

胃癌中Ezrin, E-cadherin及CD44的表达及意义

张建新, 毛正发, 王旭青, 王崇高, 吴建农

背景资料
Ezrin是ERM(Ezrin, radixin, mosin)家族成员之一, 几乎存在于任何细胞中。生理状态下其作用为参与细胞表面结构形成及细胞间黏附、信号传导及细胞运动。在很多肿瘤组织中其表达水平显著增高, 对其功能却了解不多。

张建新, 王旭青, 江苏大学附属医院普外科 江苏省镇江市 212001
毛正发, 王崇高, 江苏大学医学院 江苏省镇江市 212001
吴建农, 江苏大学附属医院病理科 江苏省镇江市 212001
江苏省镇江市社会发展基金资助项目, No. SH2004044
通讯作者: 毛正发, 212001, 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院普外科. jdh127880@sina.com
电话: 0511-582022215
收稿日期: 2007-09-30 修回日期: 2008-01-26

Expression of Ezrin, E-cadherin and CD44 and their significances in gastric carcinoma

Jian-Xin Zhang, Zheng-Fa Mao, Xu-Qing Wang, Chong-Gao Wang, Jian-Nong Wu

Jian-Xin Zhang, Xu-Qing Wang, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Zheng-Fa Mao, Chong-Gao Wang, Medical School of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Jian-Nong Wu, Department of General Pathology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Supported by: the Social Development Foundation of Zhenjiang, No. SH2004044
Correspondence to: Zheng-Fa Mao, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. jdh127880@sina.com
Received: 2007-09-30 Revised: 2008-01-26

Abstract

AIM: To investigate the expression of Ezrin, CD44 and E-cadherin and their correlations with the tumor biological behavior in gastric cancer.

METHODS: Immunohistochemical technique was used to detect the expression of Ezrin, CD44 and E-cadherin in 80 gastric cancer samples and 62 adjacent mucosal samples.

RESULTS: Ezrin over-expression was positively correlated with the lymphatic metastasis but inversely correlated with the cancer differentiation (both $P < 0.05$). CD44 over-expression was positively correlated with the depth of cancer invasion, lymphatic metastasis, but inversely correlated with the differentiation level ($P < 0.05$).

E-cadherin expression was inversely correlated with the depth of invasion, lymphatic metastasis, and differentiation level ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that there was a positive correlation between Ezrin and CD44 expression ($r_s = 0.305$, $P < 0.05$), and an inverse correlation between Ezrin and E-cadherin expression ($r_s = -0.314$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The increase of Ezrin expression can affect the cell differentiation and adhesion of gastric carcinoma by modulating the expression of adhesion molecules E-cadherin and CD44.

Key Words: Gastric cancer; Ezrin; CD44; E-cadherin; Immunohistochemistry

Zhang JX, Mao ZF, Wang XQ, Wang CG, Wu JN. Expression of Ezrin, E-cadherin and CD44 and their significances in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 776-779

摘要

目的: 检测Ezrin及细胞黏附分子E-cadherin、CD44在胃癌细胞的表达, 了解Ezrin对瘤细胞黏附分子调节及对胃癌浸润生长的影响。

方法: 手术切除胃癌标本80例(其中62例附癌旁胃组织)行Ezrin、E-cadherin和CD44v6免疫组化染色。

结果: Ezrin的表达与胃癌的转移呈正相关, 与分化程度呈负相关(均 $P < 0.05$)。CD44的表达与胃癌的浸润深度、淋巴结转移呈正相关, 与分化程度呈负相关(均 $P < 0.05$)。E-cadherin的表达与胃癌的浸润深度、转移及分化程度呈负相关(均 $P < 0.05$)。Spearman等级相关分析显示, Ezrin与CD44的表达呈显著正相关($r_s = 0.305$, $P < 0.05$), Ezrin与E-cadherin的表达呈负相关($r_s = -0.314$, $P < 0.05$)。

