

## 食管癌中真核翻译起始因子5A2的表达及与预后的相关性

陈杰伟<sup>1</sup>, 陈克明<sup>1</sup>, 蔡小嘉<sup>2</sup>, 张新科<sup>1</sup>, 刘君<sup>1</sup>, 蔡木炎<sup>1</sup>, 肖永波<sup>1</sup>

(1. 华南肿瘤国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心病理科, 广东广州 510060, 2. 中山大学孙逸仙纪念医院病理科, 广东广州 510120)

**摘要:**【目的】探讨真核翻译起始因子5A2(EIF5A2)在食管鳞状细胞癌(ESCC)中的表达及其临床意义。【方法】运用免疫组化方法,检测EIF5A2蛋白在135例食管鳞状细胞癌中的表达水平,分析其与临床病理参数之间的相关性及其预后价值。【结果】在135例ESCC患者中高表达68例,Pearson's卡方检验结果显示EIF5A2在ESCC中的表达水平与T分期( $P = 0.006$ )、淋巴结转移( $P = 0.031$ )、临床分期( $P = 0.026$ )显著相关;Cox比例风险模型分析EIF5A2是ESCC患者的独立预后危险因素;Kaplan-Meier分析结果显示,低表达组患者中位生存时间72.5个月,显著高于高表达组患者的中位生存时间51.7个月( $P < 0.05$ )。【结论】EIF5A2的过表达可能促进ESCC发生与发展而且是ESCC患者预后不良的标记物。

**关键词:** EIF5A2; 食管鳞状细胞癌; 免疫组化; 预后

中图分类号: R735.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2017)04-0512-05

### Expression of EIF5A2 in Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Its Correlation with the Prognosis

CHEN Jie-wei<sup>1</sup>, CHEN Ke-ming<sup>1</sup>, CAI Xiao-jia<sup>2</sup>, ZHANG Xin-ke<sup>1</sup>, LIU Jun<sup>1</sup>, CAI Mu-yan<sup>1</sup>, XIAO Yong-bo<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Oncology in South China//Department of pathology, Sun Yat-Sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China; 2. Department of Pathology, Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China)

Corresponding to: XIAO Yong-bo, E-mail: xiaoyb@sysucc.org.cn

**Abstract:** 【Objective】 To investigate the expression of eukaryotic translation initiation factor 5A2 (EIF5A2) and its clinical significance in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). 【Methods】 Immunohistochemistry was used to detect the expression of EIF5A2 protein in 135 cases of esophageal squamous cell carcinoma, and analyzed the correlation between the expression of EIF5A2 protein and clinicopathological parameters, and its prognosis value. 【Results】 Immunohistochemical analysis showed that 68 cases were overexpressed in 135 cases of ESCC. Pearson's chi-square test indicated that the expression of EIF5A2 in ESCC was significantly correlated with T stage ( $P = 0.006$ ), lymph node metastasis ( $P = 0.031$ ) and clinic stage ( $P = 0.026$ ). The Cox proportional hazard model analysis showed that EIF5A2 was an independent prognostic risk factor for ESCC patients. Kaplan-Meier analysis showed that the median survival time of patients with the low expression was 72.5 months, which was significantly higher than that of patients with the high expression, the median survival time of it are 51.7 months ( $P < 0.05$ ). 【Conclusion】 The overexpression of EIF5A2 may contribute to the development and progression of ESCC and EIF5A2 could be a novel potential prognostic marker for ESCC.

**Key words:** EIF5A2; ESCC; immunohistochemistry; prognosis

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(4): 512-516]

食管癌是全球八大最常见的恶性肿瘤之一,2012年食管癌有45.6万新增病例,同时每年约有40万人死于此病<sup>[1]</sup>。在我国,90%以上的食管癌为鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma,

ESCC),尽管发病率和死亡率在过去十年内有所减少<sup>[2]</sup>,但早期诊断困难、临床治疗效果有限、复发频繁导致食管癌患者普遍预后较差<sup>[3]</sup>。食管癌的五年存活率仅为25%左右<sup>[4]</sup>。真核翻译起始因

收稿日期: 2016-11-30

基金项目: 2015中山大学青年项目(520101210104)

作者简介: 陈杰伟, 硕士, 主管技师, E-mail: chenjie@sysucc.org.cn; 肖永波, 通信作者, E-mail: xiaoyb@sysucc.org.cn

