

文章编号:1005-6947(2008)12-1229-03

· 简要论著 ·

Ezrin 在胰腺癌和胰腺囊腺瘤中的表达及其意义

党军强¹, 刘卫辉¹, 廖江泰², 李丙所¹, 周红兵¹, 陈勇¹

(1. 第四军医大学西京医院 肝胆外科, 陕西 西安 710032, 2. 甘肃省景泰县中医院 普通外科, 甘肃 景泰 730400)

摘要:目的 探讨 Ezrin 在正常胰腺组织、胰腺癌组织及胰腺囊腺瘤中的表达及其表达与胰腺癌侵袭转移的关系。方法 用两步免疫组织化学染色法检测 13 例正常胰腺, 34 例胰腺癌及 24 例胰腺囊腺瘤组织中 Ezrin 的表达。结果 Ezrin 在正常胰腺、胰腺囊腺瘤及胰腺癌的细胞膜强阳性表达率分别为 0%, 12.5% 和 32.4%, 各组织中 Ezrin 的表达差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。Ezrin 表达强度与肿瘤分化程度、临床分期和有无淋巴结转移有关 ($P < 0.05$)。结论 Ezrin 在细胞膜的高表达与胰腺癌的发生及侵袭转移关系密切, Ezrin 可能是影响胰腺癌患者预后及癌细胞转移的一个重要因素。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(12):1229-1231]

关键词: 胰腺肿瘤/病理学; Ezrin; 肿瘤转移; 基因表达

中图分类号: R 735.9

文献标识码: B

Ezrin(埃兹蛋白)又称为 cytovillin(细胞绒毛蛋白), 编码基因 Vil2 位于 6q25, 是细胞膜相关蛋白 ERM [ezrin, radixin(根蛋白)] 及 moesin(膜突蛋白)家族成员之一, 系由 Bretscher 在鸡小肠上皮细胞刷状缘中首次发现^[1]。Ezrin 几乎存在于任何细胞, 在小肠、胃、肺、胰腺和肾脏中高表达, 在脾、胸腺淋巴结和骨髓中中等表达, 而在心脏、睾丸和肌肉中低表达^[2]。Ezrin 一般位于细胞质并且连接在细胞膜和细胞骨架之间, 参与细胞的生长和信号传导, 还可接受胞外信号, 使骨架蛋白重新分布, 细胞运动能力增强, 最终可导致肿瘤远处转移^[3-4]。为了探讨 Ezrin 的表达与胰腺癌侵袭和转移的关系, 笔者采用免疫组织化学(免疫组化)法检测胰腺癌、正常胰腺组织和胰腺囊腺瘤中 Ezrin 的表达及其与胰腺癌临床病理间的关系, 探讨 Ezrin 在胰腺癌发生发展中所起的作用和对预后的影响。

1 材料与方法

1.1 标本及其一般资料

(1) 胰腺癌组: 标本收集自本院 2005 年 9 月—2007 年 3 月手术切除的胰腺癌患者 34 例, 病例临床资料完整。男 25 例, 女 9 例; 年龄 33 ~ 67(平均 53.1)岁。肿瘤分期: 按照 AJCC/TNM (1997) 的标准, I 期 4 例, II 期 7 例, III 期 15 例, IV 期 8 例。组织学分级: 高分化 15 例, 中分化 10 例, 低分化 9 例。(2) 胰腺囊腺瘤组: 24 例。男 5 例, 女 19 例; 年龄 18 ~ 47 岁。浆液性 9 例, 黏液性 15 例。(3) 正常胰腺组织 13 例(由西京医院病理科提供)。手术中取材后均分成 2 份: 1 份经缓冲福尔马林溶液固定, 常规石蜡包埋, 4 μm 厚连续切片备用; 1 份置液氮速冻后于 -70 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱保存。所有标本经病理组织学检查证实。