结论: 胃癌组织Ezrin增加与肿瘤细胞的分化有关, 并可调节E-cadherin、CD44而影响胃癌细胞的黏附性。

关键词: 胃癌; 细胞骨架连接蛋白; CD44; 上皮钙黏蛋白; 免疫组织化学

同行评议者
姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化内科

张建新, 毛正发, 王旭青, 王崇高, 吴建农. 胃癌中Ezrin, E-cadherin及CD44的表达及意义. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 776-779
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/776.asp>

0 引言

胃癌的浸润、转移是其患者主要的致死原因。肿瘤的侵袭转移是一个复杂的病变过程, 涉及多个基因的改变。Ezrin是ERM(Ezrin, radixin, moesin)家族成员之一, 近年来其对肿瘤细胞黏附分子的调节在肿瘤的浸润生长和转移中的作用渐被重视^[1-2]。体外细胞培养显示, Ezrin的缺失与瘤细胞的运动能力和侵袭性增加等有关, 并可影响细胞表面cadherin等黏附分子而促进肿瘤浸润转移^[3], 并且Ezrin蛋白可通过与细胞表面黏附分子cadherin和CD44等连接, 调节细胞-细胞及细胞-细胞外基质之间的黏附, 从而影响肿瘤细胞侵袭性等生物学行为^[4-5]。

本研究用免疫组化方法检测人体胃癌标本Ezrin、E-cadherin和CD44表达, 观察Ezrin对肿瘤细胞的分化和黏附的影响以探讨其对胃癌浸润转移的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 收集江苏大学附属医院2005-2006年病理诊断为胃癌的手术切除标本80例, 其中男50例, 女30例, 年龄43-73岁。根据2002年WHO关于胃肿瘤的分类将其分为乳头状腺癌、管状腺癌和未分化癌等。其中, 腺鳞癌5例, 未分化癌3例, 乳头状腺癌14例, 管状腺癌58例。为了方便统计, 将乳头状腺癌与高分化管状腺癌列入高分化腺癌组, 将未分化癌列入低分化腺癌组, 并将高分化腺癌组与中分化腺癌组合并为一组。其中62例附癌旁组织。Ezrin单抗、E-cadherin及CD44v6单抗, II、III抗均购自福建迈新生物技术开发公司(即用型)。

1.2 方法

1.2.1 标本及切片: 40 g/L福尔马林固定, 石蜡包埋。每例组织蜡块4 μ m连续切片10张, 其中1张切片HE染色作光镜下诊断复查, 另3张切片作Ezrin、E-cadherin和CD44免疫组织化学染色, 其余备用。

1.2.2 免疫组织化学染色: 切片常规脱蜡冲洗后, 置10 mmol/L柠檬酸盐缓冲液(pH6.0)高压修复抗原, 过氧化物酶和小牛血清先后处理, I 抗室温孵育1 h, 分别滴加II、III抗, DAB显色。用PBS液代替一抗作为阴性对照, 已知阳性标本作

阳性对照。苏木素复染细胞核。

1.2.3 免疫组化判断标准: CD44v6和E-cadherin主要在细胞膜上呈棕黄色线状分布。Ezrin在胞质内呈棕色颗粒。按染色强度和阳性表达细胞数, 参考Mathew *et al*^[6]分级标准: -: 无表达; +: <50%细胞阳性表达或染色较浅; ++: \geq 50%阳性表达且深染。

统计学处理 采用SPSS12.0软件进行统计学处理, 应用 χ^2 检验和Spearman等级相关分析各组指标结果与临床病理关系, $P < 0.05$ 为有显著差异。

