

基因及其蛋白在肿瘤中的表达

DOI: 10.11699/cyxb20130817

Ezrin 蛋白表达与鼻咽癌远处转移的相关性研究

谢 琼, 万俐佳, 余腊枝, 张先群

(华中科技大学同济医学院附属荆州医院耳鼻喉科, 荆州 434020)

【摘要】目的:研究 Ezrin 蛋白在鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)组织中的表达及其与 NPC 远处转移的相关性。**方法:**收集 76 例 NPC 患者的临床资料及鼻咽部瘤体活检组织蜡块。采用免疫组化 SP 法检测标本中 Ezrin 蛋白的表达。用 Kaplan-Meier 法计算转移风险, 用 logistic 回归分析判别 NPC 远处转移的危险因素。**结果:**Ezrin 蛋白阳性表达率为 63.2%(48/76), 其表达与远处转移关系密切($P<0.05$)。NPC 远处转移的危险因素是临床分期、颈淋巴结转移、Ezrin 蛋白阳性表达($P<0.05$)。Ezrin 蛋白为阳性表达者远处转移风险更高($P<0.05$)。**结论:**Ezrin 蛋白阳性表达与 NPC 转移明显相关, 可作为 NPC 远处转移的预测指标。

【关键词】鼻咽癌; Ezrin 蛋白; 远处转移

【中国图书分类法分类号】R766.7

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-12-07

Relationship between expressions of Ezrin protein and distant metastasis of nasopharyngeal carcinoma

XIE Qiong, WAN Lijia, SHE Lazhi, ZHANG Xianqun

(Department of Otolaryngology, the Affiliated Jingzhou Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology)

【Abstract】Objective: To explore the relationship between expressions of Ezrin protein and distant metastasis of nasopharyngeal carcinoma(NPC). **Methods:** Clinical data and biopsy samples of 76 patients with NPC were collected. Ezrin protein expressions were detected by immunohistochemical SP method. Kaplan-Meier method was used to calculate the metastasis risk and logistic regression analysis was applied to judge the risk factors of NPC distant metastasis. **Results:** Positive expression rate of Ezrin protein was 63.2% (48/76), which was positively correlated with lymph node metastasis and distant metastasis($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that risk factors of distant metastasis in NPC included T stage, cervical lymph node metastasis and positive expression of Ezrin ($P<0.05$). NPC patients with Ezrin positive expressions had higher metastasis risk($P<0.05$). **Conclusions:** Ezrin protein positive expression is significantly related with metastasis of NPC and can be used as predictor of NPC distant metastasis.

【Key words】nasopharyngeal carcinoma; Ezrin protein; distant metastasis

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是头颈部常见的鼻咽黏膜恶性肿瘤,在我国多发于南方地区。据调查多数 NPC 患者在初诊时就是Ⅲ、Ⅳ期, NPC 患者多死亡于局部复发和远处转移,从临床文献看, NPC 远处转移率没有得到控制且转移率高于局部复发率^[1]。NPC 的远处转移是多基因、多因子共同作用的结果,因此通过蛋白分子水平了解 NPC 发生远处转移的机制,通过分子标志物来预测患者远处转移的风险,对于判断预后及指导治疗有非常重要的意义。目前, Ezrin 蛋白被证实在肿瘤的高侵袭、转移患者中具有异常表达的现象,在 NPC 患者组织中 Ezrin 蛋白表达异常,本实验以此为根据,对 76 例 NPC 患者组织中 Ezrin 蛋白的表达情况展开研究,探讨其与 NPC 远处转移的关系,以期从蛋白

