

口腔鳞癌患者 Ezrin 蛋白与 CD44v6 的表达及临床意义^{*}

徐 清 周静萍 柳 海

(皖南医学院口腔医学院,安徽 芜湖 241002)

摘 要 **目的** 研究 Ezrin 蛋白和 CD44v6 在口腔鳞癌中的表达和意义,探讨两者表达的相互关系。**方法** 用免疫组织化学 SP 法检测 Ezrin 蛋白和 CD44v6 在 39 例口腔鳞癌和 28 例正常口腔黏膜中的表达。**结果** 1) Ezrin 蛋白和 CD44v6 在口腔鳞癌中的表达水平显著高于正常口腔黏膜组($P<0.01$ 或 $P<0.05$);2) Ezrin 蛋白的表达水平随口腔鳞癌的病理分级增高而增高($P<0.01$),CD44v6 在口腔鳞癌各病理分级中的表达差异无统计学意义($P>0.05$);3)在有淋巴结转移的口腔鳞癌中,Ezrin 蛋白和 CD44v6 的表达水平高于无淋巴结转移组($P<0.01$ 或 $P<0.05$);4) Ezrin 蛋白和 CD44v6 的表达水平与口腔鳞癌患者的年龄、性别无关($P>0.05$);5) Ezrin 蛋白和 CD44v6 在口腔鳞癌中的表达呈正相关($P<0.01$)。**结论** Ezrin 蛋白和 CD44v6 与口腔鳞癌的发生、发展和侵袭转移密切相关,联合检测 Ezrin 蛋白和 CD44v6 的表达可作为评估口腔鳞癌恶性程度及转移潜能的有效指标。

关键词 Ezrin 蛋白;CD44v6;口腔鳞癌;免疫组织化学

中图分类号:R739.8 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-9760(2014)04-091-04

The expression of Ezrin protein and CD44v6 in oral squamous cell carcinoma and clinical significance

XU Qing, ZHOU Jing-ping, LIU Hai

(School of Medical Stomatology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China)

Abstract: Objective To research the expression and significance of Ezrin Protein and CD44v6 in oral squamous cell carcinoma(OSCC),and discuss their expressive correlation. **Methods** To detect the expression of Ezrin Protein and CD44v6 in 39 cases of OSCC and 28 cases of normal oral mucosa tissues by adopting immunohistochemical SP method. **Results** 1)The expression of Ezrin protein and CD44v6 in OSCC was higher than in normal oral mucous($P<0.01$ or $P<0.05$). 2)The expression of Ezrin protein was up-regulated with increased pathological grade of OSCC ($P<0.01$). The differences of CD44v6 expression in various pathological grading of oral squamous cell carcinoma were not statistically significant($P>0.05$). 3)The expression of the Ezrin Protein and CD44v6 in OSCC with the lymph node metastasis was higher than that without the lymph node metastasis($P<0.01$ or $P<0.05$). 4)The expression of the Ezrin Protein and CD44v6 had nothing to do with the age and gender of OSCC patient($P>0.05$). 5) The expression of Ezrin protein and CD44v6 in OSCC were positively correlated($P<0.01$). **Conclusion** There is a close relationship of Ezrin Protein and CD44v6 with the happening, development, invasion and metastasis of oral squamous cell carcinoma(OSCC). The joint examination of the expression of Ezrin Protein and CD44v6 could be one effective index for the evaluation of grade malignancy and transferring proficiency for OSCC.