2 结果

2.1 手术切除标本 (1)Ezrin表达与临床病理的关系: 80例胃癌中Ezrin表达阳性率为61.3%。Ezrin沿细胞膜内侧线性分布, 并在胞质呈棕色颗粒分布, 肿瘤组织表达从局部或灶性至弥漫性均有, 以弥漫性为主, 癌周组织阳性表达以弥漫性为主。肿瘤组织Ezrin阳性率显著高于癌周组织($P < 0.01$); 低分化的胃癌Ezrin阳性率高于高分化胃癌($P < 0.05$); 有淋巴结转移的Ezrin阳性率高于无淋巴结转移($P < 0.05$); Ezrin的表达在不同性别及浸润深度两组间不存在显著性差异, 表明Ezrin表达与性别及胃癌浸润深度无关($P > 0.05$, 表1)。(2)E-cadherin表达与临床病理的关系: 80例胃癌中E-cadherin表达阳性率为53.7%。E-cadherin染色阳性信号为上皮细胞膜棕黄色颗粒。癌周组织E-cadherin阳性率显著高于肿瘤组织($P < 0.05$); 高分化胃癌E-cadherin阳性率高于低分化胃癌($P < 0.05$); 侵及肌层的E-cadherin阳性率高于侵及浆膜及浆膜外者($P < 0.05$); 无淋巴结转移的E-cadherin阳性率高于有淋巴结转移($P < 0.05$, 表1)。(3)CD44v6表达与临床病理的关系: 80例胃癌中CD44v6表达阳性率为65%。CD44v6阳性产物主要定位于细胞膜和胞质上, 呈棕黄色。肿瘤组织CD44v6阳性率显著高于癌周组织($P < 0.05$); 低分化的胃癌CD44v6阳性率高于高分化胃癌($P < 0.05$); 侵及浆膜及浆膜外者的CD44v6阳性率高于侵及肌层($P < 0.05$); 有淋巴结转移的CD44v6阳性率高于无淋巴结转移($P < 0.05$, 表1)。

2.2 Ezrin、E-cadherin及CD44在胃癌组织中的表达 Ezrin与CD44在胃癌中的表达情况, 通过统计学分析结果显示两者的表达密切相关($\chi^2 = 17.600$, $P = 0.000$)。Spearman等级相关分析提示Ezrin表达与CD44表达呈正相关($r_s = 0.305$, $P < 0.05$)。Ezrin与E-cadherin在胃癌中的表达情况, 经统计学分析结果亦显示其表达密切相关($\chi^2 =$

相关报道

近有研究发现, 在胰腺癌、黑色素瘤、横纹肌肉瘤及食管上皮细胞癌中, Ezrin高表达的癌细胞株有更高的转移能力, 可促进肿瘤转移, 也有相反报道, Ezrin低表达或不表达的恶性卵巢癌愈后不良。

创新盘点

本文首次在胃癌中联合检测Ezrin、E-cadherin及CD44三个指标的表达情况,研究它们与胃癌的浸润、转移之间的相关性。

表 1 胃癌中Ezrin、E-cadherin和CD44v6表达与临床病理因素的关系

项目	n	Ezrin阳性		E-cadherin阳性		CD44v6阳性	
		n	%	n	%	n	%
性别							
男	50	28	56	30	60	34	68
女	30	21	70	13	43.3	18	60
分化程度							
高-中	54	26	48.1	35	64.8	30	55.6
低	26	20	76.9	8	30.8	22	84.6
淋巴结转移							
有	48	35	72.9	21	43.8	40	83.3
无	32	14	43.8	22	68.8	12	37.5
浸润深度							
肌层	36	22	61.1	25	69.4	17	47.2
浆膜层	44	27	61.4	18	40.9	35	79.5
组织类型							
癌组织	80	49	61.3	43	53.7	52	65.0
癌周组织	62	20	32.3	54	87.1	6	9.7

7.131, $P = 0.008$), Spearman等级相关分析提示Ezrin表达与E-cadherin表达呈负相关($r_s = -0.314$, $P < 0.05$).

2.3 Ezrin/CD44联合表达与胃癌浸润和转移 在19例Ezrin(-)/CD44(-)的胃癌标本中,有7例浸润至浆膜层(36.8%),5例发生淋巴结转移(26.3%);而在33例Ezrin(+)/CD44 (+)的胃癌标本中,有19例浸润至浆膜层(57.5%),20例发生淋巴结转移(60.6%).分别比较两组浸润至浆膜层的阳性率以及淋巴结转移率,均有显著性差异, P 值分别是0.150和0.017.

2.4 Ezrin/E-cadherin联合表达与胃癌浸润和转移 在23例Ezrin(-)/E-cadherin(+)的胃癌标本中,有8例浸润至浆膜层(34.8%),9例发生淋巴结转移(39.1%);而在19例Ezrin(+)/E-cadherin(-)的胃癌标本中,有14例浸润至浆膜层(83.3%),16例发生淋巴结转移(84.2%).两组浸润至浆膜层的阳性率以及淋巴结转移率相比均有显著性差异, P 值分别是0.012和0.004.