分子水平寻找预测 NPC 的远处转移风险的指标。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2008 年 1 月至 2010 年 12 月间,将本院收治的因被确诊鼻咽低分化鳞状细胞癌行首程单纯根治性放射治疗(常规分割),放疗结束后无肿瘤残留的 76 例 NPC 患者作为观察对象。其中男 44 例,女 32 例,年龄 23~61 岁,平均年龄(47.3 ± 13.8)岁。TNM 分期:Ⅰ期 14 例,Ⅱ期 33 例,Ⅲ期 18 例,Ⅳ期 11 例;其中 17 例患者无淋巴转移(N_0), 59 例患者有淋巴转移(N_{1-3})。放疗后随访截止 2011 年 12 月,随访时间为 12~48 个月(排除伴有其他癌症和死于其他原因的患者)。随访期间复发患者 21 例,远处转移患者 28 例,收集以上 76 例 NPC 患者的临床资料及鼻咽部瘤体活检组织的病理检查资料。

1.2 试剂与方法

Ezrin 浓缩型抗体购来自美国 Lab Vision Corporation, SP

作者介绍:谢 琼, Email: xieqiong226@163.com,

研究方向:耳鼻喉头颈肿瘤。

试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。组织学诊断及免疫组化评定由事先对病例临床相关情况未知晓的专科病理医生执行。

1.3 结果判断标准

SP 染色后, Ezrin 在细胞质内呈棕色颗粒, 按染色强度和阳性表达细胞数分级^[2]: (-) 无表达; (+) <50% 的细胞阳性表达、染色较浅; (++) ≥50% 的细胞阳性表达、染色深, 为异常表达。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计分析, Ezrin 蛋白与 NPC 临床指标的关系用 χ^2 检验, 用 Kaplan-Meier 法计算转移风险, 用 logistic 回归分析判别 NPC 远处转移的危险因素, 当 $P \leq 0.05$ 时认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ezrin 蛋白在 NPC 患者中的表达情况

76 例 NPC 患者中, Ezrin 阴性表达 28 例, 阴性表达率为 36.8%。Ezrin 阳性表达 48 例, 阳性表达率为 63.2%。阳性表达中 (+) 表达 25 例, (++) 表达 23 例。

2.2 Ezrin 蛋白表达与 NPC 患者临床病理特点的关系

经 χ^2 检验, TNM 分期 T3、T4、有颈淋巴结转移、发生远处转移的 NPC 患者 Ezrin 阳性表达率高, Ezrin 阳性表达与 TNM 分期、颈淋巴结转移、远处转移关系密切 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 Ezrin 表达与 NPC 患者临床病理特点的关系

Tab.1 Relationship between Ezrin protein expression and clinical pathology characteristics of NPC

指标	例数 (n)	Ezrin 阳性 (n)	Ezrin 阴性 (n)	阳性率 (%)	χ^2 值	P 值
性别	男	44	26	18	76.5	0.742 0.389
	女	32	22	10	51.2	
年龄 (岁)	< 40	24	10	14	41.7	7.897 0.019
	40 ~ 50	35	24	11	68.6	
	> 50	17	14	3	82.4	
分期	T1、T2	55	31	24	56.4	3.949 0.047
	T3、T4	21	17	4	81.0	
颈淋巴结转移	无转移	17	7	10	41.2	4.547 0.033
	有转移	59	41	18	69.5	
复发情况	无复发	55	35	20	63.6	0.020 0.889
	有复发	21	13	8	61.9	
远处转移	无转移	48	26	22	54.2	4.428 0.035
	有转移	28	22	6	75.9	

2.3 NPC 远处转移的危险因素 logistic 回归分析

以是否有远处转移为因变量, 以患者的性别、年龄 (≤ 50 赋值为 1; > 50 赋值为 0)、分期 (1~2 期赋值为 1, 3~4 期赋值为 0)、经颈淋巴结转移 (转移赋值为 1, 未转移赋值为 0)、Ezrin 蛋白 (阳性赋值为 1, 阴性赋值为 0) 表达 5 个变量最为自变量进行 logistic 回归分析。NPC 远处转移的危险因素是颈淋巴结转移、Ezrin 蛋白阳性表达 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 NPC 患者远处转移危险因素 logistic 分析

