

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.06.004

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.06.004>

EZH2 在伴微乳头结构肺腺癌中的表达及预后意义

郭丹^{1*}, 王安琪^{1*}, 谢婷¹, 孙健²

(1. 中国医学科学院北京协和医院医学科学研究中心, 北京 100730;

2. 中国医学科学院北京协和医院病理科, 北京 100730)

[摘要] 目的: 通过研究EZH2在伴微乳头结构肺腺癌(pulmonary adenocarcinoma with micropapillary pattern, MPPAC)肿瘤组织中的表达, 分析其与MPPAC临床病理特征的相关性, 探讨EZH2在MPPAC发生发展及预后评估中的可能作用。方法: 采用组织芯片技术和免疫组织化学检测84例MPPAC患者中EZH2蛋白的表达, 分析其表达与各临床病理特征的相关性, 并应用Kaplan-Meier法及log-rank检验分析EZH2表达与MPPAC患者生存率的关系。结果: 免疫组织化学的结果显示54.8%的MPPAC患者呈现EZH2阳性表达, 统计学结果表明EZH2的表达与MPPAC患者的性别、年龄、肿瘤直径、淋巴结转移、TNM分期均无明显相关性, 而与吸烟密切相关, 且差异有统计学意义($P < 0.05$)。MPPAC中EZH2阳性和阴性组的累计生存率差异不显著($P > 0.05$), 阳性组患者的术后无瘤生存时间明显低于阴性组, Cox回归分析显示随着时间的延长, 患者生存率逐渐下降, 死亡风险不断增大。结论: EZH2的表达上调可能与MPPAC的发生和预后相关, 为进一步探讨EZH2在MPPAC中的作用提供了理论基础。

[关键词] 伴微乳头结构肺腺癌; EZH2; 免疫组织化学; 肿瘤发生发展; 预后

Expression of EZH2 in micropapillary-predominant subtype pulmonary adenocarcinoma and its prognostic significance

GUO Dan^{1*}, WANG Anqi^{1*}, XIE Ting¹, SUN Jian²

(1. Medical Science Research Center, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730;

2. Department of Pathology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

Abstract **Objective:** To explore the role of EZH2 in the tumorigenesis, progression, and prognosis of pulmonary adenocarcinoma with micropapillary pattern (MPPAC) by investigating the expression of EZH2 in human (MPPAC) and its correlation with the clinicopathologic characteristics. **Methods:** The expression of EZH2 were analyzed in 84 cases of MPPAC tissue with tissue microarray and immunohistochemistry (IHC), and

*为共同第一作者

收稿日期(Date of reception): 2020-02-06

通信作者(Corresponding author): 孙健, Email: sunjian0720@126.com

基金项目(Foundation item): 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2017-I2M-1-001, 2017-I2M-2-001)。This work was supported by Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS) Initiative for Innovative Medicine, China (2017-I2M-1-001, 2017-I2M-2-001).

the relationship of EZH2 expression and clinicopathologic characteristics, and prognosis were analyzed. The relationship between EZH2 expression and overall survival of patients was estimated by the Kaplan-Meier method and the log-rank test. **Results:** The immunohistochemical data showed that 54.8% of the MPPAC expressed EZH2, and its positive expression was highly correlated with smoking ($P < 0.05$), but there was no significant correlation with gender, age, tumor diameter, lymph node metastasis, and TNM staging in MPPAC patients. There was no significant difference in the cumulative survival rate between the EZH2-positive group and the EZH2-negative group in MPPAC ($P > 0.05$), and the postoperative tumor-free survival time of patients in the positive group was significantly lower than that in the negative group. The Cox regression analysis indicated that with the extension of time, the survival rate of patients decreased gradually and the risk of death increased continuously. **Conclusion:** The up-regulation expression of EZH2 may be closely related to the tumorigenesis, progression and prognosis of MPPAC, which provides a theoretical basis for further exploring the function of EZH2 in MPPAC.

