (les cellules de la gaine épithéliale interne étaient négatives), des cellules acineuses germinales dans les glandes sébacées et des cellules des glandes sudoripares de la peau. Aucune expression de l'E-cadhérine n'a été mise en évidence dans le derme d'une peau normale (incluse en paraffine).<sup>5</sup> L'E-cadhérine était également fortement exprimée dans les cellules épithéliales de la prostate normale, notamment dans les zones de contact cellule-cellule (congelées).<sup>3</sup>

#### Tissus anormaux

L'immunoréactivité à l'E-cadhérine a été démontrée dans divers types de cellules anormales.<sup>1-3,5-8,10,11</sup> Le tableau 1 résume l'expression de l'E-cadhérine dans les tissus anormaux.

**Tableau 1. Réactivité des tissus anormaux**

Type de tissu	Coloration et modèle de coloration des éléments tissulaires positifs et négatifs
Vessie : Carcinome des cellules transitionnelles primaires de la vessie <sup>a,b</sup>	13/40 positive, homogène (membranaire) 13/40 positive, hétérogène 14/40 négative Haut grade (grade IIb et III) : 10/24 positive Grade inférieur (grade I et IIa) : 16/16 positive Stade superficiel (Ta et Ti) : 21/22 positive Stade invasif (T2, T3 et T4) : 5/18 positive
Cancer du sein : Ganglion négatif <sup>b</sup> (sans chimiothérapie ni thérapie hormonale)	136/168 positive
Carcinome du sein : Canalaire <sup>a,b</sup>	55/87 <sup>a</sup> fortement positive, la plupart des cellules 29/87 <sup>a</sup> moins nettement positive, hétérogène 14/24 <sup>b</sup> fortement positive, la plupart des cellules 10/24 <sup>b</sup> moins nettement positive, hétérogène
Carcinome du sein : Lobulaire <sup>a,b</sup>	3/21 <sup>a</sup> focalement positive—rarement dans la membrane intercellulaire— ou faiblement cytoplasmique 3/14 <sup>b</sup> focalement positive—rarement dans la membrane intercellulaire— ou faiblement cytoplasmique
Œsophage : Carcinome à cellules squameuses <sup>a</sup>	4/15 positive 10/15 positive, hétérogène ou faible
Carcinome gastrique <sup>b</sup>	108/413 positive, expression linéaire homogène et semblable à la muqueuse gastrique normale 95/413 positive, coloration linéaire ou ponctuelle intercellulaire légèrement réduite dans 20 à 60 % des cellules tumorales 86/413 positive, coloration intercellulaire finement ponctuelle fortement réduite dans <20 % des cellules 124/413 immunoréactivité négative ou ponctuelle faible dans <5 % des cellules. Le modèle spécifique d'expression de l'E-cadhérine était présent dans un petit nombre de carcinomes à cellules en bague et de carcinomes non différenciés, dans lesquels une forte expression intracytoplasmique de type « plaque » de l'E-cadhérine a pu être mise en évidence en association, parfois, à une très faible immunoréactivité au niveau de la membrane tumeur-cellule.
Endométriose <sup>a</sup>	3/9 positive 6/9 positive, hétérogène
Peau : Naevi mélanocytaires <sup>b</sup>	20/20 positive, compartiment membranaire superficiel des naevi et bordure entre les amas de cellules naeviques et les karatinocytes de l'épiderme environnant. Les amas de cellules dans le naevus de jonction étaient moins hétérogènes que dans le composant épidermique, ou légèrement cytoplasmiques. Les cellules mélanocytaires du derme papillaire étaient négatives.
Peau : Mélanome malin <sup>b</sup>	13/70 positive, membranaire 30/70 positive, hétérogène 11/70 cytoplasmique 16/70 négative Immunoréactivité associée aux types histologiques de mélanomes : 1/34 mélanome superficiel se développant - positive, membranaire 18/34 mélanome superficiel se développant - positive, hétérogène 8/34 mélanome superficiel se développant - cytoplasmique 7/34 mélanome superficiel se développant - négatif 3/8 mélanome nodulaire - positive, hétérogène 2/8 mélanome nodulaire - cytoplasmique 3/8 mélanome nodulaire - négative 4/9 lentigo malin – positive, hétérogène 1/9 lentigo malin – cytoplasmique 4/9 lentigo malin – négative 1/8 mélanome lentigineux - positive, membranaire 5/8 mélanome lentigineux - positive, hétérogène 2/8 mélanome lentigineux - négative 11/11 mélanome métastatique - positive, membranaire