3 讨论

E-cadherin和CD44v6都为跨膜糖蛋白. E-cadherin是钙黏素家族中的一员,他主要分布于各种上皮细胞中.他通过胞质连环素与细胞骨架蛋白相连,是介导细胞之间以及细胞与细胞外基质黏附的主要分子之一.近年来研究认为E-cadherin黏附功能的丧失是肿瘤细胞获得高侵袭性的关键^[7-10]. Endo *et al*^[11]对107例胃癌组织检

测E-cadherin表达下降并与瘤细胞分化和预后有关.本实验亦证实了这一观点,发现E-cadherin表达减少会明显促进胃癌的浸润、转移.

CD44为透明质酸受体,根据基因外显子表达方式的不同编码生物学特性不同的两种蛋白:标准型(CD44s)和变异型(CD44v),其变异体CD44v6等在恶性肿瘤的高表达使瘤细胞对基质侵袭力增强与肿瘤的浸润转移有关. CD44v6的促进转移作用机制可能是表达CD44v6的肿瘤细胞与远隔的淋巴管和血管内某一配体结合,使转移处的肿瘤细胞更加稳定地寄宿与生长,有效形成转移瘤.近年来通过免疫组化和原位杂交技术研究发现,CD44v6的过量表达与多种人体恶性肿瘤,如乳腺癌、胃癌、食管癌等许多肿瘤的发生、发展、侵袭及转移密切相关^[12-13],认为CD44v6可作为独立的预后指标.

Ezrin是ERM(Ezrin, radixin, mosin)家族中研究较深入的细胞内骨架蛋白.通过其C-, N-末端分别与细胞骨架和细胞膜蛋白的结合,不仅具有结构功能,而且对细胞的分化、形态、迁移性及细胞与细胞、细胞和基质之间的黏附性有重要的调节作用.研究中发现在生长因子的作用下,Ezrin可以与CD44结合后与细胞骨架连接,促进肿瘤细胞的增生与转移,同时CD44表达上调,使功能性Ezrin表达增加,此时肿瘤转移与侵袭能力也随之增加^[14-16]. Pujuguet *et al*发现,Ezrin的突变体EzrinT567D,相当于持续形式的Ezrin,可使E-cadherin从细胞内向细胞膜

应用要点

本文应用免疫组化的方法检测Ezrin、E-cadherin及CD44在癌组织中的表达情况,并讨论三者与胃癌的浸润和转移的关系,以期对胃癌诊断、治疗和判断预后提供依据。

转运减慢, 导致E-cadherin在细胞内集聚, 细胞表面的E-cadherin减少, 导致细胞连接松散^[17-18]. 过度表达的Ezrin也可能发挥同样的作用, 导致E-cadherin隔离在细胞内, 从而造成细胞间连接松散, 有利于肿瘤转移.

本研究结果表明, Ezrin、CD44阳性表达程度在癌组织中与癌旁组织中都存在显著差异, Ezrin、CD44的表达程度在胃癌组织中明显增高, 提示Ezrin、CD44与胃癌发生、发展密切相关. Ezrin、CD44表达程度随着肿瘤分化程度降低而增高, 提示两者可能参与胃癌的分化. 伴有淋巴结转移的病例中, Ezrin、CD44表达程度明显高于无淋巴结的转移的病例, 提示Ezrin、CD44参与胃癌的淋巴结的转移过程. 而E-cadherin在癌组织中、低分胃癌及有淋巴结转移的病例中, 与相应对照组相比其表达均减弱或者缺失, 提示其表达的下调导致癌细胞黏附性减弱, 易脱离并具有较强的侵袭性. 其可能机制为: 随着肿瘤发生发展, Ezrin表达增强, 致使肿瘤细胞运动能力增强, 同时E-cadherin遭破坏, 在细胞与细胞间的表达能力下降, 导致细胞自肿瘤组织中脱落, 进而引起肿瘤的转移. 这说明Ezrin、CD44和E-cadherin与胃癌的浸润和转移密切相关, 可以作为胃癌浸润和转移的肿瘤标志物, 为胃癌的治疗和预后提供依据.

