

几种肿瘤细胞中 *ezrin* 基因增强子区 转录调控特性的研究

张青峰¹ 卫金岐² 张芳婷³ 邵 敏¹ 申慧芳¹ 高书颖^{1,3*}

(¹遵义医学院珠海校区生物化学与分子生物学教研室, 珠海 519041; ²中山大学附属第五医院
消化内科, 珠海 519000; ³北京大学深圳医院中心实验室, 深圳 518036)

摘要 该文采用Western blot技术检测人食管癌EC109细胞、鼻咽癌CNE2细胞和宫颈癌HeLa细胞中Ezrin蛋白的表达; 采用DNA片段定向克隆技术构建一系列携带*ezrin*基因增强子区-1541/-706序列的报告基因表达载体, 将载体瞬时转染EC109、CNE2和HeLa细胞, 检测荧光素酶活性; 研究肿瘤细胞中*ezrin*基因增强子区的转录调控特性。实验结果显示, 在被检测的三种肿瘤细胞中, Ezrin蛋白的表达水平没有明显不同。EC109细胞中, 当*ezrin*基因-1541/-706片段正向位于无启动子的报告基因上游时, 表现出类似启动子的转录激活作用; 当这一片段反向连接时转录激活作用几乎消失。当-1541/-706片段正向位于*ezrin*启动子或SV40启动子上游时, 显著增强荧光素酶表达; 然而, 当这一片段反向位于启动子上游以及正向或反向位于启动子控制的报告基因下游时, 转录增强作用消失。*ezrin*基因-1541/-706片段在CNE2和HeLa细胞中的转录调控作用, 与其在EC109细胞中的转录调控作用部分相似, 但不完全相同。结果表明, *ezrin*基因增强子区具有转录激活和转录增强双重作用, 这种作用具有DNA序列位置和方向依赖性以及细胞特异性。

关键词 *ezrin*基因; 增强子; 转录调控; 肿瘤细胞

Transcriptional Regulatory Properties of Human *ezrin* Gene Enhancer in Several Carcinoma Cells

Zhang Qingfeng¹, Wei Jinqi², Zhang Fangting³, Shao Min¹, Shen Huifang¹, Gao Shuying^{1,3*}

(¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhuhai Campus of Zunyi Medical University, Zhuhai 519041, China;

²Department of Gastroenterology, the Fifth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Zhuhai 519000, China;

³Central Laboratory, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518036, China)

Abstract To investigate transcriptional regulatory properties of *ezrin* gene enhancer in carcinoma cells, Ezrin expression in human esophageal carcinoma EC109, nasopharyngeal carcinoma CNE2 and cervical carcinoma HeLa cells was detected by Western blot. A series of reporter gene expression vectors carrying *ezrin* enhancer -1541/-706 sequence were constructed using DNA fragments orientating clone method and then transfected into EC109, CNE2 and HeLa cells for luciferase assay. It was found that the expression levels of Ezrin in the detected three cell lines were not obviously different. In EC109 cells, when the *ezrin* -1541/-706 segment was located

收稿日期: 2013-11-11 接受日期: 2014-01-27

国家自然科学基金(批准号: 31360212)和深圳市科技研发资金基础研究计划(批准号: JC201005260209A、JC201105201028A)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0756-7623310, E-mail: shuyinggao@163.com

Received: November 11, 2013 Accepted: January 27, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31360212) and the Basic Research Projects of Shenzhen R&D Funding in Science and Technology (Grant No.JC201005260209A, JC201105201028A)

*Corresponding author. Tel: +86-756-7623310, E-mail: shuyinggao@163.com

网络出版时间: 2014-04-29 15:14

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.05.0372.html>

upstream of *luc* reporter gene without promoter in the forward orientation, it exhibited transcriptional activation like a promoter; while this transactivation was nearly abolished when this segment was reversed. When this segment was located upstream of the *ezrin* promoter or *SV40* promoter in the forward orientation, it dramatically increased luciferase expression. However, the transcriptional enhancement disappeared when this segment was located upstream of promoters in the reverse orientation, or downstream of reporter genes in the forward or reverse orientation. The transcriptional regulation of *ezrin* -1541/-706 segment in CNE2 and HeLa cells was partly similar, but not completely identical to that in EC109 cells. These data suggested that the *ezrin* enhancer could exhibit transcriptional activation and enhancement, in a position/orientation-dependent and cell-type-specific manner.

