

Ezrin 蛋白及其在妇科恶性肿瘤中的研究进展

王文普

作者单位:300456 天津市,天津港口医院病理科

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2012.01.015

Ezrin 蛋白又称 cytovillin, p81 或 villin-2, 是 1981 年首先作为表皮生长因子受体蛋白酪氨酸激酶的底物被发现的, 于 1983 年被 Bretscher^[1]在鸡的小肠上皮细胞刷状缘中分离纯化出来并于 2004 年分别被 Khanna 等^[2]和 Yu 等^[3]利用生物芯片技术证实了其与其骨肉瘤及横纹肌肉瘤的转移有关。Ezrin 蛋白被发现后的最初 10 年并未受到重视, 只被认为是细胞骨架的一个组成成分, 目前许多研究均表明 Ezrin 蛋白与多种肿瘤的发生、发展, 尤其与侵袭、转移及预后有关, 进一步研究 Ezrin 蛋白将为肿瘤的治疗提供新的靶点。本文对 Ezrin 蛋白的主要特点及其在妇科恶性肿瘤、妇科疾病中的应用进展作一综述。

1 Ezrin 蛋白的结构

Ezrin 蛋白为膜-细胞骨架连接蛋白, 由 VL2 基因编码, 定位于染色体 6q25.2~q26, mRNA 全长为 3166 bp, 由 585 个氨基酸组成, 其相对分子质量 81×10^3 , 由 3 个主要部分组成: N 端是一个高度保守的球状氨基酸末端, 与膜相连, 可结合 CD33、CD44、ICAM1 和 ICAM2 的细胞黏附分子; 中间是伸长的 α 螺旋结构; C 端是带正电的 F-肌动蛋白结合区, 在该区内有 1 个苏氨酸残基(Thr567), 是 Ezrin 蛋白最重要的磷酸化活化位点。

2 Ezrin 蛋白的表达状况与功能

Ezrin 蛋白在肿瘤细胞中可弥漫分布于细胞质和细胞膜, Ezrin 蛋白的过度表达或其亚细胞定位的改变可能参与肿瘤转移的多个环节, 对于肿瘤的发生、发展及其转移具有重要作用^[4]。而 Ezrin 蛋白在正常细胞中主要是分布于肌动蛋白丰富的表面结构, 如微绒毛和伪足等, 主要与微绒毛的形成、细胞分裂时收缩环的形成及细胞黏附定位等有关, 如果缺失将会影响到其正常功能^[5]。其他的功能还包括调节细胞的伸展与极性、迁移与生长等^[6]。

3 Ezrin 蛋白表达调控机制的研究

Six1 蛋白是 Six 同源异型蛋白家族成员之一, 在横纹肌的形成过程中调节基因转录发挥重要功能。在小鼠中可因 Six1 的缺乏导致其横纹肌和其他器官的发育不正常而不能够生存^[7]。Yu 等^[8]在比较高转移和低转移能力的横纹肌肉瘤

细胞株时发现, Six1 蛋白和 Ezrin 蛋白在前者中都表达上调, 同时 Ezrin 蛋白高表达与 Six1 蛋白高表达是相关的。高书颖等^[9]在 HeLa 细胞中用报道基因检测分析研究发现, VL2 基因上游的-146/-32 和-1324/-890 区是其主要的转录调控区。该区存在大量的特异性 $\beta 1$ 糖蛋白 (specific $\beta 1$ glycoprotein, Sp1) 结合位点。推测 Sp1 可能是调控 VL2 基因转录的重要转录因子。上述研究表明, 在人类的一些肿瘤中存在 Ezrin 蛋白过表达, 可能与其相关基因扩增有关。

