

原发性肝细胞癌中EGFR、Connexin43和E-cadherin的表达及意义

蒋艳霞, 于文娟, 林东亮, 李宏, 李玉军

蒋艳霞, 于文娟, 林东亮, 李宏, 李玉军, 青岛大学医学院附属医院病理科 山东省青岛市 266003

蒋艳霞, 副主任医师, 主要从事外科病理诊断及消化系统肿瘤的基础及临床研究。

作者贡献分布: 此课题由李玉军与蒋艳霞设计; 研究过程由李玉军、蒋艳霞及于文娟完成; 免疫组织化学部分由李宏完成; 数据处理由于文娟与林东亮完成; 论文写作由蒋艳霞、于文娟及林东亮共同完成。

通讯作者: 李玉军, 教授, 主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院病理科. liyujun.66@163.com
收稿日期: 2013-05-12 修回日期: 2013-07-08
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-08

Significance of expression of EGFR, Connexin43 and E-cadherin in primary hepatocellular carcinoma

Yan-Xia Jiang, Wen-Juan Yu, Dong-Liang Lin, Hong Li, Yu-Jun Li

Yan-Xia Jiang, Wen-Juan Yu, Dong-Liang Lin, Hong Li, Yu-Jun Li, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Yu-Jun Li, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. liyujun.66@163.com

Received: 2013-05-12 Revised: 2013-07-08

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of EGFR, Connexin43 (Cx43) and E-cadherin in primary hepatocellular carcinoma (HCC) and to analyze their relationship with clinicopathological characteristics of HCC.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of EGFR, Cx43 and E-cadherin in 74 HCC tissue specimens, 25 liver cirrhosis tissue specimens and 20 normal liver tissue specimens.

RESULTS: The positive rates of EGFR, Cx43 and E-cadherin protein expression were 66.22%, 27.03% and 40.54% in HCC, 44.00%, 68.00% and

52.00% in liver cirrhosis, and 10.00%, 95.00% and 80.00% in normal liver tissues. Expression of EGFR was significantly higher in HCC than in liver cirrhosis ($P < 0.05$) and normal liver tissue (both $P < 0.01$). Expression of Cx43 was significantly lower in HCC than in liver cirrhosis ($P < 0.05$) and normal liver tissue ($P < 0.01$). Expression of E-cadherin differed significantly between HCC and normal liver tissue ($P < 0.01$). Expression of EGFR, Cx43 and E-cadherin was associated with tumor size, differentiation grade, TNM stage, presence of intravascular cancer embolus, capsule involvement and infiltrative growth pattern (all $P < 0.05$), but not with age, gender, cirrhosis background, cancer embolus in the portal vein or serum level of alpha-fetal protein (all $P > 0.05$). In HCC, expression of EGFR was up-regulated, while that of Cx43 and E-cadherin was down-regulated. Expression of EGFR was negatively correlated with expression of Cx43 ($r = -0.3123$, $P = 0.0068$) and E-cadherin ($r = -0.2962$, $P = 0.0104$).

CONCLUSION: Combined detection of EGFR, Cx43 and E-cadherin expression can help reveal the carcinogenic mechanisms of HCC. EGFR, Cx43 and E-cadherin might be used as novel and useful markers for predicting the invasion, metastasis and prognosis of HCC and guiding the clinical therapy of this malignancy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; EGFR; Cx43; E-cadherin; Immunohistochemistry

Jiang YX, Yu WJ, Lin DL, Li H, Li YJ. Significance of expression of EGFR, Connexin43 and E-cadherin in primary hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2185-2191 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2185>

摘要

目的: 探讨原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织中表皮生长因子受体

■背景资料

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床常见的恶性肿瘤之一, 发病率有逐年上升趋势, 且死亡率高。HCC发生和演进受多因素影响和多基因控制, 本文联合检测EGFR、Connexin43(Cx43)和E-cadherin与HCC的关系, 进一步探讨其发生发展、浸润转移机制及预测预后, 为临床早期发现HCC和寻求更好的合理有效的基因靶向治疗方法提供理论依据。

■同行评议者

单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

■研究前沿

本文联合检测EGFR、Cx43和E-cadherin在正常肝组织、肝硬化组织和HCC中表达情况,进一步综合探讨HCC发生机制;HCC 3种蛋白存在异常表达,相应的3个基因可能成为抗肿瘤药物的潜在靶点,有望为HCC的基因治疗找到新的途径。3种蛋白在HCC发生发展中具有反向调节作用,具体作用机制有待进一步明确。