子5A2(Eukaryotic Translation initiation factor-5A2, EIF5A2)是EIF5A家族中高度进化保守的基因之一。EIF5A与细胞增殖,蛋白质翻译,mRNA降解,细胞凋亡等密切相关<sup>[5]</sup>,EIF5A2与EIF5A具有82%同源性,是2001年关新元等从卵巢癌细胞株鉴定和克隆出的一个新基因<sup>[6]</sup>。EIF5A2通过多种机制诱导肿瘤发生上皮间质转化进而促进肿瘤侵袭转移<sup>[7]</sup>。研究者陆续报道EIF5A2在卵巢癌、胰腺癌、结直肠癌、膀胱癌、肝癌、肺癌、乳腺癌的发生和发展起着关键作用,并与肿瘤的分期和预后不良相关<sup>[8-14]</sup>,然而EIF5A2在ESCC中的预后价值国内外研究甚少。本研究用免疫组化方法检测ESCC患者组织中的EIF5A2蛋白表达水平,并通过统计学分析判断与预后的相关性,评估EIF5A2对ESCC患者预后的价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例临床资料及随访

收集2000年至2012年在中山大学肿瘤医院治疗的135例食管癌患者的内镜活检石蜡组织。所有入组病例均确诊为ESCC并且对放疗极为敏感,均有完整的临床病理特征及随访资料。经患者知情同意并经本院伦理委员会批复。本研究所有病例的诊断分级参照2000年WHO肿瘤分类标准,肿瘤的分期根据2002年美国联合委员会及国际联合癌症TNM分类系统。

### 1.2 免疫组化染色

EIF5A2蛋白的免疫组化染色应用标准EnVision法。将组织蜡块切片,厚度约3 μm,60℃烤片2h,二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,蒸馏水漂洗,pH 6.0的柠檬酸盐缓冲液高压修复2.5 min,流水冷却,免疫组化笔画圈,PBS漂洗2 min × 5次,一抗(EIF5A2, Abcam, 稀释浓度1:100)37℃孵育50 min,PBS缓冲液漂洗2 min × 5次,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浸泡10 min消除内源性过氧化物酶,PBS漂洗2 min × 5次,二抗(DAKO, K5007)37℃孵育30 min,PBS缓冲液漂洗2 min × 5次,DAB显色5~7 min(镜下控制),流水冲洗,苏木素复染,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。

### 1.3 免疫组化结果判断

由两位经验丰富的病理医师进行独立评估免疫组织化学结果。肿瘤阳性细胞数用百分数

(%)表示,染色强度用(-、+、++、+++ )表示;“-”为0分,“+”为100分,“++”为200分,“+++”为300分,乘以相应的肿瘤阳性细胞数得出每个样本的分数。本研究利用中位数得出截断值<sup>[15]</sup>。

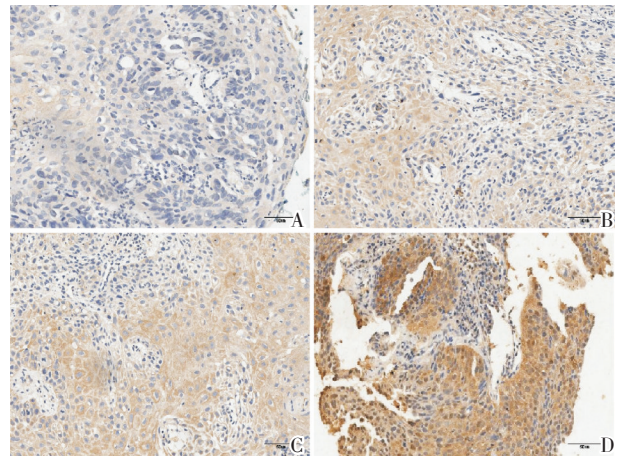
### 1.4 统计学处理

采用SPSS 16.0统计软件,运用Pearson卡方检验分析EIF5A2蛋白高低表达与临床病理参数的相关性,Kaplan-Meier法建立生存曲线,进一步比较高低表达两组之间中位生存时间的差异,再用Cox比例风险模型进行多因素分析,双侧 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 EIF5A2蛋白在135例ESCC组织中的表达情况

免疫组化结果显示:EIF5A2蛋白定位于细胞浆;免疫组化染色评估,可将EIF5A2蛋白在ESCC组织中的表达强度不同分为阴性(-)、弱阳性(+)、中等阳性(++)和强阳性(+++;图1)。



A: negative(-); B: weakly positive(+); C: Medium Positive(++); D: Strong positive(+++); Magnification: 200

图1 EIF5A2蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达情况  
Fig.1 Expression of EIF5A2 protein in esophageal squamous cell carcinoma