Key words *ezrin*; enhancer; transcriptional regulation; carcinoma cells

Ezrin是一种质膜-细胞骨架连接蛋白, 属于ERM(*ezrin*-radixin-moesin)家族成员, 具有维持细胞形态和运动^[1]、连接黏附分子^[2]及调节细胞信号转导^[3]等重要生理功能。研究发现, *ezrin*基因在食管癌^[4]、鼻咽癌^[5]、宫颈癌^[6]、肺癌^[7]、胆囊癌^[8]、胰腺癌^[9]、胃癌^[10]、直肠癌^[11]、骨肉瘤^[12]等多种肿瘤中过高表达, 而且与某些肿瘤细胞的侵袭移动高度相关, 显示了*ezrin*基因的表达水平在评估肿瘤细胞的转移方面具有潜在价值。我们前期研究发现^[13-14], *ezrin*基因启动子位于-87/+134, 在启动子上游存在转录正调控区, 即*ezrin*基因增强子区。然而, *ezrin*基因增强子区在不同肿瘤细胞中是否存在相同的转录调控特性未见报道。为此, 本研究以人食管癌EC109细胞、鼻咽癌CNE2细胞和宫颈癌HeLa细胞为材料, 采用Western blot、DNA片段定向克隆、双荧光素酶报告基因检测等技术, 比较不同肿瘤细胞中Ezrin蛋白的表达及*ezrin*基因增强子区的转录调控特性, 这些研究对于进一步揭示*ezrin*基因在肿瘤细胞中的转录调控机制有重要意义。

1 材料与方法

1.1 质粒

pGL3-basic、pGL3-promoter和pRL-TK购自Promega公司(Madison, USA)。携带*ezrin*转录调控序列的报告基因表达载体由本实验室构建(表1)。

1.2 细胞与细胞培养

人食管癌细胞株EC109、鼻咽癌细胞株CNE2和宫颈癌细胞株HeLa购自中国科学院上海细胞库。细胞在含10%灭活胎牛血清的1640培养基(Invitrogen公司)中贴壁生长, 用含0.25%胰蛋白酶和0.02% EDTA的消化液消化细胞, 进行传代培养。对于需转染的细胞, 将细胞接种于96孔细胞培养板,

当细胞汇合率为50%~80%时可用于质粒瞬时转染实验。

1.3 蛋白表达的检测

提取细胞总蛋白, 测定蛋白含量。20 μ g细胞总蛋白提取物进行12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 将蛋白电转至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉封闭1 h; 加入抗Ezrin和 β -actin抗体(Santa Cruz公司), 室温孵育1 h, PBST(0.01 mol/L, pH7.2~7.4, 0.05% tween 20)洗2次, PBS洗1次; 再加入对应二抗羊抗鼠IgG-HRP(Santa Cruz公司), 室温孵育1 h, PBST洗2次, PBS洗1次; 最后加入Western blot化学发光试剂(Santa Cruz公司), 进行蛋白成像分析。

1.4 瞬时转染

提取质粒并测定其含量。用Buffer TE(pH8.0)将含有萤火虫荧光素酶报告基因的质粒稀释至100 ng/ μ L, 内参照质粒pRL-TK稀释至20 ng/ μ L, 然后将萤火虫荧光素酶报告基因质粒分别与内参照质粒pRL-TK按100:1混合, 即1 μ g:0.01 μ g。96孔细胞培养板每孔转染萤火虫荧光素酶报告基因表达质粒的量为200 ng。采用Lipofectamine™ 2000进行质粒瞬时转染, 转染步骤参照转染试剂说明进行, 每组实验样品设3个平行实验孔, 并至少进行3次重复实验。

1.5 双荧光素酶活性检测及统计学分析

双荧光素酶活性检测参照双荧光素酶报告基因分析系统操作手册, 在Modulus single tube multimode reader (9200-001)上进行。根据照度计所读取的数据, 计算出各组转染细胞的相对荧光素酶活性(萤火虫荧光素酶/海肾荧光素酶), 以此代表实验启动子的转录活性。各组实验数据均以“平均值 $\pm$ 标准差”表示。应用SSPS 13.0软件对各组实验数据之间是否有显著性差别进行 t 检验, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 Ezrin蛋白在EC109、CNE2和HeLa细胞中的表达

