

## EMS1 在胰腺癌组织中的表达及其临床意义



吴建国, 罗建飞, 李士军, 彭志洋, 王旭锋, 肖喆

(武汉大学人民医院普外科, 湖北 武汉 430060)

**[摘要]** **目的** 探讨 EMS1(mammary tumour and squamous cell carcinoma-associated gene 1) 蛋白在胰腺癌组织中的表达及其临床意义。**方法** 应用免疫组化 SP 法检测 65 例胰腺癌组织中 EMS1 蛋白的表达情况, 分析其与临床病理因素的关系。**结果** 在胰腺癌组织中 EMS1 蛋白的表达率(78.5%)明显高于其在癌旁组织中表达率(35.0%), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。EMS1 蛋白表达与胰腺癌的组织分化程度、临床病理分期、淋巴结转移密切相关( $P < 0.05$ )。**结论** EMS1 蛋白在胰腺癌发展、侵袭和转移中发挥重要作用, 可能成为胰腺癌预测其转移趋势及预后的有价值指标。

**[关键词]** 胰腺癌; 预后; EMS1**[中图分类号]** R735.9 **DOI:** 10.3969/j.issn.1003-5591.2019.03.011**[文献标识码]** A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

**Study on expressions of EMS1 in pancreatic cancer and its clinical significance**

Wu Jianguo, Luo Jianfei, Li Shijun, Peng Zhiyang, Wang Xufeng, Xiao Ze

(Remmin Hospital of Wuhan University, General Surgery, Hubei Wuhan 430060, China)

Corresponding author: Luo Jianfei, Email: sangui11@sohu.com

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression and clinical significance of EMS1 in pancreatic cancer. **Methods** Immunohistochemical SP method was used to detect the expression of EMS1 protein in 65 cases of pancreatic cancer, and the relationship between EMS1 protein expression and clinicopathologic factors was analyzed. **Results** The positive rate of EMS1 expression was significantly higher in the pancreatic cancer tissues than that in adjacent normal tissues (78.5% vs. 35.0%,  $P < 0.05$ ). EMS1 protein expression was closely related to the histological differentiation, clinicopathological stage and lymph node metastasis of pancreatic cancer ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** EMS1 protein plays an important role in the development, invasion and metastasis of pancreatic cancer, and may be a valuable marker for predicting the metastasis trend and prognosis of pancreatic cancer.

**[Key words]** Pancreatic cancer; Prognosis; EMS1

胰腺癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 其起病隐匿, 缺乏早期特异性检测手段, 侵袭性强, 恶性程度高, 手术根治率低, 预后极差, 5 年生存率仅 5%。近年来研究发现 EMS1 基因与肿瘤的侵袭和转移有关<sup>[1]</sup>, EMS1 基因是位于人类染色体 11q13 上与人乳腺癌、鳞癌相关的基因<sup>[2]</sup>, EMS1 蛋白主要参与细胞外信号转导、细胞骨架系统的调控和细胞黏附等过程<sup>[3]</sup>, 具有调节细胞的运动、收缩、黏附和极化等

功能<sup>[4-5]</sup>。本研究应用免疫组化 SP 法, 检测 EMS1 蛋白在胰腺癌中的表达, 以探讨 EMS1 蛋白表达与胰腺癌的临床病理因素的关系。

**资料与方法****一、临床资料**

选自 2015 年 4 月至 2017 年 5 月武汉大学人民医院病理科 65 例经临床和病理诊断确诊为胰腺癌的手术标本, 选取其手术标本包含胰腺癌组织 65 例, 癌旁组织 60 例(为切除胰腺癌组织的同时, 取距肿瘤边缘 2 cm 处的组织为癌旁组织且病检证实无癌浸润)。65 例胰腺癌术前均未经抗肿瘤治疗, 其

