

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.15.005

文章编号: 1005-8982(2020)15-0029-04

原发性肝细胞癌中 Ezrin 和 Survivin 的表达 及其与淋巴结转移的关系*

韦花媚, 陆海善, 韦仕喜, 黎俊楠, 黄群芳

(右江民族医学院附属医院 病理科, 广西 百色 533000)

摘要: **目的** 探讨原发性肝细胞癌中 Ezrin 和 Survivin 的表达及其与淋巴结转移的相关性。**方法** 选取 2014 年 3 月—2018 年 5 月右江民族医学院附属医院接受手术切除的原发性肝细胞癌患者 98 例, 采集组织石蜡标本, 其中淋巴结转移 58 例, 无淋巴结转移 40 例。9 例肝组织正常样本采自正常肝组织。检测不同分组 Ezrin 和 Survivin 的表达水平。**结果** 正常对照组、无淋巴结转移肝癌组及有淋巴结转移肝癌组中 Ezrin 阳性表达率分别为 33.3%、42.5% 和 69.0%, 有淋巴结转移肝癌组 Ezrin 的表达水平高于无淋巴结转移肝癌组 ($P < 0.05$)。正常对照组、无淋巴结转移肝癌组及有淋巴结转移肝癌组 Survivin 阳性表达率分别为 0.0%、50.0% 和 84.5%, 有淋巴结转移肝癌组 Survivin 的表达水平高于正常对照组和无淋巴结转移肝癌组 ($P < 0.05$)。Spearman 法相关性分析提示, Ezrin 与 Survivin 的表达与淋巴结转移呈正相关 ($P < 0.05$)。**结论** Ezrin 与 Survivin 在原发性肝细胞癌中的高表达与原发性肝细胞癌的侵袭性行为关系密切, 可作为评估早期原发性肝细胞癌预后的指标之一。

关键词: 原发性肝细胞癌 / 癌, 肝细胞; Ezrin; Survivin; 淋巴结转移; 相关性

中图分类号: R735.7

文献标识码: A

Expression of Ezrin and Survivin in primary liver cancer and its relationship with metastasis*

Hua-mei Wei, Hai-shan Lu, Shi-xi Wei, Jun-nan Li, Qun-fang Huang

(Department of Pathology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of Ezrin and Survivin in primary liver cancer and its correlation with metastasis. **Methods** A total of 98 paraffin-embedded specimens of primary liver cancer were surgically removed from March 2014 to May 2018. Among these, 58 cases were metastasized and 40 cases were non-metastatic. Nine cases of normal liver tissue were collected from normal liver tissue. The expression levels of different groups Ezrin and survivin were detected. **Results** The positive expression rates of Ezrin in normal control group, non-metastatic liver cancer group and metastatic liver cancer group were 33.3%, 42.5% and 69.0%, respectively. The expression level of Ezrin in metastatic liver cancer was higher than that in non-metastasis liver cancer group ($P < 0.05$). The positive expression rates of Survivin in normal control group, non-metastatic liver cancer group and metastatic liver cancer group were 0.0%, 50.0% and 84.5%, respectively. The expression level of Survivin in metastatic liver cancer was higher than that in normal control group and non-metastasis liver cancer group ($P < 0.05$); the expression level of Survivin in the non-metastatic liver cancer group was higher than that in the normal control group ($P < 0.05$). According to Spearman correlation analysis, the expression of Ezrin and Survivin was positively correlated with metastatic liver cancer ($P < 0.05$). **Conclusion** The high expression of Ezrin and

收稿日期: 2020-02-10

* 基金项目: 广西肝胆疾病临床医学研究中心资助 (No: 桂科 AD1712902)

Survivin in primary liver cancer is closely related to the aggressive behavior of primary liver cancer, and it can be used as one of the indicators to evaluate the prognosis of early primary liver cancer.

Keywords: primary liver cancer/hepatocellular carcinoma; Ezrin; Survivin; lymphatic metastasis; correlation