Keywords pulmonary adenocarcinoma with micropapillary pattern; EZH2; immunohistochemistry; tumorigenesis and progression; prognosis

伴微乳头结构肺腺癌(pulmonary adenocarcinoma with micropapillary pattern, MPPAC)是在肺泡壁生长型(前毛细支气管肺泡癌)、腺泡、乳头状腺癌和实体腺癌这4种基本类型的基础上不断发展起来的^[1]。因其独特的分子生物学特征、高度侵袭性机制、不良的预后等,受到广泛关注。发生在肺的微乳头状腺癌分为经典型和变异型两种。经典型MPPAC指无纤维血管轴心的微乳头簇,表现为微乳头漂浮于肺泡腔;变异型区别在于微乳头漂浮于衬覆肿瘤细胞的腔内。有研究^[2]表明,微乳头状成分参与肺腺癌的进展和转移,是不良预后的标志。

EZH2是果蝇zeste基因增强子的人类同源物,PcG基因家族的重要成员之一,它是哺乳动物细胞中组蛋白H3第27位赖氨酸(H3K27)甲基化的两种主要催化酶之一^[3]。EZH2基因和蛋白在多种恶性肿瘤中表达上调,在非小细胞肺癌中,EZH2高表达的患者肿瘤体积较大,呈现晚期进展趋势且预后较差^[4]。此外,EZH2的高表达还与非腺癌、中低分化、高病理分级等因素相关^[5]。

目前,已有多项研究发现EZH2与非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)预后相关,作为PcG家族的成员,它促进了细胞周期的增殖,从而促进了肺癌细胞周期的发展^[6]。但目前尚未见文献报道EZH2在MPPAC中作用机制的相关研究,本文应用组织芯片技术及免疫组织化学法检测EZH2在MPPAC肿瘤组织中的表达情况,分析其与MPPAC临床病理特征的关系,以及EZH2的表达与患者预后的关系,以探索EZH2在MPPAC发生发展和预后评估中的作用。

1 对象与方法

1.1 对象

收集北京协和医院病理科2004年4月至2015年7月期间存档的手术切除的原发性肺腺癌石蜡包埋组织标本,按照WHO肺肿瘤组织学(2015年)分类,对其组织学形态及分化程度进行评估,并以微乳头结构(micropapillary pattern, MPP)≥50%为入组条件,筛选出MPPAC病例84例,其中男性50例,女性34例,男女比例1.47:1;年龄29~82岁,平均年龄61.08岁。该组织标本的使用已通过医院伦理委员会的批准。

1.2 方法

所有石蜡包埋组织标本均经10%福尔马林固定、常规脱水、石蜡包埋、切片,HE染色,镜下观察、选取肿瘤组织位点共84个,制成组织芯片。应用DAKO(Autostainer Link 48)全自动染色仪对组织芯片切片进行免疫组织化学染色:首先使用Tris/EDTA抗原修复液(10 mmol/L Tris, 1 mmol/L EDTA; pH 9.0)97 °C孵育20 min进行抗原修复;在室温下用DAKO一抗稀释液(Dako, Glostrup, Denmark, cat. no.K800621)1:200稀释EZH2抗体(clone D2C9; Cell Signaling Technology; cat. no. 5246S),室温孵育30 min;根据制造商的说明,在室温下使用抗兔免疫过氧化物酶聚合物(Envision FLEX/HRP)孵育20 min;最后进行苏木精复染5 min。上机染色结束后,用中性树胶进行封片,完成对石蜡切片的染色。

1.3 结果判定

观察芯片中每个组织样本高倍镜($\times 200$)下染色阳性的瘤细胞视野,其中根据阳性细胞所占肿瘤细胞百分比记录为:阴性(无着色);弱($<25\%$);中等($25\% \sim 75\%$);强($>75\%$)。当核着色为中等或强时为EZH2的阳性组,完全阴性和弱着色的为阴性组。

1.4 统计学处理

应用SPSS19.0软件进行统计学分析,将所有收集到的临床病理特征数据,进行分类赋值,并录入计算机。采用 χ^2 检验,分析MPPAC患者各临床病理特征在EZH2的不同表达组之间的关系。所有患者的生存结果,应用Kaplan-Meier方法,绘制生存曲线,并计算中位生存时间,比较单因素水平MPPAC患者的生存情况,并使用log-rank检验,计算P值,进行显著性分析。应用多因素Cox风险比例模型,分析性别、年龄、吸烟史、肿瘤大小、TNM分期、复发及生存状态等因素,与总体生存期的关系,判断其预后的独立危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EZH2在MPPAC的表达