中男性 38 例,女性 27 例,年龄 35~80 岁(平均年龄 58.8 岁),按国际抗癌联盟(UICC)制定的 TNM 分期进行临床病理分期。

### 二、免疫组化试剂

EMS1 蛋白单克隆抗体(1:100 稀释)购于 Santa Cruz 公司,SP 试剂盒购自福州迈新生物有限公司。实验步骤按使用说明书进行。基因公司提供的阳性切片作为阳性对照,用磷酸盐缓冲液(PBS)替代一抗作阴性对照。

### 三、免疫组化染色结果判断

EMS1 蛋白表达位于胞质内,呈浅棕色或棕褐色。参考 Hattori 标准,按染色强度和阳性细胞数评判,未见阳性着色细胞或仅有胞膜着色为“-”,阳性细胞数≤25%为“+”,26%~50%为“++”,≥50%为“+++”)

### 四、统计学处理

EMS1 表达的组间差异采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法检验。所有数据均通过 SPSS(17.0 版)统计软件进行分析。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、EMS1 的表达

EMS1 在胰腺癌、癌旁组织中的表达见表 1、图 1。EMS1 蛋白在 60 例癌旁组织中阳性表达 21 例(占 35.0%),阴性表达 39 例(占 65.0%)。而在 65 例胰腺癌组织中,EMS1 表达阳性 51 例(占 78.5%),阴性 14 例(占 21.5%)。在癌组织与癌旁组织中 EMS1 蛋白的表达率差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 EMS1 在胰腺癌、癌旁组织中的表达(例)

组别	例数	EMS1		$\chi^2$ 值	P 值
		阳性	阴性		
癌旁组织	60	21	39	24.131	0.000
癌组织	65	51	14		

### 二、胰腺癌 EMS1 蛋白表达与临床病理因素的关系

EMS1 在胰腺癌组织高、中、低分化阳性表达率分别为 56.3%、77.8%、90.3%,胰腺癌 TNM 分期中 III + IV 期 EMS1 的阳性表达率(90.2%)明显高于 I + II 期(62.5%),胰腺癌中有淋巴转移者 EMS1 的阳性表达率(92.5%)明显高于无淋巴转移者(58.3%),以上各组经统计分析,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ ),说明 EMS1 蛋白的表达与胰腺癌的组织分化程度、临床分期、淋巴转移密切相关,而与性别、年龄、肿瘤大小无明显相关。详见表 2。

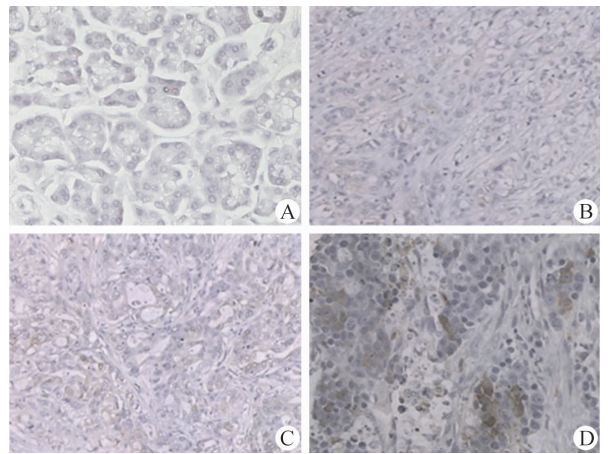


图 1 免疫组化法检测 EMS1 在胰腺癌组织和癌旁组织中的表达(SP, ×200) A. EMS1 蛋白在癌旁组织中表达;B. EMS1 蛋白在高分化(I~II 级)胰腺癌中阳性表达;C. EMS1 蛋白在中分化(II 级)胰腺癌阳性表达;D. EMS1 蛋白在低分化(III 级)胰腺癌中强阳性表达

