

DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2024.20240453

· 短篇论著 ·

Yes 关联蛋白 1 在食管鳞状细胞癌中的临床意义

刘 坤^{1,2}, 管瑛瑛^{1,2}, 蒋冬先^{1,2}, 许惠娟^{1,2}, 侯英勇^{1,2,3}, 侯 君^{1,2,3*}

1. 复旦大学附属中山医院厦门医院病理科, 厦门 361015

2. 福建省腹部肿瘤精准诊疗临床医学研究中心, 厦门 361015

3. 复旦大学附属中山医院病理科, 上海 200032

[摘要] 目的 探讨 Yes 关联蛋白 1 (Yes-associated protein 1, YAP1) 在食管鳞状细胞癌组织中的表达情况及临床意义。方法 采用免疫组化技术检测 439 例食管鳞状细胞癌患者癌组织中 YAP1 的表达, 分析 YAP1 阳性组与阴性组患者的临床病理参数差异。采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 YAP1 对患者生存的影响。结果 食管鳞状细胞癌中, YAP1 的阳性率为 30.52% (134/439)。YAP1 阳性组患者肿瘤浸润更深 ($P<0.001$)。Kaplan-Meier 生存曲线分析显示, 在生存期长于 30 个月的患者中, YAP1 阳性者无瘤生存期 (disease-free survival, DFS) 和总生存期 (overall survival, OS) 更长 ($P<0.05$)。Cox 多因素回归分析显示, 浸润深度是影响患者 DFS ($HR=1.371$, 95%CI 0.993~1.894, $P=0.035$) 和 OS ($HR=1.489$, 95%CI 1.066~2.080, $P=0.020$) 的独立因素。结论 YAP1 在部分食管鳞状细胞癌中表达; 对于生存期大于 30 个月的患者, YAP1 表达阳性提示预后更好。

[关键词] 食管鳞状细胞癌; Yes 关联蛋白 1; 预后**[中图分类号]** R 735.1 **[文献标志码]** A

Clinical significance of Yes-associated protein 1 in esophageal squamous cell carcinoma

LIU Kun^{1,2}, GUAN Yingying^{1,2}, JIANG Dongxian^{1,2}, XU Huijuan^{1,2}, HOU Yingyong^{1,2,3}, HOU Jun^{1,2,3*}

1. Department of Pathology, Zhongshan Hospital (Xiamen Branch), Fudan University, Xiamen 361015, Fujian, China

2. Clinical Research Center for Precision Medicine of Abdominal Tumor of Fujian Province, Xiamen 361015, Fujian, China

3. Department of Pathology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective** To explore the expression and clinical significance of Yes-associated protein 1 (YAP1) in esophageal squamous cell carcinoma. **Methods** Immunohistochemical method was used to detect YAP1 expression in 439 cases of esophageal squamous cell carcinoma. The differences of YAP1 expression and clinical parameters were analyzed between YAP1 positive group and YAP1 negative group. Kaplan-Meier curve was used to analyze the influence of YAP1 expression on survival of patients. **Results** The positive rate of YAP1 in esophageal squamous cell carcinoma was 30.52%. The tumor invasion was deeper in YAP1 positive group ($P<0.001$). Kaplan-Meier survival analysis showed that YAP1 positive patients had longer disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) among patients surviving longer than 30 months ($P<0.05$). The multivariate Cox regression analysis showed that the invasion depth of tumor was an independent factor affecting DFS ($HR=1.371$, 95%CI 0.993-1.894, $P=0.035$) and OS ($HR=1.489$, 95%CI 1.066-2.080, $P=0.020$). **Conclusions** YAP1 has a certain percentage of positive rate in esophageal squamous cell carcinoma; for patients with survival longer than 30 months, YAP1 positive indicates a better prognosis.

[Key Words] esophageal squamous cell carcinoma; Yes-associated protein 1; prognosis

食管癌近年来在全球范围内的发病率和死亡率不断上升^[1], 患者通常预后较差, 5 年生存率低于 20%。目前, 食管癌的临床治疗手段主要包括

手术、放化疗及免疫治疗^[2-3]。食管鳞状细胞癌是食管癌的主要病理亚型, 约占食管癌的 90%^[4], 目前仍缺乏有效的分子治疗靶点及预后判断指标。

[收稿日期] 2024-04-26**[接受日期]** 2024-05-20

[基金项目] 福建省卫生健康科技计划项目 (2023QNB011), 厦门市医疗卫生指导性项目 (3502Z20224ZD1089, 3502Z20244ZD1125), 复旦大学附属中山医院厦门医院院级孵化课题 (2018ZSXYJ01)。Supported by Health Science and Technology Program of Fujian Province (2023QNB011), Medical and Health Guidance Project of Xiamen (3502Z20224ZD1089, 3502Z20244ZD1125), Incubation Subject of Zhongshan Hospital (Xiamen Branch), Fudan University (2018ZSXYJ01)。

