

# 埃兹蛋白在乳腺癌中的表达及其临床意义

王晓娇<sup>1</sup>, 练孝春<sup>1</sup>, 刘正人<sup>2</sup>

(1.芜湖市第一人民医院乳腺外科, 安徽 芜湖 241000;

2.南昌大学第一附属医院乳腺外科, 江西 南昌 330000)

**摘要:**目的 通过检测埃兹蛋白在浸润性乳腺癌、乳腺导管内癌及正常乳腺组织中的表达, 探究埃兹蛋白在乳腺癌组织中的表达的临床意义。方法 随机选取南昌大学第一附属医院 40 例浸润性乳腺癌患者及 32 例乳腺导管内癌患者, 另外选择同期来我院健康体检者 22 例。通过免疫组化链霉亲和素-过氧化物酶法(S-P)法分别检测埃兹蛋白在 22 例正常乳腺组织、32 例乳腺导管内癌组织和 40 例浸润性乳腺癌组织中的表达, 参照病理结果进行分析。结果 埃兹蛋白在 40 例浸润性乳腺癌的阳性表达率为 72.50%、在 32 例乳腺导管内癌的阳性表达率为 40.63%、在正常乳腺组织中的阳性表达率 13.64%, 浸润性乳腺癌中埃兹蛋白的表达高于其他两种组织, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 埃兹蛋白在 G3 期乳腺癌组织中的表达高于在 G1-G2 期乳腺癌组织中的表达, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 埃兹蛋白在淋巴结转移患者中的阳性表达率高于在无淋巴结转移的患者中的阳性表达率, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ ); 埃兹蛋白在 <40 岁的患者中的阳性表达率低于在年龄  $\geq 40$  岁的患者中的表达率, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ ); 埃兹蛋白在 PR 阳性患者中的阳性表达率低于在 PR 阴性患者中的表达率, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 乳腺癌患者中埃兹蛋白的表达与组织学分级、腋窝淋巴结转移及年龄呈正相关( $P<0.05$ ), 与 PR 呈负相关( $P<0.05$ ); 埃兹蛋白在浸润性乳腺癌中的表达与乳腺癌临床分期、脉管侵犯、肿瘤大小、患者月经状态以及 Her-2、ER、Ki-67 的表达无相关性( $P>0.05$ )。结论 埃兹蛋白在乳腺癌和正常乳腺组织中的表达不同, 对判断乳腺肿瘤性质具有重要参考意义; 此外, 埃兹蛋白能够帮助判断乳腺癌的转移潜能和预后, 可能启发乳腺癌新的靶向治疗。

**关键词:** 乳腺癌; 埃兹蛋白; 侵袭; 转移; 免疫组化

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2019.21.027

文章编号: 1006-1959(2019)21-0088-04

## Expression of Ezrin in Breast Cancer and Its Clinical Significance

WANG Xiao-jiao<sup>1</sup>, LIAN Xiao-chun<sup>1</sup>, LIU Zheng-ren<sup>2</sup>

(1. Department of Breast Surgery, the First People's Hospital of Wuhu City, Wuhu 241000, Anhui, China;

2. Department of Breast Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330000, Jiangxi, China)

**Abstract:** Objective To investigate the clinical significance of ezrin expression in breast cancer tissues by detecting the expression of ezrin in invasive breast cancer, intraductal carcinoma of the breast and normal breast tissue. Methods 40 patients with invasive breast cancer and 32 patients with intraductal carcinoma of the breast in the First Affiliated Hospital of Nanchang University were randomly selected. In addition, 22 healthy subjects were enrolled in our hospital. The expression of ezrin in 22 normal breast tissues, 32 breast ductal carcinoma tissues and 40 invasive breast cancer tissues was detected by immunohistochemical streptavidin-peroxidase (S-P) method. The analysis was performed with reference to the pathological results. Results The positive expression rate of ezrin in 40 cases of invasive breast cancer was 72.50%, the positive expression rate in 32 cases of breast ductal carcinoma was 40.63%, and the positive expression rate in normal breast tissue was 13.64%. The expression of ezrin in invasive breast cancer was higher than that in the other two tissues, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); the expression of ezrin in G3 breast cancer tissues was higher than that in G1-G2 breast cancer tissues, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); The positive expression rate of ezrin in patients with lymph node metastasis was higher than that in patients without lymph node metastasis, the difference was statistically significant ( $P<0.01$ ); The positive expression rate of ezrin in patients <40 years old was lower than that in patients aged 40 years or older, the difference was statistically significant ( $P<0.01$ ); the positive expression of ezrin in PR positive patients the rate was lower than that in PR-negative patients, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The expression of ezrin in breast cancer patients was positively correlated with histological grade, axillary lymph node metastasis and age ( $P<0.05$ ), negative correlation with PR ( $P<0.05$ ); expression of ezrin in invasive adenocarcinoma and clinical stage of breast cancer, vascular invasion, tumor size, patient's menstrual status and Her-2, ER, Ki-67 there was no correlation in expression ( $P>0.05$ ). Conclusion The expression of ezrin in breast cancer and normal breast tissue is different, which has important reference significance for judging the nature of breast tumor. In addition, ezrin can help determine the metastatic potential and prognosis of breast cancer, and may inspire new targets of breast cancer treatment.

