

本文引文格式:明方鸾,苏群英,朱晓莹,等. EGFR和CD44蛋白在结直肠腺癌中的表达及其临床病理意义[J]. 右江民族医学院学报, 2021, 43(6): 774-777.

【论著与临床报道】

## EGFR和CD44蛋白在结直肠腺癌中的表达及其临床病理意义

明方鸾<sup>1</sup>, 苏群英<sup>2,3</sup>, 朱晓莹<sup>2,3</sup>, 黄云美<sup>3</sup>, 黄炳臣<sup>3</sup>

- [1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;
2. 广西分子病理学(肝胆疾病)重点实验室, 广西 百色 533000;
3. 右江民族医学院附属医院病理科, 广西 百色 533000]

**摘要:**目的 检测表皮生长因子受体(EGFR)和CD44在结直肠腺癌组织中的表达,探讨两者与结直肠腺癌的临床病理关系及两者之间的相关性。**方法** 应用免疫组化SP法检测150例结直肠腺癌组织中EGFR和CD44的表达。**结果** EGFR和CD44在结直肠腺癌中的表达率分别为40.67%和51.33%;EGFR阳性表达与肿瘤大小和淋巴结转移有关( $P < 0.05$ ),而与患者性别、年龄、肿瘤部位、分化程度、浸润深度无关联( $P > 0.05$ )。CD44的阳性表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移有明显关联( $P < 0.05$ ),而与患者性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、分化程度无关联( $P > 0.05$ )。EGFR和CD44的表达呈弱相关性( $C = 0.279, P < 0.001$ )。**结论** EGFR和CD44蛋白的阳性表达与肿瘤的淋巴结转移和浸润等预后相关因素有关联,可能成为肿瘤预后判断的依据。两者蛋白表达呈弱相关,提示两者之间可能存在协同作用。联合检测EGFR和CD44可有助于判断结直肠腺癌局部侵袭和远处转移的能力。

**关键词:** 结直肠肿瘤; EGFR; CD44; 淋巴结转移

**中图分类号:** R735.43

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5817(2021)06-0774-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.06.015

### Expression of EGFR and CD44 in colorectal adenocarcinoma and its clinicopathological significance

Ming Fangluan<sup>1</sup>, Su Qunying<sup>2,3</sup>, Zhu Xiaoying<sup>2,3</sup>, Huang Yunmei<sup>3</sup>, Huang Bingchen<sup>3</sup>

- [1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. Key Laboratory of Molecular Pathology (Hepatobiliary Diseases) of Guangxi, Baise 533000, Guangxi, China;
3. Department of Pathology, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China]

**Abstract:** **Objective** To detect the expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and CD44 in colorectal adenocarcinoma, and to explore their association with clinicopathology of colorectal adenocarcinoma as well as the correlation between EGFR and CD44. **Methods** The immunohistochemical SP method was used to detect the expression of EGFR and CD44 in 150 cases of colorectal adenocarcinoma. **Results** The expression rates of EGFR and CD44 in colorectal adenocarcinoma were 40.67% and 51.33%, respectively. The positive expression of EGFR was related with tumor size and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ), but not related with gender, age, tumor location, tumor differentiation and the depth of tumor invasion ( $P > 0.05$ ). The

**基金项目:** 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2020KY3022)

**第一作者简介:** 明方鸾(1995-),女,在读硕士研究生,住院医师,研究方向:临床病理, E-mail: 544047837@qq.com

**通讯作者简介:** 黄炳臣(1966-),男,本科,副教授,硕士研究生导师,研究方向:病理学教学与临床病理诊断, E-mail: hbc9928@163.com

positive expression of CD44 was significantly related with the depth of tumor invasion and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ), but not with gender, age, tumor location, tumor size and tumor differentiation ( $P > 0.05$ ). The expression of EGFR was weakly correlated with that of CD44 ( $C = 0.279, P < 0.001$ ). **Conclusion** The positive expression of EGFR and CD44 protein is associated with prognostic factors including lymph node metastasis and invasion of tumors, which may be the basis for tumor prognosis. The expressions of these two proteins are weakly correlated, suggesting that there might be synergistic effect between these two proteins. Combined detection of EGFR and CD44 may be helpful for judging local invasion and distant metastasis of colorectal adenocarcinoma.

