

# 乙型肝炎病毒 X 蛋白对肝癌细胞侵袭与迁移能力的作用及机制

曹宽 鲍仲明 周新宇 贾广宇 张斌 温泉 王人颢

**【摘要】目的** 探讨乙型肝炎病毒 X (HBx) 蛋白对肝癌细胞侵袭与迁移能力的作用及机制。**方法** 采用回顾性队列研究方法。收集 2014 年 7 月至 2015 年 7 月徐州医科大学附属第一医院收治的 30 例肝肿瘤患者[20 例肝细胞癌(简称肝癌)、10 例肝脏良性肿瘤]的临床病理资料。收集 20 例肝癌患者(均有 HBV 感染史)行手术切除的肝癌组织及 10 例肝脏良性肿瘤患者(均无 HBV 感染史)的瘤旁组织(瘤体包膜外组织)。采用免疫组织化学染色检测肝癌组织与瘤旁组织中人类表皮生长因子受体 3 (ErbB3) 蛋白表达。采用 Western blot 检测肝癌组织与瘤旁组织中 ErbB3 蛋白和 HBx 蛋白相对表达量,以及转染绿色荧光蛋白(GFP)质粒的肝癌细胞株 HepG2 和转染 GFP-HBx 质粒的 HepG2 中 ErbB3 蛋白相对表达量。采用 RT-PCR 检测转染 GFP 质粒的 HepG2 和转染 GFP-HBx 质粒的 HepG2 中 ErbB3 mRNA 相对表达量。采用铺基质胶 Transwell 法检测 HepG2 侵袭能力,不铺基质胶 Transwell 法检测 HepG2 迁移能力。正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。采用 Pearson 检验进行相关性分析。**结果** (1)免疫组织化学染色检测 ErbB3 蛋白表达情况:20 例原发性肝癌患者的肝癌组织及 10 例肝脏良性肿瘤患者的瘤旁组织中 ErbB3 蛋白平均光密度(MOD)相对值分别为  $2.54 \pm 1.33$  和  $0.99 \pm 0.29$ ,两者比较,差异有统计学意义( $t = 6.542, P < 0.05$ )。(2)Western blot 检测 ErbB3 蛋白和 HBx 蛋白表达情况:10 例原发性肝癌患者的肝癌组织及 10 例肝脏良性肿瘤患者的瘤旁组织中 ErbB3 蛋白相对表达量分别为  $0.79 \pm 0.13$  和  $1.10 \pm 0.28$ ,HBx 蛋白相对表达量分别为  $1.07 \pm 0.17$  和 0,两者上述指标比较,差异均有统计学意义( $t = 3.229, 19.486, P < 0.05$ )。Pearson 检验结果显示:肝癌组织中 ErbB3 蛋白与 HBx 蛋白表达成正相关( $r = 0.637, P < 0.05$ )。(3)Western blot 和 RT-PCR 检测 HepG2 中 ErbB3 蛋白表达及转录水平情况:转染 GFP 质粒的 HepG2 和转染 GFP-HBx 质粒的 HepG2 中 ErbB3 蛋白相对表达量分别为  $0.75 \pm 0.11$  和  $1.10 \pm 0.10$ ,两者比较,差异有统计学意义( $t = 4.291, P < 0.05$ )。转染 GFP 质粒的 HepG2 和转染 GFP-HBx 质粒的 HepG2 中 ErbB3 mRNA 相对表达量分别为  $0.38 \pm 0.03$  和  $0.94 \pm 0.07$ ,两者比较,差异有统计学意义( $t = 11.703, P < 0.05$ )。(4)ErbB3 蛋白对 HepG2 侵袭、迁移能力的影响:铺基质胶 Transwell 法检测转染 His 质粒的 HepG2 和转染 His-ErbB3 质粒的 HepG2 穿膜细胞数分别为  $(271 \pm 18)$  个和  $(463 \pm 31)$  个,两者比较,差异有统计学意义( $t = 8.202, P < 0.05$ )。不铺基质胶 Transwell 法检测转染 His 质粒的 HepG2 和转染 His-ErbB3 质粒的 HepG2 穿膜细胞数分别为  $(315 \pm 38)$  个和  $(549 \pm 34)$  个,两者比较,差异有统计学意义( $t = 8.310, P < 0.05$ )。**结论** HBx 蛋白可通过上调 ErbB3 蛋白表达,促进肝癌细胞侵袭与迁移。

