

# CLDN 在结直肠癌组织中的表达及研究进展

Expression of CLDN in Colorectal Cancer and the Research Progress

WANG Lin, LI Shi-yong

王琳<sup>1</sup>, 李世拥<sup>2</sup>

(1. 山西医科大学, 山西太原 030001; 2. 北京军区总医院, 北京 100700)

**摘要:** Claudin (CLDN) 是维持紧密连接结构和功能最重要的蛋白分子, 在胃肠道肿瘤的发生发展及临床诊治中起着重要的作用。全文收集国内外近年来有关 CLDN 在大肠癌发生发展中作用的最新文献并作一综述。

**关键词:** 紧密连接; CLDN; 结直肠肿瘤

**中图分类号:** R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)06-470-05

紧密连接(tight junction, TJ)是重要的相邻细胞间的膜连接复合体<sup>[1]</sup>。TJ 由 Claudin (CLDN)、Occludin、连接黏附分子(JAM)和柯萨奇腺病毒受体(CAR)等多种蛋白分子构成, 其中 CLDN 是新近发现的决定 TJ 功能最重要的紧密连接骨架蛋白<sup>[2]</sup>, 研究发现 CLDN 在多种肿瘤的发生发展过程中, 尤其在结直肠癌中有重要的作用。

## 1 CLDN 的结构与生物学功能

Claudin 是多基因家族的一种蛋白质, 在大鼠和人类中至少有 24 位成员, 分子量在 22~27kD 之间, 含 4 个跨膜结构域, 2 个细胞外环形结构和位于胞质中的 N-及 C-末端结构域<sup>[3]</sup>。相邻细胞膜中 Claudin 的细胞外环可以相互作用, 封闭细胞间隙, 这对 TJ 条带形成和离子通透选择性具有重要作用。所有 Claudin 的 C-末端尾部都含有一个 Y-V 功能域, 称作 PDZ 结合基序(PDZ binding motif), 能与胞浆支架蛋白(scaffolding protein)ZO-1、ZO-2 和 ZO-3 等相互作用, 后者属于膜相关鸟苷酸激酶(membrane associated guaninekinases, MAGUKs)超家族, 具有细胞膜结构的维持和信号的传导等多种功能<sup>[4]</sup>。TJ 至少具有 3 种重要的生物学功能<sup>[5]</sup>: ①屏障功能: TJ 形成的屏障, 阻止了膜蛋白及液体的侧向扩散, 维持细胞

顶端和基底区的不同组分。②维持细胞极性: 屏障把上皮细胞质膜分成顶侧的脂质和基侧的蛋白部分, 用以阻止 2 个不同功能区间的相互弥散。③物质转运和信号传导功能: 调节细胞的生长、增殖和分化。故 TJ 在调节多细胞生物体上皮细胞微环境中具有重要的作用<sup>[6]</sup>。Claudin 表达异常可使 TJ 完整性破坏、上皮渗透屏障、极性破坏<sup>[7]</sup>, 导致肿瘤细胞生长, 营养因子和其他生长因子扩散。基础和临床研究都表明 Claudin 表达异常与消化道多种肿瘤, 尤其是大肠癌的发生发展、转移和预后有密切关系。

## 2 CLDN 蛋白表达与调控机制

Claudin 蛋白表达受多种因素影响, 确切机制尚不完全清楚, 其中调控机制研究较多的是蛋白酶途径、信号转导途径、转录因子途径。

### 2.1 蛋白酶途径

Claudin 对细胞连接选择性的调节主要通过蛋白激酶途径实现。蛋白激酶 A(PKA)或蛋白激酶 C(PKC)作用 Claudin 上特定氨基酸靶点, 通常以丝氨酸、苏氨酸为主, 而 Claudin 磷酸化后, 紧密连接功能下降, 表现为氯化物渗透性增加, 可能是由于磷酸化的 Claudin 干扰紧密连接的形成。不同蛋白激酶作用于不同的 Claudin 分子。在研究卵巢癌 Claudin 的调节机制时发现, 当 PKA 和 PKC 激活后, 它们作用于不同的靶蛋白: PKA 作用于 Claudin-3 上 C-末端第 192 位氨基酸, 而 PKC 使 Claudin-4