### 2.2 利用中位数确定EIF5A2蛋白在ESCC组织中的高低表达截断值

EIF5A2蛋白在ESCC组织中的表达评分中位数是100,最小值0,最大值240,均数97,标准差50,频数分布近似正态分布;利用中位数确定EIF5A2蛋白表达评分的截断值为100,因此,定义

≥100分为EIF5A2蛋白高表达组,<100分为低表达组;135例ESCC患者石蜡组织中50.4%(68/135)存在EIF5A2蛋白高表达。

### 2.3 ESCC患者的EIF5A2蛋白表达情况与临床病理参数之间的关系

卡方检验显示,ESCC患者EIF5A2蛋白的高低表达在患者的不同年龄、性别、肿瘤大小、有无远处转移中的分布并无不同( $P > 0.05$ )。然而,EIF5A2蛋白表达在p(T3+T4)的ESCC患者的表达水平显著升高( $P = 0.006$ ),有淋巴结转移的患者高表达率显著高于无淋巴结转移的患者( $P = 0.031$ ),在临床分期中,Ⅲ+Ⅳ期患者的高表达率显著高于Ⅰ+Ⅱ期患者( $P = 0.026$ ;表1)。

表1 EIF5A2蛋白表达与食管鳞状细胞癌患者临床病理参数相关性分析

Table 1 Correlation between EIF5A2 protein expression and clinicopathological parameters in 135 patients with esophageal squamous cell carcinoma

Variables	EIF5A2 protein		$P^{1)}$
	cases	High expression	
Age/years			0.939
≤60 <sup>2)</sup>	75	38	37
>60	60	30	30
Sex			0.177
Male	109	58	51
Female	26	10	16
Tumor size/cm			0.545
≤3.95 <sup>3)</sup>	85	43	42
>3.95	50	25	25
pT			0.006
T1+T2	24	6	18
T3+T4	111	62	49
pN			0.031
N0	11	2	9
N1	124	66	58
pM			0.185
M0	79	36	43
M1	56	32	24
Stage			0.026
Ⅰ+Ⅱ	14	3	11
Ⅲ+Ⅳ	121	65	56

1) Chi-square test; 2) Mean age; 3) Mean size

### 2.4 各临床病理参数对ESCC患者总生存时间影响本研究对包括EIF5A2在内的8项可能影响

ESCC患者生存时间的参数进行单因素分析,结果表明肿瘤大小( $P = 0.000$ )、T分期( $P = 0.032$ )、N分期( $P = 0.012$ )、M分期( $P = 0.000$ )、临床分期( $P = 0.043$ )、EIF5A2表达水平( $P = 0.002$ )均为影响患者术后生存时间的危险因素(表2)。

表2 单变量分析EIF5A2蛋白表达及临床病理参数在135例食管鳞状细胞癌患者预后的意义

Table 2 Analysis of EIF5A2 protein expression and clinicopathological parameters in the prognosis of 135 patients with esophageal squamous cell carcinoma

Variables	No. of cases	Median survival/months	$P$
Age/years			
≤60	75	58.2	0.905
>60	60	60.2	
Sex			
Male	109	58.3	0.458
Female	26	66.5	
Tumor size/cm			
≤3.95	85	52.9	0.000
>3.95	50	26.8	
pT			
T1+T2	24	62.3	0.032
T3+T4	111	30.3	
pN			
N0	11	102.1	0.012
N1	124	58.1	
pM			
M0	79	72.5	0.000
M1	56	42.8	
Stage			
Ⅰ+Ⅱ	14	84.8	0.043
Ⅲ+Ⅳ	121	58.2	
EIF5A2 expression			
High expression	68	51.7	0.002
Low expression	67	72.5	

### 2.5 EIF5A2蛋白的表达及ESCC患者预后关系

通过Kaplan-Meier分析并绘制高表达组患者与低表达组患者的生存曲线(图2)。结果显示EIF5A2低表达组患者中位生存期72.5个月,显著高于高表达组患者的中位生存期51.7个月( $P < 0.05$ )。多变量Cox回归分析,结果发现EIF5A2蛋白表达是ESCC患者的独立预后因素(HR:1.714, 95%CI:0.860-3.416; $P = 0.001$ ,表3)。

表3 多变量Cox回归分析鉴别ESCC患者的预后因素  
Table 3 Multivariate cox regression analysis identify prognostic factors for ESCC patients