**【关键词】** 癌,肝细胞; 乙型肝炎病毒 X 蛋白; 人类表皮生长因子受体 3; 侵袭; 迁移

**基金项目:**江苏省卫生厅基金(H201429);徐州市科技计划项目(KC14SX001);江苏省研究生科研创新计划(KYLX14-1453)

**Effects and mechanisms of hepatitis B virus X protein on invasion and migration of hepatocellular carcinoma cells** Cao Kuan, Bao Zhongming, Zhou Xinyu, Jia Guangyu, Zhang Bin, Wen Quan, Wang Renhao. Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Wang Renhao, Email: wangrenhao@126.com

**【Abstract】 Objective** To explore the effects and mechanisms of hepatitis B virus-X protein (HBx) on invasion and migration of hepatocellular carcinoma (HCC) cells. **Methods** The retrospective cohort study was conducted. The clinicopathological data of 30 patients with liver tumor (20 with HCC and 10 with benign tumor

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2017.02.013

作者单位:221000 徐州医科大学附属第一医院肝胆外科

通信作者:王人颢,Email: wangrenhao@126.com

of liver) who were admitted to the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College between July 2014 and July 2015 were collected. HCC tissues of 20 patients with HCC (with history of HBV infection) were collected by surgical resection and peritumoral normal tissues (outside of tumor capsule) of 10 patients with benign tumor of liver (without history of HBV infection) were collected. The expressions of epidermal growth factor receptor 3 (ErbB3) in HCC tissues and peritumoral normal tissues were detected by immunohistochemistry (IHC). The relative expressions of ErbB3 and HBx in HCC tissues and peritumoral normal tissues were detected by Western blot, and relative expressions of ErbB3 in HepG2 of which green fluorescent protein (GFP) and GFP-HBx were respectively transfected were detected. The relative expressions of ErbB3 mRNA in HepG2 transfected by GFP and GFP-HBx were detected by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). The migration and invasion of HepG2 were respectively detected by Transwell assay with and without matrix. The measurement data with normal distribution were represented as  $\bar{x} \pm s$ . The comparisons between groups were evaluated with the independent-sample *t* test. Correlation analysis was done by the Pearson test. **Results** (1) The expressions of ErbB3 were detected by IHC; relative value of mean optical density (MOD) of ErbB3 in HCC tissues of 20 patients with HCC and peritumoral normal tissues of 10 patients with benign tumor of liver were  $2.54 \pm 1.33$  and  $0.99 \pm 0.29$ , respectively, with a statistically significant difference ( $t = 6.542, P < 0.05$ ). (2) The relative expressions of ErbB3 and HBx were detected by Western blot; relative expressions of ErbB3 and HBx were respectively  $0.79 \pm 0.13$ ,  $1.10 \pm 0.28$  in HCC tissues of 10 patients with HCC and  $1.07 \pm 0.17$ ,  $0$  in peritumoral normal tissues of 10 patients with benign tumor of liver, with statistically significant differences ( $t = 3.229, 19.486, P < 0.05$ ). The results of Pearson test showed that there was a positive correlation of expression between ErbB3 and HBx in HCC tissues ( $r = 0.637, P < 0.05$ ). (3) The relative expressions and transcriptional levels of ErbB3 were detected by Western blot and RT-PCR; relative expressions of ErbB3 in HepG2 of which GFP and GFP-HBx were respectively transfected were  $0.75 \pm 0.11$  and  $1.10 \pm 0.10$ , respectively, with a statistically significant difference ( $t = 4.291, P < 0.05$ ). The relative expressions of ErbB3 mRNA in HepG2 of which GFP and GFP-HBx were respectively transfected were  $0.38 \pm 0.03$  and  $0.94 \pm 0.07$ , respectively, with a statistically significant difference ( $t = 11.703, P < 0.05$ ). (4) The effects of ErbB3 on migration and invasion of HepG2; numbers of transmembrane cell in HepG2 of which His and His-ErbB3 were respectively transfected by Transwell assay with matrix were respectively  $271 \pm 18$  and  $463 \pm 31$ , respectively, with a statistically significant difference ( $t = 8.202, P < 0.05$ ). Numbers of transmembrane cell in HepG2 of which His and His-ErbB3 were respectively transfected by Transwell assay without matrix were respectively  $315 \pm 38$  and  $549 \pm 34$ , respectively, with a statistically significant difference ( $t = 8.310, P < 0.05$ ). **Conclusion** HBx protein can promote the invasion and migration of hepatocellular carcinoma cells through up-regulating expressions of ErbB3 protein.