原发性肝细胞癌为一种常见的消化系统恶性肿瘤,在发达国家中的病死率居各类恶性肿瘤的前列^[1]。随着对肝癌发病机制的深入研究,发现肝癌细胞淋巴结转移是造成患者死亡的主要原因之一,因此,研究与肝癌细胞淋巴结转移相关基因蛋白表达变化可为肝癌的诊疗提供可靠的生物标志物^[2]。Ezrin 属 ERM (ezrin, radixin, moesin) 成员,为膜细胞骨架连接蛋白,不仅在细胞的运动、迁移、黏附、有丝分裂等生理功能中起关键作用,还参与多种恶性肿瘤的淋巴结转移^[3]。研究表明^[4],Ezrin 主要通过调节信号传导和黏附分子的途径参与细胞与基质、细胞与细胞之间的相互作用。Survivin 属凋亡抑制因子家族,在抗凋亡机制中发挥重要作用,特异性表达于细胞的 G₂/M 期,且仅在肿瘤恶性转化的早期表达,可有效促进部分损伤恶性转化,但其具体的活化机制尚未阐明^[5]。本研究通过检测原发性肝细胞癌前病变组织和原发性肝细胞癌组织 Ezrin 和 Survivin 的表达水平,探讨二者与原发性肝细胞癌浸润和淋巴结转移的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 3 月—2018 年 5 月右江民族医学院附属医院接受手术切除的 98 例原发性肝细胞癌患者的癌组织标本。其中,男性 68 例,女性 30 例;年龄 46 ~ 85 岁,平均 (67.52 ± 6.48) 岁;病程 1 ~ 7 年,平均 (4.21 ± 3.75) 年。98 例患者中,淋巴结转移 58 例 (有淋巴结转移组),无淋巴结转移 40 例 (无淋巴结转移组)。9 例肝组织正常标本采自正常肝组织 (正常对照组)。按 Edmondson 法^[6]进行分级,根据肿瘤形态和分化程度分为 I ~ IV 级,其中 I 级 10 例,均无淋巴结转移;II 级 36 例,其中,20 例有淋巴结转移,16 例无淋巴结转移;III 级 38 例,其中,24 例有淋巴结转移,14 例无淋巴结转移;IV 级 14 例,均有淋巴结转移。以上标本均经病理检查核实。

1.2 主要试剂

Ezrin 鼠抗人单克隆抗体购自武汉博士德公司,Survivin 兔抗人单克隆抗体购自福州迈新公司。

1.3 操作方法

所有标本用 10% 甲醛固定后常规石蜡包埋,4 μm 连续切片,最后进行苏木精-伊红 (HE) 染色、SP 免疫组织化学染色及光学显微镜观察。根据 SP 试剂盒说明书步骤进行操作,一抗浓度为 1 : 500,分别与阳性对照比较。磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 替代一抗作阴性对照。

1.4 结果判定

分别用高倍镜和低倍镜观察切片,细胞膜或细胞质内出现棕黄色颗粒为 Ezrin 及 Survivin 蛋白阳性表达。每个切片随机选择 5 个高倍视野观察,根据染色强度和阳性细胞数所占百分比计分。染色强度:无色计 0 分,淡黄色计 1 分,棕黄色计 2 分;阳性细胞数:≤ 5% 计 0 分,>5% ~ 25% 计 1 分,>25% ~ 50% 计 2 分,>50% 计 3 分。最后计算染色强度与阳性细胞数得分的乘积,0 分为 (-),1、2、3 分为弱阳性 (+),4、5 分为中度阳性 (++) ,6 分为强阳性 (+++)。

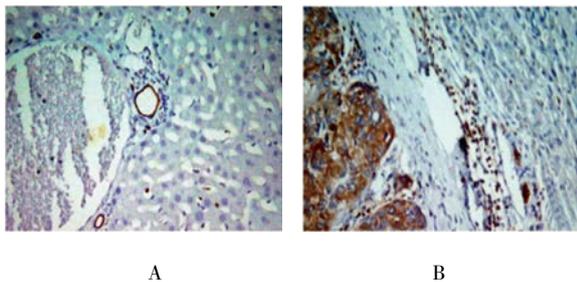
1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件,计数资料以率 (%) 表示,3 组资料比较采用 χ^2 检验,相关性分析采用 Spearman 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 原发性肝细胞癌组织与正常肝组织中 Ezrin 表达的比较

Ezrin 阳性表达于细胞质或细胞膜上,在原发性肝细胞癌组织中呈片状弥散分布,主要为弱阳性至中度阳性表达 (见图 1)。正常对照组、无淋巴结转移组与有淋巴结转移组 Ezrin 阳性表达率分别为 33.3%、42.5% 和 69.0%,3 组比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.795$, $P = 0.012$);有淋巴结转移组 Ezrin 的阳性表达水平高于无淋巴结转移组 ($\chi^2 = 6.814$, $P = 0.009$);无淋巴结转移组 Ezrin 阳性表达水平与正常对照组比较,差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.256$, $P = 0.613$)。见表 1。



A: 正常肝组织中 Ezrin 蛋白呈阴性表达。B: 原发性肝细胞癌组织中 Ezrin 蛋白主要在细胞质或细胞膜中表达, 呈棕黄色。

图 1 正常肝组织和原发性肝细胞癌组织中 Ezrin 蛋白的表达 (SP × 200)