免疫组织化学染色的结果显示:在84例样本中,EZH2阳性表达共46例(54.8%),阴性表达共38例(45.2%)。高倍镜下显示其主要表达于肿瘤的细胞核内(图1),且在阳性组的微乳头簇中均呈现EZH2的表达,而阴性对照组中仅有部分构成微乳头的瘤细胞核呈现表达。

2.2 EZH2的表达与MPPAC临床病理特征的关系

EZH2的表达与MPPAC患者性别、年龄、肿瘤大小、淋巴结转移、TNM分期等均无明显相关性($P > 0.05$),而与吸烟与否具有相关性($P < 0.05$,表1)。

2.3 EZH2的表达与MPPAC患者无瘤生存时间的关系

将84例MPPAC患者分为EZH2阳性组35例及阴性组23例(失访26例),分析不同EZH2表达程度与MPPAC患者的生存时间的关系,生存曲线显示EZH2阴性组累计生存率高于阳性组,且阴性组中位生存期(99 ± 24.074)个月,阳性组中位生存期(43 ± 5.953)个月,表明EZH2阳性表达的患者中位生存期短且预后差,两组的累计生存率差异无统计学意义($\chi^2 = 2.961$, $P = 0.085$,图2)。

2.4 多因素Cox回归分析影响总体生存期的独立危险因素

应用Cox回归模型分析了EZH2表达情况、淋巴结转移、肿瘤直径、吸烟史、性别、TNM分期和年龄这7个不随时间改变的影响因素与总体生存期的关系(表2)。结果显示:性别、肿瘤直径、TNM分期为影响生存的保护因素,而年龄、吸烟史、淋巴结转移、EZH2的不同表达水平,以及IV期对I期的影响,均与MPPAC患者的生存情况呈正相关,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。同时多因素Cox回归模型生存率曲线图(图3)显示随时间的延长,患者生存率逐渐下降;Cox模型的风险量曲线图(图4)显示随时间的延长,患者的死亡风险不断增大。

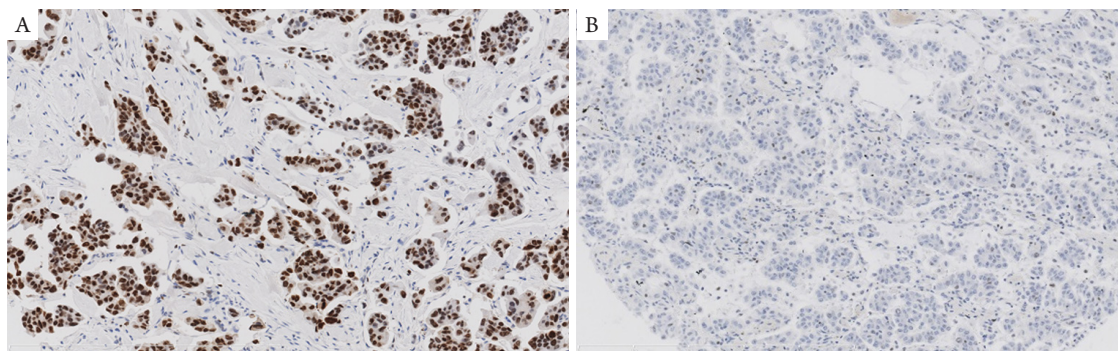


图1 EZH2在伴微乳头结构肺腺癌中的表达与分布

Figure 1 Expression and distribution of EZH2 in MPPAC

(A)阳性组织中EZH2的表达($\times 200$);(B)阴性组织EZH2的表达($\times 200$)。

(A) Positive expression of EZH2 in MPPAC ($\times 200$); (B) negative expression of EZH2 in MPPAC ($\times 200$).