(epidermal growth factor receptor, EGFR)、细胞间隙连接蛋白(connexin43, Cx43)和E-cadherin蛋白的表达及其与临床病理特征的关系。

方法: 采用免疫组织化学PV 6000法检测74例原发性HCC, 25例肝硬化组织和20例正常肝组织中EGFR、Cx43和E-cadherin的表达情况。

结果: EGFR、Cx43和E-cadherin HCC组织中阳性率分别为66.22%、27.03%和40.54%, 肝硬化组织阳性率分别为44.00%、68.00%和52.00%, 正常肝组织阳性率分别为10.00%、95.00%和80.00%。EGFR在HCC组织中阳性率明显高于肝硬化和正常肝组织阳性率, 差异有显著性($P<0.05$, $P<0.01$); Cx43在HCC组织中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织阳性率, 差异有显著性($P<0.01$, $P<0.01$); E-cadherin在HCC组织中阳性率明显低于正常肝组织阳性率, 差异有显著性($P<0.01$)。EGFR、Cx43和E-cadherin表达与肿瘤的大小、分化程度、TNM分期、肝内血管癌栓、浸润性生长方式及累及肝被膜具有相关性(均 $P<0.05$), 与患者年龄、性别、是否伴有肝硬化、门静脉癌栓及术前血清甲胎蛋白水平无相关性(均 $P>0.05$)。HCC组织中Cx43和E-cadherin表达降低, EGFR表达增加, EGFR表达和Cx43($rs' = -0.3123$, $P = 0.0068$)及E-cadherin($rs' = -0.2962$, $P = 0.0104$)间呈负相关性。

结论: 联合检测HCC组织中EGFR、Cx43和E-cadherin的表达, 有助于综合探讨HCC的发生机制。EGFR、Cx43和E-cadherin可以作为新的预测HCC浸润、转移、判断预后和指导临床靶向治疗的重要因子。我们的研究为肝癌的基因治疗提供理论依据。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝肿瘤; 表皮生长因子受体; Cx43; E-cadherin; 免疫组织化学

核心提示: 本文联合检测表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、Cx43和E-cadherin在正常肝组织、肝硬化组织和原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中表达, EGFR在HCC中呈高表达, 与HCC的分化程度、临床分期、侵袭浸润、转移和判断预后有关; Cx43和E-cadherin在HCC中呈低表达, 与HCC的恶性生物学行为和预后有关。同时检测3种蛋白的表达, 发现他们在HCC发生发展中具有反向调节作用, 三者协同参与HCC的发生和发展。3种

蛋白相应的基因位点, 有望成为HCC新的基因治疗药物的靶点, 为HCC临床基因治疗提供可靠的理论依据。

蒋艳霞, 于文娟, 林东亮, 李宏, 李玉军. 原发性肝细胞癌中EGFR、Connexin43和E-cadherin的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2185-2191 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2185>

0 引言

肿瘤的发生发展和演进是涉及多因素、多步骤和多基因调控的复杂病理过程, 原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床常见的恶性肿瘤, 其死亡率占恶性肿瘤的第2位^[1], 其发生和演进亦受多因素影响和多基因调控, 为进一步探讨其发生、浸润和转移机制, 寻求更好的合理有效的治疗方法选做本实验。本研究采用免疫组织化学技术, 观察表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、细胞间隙连接蛋白(connexin43, Cx43)和E-cadherin蛋白在HCC组织中的表达及其与HCC的发生机制、作用靶点、临床病理特征、浸润和转移的关系, 为临床采用新思路诊断治疗HCC提供一定的理论支持。

1 材料和方法

1.1 材料 收集青岛大学医学院附属医院手术切除存档蜡块标本, 经病理科确诊的原发性HCC 74例, 术前均未行放化疗。其中男56例, 女18例; 年龄35-79岁, 中位54.4岁; 每例均有详细的临床资料及手术记录。按国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)制定的HCC TNM分期标准: I期25例、II期19例、III期22例、IV期8例; 病理学分级按WHO分级法划分为4型^[2], 即高分化、中分化、低分化和未分化。其中高分化(I级)14例、中分化(II级)34例、低分化(III级)26例; 瘤结节直径2.5-12.0 cm, 肿瘤直径 ≤ 5 cm 46例, 肿瘤直径 > 5 cm 28例; 伴有肝硬化背景63例, 无肝硬化背景11例。经临床检查及手术记录发现有门静脉癌栓8例, 无癌栓66例。经病理镜下观察并免疫组织化学证实有血管内癌栓33例, 无血管内癌栓41例; 浸润性生长方式53例, 膨胀性生长方式21例; 累及肝被膜56例, 未累及肝被膜18例。术前检测血液中甲胎蛋白(alpha-fetal protein, AFP)含量, ≤ 400 $\mu\text{g/L}$ 53例, > 400 $\mu\text{g/L}$ 21例。取25例肝硬化组织; 另取20例正常肝组织(肝内良性病变手术患