Cancer de la prostate : Tumeurs primaires <sup>a</sup>	44/84 positive, homogène 27/84 positive, hétérogène 13/84 négative
Lésions métastatiques <sup>a</sup>	2/8 positive, homogène 5/8 positive, hétérogène 1/8 négative La plupart des cancers différenciés ont montré une immunoréactivité positive forte et uniforme aux limites cellule-cellule, alors qu'un pourcentage toujours plus important de tumeurs moins différenciées ou peu différenciées présentaient une immunoréactivité hétérogène ou négative.

<sup>a</sup>Tests réalisés sur des coupes au cryostat

<sup>b</sup>Tests réalisés sur des coupes tissulaires incluses en paraffine et fixées au formol

## DEUTSCH

### Code M3612

#### Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Monoclonal Mouse Anti-Human E-Cadherin, Klon NCH-38 (Anti-E-Cadherin, NCH-38), ist zum Laborgebrauch für den qualitativen Nachweis E-Cadherin-positiver Zellen in normalen und neoplastischen Geweben mittels Lichtmikroskopie und immunhistochemischer (IHC-) Testmethoden bestimmt. Die klinische Bewertung einer vorhandenen oder fehlenden positiven Färbung sollte durch morphologische und histologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt werden. Die Interpretation muss unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren durch einen erfahrenen Pathologen erfolgen.

#### Synonyme

E-CD, Uvomorulin, L-CAM, Arc-1 oder Cell-CAM 120/180<sup>1-3</sup>

#### Zusammenfassung und Erläuterung

E-Cadherin ist ein 120-kD-Transmembran-Zelladhäsions-Molekül. Das Gen wurde auf dem Chromosom 16q22.1 lokalisiert. In seiner extrazellulären Domäne ist E-Cadherin an der Zell-Zell-Adhäsion mittels calciumregulierter homophiler Interaktionen beteiligt, während es in seiner intrazellulären Domäne mittels Cateninen an das Aktin-Zytoskelett bindet. E-Cadherin hat eine signifikante Funktion bei der interzellulären Adhäsion von Epithelzellen, der Einrichtung der Epithelpolarisation sowie der glandulären Differenzierung und Stratifizierung. Es ist hauptsächlich in den adhärenenten Verbindungen lokalisiert und konzentriert das Urokinase-Plasminogen und den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor an Zellkontaktstellen.<sup>5,6</sup> Eine Runterregulierung der E-Cadherin-Expression wurde in einer Anzahl von Karzinomen beobachtet und steht gewöhnlich mit dem fortgeschrittenen Stadium und der Progression in Verbindung.<sup>5-8</sup>

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlerbehebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

#### Geliefertes Reagenz

Monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form als Gewebekulturüberstand in 0,05 mol/L Tris-HCl-Puffer, pH 7,2 und 0,015 mol/L Natriumazid. Dieses Produkt enthält ein Stabilisatorprotein.

Klon: NCH-38<sup>4</sup> Isotyp: IgG<sub>1</sub>, kappa  
Maus IgG-Konzentration mg/L: Siehe Produktetikett.

M3612 kann bei der Durchführung von IHC-Tests unter Verwendung der Nachweissysteme LSAB2, HRP und Liquid DAB bei einem Verdünnungsbereich von 1:50 bis 1:100 verwendet werden. Hierbei handelt es sich lediglich um Richtlinien. Die optimalen Antikörperkonzentrationen schwanken je nach Probe und Methode der Probenvorbereitung und sollten von jedem einzelnen Labor bestimmt werden.