表1 EZH2蛋白表达与临床病理特征的相关性

Table 1 Relationship between EZH2 protein expression and clinicopathological features

临床病理特征	n	EZH2/[例(%)]		χ^2	P
		-	+		
性别				0.076	0.782
男	50	22 (57.9)	28 (60.9)		
女	34	16 (42.1)	18 (39.1)		
吸烟史				4.709	0.030
无	56	30 (79.0)	26 (56.5)		
有	28	8 (21.1)	20 (43.5)		
年龄/岁				0.025	0.875
≤60	39	18 (47.3)	21 (45.7)		
>60	45	20 (52.7)	25 (54.3)		
肿瘤大小/cm				0.002	0.967
≤3	40	18 (47.3)	22 (47.9)		
>3	44	20 (52.7)	24 (52.1)		
淋巴结转移				0.698	0.403
无	26	10 (26.3)	16 (34.8)		
有	58	28 (73.7)	30 (65.2)		
TNM分期				3.298	0.348
I	25	9 (23.7)	16 (34.8)		
II	22	13 (34.2)	9 (19.6)		
III	30	12 (31.6)	18 (39.1)		
IV	7	4 (10.5)	3 (6.5)		
复发				0.910	0.340
是	35	7 (8.8)	15 (18.9)		
否	23	16 (20.2)	20 (25.3)		
生存状态				0.028	0.867
存活	35	13 (16.4)	19 (24)		
死亡	23	10 (12.6)	16 (20.2)		

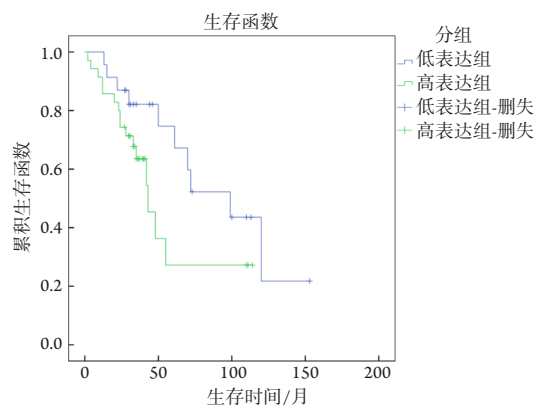


图2 EZH2的表达与MPPAC患者术后无瘤生存时间的相关性

Figure 2 Relevance of EZH2 expression and postoperative disease-free survival time of MPPAC patients

表2 MPPAC患者多因素Cox回归分析

Table 2 Multivariate Cox regression analysis of patients with MPPAC

变量	回归系数	相对危险系数	95%CI	P
TNM分期(以I期为对照)				0.660
II期	-1.061	0.346	0.038~3.135	0.345
III期	-0.378	0.685	0.128~3.678	0.659
IV期	0.009	1.009	0.196~5.200	0.991
性别(以男性为对照)	-0.143	0.867	0.352~2.132	0.756
年龄(以>60岁为对照)	0.152	1.164	0.458~2.960	0.750
肿瘤直径(以直径>3 cm为对照)	-0.221	0.802	0.331~1.944	0.625
吸烟史(以无吸烟史为对照)	0.253	1.288	0.524~3.169	0.581
淋巴结转移(以无淋巴结转移为对照)	0.480	1.616	0.246~10.595	0.617
分组(以阴性组为对照)	0.945	2.573	0.983~6.737	0.054