**Key words:** colorectal adenocarcinoma; EGFR; CD44; lymph node metastasis

结直肠腺癌是消化道常见恶性肿瘤之一,随着社会发展、生活方式和饮食结构改变,其发病率越来越高并趋向老龄化<sup>[1]</sup>。侵袭和转移是包括结直肠癌在内的恶性肿瘤基本生物学特征,也是患者治疗失败和致死的主要因素。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是一种跨膜糖蛋白,属于酪氨酸蛋白激酶家族成员,具有酪氨酸激酶活性,活化后可激活一系列细胞内信号途径,参与肿瘤血管生成、细胞增殖,在肿瘤的发生进展中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。CD44是一组分布广泛、分子量为85 000~160 000的膜蛋白,分子量150 000以上的CD44充当透明质酸的跨膜受体,是一种不可或缺的细胞表面糖蛋白,在细胞-细胞和细胞-基质黏附、迁移、信号传导和肿瘤转移中起着关键作用<sup>[3]</sup>。本研究应用免疫组化法检测EGFR和CD44蛋白在结直肠腺癌组织中的表达,探讨其表达在结直肠腺癌中的临床病理学意义。

## 1 材料与方法

1.1 材料 选取右江民族医学院附属医院病理科2017年1月—2020年12月的结直肠腺癌存档蜡块标本共150例,其中男性90例,女性60例;≥50岁97例,<50岁53例;结肠腺癌87例,直肠腺癌63例;肿瘤最大直径≥5 cm 79例,<5 cm 71例;中高分化腺癌121例,低分化腺癌和黏液腺癌29例;浸润深度为T1+T2的60例,T3+T4的90例;有淋巴结转移63例,无淋巴结转移87例。所有病例术前均未接受放化疗、生物治疗及靶向治疗。

1.2 免疫组织化学染色 免疫组化采用SP法,兔抗人单克隆抗体EGFR、鼠抗人单克隆抗体CD44、免疫组化SP检测试剂盒均购自福州迈新生物技术开发有限公司。染色步骤按说明书进行,4 μm厚组织切片常规脱蜡、梯度乙醇入水。在EDTA抗原修复液中95~99℃抗原修复20 min,室温冷却10 min。除去切片组织外的水分,在离组织3 mm处用免疫组化油笔画圈,PBS缓冲液清洗2×3 min,分别滴加EGFR和CD44抗体并置于4℃冰箱过夜。第2天,应用SP检测和DAB显色,苏木素复染,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,

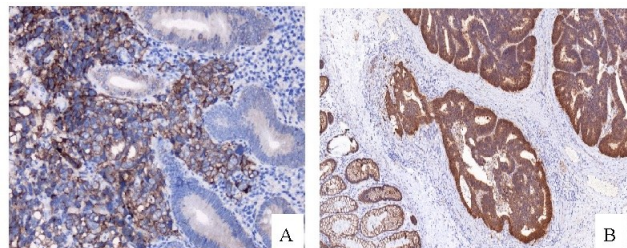
树脂封片。用已知EGFR和CD44阳性的乳腺癌作为阳性对照,用PBS替代一抗作为阴性对照。

免疫组化结果判定标准:EGFR阳性定位于细胞膜和细胞质,呈淡黄、棕黄、棕褐色;CD44阳性定位于细胞膜,呈淡黄、棕黄、棕褐色。根据染色强度及显色细胞比例判定阳性结果。染色强度:无着色0分,淡黄色1分,棕黄色2分,棕褐色3分;按显色细胞比例进行评分:0%~10%为1分,11%~50%为2分,>50%为3分。两项相乘0~3分为阴性病例,4~9分为阳性病例。

1.3 统计学方法 统计学分析应用SPSS 24.0分析系统,EGFR、CD44在结直肠腺癌中的表达与临床病理参数的差异采用 $\chi^2$ 检验,相关分析采用列联相关系数表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 结直肠腺癌中EGFR和CD44蛋白的表达及其与临床病理特征的关系 EGFR阳性表达定位于细胞膜和细胞质(见图1A),CD44阳性定位于细胞膜,呈淡黄、棕黄、棕褐色(见图1B)。EGFR和CD44蛋白在结直肠腺癌组织中的总表达率分别为40.67%(61/150)和51.33%(77/150)。EGFR在有淋巴结转移组中的阳性表达明显高于无淋巴结转移组中的表达,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),EGFR蛋白表达与肿瘤的大小有关。CD44蛋白在结直肠腺癌组织中的表达与肿瘤浸润深度和淋巴结转移有关,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表1。



A为EGFR表达于细胞膜和细胞质,200倍,SP法;