**基金项目:** 山西省研究生优秀创新项目(20113078)

**通讯作者:** 李世拥, 文职将军, 主任医师, 教授, 博士生导师; 北京军区总医院普外科, 北京市东城区南门仓 5 号(100700);  
E-mail: lsybz@126.com。

**收稿日期:** 2012-03-10; **修回日期:** 2012-03-29

经蛋白激酶 PKC $\epsilon$  作用于 189 苏氨酸/194 丝氨酸位点发生磷酸化作用,使表达下降,并由细胞膜转至细胞浆,紧密连接蛋白出现松散破坏<sup>[8]</sup>。Boudreau 等<sup>[3]</sup>的研究表明,蛋白酶 Cathepsin L 的活力改变能通过影响 Claudin 的表达调控肠道上皮的增殖、分化,从而在结直肠癌的发生中起重要作用。

## 2.2 信号传导途径

Mankertz 等<sup>[9]</sup>研究发现通过 Claudin-2 分子调节机制可以了解其基因表达,通过基因分析分离并鉴定出含 Claudin-2 转录启动子 cDNA,得到 Claudin-2 活性启动子,并使其在表达 Wnt-1 的鼠 C57 乳腺上皮细胞系中表达提高。LEF-1 是 Wnt-1 信号通路上的核效应器,参与细胞分化和极性形成,与  $\beta$ -catenin 均可增加 Claudin-2 启动子的活性,最后通过 TCF-4/ $\beta$ -catenin 转录复合体而增强 Claudin-2 基因的高表达。最近还有学者采用免疫组化染色法检测大肠癌组织中  $\beta$ -catenin 的表达,观察到其异位表达率为 63.1%,细胞膜表达缺失率为 70.8%。因此, $\beta$ -catenin 癌基因突变等异常表达,促进该信号通路异常激活,导致细胞内  $\beta$ -catenin 积累,启动下游靶基因的转录,诱导肿瘤的发生及恶性肿瘤浸润、转移<sup>[10]</sup>。在 Madin-Darby 犬肾上皮细胞系的研究中,用有丝分裂原蛋白激酶(MEK1)抑制剂处理鼠转换的细胞后,可封闭该酶的活性,使 MEK1 信号通路发生改变,干扰 Claudin 的归巢,从而影响 TJ 功能。该通路下调,可引起鼠转换上皮细胞中紧密连接形成的恢复<sup>[11]</sup>。

## 2.3 转录因子途径

转录因子 Snail 和相关的家族信号传导通路在物种间有高度的保守性,是胚胎发生的早期所必需的。Snail 是在癌的形成中起关键作用的抑制剂,通过 DNA 的 E-box 成分来调节上皮/间质细胞向癌的转化,产生转录抑制作用。通过抑制 E-box 成分转染鼠或人的 Snail 基因后,鼠的 Claudin-3、-4、-7 基因表达沉默<sup>[12]</sup>。当在 Madin-Darby 犬肾细胞中外源性表达 Snail 时,Claudin-1、-4、-7 的表达均受抑制<sup>[13,14]</sup>。Snail 能有效地控制人 Claudin 基因的构建,该基因为野生型启动子序列,通过凝胶阻滞试验证明该转录因子也存在于人类 Claudin 的启动子上,能在翻译水平调节 Claudin 的表达。在人乳腺癌的研究中,高水平的 Snail 和低水平 Claudin 表达具有

相关性,支持 Snail 调节 Claudin 的假设理论<sup>[15]</sup>。

## 3 CLDN 蛋白与结直肠癌的研究进展

从 1998 年 Furuse 等<sup>[13]</sup>首次发现紧密连接蛋白以来,已先后发现 24 种 Claudin 蛋白,下面就目前研究较多的与结直肠癌有关的几种 Claudin 蛋白进行阐述。