**【Key words】** Carcinoma, hepatocellular; Hepatitis B virus X protein; Epidermal growth factor receptor 3; Invasion; Migration

**Fund program:** Jiangsu Province Health Department Foundation (H201429); Xuzhou Municipal Science and Technology Program (KC14SX001); Jiangsu Province, Graduate Research Innovation Program (KYLX14-1453)

肝细胞癌(简称肝癌)是消化系统常见恶性肿瘤,在癌症相关性死亡中居第3位,由于其易侵袭、迁移,手术切除率低,患者预后差。因此,抑制肿瘤细胞侵袭、迁移是肝癌治疗的研究热点<sup>[1-2]</sup>。我国肝癌主要由HBV感染所致<sup>[3]</sup>。其中HBV编码的乙型肝炎病毒X(hepatitis B virus-X protein, HBx)蛋白在影响肝癌发生、发展过程中起重要作用。HBx可通过调节Ras/Raf/ERK、PI3K-Akt和JAK/STAT等信号传导途径,促进肝癌细胞转移<sup>[4-6]</sup>。但其作用的分子机制尚未完全阐明。近年的研究结果显示:人类表皮生长因子受体3(epidermal growth factor receptor 3, ErbB3)的高表达与患者肿瘤转移有关<sup>[7-9]</sup>。ErbB3属于酪氨酸激酶型受体,是表皮生长因子受体家族成员,可通过PI3K-Akt信号通路促进

细胞生长、增殖、分化<sup>[10-13]</sup>。有研究结果显示:肝癌患者血清中ErbB3蛋白水平增高伴随肝癌侵袭性增加,且ErbB3在肝癌组织中也呈高表达<sup>[14-15]</sup>。因此,ErbB3高表达可能与肝癌恶性进展有关。本研究回顾性分析2014年7月至2015年7月我科收治的30例肝肿瘤患者(20例肝癌、10例肝脏良性肿瘤)的临床病理资料,收集患者行手术切除的肝组织标本进行研究,探讨HBx对肝癌细胞侵袭与迁移能力的作用及机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 标本来源

采用回顾性队列研究方法。收集20例原发性肝癌患者行手术切除的肝癌组织及10例肝脏良性

肿瘤患者的瘤旁组织(瘤体包膜外组织)。20 例原发性肝癌患者均有 HBV 感染史,男 17 例,女 3 例;年龄 39~75 岁,平均年龄 61 岁。10 例肝脏良性肿瘤患者均无 HBV 感染史,男 3 例,女 7 例;年龄 24~57 岁,平均年龄 41 岁。本研究通过我院伦理委员会审批,批号为 xyfy2014042。患者及家属术前均签署手术知情同意书。

## 1.2 纳入标准和排除标准

纳入标准:(1)行肝肿瘤切除术。(2)经术后病理学检查明确诊断为肝细胞癌或肝脏良性肿瘤。(3)术前未行新辅助治疗。

排除标准:(1)原发性肝癌为非 HBV 型,肝脏良性肿瘤 HBV 阳性。(2)临床病理资料不完整。

## 1.3 主要试剂

肝癌细胞株 HepG2 购自中国科学院上海细胞库。DMEM 培养基、胎牛血清、胰酶购自美国 Hyclone 公司。总 RNA 提取试剂 TRIzol 购自上海碧云天生物技术有限公司。cDNA 反转录试剂盒购自瑞士罗氏公司。Opti-MEM、Transwell 小室(24 孔,8  $\mu\text{m}$  孔径)、Matrigel 购自美国 SIGMA 公司。转染用 PolyJet<sup>TM</sup> 购自美国 SignaGen 公司。鼠源单克隆一抗 HBx 购自美国 Abcam 公司。鼠源单克隆抗体 ErbB3 购自德国 Merck 公司。绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)、 $\beta$ -actin 抗体均购自美国 Santa Cruz 公司。

## 1.4 方法

**1.4.1 免疫组织化学染色检测肝癌组织与瘤旁组织中 ErbB3 蛋白表达:**将收集的标本以福尔马林溶液固定,石蜡包埋,5  $\mu\text{m}$  厚度连续切片。按 SP 免疫组织化学染色试剂盒说明书进行染色。ErbB3 抗体浓度为 1:50。采用 Image-Pro Plus6.0 软件检测标本染色后平均光密度(mean optical density, MOD)相对值。

