

Ezrin 蛋白是影响骨肉瘤发生及预后的关键分子

韩维华¹ 张超^{1,2} 通讯作者 张啸¹ 王恺丽¹ 黄雨¹ 刘佳艺¹

1 兰州大学第一临床医学院 2 兰州大学第一医院 730000

【摘要】 Ezrin 蛋白是 ERM (Ezrin-Radixin-Moesin) 家族成员之一, 是细胞骨架与细胞膜之间的连接蛋白, 参与了微绒毛的形成并与细胞形态的维持, 运动及黏附有关。是近年在肿瘤侵袭与转移研究的相关蛋白, 大量研究表明该蛋白很多肿瘤组织中都有异常表达, 并与促肿瘤转移有关。骨肉瘤是一种起源于间叶组织的恶性肿瘤, 是青少年中最常见的原发性骨肿瘤。本文先对 Ezrin 的结构功能和骨肉瘤的特点、近年相关研究进行了论述, 并充分阐述了 Ezrin 蛋白在骨肉瘤中转移的作用机制和对骨肉瘤患者预后方面的影响, 从而希望对临床上对骨肉瘤患者预后的预测做出贡献, 并为转移治疗提供新的策略。

【关键词】 Ezrin 蛋白; 骨肉瘤; 分子机制; 预后

【中图分类号】 R738.7

【文献标识码】 A

【文章编号】 1672-0415 (2021) 10-191-03

1 Ezrin 蛋白

Ezrin 蛋白是 1981 年由 Bretscher 在鸡的小肠上皮细胞刷状缘中首次被纯化的^[1], 它是 ERM 家族系中 3 种高度相关的肌动丝结合蛋白的主要成员, 其 EZR 基因定位于染色体 6q25.2-q26, mRNA 长 3166bp, 编码 585 个氨基酸, 包含一个 FERM 结构域 (带 4.1 蛋白、Ezrin、Radixin、Moesin), 一个中央螺旋接头区域和一个 ERM 相关域^[1]。在正常细胞中, 已知 Ezrin 蛋白有助于上皮形态发生、粘附和迁移, 生理条件下可维持上皮细胞的细胞骨架和正常形态, 并与肌动蛋白丝结合以保持一致的细胞-细胞接触, 因此在各种细胞过程中发挥重要作用, 包括细胞迁移、形成、粘附和信号通路^[2]。而在癌细胞中, Ezrin 被显著激活、磷酸化和升高, 增强了癌细胞的侵袭能力^[3], 通过这样的方式, 为细胞皮层和质膜之间的连接提供了结构联系, 在迁移、增殖和内存作用过程中充当多个途径中的信号转换器。

Ezrin 蛋白的激活在多种肿瘤进展和侵袭相关的研究也不断出现。其激活可通过结合磷酸二磷酸盐, 从而打开自我关联的结构, 释放的 C-ERMAD 将能够和各种作用蛋白结合, 如 F-actin, 并发挥其功能^[1]。Rho 或 Akt 信号通路调节 Ezrin 的磷酸化, 以抑制细胞凋亡并促进细胞增殖^[4]。那些其他尚未详细调查的重要磷酸化点更说明 Ezrin 蛋白的激活是一个复杂的过程, 仍需更深入地探讨。新出现的证据表明, Ezrin 可以通过调节多个细胞过程, 包括微绒毛的形成、细胞形态和细胞间连接的维持以及细胞运动和侵袭的促进, 充当与转移相关的癌基因^[5]。对骨肉瘤^[6]来说, Ezrin 允许转移性肿瘤细胞克服转移级联过程中的一些压力, 使细胞适应环境, 从而生存下去。Ezrin 负责胰腺癌相关巨噬细胞的细胞极化^[7]。在唾液腺癌中检测到富集的 Ezrin 表达, 这与其他癌性分子标志物的水平显著相关, 如 Ki67、HER2、p53^[8]。以及在肺癌细胞中, 活化的 Ezrin 促进从细胞骨架到细胞膜的机械转导, 并以张力依赖性方式调节恶性过程^[9]。本文章重点讨论 Ezrin 蛋白在骨肉瘤的生长、侵袭、转移的具体作用机制以及其过表达对骨肉瘤患者预后的相关影响。

2 骨肉瘤

骨肉瘤是原发于骨髓内的高恶性肿瘤, 其特征为增殖的肿瘤细胞直接形成骨或骨样组织, 是最常见骨的原发恶性肿瘤, 最常见于儿童和青壮年。骨肉瘤好发于长骨干骺端, 最常见于股骨远端 (43%)、胫骨近端 (23%) 或肱骨近端 (10%), 典型的表现包括受影响骨骼的疼痛和肿胀。大约 15% 至 20% 的患者在就诊时会出现临床可检测到的转移, 转移到肺组织