### 3.1 Claudin-1

研究表明<sup>[16]</sup>Claudin-1 在 SW1116(Dukes'A 期)细胞膜、细胞浆表达;SW480(Dukes'B 期)以细胞浆表达为主;SW620(Dukes'C 期)为细胞核、细胞浆表达。Claudin-1 的表达部位随着大肠癌的进展出现异位,即 Claudin-1 由细胞表面膜转移至细胞浆和细胞核。说明 Claudin-1 表达改变可能提示早期大肠癌发生,是癌细胞侵袭转移的潜在因素。Claudin-1 还可能是  $\beta$ -catenin/TCF 信号通路的靶基因。Claudin-1 过度表达可抑制 E-cadherin 表达,使  $\beta$ -cadherin/TCF 信号通路上调,促进肿瘤的发生发展<sup>[14]</sup>。在构建的 Claudin-1 发夹 siRNA 真核表达载体可有效抑制 SW620(Dukes'C 期)CLD1 的表达量,在体外增强细胞之间黏附,抑制与基底膜的黏附,降低细胞的侵袭能力和迁移能力。因此 Claudin-1 正向调控大肠癌细胞的侵袭转移能力。文献报道通过增进组织蛋白酶 L 活性,可促进 Claudin-1 在肠道肿瘤中的高表达<sup>[17]</sup>。此外,Dhawan 等<sup>[18]</sup>的研究表明,Claudin-1 的表达上调促进了大肠癌的发生,并与大肠癌的进展和转移密切相关。也有研究发现 Claudin-1 的表达下调或缺失与大肠癌的恶性程度、复发和不良预后直接相关<sup>[19]</sup>。因此,Claudin-1 在结直肠癌中表达增高,由细胞表面膜转移至细胞浆和细胞核,提示与结直肠癌发生进展有关。

### 3.2 Claudin-2

国内有学者提出 Claudin-2 在大肠癌中明显上调,是否与大肠癌的发生发展有关要做进一步的研究。张东等<sup>[20]</sup>用免疫组化技术检测 Claudin-2 在大肠癌中表达认为 Claudin-2 与 Dukes 分期和分化程度有关。

### 3.3 Claudin-3 和 Claudin-4

Mees 等<sup>[21]</sup>研究了 16 例手术治疗的结直肠癌肿瘤组织和正常黏膜中 Claudin-3、Claudin-4、 $\beta$ -catenin

的表达情况,发现 Claudin-3、Claudin-4 在大肠癌中过表达,推测上述蛋白可作为大肠癌标志的潜在可能。而 Claudin-4 表达下调的大肠癌更易发生浸润和转移。Kuhn 等<sup>[22]</sup>也证实在大肠癌中 Claudin-3、Claudin-4 的表达较正常组织增高。De Oliveira 等<sup>[23]</sup>也报道 Claudin-1、Claudin-4 表达上调比正常组织高 2.4~5.7 倍,这种在癌上皮中的变化可以引起肠黏膜微绒毛变形、紧密连接破坏、肠黏膜屏障功能改变、细胞渗透性增加,激活上皮生长因子受体 EGRF/Wnt 信号通路,使细胞得到更多的营养,促进肿瘤的生长。Jakab 等<sup>[24]</sup>在对犬低分化结直肠癌的研究中发现, Claudin-1、Claudin-4 蛋白表达于癌上皮及隐窝,呈强阳性,与肿瘤低分化浸润、分子表达可引起瘤细胞黏附分离、细胞浸润、促进转移相关。有报道,通过对结直肠癌及转移病例免疫组化的研究,表明 Claudin-4 分子表达在浸润前达到 55%,并在转移中测出,而当转移时其表达下降<sup>[25]</sup>。因此, Claudin-3、Claudin-4 在结直肠癌中过表达,可作为结直肠癌进展检测的标志物,而 Claudin-4 可能在结直肠癌转移时表达下降。