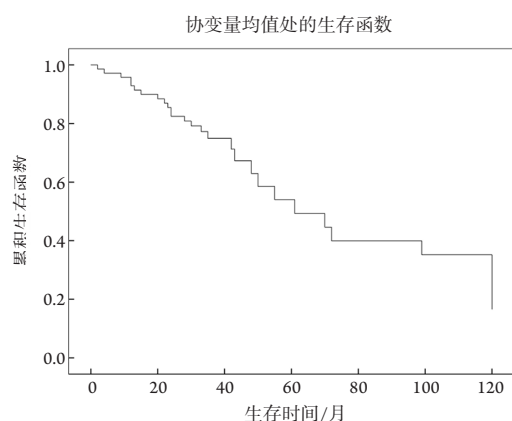


图3 MPPAC患者Cox模型生存率曲线图

Figure 3 Survival curve of Cox model in MPPAC patients

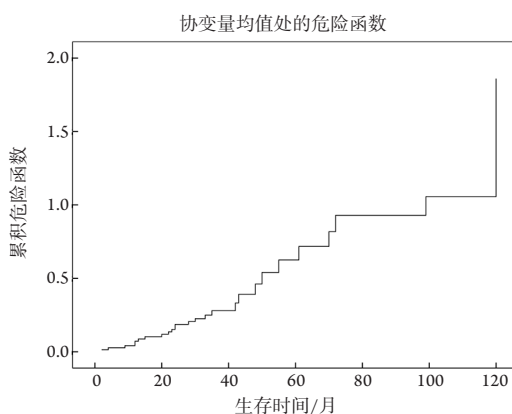


图4 MPPAC患者Cox模型的风险量曲线图

Figure 4 Risk curve of Cox model in MPPAC patients

3 讨论

本研究拟探讨EZH2基因在MPPAC肿瘤组织中的表达,分析其与MPPAC发生、发展及预后等因素的相关性。MPPAC在2002年首次报道后广泛受到关注^[7],其主要发生在肺,也有报道发生在其他器官中的微乳头状癌,如尿道、膀胱、涎腺导管等^[8-9]。MPPAC由于其高侵袭性、转移性,复发性和预后较差等特征被广泛关注^[10-11]。有研究^[12]结果显示:I期肺腺癌中,伴有微乳头结构的病例组与无微乳头结构的对照组的5年生存率分别为79%与93%,有显著差异。此外,另有研究^[13-14]表明:伴微乳头结构的患者预后较差,其与复发早、生存时间短有关,且是远处骨转移独立的不良预后因素。

本研究对84例MPPAC患者的石蜡样本采用EZH2抗体进行免疫组织化学染色,探讨EZH2基因在伴微乳头结构肺腺癌组织中的表达,分析其与MPPAC各临床病理特征及预后的关系,结果显示EZH2的表达与患者的性别、年龄、肿瘤直径、淋巴结转移、TNM分期均无明显相关性。前期研究^[15]显示:EZH2是PcG家族的重要成员之一,也是PRC2复合体的重要活性成分,其在肿瘤的发生、发展和转移等过程中的机制不断被深入探讨。研究^[16-17]发现其可以通过催化组蛋白H3第27位赖氨酸三甲基化(H3K27me3),抑制靶基因的

表达并促进肿瘤的发生。有研究^[18-21]表明, EZH2可促进肿瘤细胞的增殖, 维持干细胞的多能性, 并促进胶质母细胞瘤和前列腺肿瘤干细胞的致瘤性。在骨髓增生异常综合征和恶性淋巴瘤中, 通过染色体缺失或体细胞突变激活EZH2基因, 可促进肿瘤的发生^[22-23]。此外, EZH2在前列腺癌、乳腺癌、肠癌和自然杀伤性T细胞淋巴瘤(NKTL)中可不通过PRC复合体而发挥调控功能, 其通过介导AKT通路的Ser21磷酸化直接与雄激素受体(AR)结合并甲基化, 从而激活下游基因^[24]。也有研究^[25]显示: EZH2不单以甲基转移酶活性发挥作用, 在雌激素受体(ER)阴性的乳腺癌细胞中, EZH2与NF- κ B成分结合直接激活其下游目标基因的转录。同样, 在NKTL中EZH2过表达与H3K27me3无关, 缺乏甲基转移酶活性的EZH2突变体在NKTL细胞系中异位表达, 使内源性EZH2变异导致肿瘤生长抑制^[26]。在肺癌中EZH2可以通过多种方式参与肿瘤的发生发展, 如通过上调CCL5促进肺癌转移和巨噬细胞浸润^[27], 也有通过lncRNA、microRNA等分子与EZH2结合, 从而调控细胞增殖和肿瘤的发生^[28-30]。综上所述, EZH2作为双面作用的分子, 兼具转录抑制和激活的功能, 具体取决于它与PRC2复合体及细胞环境的相互作用。

EZH2的表达上调会促进肿瘤的发生发展。原发性和转移性前列腺癌全基因组分析显示EZH2在mRNA和蛋白质中均呈现上调, 并且是前列腺癌细胞中关键的驱动性癌基因^[31]。在三阴乳腺癌中, EZH2阳性与直径大于2 cm的肿瘤之间存在关联趋势^[32], 其表达的上调对三阴乳腺癌进展的影响至关重要, 是侵袭性乳腺癌的重要标志^[33]。EZH2的表达与患者种族、淋巴结是否转移、病理分期、Her2和CK5/6的相关性均无统计学意义, 但仍然具有一定的参考价值^[32], 这与本研究结果较为相似。此外, EZH2的表达上调还与很多因素呈现显著相关, 如Ki-67指数、cyclin E指数、非腺癌、高病理分级等^[5]。