#### Immunogen

E-Cadherin (Uvomorulin) und GST-rekombinantes Protein<sup>4</sup>

#### Spezifität

Anti-E-Cadherin, NCH-38, erkennt die ausgereifte 120-kD-Form und das 82-kD-Fragment von E-Cadherin beim Westernblot von A431-Zelllysaten.<sup>4</sup>

#### Zusätzlich benötigte Reagenzien und Zubehör (außerhalb des Lieferumfangs)

Siehe *Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako und/oder Anweisungen des Detektionssystems. Empfohlene Verdünnung für IHC-Verfahren:

Antibody Diluent (Kode S0809)

Die folgende negative Kontrolle wird für IHC-Verfahren empfohlen:

Mouse IgG<sub>1</sub> (Kode X0931)

### Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN<sub>3</sub>), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von NaN<sub>3</sub> können auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.<sup>9</sup>
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Entsprechende Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

### Aufbewahrung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

### Probenvorbereitung

#### Paraffinschnitte

Anti-E-Cadherin, NCH-38, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Die entparaffinierten Gewebeschnitte müssen vor der IHC-Färbeprozedur hitzebehandelt werden. Das Target-Retrieval verlangt das Eintauchen der Gewebeschnitte in eine vorgeheizte Pufferlösung und gleich bleibende Hitze, entweder im Wasserbad (95–99 °C) oder im Dampfgerät (95–99 °C) oder im Autoklav (121 °C). Um eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern zu erzielen, wird der Gebrauch von silanisierten Objektträgern (Silanized Slides, Kode S3003) empfohlen. Bei der Anwendung eines 20-minütigen Aufheizverfahrens wird Target Retrieval Solution (Kode S1700) oder Zehnfach-Konzentrat (Kode S1699) empfohlen.

#### Kryostasischnitte und Zellabstriche

Anti-E-Cadherin, NCH-38, kann zur Markierung azetonfixierter Kryostasischnitte oder fixierter Zellabstriche verwendet werden. Target-Retrieval ist nicht erforderlich.

### Färbeprozedur

Folgen Sie der Prozedur für das ausgewählte Nachweissystem.

### Bewertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster für Anti-E-Cadherin, NCH-38, ist membrangebunden und/oder zytoplasmatisch.

### Leistungseigenschaften

#### Normalgewebe

Eine E-Cadherin-Expression wurde mit Immunhistochemie in (40/40) normalen Urothelproben (gefroren und paraffineingebettet) nachgewiesen.<sup>8</sup> Die gesunde humane Brustdrüse exprimiert E-Cadherin stark in den interzellulären Grenzen der luminalen Zellen sowohl von interlobulären Gängen als auch intralobulären terminalen Gängen und Kanälchen, jedoch war die Expression in Myoepithelzellen der Gänge und Kanälchen (gefroren und paraffineingebettet) wesentlich schwächer.<sup>10</sup> Plattenepithelzellen im Ösophagus zeigten eine starke Immunreaktivität (15/15) auf Zell-Zell-Grenzen, ausgenommen in der oberflächlichsten keratinisierenden Schicht. E-Cadherin wurde ebenfalls mittels Immunfärbung in gesunder gastrischer Mukosa an den Zell-Zell-Grenzen der foveolaren Epithelien sowie in gastrischen Krypten und tief liegenden gastrischen Drüsen (gefroren und paraffineingebettet) nachgewiesen.<sup>1, 2</sup> Im gesunden Endometrium zeigten nahezu alle Drüsen eine starke E-Cadherin-Expression (gefroren).<sup>11</sup> Eine E-Cadherin-Immunreaktivität wurde in gesunder Haut entlang der lateralen und oberen Oberflächen basaler Keratinozyten an interzellulären Grenzen beobachtet, fehlte jedoch an der Basalzell-Oberfläche. In den suprabasalen Hautschichten konnte eine E-Cadherin-Expression gleichmäßig um die Peripherie der Zellen lokalisiert werden, jedoch wurde keine Expression in der oberflächlichen Corneaschicht beobachtet. Die adnexen Strukturen der Haut zeigten ebenfalls eine E-Cadherin-Immunreaktivität, einschließlich einer Membranfärbung der äußeren Wurzelscheidenzellen (die inneren Scheidenzellen reagierten negativ) sowie der azinösen Keimzellen in den Talg- und Schweißdrüsenzellen der Haut. Keine E-Cadherin-Expression wurde in der Dermis gesunder Haut (paraffineingebettet) nachgewiesen.<sup>5</sup> E-Cadherin wurde ebenfalls stark in Epithelzellen gesunder Prostata exprimiert, insbesondere in Bereichen mit Zell-Zell-Kontakt (gefroren).<sup>3</sup>

#### Anomale Gewebe

Eine E-Cadherin-Immunreaktivität wurde in einer Anzahl anomaler Zelltypen nachgewiesen.<sup>1,3,5-8,10,11</sup> Tabelle 1 fasst die Expression von E-Cadherin in anomalen Geweben zusammen.