**Key words:** Breast cancer; Ezrin; Invasion; Metastasis; Immunohistochemistry

乳腺癌(breast cancer)是女性恶性肿瘤中最常见的一种, 侵袭和转移是影响乳腺癌患者生存和预后的重要因素<sup>[1]</sup>。多项研究表明, 埃兹蛋白与多种肿瘤的发生发展及预后有着密切的联系<sup>[2]</sup>。然而, 目前对埃兹蛋白促进肿瘤细胞发生发展的机制尚不明

确。本研究通过免疫组化检测埃兹蛋白在浸润性乳腺癌、乳腺导管内癌及正常乳腺组织中的表达, 参照病理分析埃兹蛋白对浸润性乳腺癌发生发展中所起的作用, 旨在探索其在乳腺癌中的临床意义, 现在报告如下。

### 1 材料与方法

**1.1 材料来源** 随机选取南昌大学第一附属医院收治的第一次手术且术前均未经新辅助化疗及内分泌等其他治疗的, 有完整的临床病理和随访资料的乳

作者简介: 王晓娇(1988.2-), 女, 安徽宿州人, 硕士, 主治医师, 主要从事乳腺疾病诊治研究

通讯作者: 刘正人(1974.11-), 男, 湖北潜江人, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事乳腺疾病的临床诊治工作

腺肿瘤患者 72 例,均为女性,另外选择同期来我院健康体检者 22 例。40 例浸润性乳腺癌患者年龄 28~72 岁,平均年龄(41.55±11.58)岁;32 例乳腺导管内癌患者年龄 28~72 岁,平均年龄(43.09±11.45)岁;22 例健康体检者年龄 28~73 岁,平均年龄(46.64±12.34)岁。浸润性乳腺癌按照肿瘤 TNM 分期 I~IV 期分别为 4 例、24 例、9 例和 3 例。

1.2 试剂 埃兹蛋白单克隆抗体购自美国 Immunoway 公司,一抗浓度配比为 1:100。S-P 试剂盒、DBA 试剂盒购买自福州迈新生物技术有限公司。

1.3 方法 结合研究期间患者的病理结果,采用免疫组化链霉亲和素-过氧化物酶法(S-P 法)分别检测埃兹蛋白在浸润性乳腺癌、乳腺导管内癌和正常乳腺组织中的表达,并根据肿瘤 TNM 分期分级。S-P 法按试剂盒说明书进行,以试剂盒内的阳性片为阳性对照,用 PBS 液代替一抗为阴性对照。

1.4 结果判定 定位:在 20 倍光学显微镜下(埃兹蛋白阳性通常表达在细胞膜和细胞浆,呈黄色或棕黄色颗粒),观察不同乳腺组织埃兹蛋白染色的情况和分布。定性:计算阳性细胞百分率:随机选择 10 个高倍视野,计数 1000 个肿瘤细胞/张切片。百分率≥10%,定为阳性片(+);百分比<10%,定为阴性片(-)。根据 Mathew<sup>[3]</sup>等推荐的标准进行分级:-:无表

达;+:<50%为细胞阳性表达或者染色较浅;++:50%~70%阳性表达且深染;+++:>70%且深染。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件处理数据。计数资料采用(n)表示,行 $\chi^2$ 检验或 Fisher 确切概率法,相关性分析采用线性趋势检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义, $P<0.01$ 为差异统计学意义显著。