**1.4.2 细胞培养与转染:**HepG2 培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,置于 5%CO<sub>2</sub>、37  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中培养。取对数生长期的 HepG2 铺于 6 孔板,待细胞贴壁后密度达 80% 后 24 h 内进行转染。转染前更换无血清培养基饥饿 30 min,然后更换含血清培养基。取 1.5 mL 无菌离心管 a、b,分别加入 100  $\mu\text{L}$  Opti-MEM 转染缓冲液。a 管中加入转染所需质粒,将 PolyJet<sup>TM</sup> 转染试剂按与质粒质量体积比为 1:3 的量加入 b 管,轻轻混匀。将 a、b 管中液体迅速混匀,室温孵育 20~30 min。将混匀后的试剂加入到 6 孔板细胞中,轻轻晃动混匀,置于 5%CO<sub>2</sub>、37  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中培养。6 h 时予 6 孔板更换新的含血清培养基。24 h 后收集 6 孔板中细胞。转染 GFP-HBx 或

His-ErbB3 质粒时,以转染空载体质粒 GFP 或 His 作为对照组。

**1.4.3 Western blot 检测:**提取转染 GFP-HBx 和 GFP 质粒的细胞总蛋白,同时提取 10 例肝癌组织与 10 例瘤旁组织总蛋白。按 Western blot 常规处理后,每孔取 40  $\mu\text{g}$  上样 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳 110 V 电泳 1.5 h。转印 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉摇床封闭 1 h。HBx 抗体浓度为 1:2 000, ErbB3 抗体浓度为 1:500, GFP 抗体浓度为 1:1 000。4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜后,1 $\times$ TBST 漂洗 10 min $\times$ 3 次。鼠、兔二抗室温孵育 1 h,漂洗 10 min $\times$ 3 次。ECL 显影液显影。

**1.4.4 RT-PCR:**采用 TRIzol 试剂,提取转染 GFP-HBx 质粒细胞和对照组细胞总 RNA。采用 2 步法使细胞 RNA 逆转录成 cDNA。采用由上海生物有限公司合成的 ErbB3、 $\beta$ -actin 引物, ErbB3 上游引物:5'-ATAGTCGACATGAGGGCGAACCACGCTC-3', 下游引物:5'-GCGGGTACCTTACGTTCTCTGGGCATTA-3';  $\beta$ -actin 上游引物:5'-GAATCAATGCAAGTTCGGTTC-3', 下游引物:5'-TCATCTCCGCTATTAGCTCCG-3'。将 ErbB3 cDNA 及相应上、下游引物分别加入 Taq 酶中。95  $^{\circ}\text{C}$  5 min, (95  $^{\circ}\text{C}$  40 s, 55  $^{\circ}\text{C}$  40 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  300 s) $\times$ 30, 72  $^{\circ}\text{C}$  10 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  end。将产物进行电泳分析。

**1.4.5 细胞体外侵袭、迁移实验:**在 6 孔板中转染 ErbB3 质粒与对照组质粒,24 h 后将细胞消化。提前备好 24 孔板和 Transwell 小室,分为铺基质胶检测侵袭能力与不铺基质胶检测迁移能力。将消化的细胞采用无血清 DMEM 培养基调整细胞浓度为  $5 \times 10^5$  个/mL,每孔接种 200  $\mu\text{L}$ 。下室加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,常规培养 24 h,取出小室。擦除小室内膜上细胞,采用 4% 多聚甲醛固定 10 min,结晶紫染色 30 min,冲洗干净。在 100 倍视野下拍照计数。

## 1.5 统计学分析

应用 SPSS16.0 统计软件进行分析。正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。采用 Pearson 检验进行相关性分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 免疫组织化学染色检测 ErbB3 蛋白表达情况

20 例原发性肝癌患者的肝癌组织及 10 例肝脏良性肿瘤患者的瘤旁组织中 ErbB3 蛋白 MOD 相对值分别为  $2.54 \pm 1.33$  和  $0.99 \pm 0.29$ ,两者比较,差异

有统计学意义( $t=6.542, P<0.05$ )。

## 2.2 Western blot 检测 ErbB3 蛋白和 HBx 蛋白表达情况

10 例原发性肝癌患者的肝癌组织及 10 例肝脏良性肿瘤患者的瘤旁组织中 ErbB3 蛋白相对表达量分别为  $0.79\pm 0.13$  和  $1.10\pm 0.28$ , HBx 蛋白相对表达量分别为  $1.07\pm 0.17$  和 0, 两者上述指标比较, 差异均有统计学意义( $t=3.229, 19.486, P<0.05$ )。见图 1。Pearson 检验结果显示: 肝癌组织中 ErbB3 蛋白与 HBx 蛋白表达成正相关( $r=0.637, P<0.05$ )。

