

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2011.01.019

# Ezrin 和 AKT2 在乳腺癌组织中的表达及意义

时志民<sup>1</sup>, 郭金丽<sup>2</sup>, 袁 征<sup>1</sup>, 王秀清<sup>1</sup>, 王 蕾<sup>1</sup>, 王如美<sup>1</sup>, 王 立<sup>1</sup>, 刘惠民<sup>1</sup>

## Expressions and Significance of Ezrin and AKT2 in Human Breast Cancer Tissue

SHI Zhi-min<sup>1</sup>, GUO Jin-li<sup>2</sup>, YUAN Zheng<sup>1</sup>, WANG Xiu-qing<sup>1</sup>, WANG Lei<sup>1</sup>, WANG Ru-mei<sup>1</sup>, WANG Li<sup>1</sup>, LIU Hui-min<sup>1</sup>

1. Department of Medicine, Hebei University of Engineering, Handan 056029, China; 2. Health Center, Hebei Vocational College of Judicial Police

**Abstract: Objective** To investigate the expressions and clinical significance of Ezrin and AKT2 in human breast carcinoma. **Methods** The expression of Ezrin and AKT2 in 56 cases of breast carcinoma and 30 cases of adjacent nontumor normal breast tissue was examined by SP immunohistochemistry method. The relationships between these two factors and the clinicopathological factors were evaluated. **Results** (1) The positive expression of Ezrin and AKT2 in 56 cases of breast carcinoma was 62.50% and 76.79% respectively. There was a significant different between carcinoma and normal breast tissue ( $P < 0.05$ ). (2) The overexpression of Ezrin in breast carcinoma had no relationships with the size of primary tumor, age and pathological type; while had some relationship with histological classification, clinical TNM staging and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). The expression of AKT2 was correlated with lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ); while no relationship with age, size of primary tumor, histological classification, clinical TNM staging and pathological type ( $P > 0.05$ ). (3) Ezrin and AKT2 were significantly and directly correlated with each other in invasive ductal carcinoma. **Conclusion** The overexpression of Ezrin and AKT2 may play an important role in the carcinogenesis and progression of breast carcinoma. They may be considered as the indications of biological behavior and prognosis of breast carcinoma.

**Key words:** Breast carcinoma; Ezrin; AKT2; Immunohistochemistry

**摘要:目的** 探讨乳腺癌组织中 Ezrin、AKT2 的表达及其与临床病理指标的关系。**方法** 应用免疫组织化学 SP 法,检测 56 例乳腺癌组织、30 例癌旁正常乳腺组织石蜡切片中 Ezrin、AKT2 的表达。**结果** (1)56 例乳腺癌组织中 Ezrin、AKT2 的表达率分别为 62.50% 和 76.79%,与正常乳腺组织相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。(2)Ezrin 的表达与乳腺癌的组织学分级、临床 TNM 分期和淋巴结转移有关 ( $P < 0.05$ ),而与原发肿瘤大小、患者年龄大小、病理类型无关 ( $P > 0.05$ )。AKT2 的表达与乳腺癌的淋巴结转移有关 ( $P < 0.05$ ),与乳腺癌的原发肿瘤大小、组织学分级、病理类型、临床 TNM 分期以及患者年龄大小无关 ( $P > 0.05$ )。(3)在乳腺浸润性导管癌中 Ezrin 与 AKT2 表达水平呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )。**结论** Ezrin、AKT2 高表达与乳腺癌的发生、发展及浸润转移有关,可作为判断乳腺癌生物学行为和预后的重要指标。

**关键词:** 乳腺肿瘤; Ezrin; AKT2; 免疫组织化学

**中图分类号:** R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2011)01-0067-03

## 0 引言

Ezrin(膜细胞骨架连接蛋白)是 ERM(ezrin-radixin-moesin)蛋白家族成员之一,对细胞黏附、运动

等起重要作用。近年来其对肿瘤细胞黏附分子的调节,在肿瘤的发生、发展及浸润转移中的作用渐被重视<sup>[1]</sup>。Ezrin 蛋白通过与黏附分子连接,调节细胞-细胞及细胞-细胞外基质之间的黏附,进而影响肿瘤的发生、发展及浸润转移等生物学行为。本研究应用免疫组织化学 SP 法测定 Ezrin、AKT2 的表达,探讨两者间的相关性及其与乳腺癌的发生、发展、浸润转移的关系。