Ezrin蛋白分子量为82 kDa。β-actin是肌动蛋白的一种, 分子量为42 kDa, 在各种组织和细胞中的表达相对稳定, 在此作为内对照。EC109、CNE2和HeLa细胞总蛋白Western blot检测结果见图1。在所检测的三种细胞中均有Ezrin蛋白表达, 且表达水平无明显差异, 提示在EC109、CNE2和HeLa细胞中有可能存在相似的Ezrin蛋白表达调控机制。

2.2 携带ezrin基因增强子区-1541/-706序列的报告基因表达载体的构建

为了明确ezrin基因增强子区的转录调控特性, 本实验扩增ezrin基因增强子区-1541/-706序列, 构建一系列携带ezrin基因-1541/-706序列的报告基因表达载体(表1), 使ezrin基因-1541/-706序列分别以正向或反向连接至不含启动子的报告基因上游、ezrin启动子-87/+134序列上游、SV40启动子上游以及ezrin启动子或SV40启动子控制的报告基因下游。对所构建的质粒进行测序鉴定, 测序引物分别为RVprimer3: 5'-CTA GCA AAA TAG GCT GTC

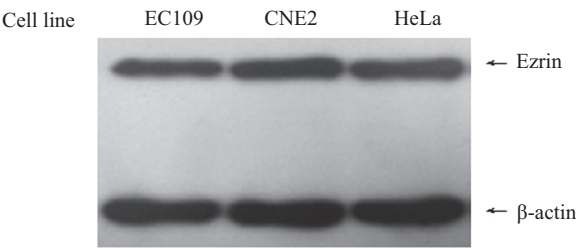


图1 EC109、CNE2和HeLa细胞中Ezrin蛋白表达的Western blot分析

Fig.1 Ezrin expression in EC109, CNE2 and HeLa cells analyzed by Western blot

CC-3'; RVprimer4: 5'-GAC GAT AGT CAT GCC CCG CG-3'。测序结果(图2)显示, -1541/-706片段在重组质粒上的连接方向与预计一致。

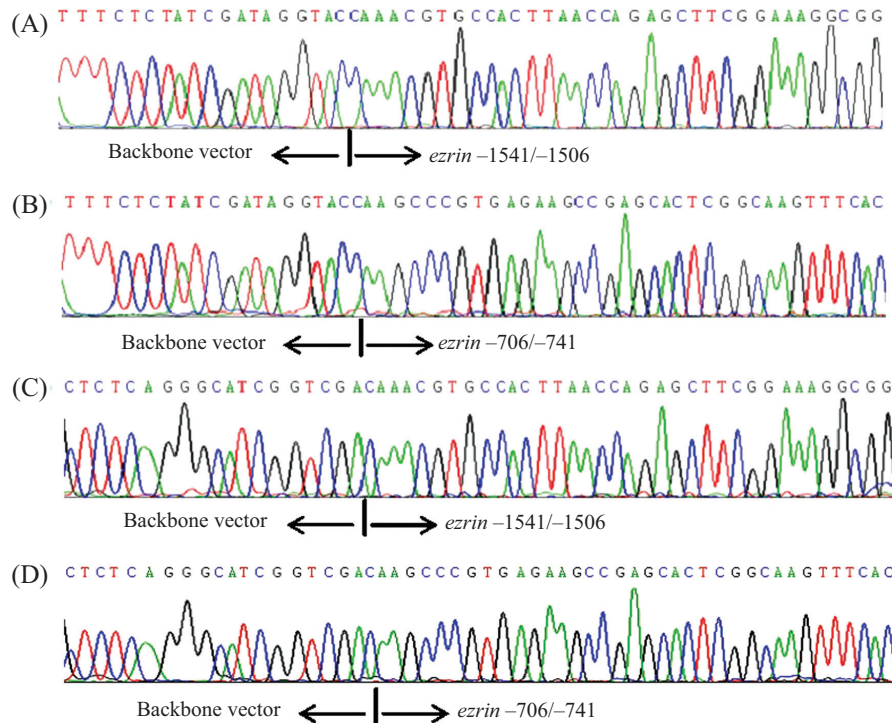
2.3 EC109、CNE2和HeLa细胞中ezrin基因-1541/-706的转录激活作用