4 参考文献

- Lamb RF, Roy C, Diefenbach TJ, Vinters HV, Johnson MW, Jay DG, Hall A. The TSC1 tumour suppressor hamartin regulates cell adhesion through ERM proteins and the GTPase Rho. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 281-287
- McCartney BM, Kulikaukas RM, LaJeunesse DR, Fehon RG. The neurofibromatosis-2 homologue, Merlin, and the tumor suppressor expanded function together in *Drosophila* to regulate cell proliferation and differentiation. *Development* 2000; 127: 1315-1324
- Hiscox S, Jiang WG. Ezrin regulates cell-cell and cell-matrix adhesion, a possible role with E-cadherin/beta-catenin. *J Cell Sci* 1999; 112 Pt 18: 3081-3090
- Hunter KW. Ezrin, a key component in tumor metastasis. *Trends Mol Med* 2004; 10: 201-204
- Curto M, McClatchey AI. Ezrin...a metastatic
- detERMinant? *Cancer Cell* 2004; 5: 113-114
- Mathew J, Hines JE, Obafunwa JO, Burr AW, Toole K, Burt AD. CD44 is expressed in hepatocellular carcinomas showing vascular invasion. *J Pathol* 1996; 179: 74-79
- Shiozaki H, Oka H, Inoue M, Tamura S, Monden M. E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells. *Cancer* 1996; 77: 1605-1613
- Siitonen SM, Kononen JT, Helin HJ, Rantala IS, Holli KA, Isola JJ. Reduced E-cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 394-402
- Richmond PJ, Karayiannakis AJ, Nagafuchi A, Kaisary AV, Pignatelli M. Aberrant E-cadherin and alpha-catenin expression in prostate cancer: correlation with patient survival. *Cancer Res* 1997; 57: 3189-3193
- 王红建, 史成章, 秦先锋, 黄秋实. Ezrin、FAK及E-cadherin在大肠癌组织中的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2006; 15: 591-595
- Endo K, Ueda T, Ueyama J, Ohta T, Terada T. Immunoreactive E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and gamma-catenin proteins in hepatocellular carcinoma: relationships with tumor grade, clinicopathologic parameters, and patients' survival. *Hum Pathol* 2000; 31: 558-565
- 孙红, 韩苏夏, 肖菊香, 南克俊, 李明众. 宫颈组织CD44v6表达的意义. *第四军医大学学报* 2002; 23: 462-466
- 柳洲, 陈惠祯. CD44v6基因在子宫颈癌中的表达意义. *实用肿瘤杂志* 2001; 16: 49-51
- Hefler LA, Concin N, Mincham D, Thompson J, Swarte NB, van Eijkeren MA, Sie-Go DM, Hammond I, McCartney AJ, Tempfer CB, Speiser P. The prognostic value of immunohistochemically detected CD44v3 and CD44v6 expression in patients with surgically staged vulvar carcinoma: a multicenter study. *Cancer* 2002; 94: 125-130
- Rodríguez-Rodríguez L, Sancho-Torres I, Leakey P, Gibbon DG, Comerici JT, Ludlow JW, Mesonero C. CD44 splice variant expression in clear cell carcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol* 1998; 71: 223-229
- Setälä L, Lipponen P, Tammi R, Tammi M, Eskelinen M, Alhava E, Kosma VM. Expression of CD44 and its variant isoform v3 has no prognostic value in gastric cancer. *Histopathology* 2001; 38: 13-20
- Pujuguet P, Del Maestro L, Gautreau A, Louvard D, Arpin M. Ezrin regulates E-cadherin-dependent adherens junction assembly through Rac1 activation. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 2181-2191
- Xu Y, Yu Q. E-cadherin negatively regulates CD44-hyaluronan interaction and CD44-mediated tumor invasion and branching morphogenesis. *J Biol Chem* 2003; 278: 8661-8668

同行评价
本文采用方法适当, 成熟, 论述准确, 对临床有一定参考价值.

编辑 程剑侠 电编 何基才