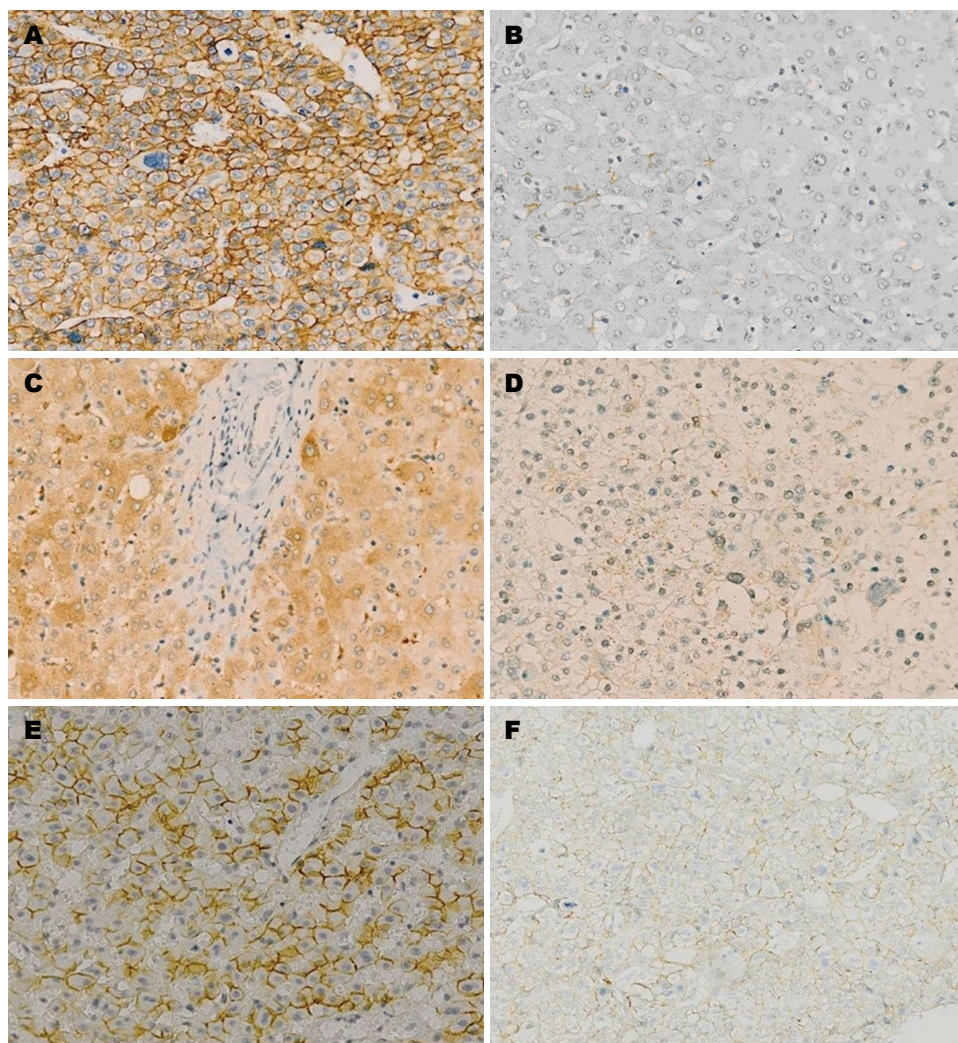


图1 EGFR、Cx43及E-cadherin在HCC及正常肝组织中的表达(PV6000法 $\times 200$)。A: HCC(低分化)EGFR细胞膜/细胞质弥漫强阳性表达; B: 正常肝组织EGFR细胞膜/细胞质散在弱阳性表达; C: 正常肝组织Cx43细胞质颗粒状弥漫强阳性表达; D: HCC(低分化)Cx43细胞质颗粒状弱阳性表达; E: 正常肝组织E-cadherin细胞膜/细胞质弥漫强阳性表达; F: HCC(低分化)E-cadherin细胞膜/细胞质强阳性表达。HCC: 原发性肝细胞癌; EGFR: 表皮生长因子受体。

■ 相关报道

Laskin等研究EGFR在多种肿瘤中呈高表达, 可作为肿瘤治疗的一个新的靶点。Berasain等研究HCC中针对阻断EGFR的靶向治疗药物已经应用于临床试验Ⅱ和Ⅲ期, 并取得较好的疗效。

