

CD44v6 及 Ezrin 在结肠癌中的表达及临床意义

陆晓旻, 彭 春

作者单位: 454000 河南, 焦作市人民医院病理科

作者简介: 陆晓旻(1959-), 男, 本科学历, 副主任医师, 研究方向: 肿瘤病理诊断。E-mail: taei@163.com

[摘要] 目的 探讨 CD44v6、Ezrin 蛋白在结肠癌组织中的表达及临床意义。方法 应用免疫组化 S-P 法, 检测 47 例结肠癌、20 例正常结肠组织中 CD44v6、Ezrin 蛋白的表达。结果 CD44v6 及 Ezrin 蛋白在结肠癌组织中的阳性率分别为 68.09% (32/47)、74.47% (35/47), CD44v6 及 Ezrin 蛋白在正常结肠组织阳性表达率为 25.00% (5/20)、100.00% (20/20), 有淋巴转移患者的 Ezrin 蛋白、CD44v6 阳性率高于无淋巴转移患者 ($P < 0.05$); Ezrin 蛋白在结肠癌组织中主要表达于胞浆, 在正常肠组织主要表达于胞膜。结论 Ezrin 蛋白、CD44v6 的表达有助于综合判断结肠癌的恶性程度和转移潜能。Ezrin 蛋白有望成为判断预后的新指标。

[关键词] 结肠癌; 蛋白质 Ezrin; CD44v6; 免疫组织化学

[中图分类号] R 753.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2009)09-0925-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2009.09.13

Expression of CD44v6 and Ezrin in colon cancer and its clinical significance LU Xiao-min, PENG Chun. Department of Pathology, Jiaozuo People's Hospital, Jiaozuo 454000, China

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical significance of the expression of CD44v6 and Ezrin protein in colon cancer. **Methods** Immunohistochemical method was used to examine CD44v6 and Ezrin protein of the sections from 47 cases of colon cancer and 20 normal colon tissues. **Results** The positive rate of CD44v6 and Ezrin expression was 68.09% (32/47), 74.47% (35/47) in colon cancer and was 25.00% (5/20), 100.00% (20/20) in normal tissue. The CD44v6 and Ezrin positive rate of colon cancer with lymph nodes metastasis was significantly higher than that of colon cancer without ($P < 0.05$). Besides, expression area of Ezrin was often in the cytoplasm for colon cancer and in the cell membrane for normal colon tissues. **Conclusion** The results suggest that detecting the expression of protein Ezrin and CD44v6 is helpful to judge malignancy degree and metastasis potentiality of colon carcinoma. The protein Ezrin is hoped to be a new index to judge prognosis.

[Key words] Colon cancer; Protein ezrin; CD44v6; Immunohistochemistry

侵袭和转移是恶性肿瘤的基本生物学特征,也是临床上绝大多数患者的致死原因。Ezrin 蛋白是最近发现的一个新的肿瘤转移相关基因。有研究表明, Ezrin 蛋白的表达与胰腺癌、骨肉瘤等的侵袭和转移密切相关; CD44v6 是同浸润、转移密切相关的细胞表面因子, 它同 Ezrin 蛋白共同参与了肿瘤的转移^[1]。本研究采用免疫组化方法检测结肠癌手术标本的石蜡包埋组织中 CD44v6、Ezrin 蛋白的表达情况, 并分析其相互关系及与各种临床参数的关系, 旨在探讨其在结肠腺癌淋巴结转移、病理分级中的作用。

1 资料与方法

1.1 标本及临床病理资料 本研究所用资料均系本院 2000~2007 年间手术切除的原发性结肠腺癌

标本。男 29 例, 女 18 例; 平均年龄 59 岁。全部患者术前均未经过放化疗。术后病理诊断均确诊为腺癌, 其中高分化癌 12 例, 中分化癌 21 例, 低分化癌 14 例; T I 期 12 例, T II 期 21 例, T III 期 7 例, T IV 期 7 例; 有淋巴结转移者 32 例, 无淋巴转移者 15 例。

1.2 免疫组织化学法 将 10% 福尔马林固定、石蜡包埋的癌组织制成 4~5 μm 切片, 常规脱蜡, 浸入 0.01 mol/L、pH 为 6.0 的枸橼酸盐缓冲液内, 微波炉抗原修复 10 min, 温度为 92~98 $^{\circ}\text{C}$ 。用 SP 法进行免疫组织化学染色。CD44v6、Ezrin 及 SP 试剂盒系北京中山生物试剂公司提供的 Zymed 公司产品。Ezrin 和 CD44v6 阳性细胞呈棕黄色, 阳性反应分布在细胞膜和细胞质, 阳性细胞数目在 10%~25% 为 (+), 25%~50% 为 (++) , 超过 50% 为