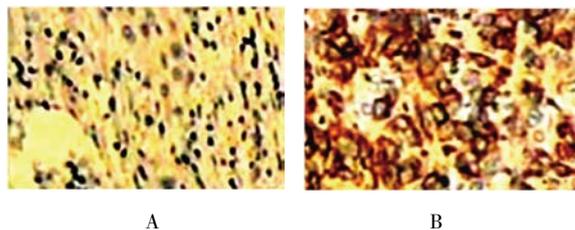
表 1 3 组 Ezrin 阳性表达率的比较

组别	n	(-) 例	(+) 例	(++) 例	(+++) 例	阳性率/ %
正常对照组	9	6	2	1	0	33.3
有淋巴结转移组	58	18	31	6	3	69.0
无淋巴结转移组	40	23	13	4	0	42.5

2.2 原发性肝细胞癌组织与正常肝组织中 Survivin 表达的比较

Survivin 阳性表达于细胞质, 在原发性肝细胞癌组织中呈片状弥散分布, 主要为中至强阳性表达 (见图 2)。正常对照组、无淋巴结转移组与有淋巴结转移组 Survivin 阳性表达率分别为 0.0%、50.0% 和 84.5%, 3 组比较差异有统计学意义 ($\chi^2=30.134, P=0.000$); 有淋巴结转移组 Survivin 的阳性表达水平高于正常对照组和无淋巴结转移组 ($\chi^2=28.302$ 和 13.510 , 均 $P=0.000$); 无淋巴结转移组 Survivin 阳性

表达水平高于正常对照组 ($\chi^2=7.603, P=0.006$)。见表 2。



A: 正常肝组织中 Survivin 蛋白呈阴性表达; B: 原发性肝细胞癌组织中 Survivin 蛋白主要在细胞质中表达, 呈棕黄色。

图 2 正常肝组织和原发性肝细胞癌组织中 Survivin 蛋白的表达 (SP × 200)

表 2 3 组 Survivin 阳性表达率的比较

组别	n	(-) 例	(+) 例	(++) 例	(+++) 例	阳性率/ %
正常对照组	9	9	0	0	0	0.0
有淋巴结转移组	58	9	21	18	10	84.5
无淋巴结转移组	40	20	10	9	1	50.0

2.3 Ezrin、Survivin 表达与原发性肝细胞癌临床分级的关系

I ~ IV 级的原发性肝细胞癌 Ezrin 与 Survivin 的表达差异无统计学意义 ($P>0.05$), 提示 Ezrin 与 Survivin 表达与原发性肝细胞癌的临床分级无关。见表 3。

2.4 Ezrin、Survivin 表达的相关性

Spearman 相关性分析显示, 有淋巴结转移的肝细胞癌组织中, Ezrin 与 Survivin 的表达呈正相关 ($r_s=0.458$ 和 0.489 , 均 $P=0.000$)。

表 3 不同临床分级 Ezrin 和 Survivin 阳性表达的比较 例

临床分级	n	Ezrin		χ^2 值	P 值	Survivin		χ^2 值	P 值
		-	+			-	+		
I	10	4	6	0.208	0.976	3	7	0.317	0.957
II	36	16	20			10	26		
III	38	15	23			11	27		
IV	14	6	8			5	9		

3 讨论

通过加强对肝癌分子病理机制的研究, 找出与肝癌发生、发展、复发与淋巴结转移相关的关键调控因素具有十分重要的临床意义。越来越多的研究表明^[7],

细胞骨架连接蛋白 Ezrin 和细胞黏附分子是影响细胞黏附功能和肿瘤细胞恶性进展的重要物质。Ezrin 在肿瘤发展、浸润和淋巴结转移进程中发挥关键作用^[8-9]。有文献报道^[10], Ezrin 的表达决定恶性肿瘤的吞噬功能,

而吞噬功能则与恶性肿瘤淋巴结转移密切相关。本研究发现,有淋巴结转移组 Ezrin 的表达水平高于无淋巴结转移组,说明 Ezrin 与肿瘤的进展过程关系密切,其表达随着恶性程度的增加呈上升趋势。