者周边的正常肝组织)作为对照。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 所有标本均经40 g/L中性甲醛固定, 石蜡包埋, 3 μ m厚切片。采用免疫组织化学PV 6000法染色, 具体步骤严格按说明书操作。EGFR和E-cadherin抗体均为鼠抗人单克隆抗体(即用型); Cx43抗体为兔抗人多克隆抗体(即用型), 购自北京中杉公司; PV 6000通用型试剂盒购自Zymed公司, 并设阴性及阳性对照。

1.2.2 结果判断: 采用双盲法, 由两位有经验的高年资病理医师共同进行。EGFR、Cx43和E-cadherin阳性表达均表现为棕黄色颗粒状。EGFR和E-cadherin主要定位于细胞膜, 少量定位于细胞质, Cx43定位于细胞质。根据阳性细胞染色范围(面积: $\leq 4\%$ 为0分, 5%-24%为1分, 25%-49%为2分, 50%-74%为3分, $\geq 75\%$ 为4分)和染色强度

(根据染色强弱分为0分、1分、2分、3分)乘积进行计分并进行结果判断: 0-3分为阴性(-), 4-8分为阳性(+), 9-12分为强阳性(++)。

统计学处理 采用JMTJFX简明统计分析13.0, 应用 χ^2 检验和Spearman等级相关性分析, 若 χ^2 检验条件不符合则采用确切概率法。以 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 为差异有显著性, 具有统计学意义。

2 结果

2.1 EGFR、Cx43和E-cadherin在HCC、肝硬化及正常肝组织中的表达 EGFR、Cx43和E-cadherin在HCC及正常肝组织中的表达(图1): EGFR在HCC组织中呈强阳性表达(图1A), 正常肝组织中呈弱阳性表达(图1B); Cx43在正常肝组织中呈强阳性表达(图1C), HCC组织中呈弱阳性表达(图1D)。E-cadherin在正常肝组织中呈

■ 创新盘点

本文联合检测EGFR、Cx43和E-cadherin在正常肝组织、肝硬化组织和HCC中表达情况,进一步探讨HCC发生和演进过程,寻求基因靶向治疗的新位点。3种蛋白在HCC发生发展中具有反向调节作用及其与肝硬化发病机制的相关性,目前尚未见报道。

表 1 EGFR、Cx43和E-cadherin在肝细胞癌中的表达

分组	n	EGFR			Cx43			E-cadherin		
		-	+++	P值	-	+++	P值	-	+++	P值
HCC	74	25	49	<0.05 ^a	54	20	<0.01 ^a	44	30	>0.05 ^a
肝硬化组织	25	14	11	<0.05 ^c	8	17	>0.05 ^c	12	13	>0.05 ^c
正常肝组织	20	18	2	<0.01 ^b	1	19	<0.01 ^b	4	16	<0.01 ^b

^a $P < 0.05$ vs 肝硬化组织; ^b $P < 0.05$ vs 正常肝组织; ^c $P < 0.01$ vs HCC. HCC: 原发性肝细胞癌. EGFR: 表皮生长因子受体.

强阳性表达(图1E), HCC组织中呈弱阳性表达(图1F).

EGFR、Cx43和E-cadherin在HCC、肝硬化及正常肝组织中阳性表达不同(表1). EGFR在HCC组织中阳性率明显高于肝硬化和正常肝组织中阳性率, 差异有显著性($P < 0.05$, $P < 0.01$); Cx43在HCC中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织中阳性率, 差异有显著性($P < 0.01$, $P < 0.01$); E-cadherin在HCC中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织中阳性率, 与正常肝组织间差异有显著性($P < 0.01$).

2.2 EGFR、Cx43和E-cadherin表达与HCC临床病理特征的关系 EGFR阳性率随着肿瘤分化程度降低表达升高(42.86%、64.71%、80.77%), 低分化HCC阳性率明显高于高分化, 差异有显著性($P < 0.05$). Cx43在HCC中随着肿瘤分化程度降低阳性率降低(57.14%、23.53%、15.38%), 高分化HCC Cx43阳性率明显高于低分化, 差异有显著性($P < 0.05$); E-cadherin在HCC中随着肿瘤分化程度降低阳性率降低(64.29%、47.06%、19.23%), 高分化与低分化间差异有显著性($P < 0.05$), 中分化与低分化间差异有显著性($P < 0.05$). EGFR、Cx43和E-cadherin表达与肿瘤大小, TNM分期, 血管内癌栓, 浸润性生长方式和是否累及肝被膜间有相关性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与患者年龄、性别、有无伴肝硬化背景、门静脉癌栓、术前血清AFP水平均无相关性(均 $P > 0.05$, 表2).