将报告基因表达载体pGL3-hE(-1541/-706)、pGL3-hE(-1541/-706)R、对照质粒pGLB、pGL3-hE(-87/+134)和pGL3-Promoter分别与内参照质粒pRL-TK共转染EC109、CNE2和HeLa细胞, 采用双荧光素酶报告基因检测系统分析ezrin基因-1541/-706序列的转录激活作用。当-1541/-706片段以正

表1 本研究所用的携带ezrin基因序列的质粒

Table 1 Plasmids carrying ezrin gene sequence used in this study

质粒 Plasmids	备注 Notes
pGL3-hE(-87/+134)	ezrin -87/+134 segment located upstream of the luc gene of pGL3-basic
pGL3-hE(-1541/-706)	ezrin -1541/-706 segment located upstream of the luc gene of pGL3-basic in the forward orientation
pGL3-hE(-1541/-706)R	ezrin -1541/-706 segment located upstream of the luc gene of pGL3-basic in the reverse orientation
pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)U	ezrin -1541/-706 segment located upstream of the ezrin promoter in the forward orientation
pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RU	ezrin -1541/-706 segment located upstream of the ezrin promoter in the reverse orientation
pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)D	ezrin -1541/-706 segment located downstream of the luc gene controlled by ezrin promoter in the forward orientation
pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RD	ezrin -1541/-706 segment located downstream of the luc gene controlled by ezrin promoter in the reverse orientation
pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)U	ezrin -1541/-706 segment located upstream of the SV40 promoter in the forward orientation
pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RU	ezrin -1541/-706 segment located upstream of the SV40 promoter in the reverse orientation
pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)D	ezrin -1541/-706 segment located downstream of the luc gene controlled by SV40 promoter in the forward orientation
pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RD	ezrin -1541/-706 segment located downstream of the luc gene controlled by SV40 promoter in the reverse orientation



A: pGL3-hE(-1541/-706), pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)U and pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)U; B: pGL3-hE(-1541/-706)R, pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RU and pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RU; C: pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RD and pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RD; D: pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)D and pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)D. A、B测序引物为RVprimer3, C、D测序引物为RVprimer4。

A: pGL3-hE(-1541/-706), pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)U and pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)U; B: pGL3-hE(-1541/-706)R, pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RU and pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RU; C: pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RD, pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RD; D: pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)D, pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)D. Sequencing primer RVprimer3 for A and B, and RVprimer4 for C and D.

图2 构建质粒的测序分析

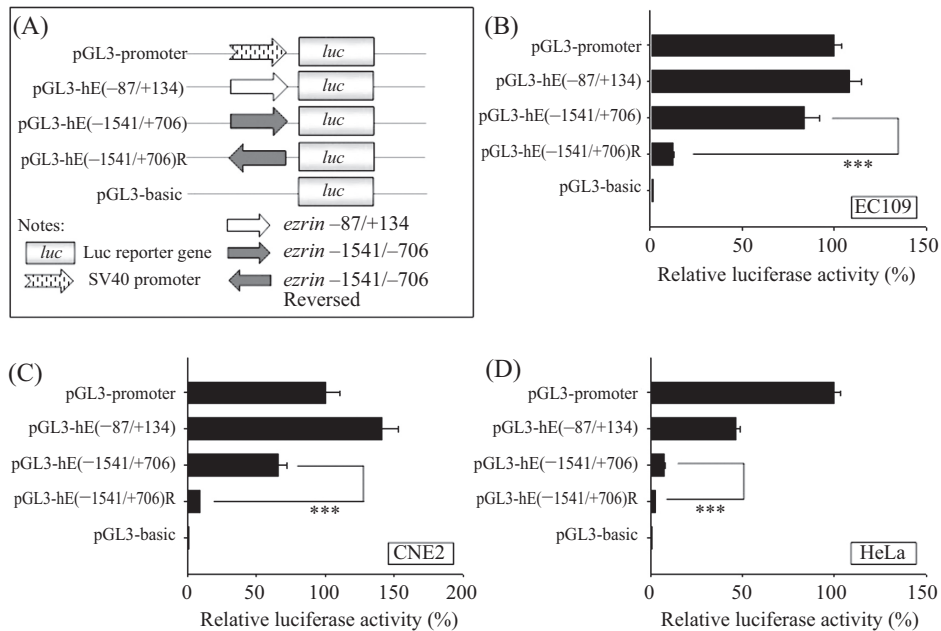
Fig.2 Sequencing analysis of plasmids constructed