(+++)。每次实验均设阳性和阴性对照。用已知乳腺癌阳性切片作阳性对照,阴性对照用PBS代替一抗。

1.3 统计学方法 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS12.0统计软件,多个样本均数比较采用方差分析,率采用 χ^2 检验,并进行直线相关分析,如有相关性则进行直线回归检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学显著性意义。

2 结果

2.1 CD44v6 和 Ezrin 在结肠癌及正常结肠组织中的表达 CD44v6 及 Ezrin 蛋白在结肠癌组织中的阳性率分别为 68.09% (32/47)、74.47% (35/47), CD44v6 及 Ezrin 蛋白在正常结肠组织阳性表达率为 25.00% (5/20)、100.00% (20/20), CD44v6 在有、无淋巴转移患者的阳性率分别为 90.63% (29/32)、20.00% (3/15), $P < 0.05$; Ezrin 蛋白在有、无淋巴转移患者的阳性率分别为 87.50% (28/32)、46.67% (7/15), $P < 0.05$ 。此外, Ezrin 蛋白在结肠癌组织中主要表达于胞浆,在正常肠组织主要表达于胞膜。

2.2 Ezrin 和 CD44v6 在结肠癌组织中不同临床参数的阳性表达率 CD44v6 在结肠癌不同临床参数的阳性表达率不同,随着结肠癌临床分期、病理分级的升高呈递增趋势,各组间差异有统计学显著性意义 ($P < 0.05$)。Ezrin 在结肠癌不同临床参数的阳性表达率不同,随着结肠癌临床分期、病理分级的升高呈递减趋势,各组间差异有统计学显著性意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 CD44v6 和 Ezrin 在结肠癌组织中不同临床参数的阳性表达率

标本组织分类	例数	CD44v6		Ezrin	
		+	%	+	%
高分化	12	5	42.67	10	83.33
中分化	21	15	71.43	16	76.19
低分化	14	12	85.71	9	64.29
I 期	12	7	58.33	11	91.67
II 期	21	14	66.67	18	85.71
III - IV 期	14	11	78.57	6	42.86
有淋巴转移组	32	29	90.63	28	87.50
无淋巴转移组	15	3	20.00	7	46.67
正常结肠组织	20	5	25.00	20	100.00

2.3 结肠癌组织中 Ezrin 和 CD44v6 表达的相关性 用 Pearson 相关分析对 Ezrin 和 CD44v6 进行相关性分析,两者有相关性,且呈负相关,其相关系数 $r =$

-0.438 , 方程式 $Y(\text{Ezrin}) = -0.328 \times (\text{CD44v6}) + 0.156$ 。

3 讨论

3.1 Ezrin 是 ERM 蛋白家族 (Ezrin, Radixin 和 Moesin) 中细胞内骨架蛋白,分子量为 82kD 的磷酸化蛋白质,由 585 个氨基酸组成,编码基因为 villin2,定位于染色体 6q25.2 ~ q26,是膜蛋白和肌动蛋白细胞骨架的连接分子。其主要功能是调节细胞活动如生存、黏附、迁移、侵袭,这些活动在肿瘤发展和进程中都具有非常重要的作用^[1-3]。近年研究发现, Ezrin 可通过对肿瘤细胞表面粘附分子(如 CD44v6)的调节作用影响肿瘤的分化、侵袭性和转移^[4]。

3.2 CD44 基因是透明质酸受体,其变异体 CD44v6 在恶性肿瘤的高表达使瘤细胞对基质侵袭力增强,其与肿瘤的浸润、转移作用已经确定,且 CD44 基因蛋白对诊断肿瘤复发有一定的价值^[5]。Joo 等^[6]发现 CD44s 和 CD44v6 的高表达在胃癌的发展中具有重要的作用,特别是 CD44v6,它可以预测胃癌的淋巴转移。Guler 等^[7]在对人喉上皮癌研究中发现 CD44v6 在发育不良和原位癌组织中高表达,而且患者预后生存期也显著缩短,COX 回归分析得出淋巴转移和 CD44v6 的广泛表达都是独立的预后影响因素。

3.3 在本研究中发现, CD44v6 在结肠癌不同临床参数的阳性表达率不同,随着结肠癌临床分期、病理分级的升高呈递增趋势;而 Ezrin 蛋白表达随着结肠癌临床分期、病理分级的升高呈递减趋势,各组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$);对 Ezrin 和 CD44v6 进行相关性分析,两者有相关性,且呈负相关。此外, Ezrin 蛋白表达在细胞内的定位发生了改变,可能与其磷酸化有关。Ezrin 活化需干扰其 C. N 连接,有 C 端磷酸化及磷脂酰肌醇二磷酸(PIP2)两种途径。由此推断,在正常结肠组织 Ezrin 表达于细胞膜,具有维持细胞运动、形态改变等生理功能;而在肿瘤细胞, Ezrin 主要表达于细胞浆。提示 Ezrin 的亚细胞定位的改变对于肿瘤的发生和侵袭扩散有重要意义。Ezrin 与 CD44 形成的复合体与肿瘤转移的关系研究证实^[8],两者在转移的肿瘤细胞中共同表达, Ezrin 直接与 CD44 分子的胞浆部分发生作用,使肿瘤细胞与细胞外基质(ECM)相关联,影响细胞骨架蛋白的构象和分布,从而改变肿瘤细胞的运动能力,参与肿瘤细胞的增殖和转移机制。同时, CD44 的上调能够使得 Ezrin 功能活化,此时肿瘤侵袭转移能力增加。此外, CD44 与 Ezrin 的复合体也