B为CD44表达于细胞膜,100倍,SP法。

图1 EGFR和CD44的免疫组化结果

表 1 EGFR 和 CD44 表达与结直肠癌临床病理特征的关系

病理参数	n	EGFR 阳性	$\chi^2$	P	CD44 阳性	$\chi^2$	P
		(n = 61)			(n = 77)		
年龄/岁			1.436	0.231		0.569	0.451
<50	53	25			25		
≥50	97	36			52		
性别			0.226	0.635		0.071	0.790
男	90	38			47		
女	60	23			30		
肿瘤部位			0.216	0.642		0.048	0.827
结肠	87	34			44		
直肠	63	27			33		
肿瘤大小/cm			5.236	0.022		0.641	0.423
≥5	79	39			43		
<5	71	22			34		
分化程度			0.863	0.353		1.659	0.198
中高分化	121	47			59		
低分化	29	14			18		
浸润深度			2.229	0.135		5.141	0.023
T1+T2	60	20			24		
T3+T4	90	41			53		
淋巴结转移			9.979	0.002		4.859	0.028
有	63	35			39		
无	87	26			38		

注:表内计数资料数据以 n 表示。

2.2 结直肠癌中 EGFR 和 CD44 蛋白表达相关性分析 结直肠癌组织中 EGFR 和 CD44 共同阳性和共同阴性的病例较多,其中 EGFR 和 CD44 共同阳性 42 例、共同阴性 54 例、EGFR 阳性而 CD44 阴性 19 例、CD44 阳性而 EGFR 阴性 35 例,相关分析表明两者蛋白表达呈弱相关性( $C=0.279, P<0.001$ ),见表 2。

表 2 EGFR 和 CD44 蛋白表达比较

EGFR	CD44		合计
	+	-	
+	42	19	61
-	35	54	89
合计	77	73	150

注:采用 McNemar 检验,  $P<0.001$ 。

### 3 讨论

EGFR 是酪氨酸激酶受体家族成员之一,具有配体诱导的酪氨酸激酶(TK)活性,可激活下游细胞内多种信号通路,包括 RAS/RAF/MEK/ERK、PI3K/AKT/JAK/STAT3 和 Akt-mTOR 等致癌信号通路,诱导细胞的增殖、侵袭和迁移<sup>[4-5]</sup>。近年来的研究发现,EGFR 在多种消化道恶性肿瘤组织中均有表达,并

且和肿瘤的转移和患者的预后相关<sup>[6-7]</sup>。肿瘤的增殖、侵袭转移以及复发耐药是结直肠癌患者治疗失败死亡的主要原因。葛顺娜等<sup>[8]</sup>对人卵巢癌细胞株和顺铂耐药卵巢癌细胞株的体外实验发现,EGFR 通过 EGFR/P13K/Akt 信号通路激活促进卵巢癌细胞的增殖和侵袭,随着 EGFR 表达增强,卵巢癌细胞对顺铂的耐药更加明显。Carmen SD 等<sup>[9]</sup>在对有肝脏转移和无肝转移的 51 例结直肠癌组织中 EGFR 蛋白表达的对比研究发现,EGFR 阳性表达与淋巴结转移、肝转移和恶性进展有关,并且提示患者不良预后。本研究结果发现,在肿瘤直径≥5 cm 的结直肠癌组中 EGFR 的表达阳性率明显高于肿瘤直径<5 cm 病例组,提示 EGFR 蛋白可能参与促进结直肠癌的增殖或抑制癌细胞的凋亡,其机制可能与 EGFR 在结直肠癌中具有多种生物学功能,高表达的 EGFR 蛋白一方面通过激活 Ras/MAPK 信号转导通路促进转录激活和细胞增殖,另一方面通过激活抗凋亡 P13K/AKT 级联信号通路抑制肿瘤细胞的凋亡有关。本研究还发现,在有淋巴结转移的结直肠癌病例中 EGFR 的表达明显高于无淋巴结转移组的病例,提示结直肠癌组织中 EGFR 蛋白高表达或过度表达与淋巴结转移密切相关,表明 EGFR 蛋白有可能在结直肠癌的增殖和转移的病理过程中起着重要作用。上述研究结果均提示 EGFR