Key words: Ezrin;CD44v6;Oral squamous cell carcinoma;Immunohistochemistry

口腔鳞癌居口腔恶性肿瘤之首,病死率高,易转移导致患者死亡。Ezrin 蛋白是肿瘤转移研究中新发现的一个相关因子,可调控细胞生长、抗细胞凋亡、促细胞增殖,激活后参与肿瘤细胞的运动、迁移和黏附,在肿瘤生发和转移中扮演重要角色^[1]。

CD44v6 是细胞表面黏附分子 CD44 的变异体,参与细胞特异性粘连,可增强肿瘤细胞的迁移和运动能力,促进肿瘤扩散和转移。本文采用 SP 法分别检测口腔鳞癌中 Ezrin 蛋白和 CD44v6 的表达,探讨两者的相关性及其临床意义。

1 资料和方法

^{*} [基金项目]皖南医学院中青年科研基金项目(编号:WK201217)

1.1 标本

口腔鳞癌 39 例,女 17 例,男 22 例, ≥ 60 岁 23 例, < 60 岁 16 例,淋巴结转移 16 例,无淋巴结转移 23 例,病理分级 I 级 17 例、II 级 14 例、III 级 8 例。另取来自非肿瘤患者手术边缘 28 例正常口腔黏膜标本切片。所用病例切片随机取自附属医院近 5 年的口腔鳞癌手术切除标本。

1.2 试剂

S-P 超敏试剂盒(鼠/兔)、DAB 显色剂、鼠抗人 Ezrin 蛋白免疫组化单克隆抗体,均购自福建迈新生物技术开发公司;兔抗人 CD44v6 多克隆抗体,购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 检测指标

运用免疫组织化学法对所有切片染色,每组染色设阳、阴性对照,综合阳性细胞率和染色强度的判定,检测 Ezrin 蛋白和 CD44v6 的表达。

1.4 结果判定

染色结果经 2 位病理科医师行双盲阅片。每张切片按 Kim 等^[2]半定量法对阳性细胞数和染色强度进行综合评分。阳性细胞数评分:0 分(无阳性细胞);1 分(阳性细胞数 $\leq 1/3$);2 分(阳性细胞数占 $1/3 \sim 2/3$);3 分(阳性细胞数 $\geq 2/3$)。染色强度评分:0 分(不着色)、1 分(浅黄色)、2 分(棕黄色)、3 分(棕褐色);将阳性细胞数和染色强度的评分相加算出总分,总分 ≥ 2 分为阳性,分值 $2 \sim 4$ 分是低表达(+),分值 $5 \sim 6$ 分是高表达(++)。低表达(+)、高表达(++)均列入阳性组。

1.5 统计学方法

应用 SPSS13.0 统计软件进行分析。

2 结果

2.1 Ezrin 蛋白和 CD44v6 分别在口腔鳞癌和正常口腔黏膜组织中的表达

Ezrin 蛋白的阳性着色呈浅黄或棕黄色颗粒,见于细胞质和细胞膜内,在口腔鳞癌中的表达水平显著高于正常口腔黏膜组($P < 0.01$);CD44v6 的阳性着色呈浅黄或棕黄色颗粒,见于细胞膜和细胞质,在口腔鳞癌中的表达水平高于正常口腔黏膜组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 Ezrin 蛋白和 CD44v6 在口腔鳞癌和正常口腔黏膜组织中的表达

类别	Ezrin 蛋白		CD44v6	
	+	-	+	-
口腔鳞癌	30	9	31	8
正常口腔黏膜	4	24	15	13
χ^2	25.584		5.087	
P	< 0.01		< 0.05	

2.2 口腔鳞癌中 Ezrin 蛋白、CD44v6 的表达与临床参数之间的关系

口腔鳞癌中 Ezrin 蛋白的表达:与病理分级有关,病理分级越高表达水平就越高($P < 0.01$);与淋巴结转移有关,Ezrin 蛋白表达水平在有淋巴结转移组高于在无淋巴结转移组($P < 0.01$);与患者的年龄、性别无关($P < 0.05$)。口腔鳞癌中 CD44v6 的表达:与淋巴结转移有关,在有淋巴结转移组的表达水平高于无淋巴结转移组($P < 0.05$);与患者的年龄、性别、病理分级均无关($P > 0.05$)。见表 2、图 1-4。