4 Ezrin 蛋白在肿瘤的发生、发展及转移中的作用

4.1 Ezrin 蛋白与细胞黏附

E-cadherin 与 CD44 均是细胞黏附分子, 研究^[10]发现 Ezrin 蛋白影响 E-cadherin 在细胞膜上的定位, 富含活化 Ezrin 蛋白的细胞通过激活 RAC1 将 E-cadherin 从细胞膜募集到细胞内, 从而破坏细胞-细胞间连接, 引起细胞黏附下降, 导致细胞脱落和侵袭; 而 CD44 主要是通过参与调节细胞与细胞、细胞与基质之间的相互作用在肿瘤的发展、侵袭和转移过程中起着重要作用的。Yu 等^[9]在横纹肌肉瘤细胞的研究中发现采用 RNAi 破坏 Ezrin 蛋白, 也导致了细胞分支形态的产生和新生血管生成, 提示肿瘤中 E-cadherin 和 CD44 的失衡可能与 Ezrin 蛋白过度表达有关。王静等^[11]在非小细胞肺癌中的研究显示, Ezrin 蛋白及 CD44V6 在伴有淋巴转移组中的表达均高于不伴有淋巴转移组, 且两者呈正相关性, 这提示 Ezrin 蛋白可通过与 CD44 相互作用而在促进肿瘤转移中发挥作用。

4.2 Ezrin 蛋白与肿瘤转移

研究人员^[12]采用不同的定量手段对不同肿瘤的高低转移能力的细胞系进行了研究分析, 实验结果发现, 低转移细胞系的吞噬能力明显低于高转移细胞系的吞噬能力, 因此认为, 恶性肿瘤的吞噬能力与它的转移能力呈正相关。对于 Ezrin 蛋白而言, 它对巨噬细胞的吞噬作用的重要性早已有报道, 并且众多的研究已表明, Ezrin 蛋白与多种不同来源的肿瘤转移高度相关。Ding 等^[13]采用免疫组化检测肺癌及正常肺组织标本中 CD44V6 与 Ezrin 蛋白的表达, 结果发现肺癌组织中 Ezrin 蛋白的阳性表达率较正常肺组织降低, Ezrin 蛋白表达下降与有无区域淋巴结及远处转移有关。张肖肖等^[14]通过免疫组化研究发现 Ezrin 蛋白在胃癌组

组织中高表达,且阳性表达率与胃癌发生淋巴结转移呈正相关。张艳廷等^[15]通过免疫组化检测 Ezrin 蛋白和 CD44V6 在喉鳞癌组织中及癌旁正常鳞状上皮中的表达,结果显示 Ezrin 蛋白和 CD44V6 在喉鳞癌中表达升高。袁艳龙等^[16]研究结果表明,Ezrin 蛋白与乳腺浸润性导管癌的浸润转移密切相关。Ezrin 是多条信号途径的交叉点,其高表达可能激活多种信号途径,从而增强乳腺肿瘤细胞的存活、运动、转移等恶性特征。另外,Ezrin 蛋白也参与细胞的凋亡过程,其可能通过激活 P13K 阻止转移的瘤细胞发生凋亡,促使转移灶形成。这些也与其促进肿瘤转移有密切关系。

5 Ezrin 蛋白在女性生殖系统恶性肿瘤中的作用

5.1 Ezrin 蛋白与卵巢癌 Moilanen 等^[17]采用组织微阵列技术检测了 440 例浆液性卵巢癌的 Ezrin 蛋白表达,结果显示在正常卵巢组织中,Ezrin 蛋白着色具有较强的表达,而浆液性卵巢癌细胞中 Ezrin 蛋白则弥散分布于细胞质和细胞膜,且着色强弱不等。Ezrin 蛋白阴性或弱表达的患者组织学分级高、生存期缩短。胡雪梅等^[18]的实验结果与其相类似,然而与其研究结果不同的是,Chen 等^[19]发现上皮性卵巢癌中 Ezrin 蛋白呈高表达,且与肿瘤转移密切相关。从以上两种研究结果看出 Ezrin 蛋白的表达与卵巢癌的关系目前尚未明确,需要进一步的研究。