和随后的患者复发仍然是 OS 患者临床环境中死亡的主要原因^[10]。

流行病学调查显示, 骨肉瘤具有双峰年龄分布, 最初高峰在 10 至 14 岁年龄组, 后一个高峰在 65 岁以上的成年人中, 前一高峰组代表绝大多数原发性骨肉瘤, 后一高峰更可能代表继发性癌症。骨肉瘤约占儿科癌症的 2.4%, 已成为第八大最常见的儿童恶性肿瘤, 白血病最常见 (30%), 其次是中枢神经系统恶性肿瘤 (22.3%)。黑人是最有可能患骨肉瘤的族群, 发病率为每年每百万人 6.8 例。骨肉瘤的男性发病率为每年每百万人 4.6 例, 女性发病率为每年每百万 4 例^[11]。

肿瘤生物学的最新进展表明, 全面分析肿瘤细胞与其邻近微环境之间的多重交换对于了解肿瘤生长和转移的不同基础机制至关重要^[12]。骨微环境便是肥沃的土壤和复杂的生物系统, 促进了包括骨肉瘤 (OS) 在内的许多癌症的转移^[13]。近年为了解 OS 的进展, 有许多研究关注 OS 与骨微环境的关系, 如 MSCs, 它是骨微环境中最重要的成员之一^[14]。OS 的发病机制复杂, 但还是有一些关键基因已被研究出来, 可以给我们一些启发, 如在 OS 中异常表达的 c-myc 和 AP-1, C-FOS, TWIST, MMP, IGF-1 等^[15-18]。有回顾^[19]中讨论了微环境中充质干细胞、酸中毒、缺氧和趋化因子在促进 OS 迁移、侵袭和肺转移中的作用, 以及 OS 中激活的促进 OS 转移的信号通路, 包括 PI3K/Akt、Wnt/ β -Catenin、MAPK/ERK、Hedgehog 和 Notch 信号通路, 发现间充质干细胞和趋化因子的功能是 OS 研究的热点。近年也有许多研究表明 Ezrin 可能与骨肉瘤的发展和预后关系密切^[20, 21], 有荟萃分析表明, Ezrin 表达在骨肉瘤组织中显著上调, 并且与五年生存率呈负相关^[22]。因此探究影响相关转移的信号通路或调控信号通路的相关基因表达物质, 对进一步明确骨肉瘤的侵袭、转移等过程的具体机制, 以及发现新的治疗靶点有重要意义。

目前的 OS 治疗包括新辅助多药化疗, 包括顺铂、多柔比星、甲氨蝶呤 (MAP 治疗) 和异环磷酰胺, 然后是手术和术后化疗^[23]。目前估计转移性 OS 患者的生存率不到五年^[24]。高水平细胞异质性的存在以及与骨肉瘤发生相关的分子和遗传机制的复杂性使其在临床中开发单一的治疗方法极为困难。

3 Ezrin 蛋白在骨肉瘤转移中的作用机制

一些荟萃分析结果表明, Ezrin 阳性免疫表达可能使骨肉瘤患者的生存期更差, 复发风险更高^[25]。为进一步证实其临床意义, 现回顾近年在这方面的研究进行讨论。

Ezrin 蛋白参与细胞黏附及细胞骨架连接, 正常组织细胞、肿瘤细胞及基质三者之间的黏附连接对肿瘤的生长、侵袭及远

处转移非常重要。有研究证明 miR211 可以靶向 Ezrin 的 3' - UTR,并在人骨肉瘤组织和细胞中负调控 Ezrin 的表达^[26]。另外,发现了能够通过靶向 Ezrin 来阻止骨肉瘤细胞转移,实验中^[27]利用腺病毒介导靶向 Ezrin 的 siRNA 抑制 MG-63 细胞的增殖、迁移和侵袭,阻碍细胞周期进程并且诱导 MG-63 细胞凋亡,实验组 MG-63 细胞显示 Bax、p21、p53 和 Caspase-3 的 mRNA 和蛋白表达上调, Bcl-2、MMP-2 的 mRNA 和蛋白质表达下调,其中 Bax 为促凋亡成员, p53 为抑癌蛋白,并且 caspase 参与细胞重塑、分化、死亡等多种细胞功能,特别是 Caspase-3 不仅在神经元凋亡中非常重要,也是细胞死亡前的终末事件。上述靶向 Ezrin 研究结果均可表明其在骨肉瘤增殖、迁移和侵袭中的重要作用。