向连接至无启动子的报告基因上游, 其转录激活作用在EC109细胞中与ezrin基因-87/+134序列的启动子活性接近, 在CNE2细胞中约为ezrin启动子的50%, 在HeLa细胞中则相对较弱。而与SV40启动子的转录激活作用相比, ezrin基因-1541/-706序列在EC109、CNE2和HeLa细胞中的转录激活作用分别降低至SV40启动子的83.8%、66.1%和7.6%。当-1541/-706反向连接至无启动子的报告基因上游时, 在被检测的三种肿瘤细胞中, 其转录激活作用与正向连接时相比均不同程度地减弱。显示了ezrin基因-1541/-706序列具有与启动子活性相似的转录激活作用, 这种转录激活作用具有DNA序列方向性和细胞特异性(图3)。

2.4 EC109、CNE2和HeLa细胞中ezrin基因-1541/-706对ezrin启动子的转录增强作用

将同时携带ezrin基因-1541/-706片段和ezrin启动子的报告基因表达载体、对照质粒pGLB和pGL3-hE(-87/+134)分别与内参照质粒pRL-TK

共转染EC109、CNE2和HeLa细胞, 鉴定ezrin基因-1541/-706序列对ezrin启动子转录调控作用的DNA序列位置和方向依赖性。EC109细胞中, 与转染携带ezrin启动子的质粒pGL3-hE(-87/+134)相比, 转染-1541/-706片段正向位于ezrin启动子上游的报告基因表达载体pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)U使报告基因表达水平显著提高。CNE2和HeLa细胞的检测结果与EC109细胞相似, 显示了-1541/-706片段正向连接至ezrin启动子上游对启动子具有转录增强作用。在EC109、CNE2和HeLa细胞中, 当-1541/-706片段以反向连接至ezrin启动子上游、正向或反向连接至报告基因下游时, -1541/-706对启动子的转录增强作用消失, 尤其是当反向连接至报告基因下游时, -1541/-706表现出明显的转录抑制作用。实验结果说明, 在不同肿瘤细胞中, ezrin基因-1541/-706序列对ezrin启动子的转录增强作用相似, 具有位置和方向依赖性, 只有当它以正向位于ezrin启动子上游时才表现转录增强作用(图4)。