2.3 EGFR和Cx43、E-cadherin在HCC中表达的相互关系 本组研究结果显示, 在HCC中EGFR表达增加, Cx43和E-cadherin表达减少, 经Spearman等级相关性分析, EGFR和Cx43、E-cadherin表达间呈负相关性($rs' = -0.3123$, $P = 0.0068$; $rs' = -0.2962$, $P = 0.0104$, 表3).

3 讨论

EGFR是生长因子受体家族的重要成员之一, 广

泛表达于人体血管组织和多种正常细胞表面, 如上皮细胞、肝细胞、成纤维细胞、神经胶质细胞等^[3]. 在多种上皮来源的恶性肿瘤, 如乳腺癌、胃癌、前列腺癌、非小细胞肺癌等细胞表面都有异常表达^[4], 而且与肿瘤的组织学类型和侵袭力有关.

EGFR与HCC的关系目前尚未明确, 其作用机制可能为: (1)肝癌细胞可以通过自分泌EGF, 直接作用于细胞膜上的EGFR, 加速肿瘤细胞无抑制性生长; (2)EGFR的氨基酸排列和组成与某些癌基因的产物具有高度同源性, 使EGFR不依赖于EGF也能被激活, 受体的持续性激活可导致细胞不断性生长, 可能导致细胞恶性转化; (3)HCC组织中EGFR过表达, 加速肿瘤细胞生长. EGFR可能主要通过Ras/Raf/MEK/ERK/MAPK信号通路传递信号参与调节肝癌细胞的增殖与分化^[5], 使肿瘤细胞过度增殖和表型恶性转化, 促进HCC的发生和发展.

本实验结果显示, EGFR在HCC组织中阳性率明显高于肝硬化组织与正常肝组织, 并且随着肿瘤分化程度降低, 恶性程度增高, 阳性率增加. EGFR高表达与HCC TNM分期、瘤体大小、伴有血管内癌栓、浸润性生长方式和累及肝被膜间有关. 该结果提示: EGFR高表达可能参与HCC的恶性转化, 与HCC的恶性程度、侵袭和转移有密切关系, 可作为判断HCC预后不良的一项重要指标.

目前研究发现: EGFR在多种实体瘤中均可呈高表达, 已经作为肿瘤治疗的一个新的靶点^[6]. 在HCC中, 针对阻断EGFR的靶向治疗药物(抗EGFR单克隆抗体和小分子EGFR酪氨酸激酶抑制剂)已经应用于HCC临床试验II期和III期, 并取得一定的疗效^[7]. 联合应用gemcitabine加oxaliplatin和erlotinib药物对控制晚期HCC患者疾病的进展有一定疗效, 并能适当延长患者无进展生存期^[8].

Cx是存在于细胞间负责物质及信息交换的

表 2 EGFR、Cx43和E-cadherin表达与肝细胞癌临床病理特征的关系

临床病理特征	n	EGFR			Cx43			E-cadherin		
		-	+++	P值	-	+++	P值	-	+++	P值
性别				>0.05						>0.05
男	56	19	37		38	18	>0.05	34	22	
女	18	6	12		16	2		10	8	
年龄(岁)				>0.05						>0.05
≤50	26	12	14		20	6	>0.05	17	9	
>50	48	13	35		34	14		27	21	
分化程度										
高分化	14	8	6	<0.05 ^a	6	8	<0.05 ^a	5	9	<0.05 ^a
中分化	34	12	22	>0.05 ^c	26	8	>0.05 ^c	18	16	>0.05 ^c
低分化	26	5	21	>0.05 ^e	22	4	>0.05 ^e	21	5	<0.05 ^e
TNM分期				<0.05						<0.05
I-II	44	19	25		28	16	<0.05	23	21	
III-IV	30	6	24		26	4		24	6	
肝硬化				>0.05						>0.05
有	63	20	43		48	15	>0.05	37	26	
无	11	5	6		6	5		6	5	
瘤体直径(cm)				<0.05						<0.01
≤5	46	20	26		29	17	<0.05	21	25	
>5	28	5	23		25	3		23	5	
血管内癌栓				<0.05						<0.05
有	33	5	28		28	5	<0.05	24	9	
无	41	20	21		26	15		20	21	
门静脉癌栓				>0.05						>0.05
有	8	3	5		5	3	>0.05	4	4	
无	66	22	44		49	17		40	26	
术前AFP(μg/L)				>0.05						>0.05
≤400	53	20	33		36	17	>0.05	33	20	
>400	21	5	16		18	3		11	10	
生长方式				<0.05						<0.01
浸润性	53	14	39		44	9	<0.01	38	15	
膨胀性	21	11	10		10	11		6	15	
累及肝被膜				<0.01						<0.01
累及	56	13	43		47	9	<0.01	40	16	
未累及	18	12	6		7	11		4	14	

^aP<0.05 vs 低分化; ^cP<0.05 vs 高分化; ^eP<0.05 vs 中分化. EGFR: 表皮生长因子受体; AFP: 甲胎蛋白; Cx: 细胞间隙连接蛋白.