**收稿日期:** 2010-01-06; **修回日期:** 2010-05-28

**作者单位:** 1. 056029 河北邯郸,河北工程大学医学院; 2. 河北司法警官职业学院卫生所

**作者简介:** 时志民(1980-),男,硕士,讲师,主要从事女性生殖系统肿瘤的临床诊断工作

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

选取 2007 年 1 月—2008 年 12 月在河北工程大学医学院病理教研室行病理学检查确诊的 56 例乳腺癌患者为研究对象。患者均为女性,年龄 28~75 岁,中位年龄 52 岁。患者术前均未进行化疗和放疗。56 例患者中有 17 例伴腋淋巴结转移和锁骨上淋巴结转移;其中乳腺浸润性导管癌 42 例、浸润性小叶癌 14 例。参照 Elston 等<sup>[2]</sup>方法,并进行改良,对 56 例乳腺癌进行分级: I 级 15 例, II 级 20 例, III 级 21 例。按照第六版 AJCC 分期: I 期 17 例, II 期 24 例, III + IV 期 15 例。标本常规取材, 10% 甲醛固定,石蜡切片(4 $\mu$ m),常规 HE 染色。同时取 30 例患者的癌旁正常组织作为对照组。

### 1.2 方法

兔多抗人 Ezrin 抗体、鼠抗人 AKT2 单克隆抗体、即用型 SP 试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。免疫组织化学染色 SP 法。微波抗原修复。免疫组织化学染色过程按试剂盒说明操作,苏木精衬染。

### 1.3 结果判定

用已知阳性的胃癌组织作为阳性对照, PBS 代替一抗作为阴性对照。光学显微镜下观察, Ezrin、AKT2 阳性表达定位于细胞膜和细胞质,呈棕黄色颗粒。计数 1 000 个肿瘤细胞,阳性细胞数 < 5% 为 (-), 5%~25% 为 (+), > 25%~50% 为 (++) , > 50% 为 (+++)。

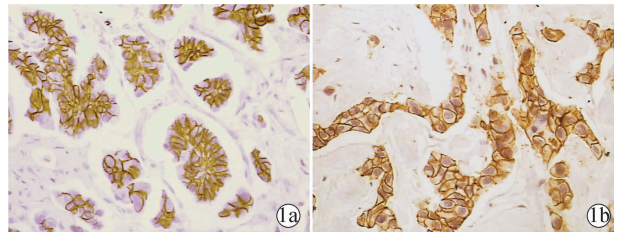
### 1.4 统计学方法

采用 SPSS16.0 统计软件对实验数据进行统计学分析,计数资料的比较采用  $\chi^2$  检验及 Fisher 精确检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Ezrin、AKT2 在乳腺癌组织中的表达

Ezrin、AKT2 在乳腺癌组织中的阳性表达率分别为 62.50% (35/56) 和 76.79% (43/56), 均高于在正常乳腺组织中的阳性表达率 16.67% (5/30) 和 23.33% (7/30), 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 1。



1a: positive expression of Ezrin in invasive ductal carcinoma; 1b: positive expression of AKT2 in invasive ductal carcinoma

图 1 Ezrin、AKT2 在乳腺浸润性导管癌中的表达 (SP  $\times 400$ )

Figure 1 The expression of Ezrin and AKT2 in invasive ductal carcinoma (SP  $\times 400$ )

2.2 乳腺癌组织中,两种蛋白的表达与临床病理指标的关系,见表 1。

表 1 Ezrin 和 AKT2 的表达与乳腺癌临床病理指标的关系

Table 1 Relations of Ezrin and AKT2 expression with clinicopathologic feature of breast carcinoma