[作者简介] 刘 坤, 硕士, 主管技师。E-mail: liukun0309@163.com

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 0592-3501990, E-mail: junhoudaily@126.com

Yes 关联蛋白 1 (Yes-associated protein 1, YAP1) 是 Hippo 信号通路中主要的下游效应分子, 在调节细胞发育过程中发挥重要作用。YAP1 在多种肿瘤中异常表达, 可能与肿瘤的发生发展及患者预后相关^[5-6]。但是, 目前缺少有关 YAP1 在食管鳞状细胞癌中作用的多中心大样本研究, 其在食管鳞状细胞癌中的表达模式及预后预测意义尚不清楚^[7-8]。因此, 本研究探讨了食管鳞状细胞癌中 YAP1 的表达及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2007 年 1 月至 2010 年 10 月在复旦大学附属中山医院行食管鳞状细胞癌根治手术的 439 例患者的临床病理资料, 包括年龄、性别、吸烟史, 肿瘤大小、肿瘤发生部位、分化级别、血管及神经侵犯、浸润深度、淋巴结转移及临床分期情况等。所有病理切片经 2 名具有副高及以上职称的病理医师评估, 诊断为食管鳞状细胞癌。

1.2 免疫组化染色 组织切片经过脱蜡、水化、一抗和二抗孵育、DAB 显色、苏木精复染、乙醇脱水 and 封片。YAP1 单克隆抗体 (ab52771) 购自 Abcam 公司。

1.3 随访 通过电话或面询方式获取所有患者的随访资料及生存情况。随访截至 2020 年 12 月 31 日, 无瘤生存期 (disease-free survival, DFS) 指患者从手术日起至出现复发转移、食管癌特异性死亡或随访截止的时间; 总生存期 (overall

survival, OS) 指患者从手术日起至死亡或随访截止的时间。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS 20.0 软件进行分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, 等级资料采用秩和检验比较。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线, 进行 log-rank 检验。采用 Cox 回归模型进行单因素和多因素分析, 检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 总体临床病理特征 439 例食管鳞状细胞癌患者中, 男性 361 例 (82.23%)、女性 78 例 (17.77%), 年龄 37~83 岁 (中位 61 岁), 173 例 (39.41%) 有吸烟史。肿瘤大小 0.5~10 cm (中位 3.0 cm), 发生于食管上段 19 例 (4.61%)、中段 199 例 (48.30%)、下段 194 例 (47.09%), 高分化 18 例 (4.10%)、中分化 249 例 (56.72%)、低分化 172 例 (39.18%), 血管侵犯 96 例 (21.87%), 神经侵犯 132 例 (30.07%), 突破肌层 289 例 (65.83%), 淋巴结转移 193 例 (43.96%), 临床分期 I+II 期 253 例 (57.63%)、III+IV 期 186 例 (42.27%)。

2.2 YAP1 表达阳性与阴性患者临床病理特征比较 苏木精-伊红 (H-E) 染色及免疫组化结果 (图 1) 显示: YAP1 表达于胞质和细胞核。439 例食管鳞状细胞癌中, 134 例 (30.52%) YAP1 阳性表达。结果 (表 1) 显示: YAP1 阳性与阴性患者肿瘤浸润深度差异有统计学意义 ($P<0.001$)。