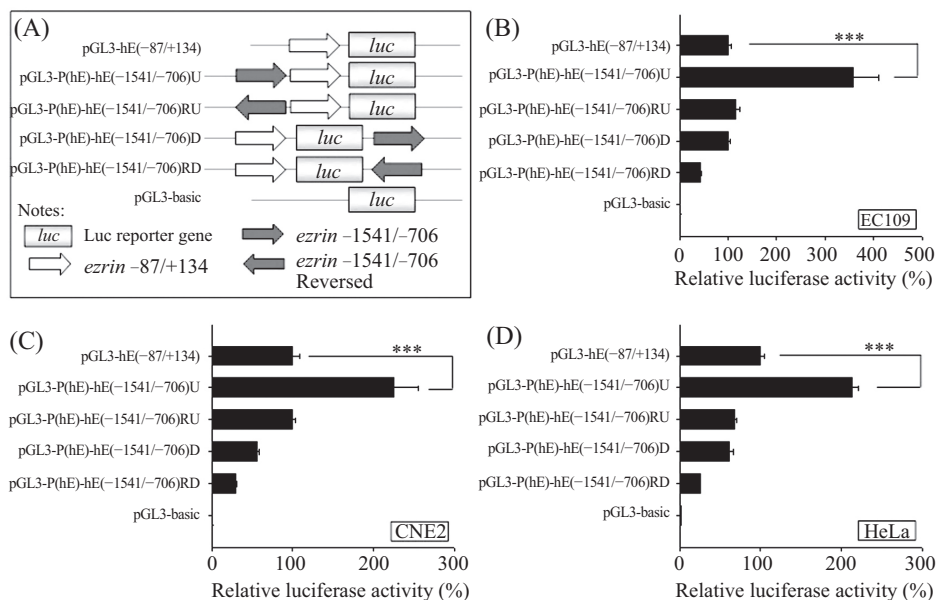


质粒pGL3-promoter、pGL3-hE(-87/+134)、pGL3-hE(-1541/-706)、pGL3-hE(-1541/-706)R或pGL3-basic与pRL-TK共转染肿瘤细胞。A: 瞬时转染质粒示意图; B、C、D: 为对应质粒分别在EC109、CNE2和HeLa细胞中的相对荧光素酶活性, 以pGL3-promoter的相对荧光素酶活性为100%来计算。*** $P < 0.001$, 与对照组比较。

pGL3-promoter, pGL3-hE(-87/+134), pGL3-hE(-1541/-706), pGL3-hE(-1541/-706)R or pGL3-basic were cotransfected with pRL-TK into carcinoma cells. A: schematic representation of the plasmids used for transient transfections; B,C,D: luciferase activity in EC109 (B), CNE2 (C) and HeLa (D) cells were shown relative to that of pGL3-promoter, which was given the value 100%. *** $P < 0.001$ vs control group.

图3 EC109、CNE2和HeLa细胞中ezrin基因-1541/-706的转录激活作用

Fig.3 Transcriptional activation of the ezrin -1541/-706 in EC109, CNE2 and HeLa cells

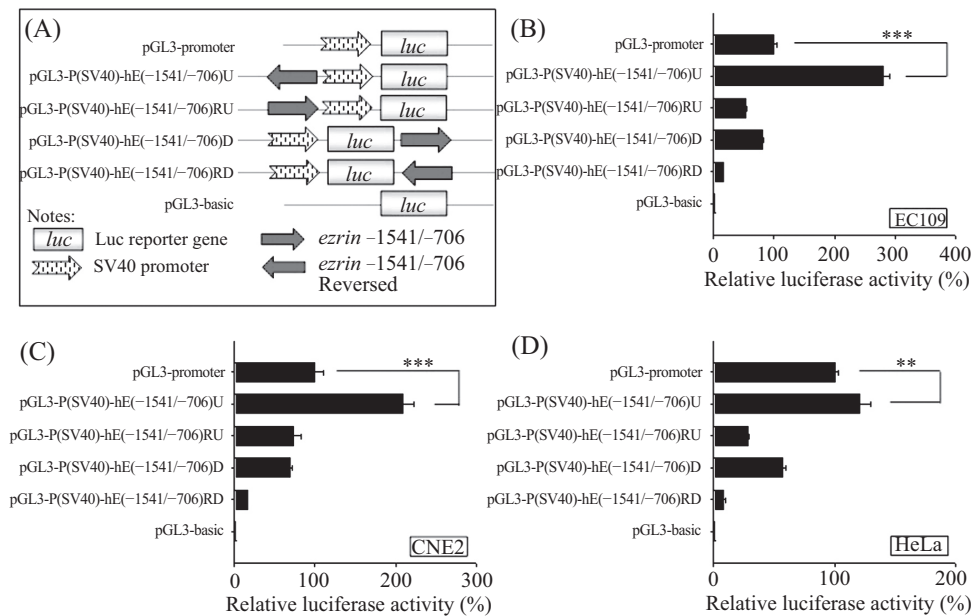


质粒pGL3-hE(-87/+134)、pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)U、pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RU、pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)D、pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RD或pGL3-basic与pRL-TK共转染肿瘤细胞。A: 瞬时转染质粒示意图; B、C、D: 为对应质粒分别在EC109、CNE2和HeLa细胞中的相对荧光素酶活性, 以pGL3-hE(-87/+134)的相对荧光素酶活性为100%来计算。*** $P < 0.001$, 与对照组比较。

pGL3-hE(-87/+134), pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)U, pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RU, pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)D, pGL3-P(hE)-hE(-1541/-706)RD or pGL3-basic were cotransfected with pRL-TK into carcinoma cells. A: schematic representation of the plasmids used for transient transfections; B,C,D: luciferase activity in EC109 (B), CNE2 (C) and HeLa (D) cells was shown relative to that of pGL3-hE(-87/+134), which was given the value 100%. *** $P < 0.001$ vs control group.