应用要点

检测HCC中3种蛋白的表达, 可以预测HCC的恶性生物学行为和判断预后. 阻断EGFR基因的靶向治疗药物已经应用于临床试验, 并取得较好的效果; 针对Cx43和E-cadherin基因治疗有望成为新的靶向治疗位点.

通道蛋白, 其正常表达对细胞增殖、分化、凋亡及机体的生长发育至关重要. 这种由间隙连接(gap junction, GJ)介导的细胞间物质、能量及信息的交换活动称为间隙连接细胞间通讯(gap junction intercellular communication, GJIC). Cx属于多基因家族, Cx43是间隙连接家族中分布最广的分子, 对组织细胞具有生长调控的作用, 连接蛋白基因水平升高可促进间隙连接的组装, 增加细胞间信号的交流, 使细胞之间的生长相互控制^[9]. 近年来研究表明, Cx43表达异常(减少或缺失)与多种肿瘤的发生、发展及转移密切相

关^[10], 而表达异常主要是表达水平的下调, 而非基因的丢失或突变^[11].

本研究结果显示, Cx43蛋白在正常肝组织、肝硬化和HCC中阳性率逐渐降低, HCC中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织, 与二者间比较有统计学意义; Cx43阳性表达随着HCC的分化程度降低, 恶性程度增高, 阳性率降低, 且与肿瘤大小、TNM分期及伴有血管内癌栓、浸润性生长方式和累及肝被膜有关. 本研究结果与以往报道有一致性^[12], Cx43表达与HCC的浸润性生长方式和是否累及肝被膜间的关系尚

■同行评价

本文选题新颖, 研究方法科学, 结果可靠, 对临床肝癌的防治有重要的指导意义。

表 3 肝细胞癌组织中EGFR和Cx43、E-cadherin表达的相关性分析 ($n = 74$)

		Cx43				E-cadherin			
		-	+	++	rs'	-	+	++	rs'
EGFR	-	14	4	7	-0.3123	12	3	10	-0.2962
	+	18	4	2		12	8	3	
	++	22	2	1		20	4	2	

$P = 0.0068$, $P < 0.01$ vs Cx43; $P = 0.0104$, $P < 0.05$ vs E-cadherin. EGFR: 表皮生长因子受体。

未见报道。HCC中Cx43表达降低, 提示癌细胞GJIC异常, 机体对细胞的监视和调控能力减弱, 使细胞之间的生长相互控制减弱, 促进细胞过度克隆生长, 同时细胞凋亡功能减弱, 可导致肿瘤的发生和发展; GJIC功能降低, 影响细胞间的黏附, 黏附机制减弱, 使细胞彼此分离, 是导致肿瘤细胞浸润和转移的重要机制之一。Lin等^[9]研究结果支持这一观点。针对HCC组织中Cx43表达减少, 提示Cx43可能成为抗肿瘤药物的潜在靶点, 提高癌组织中Cx43表达, 恢复GJIC功能, 抑制癌细胞的增殖, 降低癌细胞侵袭和转移, 有望为HCC的基因靶向治疗找到一条新的途径。

E-cadherin是一种钙离子依赖性细胞间黏附分子, 是调节细胞与细胞之间, 细胞与基质之间黏附反应的重要媒介, 对维持细胞的形态和极性、组织结构的完整性有重要作用^[13]。E-cadherin在结肠癌、泌尿系统肿瘤、口腔上皮癌等多种肿瘤中呈低表达或表达缺失, 与多种肿瘤的发生发展和浸润转移及预后有关^[14,15]。E-cadherin表达下降或缺失, 一方面, 可使肿瘤细胞间黏附力下降, 细胞间接触抑制功能下降, 促使细胞增殖增加, 同时还能抑制细胞凋亡; 另一方面, 肿瘤细胞容易离散而呈浸润性生长, 促进肿瘤扩散和转移, 而且可以诱导上皮细胞向间质细胞转化, 增强肿瘤细胞的侵袭力和抗凋亡能力^[16]。