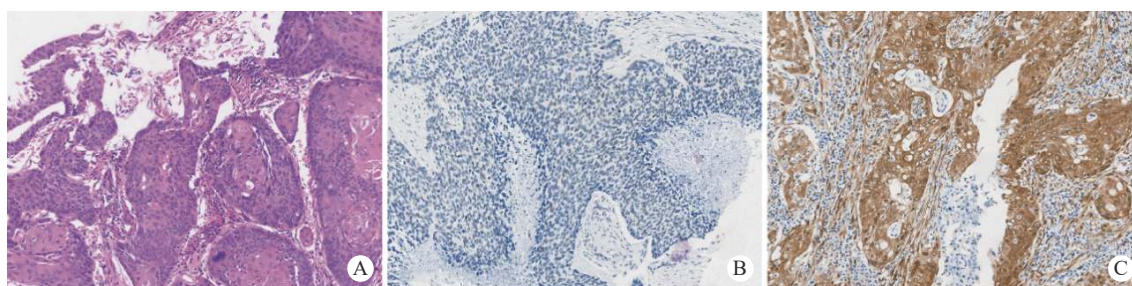


图 1 食管鳞状细胞癌病理检查结果

Figure 1 The pathological results of esophageal squamous cell carcinoma

A: Hematoxylin-eosin staining on esophageal squamous cell carcinoma; B: The negative expression of YAP1 in esophageal squamous cell carcinoma; C: The positive expression of YAP1 in esophageal squamous cell carcinoma. Original magnification: $\times 10$.

表 1 食管鳞状细胞癌中 YAP1 阳性与阴性患者的临床病理特征比较
Table 1 Comparison of clinicopathologic characteristics between YAP1 positive and negative patients with esophageal squamous cell carcinoma

Characteristic <i>n</i> (%)	Total (<i>N</i> =439)	YAP1 negative group (<i>n</i> =305)	YAP1 positive group (<i>n</i> =134)	Statistical value	<i>P</i>
Sex				1.981	0.159
Female	78(17.77)	49(16.07)	29(21.64)		
Male	361(82.23)	256(83.93)	105(78.36)		
Age				<0.001	0.987
<60 years	187(42.60)	130(42.62)	57(42.54)		
≥60 years	252(57.40)	175(57.38)	77(57.46)		
Smoking				0.064	0.800
No	266(60.59)	186(60.98)	80(59.70)		
Yes	173(39.41)	119(39.02)	54(40.30)		
Tumor size				1.629	0.202
<3.5 cm	259(59.00)	186(60.98)	73(54.48)		
≥3.5 cm	180(41.00)	119(39.02)	61(45.52)		
Tumor site ^a				1.039	0.595
Upper	19(4.61)	14(4.91)	5(3.94)		
Middle	199(48.30)	133(46.67)	66(51.97)		
Lower	194(47.09)	138(48.42)	56(44.09)		
Differentiation				0.313	0.855
Well	18(4.10)	12(3.93)	6(4.48)		
Moderately	249(56.72)	171(56.07)	78(58.21)		
Poorly	172(39.18)	122(40.0)	50(37.31)		
Vessel invasion				0.333	0.564
No	343(78.13)	236(77.38)	107(79.85)		
Yes	96(21.87)	69(22.62)	27(20.15)		
Nerve invasion				2.299	0.129
No	307(69.93)	220(72.13)	87(64.93)		
Yes	132(30.07)	85(27.87)	47(35.07)		
Invasion depth				15.106	<0.001
Submucosa and muscularis	150(34.17)	122(40.00)	28(20.90)		
Beyond muscularis	289(65.83)	183(60.00)	106(79.10)		
Lymph node metastasis				0.370	0.543
No	246(56.04)	168(55.08)	78(58.21)		
Yes	193(43.96)	137(44.92)	56(41.79)		
Clinical stage				0.339	0.561
I + II	253(57.63)	173(56.72)	80(59.70)		
III+IV	186(42.27)	132(43.28)	54(40.30)		

^aA total of 412 patients were included in the analysis for tumor site.

2.3 YAP1 阳性与阴性患者生存情况比较 患者中位 OS 为 35 个月，中位 DFS 为 31 个月。Kaplan-Meier 生存曲线（图 2）显示：YAP1 阳性与阴性患者 OS 和 DFS 差异均无统计学意义。分

层分析显示，在生存时间>30 个月的患者中，YAP1 阳性者 OS 及 DFS 更长（ $P<0.05$ ）；在生存时间≤30 个月的患者中，YAP1 阳性与阴性者 OS 和 DFS 差异无统计学意义。