5.2 Ezrin 蛋白与子宫内膜癌 Ezrin 蛋白与子宫内膜癌关系密切。Kobel 等^[20]对 164 位子宫内膜癌患者的临床标本进行了定量 PCR 和免疫组化研究,发现正常增殖期的子宫内膜也表达 Ezrin 蛋白,可是癌组织的 Ezrin 蛋白表达则是更强。Ezrin 蛋白表达增强是国际妇产科联盟 I 期的子宫内膜癌的一个新的独立的预后指标——表达越高的患者预后可能越差。吴琼燕等^[21]和 Ohtani 等^[22]对 Ezrin 蛋白在子宫内膜癌上的表达则作了更进一步的研究,他们分别对正常子宫内膜、单纯型增生过长的子宫内膜、复杂型增生过长的子宫内膜、不典型增生过长的子宫内膜、子宫内膜癌及其原发灶和转移灶标本分别进行了 Ezrin 蛋白的 Western Blot 和免疫组化分析。结果发现 Ezrin 蛋白在子宫内膜癌和不典型增生过长的子宫内膜的表达高于正常子宫内膜、单纯型增生过长的子宫内膜、复杂型增生过长的子宫内膜,在转移灶表达高于原发灶,而与临床分型和组织病理分型无关。

5.3 Ezrin 蛋白与绒毛膜癌 Karmakar 等^[23]研究显示,人绒毛膜癌细胞系 JEG-3 经过 L-1 β 培育后,CD44 表达增强而 Ezrin 蛋白的表达则是下降的,JEG-3 细胞与基质间黏附加强,而细胞与细胞间的黏附则是减弱的,但是侵袭力却增强了。该研究结果与其他多种肿瘤的研究结果不同,Ezrin 蛋白表达下降,绒毛膜癌细胞侵袭力反而增强,不过这需要更多的相关资料来研究证实。

5.4 Ezrin 蛋白与宫颈癌 宫颈癌是最常见的妇科恶性

肿瘤之一,其发生和转移是导致肿瘤患者死亡的重要原因。Wang 等^[24]采用免疫组化检测了 40 例子宫颈浸润性鳞状细胞癌,38 例原位癌,28 例上皮内瘤变和 15 例正常子宫颈组织中 Ezrin 蛋白和 IL-6 及 MMP-9 的表达。结果 Ezrin 蛋白在子宫颈浸润性鳞状细胞癌中的表达高于正常对照组及上皮内瘤变组,表明 Ezrin 蛋白在子宫颈浸润性鳞状细胞癌中的高表达与子宫颈癌的侵袭性有关。王秋兰等^[25]采用免疫组化检测 Ezrin 蛋白和 IL-6 在宫颈癌中的表达,结果显示 Ezrin 蛋白和 IL-6 在宫颈浸润性鳞状细胞癌中的表达高于正常对照组和 CIN I 和 CIN II。CD44 在宫颈癌发生发展中的作用已经被证实,CD44/ERM 复合物在众多肿瘤的发展、迁移中起着重要作用,因此,Ezrin 蛋白有可能通过和 CD44 的交联而在子宫颈癌的发生和转移中发挥作用。

6 Ezrin 蛋白与妇科其他疾病的关系

6.1 Ezrin 蛋白与感染 女性生殖系统感染支原体和衣原体较为常见,Swanson 等^[26]报道关于沙眼衣原体感染与 Ezrin 蛋白的关系,在实验过程中发现沙眼衣原体与宿主细胞接触时,细胞内有 70 000 种肽酪氨酸位点发生磷酸化,利用免疫蛋白质组方法检测到这种多肽就是 Ezrin 蛋白。用聚焦显微镜发现肌动蛋白丝和激活的 Ezrin 蛋白共同定位于沙眼衣原体黏附入侵宿主细胞的位点,通过细胞转染显性负相的 Ezrin 蛋白或 siRNA 干扰使 Ezrin 蛋白功能失活,观察到被干扰后的细胞对沙眼衣原体易感性降低,这种抑制感染是发生在沙眼衣原体入侵细胞阶段。因此,Ezrin 蛋白参与了某些病毒、细菌感染的某一环节,推测 Ezrin 也可能通过同样的机制参与妇科感染性疾病的发病。