Variables	Hazards ratio	95% CI	P
pT			0.007
T3+T4 vs. T1+T2	2.609	1.307-5.207	
pN			0.252
N1 vs. N0	2.053	0.599-7.035	
pM			0.001
M1 vs. M0	2.677	1.492-4.802	
EIF5A2 expression			0.001
High vs. Low	1.714	0.860-3.416	

CI: confidence interval

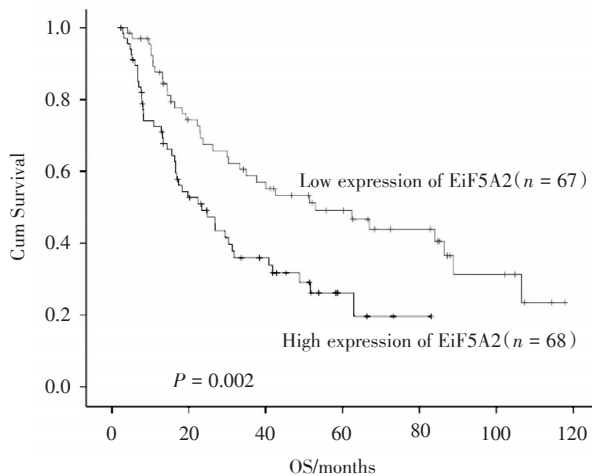


图2 Kaplan-Meier生存分析显示EIF5A2蛋白表达在ESCC患者预后中的意义

Fig.2 Kaplan-Meier survival analysis shows the significance of EIF5A2 protein expression in the prognosis of ESCC patients

### 3 讨论

近几年的研究表明,EIF5A2作为EIF5A家族的两个亚型之一,被确认为致癌蛋白,在多种肿瘤的恶性进展及预后方面具有重要的作用<sup>[16]</sup>。

在本研究中可以发现,一方面,随着EIF5A2蛋白在ESCC组织中的表达升高,ESCC患者的生存时间呈下降趋势,高表达组患者的中位生存期51.7个月,明显低于低表达组72.5个月;另一方面,EIF5A2的表达与ESCC患者T分期、有无淋巴结转移、临床分期显著相关( $P < 0.05$ )。这些结果

显示,在食管鳞状细胞癌中,EIF5A2可能参与了ESCC的发生与发展;可能与肿瘤增殖,侵袭和转移密切相关。进一步Cox回归多因素比例风险模型分析发现,过表达EIF5A2蛋白的ESCC患者预后不良,表明EIF5A2是ESCC患者预后不良的有效的独立预测指标。近几年EIF5A2相关研究表明,在卵巢癌、胰腺癌、结直肠癌、膀胱癌、肝癌、肺癌和胃癌等恶性肿瘤进展中,过表达EIF5A2蛋白的肿瘤患者预后不佳<sup>[8-13, 17-18]</sup>,这与我们的研究观点一致。

Meng等<sup>[17]</sup>研究发现,EIF5A2在胃癌中的表达与肿瘤转移相关基因密切相关,表明EIF5A2与胃癌的转移、预后相关。Wei等<sup>[18]</sup>研究发现,敲除EIF5A2基因可以抑制膀胱癌细胞的迁移和侵袭能力同时抑制体内潜在性转移和反转上皮-间质转化,而过度表达的EIF5A2则会促进膀胱癌细胞的迁移与侵袭能力,同时使癌组织发生上皮-间质转化;另外,EIF5A2也可通过激活转化生长因子- $\beta$ 促进上皮-间质转化从而使膀胱癌细胞更具侵袭性。因EIF5A2蛋白过度表达而促进癌细胞侵袭和淋巴结转移等也被发现在肝癌、肺癌、结直肠癌、卵巢癌等疾病进展过程中<sup>[8-15, 17-18]</sup>。然而,ESCC组织中的EIF5A2作用机制尚未十分明确,目前Li等<sup>[19]</sup>发现过表达的EIF5A2通过增加低氧诱导结合蛋白 $\alpha$ 介导的信号通路促进ESCC的转移和血管生成。本研究数据表明,EIF5A2的蛋白表达水平与ESCC肿瘤侵袭和淋巴结转移密切相关,但其中作用机制尚待进一步研究。

值得注意的是,本研究所选取的均是在临床治疗过程中发现对放疗极为敏感的病例,本研究结果表明EIF5A2蛋白高表达组的ESCC患者总体生存时间短、预后差,提示EIF5A2蛋白高表达组的ESCC患者在放疗敏感性、治疗应答率及缓解率等方面与低表达组存在差异。EIF5A2蛋白的表达水平可以作为评估ESCC患者放疗效果的指标,可以为临床医生对ESCC患者进行放疗剂量选择等制定合理的个性化的放疗方案提供依据,同时为精准治疗提供研究基础。