## 2.3 Western blot 和 RT-PCR 检测 HepG2 中 ErbB3 蛋白表达及转录水平情况

Western blot 检测结果显示: 转染 GFP 质粒的 HepG2 和转染 GFP-HBx 质粒的 HepG2 中 ErbB3 蛋白相对表达量分别为  $0.75\pm 0.11$  和  $1.10\pm 0.10$ , 两者比较, 差异有统计学意义( $t=4.291, P<0.05$ )。见图 2。

RT-PCR 检测结果显示: 转染 GFP 质粒的 HepG2 和转染 GFP-HBx 质粒的 HepG2 中 ErbB3 mRNA 相对表达量分别为  $0.38\pm 0.03$  和  $0.94\pm 0.07$ , 两者比较, 差异有统计学意义( $t=11.703, P<0.05$ )。见图 3。

## 2.4 ErbB3 蛋白对 HepG2 侵袭、迁移能力的影响

铺基质胶 Transwell 法检测 HepG2 侵袭能力结果显示: 转染 His 质粒的 HepG2 和转染 His-ErbB3 质粒的 HepG2 穿膜细胞数分别为  $(271\pm 18)$  个和  $(463\pm 31)$  个, 两者比较, 差异有统计学意义( $t=8.202, P<0.05$ )。

不铺基质胶 Transwell 法检测 HepG2 迁移能力结果显示: 转染 His 质粒的 HepG2 和转染 His-ErbB3 质粒的 HepG2 穿膜细胞数分别为  $(315\pm 38)$  个和  $(549\pm 34)$  个, 两者比较, 差异有统计学意义( $t=8.310, P<0.05$ )。

## 3 讨论

肝癌因易侵袭、转移, 其临床治疗困难<sup>[16]</sup>。肝

癌细胞的侵袭、转移是由多种细胞信号分子参与的复杂生物学过程。有研究结果显示: HBx 蛋白是影响 HBV 相关肝癌侵袭、转移的关键因素; HBx 蛋白可调节多种信号转导通路, 并通过其反式激活作用影响肝癌细胞侵袭、迁移<sup>[17-18]</sup>。

HBx 蛋白是 HBV 基因组中最小的开放阅读框所编码的 17 KD 多功能蛋白。HBx 蛋白作为诱发肝癌发病的首要因素, 常是转移性肝癌细胞唯一表达的蛋白, 与肝癌发生、发展关系密切<sup>[5, 19-20]</sup>。HBx 蛋白可通过提高上皮型钙黏蛋白甲基化水平, 激活 MMPs 和尿激酶型纤溶酶原激活剂的表达, 刺激 VEGF 转录和大量分泌等途径促进肝癌细胞侵袭、迁移, 但其作用机制尚未完全阐明<sup>[21-23]</sup>。

ErbB3 是表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)家族成员之一, 由细胞外结合区结构域、跨膜结构域、酪氨酸激酶结构域和 C-末端结构域 4 个结构域组成, 主要功能是接收细胞外信号, 并负责传递至下游的细胞信号级联反应, 进而调节细胞增殖、运动和分化<sup>[10]</sup>。EGFR 异常表达常见于多种肿瘤, 如肺癌、乳腺癌、脑胶质瘤等, 并与肿瘤细胞侵袭性密切相关。在多种肿瘤治疗中 EGFR 已被作为抗癌药物作用靶点<sup>[24-28]</sup>。EGFR 二聚化后, 常可作用于 Ras/Raf/MAPK、PI3K-Akt 和 JAK/STAT 3 条信号通路, 最终介导细胞分化、侵袭及黏附等过程<sup>[29]</sup>。在对肺癌和乳腺癌患者使用 EGFR 和 ErbB2 靶向药物治疗的研究结果显示: ErbB3 依赖性信号存在持续激活, 是肿瘤抵抗靶向药物的主要原因<sup>[30]</sup>。ErbB3 的高表达和异常激活, 常出现于肺癌、乳腺癌、肝癌和前列腺癌等, 这提示 ErbB3 是致癌分子信号中的关键因素<sup>[7-9]</sup>。本研究结果显示: 与肝脏良性肿瘤瘤旁组织比较, HBV 相关肝癌组织中 ErbB3 蛋白表达明显升高, 且肝癌组织中 HBx 蛋白与 ErbB3 蛋白表达呈正相关, 这提示 ErbB3 蛋白与 HBV 相关肝癌的发生、发展有关。笔者采用 GFP-HBx 质粒转染 HepG2 的研究结果表明: HBx 蛋白能够促进 ErbB3 蛋白表达; RT-PCR 检