## 2 结果

2.1 埃兹蛋白在不同乳腺组织中的表达 浸润性乳腺癌组织中埃兹蛋白表达阳性的细胞主要表现为细胞质内棕黄色或棕褐色颗粒弥漫性分布(图 1),埃兹蛋白在浸润性乳腺癌组织中的阳性表达率为 72.50%(29/40);埃兹蛋白在乳腺导管内癌组织中主要以棕黄色或棕褐色颗粒弥散分布在细胞质中,少部分呈浅黄色染色分布在导管上皮细胞膜上(图 2),其在乳腺导管内癌组织中的阳性表达率为 40.63%(13/32);埃兹蛋白在正常乳腺组织主要呈浅黄色分布于乳腺导管上皮细胞膜上,其在正常乳腺组织的阳性表达率为 13.64%(3/22)。浸润性乳腺癌、乳腺导管内癌及正常乳腺组织中的埃兹蛋白阳性表达率逐渐降低,浸润性乳腺癌中埃兹蛋白的表达与其他两种组织比较,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

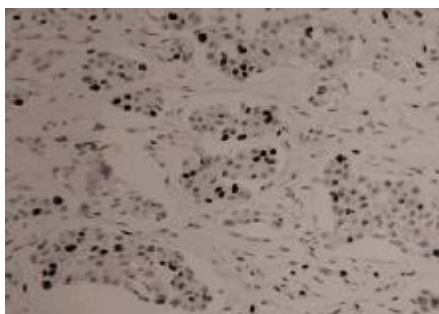


图 1 埃兹蛋白在浸润性乳腺癌组织的染色(S-P×20)

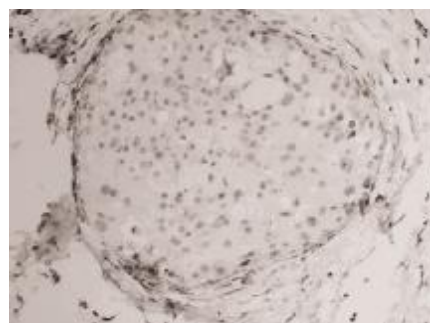


图 2 埃兹蛋白在乳腺导管内癌组织中的染色(S-P×20)

表 1 埃兹蛋白在不同乳腺组织中的阳性表达率比较(n,%)

组织类型	n	Ezrin				阳性率
		-	+	++	+++	
正常乳腺组织	22	19	2	1	0	13.64
乳腺导管内癌组织	32	19	7	4	2	40.63*
浸润性乳腺癌组织	40	11	8	16	5	72.50**

注: \*表示与正常组织比较, $P<0.05$ ; \*\*表示与导管内癌组织比较, $P<0.01$

2.2 埃兹蛋白在乳腺癌中的表达及与患者临床病理特点的关系 埃兹蛋白在 G3 期乳腺癌组织中的表达高于在 G1~G2 期乳腺癌组织中的表达,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );埃兹蛋白在淋巴结转移患者中的阳性表达率高于在无淋巴结转移的患者中的阳性表达率,差异统计学意义显著( $P<0.01$ );埃兹蛋白在<40 岁的患者中的阳性表达率低于在年龄≥40 岁的患者中的表达率,差异统计学意义显著( $P<$

0.01);埃兹蛋白在 PR 阳性患者中的阳性表达率低于在 PR 阴性患者中的表达率,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。在乳腺癌组织中,埃兹蛋白的表达与组织学分级、淋巴结转移及年龄呈正相关( $P<0.05$ ),与 PR 呈负相关( $P<0.05$ ),见表 3,埃兹蛋白在浸润性乳腺癌中的表达与乳腺癌临床分期、脉管侵犯、肿瘤大小、患者月经状态以及 Her-2、ER、Ki-67 的表达无相关性( $P>0.05$ )。

表 2 埃兹蛋白在乳腺癌中的表达及与患者临床病理特点的关系

项目	n	埃兹蛋白		$\chi^2$	P	项目	n	埃兹蛋白		$\chi^2$	P
		-	+~+++					-	+~+++		
年龄(岁)				7.513	0.006	脉管侵犯				3.853	0.049
<40	23	2	21			有	11	5	24		
≥40	17	9	8			无	29	6	5		
肿瘤最大直径(mm)				/	0.569*	ER				4.891	0.027
≤2	8	1	7			+	27	4	23		
2-5	27	8	19			-	13	7	6		
≥5	5	2	3			PR				5.234	0.022
TNM 分期				/	0.877*	+	19	2	17		
I~II	28	8	20			-	21	9	12		
III~IV	12	3	9			Her-2				/	0.955*
组织学分级				6.032	0.014	+	13	3	10		
G1-G2	22	10	12			-	27	8	19		
G3	18	1	17			Ki-67				4.146	0.042
腋窝淋巴结				5.177	0.023	+	32	6	26		
有	35	7	28			-	8	5	3		
无	5	4	1								
月经状态				/	0.469*						
有	26	6	20								
无	14	5	9								