表 2 EMS1 的表达与胰腺癌临床病理因素的关系

临床病理因素	例数	EMS1 阳性数(例)	百分比(%)	$\chi^2$ 值	P 值
年龄					
≥65 岁	36	28	77.8	0.033	0.855
<65 岁	29	22	75.8		
性别					
男	38	29	76.3	0.019	0.890
女	27	21	77.7		
肿瘤直径					
≥5 cm	21	16	76.2	0.095	0.758
<5 cm	44	35	79.5		
分化程度					
高分化	16	9	56.3	7.252	0.027
中分化	18	14	77.8		
低分化	31	28	90.3		
淋巴转移					
(-)	12	7	58.3	9.549	0.002
(+)	53	49	92.5		
TNM 分期					
I + II	24	15	62.5	7.283	0.007
III + IV	41	37	90.2		

## 讨 论

EMS1 基因编码的蛋白称为 Cortactin/EMS1 蛋白,Cortactin 为细胞皮质区肌动蛋白结合蛋白。EMS1 蛋白含 550 个氨基酸残基,包括 P80 和 P85 两种亚型,该蛋白质结构包括四个区域:①NTA 区(N-terminal acidic region)是由酸性氨基酸组成的区域;②由 1 个 23 氨基酸序列和 6 个相同的 37 氨基酸序列串联而成的一个重复序列结构域;③一个

富含丝氨酸、脯氨酸、苏氨酸和一个  $\alpha$  螺旋结构组成的区域;④SH3 区(Srchomology 3 domain)为羧基端含一个 Src 癌基因家族同源结构域。EMS1 蛋白羧基末端参与肌动蛋白多聚化过程,显著增强上皮细胞的运动迁移能力,与肿瘤细胞侵袭、转移有关<sup>[6]</sup>。EMS1 蛋白通过氨基末端结合并活化肌动蛋白相关蛋白(Arp2/3)复合体,参与细胞骨架结构形成并调节肌动蛋白的运动,从而调控细胞的动力生物学过程<sup>[7]</sup>。

近年来研究发现,EMS1 蛋白在人类一些正常上皮组织中低表达,而在头颈部鳞癌、乳腺癌、胃癌、肝癌等多种肿瘤细胞中高表达<sup>[8-10]</sup>,是临床上判断肿瘤预后的重要指标之一。目前 EMS1 蛋白表达与胰腺癌的关系研究较少,本研究发现 EMS1 蛋白在胰腺癌组织中的表达明显高于癌旁组织( $\chi^2 = 24.131, P = 0.000$ ),说明 EMS1 蛋白表达上调与胰腺癌发生有关。EMS1 蛋白能增强肿瘤细胞的侵袭力和转移的机制目前尚不完全清楚,目前研究发现 EMS1 蛋白主要的功能是促进肌动蛋白纤维(F-actin)的聚合交联,产生侧枝形成伪足和突触,促进细胞的运动和黏附<sup>[11]</sup>。EMS1 蛋白能够稳定纤状肌动蛋白网架结构和促进肌动蛋白聚合作用,EMS1 蛋白高表达能增强此进程从而促进肿瘤细胞的迁移、侵袭和转移<sup>[12-13]</sup>。Cortactin 能促进侵袭伪足锚定吸附于细胞外基质,调控侵袭伪足释放侵袭蛋白酶降解细胞外基质,增强肿瘤细胞的移行侵袭能力<sup>[14]</sup>。E-钙连接素是一种与肿瘤侵袭转移关系密切的黏附分子,EMS1 蛋白通过促进 E-钙连接素介导的细胞间黏附连接的形成和细胞骨架的重组<sup>[15]</sup>,可能是 Cortactin 促进肿瘤细胞侵袭与转移的机制之一。Rodrigo 等<sup>[16]</sup>研究发现,EMS1 的表达与头颈部鳞癌病人的病程、淋巴结转移、组织分化程度以及预后等具有明显的相关性。本研究也发现,在高、中、低分化胰腺癌中 EMS1 阳性表达率分别为 56.3%、77.8%、90.3%,随着胰腺癌组织分级的增高 EMS1 阳性表达率明显增高,胰腺癌中 EMS1 阳性表达率与组织学类型相关。I、II 期胰腺癌组织中 EMS1 蛋白的阳性表达率明显低于 III、IV 期胰腺癌( $P < 0.05$ )。无淋巴结转移胰腺癌中 EMS1 蛋白阳性表达率明显低于有淋巴结转移的胰腺癌,两者差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。表明 EMS1 蛋白与胰腺癌的组织分化程度、淋巴结转移、肿瘤临床 TNM 分期密切相关。Li 等<sup>[17]</sup>通过将高表达 EMS1 的乳腺癌细胞移植到裸鼠体内发现,高表达 EMS1 蛋白能增强与骨髓内皮细胞基质黏附