Tab.2 Logistic analysis of risk factors for distance metastasis in patients with NPC

自变量	β 值	Wald 值	OR 值 (95%CI)	P 值
性别	1.040	2.289	2.840 (1.21~5.93)	0.123
年龄	-1.366	2.238	0.243 (0.05~0.98)	0.128
分期	-0.967	0.812	0.366 (0.75~1.54)	0.356
颈淋巴结转移	2.553	3.816	13.260 (3.05~19.94)	0.047
Ezrin 蛋白表达	2.068	6.718	8.080 (1.69~14.23)	0.009

2.4 Ezrin 表达与远处转移累积风险率的关系

单因素分析 Ezrin 表达与 NPC 远处转移累积风险结果显示: Ezrin 阳性表达者远处转移风险大于 Ezrin 阴性表达者 ($P < 0.05$), 见图 1。

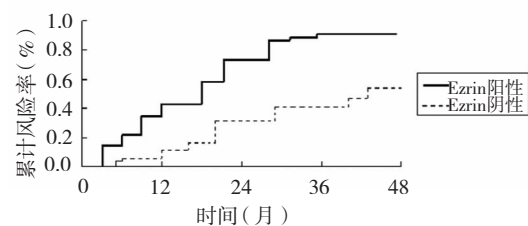


图 1 Ezrin 阳性和阴性表达与远处转移时间的累积风险率曲线

Fig.1 Cumulative risk rate curve of Ezrin positive and negative expressions and distance metastasis time

3 讨论

近年来, 随着科学技术的发展, 在寻找肿瘤转移机制及抗肿瘤转移靶点研究中, 人们越来越关注与肿瘤转移过程高度相关的蛋白及基因。其中, Ezrin 蛋白作为 ERM 蛋白家族成员中最早被发现的成员, 其结构和功能的研究受到广泛关注。Ezrin 蛋白是一种能将细胞膜蛋白与肌动蛋白的细胞骨架连接起来的桥接蛋白, 在细胞的分化、迁移及细胞与基质之间的黏附过程中均起到重要调节作用。国外研究证实^[2-3], Ezrin 蛋白通过对黏附分子的调节和信号转导的调控, 参与肿瘤的转移, 在肿瘤的发展、浸润和转移过程中起到十分重要的作用。Yu 等^[4]和 Khanna 等^[5]分别在不同的试验中采用了抑制 Ezrin 表达的方法, 结果均发现抑制 Ezrin 蛋白的表达后, 具有高转移能力的细胞系转移能力大大降低, 且不能形成肉眼转移灶, 证明了 Ezrin 蛋白在肿瘤转移中扮演重要角色。

本研究以 NPC 患者作为研究对象, NPC 在我国南方发比率较高且易发生转移, 多数患者初诊即发现存在淋巴转移。人们在寻找 NPC 标志性物质时发现, NPC 患者中 Ezrin 蛋白表达阳性的比例较大^[6], 且在 NPC 淋巴转移患者中 Ezrin 蛋白表达阳性率高于无淋巴结转移的患者的阳性率^[7]。本次对 76 例