本研究显示EZH2的表达上调与吸烟密切相关($P=0.030$), 表明有吸烟史的MPPAC患者中EZH2蛋白的表达显著高于无吸烟史的患者。研究^[34]显示: 与腺癌的其他组织学亚型相比, 吸烟与MPPAC及实体腺癌呈密切相关, 且吸烟的数量与MPPAC及实体腺癌呈现相关性。此外, 吸烟会促使EZH2基因表达上调, 其通过调节EZH2诱导支气管上皮细胞凋亡、间质转化和细胞侵袭, 从而促进慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)患者的气道从炎症进展

为肺癌^[35]。同时EZH2介导H3K27甲基化和lncRNA HOTAIR表观沉默p21, 促使香烟烟雾提取物诱导的人支气管上皮细胞周期改变, 这一结果阐明了吸烟介导下的EZH2诱导肺癌发生的调控机制^[36]。此外, 近10年来肺癌危险因素流行病学调查显示吸烟是肺癌的危险因素, 且呈中度相关^[37], 吸烟和其他协变量与肺癌发病率增加的风险显著相关^[38]。本研究结果也同样提示吸烟可能通过影响EZH2的表达促进MPPAC的发生发展, 但具体的作用机制还有待于进一步深入研究。接下来, 在不考虑各危险因素之间相互作用的情况下我们比较EZH2不同表达水平的两组MPPAC患者的生存时间, 结果显示EZH2阴性组累计生存率高于阳性组, 且阳性患者的中位生存时间缩短, 经log-rank检验分析显示两组无统计学差异($\chi^2=2.961$, $P=0.085$)。尽管如此, 但EZH2阳性组患者的术后无瘤生存时间明显低于阴性组, 提示EZH2表达上调可能导致患者的预后更差, 可以作为影响MPPAC患者的预后因素之一。同时, 已有研究^[4,39]报道在NSCLC中EZH2表达呈阳性的患者预后状况也更差。

为排除单变量分析得出的与MPPAC患者预后相关的因素(淋巴结转移)为协变量的可能性, 我们进一步应用多因素Cox回归分析了EZH2表达情况、淋巴结转移、肿瘤直径、吸烟史、TNM分期、性别、年龄与总体生存期的关系。尽管没有找到MPPAC患者的独立危险因素(无统计学意义), 但相对于其他因素, EZH2的表达与MPPAC患者预后相关性较大($P=0.054$), 提示EZH2的表达可能为MPPAC患者的候选独立危险因素。同时, Cox回归模型生存率曲线显示患者生存率随时间的延长而逐渐下降, 而Cox模型的风险量曲线图的趋势也非常明显, 即患者在生存上所经历的死亡风险随时间的延长而增大, 该结论与肿瘤患者发生发展及文献报道有一致性^[40]。

此外, 本研究随访例数较少、分析变量的局限性等不足, 可能导致研究结果的个别偏倚, 在下一步的研究中可通过增加病例数和分析变量来深入探讨EZH2的表达与累计生存率及吸烟与患者生存独立危险因素的相关性等。同时, 吸烟调控EZH2的表达促进MPPAC发生发展的具体作用机制也待于进一步深入研究。

综上所述, 本研究探讨EZH2在MPPAC肿瘤组织中的表达, 分析EZH2与MPPAC发生发展及预后等因素的相关性, 发现EZH2的表达上调可能与MPPAC的发生和预后密切相关, 这为进一步深入