Survivin 蛋白是凋亡抑制蛋白家族的成员之一, Survivin 具有肿瘤特异性,只表达于肿瘤和胚胎组织中,且与肿瘤的分化增殖、浸润程度、淋巴结转移存在密切关联^[11]。Survivin 属凋亡抑制因子家族,定位于 17q25 染色体,编码 143 个氨基酸;其独特之处在于仅有一个氨基酸 Zn²⁺ 结合的 BIR 区,由一个卷曲螺旋结构代替缺乏缩氨酸的指环结构,而该结构与 Survivin 的抗凋亡机制关系密切^[12]。研究表明^[13],正常成人组织除了胎盘和胸腺,其他组织的 Survivin 含量较低,而在肿瘤细胞中 Survivin mRNA 和蛋白呈高表达状态。结肠息肉、鲍恩病、乳腺腺瘤等癌前病变中也出现 Survivin 的表达,提示 Survivin 可出现于肿瘤恶性转化的早期,并参与恶性损伤转化的整个进程,但具体的参与方式尚不清楚。本研究中,有淋巴结转移组 Survivin 的表达水平高于正常对照组和无淋巴结转移组;无淋巴结转移组 Survivin 表达水平高于正常对照组,说明 Survivin 与肿瘤的进展过程关系密切,其表达随着恶性程度的增加呈上升趋势,与文献研究结果相符^[14]。另外,本文发现 Survivin 蛋白在原发性肝癌组织中呈过量表达的形式,推测 Survivin 的异常表达可能发生于原发性肝癌的早期阶段。分析其原因可能为原发性肝癌早期阶段通过抑制细胞凋亡,而一些存在缺陷的基因细胞会继续不停地生长,从而促进基因突变的聚集,进而使细胞发生恶性转化,诱导原发性肝癌的发生。分析 Survivin 蛋白的表达与临床病理的相关性,结果发现 Survivin 与淋巴结转移存在密切关联,随淋巴结转移, Survivin 蛋白水平呈高表达,高表达的 Survivin 参与肿瘤细胞的生长及淋巴结转移。

原发性肝癌转移的主要途径是淋巴结转移,可在早期出现,是原发性肝癌判断预后的重要因素之一。本研究中,原发性肝癌 I ~ IV 级患者 Survivin 的表达水平无差异,说明 Survivin 的表达水平与临床分级无关。而淋巴结转移组的 Survivin 的表达

水平高于无淋巴结转移组,提示 Survivin 的表达与淋巴结转移关系密切。

综上所述, Ezrin 与 Survivin 在原发性肝癌中的高表达与原发性肝癌的侵袭性行为关系密切,可作为评估早期原发性肝癌预后的指标之一。

参 考 文 献:

- [1] SHAN H G, HUANG C H, HUANG D M. Ezrin promotes invasion and metastasis of gastric cancer by up-regulating YAP protein expression[J]. World Chin J Digestol, 2015, 23(23): 3683-3686.
- [2] 曹月敏,王丽,王兰辉. 浅谈晚期肝癌的综合治疗[J]. 中国微创外科杂志, 2015, 21(6): 481-484.
- [3] ZHANG Y, REN J S, SHI J F, et al. International trends in primary liver cancer incidence from 1973 to 2007[J]. BMC Cancer, 2015, 15(1): 94.
- [4] EUGENIE S R. Cancer trial errors revealed[J]. Nature, 2011, 469(7329): 139-140.
- [5] 孙旭日,李新丰,王伟,等. Rac1 VEGF 在肝癌中的表达和肿瘤血管形成关系[J]. 中国肿瘤临床, 2013, 51(4): 212-216.
- [6] XU W, GE P L, LIAO W J, et al. Edmondson grade predicts survival of patients with primary clear cell carcinoma of liver after curative resection: a retrospective study with long-term follow-up[J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2017, 13(5): e312-e320.
- [7] 张骏. Maspin 在原发性肝癌中的表达及其与 Caspase-3、MVD 的关系[J]. 江苏医药, 2013, 39(1): 46-48.
- [8] 叶胜龙. 关注原发性肝癌多学科治疗[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2014, 6(5): 1-3.
- [9] 赵莹,孙莉,黎功. 对肝癌放疗作用的再认识[J]. 肿瘤防治研究, 2013, 40(4): 395-399.
- [10] 宁克江. 凋亡抑制因子 Survivin 在急性胰腺炎发病机制中的作用进展[J]. 中国医药导报, 2013, 10(21): 38-40.
- [11] ZHANG C H, CAO X F, GEI Y X, et al. Silencing of survivin by YM155 induces apoptosis and growth arrest in hepatocellular carcinoma cells[J]. Oncol Lett, 2015, 10(3): 1627.
- [12] COUMAR M S, TSAI F Y, KANWAR J R, et al. Treat cancers by targeting survivin: just a dream or future reality[J]. Cancer Treat Rev, 2013, 39(7): 802-811.
- [13] 王莉,朱艳丽,辛华,等. 大肠癌中 Survivin 和 nm23-H1 的表达及其联合检测的临床意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(22): 2213-2215.
- [14] 冯子明,袁中平,董谢平,等. 转移瘤 CD34 及微血管表达的研究[J]. 实用临床医学, 2014, 15(6): 33.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 韦花媚,陆海善,韦仕喜,等. 原发性肝癌中 Ezrin 和 Survivin 的表达及其与淋巴结转移的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(15): 29-32.