力和穿透上皮的能力,促进乳腺癌细胞的骨转移。在动物体内实验水平也证实了 EMS1 能够促进肿瘤细胞转移。以上研究均提示,EMS1 蛋白在胰腺癌发生发展过程中起重要作用,可能成为一个胰腺癌有价值的生物标志物,提示肿瘤的发展进程及评估临床预后。

综上所述,EMS1 蛋白在肿瘤细胞的侵袭、转移、转移灶附着过程中都起着重要的作用。EMS1 蛋白与胰腺癌的组织分化程度、淋巴结转移、肿瘤临床 TNM 分期密切相关,笔者认为 EMS1 蛋白有可能作为胰腺癌预后评估新的依据和指标,具有临床应用价值。

### 参 考 文 献

- [1] Luo ML, Wang MR. CTTN(EMS1): an oncogene contributing to the metastasis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cell Res, 2007, 17(4): 298-300. DOI: 10.1038/cr.2007.17.
- [2] van Rossum AG, Schuurin-Scholtes E, Kluin PM, et al. Comparative genome analysis of cortactin and HSI: the significance of the F-actin binding repeat domain[J]. BMC Genomics, 2005, 6(1): 15. DOI: 10.1186/1471-2164-6-15.
- [3] 林敏, 谢海龙, 苏琦. EMS 基因与肿瘤[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2005, 25(6): 481-484.
- [4] Kirkbride KC, Sung BH, Sinha S, et al. Cortactin: a multifunctional regulator of cellular invasiveness[J]. Cell Adh Migr, 2011, 5(2): 187-198. DOI: 10.4161/cam.5.2.14773.
- [5] Siar CH, Rahman ZA, Tsujigiwa H, et al. Invadopodia proteins, cortactin, N-WASP and WIP differentially promote local invasiveness in ameloblastoma[J]. J Oral Pathol Med, 2016, 45(8): 591-598. DOI: 10.1111/jop.12417.
- [6] Kowalski JR, Egile C, Gil S, et al. Cortactin regulates cell migration through activation of N-WASP[J]. J Cell Sci, 2005, 118(Pt1): 79-87. DOI: 10.1242/jcs.01586.
- [7] Zaharieva BM, Simon R, Diener PA, et al. High-throughput tissue microarray analysis of 11q13 gene amplification (CCND1, FGF3, FGF4, EMS1) in urinary bladder cancer[J]. J Pathol, 2003, 201(4): 603-608. DOI: 10.1002/path.1481.
- [8] Yuan BZ, Zhou X, Zimonjic DB, et al. Amplification and overexpression of the EMS1 oncogene, a possible prognostic marker, in human hepatocellular carcinoma[J]. J Mol Diagn, 2003, 5(1): 48-53. DOI: 10.1016/S1525-1578(10)60451-5.
- [9] Li X, Zheng H, Hara T, et al. Aberrant expression of cortactin and fascin are effective markers for pathogenesis, invasion, metastasis and prognosis of gastric carcinomas[J]. Int J Oncol, 2008, 33(1): 69-79.
- [10] Freier K, Sticht C, Hofele C, et al. Recurrent coamplification of cytoskeleton-associated genes EMS1 and SHANK2 with CCND1 in oral squamous cell carcinoma[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2006, 45(2): 118-125. DOI: 10.1002/gcc.20270.
- [11] Shanmugathan M, Jothy S. Apoptosis, anoikis and their relevance to the pathobiology of colon cancer[J]. Pathol Int, 2000, 50(4): 273-279. DOI: 10.1046/j.1440-1827.2000.01047.x.

hepatic transplantation[J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(9): 1456-1457.