探讨EZH2在MPPAC中的作用及机制研究提供了理论基础。

参考文献

1. Emoto K, Eguchi T, Tan KS, et al. Expansion of the concept of micropapillary adenocarcinoma to include a newly recognized filigree pattern as well as the classical pattern based on 1468 stage I lung adenocarcinomas[J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(11): 1948-1961.
2. Zombori T, Nyari T, Tiszlavicz L, et al. The more the micropapillary pattern in stage I lung adenocarcinoma, the worse the prognosis—a retrospective study on digitalized slides[J]. *Virchows Arch*, 2018, 472(6): 949-958.
3. Cardoso C, Mignon C, Hetet G, et al. The human EZH2 gene: genomic organisation and revised mapping in 7q35 within the critical region for malignant myeloid disorders[J]. *Eur J Hum Genet*, 2000, 8(3): 174-180.
4. Huqun, Ishikawa R, Zhang J, et al. Enhancer of zeste homolog 2 is a novel prognostic biomarker in nonsmall cell lung cancer[J]. *Cancer*, 2012, 118(6): 1599-1606.
5. Wan L, Li X, Shen H, et al. Quantitative analysis of EZH2 expression and its correlations with lung cancer patients' clinical pathological characteristics[J]. *Clin Transl Oncol*, 2013, 15(2): 132-138.
6. Xia H, Zhang W, Li Y, et al. EZH2 silencing with RNA interference induces G2/M arrest in human lung cancer cells in vitro[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 348728.
7. Amin MB, Tamboli P, Merchant SH, et al. Micropapillary component in lung adenocarcinoma: a distinctive histologic feature with possible prognostic significance[J]. *Am J Surg Pathol*, 2002, 26(3): 358-364.
8. Amin MB, Ro JY, el-Sharkawy T, et al. Micropapillary variant of transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Histologic pattern resembling ovarian papillary serous carcinoma[J]. *Am J Surg Pathol*, 1994, 18(12): 1224-1232.
9. Nagao T, Gaffey TA, Visscher DW, et al. Invasive micropapillary salivary duct carcinoma: a distinct histologic variant with biologic significance[J]. *Am J Surg Pathol*, 2004, 28(3): 319-326.
10. Yuan Y, Ma G, Zhang Y, et al. Presence of micropapillary and solid patterns are associated with nodal upstaging and unfavorable prognosis among patient with cT1N0M0 lung adenocarcinoma: a large-scale analysis[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144(4): 743-749.
11. Qian F, Yang W, Wang R, et al. Prognostic significance and adjuvant chemotherapy survival benefits of a solid or micropapillary pattern in patients with resected stage IB lung adenocarcinoma[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2018, 155(3): 1227-1235.e1222.
12. Zhang J, Liang Z, Gao J, et al. Pulmonary adenocarcinoma with a micropapillary pattern: a clinicopathological, immunophenotypic and molecular analysis[J]. *Histopathology*, 2011, 59(6): 1204-1214.
13. Yanagawa N, Shiono S, Abiko M, et al. The Clinical Impact of Solid and Micropapillary Patterns in Resected Lung Adenocarcinoma[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(11): 1976-1983.
14. Li C, Shen Y, Hu F, et al. Micropapillary pattern is associated with the development of brain metastases and the reduction of survival time in EGFR-mutation lung adenocarcinoma patients with surgery[J]. *Lung Cancer*, 2020, 141: 72-77.
15. Nakagawa M, Kitabayashi I. Oncogenic roles of enhancer of zeste homolog 1/2 in hematological malignancies[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(8): 2342-2348.
16. Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
17. Hebert M, Potin S, Sebbagh M, et al. Rho-ROCK-dependent ezrin-radixin-moesin phosphorylation regulates Fas-mediated apoptosis in Jurkat cells[J]. *J Immunol*, 2008, 181(9): S963-S973.
18. Richly H, Aloia L, Di Croce L. Roles of the Polycomb group proteins in stem cells and cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2011, 2: e204.
19. Tsang DP, Cheng AS. Epigenetic regulation of signaling pathways in cancer: role of the histone methyltransferase EZH2[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(1): 19-27.
20. Huang BY, Pan XY, Li ZX, et al. Polycomb group proteins and their roles in regulating stem cell development[J]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 2012, 34(3): 281-285.
21. Kim E, Kim M, Woo DH, et al. Phosphorylation of EZH2 activates STAT3 signaling via STAT3 methylation and promotes tumorigenicity of glioblastoma stem-like cells[J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(6): 839-852.
22. Vrzalikova K, Skarda J, Ehrmann J, et al. Prognostic value of Bmi-1 oncoprotein expression in NSCLC patients: a tissue microarray study[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2008, 134(9): 1037-1042.
23. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer[J]. *Nature*, 2002, 419(6907): 624-629.
24. Xu K, Wu ZJ, Groner AC, et al. EZH2 oncogenic activity in castration-resistant prostate cancer cells is Polycomb-independent[J]. *Science*, 2012, 338(6113): 1465-1469.
25. Lee ST, Li Z, Wu Z, et al. Context-specific regulation of NF-kappaB target gene expression by EZH2 in breast cancers[J]. *Mol Cell*, 2011, 43(5): 798-810.
26. Yan J, Ng SB, Tay JL, et al. EZH2 overexpression in natural killer/T-cell lymphoma confers growth advantage independently of histone methyltransferase activity[J]. *Blood*, 2013, 121(22): 4512-4520.
27. Xia L, Zhu X, Zhang L, et al. EZH2 enhances expression of CCL5 to promote recruitment of macrophages and invasion in lung cancer[J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2020, 67(6): 1011-1019.