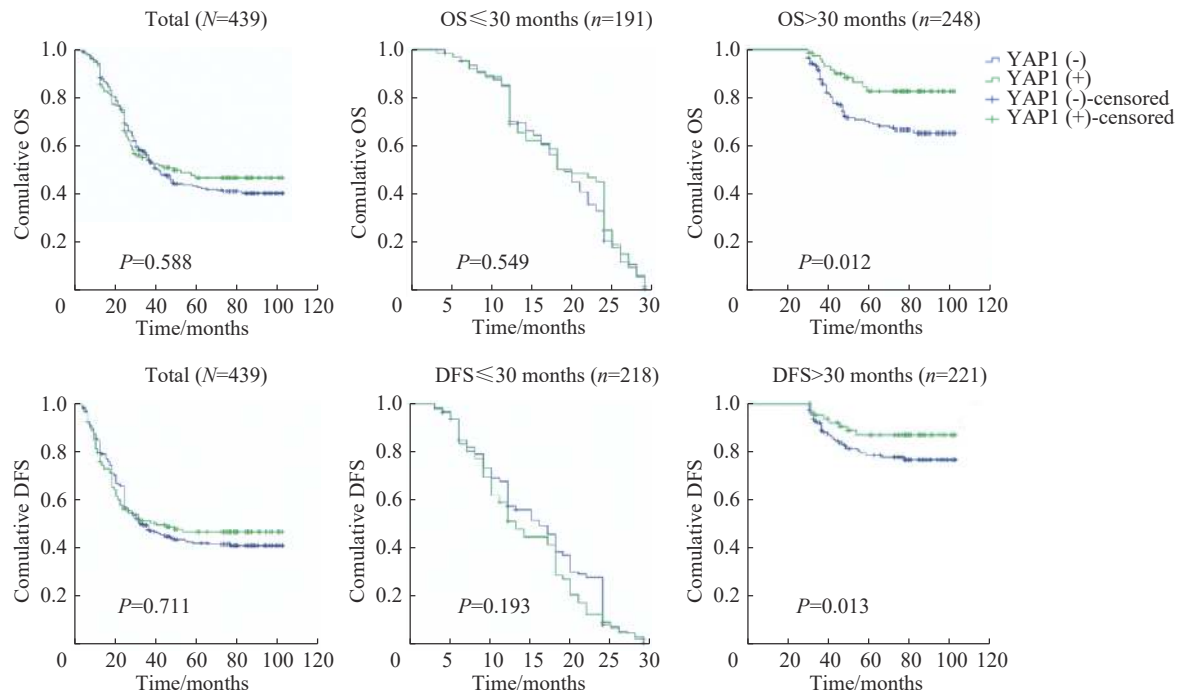


图2 Kaplan-Meier 曲线分析 YAP1 表达对食管鳞状细胞癌患者生存的影响

Figure 2 Kaplan-Meier curve analysis of the effect of YAP1 expression on survival of patients with esophageal squamous cell carcinoma

OS: overall survival; DFS: disease-free survival.

2.4 生存影响因素分析 多因素 Cox 回归分析 (表 2) 显示: 浸润深度是影响患者 DFS (HR=1.371, 95%CI 0.993~1.894, $P=0.035$) 及

OS (HR=1.489, 95%CI 1.066~2.080, $P=0.020$) 的独立因素。

表 2 食管鳞状细胞癌患者生存的单因素和多因素 Cox 回归分析

Table 2 Univariate and multivariate Cox regression analysis of survival of patients with esophageal squamous cell carcinoma

Variable	DFS		OS	
	HR(95%CI)	P	HR(95%CI)	P
Univariate				
YAP1 positive	0.949(0.718-1.256)	0.716	0.926(0.699-1.227)	0.594
Sex (male vs female)	1.340(0.947-1.895)	0.098	1.409(0.988-2.009)	0.058
Age (≥ 60 years vs < 60 years)	1.115(0.863-1.441)	0.406	1.159(0.894-1.501)	0.265
Smoking	1.159(0.896-1.499)	0.261	1.210(0.935-1.566)	0.148
Tumor size (≥ 3.5 cm vs < 3.5 cm)	1.220(0.944-1.576)	0.128	1.292(0.999-1.670)	0.051
Tumor site (lower vs middle+upper)	0.888(0.712-1.109)	0.295	0.923(0.737-1.156)	0.483
Differentiation (poorly vs moderately+well)	1.413(1.122-1.779)	0.003	1.347(1.069-1.699)	0.012
Vessel invasion	1.875(1.424-2.468)	< 0.001	1.827(1.380-2.417)	< 0.001
Nerve invasion	1.429(1.096-1.863)	0.008	1.577(1.209-2.057)	0.001
Invasion depth (beyond muscularis vs submucosa and muscularis)	1.869(1.396-2.500)	< 0.001	2.094(1.551-2.828)	< 0.001
Lymph node metastasis	2.926(2.253-3.800)	< 0.001	3.027(2.326-3.939)	< 0.001
Clinical stage (III+IV vs I+II)	3.041(2.344-3.945)	< 0.001	3.314(2.411-4.074)	< 0.001