肿瘤转移与 EMT (上皮间质转化) 相关, EMT 是上皮细胞失去细胞与细胞接触的生物过程, E- 钙粘蛋白表达增强,波形蛋白减少,间充质特性发展,从而促进细胞的增殖、侵袭和活力,实验中使用抑制剂抑制 NF- κ B 活化,然后在 EGF 诱导的 MG63 和 U2OS 细胞中沉默 Ezrin,结果两种方式都可以抑制骨肉瘤细胞中 EGF 诱导的 EMT,并明显逆转了骨肉瘤细胞形态和运动。在体内减少 Ezrin 抑制了 EGF 诱导的骨肉瘤异种移植物的 EMT,通过沉默 Ezrin,作为 NF- κ B 直接激活剂的核 p56 和 p-I κ B α 均较低,而 Ezrin 的过度表达在体外增加了核 p56 和 p-I κ B α 。这些证明 Ezrin/NF- κ B 是 EGF 诱导 EMT 和骨肉瘤进展的原因。^[28]

Ezrin 蛋白与膜受体蛋白分子 (CD44、Met) 均具有复杂的相互作用, CD44 分子作为细胞膜表面的一种多功能糖蛋白,可以介导肿瘤细胞迁移、侵袭,并且是跨细胞信号转导的重要因素。CD44 分子过表达可引起细胞骨架连接蛋白 Ezrin 蛋白的功能激活,从而可致骨肉瘤细胞系转移能力的增强^[29]。

另一方面^[30], Ezrin 蛋白表达可以促进 E-cadherin 转位到胞质中表达,并促进淋巴结转移。与相应正常上皮细胞相比,癌细胞通常表现出细胞间黏附性下降,以及各种连接结构的缺陷经常出现在癌症细胞间。钙粘蛋白是一个跨膜糖蛋白家族,负责钙依赖的细胞间黏附,其中 E- 钙粘蛋白已被认为在癌细胞间的物理黏附中起着重要作用,抑制其表达或功能可能会触发原发病灶中癌细胞的释放,其表达受损伤常见于具有侵袭性组织病理学特征的肿瘤中,不同肿瘤癌细胞的转移也与 E- 钙粘蛋白的差异表达有关,即癌细胞中 E- 钙粘蛋白系统通过多种机制受到干扰,有助于癌细胞从原发病变中释放出来,并促使细胞脱分化^[31]。表明 Ezrin 蛋白的表达促进 E- 钙粘蛋白在胞质的表达,进而通过后者相关功能或表达的抑制,增强癌细胞的转移能力。

4 Ezrin 蛋白与骨肉瘤预后的关系

在骨肉瘤患者中,患有转移性疾病或复发性传播肿瘤的患者预后往往不佳,骨肉瘤患者尤其是肺部的转移,是死亡的主要原因,发现有效的预后因素对于临床医生选择合理有效的骨肉瘤治疗方案是非常重要的。Ezrin 蛋白与骨肉瘤患者肺转移也密切相关,可作为预测预后和生存的指标^[32]。基于 Ezrin 对骨肉瘤进展的关键作用,以及部分研究对 Ezrin 的靶向实验结果,可以分析出 Ezrin 蛋白对骨肉瘤患者预后的价值。有研究^[25]收集并分析了 2007 年至 2010 年间发表的关于 Ezrin 免疫表达与患者生存、ALP 水平、辅助化疗的组织反应和骨肉瘤复发之间的关联,对符合研究标准的 318 名患者进行相关检测,结果表明 Ezrin 免疫表达阳性使骨肉瘤患者的复发风险更高,存活率更差。之后也有研究为了全面评估

ezrin 表达对预后的影响,对 5 项已发表的研究进行了系统回顾和 meta 分析^[22],综合结果表明 ezrin 高表达的患者明显与较低的总生存率相关。上述均能充分表明 ezrin 表达是骨肉瘤患者预后的有效生物标志物。

5 讨论

综上所述,文章通过对 Ezrin 蛋白结构功能的讨论,并基于近些年骨肉瘤在临床中所面临的有待解决的问题,以及通过对骨肉瘤较新的研究方向的了解,不难发现骨肉瘤与 Ezrin 蛋白的相关研究仍需进一步探索,故该综述在 Ezrin 蛋白对骨肉瘤转移作用机制和 Ezrin 蛋白对骨肉瘤患者预后的影响方面进行了论述,以指导未来在基础研究和临床研究中 Ezrin 和骨肉瘤关系的研究。