注:\*为 Fisher 确切概率

表 3 埃兹蛋白在乳腺癌组织表达的相关性

项目	r	P
组织学分级	0.406	0.014
淋巴结转移	0.339	0.023
年龄	0.397	0.006
PR	-0.340	0.022

### 3 讨论

埃兹蛋白是一种属于 ERM 家族,联接细胞骨架和细胞膜特定的蛋白。埃兹蛋白在正常生理活动中,主要与信号传导相关,参与细胞粘附、运动、分裂生长等活动<sup>[3,4]</sup>。研究表明,埃兹蛋白在骨肉瘤、食管癌、胰腺癌及结肠癌等恶性肿瘤中有异常表达,且与参与部分肿瘤的转移,影响其预后<sup>[5-7]</sup>。

目前,研究埃兹蛋白与乳腺癌的方向主要在肿瘤组织中的表达及与其他病理相关性上<sup>[8-10]</sup>。研究发现,乳腺癌中埃兹蛋白的表达与病理类型、肿瘤大小及年龄均无明显相关性,而与淋巴结转移和临床分期显著相关<sup>[11,12]</sup>。Antelmi E 等<sup>[13]</sup>研究认为  $\beta_1$  整合素整合埃兹蛋白,磷酸化第 567 位氨基酸,激活脂质筏信号,从而促进癌细胞的侵袭,T567 磷酸化的埃兹蛋白与癌细胞的转移、预后及 Her-2 的表达密切相关。

本研究结果表明,浸润性乳腺癌组织中埃兹蛋白主要弥散分布在细胞质内,而正常乳腺组织中埃

兹蛋白主要分布乳腺导管上皮细胞膜上,乳腺导管内癌组织的细胞质和细胞膜上埃兹蛋白均有表达。埃兹蛋白在乳腺癌组织和正常乳腺组织中的定位具有特异性,这或许对判断乳腺肿块良恶性提供了一个新思路,可能成为乳腺癌早期筛查的一个新指标。Mak H 等<sup>[14]</sup>研究显示,特异性定位能够降低细胞粘附,活化的埃兹蛋白能够使细胞之间连接减少。本实验研究也提示,在三种乳腺不同组织中,埃兹蛋白的差异性表达一定程度上促进了乳腺癌的发生、发展。

本实验结果显示埃兹蛋白在乳腺癌中的表达与 PR 呈负相关,同时有研究显示 PR 阳性比单独 ER 阳性内分泌治疗更有效,PR 在乳腺癌的发生和治疗中具有非常重要的意义<sup>[15]</sup>,PR 能够抑制 ER $\alpha$ 、糖皮质激素、盐皮质激素等类固醇受体的活性,提示 PR 具有抗雌激素的作用<sup>[16]</sup>。既往实验结果显示埃兹蛋白同时和组织学分级、淋巴结转移状态及 Her-2 的表达呈正相关,而乳腺癌组织学分级与 DNA 增值指数和 DNA 倍体数相关,分化好的 DNA 增值指数低,分化差的 DNA 增值指数高<sup>[17]</sup>,组织学分级与生长因子受体、癌基因产物的表达也有一定的联系<sup>[18]</sup>。腋窝淋巴结是否转移以及转移数量是乳腺癌预后的重要指标之一,腋窝淋巴结的转移数目与生存期、局部复发、远处转移及治疗失败相关,Her-2 阳性的乳腺癌

存在恶性程度高、易复发和转移等特点,Her-2 基因扩增是乳腺癌患者总体生存率及复发的负性预测因子<sup>[9]</sup>,其预测价值高于激素受体状态和淋巴结转移等多数其他预后因子。埃兹蛋白的表达与这些因素具有相关性说明埃兹蛋白可能与乳腺癌的复发、转移以及预后相关。已有研究显示年轻乳腺癌比年长乳腺癌预后差<sup>[20]</sup>,本研究与之不同,本次结果显示 40 岁及以上患者的埃兹蛋白阳性率高于 40 岁以下患者。因一般年轻乳腺癌具有高淋巴转移率、高组织学分级、高临床分期、高三阴性比例及肿块大的特点,预期设想实验结果埃兹蛋白的表达与年龄呈负相关,与实际结果存在差异,这可能与实验样本量少及乳腺癌病理分型有关。

总之,不同的生理状态下埃兹蛋白生物学功能也不同,其异常过度表达,既能抑制乳腺恶性肿瘤细胞的凋亡,同时还可增加细胞的转移能力。埃兹蛋白对判断乳腺肿瘤的良恶性以及指导治疗乳腺癌具有重大意义。此外,埃兹蛋白能够帮助判断乳腺癌的转移潜能和预后,可能启发新的乳腺癌靶向治疗。当然,埃兹蛋白在乳腺癌中的作用机制需更深层次的研究。