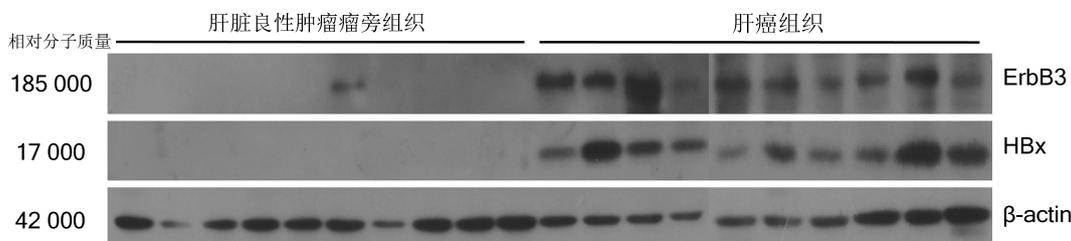


图 1 Western blot 检测肝癌组织和肝脏良性肿瘤瘤旁组织中 ErbB3 蛋白和 HBx 蛋白的表达 ErbB3: 人类表皮生长因子受体 3; HBx: 乙型肝炎病毒 X

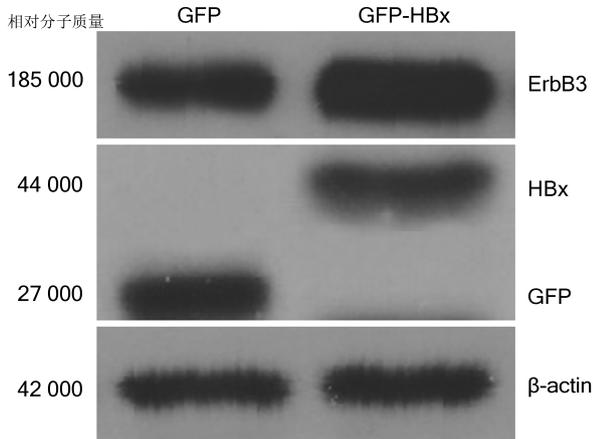


图 2 Western blot 检测转染 GFP 质粒和 GFP-HBx 质粒的 HepG2 中 ErbB3 蛋白的表达 GFP:绿色荧光蛋白; HBx:乙型肝炎病毒 X; ErbB3:人类表皮生长因子受体 3

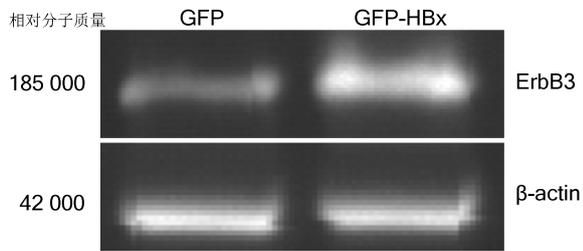


图 3 RT-PCR 检测转染 GFP 质粒和 GFP-HBx 质粒的 HepG2 中 ErbB3 mRNA 的表达 GFP:绿色荧光蛋白; HBx:乙型肝炎病毒 X; ErbB3:人类表皮生长因子受体 3

测结果表明:HBx 可通过提高 ErbB3 转录水平,促进 ErbB3 表达。已有的研究结果表明:ErbB3 可通过激活 PI3K-Akt 信号通路,作用于下游信号分子哺乳动物雷帕霉素靶蛋白、凋亡蛋白、P27、核转录因子  $\kappa$ B、糖原合成酶激酶-3 $\beta$ ,调节细胞增殖、运动和分化等生理过程<sup>[11-12,31-32]</sup>。为了观察 ErbB3 对肝癌细胞侵袭、迁移的调节作用,笔者在 HepG2 中过表达 ErbB3 蛋白,采用 Transwell 小室试验观察到:过表达 ErbB3 的细胞侵袭、迁移能力增强,这提示 ErbB3 表达增加可促进肝癌细胞侵袭、迁移。

综上,HBx 蛋白可通过上调 ErbB3 蛋白表达,促进肝癌细胞侵袭与迁移。ErbB3 在 HBV 相关肝癌患者中表达明显升高,且属于小分子酪氨酸激酶。目前针对 ErbBs 的 3 种酪氨酸激酶抑制剂,包括吉非替尼、埃罗替尼和拉帕替尼已进入临床应用<sup>[33-37]</sup>。因此,本研究有望为 HBV 相关肝癌床药物治疗提供理论依据,同时为抗肝癌药物靶点选择提供新的思路。

参考文献

[1] Dhanasekaran R, Limaye A, Cabrera R. Hepatocellular carcinoma; current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diag-

nosis, and therapeutics[J]. *Hepat Med*,2012,4:19-37. DOI:10.2147/HMER.S16316.