**Tabelle 1. Anomale Gewebereaktivität**

Gewebetyp	Positive und negative Gewebeelementfärbung und -färbemuster
Harnblase: Primäres Übergangszell-Karzinom der Harnblase <sup>a,b</sup>	13/40 positiv, homogen (membrangebunden)
	13/40 positiv, heterogen
	14/40 negativ
	Hochgradig (Grad IIb und III): 10/24 positiv
	Geringgradig (Grad I und IIa): 16/16 positiv
Oberflächliches Stadium (Ta und Ti): 21/22 positiv	
Invasives Stadium (T2, T3 und T4): 5/18 positiv	
Brustkrebs: Knoten negativ <sup>b</sup> (ohne Chemotherapie oder Hormonbehandlung)	136/168 positiv
Brustkrebs: Duktal <sup>a,b</sup>	55/87 <sup>a</sup> stark positiv, Mehrheit der Zellen
	29/87 <sup>a</sup> schwächer positiv, heterogen
	14/24 <sup>b</sup> stark positive, Mehrheit der Zellen
	10/24 <sup>b</sup> schwächer positiv, heterogen

Brustkrebs: Lobulär <sup>a,b</sup>	3/21 <sup>a</sup> positiv fokal—sehr spärlich an der interzellulären Membran— oder schwach zytoplasmatisch 3/14 <sup>b</sup> positiv, fokal—sehr spärlich an der interzellulären Membran— oder schwach zytoplasmatisch
Ösophagus: Plattenzellkarzinom <sup>a</sup>	4/15 positiv 10/15 positiv, heterogen oder schwach
Gastrisches Karzinom <sup>b</sup>	108/413 positiv, homogene lineare Expression und mit gesunder gastrischer Mukosa vergleichbar 95/413 positiv, gemäßigt verringerte lineare oder gepunktete interzelluläre Färbung in 20–60% der Tumorzellen 86/413 positiv, stark verringerte, fein gepunktete interzelluläre Färbung in <20% der Zellen 124/413 negativ oder schwach gepunktete Immunreaktivität in <5% der Zellen. Ein Spezialmuster der E-Cadherin-Expression lag in einem kleinen Prozentsatz von Siegelringzell-Karzinomen und undifferenzierten Karzinomen vor, bei denen eine starke intrazytoplasmatische „plaqueähnliche“ Expression von E-Cadherin nachgewiesen werden konnte, manchmal in Kombination mit einer sehr schwachen Immunreaktivität an der Tumorzellmembran.
Endometriose <sup>a</sup>	3/9 positiv 6/9 positiv, heterogen
Haut: Melanozytische Nävi <sup>b</sup>	20/20 positives membranbebundenes oberflächliches Kompartment von Nävi und an den Grenzen zwischen Nävuszellnestern und Keratinocyten der umgebenden Epidermis. Verbindende Nävuszellnester waren heterogener als in der epidermalen Komponente oder diffus zytoplasmatisch. Melanozytische Zellen in der papillären Dermis reagierten negativ.
Haut: Malignes Melanom <sup>b</sup>	13/70 positiv, membrangebunden 30/70 positiv, heterogen 11/70 zytoplasmatisch 16/70 negativ Immunreaktivität in Verbindung mit histologischen Typen von Melanomen: 1/34 oberflächlich ausbreitend melanompositiv, membrangebunden 18/34 oberflächlich ausbreitend melanompositiv, heterogen 8/34 oberflächlich ausbreitend melanomzytoplasmatisch 7/34 oberflächlich ausbreitend melanomnegativ 3/8 nodulär melanompositiv, heterogen 2/8 nodulär melanomzytoplasmatisch 3/8 nodulär melanomnegativ 4/9 Lentigo maligne melanompositiv, heterogen 1/9 Lentigo maligne melanomzytoplasmatisch 4/9 Lentigo maligne melanomnegativ 1/8 lentiginös melanompositiv, membrangebunden 5/8 lentiginös melanompositiv, heterogen 2/8 lentiginös melanomnegativ 11/11 metastatisch melanompositiv, membrangebunden
Prostatakrebs: Primäre Tumore <sup>a</sup>	44/84 positiv, homogen 27/84 positiv, heterogen 13/84 negativ
Metastatische Läsionen <sup>a</sup>	2/8 positiv, homogen 5/8 positiv, heterogen 1/8 negativ Die Mehrzahl der differenzierten Krebsarten zeigten eine starke und gleichförmig positive Immunreaktivität an den Zell-Zell-Grenzen, während ein zunehmender Prozentsatz weniger gut differenzierter bis schwach differenzierter Tumore eine heterogene oder negative Immunreaktivität aufwies.