图4 EC109、CNE2和HeLa细胞中ezrin基因-1541/-706对ezrin启动子的转录增强作用

Fig.4 Transcriptional enhancement of the ezrin -1541/-706 on ezrin promoter in EC109, CNE2 and HeLa cells



质粒pGL3-promoter、pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)U、pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RU、pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)D、pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RD或pGL3-basic与pRL-TK共转染肿瘤细胞, A: 瞬时转染质粒示意图; B、C、D: 为对应质粒分别在EC109、CNE2和HeLa细胞中的相对荧光素酶活性, 以pGL3-Promoter的相对荧光素酶活性为100%来计算。*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较。

pGL3-promoter, pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)U, pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RU, pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)D, pGL3-P(SV40)-hE(-1541/-706)RD, or pGL3-basic were cotransfected with pRL-TK into carcinoma cells. A: schematic representation of the plasmids used for transient transfections; B,C,D: luciferase activity in EC109 (B), CNE2 (C) and HeLa (D) cells was shown relative to that of pGL3-promoter, which was given the value 100%. *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$ vs control group.

图5 EC109、CNE2和HeLa细胞中 *ezrin* 基因-1541/-706对SV40启动子的转录增强作用

Fig. 5 Transcriptional enhancement of the *ezrin* -1541/-706 on SV40 promoter in EC109, CNE2 and HeLa cells

2.5 EC109、CNE2和HeLa细胞中 *ezrin* 基因-1541/-706对SV40启动子的转录增强作用

将同时携带 *ezrin* 基因-1541/-706片段和SV40启动子的报告基因表达载体、对照质粒pGLB和pGL3-promoter分别与内参照质粒pRL-TK共转染EC109、CNE2和HeLa细胞, 鉴定 *ezrin* 基因-1541/-706序列对SV40启动子转录调控作用的DNA序列位置和方向依赖性。当-1541/-706片段正向连接至SV40启动子上游, 在EC109和CNE2细胞中, -1541/-706对启动子具有较强的转录增强作用; 在HeLa中, -1541/-706序列对SV40启动子具有较弱的转录增强作用。当-1541/-706片段以反向连接至SV40启动子上游以及正向或反向连接至报告基因下游时, 在被检测的三种细胞中, -1541/-706序列对SV40启动子无转录调控作用或具有转录抑制作用。说明, *ezrin* 基因-1541/-706序列对SV40启动子的转录增强调控作用, 具有位置和方向依赖性以及细胞特异性(图5)。

3 讨论

本研究构建一系列携带 *ezrin* 基因增强子

区-1541/-706片段的报告基因表达载体, 使-1541/-706片段分别以正向或反向连接至不含启动子的报告基因上游、*ezrin*启动子上游、SV40启动子上游以及*ezrin*启动子或SV40启动子控制的报告基因下游, 研究*ezrin*基因增强子区在不同肿瘤细胞中的转录调控特性。质粒的报告基因检测结果显示, *ezrin*基因-1541/-706序列具有与通常意义增强子完全不同的特点。在没有启动子存在的情况下, -1541/-706序列在EC109细胞中表现出与*ezrin*启动子相似的转录激活作用, 在CNE2细胞中转录激活作用约为*ezrin*启动子的50%, 在HeLa细胞中则表现出较弱的转录激活作用。另外, -1541/-706序列对*ezrin*启动子和SV40启动子的转录增强作用具有DNA序列位置、方向性, -1541/-706片段正向位于启动子上游时, 在被检测的三种肿瘤细胞中表现出不同程度的转录增强作用; 反向位于启动子下游时, 无转录增强作用或甚至表现出不同程度转录抑制作用。因此, *ezrin*基因-1541/-706序列具有转录激活和转录增强双重作用, 这种作用具有DNA序列位置、方向依赖性以及细胞特异性, 其转录调控特点与启动子更接近。