[2] 彭志海,孙红成.肝移植术后肝癌复发[J].*中华消化外科杂志*,2016,15(5):444-447. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2016.05.009.

[3] 陈雪莉,杨宏强,季榕.乙型肝炎病毒感染与肝癌相关性的多因素分析[J].*中华医院感染学杂志*,2014,24(17):4288-4289,4294. DOI:10.11816/cn.ni.2014-133731.

[4] Rawat S, Bouchard MJ. The hepatitis B virus (HBV) HBx protein activates AKT to simultaneously regulate HBV replication and hepatocyte survival[J]. *J Virol*,2015,89(2):999-1012. DOI:10.1128/JVI.02440-14.

[5] Slagle BL, Bouchard MJ. Hepatitis B Virus X and Regulation of Viral Gene Expression[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*,2016,6(3):a021402. DOI:10.1101/cshperspect.a021402.

[6] 吴德海,邵升.HBX 促进肝细胞癌发生发展的分子机制[J].*世界华人消化杂志*,2014,22(25):3773-3779. DOI:10.11569/wejd.v22.i25.3773.

[7] Shi H, Gong H, Cao K, et al. Nrdp1-mediated ErbB3 degradation inhibits glioma cell migration and invasion by reducing cytoplasmic localization of p27 (Kip1)[J]. *J Neurooncol*,2015,124(3):357-364. DOI:10.1007/s11060-015-1851-9.

[8] Liles JS, Arnoletti JP, Tzeng CW, et al. ErbB3 expression promotes tumorigenesis in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*,2010,10(6):555-563. DOI:10.4161/cbt.10.6.12532.

[9] Jullien N, Dieudonné FX, Habel N, et al. ErbB3 silencing reduces osteosarcoma cell proliferation and tumor growth in vivo[J]. *Gene*,2013,521(1):55-61. DOI:10.1016/j.gene.2013.03.031.

[10] Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2001,2(2):127-137. DOI:10.1038/35052073.

[11] Kang JC, Poovassery JS, Bansal P, et al. Engineering multivalent antibodies to target heregulin-induced HER3 signaling in breast cancer cells[J]. *MAbs*,2014,6(2):340-353. DOI:10.4161/mabs.27658.

[12] Smirnova T, Zhou ZN, Flinn RJ, et al. Phosphoinositide 3-kinase signaling is critical for ErbB3-driven breast cancer cell motility and metastasis[J]. *Oncogene*,2012,31(6):706-715. DOI:10.1038/onc.2011.275.

[13] Yarar D, Lahdenranta J, Kubasek W, et al. Heregulin-ErbB3-Driven Tumor Growth Persists in PI3 Kinase Mutant Cancer Cells[J]. *Mol Cancer Ther*,2015,14(9):2072-2080. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-15-0075.

[14] Hsieh SY, He JR, Yu MC, et al. Secreted ERBB3 isoforms are serum markers for early hepatoma in patients with chronic hepatitis and cirrhosis[J]. *J Proteome Res*,2011,10(10):4715-4724. DOI:10.1021/pr200519q.

[15] Hsieh SY, He JR, Hsu CY, et al. Neuregulin/erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 3 autocrine loop contributes to invasion and early recurrence of human hepatoma[J]. *Hepatology*,2011,53(2):504-516. DOI:10.1002/hep.24083.

[16] 伏旭,何健,史炯,等.肝细胞癌大体形态分型的临床意义[J].*中华消化外科杂志*,2015,14(2):120-126. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2015.02.008.

[17] Benhenda S, Cougot D, Buendia MA, et al. Hepatitis B virus X protein molecular functions and its role in virus life cycle and pathogenesis[J]. *Adv Cancer Res*,2009,103:75-109. DOI:10.1016/S0065-230X(09)03004-8.