#### 参考文献:

- [1] 兰柯,李文翰,徐子森,等.卡培他滨在治疗转移性乳腺癌中作用的 Meta 分析 [J]. 中国临床药理学与治疗学,2015,11(4): 425-429.
- [2] 刘宏,张阳德.Ezrin 蛋白与肿瘤转移关系 [J]. 中国现代医学杂志,2009,19(19):952.
- [3] 于兴燕,于东红.Ezrin 蛋白在肿瘤中的研究进展 [J]. 医学综述,2015,36(23):4278-4280.
- [4] 孔界男,周宪春,韩龙哲,等.甲胎蛋白阴性肝细胞癌中埃兹蛋白(ezrin)和 SIX1 蛋白表达水平的临床病理意义 [J]. 细胞与分子免疫学杂志,2016,14(2):236-239.
- [5] Penchev VR,Chang YT,Begum A,et al.Ezrin Promotes Stem Cell Properties in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma [J].Mol Cancer Res,2019,17(4):929-936.
- [6] Xie YH,Li LY,He JZ,et al.Heat shock protein family B member 1 facilitates ezrin activation to control cell migration in esophageal squamous cell carcinoma [J].Int J Biochem Cell Biol, 2019(112):79-87.
- [7] Slik K,Kurki S,Korpela T,et al.Ezrin expression combined with MSI status in prognostication of stage II colorectal cancer [J].PLoS One,2017,12(9):e0185436.
- [8] 李运华,刘绍华,欧阳坚,等.乳腺癌组织 Ezrin、VEGF 表达变化及其与临床分期的关系 [J].山东医药,2017,57(20):58-59.
- [9] 马小斌,王西京,刘小旭,等.Ezrin 在乳腺癌发生发展中的表达及意义 [J].现代肿瘤医学,2008,16(3):362-364.
- [10] Li N,Kong J,Lin Z,et al.Ezrin promotes breast cancer progression by modulating AKT signals [J].Br J Cancer,2019,120(7): 703-713.
- [11] Ghaffari A,Hoskin V,Turashvili G,et al.Intravital imaging reveals systemic ezrin inhibition impedes cancer cell migration and lymph node metastasis in breast cancer [J].Breast Cancer Res, 2019,21(1):12.
- [12] 方军.Ezrin 蛋白表达与乳腺癌临床病理特征的相关性研究 [J].检验医学与临床,2014,11(8):1048-1049.
- [13] Antelmi E,Cardone RA,Graco MR,et al.ss1 integrin binding phosphorylates ezrin at T567 to activate a lipid raft signalsome driving invadopodia activity and invasion [J].PLoS One,2013,8 (9):e75113.
- [14] Mak H,Naba A,Varma S,et al.Ezrin phosphorylation on tyrosine 477 regulates invasion and metastasis of breast cancer cells [J].BMC Cancer,2012(12):82.
- [15] Jarvinen TA,Pelto-Huikko M,Holli K,et al.Estrogen receptor beta is coexpressed with ERalpha and PR and associated with nodal status, grade, and proliferation rate in breast cancer [J]. Am J Pathol,2000,156(1):29-35.
- [16] Itoh M,Iwamoto T,Matsuoka J,et al.Estrogen receptor (ER) mRNA expression and molecular subtype distribution in ER-negative/progesterone receptor-positive breast cancers [J].Breast Cancer Res Treat,2014,143(2):403-409.
- [17] Aleskandarany MA,Green AR,Benhasouna AA,et al.Prognosis value of proliferation assay in the luminal,HER2-positive,and triple-negative biologic classes of breast cancer [J].Breast Cancer Res,2012(14):R3.
- [18] Falck AK,Bendahl PO,Chebil G,et al.Biomarker expression and St Gallen molecular subtype classification in primary tumours,synchronous lymph node metastases and asynchronous relapses in primary breast cancer patients with 10 years' follow-up [J].Breast Cancer Res Treat,2013,140(1):93-104.
- [19] 黄小娥.Her-2 蛋白表达与乳腺癌预后关系的相关性研究 [J].中国现代医生杂志,2011,35(10):39-40.
- [20] 秦颖,张同先.青年乳腺癌临床病理特点分子分型及预后分析 [J].中国肿瘤临床,2014,14(4):231-236.

收稿日期:2019-7-26;修回日期:2019-8-9

编辑/王朵梅