Continued table 2

Variable	DFS		OS	
	HR(95%CI)	P	HR(95%CI)	P
Multivariate				
Differentiation (poorly vs moderately + well)	1.203(0.951-1.522)	0.123	1.144(0.903-1.450)	0.265
Vessel invasion	1.225(0.912-1.647)	0.178	1.170(0.868-1.578)	0.304
Nerve invasion	1.043(0.784-1.388)	0.773	1.137(0.855-1.513)	0.377
Invasion depth (beyond muscularis vs submucosa and muscularis)	1.371(0.993-1.894)	0.035	1.489(1.066-2.080)	0.020
Lymph node metastasis	1.131(0.349-3.664)	0.837	1.341(0.413-4.354)	0.625
Clinical stage (III+IV vs I + II)	2.279(0.703-7.384)	0.170	1.963(0.604-6.384)	0.262

DFS: disease-free survival; OS: overall survival; HR: hazard ratio; CI: confidence interval; YAP1: Yes-associated protein.

3 讨 论

食管鳞状细胞癌是食管癌的主要亚型，患者预后较差。目前主要通过 TNM 分期评估患者预后，但是即使处于相同分期，患者预后也有较大差异。由于存在驱动基因和伴随基因差异，即使同一部位相同病理类型的肿瘤也可能表现出不同的生物学行为。这些驱动基因或伴随基因有辅助肿瘤患者预后评估的潜在价值。

YAP1 主要由 TID 结构域（转录激活因子结合结构域）、WW 结构域（双色氨酸结构域）、TAD 结构域（转录激活结构域）构成，部分异构体含有 SH3-BM（SH3 结合结构域）和亮氨酸锌指结构。TID 结构域主要用于募集转录激活子。YAP1 无 DNA 结合结构域，TID 结构域与 DNA 结合转录因子相互作用，以共激活子的身份参与基因的表达调控。YAP1 通过 TEAD 结合结构域与 TEAD 家族成员相互作用，促进促生长基因的转录；同时，通过 WW 结构域与 p73 结合，增强 DNA 损伤时 p73 诱导的凋亡。YAP1 有促进凋亡和抑制凋亡的双向功能，因此能发挥促癌或抑癌作用^[9]。

YAP1 参与肿瘤免疫调节，与患者预后和药物反应有关^[10]。YAP1 在多种肿瘤中异常表达，并受到 DNA 甲基化（尤其是 m6A 甲基化）和转录后修饰的调控^[11]。YAP1 表达与免疫细胞浸润相关，通过抑制 CD8⁺淋巴细胞、CD4⁺Th1 细胞、T 滤泡辅助细胞、NKT 细胞和活化 NK 细胞浸润性等促进肿瘤进展^[11-12]。YAP1 高表达的小细胞肺癌患者预后更差，其能通过 CD74 信号通路引发

小细胞肺癌的多重耐药^[13]。抑制 YAP1 能降低肝细胞特异性 YAP1 敲除肝细胞癌小鼠肿瘤细胞的自噬活性，提高抗 PD-1 治疗疗效，提示 YAP1 可作为提高肝细胞癌抗 PD-1 免疫治疗疗效的潜在靶点^[14]。YAP1 在食管鳞状细胞癌中会作为 TAZ 表达的负调控因子，可提高该类患者的总生存率^[15]。

高通量测序研究^[16]发现，食管鳞状细胞癌中 YAP1 基因存在一定的扩增率，且 TCGA 数据库检索结果显示食管鳞状细胞癌中 YAP1 的高表达与患者预后较好相关。本研究 439 例食管鳞状细胞癌标本中，YAP1 表达阳性率为 30.52%，定位在胞质和细胞核；YAP1 阳性组浸润更深，其他临床病理参数与 YAP1 阴性组差异无统计学意义。Kaplan-Meier 曲线分析显示，总人群及生存期≤30 个月的患者中，YAP1 阳性与阴性患者生存差异无统计学意义；生存期>30 个月时，YAP1 阳性患者 DFS 和 OS 更长，提示 YAP1 主要在食管鳞状细胞癌患者的后期生存阶段发挥肿瘤抑制作用。

综上所述，本研究通过回顾性分析 YAP1 在较大样本量食管鳞状细胞癌组织中的表达，并分析其与患者临床病理参数的关系及对患者生存的影响，发现 YAP1 阳性组与阴性组肿瘤浸润深度差异有统计学意义，YAP1 阳性能延长>30 个月患者的生存时间。本研究结果有助于临床对食管鳞状细胞癌患者进行风险分层和优化治疗方案。有必要进一步探讨 YAP1 的上游和下游基因在食管鳞状细胞癌中的作用及机制，并证明其在食管