### 3.4 Claudin-5 和 Claudin-10

Soini 等<sup>[26]</sup>发现 Claudin-5 在弥漫型胃癌中表达降低,并与其广泛浸润的表型特征相符。而 Claudin-10 在胆管癌中表达增高,在伴有肝浸润的病例中表达更高<sup>[27]</sup>。研究表明 Claudin-5 和 Claudin-10 在正常结直肠黏膜、结直肠腺瘤、结直肠癌中均有表达,它们与结直肠癌的发生无关,而与结直肠癌淋巴结转移相关。Claudin-10 还与肿瘤直径、浸润深度相关。因此, Claudin-5 和 Claudin-10 有望成为结直肠癌恶性转移潜能的指标。

### 3.5 Claudin-7

Al Moustafa 等<sup>[28]</sup>在头颈部鳞癌研究中证实, Claudin-7 的表达较周围正常组织明显下降,而 Kominsky 等<sup>[29]</sup>也发现, Claudin-7 的 mRNA 和蛋白水平的表达在侵袭性乳腺导管癌中低于正常乳腺上皮。近年研究发现鼠胃肠肿瘤 EpCAM(上皮细胞黏附分子)、Claudin-7、CO-029(四跨膜蛋白)、CD44v6 常形成一复合体并复合表达; Kuhn 等<sup>[30]</sup>研究发现在结直肠癌肝转移时,肿瘤复合体形成及复合表达与临床变异和抗凋亡相关, EpCAM, Claudin-7、CO-029 和 CD44v6 4 种分子表达均上调,并归巢到富含四

跨膜蛋白区域(TEM),由 Claudin-7、EpCAM 缺少形成的复合体几乎无 CO-029 和 CD44v6,也不会归巢到 TEM,而 4 种分子的复合体结直肠癌细胞系比任何少 1 种分子的复合体细胞系表现出较高度度的抗凋亡作用,连接 EpCAM 的 Claudin-7 分子归巢到 TEM 并形成 CO-029 和 CD44v6 的复合体,促进肿瘤转移。因此, Claudin-7 表达下调与肿瘤的浸润性生长倾向密切相关。目前认为, Claudin-7 低表达与结直肠癌的淋巴转移关系密切,其下调的程度可以反映淋巴结转移的严重程度<sup>[31]</sup>,其低表达可能促进结肠癌的发展与转移<sup>[32]</sup>。

### 3.6 其它

Matsuda 等<sup>[33]</sup>在胃型大肠癌的免疫组化分析时指出, Claudin-18 与结肠癌病人低生存率相关,并与胃型肠癌有关。Takehara 等<sup>[34]</sup>以 Caco-2 结肠癌细胞株为研究对象,探讨 Claudin-1、-2、-3、-4、-15 等的表达与结肠癌细胞的细胞屏障功能、细胞迁徙和侵袭能力之间的关系,发现 Claudin-4 过表达能促进 Caco-2 的侵袭力,而 Claudin-4 或 Claudin-2 的过表达能增加或降低细胞旁的渗透能力。因此认为, Claudin 表达对结肠癌细胞屏障功能及细胞迁徙和侵袭能力的影响取决于不同表型的 Claudin。

## 4 对 Claudin 蛋白的展望

Claudin 在维持 TJ 的结构和功能中具有重要作用,已成为当前肿瘤发病机制研究中的重点热点,并且在肿瘤的诊断和治疗中也显示其临床价值<sup>[14]</sup>。然而由于目前对 Claudin 的认识仍处于起步阶段,可从以下这几方面对 Claudin 蛋白进行研究,开创结直肠癌诊断、治疗的新途径。

### 4.1 结直肠癌早期诊断分子标志物

目前 Claudin 仍处在研究中,有些分子还未在结直肠癌中进行探讨,我们能否通过进一步研究,在结直肠癌早期发现其表达高、特异性强的分子标志物,使其具有一定的临床使用价值,例如 Claudin-4 分子是产气荚膜杆菌的受体,是否可作为转移瘤治疗的靶分子,提高疗效,有人已作尝试<sup>[35]</sup>,但仍有待证明。