可能共同激活了 Rho 等信号传导途径、增强了肿瘤细胞的粘附、运动能力,以及可能促进了其他粘附分子(E-cad、ICAM-2 等)的功能,使癌细胞更易发生转移和侵袭^[9]。

综上所述,Ezrin 蛋白在结肠癌肿瘤细胞表达下调和亚细胞定位的改变,使其功能不断增强,并使 CD44v6 的功能逐渐增强,从而更加促进了结肠癌细胞的侵袭和转移,但其共同作用的详细机制还需进一步的研究。因此,检测 Ezrin 蛋白、CD44v6 在结肠癌中的表达,有助于综合判断癌细胞的恶性程度和转移潜能,Ezrin 蛋白有望成为判断预后的新指标。

参考文献

- 1 Hunter KW. Ezrin: a key component in tumor metastasis [J]. Trends Mol Med, 2004, 10(5): 201-204.
 - 2 Martin TA, Harrison G, Mansel R E, et al. The role of the CD44/ezrin complex in cancer metastasis [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2003, 46(2): 165-186.
 - 3 McClatchey AI. Merlin and ERM proteins: unappreciated roles in cancer development [J]. Cancer, 2003, 3(11): 877-884.
 - 4 Moilanen J, Lassus H, Leminen A. Ezrin immunoreactivity in relation to survival in serous ovarian carcinoma patients [J]. Gynecol Onco J, 2003, 90(2): 273.
 - 5 朱颖军, 高企贤, 曲凡凡. 卵巢上皮性癌可溶性 CD44 的测定 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2000, 16(6): 363.
 - 6 Joo M, Lee HK, Kang YK. Expression of E-cadherin, beta-catenin, CD44s and CD44v6 in gastric adenocarcinoma: relationship with lymphnode metastasis [J]. Anticancer Res, 2003, 23(2B): 1581-1588.
 - 7 Guler G, Sarac S, Uner A, et al. Prognostic value of CD44 Variant 6 in laryngeal squamous cell carcinomas [J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2002, 128(4): 393-397.
 - 8 Martin 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.
 - 9 胡雪梅, 郭钰珍. 埃兹蛋白及 CD44v6 参与卵巢癌侵袭转移的机制 [J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(15): 2124-2126.
- [收稿日期 2009-06-15] [本文编辑 谭毅 刘京虹]

临床研究

FQ-PCR 方法检测女性尖锐湿疣(CA)患者 HPV 的基因分型

覃桂芳, 刘鑫, 赵林

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院检验科

作者简介: 覃桂芳(1956-), 女, 检验科主任, 副主任技师, 研究方向: 免疫学实验室诊断, 感染性疾病分子生物学及实验室管理

[摘要] 目的 探讨女性尖锐湿疣(CA)患者感染人类乳头瘤病毒(HPV)的基因类型和分布。方法 采用荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)方法检测 256 例 CA 患者疣体组织或分泌物中的 HPV 类型。结果 HPV_{6,11} 型阳性率为 93% (238/256), HPV_{16,18} 型阳性率为 15.2% (39/256), HPV_{6,11} 型和 HPV_{16,18} 同时阳性为 10.9% (28/256)。定量检测病毒载量最高为 1.0×10^8 copies/ml, 最低为 2.2×10^4 copies/ml。结论 本地区尖锐湿疣患者感染以 HPV_{6,11} 低危型为主, 少数为 HPV_{16,18} 高危型; 荧光 PCR 检测技术具有灵敏度高、特异性强及检测时间短等特点, 能够及时准确的为 HPV 患者临床治疗及预后判断提供可靠的依据。

[关键词] FQ-PCR; 女性尖锐湿疣; HPV_{6,11} 型; HPV_{16,18} 型

[中图分类号] R 446.69 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2009)09-0927-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2009.09.14

HPV genotyping for women patients with CA by FQ-PCR method QIN Gui-fang, LIU Xin, ZHAO Lin. Department of laboratory, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To explore the types and distribution of HPV genes in female condyloma (CA) patients infected with human papilloma virus (HPV). **Methods** Fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) was used to detect the types of HPV genes in wart tissue or secretion from 256 CA patients. **Results**