- [18] 类成刚, 史光军, 丛培培, 等. HBVx 在肝细胞癌中的研究进展 [J]. 中国现代普通外科进展, 2013, 16(10): 834-836. DOI: 10.3969/j.issn.1009-9905.2013.10.028.
- [19] Caccamo G, Saffioti F, Raimondo G. Hepatitis B virus and hepatitis C virus dual infection [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(40): 14559-14567. DOI: 10.3748/wjg.v20.i40.14559.
- [20] Clippinger AJ, Bouchard MJ. Hepatitis B virus HBx protein localizes to mitochondria in primary rat hepatocytes and modulates mitochondrial membrane potential [J]. J Virol, 2008, 82(14): 6798-6811. DOI: 10.1128/JVI.00154-08.
- [21] Lee H, Sohn JB, Kim SS, et al. DNA methyltransferase inhibitor assay system based on the HBx-induced DNA methylation of E-cadherin [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 438(3): 540-545. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.07.094.
- [22] Liu LP, Liang HF, Chen XP, et al. The role of NF-kappaB in Hepatitis b virus X protein-mediated upregulation of VEGF and MMPs [J]. Cancer Invest, 2010, 28(5): 443-451. DOI: 10.3109/07357900903405959.
- [23] Park ES, Park YK, Shin CY, et al. Hepatitis B virus inhibits liver regeneration via epigenetic regulation of urokinase-type plasminogen activator [J]. Hepatology, 2013, 58(2): 762-776. DOI: 10.1002/hep.26379.
- [24] Sithanandam G, Anderson LM. The ERBB3 receptor in cancer and cancer gene therapy [J]. Cancer Gene Ther, 2008, 15(7): 413-448. DOI: 10.1038/cgt.2008.15.
- [25] 高帆, 祁兴顺. Erlotinib 治疗肝癌的临床研究进展 [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(6): 985-988. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2015.06.039.
- [26] 高宁, 郝彦凤, 王跃华, 等. 表皮生长因子受体、KRAS 及 BRAF 基因突变与非小细胞肺癌临床病理特征的关系 [J]. 肿瘤研究与临床, 2015, 27(8): 551-554. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2015.08.013.
- [27] 张坤宁, 路军, 赵宏颖, 等. 表皮生长因子受体、人类表皮生长因子受体 2、人类表皮生长因子受体 3 表达与非小细胞肺癌预后的关系 [J]. 肿瘤研究与临床, 2016, 28(2): 73-77, 89. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2016.02.001.
- [28] 王林娜, 张清泉, 侯素平, 等. RegIV、EGFR 和 survivin 在结直肠癌组织中的表达及临床意义 [J]. 解放军医药杂志, 2016, 28(6): 45-48. DOI: 10.3969/j.issn.2095-140X.2016.06.011.
- [29] Tan X, Lambert PF, Rapraeger AC, et al. Stress-Induced EGFR Trafficking: Mechanisms, Functions, and Therapeutic Implications [J]. Trends Cell Biol, 2016, 26(5): 352-366. DOI: 10.1016/j.tcb.2015.12.006.
- [30] Baselga J, Swain SM. Novel anticancer targets: revisiting ERBB2 and discovering ERBB3 [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(7): 463-475. DOI: 10.1038/nrc2656.
- [31] Strecker TE, Shen Q, Zhang Y, et al. Effect of lapatinib on the development of estrogen receptor-negative mammary tumors in mice [J]. J Natl Cancer Inst, 2009, 101(2): 107-113. DOI: 10.1093/jnci/djn436.
- [32] Seo AN, Kwak Y, Kim WH, et al. HER3 protein expression in relation to HER2 positivity in patients with primary colorectal cancer: clinical relevance and prognostic value [J]. Virchows Archiv, 2015, 466(6): 645-654. DOI: 10.1007/s00428-015-1747-2.
- [33] Gaborit N, Abdul-Hai A, Mancini M, et al. Examination of HER3 targeting in cancer using monoclonal antibodies [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(3): 839-844. DOI: 10.1073/pnas.1423645112.
- [34] Nakata S, Tanaka H, Ito Y, et al. Deficient HER3 expression in poorly-differentiated colorectal cancer cells enhances gefitinib sensitivity [J]. Int J Oncol, 2014, 45(4): 1583-1593. DOI: 10.3892/ijo.2014.2538.
- [35] Wislez M, Malka D, Bennouna J, et al. A new perspective in the treatment of non-small-cell lung cancer (NSCLC). Role of afatinib: An oral and irreversible ErbB family blocker [J]. Bull Cancer, 2014, 101(6): 647-652. DOI: 10.1684/bdc.2014.1986.
- [36] 陈旭兰, 付靖楠, 李颖, 等. 超声引导下射频消融术联合靶向治疗对晚期肝细胞癌患者免疫功能的影响 [J]. 解放军医药杂志, 2015, 27(5): 41-45. DOI: 10.3969/j.issn.2095-140X.2015.05.012.
- [37] 黎小龙. EGFR-TKIs 治疗非小细胞肺癌耐药后的治疗进展 [J]. 重庆医学, 2016, 45(34): 4860-4863. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2016.34.035.

(收稿日期: 2017-01-06)

(本文编辑: 王雪梅)

《中华消化外科杂志》官方网站全面升级  
欢迎浏览“<http://www.zhxhwk.com>”