- [21] Frilling A, Malago M, Testa E, et al. Liver transplantation for metastasized extragastrointestinal stromal tumor; A case report and an overview of literature[J]. *Transplantation Proceedings*, 2010, 42(9): 3843-3848. DOI: 10. 1016/j. transproceed. 2010. 06. 016.
- [22] Pararas N, Levi D, Selvaggi G, et al. Mass clamping of the hilum to facilitate difficult hepatectomy during liver transplantation. A single center 10 year experience[J]. *Ann Surg*, 2009, 250(2): 273-276. DOI: 10. 1097/SLA. 0b013e3181b17161.
- [23] Joensuu H, Eriksson M, Sundby Hall K, et al, Reichardt P. One vs three years of adjuvant imatinib for operable gastrointestinal stromal tumor; a randomized trial[J]. *JAMA*, 2012, 307(12): 1265-1272. DOI: 10. 1001/jama. 2012. 347.
- [24] Platoff RM, Morano WF, Marconcini L, et al. Recurrent Gastrointestinal Stromal Tumors in the Imatinib Mesylate Era; Treatment Strategies for an Incurable Disease[J]. *Case Rep Oncol Med*, 2017, 2017: 8349090. DOI: 10. 1155/2017/8349090.
- [25] Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, et al. Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(23): 4342-4349.

DOI: 10. 1200/JCO. 2003. 04. 190.

- [26] Debiec-Rychter M, Sciot R, Le Cesne A, et al. EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group; Italian Sarcoma Group; Australasian GastroIntestinal Trials Group. KIT mutations and dose selection for imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors[J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(8): 1093-1103. DOI: 10. 1016/j. ejca. 2006. 01. 030.
- [27] Singer S, Rubin BP, Lux ML, et al. Prognostic value of KIT mutation type, mitotic activity, and histologic subtype in gastrointestinal stromal tumors[J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(18): 3898-3905. DOI: 10. 1200/JCO. 2002. 03. 095.
- [28] Quek R, Farid M, Kanjanapan Y, et al. Prognostic significance of KIT exon 11 deletion mutation in intermediate-risk gastrointestinal stromal tumor[J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2017, 13(3): 115-124. DOI: 10. 1111/ajco. 12603.
- [29] George S, Wang Q, Heinrich MC, et al. Efficacy and safety of regorafenib in patients with metastatic and/or unresectable GI stromal tumor after failure of imatinib and sunitinib; a multi-center phase II trial[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(19): 2401-2407. DOI: 10. 1200/JCO. 2011. 39. 9394.

(收稿日期: 2018-12-03)

(上接第 205 页)

- [12] Alblazi KM, Siar CH. Cellular protrusions-lamellipodia, filopodia, invadopodia and podosomes-and their roles in progression of orofacial tumours; current understanding[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(6): 2187-2191.
- [13] Wang L, Zhao K, Ren B, et al. Expression of cortactin in human gliomas and its effect on migration and invasion of glioma cells[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(4): 1815-1824. DOI: 10. 3892/or. 2015. 4156.
- [14] Linder S. The matrix corroded: podosomes and invadopodia in extracellular matrix degradation[J]. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(3): 107-117. DOI: 10. 1016/j. tcb. 2007. 01. 002.
- [15] van Damme H, Brok H, Schuurin-Scholtes E, et al. The redis-

tribution of cortactin into cell-matrix contact sites in human carcinoma cells with 11q13 amplification is associated with both overexpression and post-translational modification[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(11): 7374-7380. DOI: 10. 1074/jbc. 272. 11. 7374.

- [16] Rodrigo JP, Garcia LA, Ramos S, et al. EMS1 gene amplification correlates with poor prognosis in squamous cell carcinomas of the head and neck[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(8): 3177-3182.
- [17] Li Y, Tondravi M, Liu J, et al. Cortactin potentiates bone metastasis of breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(18): 6906-6911.

(收稿日期: 2018-10-17)