高血压与心脏病

DOI: 10.11699/cyxb20130818

老年高血压患者克老素基因单核苷酸多态性
与其左心室肥厚的相关性研究

蒋 宜, 刘晓林, 田晓春, 马厚勋, 吴 平

(重庆医科大学附属第一医院老年病科, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究老年高血压人群克老素(klotho, KL)基因 3 个位点单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与其左心室肥厚(left ventricle hypertrophy, LVH)的相关性。**方法:**选择 362 例老年高血压患者作为研究对象, 提取外周血白细胞基因组 DNA, 应用单一等位基因特异性引物 PCR 技术检测 KL 基因 3 个 SNP 位点的基因型, 同时通过心脏彩超测量相应指标包括左心室舒张末期直径、左心室后壁、室间隔厚度, 并测定其身高与体质量等指标。**结果:**老年高血压病中 LVH 组 KL G-395A SNP GG 等位基因频率较无 LVH 组低($P<0.05$), 按性别分层研究发现高血压病女性患者中 LVH 组 KL G-395A SNP GG 等位基因频率亦较无 LVH 组明显降低($P<0.05$); 高血压病 LVH 组其 KL G-395A SNP AA 等位基因频率较无 LVH 组明显增高($P<0.05$), 而按性别分层研究却未发现存在性别差异性。高血压病 LVH 组 KLF352V FF、FV、VV 及 KLC 370S CC、CS、SS 等位基因频率与无 LVH 组相比较均无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**老年高血压患者 KL 基因 G-395A SNP 与其 LVH 有相关性, 并

作者介绍: 蒋 宜, Email: 254080551@qq.com,

研究方向: 老年心血管疾病。

通信作者: 马厚勋, Email: mahouxun1966@yahoo.com.cn。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 30672212)。

NPC 患者的研究结果发现, 48 例患者显示 Ezrin 阳性表达, 其阳性表达率是 63.2%, 说明多数 NPC 患者伴有 Ezrin 蛋白表达。本研究中的单因素分析结果显示: 76 例患者的 Ezrin 的表达与性别、有无复发无相关, 与年龄、是否伴有颈淋巴结转移、发生远处转移与分期有关。伴有颈淋巴结转移、发生远处转移的 NPC 患者中 Ezrin 阳性表达率分别是 69.5% 和 75.9%, 明显高于 Ezrin 阴性表达者。

Pujuguet 等^[8]的研究显示, 高表达的 Ezrin 能诱导上皮细胞钙黏附蛋白在细胞内集聚, 减少细胞表面的钙黏附蛋白, 使细胞间的缝隙连接不能形成、细胞间连接松散, 进而造成癌细胞的脱落、易于迁移。本研究中以是否远处转移作为因变量的 logistic 回归分析结果显示: 颈淋巴结转移和 Ezrin 表达是 NPC 远处转移的独立因素, 而性别、年龄及分期这些因素与 NPC 远处转移无明显相关。本研究对 76 例 NPC 患者的 12~48 个月的随访中发现, Ezrin 阳性表达的患者远处转移的风险大于 Ezrin 阴性表达的患者。以上结果可以说明 Ezrin 阳性表达促进 NPC 患者的颈淋巴结转移和远处转移。

综上所述, 笔者认为高表达的 Ezrin 可促进 NPC 淋巴结转移、远处转移, 是 NPC 发生发展的独立因素, 对 NPC 的预后具有一定的指导价值。

参 考 文 献

- [1] Korkeila E A, Syrjanen K, Bendardaf R, et al. Preoperative radiotherapy modulates ezrin expression and its value as a predictive marker in patients with rectal cancer[J]. Hum Pathol, 2011, 42(3): 384-392.
- [2] Mathew J, Hines J E, Obafunwa J O, et al. CD44 is expressed in hepatocellular carcinomas showing vascular invasion[J]. J Pathol, 1996, 179(1): 74-79.
- [3] Valdman A, Fang X, Pang S T, et al. Ezrin expression in prostate cancer and benign prostatic tissue[J]. Eur Urol, 2005, 48(5): 852-857.
- [4] 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(2): 175-181.
- [5] 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.
- [6] Wang H J, Zhu J S, Zhang Q, et al. High level of ezrin expression in colorectal cancer tissues is closely related to tumor malignancy[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(16): 2016-2019.
- [7] Kocher H M, Sandle J, Mirza T A, et al. Ezrin interacts with cortactin to form podosomal rosettes in pancreatic cancer cells[J]. Gut, 2009, 58(2): 271-284.
- [8] Pujuguet P, Del Maestro L, Gautreau A, et al. Ezrin regulates E-cadherin independent adherens junction assembly through Rac 1 activation[J]. Mol Biol Cell, 2003, 14(5): 2181-2191.

(责任编辑: 关蕴良)