6.2 Ezrin 蛋白与子宫内膜异位症(endometriosis, EMs) 关于 Ezrin 蛋白与 EMs 国内未见报道,近来国外仅有两篇报道。Ornek^[27]利用 Western Blot 分析和免疫组化方法,比较 EMs 中在位、异位及正常子宫内膜的蛋白表达,推测到 EMs 异位及在位内膜 Ezrin 蛋白表达水平高于正常对照组,推测异位内膜可能具有更高的侵袭性。在此之前的 Slater 等^[28]利用免疫组化的方法检测 Ezrin 蛋白在正常内膜、异位内膜及子宫内膜癌的表达,发现 Ezrin 在异位内膜及子宫内膜癌的表达低于正常对照组,认为这种表达有助于细胞脱离原发部位,转移到其他远处种植生长,同时推测 EMs 可能与内膜癌有着共同的发展过程。两项研究结果不一致,关于异位内膜中 Ezrin 蛋白表达报道比较少且存在争议,需要通过实验进一步证实,但两篇报道都认为 Ezrin 蛋白在异位内膜的表达与正常内膜比较存在差异,Ezrin 蛋白可能参与了 EMs 发病的某一环节。

综上所述,Ezrin 蛋白与各组织类型、各部位肿瘤的发生、发展有着重要的关系,甚至已经证实可以作为某些肿瘤的临床生物标志物。对肿瘤早期诊断、鉴别诊断和预后分析有着

良好的临床价值。但是现阶段的研究还有很多问题值得我们去探讨,如:目前研究的 Ezrin 蛋白在不同的肿瘤有着不同的表达情况,甚至对同一肿瘤的表达情况,不同实验室提供的实验结果也大相径庭。这些数据差异是实验误差还是基因的特性,还需要大量研究进一步确实。目前医学界专家学者不遗余力的攻克肿瘤难题,各种癌基因的发现也为科学家们的研究提供了一道曙光。