<sup>a</sup>Die Tests wurden auf Kryostasisschnitten durchgeführt

<sup>b</sup>Die Tests wurden auf paraffineingebetteten, formalinfixierten Gewebeschnitten durchgeführt

## References




## Références

### Literatur

1. Shiozaki H, Tahara H, Oka H, Miyata M, Kobayashi K, Tamura S, Iihara K, Doki Y, Hirano S, Takeichi M, Mori T. Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecules in human cancers. *Am J Pathol* 1991;139(1):17-23
2. Gabbert HE, Mueller W, Schneider A, Meier S, Moll R, Birchmeier W, Hommel G. Prognostic value of E-cadherin expression in 413 gastric carcinomas. *Int J Cancer* 1996;69(3):184-9
3. Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, Carter BS, Karthaus HFM, Schaafsma HE, Debruyne FMJ, Isaacs WB. Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. *Canc Res* 1992;52(18):5104-9
4. Antibody Certification 6/8/99. On file at Dako.



5. Silye R, Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Poole S, Van Noorden S, Batchelor W, Regele H, Sega W, Boesmueller H, Krausz T, Pignatelli M. E-cadherin/catenin complex in benign and malignant melanocytic lesions. J Pathol 1998;186(4):350-5
6. Heimann R, Lan F, McBride R, Hellman S. Separating favorable from unfavorable prognostic markers in breast cancer: the role of E-cadherin. Canc Res 2000;60(2):298-304
7. Bracke ME, Van Roy FM, Mareel MM. The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. Cur Top Microbiol Immunol 1996;213 (Pt 1):123-61
8. Garcia del Muro X, Torregrosa A, Munoz J, Castellsague X, Condom E, Vignes F, Arance A, Fabra A, Germa JR. Prognostic value of the expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in bladder cancer. Eur J Cancer 2000;36(3):357-62
9. Department of Health, Education and Welfare, National Institute for Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ. No. 78-127, Current 13. August 16, 1976
10. Moll R, Mitze M, Frixen UH, Birchmeier W. Differential loss of E-cadherin expression in infiltrating ductal and lobular breast carcinomas. Am J Pathol 1993;143(6):1731-42
11. Gaetje R, Kotzian S, Herrmann G, Baumann R, Starzinski-Powitz A. Nonmalignant epithelial cells, potentially invasive in human endometriosis, lack the tumor suppressor molecule E-cadherin. Am J Pathol 1997;150(2):461-7

<b>REF</b>	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Consult instructions for use <i>Consulter les instructions d'utilisation</i> <i>Gebrauchsanweisung beachten</i>
	Manufacturer Fabricant Hersteller	<b>LOT</b>	Batch code Code du lot Chargenbezeichnung
<b>EC REP</b>	Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU		<b>IVD</b>
			In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum



Dako North America, Inc.  
6392 Via Real  
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655  
Fax 805 566 6688  
Technical Support 800 424 0021  
Customer Service 800 235 5763

**EC REP**

Dako Denmark A/S  
Produktionsvej 42  
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500  
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

PT0039/Rev C

Edition 06/07