Clinicopathologic feature	n	Ezrin		$\chi^2$	P	AKT2		$\chi^2$	P
		+	-			+	-		
Age				0.005	0.942			2.597	0.107
< 50	37	23	14			26	11		
$\geq 50$	19	12	7			17	2		
Tumor size(cm)				2.317	0.128			0.365	0.546
< 3	30	16	14			23	7		
$\geq 3$	26	19	7			20	4		
Histological subtype				0.025	0.873			0.033	0.855
Invasive ductal carcinoma	42	26	16			32	10		
Invasive lobular carcinoma	14	9	5			11	3		
Grade									
G1 $\Delta$	15	4	11	3.838	0.050*	9	6	1.680	0.195
G2 $\Delta\Delta$	20	12	8	5.159	0.023*	16	4	0.236	0.627
G3 $\Delta\Delta\Delta$	21	19	2	15.442	0.000*	18	3	3.086	0.079
cTNM				5.105	0.024*			3.147	0.076
I + II	41	22	19			29	12		
III + IV	15	13	2			14	1		
Lymphnode metastasis				10.412	0.001*			7.380	0.007*
+	17	16	1			17	0		
-	39	19	20			26	13		

Note: \* : Comparison among the groups was all  $P < 0.05$ ,  $\Delta$  : Compared G1 with G2;  $\Delta\Delta$  : Compared G2 with G3;  $\Delta\Delta\Delta$  : Compared G1 with G3

### 2.3 乳腺癌患者两种蛋白分子表达的相关性

Spearman 等级相关性分析结果表明, Ezrin 与 AKT2 的表达呈显著正相关( $r = 2.162, P < 0.05$ ), 见表 2。

表 2 浸润性导管癌患者两种细胞蛋白分子表达的相关性

Table 2 Correlations between Ezrin and AKT2 in invasive ductal carcinoma

Ezrin	AKT2		Total	r	P
	-	+			
-	1	15	16	2.162	0.037
+	9	17	26		
Total	10	32	42		

### 3 讨论

生理状态下, Ezrin 是将膜蛋白(如 CD44、c-Met、E-Cadherin、ICAM-1 和 ICAM-2 等)与肌动蛋白细胞骨架连接起来的桥接蛋白, 这种连接不仅是结构上的, 也是功能上的<sup>[3]</sup>。提示通过介导膜与细胞骨架的连接, Ezrin 在细胞形态改变、运动、黏附及信号转导等方面发挥重要作用。

许多研究表明, Ezrin 与多种不同来源的肿瘤转移高度相关。Shen 等<sup>[4]</sup>在对食管癌进行研究时发现, 能够发生远处转移的 SHEEMT 细胞系中 Ezrin 表达显著高于不发生远处转移的 SHEEIMM 细胞系。此外, 肾细胞癌的研究发现, 淋巴结转移的癌组织中的 Ezrin 高表达, 而在没有淋巴结转移的癌组织中的 Ezrin 低表达, 两者有显著相关性。在人乳腺癌的研究中, 把过表达野生型 Ezrin 的鼠乳腺肿瘤细胞 AC2M2 接种到小鼠乳腺脂肪垫中, 这些小鼠均发生肺部转移<sup>[5]</sup>。本研究结果显示 Ezrin 可能参与了乳腺癌的发生、发展过程。并且 Ezrin 表达越高, 乳腺癌的组织学分级和临床分期可能就越晚, 预示着患者的预后不良, 有助于预后的判断。