1.2 材料

抗 Ezrin 的 6H11 单克隆抗体 (mAb) IgG 由中国科技大学生命科学院姚雪彪教授提供。羊抗鼠 IgG 2HRP (二抗) 为北京中杉公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 免疫组化染色 将所有石蜡包埋的组织块连续切片 4 μm → 脱蜡至水 → 30 mL / L 甲醇 -

收稿日期: 2008-02-13; 修订日期: 2008-04-18。

作者简介: 党军强, 男, 第四军医大学西京医院硕士研究生, 主要从事肝移植及胰腺肿瘤方面的研究。

通讯作者: 陈勇 E-mail: dangjq666@163.com

过氧化氢封闭 30 min→磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤→正常羊血清封闭于 37 ℃ 1 h→加一抗(1:1 000 稀释的鼠抗人埃兹蛋白 6H11IgGmAb)置 4 ℃ 冰箱过夜→复温, PBS 洗涤→加二抗(1:20 稀释的羊抗鼠 IgG-HRP) 37 ℃ 1 h→PBS 洗涤, 加 DAB 镜下控制显色后用自来水中止反应。用 PBS 代替一抗作空白对照。

1.3.2 结果判断 Ezrin 的表达有两种形式, 一种在细胞胞质内, 另一种在胞膜上。参考 Mathew 等^[5]的分级标准, 镜下观察细胞质/胞膜未染色者为阴性(-), <50% 细胞质/细胞膜着黄色或 <30% 细胞质/细胞膜着棕黄色者为阳性(+), >50% 细胞质/细胞膜着黄色或 >30% 细胞质/细胞膜着棕黄色者为强阳性(++).

1.4 统计学处理

应用 SPSS11.0 统计软件进行数据处理。各组间率的比较采用 χ^2 检验和 Fisher 精确概率法。

$P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 Ezrin 在不同胰腺组织中的表达

13 例正常胰腺组织中 8 例有 Ezrin 表达, 其阳性信号呈淡黄色均匀分布于细胞质内(图 1A), 而无强阳性表达, 强阳性表达率为 0%。24 例胰腺囊腺瘤中有 15 例 Ezrin 表达为阳性, 阳性信号为黄色均匀分布于细胞质内(图 1B, D), 有 3 例表达呈强阳性; 且有 1 例表达位于细胞膜上, 强阳性表达率为 12.5%。34 例胰腺癌组织中有 20 例 Ezrin 表达阳性, 11 例 Ezrin 表达呈强阳性, 且位于细胞膜上呈棕黄色(图 1C, E), 强阳性表达率为 32.4%。Ezrin 在 3 种组织标本中的强阳性表达率差异有显著性($P < 0.05$)(表 1)。