28. Liu JQ, Feng YH, Zeng S, et al. linc01088 promotes cell proliferation by scaffolding EZH2 and repressing p21 in human non-small cell lung cancer[J]. *Life Sci*, 2020, 241: 117134.
29. Zhang G, Wu YJ, Yan F. MicroRNA-130-5p promotes invasion as well as migration of lung adenocarcinoma cells by targeting the EZH2 signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(21): 9480-9488.
30. Chen L, Zhuo HZ, Wu JY, et al. MiR-92b inhibits proliferation and invasion of lung cancer by targeting EZH2[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(6): 3166-3173.
31. Labbe DP, Sweeney CJ, Brown M, et al. TOP2A and EZH2 provide early detection of an aggressive prostate cancer subgroup[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(22): 7072-7083.
32. Hussein YR, Sood AK, Bandyopadhyay S, et al. Clinical and biological relevance of enhancer of zeste homolog 2 in triple-negative breast cancer[J]. *Hum Pathol*, 2012, 43(10): 1638-1644.
33. Ye L, Li F, Song Y, et al. Overexpression of CDCA7 predicts poor prognosis and induces EZH2-mediated progression of triple-negative breast cancer[J]. *Int J Cancer*, 2018, 143(10): 2602-2613.
34. Yi JH, Choi PJ, Jeong SS, et al. Prognostic significance of cigarette smoking in association with histologic subtypes of resected lung adenocarcinoma[J]. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, 52(5): 342-352.
35. Anzalone G, Arcoleo G, Bucchieri F, et al. Cigarette smoke affects the onco-suppressor DAB2IP expression in bronchial epithelial cells of COPD patients[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 15682.
36. Liu Y, Wang B, Liu X, et al. Epigenetic silencing of p21 by long non-coding RNA HOTAIR is involved in the cell cycle disorder induced by cigarette smoke extract[J]. *Toxicol Lett*, 2016, 240(1): 60-67.
37. 王冬梅, 陈勃江, 李为民, 等. 肺癌危险因素Meta分析[J]. *中国循证医学杂志*, 2010, 10(12): 1446-1449.
- WANG Dongmei, CHEN Bojiang, LI Weimin, et al. Risk factors on lung cancer: A meta-analysis[J]. *Chinese Journal of Evidence-Based Medicine*, 2010, 10(12): 1446-1449.
38. Hong S, Mok Y, Jeon C, et al. Tuberculosis, smoking and risk for lung cancer incidence and mortality[J]. *Int J Cancer*, 2016, 139(11): 2447-2455.
39. Lu X, He X, Su J, et al. EZH2-mediated epigenetic suppression of GDF15 predicts a poor prognosis and regulates cell proliferation in non-small-cell lung cancer[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 12: 309-318.
40. Pyo JS, Kim JH. Clinicopathological significance of micropapillary pattern in lung adenocarcinoma[J]. *Pathol Oncol Res*, 2018, 24(3): 547-555.

本文引用: 郭丹, 王安琪, 谢婷, 孙健. EZH2在伴微乳头结构肺腺癌中的表达及预后意义[J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(6): 1259-1266. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.06.004

Cite this article as: GUO Dan, WANG Anqi, XIE Ting, SUN Jian. Expression of EZH2 in micropapillary-predominant subtype pulmonary adenocarcinoma and its prognostic significance[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021, 41(6): 1259-1266. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.06.004