7 参考文献

- Bretscher A. Purification of an 80 000-dalton protein that is a component of the isolated microvillus cytoskeleton, and its localization in nonmuscle cells. *J Cell Biol*, 1983, 97:425-432.
- Khanna C, Wan X, Bose S, et al. The membrane cytoskeleton linker Ezrin is necessary for osteosarcoma metastasis. *Nat Med*, 2004, 10: 182-186.
- Yu Y, Khan J, Khanna C, et al. Expression profiling identifies cytoskeletal organizer Ezrin and the developmental homeoprotein Six-1 as key metastatic regulators. *Nat Med*, 2004, 10: 175-181.
- 肖贤军, 谌南武. Ezrin 蛋白与肿瘤的关系. *实用医学杂志*, 2009, 25: 653-659.
- Bonilha VL, Raybom ME, Saotome I, et al. Microvilli defects in retinas of Ezrin knockout mice. *Exp Eye Res*, 2006, 82: 720-729.
- Lan M, Kojima M, Murata M, et al. Phosphorylation of Ezrin enhances microvillus length via a p38 MAP-kinase pathway in an immortalized mouse hepatic cell line. *Exp Cell Res*, 2006, 312: 111-120.
- Li X, Oghi KA, Zhang J, et al. Eya protein phosphatase activity regulates Six1-Dach-Eya transcriptional effects in mammalian organogenesis. *Nature*, 2003, 426: 247-254.
- Yu Y, Davicioni E, Triche TJ, et al. The homeoprotein six1 transcriptionally activates multiple protumorigenic genes but requires ezrin to promote metastasis. *Cancer Res*, 2006, 66: 1982-1989.
- 高书颖, 许丽艳, 崔磊, 等. HeLa 细胞中 Ezrin 基因主要转录调控区的定位分析. *肿瘤*, 2008, 28: 101-103.
- Wheelock MJ, Johnson KR. Cadherin-mediated cellular signaling. *Curr Opin Cell Biol*, 2003, 15: 509-514.
- 王静, 韩义明, 王国平, 等. 非小细胞肺癌中 Ezrin 和 CD44V6 的表达及意义. *临床与实验病理学杂志*, 2008, 24: 219-221.
- Defacque H, Egeberg M, Habermann A, et al. Involvement of ezrin/moesin in de novo actin assembly on phagosomal membranes. *EMBO J*, 2000, 19: 199.
- Ding Xue-song. Significance of CD44V6 and Ezrin expression in human non-small cell lung cancer. *J Chongqing Med University*, 2009, 34: 862-866.
- 张肖肖, 武洋, 杨君, 等. Ezrin 和 c-Met 基因编码蛋白表达与胃癌发生和转移的关系及意义. *中国肿瘤临床*, 2009, 36: 404-408.
- 张艳廷, 皇甫辉, 田俊. Ezrin 蛋白和 CD44V6 在喉鳞癌组织中的表达及临床意义. *山西中医学院学报*, 2009, 10: 50-52.
- 袁艳龙, 何春年. 乳腺与女性生殖系统恶性肿瘤中 Ezrin 的表达及意义. *临床与实验病理学杂志*, 2009, 25: 327-330.
- Moilanen J, Lassus H, Leminen A, et al. Ezrin immunoreactivity in relation to survival in serous ovarian carcinoma patients. *Gynecol Oncol*, 2003, 90: 273-281.
- 胡雪梅, 张继学, 王瑞军, 等. Ezrin, E-cadherin 和 β -catenin 在卵巢癌组织中的表达及临床意义. *兰州大学学报(医学版)*, 2010, 36: 31-34.
- Chen Z, Fadiel A, Feng Y, et al. Ovarian epithelial carcinoma tyrosine phosphorylation, cell proliferation, and ezrin translocation are stimulated by interleukin 1 alpha and epidermal growth factor. *Cancer*, 2001, 92: 3068-3075.
- Kobel M, Langhammer T, Huttelmaier S, et al. Ezrin expression is related to poor prognosis in FIGO stage I endometrioid carcinomas. *Mod Pathol*, 2006, 19: 581-587.
- 吴琼燕, 万小云, 谢幸, 等. Ezrin 和 flt1 在子宫内膜癌中的表达及其意义. *实用肿瘤学杂志*, 2006, 21: 218-222.
- Ohtani K, Sakamoto H, Rutherford T, et al. Ezrin, a membrane-cytoskeletal linking protein, is highly expressed in atypical endometrial hyperplasia and uterine endometrioid adenocarcinoma. *Cancer Lett*, 2002, 179: 79-86.
- Karmakar S, Das C. Modulation of ezrin and E-cadherin expression by IL-1 beta and TGF-beta1 in human trophoblasts. *J Reprod Immunol*, 2004, 64: 9-29.
- Wang Qiu-lan, Zhang Xu, Yang Guo-rong, et al. Expression of Ezrin IL-6 and MMP-9 in cervical carcinoma and their relationship with invasion and metastasis. *Clin Exp Pathol*, 2007, 23: 699-702.
- 王秋兰, 张煦. 宫颈癌中 Ezrin 和 IL-6 的表达及其相关性. *兰州大学学报(医学版)*, 2009, 35: 13-19.
- Swanson KA, Crane DD, Caldwell HD. Chlamydia trachomatis species-specific induction of ezrin tyrosine phosphorylation functions in pathogen entry. *Infect Immun*, 2007, 75: 5669-5677.
- Ornek T, Fadiel A, Tan O, et al. Regulation and activation of ezrin protein in endometriosis. *Hum Reprod*, 2008, 23: 2104-2112.
- Slater M, Cooper M, Murphy CR, et al. The cytoskeletal alpha-actinin, ezrin, and talin are down-expressed in endometriosis and endometrioid carcinoma compared with normal uterine epithelium. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2007, 15: 170-174.

(收稿日期: 2011-06-15)

(本文编辑: 杨军)