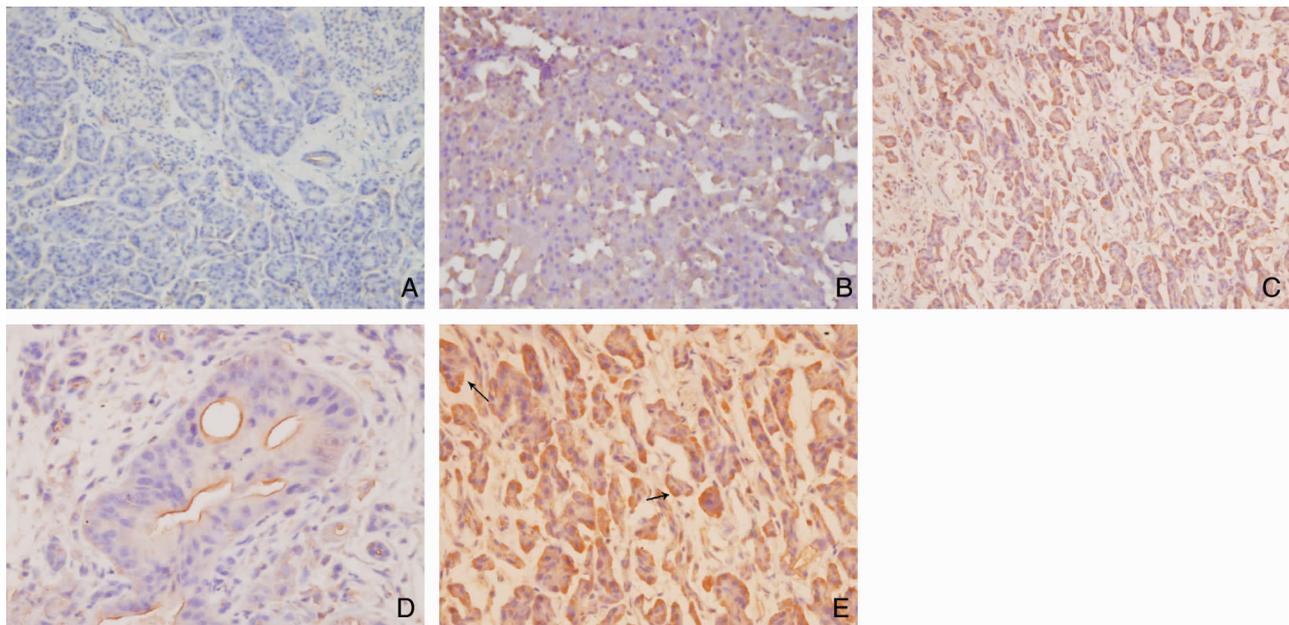


图 1 各种胰腺组织中 Ezrin 蛋白的免疫组化染色(DBA)

表 1 Ezrin 在不同胰腺组织中的表达

组别	例数	Ezrin 表达强度			Ezrin 强阳性表达率(%)
		(-)	(+)	(++)	
正常胰腺	13	5	8	0	0
胰腺囊腺瘤	24	6	15	3	12.5 ¹⁾
胰腺癌	34	3	20	11	32.4 ^{1,2)}

注:1)与正常胰腺组织比较 $P < 0.05$;2)与胰腺囊腺瘤组织比较 $P < 0.05$

2.2 Ezrin 在胰腺癌中的表达及其与临床病理参数的关系

Ezrin 表达强度与性别、肿瘤部位无关 ($P > 0.05$), 而与肿瘤分化程度、临床分期、有无淋巴结转移等有关 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 胰腺癌 Ezrin 的表达与临床病理学参数的关系

病理参数	例数	Ezrin 的表达强度			P 值
		(-)	(+)	(++) (%)	
性别					
男	22	2	14	6(27.3)	0.798
女	12	1	6	5(41.7)	
肿瘤部位					
胰头	21	1	11	9(42.9)	0.132
胰尾	13	2	9	2(15.4)	
分化程度					
低	9	0	4	5(55.6)	0.037
中	10	2	5	3(30.0)	
高	15	0	13	2(13.3)	
临床分期					
I ~ II	11	2	3	6(54.5)	0.033
III ~ IV	23	1	17	5(21.7)	
淋巴结转移					
无	23	3	18	2(8.7)	0.046
有	11	1	5	5(45.5)	

3 讨论

近年来, Ezrin 对肿瘤细胞黏附与去黏附作用的调节, 在肿瘤的浸润生长和转移中的作用逐渐受到重视^[6]。Ezrin 对于维持细胞的黏附具有重要作用, 因其参与介导细胞-细胞/细胞-胞外基质黏附的细胞表面黏附复合体的形成^[7]。此复合体的成分包括 Ezrin, E-钙黏蛋白(E-Cadherin)和整合素(integrin), 细胞黏附功能的正常发挥有赖于黏附复合体的完整性。细胞膜表面的 E-钙黏蛋白表达的缺失或功能异常, 被认为将促进肿瘤细胞扩散。研究表明, 表达大量 Ezrin 的细胞能在胞质内积聚 E-钙黏蛋白, 致使细胞表面黏附复合体减少从而导致肿瘤细胞之间正常黏附作用的破坏^[8], 最终促进转移的发生。