本研究中, E-cadherin蛋白在HCC中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织, 随着HCC分化程度降低, 恶性程度升高, 表达减少; 且与肿瘤大小、TNM分期, 伴有血管内癌栓、累及肝被膜和浸润性生长方式有关, 且随着肿瘤临床病程进展, 侵袭性加强, E-cadherin表达下降。该结果同Armeanu-Ebinger等^[17]研究基本一致。HCC中E-cadherin表达下降, 肿瘤细胞间黏附力下降, 细胞接触抑制功能减弱, 促进细胞增殖, 导致HCC发生, 同时肿瘤细胞获得高侵袭性, 促进肝癌细胞扩散和转移。E-cadherin异常表达与HCC

的恶性生物学行为密切相关, 表达减弱可促进癌细胞的浸润和转移, 提示E-cadherin是反映HCC恶性生物学行为和预后的重要标志物。

本研究显示, HCC组织中, EGFR表达增加, Cx43和E-cadherin表达减少, EGFR与Cx43、E-cadherin在HCC发生发展中具有反向调节作用, 三者协同作用共同参与HCC的发生和演进过程。

EGFR和Cx43在HCC中具有反向调节作用, 王凤翔等^[18]研究EGF对人视网膜色素上皮细胞间通讯功能和Cx43表达关系的影响发现, 经EGF处理后的人视网膜色素上皮细胞Cx43表达明显降低, 并且与EGF的浓度呈正相关性。该结果提示, EGF可以降低细胞间隙连接通讯功能, 减少Cx43蛋白的表达, 降低细胞间接触抑制, 刺激细胞的生长; 而EGF发挥其功能必须通过与其受体(EGFR)结合才能完成, 则EGFR的表达可以影响EGF的功能。本实验结果表明, HCC组织中EGFR高表达, Cx43低表达, 高表达的EGFR可以通过EGF作用, 使Cx43蛋白在HCC组织中表达下调, 降低肝癌细胞间缝隙连接功能, 降低细胞间接触性抑制, 刺激细胞过度增殖分化, 降低细胞的凋亡, 促进HCC的发生和发展。

EGFR和E-cadherin在HCC组织中表达具有负相关性, 其具体作用机制尚不清楚。Jones等^[19]对乳腺癌中EGFR和E-cadherin表达关系的研究发现, E-cadherin表达下降与EGFR表达呈明显相关性, 在细胞水平上, EGFR和E-cadherin共存于细胞间的粘着小带处, 并与 β -catenin相连, 当EGFR结合配体, 受体自身酪氨酸磷酸化, 使得E-cadherin从肌动蛋白丝上解离下来, 使细胞的黏附功能破坏, 促进肿瘤细胞的生长与转移。

肝硬化是一个长期持续慢性肝损伤后的复杂病理过程, 导致肝硬化的原因很多, 在我国最重要的原因是病毒性肝炎, 尤其是乙型肝炎和丙型肝炎。但肝硬化的发生发展是一个多因素、多步骤的复杂过程, 受多方面因素的影响,

本实验结果显示, 肝硬化增生结节内EGFR阳性率明显高于正常肝组织, 二者间有显著性差异 ($P<0.01$), 提示EGFR可能参与了肝硬化的发病过程; 且伴有肝硬化背景组(68.25%)HCC组织中EGFR阳性率高于无肝硬化背景组(54.55%), 提示EGFR可能参与了肝硬化向HCC转化的过程, 并与肝硬化最终发展成为HCC的过程有一定的相关性. 而Cx43、E-cadherin在肝硬化组织中阳性率低于正常肝组织, 同时发现伴有肝硬化背景组HCC组织中Cx43、E-cadherin阳性率低于无肝硬化背景组, 提示Cx43、E-cadherin缺失可能参与了肝硬化的发病过程, 且在肝硬化向HCC转化过程中发挥一定的作用, 其之间详细的作用机制尚未见报道, 有待于进一步探讨.