鳞状细胞癌患者后期的作用。

伦理声明 本研究通过医院伦理委员会审批 (B2021-178R), 患者知情并签署知情同意书。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献 刘坤: 选题、数据处理和文章撰写; 管瑛瑛: 免疫组化结果判读; 蒋冬先: 数据采集及数据处理; 许惠娟: 免疫组化实验; 侯英勇、侯君: 研究监督及文章修订。

参考文献

- [1] ABNET C C, ARNOLD M, WEI W Q. Epidemiology of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Gastroenterology, 2018, 154(2): 360-373.
- [2] HIRANO H, KATO K. Systemic treatment of advanced esophageal squamous cell carcinoma: chemotherapy, molecular-targeting therapy and immunotherapy[J]. Jpn J Clin Oncol, 2019, 49(5): 412-420.
- [3] YU Y K, MENG F Y, WEI X F, et al. Neoadjuvant chemotherapy combined with immunotherapy versus neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2024, 168(2): 417-428. e3.
- [4] WANG L, LIU H J, LIU Y Q, et al. Potential markers of cancer stem-like cells in ESCC: a review of the current knowledge[J]. Front Oncol, 2023, 13: 1324819.
- [5] CHA Y J, BAE S J, KIM D, et al. High nuclear expression of yes-associated protein 1 correlates with metastasis in patients with breast cancer[J]. Front Oncol, 2021, 11: 609743.
- [6] HASEGAWA K, FUJII S, MATSUMOTO S, et al. YAP signaling induces PIEZO1 to promote oral squamous cell carcinoma cell proliferation[J]. J Pathol, 2021, 253(1): 80-93.
- [7] SU W, HU H, DING Q R, et al. NEK2 promotes the migration and proliferation of ESCC via stabilization of YAP1 by phosphorylation at Thr-143[J]. Cell Commun Signal, 2022, 20(1): 87.
- [8] ZHENG W, YUAN H, FU Y X, et al. An effective two-stage NMBzA-induced rat esophageal tumor model revealing that the FAT-Hippo-YAP1 axis drives the progression of ESCC[J]. Cancer Lett, 2024, 588: 216813.
- [9] VARELAS X. The Hippo pathway effectors TAZ and YAP in development, homeostasis and disease[J]. Development, 2014, 141(8): 1614-1626.
- [10] CALSES P C, CRAWFORD J J, LILL J R, et al. Hippo pathway in cancer: aberrant regulation and therapeutic opportunities[J]. Trends Cancer, 2019, 5(5): 297-307.
- [11] HU X Q, ZHANG Y R, YU H, et al. The role of YAP1 in survival prediction, immune modulation, and drug response: a pan-cancer perspective[J]. Front Immunol, 2022, 13: 1012173.
- [12] YILDIRIM E, BORA G, ONEL T, et al. Cell fate determination and Hippo signaling pathway in preimplantation mouse embryo[J]. Cell Tissue Res, 2021, 386(3): 423-444.
- [13] SONG Y C, SUN Y Q, LEI Y Y, et al. YAP1 promotes multidrug resistance of small cell lung cancer by CD74-related signaling pathways[J]. Cancer Med, 2020, 9(1): 259-268.
- [14] GAO Y T, PENG Q, LI S H, et al. YAP1 suppression inhibits autophagy and improves the efficacy of anti-PD-1 immunotherapy in hepatocellular carcinoma[J]. Exp Cell Res, 2023, 424(1): 113486.
- [15] LIU L, LU Z Y, HU X Y, et al. Clinical significance of YAP1 and TAZ in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Medicine, 2021, 100(28): e26597.
- [16] ZHANG L, ZHOU Y, CHENG C X, et al. Genomic analyses reveal mutational signatures and frequently altered genes in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Am J Hum Genet, 2020, 107(3): 579.

[本文编辑] 姬静芳

引用本文

刘 坤, 管瑛瑛, 蒋冬先, 等. Yes 关联蛋白 1 在食管鳞状细胞癌中的临床意义[J]. 中国临床医学, 2024, 31(5): 772-777.
LIU K, GUAN Y Y, JIANG D X, et al. Clinical significance of Yes-associated protein 1 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Chin J Clin Med, 2024, 31(5): 772-777.