6 问题与展望

尽管已知 Ezrin 与多种癌症的不良预后相关,但 Ezrin 的预测价值及其与临床病理特征或预后参数的关系仍存在争议,而且研究 Ezrin 表达水平的预测性能的研究数量有限,我们仍需要通过多大量临床患者数据收集的原始回顾分析,以及还需要大量前瞻性研究不断追踪,才能提供 Ezrin 的过表达对于骨肉瘤患者更为精确的预测意义,并且 ERM 家族的其他成员在恶性肿瘤成功转移所需的信号和细胞复合物的协调中具有关键作用也待需探究。

参考文献

- [1] Lei-Miao Y, Ting-Ting D, Luis U, Yong-Qing Y. Ezrin Orchestrates Signal Transduction in Airway Cells. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology* 2018; 174.
- [2] Haydar Ç, Sung-Hyeok H, D. C-LD et al. Identification of Novel Ezrin Inhibitors Targeting Metastatic Osteosarcoma by Screening Open Access Malaria Box. *Molecular Cancer Therapeutics* 2015; 14.
- [3] Yanan S, Xiaokun M, Miao Z et al. Ezrin Mediates Invasion and Metastasis in Tumorigenesis: A Review. *Frontiers in cell and developmental biology* 2020; 8.
- [4] Agarwal E, Chaudhuri A, Leiphrakpam PD et al. Akt inhibitor MK-2206 promotes anti-tumor activity and cell death by modulation of AIF and Ezrin in colorectal cancer. *BMC cancer* 2014; 14:145.
- [5] Jing H, Ge M, Jiayi Q et al. Interaction Between Ezrin and Cortactin in Promoting Epithelial to Mesenchymal Transition in Breast Cancer Cells. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 2017; 23.
- [6] Ling R, Chand K. Role of ezrin in osteosarcoma metastasis. *Advances in experimental medicine and biology* 2014; 804.
- [7] Yu-Ting C, Hsuan-Yu P, Chun-Mei H et al. Pancreatic cancer-derived small extracellular vesical Ezrin regulates macrophage polarization and promotes metastasis. *American journal of cancer research* 2020; 10.
- [8] Kazuki H, Ryuichi H, Takashi M et al. Concomitant expression of ezrin and HER2 predicts distant metastasis and poor prognosis of patients with salivary gland carcinomas. *Human pathology* 2017; 63.
- [9] Xiaolong Z, Guangming L, Yichen G et al. Regulation of ezrin tension by S-nitrosylation mediates non-small cell lung cancer invasion and metastasis. *Theranostics* 2019; 9.