采用 Fisher 确切概率法。

表 2 口腔鳞癌中 Ezrin 蛋白、CD44v6 的表达与临床参数之间的关系(n,%)

临床参数			Ezrin 蛋白				CD44v6			
			n	—	+~++	阳性率	P	—	+~++	阳性率
性别	女	17	5	12	70.59	0.465	5	12	70.59	0.261
	男	22	4	18	81.82		3	19	86.37	
年龄(岁)	≥ 60	23	6	17	73.91	0.711	6	17	73.91	0.432
	< 60	16	3	13	81.25		2	14	87.50	
病理分级	I 级	17	8	9	52.94	0.006	5	12	70.59	0.588
	II 级	14	1	13	92.86		2	12	85.71	
	III 级	8	0	8	100		1	7	87.50	
淋巴结转移	无	23	9	14	60.87	0.005	8	15	65.22	0.012
	有	16	0	16	100.00		0	16	100.00	

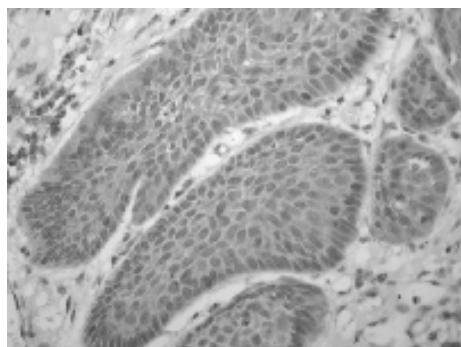


图 1 Ezrin 在无淋巴结转移口腔鳞癌(SP×400)

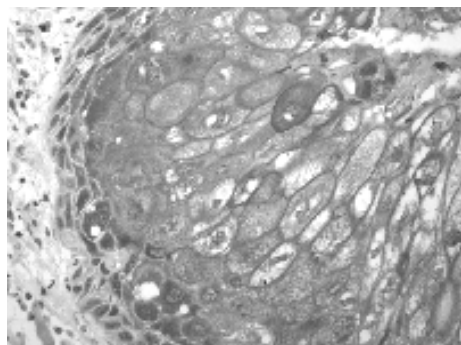


图 2 Ezrin 在有淋巴结转移口腔鳞癌中的表达 SP×400 中的表达 (SP×400)

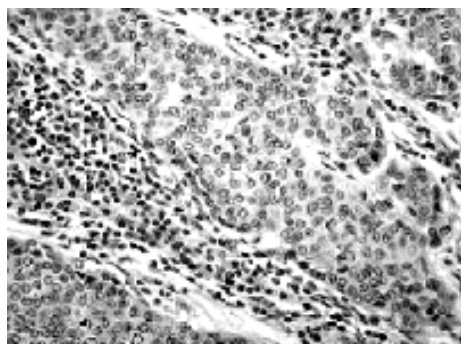


图 3 CD44V6 在无淋巴结转移口腔鳞癌(SP×400)

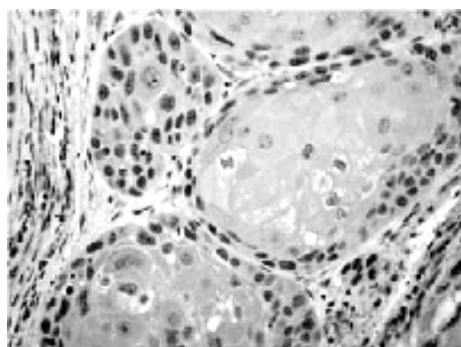


图 4 CD44V6 在有淋巴结转移口腔鳞癌中的表达 SP×400 中的表达 (SP×400)