综上所述EIF5A2是影响ESCC患者预后的独立因素,与ESCC的发生发展密切相关;EIF5A2是一种很有前景的预后诊断标记物并有望成为抗癌治疗的分子靶标。

## 参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] Whiteman DC, Appleyard M, Bahin FF, et al. Australian clinical practice guidelines for the diagnosis and management of Barrett's esophagus and early esophageal adenocarcinoma [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 30(5):804-820.
- [4] Herskovic A, Russell W, Liptay M, et al. Esophageal carcinoma advances in treatment results for locally advanced disease: Review [J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(5):1095-1103.
- [5] Mathews MB, Hershey JW. The translation factor eIF5A and human cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1849(7):836-844.
- [6] Guan XY, Sham JS, Tang TC, et al. Isolation of a novel candidate oncogene within a frequently amplified region at 3q26 in ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(9):3806-3809.
- [7] 孟庆彬,于健春,马志强,等. EIF5A2在肿瘤中的作用研究进展 [J]. *基础医学与临床*, 2013, 33(1): 123-125.
- Meng QB, Yu JC, Ma ZQ, et al. The progress of studies on the role of EIF5A2 in human cancer [J]. *Basic Clin Med*, 2013, 33(1): 123-125.
- [8] Yang GF, Xie D, Liu JH, et al. Expression and amplification of eIF-5A2 in human epithelial ovarian tumors and overexpression of EIF-5A2 is a new independent predictor of outcome in patients with ovarian carcinoma [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 112(2):314-318.
- [9] 韦颖昕,陈革,由磊,等. 真核翻译起始因子5A2在胰腺癌中的表达及与预后的相关性 [J]. *中国医学科学院学报*, 2013, 35(6):634-638.
- Wei YX, Chen G, You L, et al. Expression of Eukaryotic Translation Initiation Factor 5A2 in Pancreatic Adenocarcinoma and Its Correlation with the Prognosis [J]. *Acta Acad Med Sin*, 2013, 35(6): 634-638.
- [10] Zhu W, Cai MY, Tong ZT, et al. Overexpression of EIF5A2 promotes colorectal carcinoma cell aggressiveness by upregulating MTA1 through C-myc to induce epithelial-mesenchymal transition [J]. *Gut*, 2012, 61(4): 562-575.
- [11] Luo JH, Hua WF, Rao HL, et al. Overexpression of EIF-5A2 predicts tumor recurrence and progression in pTa/pT1 urothelial carcinoma of the bladder [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(5):896-902.
- [12] Tang DJ, Dong SS, Ma NF, et al. Overexpression of eukaryotic initiation factor 5A2 enhances cell motility and promotes tumor metastasis in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2010, 51(4): 1255-1263.
- [13] He LR, Zhao HY, Li BK, et al. Overexpression of eIF5A-2 is an adverse prognostic marker of survival in stage I non-small cell lung cancer patients [J]. *Int J Cancer*, 2011, 129(1): 143-150.
- [14] 李卫东,蔡植华,谭业葵,等. 真核翻译起始因子-5A2在乳腺癌中的表达及其临床意义 [J]. *解剖学研究*, 2011, 33(4): 271-273.
- Li WD, Cai ZH, Tan YK, et al. Expression of EIF-5A2 in breast cancer and its clinical significance [J]. *Anat Res*, 2011, 33(4): 271-273.
- [15] Hu WH, Chen HH, Yen SL, et al. Increased expression of interleukin-23 associated with progression of colorectal cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2017, 115(2): 208-212.
- [16] Wang FW, Guan XY, Xie D. Roles of eukaryotic initiation factor 5A2 in human cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2013, 9(10):1013-1020.
- [17] Meng QB, Kang WM, Yu JC, et al. Overexpression of eukaryotic translation initiation factor 5A2 (EIF5A2) correlates with cell aggressiveness and poor survival in gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0119229.
- [18] Wei JH, Cao JZ, Zhang D, et al. EIF5A2 predicts outcome in localised invasive bladder cancer and promotes bladder cancer cell aggressiveness in vitro and in vivo [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(7):1767-1777.
- [19] Li Y, Fu L, Li JB, et al. Increased expression of EIF5A2, via hypoxia or gene amplification, contributes to metastasis and angiogenesis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(7): 1701-1713 e1709.

(编辑 刘清海)