- [10] Zhigang N, Hao P. Osteosarcoma in patients below 25 years of age: An observational study of incidence, metastasis, treatment and outcomes. *Oncology letters* 2018; 16.
- [11] Giulia O, Norman J. The epidemiology of osteosarcoma. *Cancer treatment and research* 2009; 152.
- [12] Rana J-E, Miguel dIG, Delshad A, Bahman Y. Modulating tumor hypoxia by nanomedicine for effective cancer therapy. *Journal of cellular physiology* 2018; 233.
- [13] Roghayyeh B, Leila R, Rana J et al. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. *Cell communication and signaling : CCS* 2020; 18.
- [14] Nail L-RL, Brennan M, Rosset P et al. Comparison of Tumor- and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal/Stem Cells from Patients with High-Grade Osteosarcoma. *International Journal of Molecular Sciences* 2018; 19.
- [15] Jin-Peng H, Yun H, Xiao-Lin W et al. Review of the molecular pathogenesis of osteosarcoma. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* 2014; 15.
- [16] Broadhead ML, Clark JCM, Myers DE et al. The Molecular Pathogenesis of Osteosarcoma: A Review. *Sarcoma* 2011; 2011.
- [17] K DS, Zhongliang W, Zhengjian Y et al. Molecular pathogenesis and therapeutic strategies of human osteosarcoma. *Journal of biomedical research* 2015; 30.
- [18] Maya K, M TD. Molecular pathogenesis of osteosarcoma. *DNA and cell biology* 2007; 26.
- [19] Chaoferi Y, Ye T, Fan Z et al. Bone Microenvironment and Osteosarcoma Metastasis. *International journal of molecular sciences* 2020; 21.
- [20] Wang YF, Shen JN, Xie XB et al. Expression change of ezrin as a prognostic factor in primary osteosarcoma. *Medical Oncology* 2011; 28.
- [21] Davies J, Heeb H, Garimella R et al. Vitamin D Receptor, Retinoid X Receptor, Ki-67, Survivin, and Ezrin Expression in Canine Osteosarcoma. *Veterinary Medicine International* 2012; 2012.
- [22] Lun D-X, Hu Y-C, Xu Z-W et al. The prognostic value of elevated ezrin in patients with osteosarcoma. *Tumor Biology* 2014; 35.
- [23] Bishop MW, Janeway KA, Gorlick R. Future directions in the treatment of osteosarcoma. *Current Opinion in Pediatrics* 2016; 28.
- [24] Bin Z, Yan Z, Rongzhen L et al. The efficacy and safety comparison of first-line chemotherapeutic agents (high-dose methotrexate, doxorubicin, cisplatin, and ifosfamide) for osteosarcoma: a network meta-analysis. *Journal of orthopaedic surgery and research* 2020; 15.
- [25] Hongtao L, Daliu M, Hui Z et al. The Prognostic Role of Ezrin Immunoreexpression in Osteosarcoma: A Meta-Analysis of Published Data. *PloS one* 2013; 8.
- [26] Pei Y, Yao Q, Li Y et al. microRNA-211 regulates cell proliferation, apoptosis and migration/invasion in human osteosarcoma via targeting EZRIN. *BioMed Central* 2019; 24.
- [27] Tao Z-W, Zou P-A. Adenovirus-mediated small interfering RNA targeting ezrin induces apoptosis and inhibits metastasis of human osteosarcoma MG-63 cells. *Bioscience Reports* 2018; 38.
- [28] Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nature Reviews Cancer* 2009; 9.
- [29] Ting-sheng P, Ju-shi Q, Hui-xi W et al. [Expressions of CD44s, MMP-9, and Ki-67: possible association with invasion, metastasis, and recurrence of osteosarcoma]. *Ai zheng = Aizheng = Chinese journal of cancer* 2002; 21.
- [30] 于兆进, 何苗, 孙明立 et al. 淋巴结转移阳性乳腺癌中 Ezrin 相关的上皮钙黏蛋白表达亚细胞定位的临床意义 [J]. *中国医科大学学报*, 2016, 45:695-699.
- [31] Wong SHM, Fang CM, Chuah L-H et al. E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications. *Critical Reviews in Oncology / Hematology* 2018; 121.
- [32] Hago AM, Gamallat Y, Mahmoud SA et al. Ezrin expression is altered in mice lymphatic metastatic hepatocellular carcinoma and subcellular fractions upon Annexin 7 modulation in-vitro. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017; 85.

(上接第190页)

务人员观察到患者具体的服药情况。此外,做好血压监测也尤为重要。指导患者在服药日记本上记录每天的血压情况,便于医务人员动态观察血压的变化情况,帮助医师判断是否需要调整用药方案。

3 小结

针对高血压的健康教育,除通过用药指导帮助患者意识到遵医嘱用药的必要性及重要性外,还通过记录服药情况及血压情况的方式帮助医务人员动态观察到血压的变化,利于及时调整用药方案;通过饮食指导帮助患者低盐、低脂肪、低热量、低胆固醇饮食,结合适当的运动锻炼合理控制体重,建立健康的饮食习惯及运动习惯;此外,运动锻炼还能够改善机体的免疫力,从而改善整体的身心状态,利于血压的控制。健康教育是高血压护理中必不可少的环节,一方面能够提升患者的认知度,促进其良好的配合,从而达到最佳的治疗效果,利于血压的控制;另一方面能够帮助患者建立健康的生活方

式及行为,规避不良因素的影响,预防多种并发症的发生。

参考文献

- [1] 王艳萍, 邹东阳, 贺修君, 等. 多元化健康教育联合个性化有氧运动对高血压患者健康行为、心理压力状态的影响 [J]. *中华保健医学杂志*, 2021, 23(2):183-185.
- [2] 孙亚林, 徐伟娜, 郭盼红, 等. 健康教育联合前瞻性护理干预对老年高血压患者的影响 [J]. *齐鲁护理杂志*, 2021, 27(13):130-132.
- [3] 中国高血压防治指南修订委员会, 高血压联盟(中国, 中华医学会心血管病学分会中国医师协会高血压专业委员会, 等. 中国高血压防治指南(2018年修订版) [J]. *中国心血管杂志*, 2019, 24(1):24-56.
- [4] 刘陶然, 张艳平. 烟台市社区老年高血压群体健康教育需求调查及对策 [J]. *中国卫生产业*, 2021, 18(11):35-38, 43.
- [5] 胡杰. 健康教育对居家老年高血压患者血压控制及心理状况的影响 [J]. *国际精神病学杂志*, 2019, 46(4):730-733.