AKT 基因是存在于人类染色体中的鼠类胸腺淋巴瘤病毒。在各种刺激因素作用下, AKT 发生磷酸化而被激活。最近研究表明<sup>[6-8]</sup>, 许多恶性肿瘤如子宫内膜癌、肝癌、前列腺癌、结直肠癌、滤泡状甲状腺癌和肺癌中, 磷酸化 AKT 呈持续高度活化, 而且 AKT 的异常表达与这些肿瘤的发生、发展以及对放化疗产生的耐受密切相关<sup>[9-10]</sup>, 其中 AKT2 更多的参与了这些人类肿瘤的发生和发展。有研究发现 AKT2 主要介导肿瘤细胞的侵袭和转移, 把全长的、野生型的人类 AKT2 cDNA 转染进人类乳腺癌和卵巢癌细胞中, 发现转染的细胞能够通过上调  $\beta$ 1-整合素而增加肿瘤细胞的侵袭和转移<sup>[11]</sup>。另外, Pu 等<sup>[12]</sup>应用 AKT2 显性负性和反义 AKT2 结构转染

进高表达 AKT2 的小鼠 C6 神经胶质瘤细胞, 可以抑制神经胶质瘤细胞的运动和侵袭。AKT2 在一定程度上反映了乳腺癌的恶性程度, 另外一方面表明 AKT2 与乳腺癌的淋巴结转移有关。

另外, 我们发现在浸润性导管癌中, Ezrin 与 AKT2 的表达呈显著正相关, 提示 Ezrin 可能通过 P13K/Akt 途径增加肿瘤细胞的侵袭性。

本研究显示 Ezrin、AKT2 在乳腺癌中的高表达与乳腺癌的发生、发展及预后密切相关, 因此我们认为联合检测 Ezrin、AKT2 的表达在判断乳腺癌的转移、生物学行为等方面有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] Lamb RF, Roy C, Diefenbach TJ, et al. The TSC1 tumour suppressor hamartin regulates cell adhesion through ERM proteins and GTPase Rho[J]. Nat Cell Biol, 2000, 2(5): 281-287.
- [2] Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer; experience from a large study with long-term follow-up[J]. Histopathology, 1991, 19(5): 403-410.
- [3] 江忠青, 连成瑛, 郑秀. Ezrin 分子生物学特性及其与妇科恶性肿瘤关系的研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2007, 14(11): 868-871.
- [4] Shen ZY, Xu LY, Chen MH, et al. Upregulated wxpressin of ezrin and invasive phenotype in malignantly transformed esophageal epithelial cells[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(6): 1182-1186.
- [5] Elliott BE, Meens JA, SenGupta SK, et al. The membrane cytoskeletal crosslinker ezrin is required for metastasis of breast carcinoma cells[J]. Breast Cancer Res, 2005, 7(3): R365-373.
- [6] Ruggeri BA, Huang L, Wood M, et al. Amplification and overexpression of the AKT2 oncogene in a subset of human pancreatic ductal adenocarcinomas[J]. Mol Carcinog, 1998, 21(2): 81-86.
- [7] Yuan ZQ, Sun M, Feldman RI, et al. Frequent activation of AKT2 and induction of apoptosis by inhibition of phosphoinositide-3-OH kinase/Akt pathway in human ovarian cancer[J]. Oncogene, 2000, 19(19): 2324-2330.
- [8] Roy HK, Olusola BF, Clemens DL, et al. AKT proto-oncogene overexpression is an early event during sporadic colon carcinogenesis[J]. Carcinogenesis, 2002, 23(1): 201-205.
- [9] Nicholson KM, Anderson NG. The protein kinase B/Akt signaling pathway in human malignancy[J]. Cell Signal, 2002, 14(5): 381-395.
- [10] 蒋虹, 徐志飞, 邱秀华, 等. 食管癌中 AKT 和 PTEN 蛋白表达及其临床相关性研究[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2003, 10(4): 265-268.
- [11] Arboleda MJ, Lyons JF, Kabbinnar FF, et al. Overexpression of AKT2/protein kinase B leads to up-regulation of beta1-integrins, increased invasion, and metastasis of human breast and ovarian cancer cells[J]. Cancer Res, 2003, 63(1): 196-206.
- [12] Pu P, Kang C, Li J, et al. Antisense and dominant-negative AKT2 cDNA inhibits glioma cell invasion [J]. Tumour Biol, 2004, 25(4): 172-178.