基因表达与调控的研究是生命科学研究的前沿领域之一, 它对于深入探讨重要生命现象的内在本质、阐述细胞行为和疾病发生的分子机制、揭示发育过程中基因表达的时空特异性及其网络体系, 具有重要的意义; 同时还将有助于进一步在分子水平上为疾病的诊断、治疗和预防提供科学依据和实用技术。本研究鉴定了几种肿瘤细胞中*ezrin*基因增强子区的转录调控特性, 这将有助于进一步揭示肿瘤细胞中*ezrin*基因的转录调控机制。

参考文献 (References)

- Jayasundar JJ, Ju JH, He L, Liu D, Meilleur F, Zhao J, *et al.* Open conformation of *ezrin* bound to phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and to F-actin revealed by neutron scattering. *J Biol Chem* 2012; 287(44): 37119-33.
- Alonso-Lebrero JL, Serrador JM, Dominguez-Jimenez C, Barreiro O, Luque A, del Pozo MA, *et al.* Polarization and interaction of adhesion molecules P-selectin glycoprotein ligand 1 and intercellular adhesion molecule 3 with moesin and *ezrin* in myeloid cells. *Blood* 2000; 95(7): 2413-9.
- Youn JY, Wang T, Cai H. An Ezrin/Calpain/PI3K/AMPK/eNOS₁₁₇₉ signaling cascade mediating VEGF-dependent endothelial nitric oxide production. *Circ Res* 2009; 104(1): 50-9.
- Xie JJ, Xu LY, Wu ZY, Zhao Q, Xu XE, Wu JY, *et al.* Prognostic implication of *ezrin* expression in esophageal squamous cell carcinoma. *J Surg Oncol* 2011; 104(5): 538-43.
- Wang L, Lin GN, Jiang XL, Lu Y. Expression of *ezrin* correlates with poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Tumour Biol* 2011; 32(4): 707-12.
- Auvinen E, Carpen O, Korpela T, Ronty M, Vaheri A, Tarkkanen J. Altered expression of *ezrin*, E-Cadherin and β -Catenin in cervical neoplasia. *Neoplasia* 2013; 60(1): 56-61.
- Li Q, Gao H, Xu H, Wang X, Pan Y, Hao F, *et al.* Expression of *ezrin* correlates with malignant phenotype of lung cancer, and *in vitro* knockdown of *ezrin* reverses the aggressive biological behavior of lung cancer cells. *Tumour Biol* 2012; 33(5): 1493-504.
- Yang L, Guo T, Jiang S, Yang Z. Expression of *ezrin*, HGF and c-met and its clinicopathological significance in the benign and malignant lesions of the gallbladder. *Hepatogastroenterology* 2012; 59(118): 1769-75.
- Zhong ZQ, Song MM, He Y, Cheng S, Yuan HS. Knockdown of *ezrin* by RNA interference reverses malignant behavior of human pancreatic cancer cells *in vitro*. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(8): 3781-9.
- Jin J, Jin T, Quan M, Piao Y, Lin Z. Ezrin overexpression predicts the poor prognosis of gastric adenocarcinoma. *Diagn Pathol* 2012; 7(1): 135.
- Patara M, Santos EM, Coudry RA, Soares FA, Ferreira FO, Rossi BM. Ezrin expression as a prognostic marker in colorectal adenocarcinoma. *Pathol Oncol Res* 2011; 17(4): 827-33.
- Bulut G, Hong SH, Chen K, Beauchamp EM, Rahim S, Kosturko GW, *et al.* Small molecule inhibitors of *ezrin* inhibit the invasive phenotype of osteosarcoma cells. *Oncogene* 2012; 31(3): 269-81.
- Gao SY, Li EM, Cui L, Lu XF, Meng LY, Yuan HM, *et al.* Sp1 and AP-1 regulate expression of the human gene VIL2 in esophageal carcinoma cells. *J Biol Chem* 2009; 284(12): 7995-8004.
- 高书颖, 代延朋, 尹美琪, 龙霞, 于洁. 鼻咽癌细胞中*ezrin*基因增强子区的定位分析. *中国细胞生物学学报* (Gao Shuying, Dai Yanpeng, Yin Meiqun, Long Xia, Yu Jie. Location of *ezrin* in nasopharyngeal carcinoma cells. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2011; 33(7): 777-83.