4 参考文献

- 1 汤钊猷. 从肝癌看癌症临床研究. 肿瘤 2009; 29: 1-4
- 2 Bosman F H, Carneiro F, Hruban R H. WHO classification of tumors of the digestive system. 4th ed, Lyon: IARC, 2010: 196-261
- 3 Sako Y, Minoguchi S, Yanagida T. Single-molecule imaging of EGFR signalling on the surface of living cells. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 168-172 [PMID: 10707088 DOI: 10.1038/35004044]
- 4 朱严冰, 张怡梅, 耿淑美. 表皮生长因子及受体与肿瘤的研究进展. 临床误诊误治 2006; 19: 17-19
- 5 Okano J, Nagahara T, Matsumoto K, Murawaki Y. Caffeine inhibits the proliferation of liver cancer cells and activates the MEK/ERK/EGFR signalling pathway. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 102: 543-551 [PMID: 18346049 DOI: 10.1111/j.1742-7843.2008.00231.x]
- 6 Laskin JJ, Sandler AB. Epidermal growth factor receptor: a promising target in solid tumours. *Cancer Treat Rev* 2004; 30: 1-17 [PMID: 14766123 DOI: 10.1016/j.ctrv.2003.10.002]
- 7 Berasain C, Perugorria MJ, Latasa MU, Castillo J, Goñi S, Santamaría M, Prieto J, Avila MA. The epidermal growth factor receptor: a link between inflammation and liver cancer. *Exp Biol Med* (Maywood) 2009; 234: 713-725 [PMID: 19429859 DOI: 10.3181/0901-MR-12]
- 8 Asnacios A, Fartoux L, Romano O, Tesmoingt C, Louafi S S, Mansoubakht T, Artru P, Poynard T, Rosmorduc O, Hebbbar M, Taieb J. Gemcitabine plus oxaliplatin (GEMOX) combined with cetuximab in patients with progressive advanced stage hepatocellular carcinoma: results of a multicenter phase 2 study. *Cancer* 2008; 112: 2733-2739 [PMID: 18412149 DOI: 10.1002/cncr.23489]
- 9 Lin FL, Chang CI, Chuang KP, Wang CY, Liu HJ. Advanced glycation end products down-regulate gap junctions in human hepatoma SKHep 1 cells via the activation of Src-dependent ERK1/2 and JNK/SAPK/AP1 signaling pathways. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 8636-8642 [PMID: 20681653 DOI: 10.1021/jf904240c]
- 10 Chen JT, Cheng YW, Chou MC, Sen-Lin T, Lai WW, Ho WL, Lee H. The correlation between aberrant connexin 43 mRNA expression induced by promoter methylation and nodal micrometastasis in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4200-4204 [PMID: 14519646]
- 11 Krutovskikh VA, Troyanovsky SM, Piccoli C, Tsuda H, Asamoto M, Yamasaki H. Differential effect of subcellular localization of communication impairing gap junction protein connexin43 on tumor cell growth in vivo. *Oncogene* 2000; 19: 505-513 [PMID: 10698520 DOI: 10.1038/sj.onc.1203340]
- 12 王海琴, 霍继荣, 胡继雄, 王赛. Cx43基因在肝细胞癌中的表达及意义. 中国老年学杂志 2008; 28: 35-36
- 13 Birchmeier W, Behrens J. Cadherin expression in carcinomas: role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1198: 11-26 [PMID: 8199193 DOI: 10.1016/0304-419X(94)90003-5]
- 14 Pyo SW, Hashimoto M, Kim YS, Kim CH, Lee SH, Johnson KR, Wheelock MJ, Park JU. Expression of E-cadherin, P-cadherin and N-cadherin in oral squamous cell carcinoma: correlation with the clinicopathologic features and patient outcome. *J Craniomaxillofac Surg* 2007; 35: 1-9 [PMID: 17296306 DOI: 10.1016/j.jcms.2006.11.004]
- 15 Lascombe I, Clairotte A, Fauconnet S, Bernardini S, Wallerand H, Kantelip B, Bittard H. N-cadherin as a novel prognostic marker of progression in superficial urothelial tumors. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2780-2787 [PMID: 16675571 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2387]
- 16 Onder TT, Gupta PB, Mani SA, Yang J, Lander ES, Weinberg RA. Loss of E-cadherin promotes metastasis via multiple downstream transcriptional pathways. *Cancer Res* 2008; 68: 3645-3654 [PMID: 18483246 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2938]
- 17 Armeanu-Ebinger S, Wenz J, Seitz G, Leuschner I, Handgretinger R, Mau-Holzmann UA, Bonin M, Sipos B, Fuchs J, Warmann SW. Characterisation of the cell line HC-AFW1 derived from a pediatric hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e38223 [PMID: 22666492 DOI: 10.1371/journal.pone.0038223]
- 18 王凤翔, 何守志, 顾峥, 陈兵. EGFR对人视网膜色素上皮细胞胞间通讯功能和Cx43表达的影响. 眼科新进展 2005; 25: 301-303
- 19 Jones JL, Royall JE, Walker RA. E-cadherin relates to EGFR expression and lymph node metastasis in primary breast carcinoma. *Br J Cancer* 1996; 74: 1237-1241 [PMID: 8883410 DOI: 10.1038/bjc.1996.522]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利