研究证明, Ezrin 在小儿骨肉瘤和横纹肌肉瘤的转移中起重要作用^[9]。Khanna C 等^[8]比较了同一来源、不同恶性程度的肿瘤, 结果发现, Ezrin 在高度恶性肿瘤中的表达比低度恶性肿瘤高 3 倍。Akisawa 等^[10]发现, 高水平表达 Ezrin 的胰腺肿瘤细胞株, 有很高的转移潜能。本实验发现, Ezrin 在正常胰腺组织和胰腺囊腺瘤中的强阳性表达率显著低于胰腺癌组织, 且 Ezrin 在部分胰腺癌中除有细胞质高表达外, 还有细胞膜的高表

达(图 1 E), 并随恶性程度的增加膜表达率相应增加。说明, Ezrin 从胞质到胞膜表达的移位在胰腺癌肿瘤进展中可能起着重要作用。结合临床病理因素分析显示, Ezrin 的高表达与肿瘤分化程度、临床分期以及肿瘤的转移能力呈正相关。提示, 随着 Ezrin 表达的逐步增强以及在细胞膜上的高表达, 胰腺癌发生转移的概率也相应增高; Ezrin 的高表达与胰腺癌的恶性演进以及转移能力增强有关。Ezrin 在原发肿瘤中的高表达可导致肿瘤转移, 其定位的改变, 即从胞质达到胞膜表达, 从细胞黏附区到其他区域的改变, 可能为肿瘤细胞的生存和/或生长信号在周围环境和侵袭转移细胞间的传递提供了机会。故认为, Ezrin 及其相关分子可能成为将来治疗胰腺癌转移的一个新靶点, 同时其表达水平可作为判断胰腺癌预后的标志。

参考文献:

- [1] Bretscher A. Purification of an 80, 000-dalton protein that is a component of the isolated microvillus cytoskeleton, and its localization in nonmuscle cells [J]. *J Cell Biol*, 1983, 97 (2): 425-432.
- [2] Marin TA, Harrison G, Mansel RE, *et al.* The role of the CD44/Ezrin complex in cancer metastasis [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2003, 46 (2): 165-186.
- [3] Yonemura S, Tsukita S, Tsukita S. Direct involvement of ezrin/radixin/moesin (ERM)-binding membrane proteins in the organization of microvilli in collaboration with activated ERM proteins [J]. *J Cell Biol*, 1999, 145 (7): 1497-509.
- [4] Sato N, Funayama N, Nagafuchi A, *et al.* A gene family consisting of ezrin, radixin and moesin. its specific localization at actin filament/plasma membrane association sites [J]. *J Cell Sci*, 1992, 103 (Pt 1): 131-143.
- [5] Mathew J, Hines JE, Obafunwa JO, *et al.* CD44 is expressed in hepatocellular carcinomas showing vascular invasion [J]. *J Pathol*, 1996, 179 (1): 74-79.
- [6] Steeq PS. Metastasis suppressors alter the signal transduction of cancer cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3 (1): 55-63.
- [7] Pujuguet P, Del Maestro L, Gautreau A, *et al.* Ezrin regulates E-cadherin-dependent adherens junction assembly through Rac1 activation [J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14 (5): 2181-2191.
- [8] Khanna C, Wan X, Bose S, *et al.* The membrane-cytoskeleton linker ezrin is necessary for osteosarcoma metastasis [J]. *Nat Med*, 2004, 10 (2): 182-186.
- [9] Yu Y, Khan J, Khanna C, *et al.* Expression profiling identifies the cytoskeletal organizer ezrin and the developmental homeoprotein Six-1 as key metastatic regulators [J]. *Nat Med*, 2004, 10 (21): 175-181.
- [10] Akisawa N, Nishimori I, Iwamura T, *et al.* High levels of ezrin expressed by human pancreatic adenocarcinoma cell lines with high metastatic potential [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 258 (2): 395-400.