2.3 Ezrin 蛋白和 CD44v6 在口腔鳞癌中表达的相关性分析

经过 Pearson 相关分析,Ezrin 蛋白和 CD44v6 在口腔鳞癌中的表达呈正相关($r=0.626$, $P<0.01$)。见表 3。

表 3 Ezrin 蛋白和 CD44v6 在口腔鳞癌中表达的相关性

组别	CD44v6(+)	CD44v6(-)	r	P
Ezrin 蛋白(阳性)	28	2	0.626	0.000
Ezrin 蛋白(阴性)	3	6		

3 讨论

口腔鳞癌易转移、预后差,患者 5a 生存率约 50%,提高生存率、研究口腔鳞癌的转移是如今临床研究的关键^[3]。

Ezrin 蛋白是膜-细胞骨架连接蛋白,其在肿瘤细胞中发生亚细胞定位改变,之后产生信号转导和细胞黏附等功能改变,引起肿瘤转移。近年在胆管癌^[4]、食管鳞癌^[5]等研究中发现有 Ezrin 蛋白的异常表达。本文结果显示:Ezrin 蛋白在正常口腔黏膜中不表达或显示为弱阳性,Ezrin 蛋白在口腔鳞癌中表达显著增高($P<0.01$),并且越接近癌巢中心其表达越强,提示 Ezrin 蛋白可作为口腔鳞癌诊断的参考指标;Ezrin 蛋白的表达水平随着口腔鳞癌病理分级的增高而增高($P<0.01$),提示其与口腔鳞癌的分化程度有关,当其表达越高,肿瘤恶性程度就越高;Ezrin 蛋白在有淋巴结转移的口腔鳞癌中表达水平明显高于无淋巴结转移组($P<0.01$),提示检测 Ezrin 蛋白可对口腔鳞癌的转移潜能进行评估。

CD44v6 是最早被发现与肿瘤转移有关的 CD44 变异体,可使肿瘤细胞与宿主细胞及基质黏附,促进肿瘤扩散。近年研究发现,CD44v6 表达异常与多种恶性肿瘤如食管癌、胃癌、乳腺癌等的发展和转移有关。本文结果显示:CD44v6 在口腔鳞癌中的表达高于正常口腔黏膜($P<0.05$),提示 CD44v6 可能参与了口腔鳞癌的进展;口腔鳞癌中 CD44v6 的表达水平在有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者($P<0.05$),提示 CD44v6 高表达的口腔鳞癌更容易发生淋巴结转移,患者预后较差,CD44v6 高表达可作为判断患者预后不良的因素之一。

有研究发现,Ezrin 蛋白与 CD44v6 连接,共同参与了肿瘤细胞的转移过程,尤其(下转第 96 页)

术中应注意泪囊骨性造口不可过低。形成骨性造口后,经下泪小点放入泪囊探针,帮助准确定位泪囊,并且可以提供一个张力,有助于准确有效的切开泪囊。造口处黏膜瓣的固定对手术的成功非常重要,我们按照周兵所介绍的方法选择可吸收性止血纱布及3块修剪后的高膨胀海绵保护并固定造口处黏膜瓣^[2]。此处3块高膨胀海绵分别起到扩张泪囊、挤压和固定黏膜瓣、避免造口与中鼻甲之间粘连的作用,且高膨胀海绵的渗透性不影响术后泪道冲洗。考虑到硅胶管可能造成局部慢性感染,刺激肉芽生长,且文献报道术中是否放置扩张管对慢性泪囊炎的疗效无显著影响^[6-8],两组病例术中未放置硅胶管。3)重视整个治疗过程中耳鼻喉科医师及眼科医师的密切配合,不仅仅有利于本疾病的检查和诊断,还有利于我们在手术治疗疾病的过程中加强对泪囊咽管功能的保护和利用,术后泪液的排出近似生理方式。

总之,我们认为一期鼻内镜下微创手术治疗合并鼻腔结构异常的慢性泪囊炎疗效理想,与分期手术疗效无显著差异。做好术前评估、严格掌握手术适应症,术中充分暴露泪囊内侧壁、保留黏膜瓣、减少裸露骨质,注重耳鼻喉科医师与眼科医师的协

助,可提高疗效。

参考文献:

- [1] Kim C, Kacker A, Pearlman AN, et al. Results of combined multispecialty endoscopic dacryocystorhinostomy[J]. Orbit, 2013, 32(4): 235-238.
- [2] 周兵, 黄谦, 韩德民, 等. 改良经鼻内镜下泪囊鼻腔造孔术[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2008(2): 87-91.
- [3] 刘悦胜, 肖建新, 王跃进. 半导体激光在经鼻泪囊鼻腔造口术中的应用[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2002(11): 594-595.
- [4] 张速勤, 贾沛靓, 唐海红, 等. 泪囊鼻内解剖研究及临床应用[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2006(7): 506-509.
- [5] 周兵, 唐旻. 鼻内窥镜下鼻内泪囊鼻腔造孔术(附35例疗效分析)[J]. 耳鼻咽喉头颈外科, 1994(2): 80-83.
- [6] Al-Qahtani AS. Primary endoscopic dacryocystorhinostomy with or without silicone tubing: a prospective randomized study[J]. Am J Rhinol Allergy, 2012, 26(4): 332-334.
- [7] Kim SE, Lee SJ, Lee SY, et al. Clinical significance of microbial growth on the surfaces of silicone tubes removed from dacryocystorhinostomy patients[J]. Am J Ophthalmol, 2012, 153(2): 253-257.
- [8] Gu Z, Cao Z. Silicone intubation and endoscopic dacryocystorhinostomy: a meta-analysis[J]. J Otolaryngol Head Neck Surg, 2010, 39(6): 710-713.

(收稿日期 2014-01-15)

(上接第93页)是Ezrin蛋白与CD44v6两者同时高表达时,常出现在肿瘤浸润和转移中。在结肠癌^[6]中发现,CD44v6与Ezrin蛋白发生连接并且两者在淋巴结转移中有相互协同作用。本文结果显示:在口腔鳞癌中,Ezrin蛋白和CD44v6的表达之间呈显著正相关($r=0.626$, $P<0.01$),提示两者具有协同作用共同参与了口腔鳞癌的发生和转移,当两者同时高表达时,预示着肿瘤的高侵袭性、高转移性,联合检测Ezrin蛋白和CD44v6的表达,有助于早期预测口腔鳞癌的转移情况。

本文结果显示Ezrin蛋白和CD44v6均与口腔鳞癌的生长和转移有关,且两者的阳性表达成正相关,两者均高表达的口腔鳞癌更易发生淋巴结转移。因此对Ezrin蛋白和CD44v6的联合检测可作为口腔鳞癌早期诊断及临床预后评估的有效指标。

参考文献:

- [1] Moelatehey AI. Merlin and ERM proteins: unappreciated

roles in cancer development[J]. Cancer, 2003, 3(11): 877-884.

- [2] Kim MS, Song WS, Cho WH, et al. Ezrin expression predicts survival in stage II B osteosarcomas[J]. Clin Orthop Relat Res, 2007, 459(7): 229-236.
- [3] Favier J, Plouin PF, Corvol P, et al. Angiogenesis and vascular architecture in pheochromocytomas: distinctive traits in malignant tumors[J]. Am J Pathol, 2002, 161(4): 1235-1246.
- [4] Zhang Y, Meng XL, Zhu LX, et al. Expression of ezrin and CD44v6 in the extrahepatic cholangiocarcinoma and its relationship with cancerous invasion, metastasis and prognosis[J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2009, 44(1): 96-98.
- [5] Liu J. Protein expression of Ezrin, E-cadherin, CD44v6 in Esophageal squamous cell carcinoma and prognostic value research[J]. Jilin Medical Journal, 2012, 33(26): 5605-5607.
- [6] Lu HQ, Zhen J. Ezrin Protein: Biological characteristic and its influence in tumor metastasis[J]. Cytobiology Magazine, 2005, 27(3): 257-262.

(收稿日期 2014-01-09)