有可能成为预测结直肠癌预后的一个重要生物学标记物。

CD44 是一种可与多种配体结合的跨膜单链糖蛋白,在多种肿瘤中均有表达,是肿瘤细胞表达较为普遍的细胞黏附因子。近年来,CD44 也被视为结直肠癌的干细胞标志物,其表达与结直肠癌、乳腺癌和肺癌等多种恶性肿瘤进展、侵袭转移、复发和多重耐药性相关<sup>[10]</sup>。国内学者姚青林等<sup>[11]</sup>对胃癌组织中 CD44 表达的研究发现,CD44 的表达增强与 TNM 分期、肿瘤大小、浸润深度、分化程度和淋巴结转移呈正相关。结直肠癌是一种多基因疾病,其发生发展是多基因参与、多步骤和多种信号通路异常调控的复杂过程,Solomon H 等<sup>[12]</sup>通过不同细胞株中突变型 P53 的遗传学研究也发现,伴随 P53 突变的细胞系中 CD44 也随之表达升高,两者存在正相关。体外实验发现,CD44 可下调 E-钙黏素表达、降低细胞间黏附和诱导肿瘤血管形成,通过趋化因子诱导肿瘤细胞迁移等机制促进肿瘤侵袭转移。本研究中,CD44 的表达随着肿瘤浸润深度的加深和淋巴结转移而增强。这与王兴芬等<sup>[13]</sup>报道基本一致。结果说明,CD44 高表达可能与结直肠癌的进展有关,是结直肠癌具有较强侵袭和转移潜能的重要标志。

本组研究结果还显示,EGFR 和 CD44 的表达中,两者共同阳性和共同阴性的病例较多,相关分析显示,结直肠癌中 EGFR 和 CD44 蛋白表达呈弱相关,提示两者在结直肠癌的增殖、侵袭和转移机制中可能具有正向协同作用,但其机制还需要进一步研究。

总之,EGFR 和 CD44 蛋白在结直肠癌中的侵袭和转移中起重要作用,临床上对它们联合检测有利于判断结直肠癌局部侵袭和远处转移的能力。

#### 参考文献:

- [1] 郑莹,王泽洲.全球结直肠癌流行病学数据解读[J].中华流行病学杂志,2021,42(1):149-152.
- [2] 王玉.结直肠癌组织中 EGFR、Ki-67 蛋白的表达及其与临床病理特征的关系研究[J].辽宁医学杂志,2021,35(1):42-45.
- [3] Mikami S,Mizuno R,Kosaka T,et al. Expression of TNF-

$\alpha$  and CD44 is implicated in poor prognosis,cancer cell invasion,metastasis and resistance to the sunitinib treatment in clear cell renal cell carcinomas[J]. Int J Cancer, 2015,136(7):1504-1514.

- [4] Simon K. Colorectal cancer development and advances in screening[J]. Clin Interv Aging,2016,11:967-976.
- [5] Kong LH,Zhang Q,Mao JH,et al. A dual-targeted molecular therapy of PP242 and cetuximab plays an anti-tumor effect through EGFR downstream signaling pathways in colorectal cancer[J]. J Gastrointest Oncol, 2021,12(4):1625-1642.
- [6] Nguyen PV,Hervé-Aubert K,Chourpa I,et al. Active targeting strategy in nanomedicines using anti-EGFR ligands-A promising approach for cancer therapy and diagnosis[J]. Int J Pharm,2021,609:121134. doi:10.1016/j.ijpharm.2021.121134.
- [7] 王娟,黄炳臣,卢运龙,等. CD44、VEGF 和 EGFR 在乳腺癌中的表达及临床意义分析[J]. 右江民族医学院学报,2018,40(1):26-29,32.
- [8] 葛顺娜,段峥峥. 外源性硫化氢通过 EGFR/PI3K/Akt 信号通路促进人卵巢癌细胞增殖、侵袭和顺铂耐药[J]. 上海交通大学学报(医学版),2018,38(3):244-253.
- [9] Carmen SD,Corchete LA,Gervas R,et al. Prognostic implications of EGFR protein expression in sporadic colorectal tumors: Correlation with copy number status, mRNA levels and miRNA regulation[J]. Sci Rep, 2020,10(1):4662.
- [10] Chen C,Zhao SJ,Karnad A,et al. The biology and role of CD44 in cancer progression;therapeutic implications[J]. J Hematol Oncol,2018,11(1):64.
- [11] 姚青林,王景杰,李欢,等. 胃癌组织中 NEDD9、CD44 和 Ki67 的表达及与临床病理特征的关系[J]. 现代肿瘤医学,2021,29(16):2863-2867.
- [12] Solomon H,Dinowitz D,Pateras IS,et al. Mutant p53 gain of function underlies high expression levels of colorectal cancer stem cells markers[J]. Oncogene,2018,37(12):1669-1684.
- [13] 王兴芬,张向莲,许丽萍,等. 干细胞标志物 CD44 及 Lgr5 在结直肠癌中的表达及与淋巴结和肝转移的关系[J]. 中华医学杂志,2018,98(36):2899-2904.

收稿日期:2021-10-15;修回日期:2021-10-28