### 4.2 发病机制探讨

Soler 等<sup>[36]</sup>通过破坏紧密连接蛋白,成功诱导了实验性结肠癌的发生,提示 Claudin 的表达异常与

大肠癌的发生有关。将 Claudin 与结直肠癌联合研究,以发现其在肿瘤中的异常表达,以及它们的相互作用,进一步了解紧密连接结构和功能破坏,探讨肿瘤发生机制,同时 Claudin 蛋白在相关高危因素人群中是否表达上调,值得研究。也许通过我们的研究,对 Claudin 蛋白介导的细胞信号转导途径在调节细胞正常生命活动中的作用,会有深入的了解和认识,或对阐明结直肠癌发病机制有启发。

### 4.3 免疫黏附分子

Soini 等<sup>[26]</sup>在研究 118 例胃癌时发现 Claudin-1、-3、-4、-5 全部表达,其中 Claudin-4 表达最明显, Claudin-5 表达最低,但细胞分化好, Claudin-3 在肠型胃癌中预后最好,所有 Claudin 在肠型胃癌中表达最高, Claudin-1、-3、-4、-5 在转移癌中低表达,在胃癌中决定于细胞表型、细胞聚力方面其可能的作用类似于 E-钙黏蛋白。结果表明 Claudin 低表达并不明显与预后有关,而高表达常伴有预后好,尤其与肠型胃癌有关。国内研究结果显示<sup>[37]</sup>大肠癌 E-钙黏蛋白的低表达与正常大肠黏膜、Dukes 分期、有无淋巴结转移显著相关,提示其表达降低或缺失与大肠癌发生、发展和浸润及转移有关。Claudin 蛋白通过某种途径抑制 E-钙黏蛋白的表达,导致肿瘤细胞间黏附作用减弱,肿瘤细胞的活动能力和活动范围增加,是肿瘤细胞脱离原发病灶并获得侵袭转移能力的重要因素,还需进一步研究。

### 4.4 细胞凋亡

细胞凋亡是多基因严格控制的过程。这些基因在种属之间非常保守,如 Bcl-2 家族、Caspase 家族、癌基因 c-myc、抑癌基因 p53 等。目前,对多种细胞凋亡的过程有了相当的认识,但是迄今为止凋亡过程确切机制尚不完全清楚。而凋亡过程的紊乱可能与多种疾病的发生有着直接关系:如肿瘤、自身免疫性疾病、射线、药物等。Mazzon 等<sup>[38]</sup>在研究回肠固定加压鼠模型中,证明在紧密连接功能变化中, TNF- $\alpha$  在回肠组织减少; occludens、Claudin-2、-4、-5 和  $\beta$ -catenin 发生变化; TUNEL 染色 Bax、Bcl-2 表达减少,并发生细胞凋亡。Jonges 等<sup>[39]</sup>报道, Caspase-3 在结直肠癌的发生和发展过程中起主要作用,也是判断预后的指标之一。Caspase-3 的表达与结直肠癌组织学类型、淋巴结转移和 Dukes 分期无关,而与组织学分级和术后 5 年生存率有明显相关性<sup>[40]</sup>。Takala

等<sup>[41]</sup>的研究发现, Claudin-3、-4、-7 等的表达异常可通过 Caspase-3 途径影响细胞的凋亡,促进肿瘤的发生发展。因此,也许借助这些线索,开展对 Claudin 表达与细胞凋亡关系的研究将有助于结直肠癌的诊治。

### 4.5 预后和复发

预防结直肠癌的预后和复发,仍是该病治疗环节的关键。对于浸润期及转移复发的结直肠癌, Claudin 蛋白是否可以作为早期诊断、跟踪特异性的免疫放疗治疗靶分子,作为判断预后、复发的标志物,目前报道甚少,还需进一步深入研究。

## 参考文献:

- [1] Hossain Z, Hiram T. Molecular mechanism of intestinal permeability: interaction at tight junctions [J]. *Mol Biosyst*, 2008, 4(12): 1181-1185.
- [2] Wolburg H, Wolburg-Buchholz K, Kraus J, et al. Localization of Claudin-3 in tight junctions of the blood-brain barrier is selectively lost during experimental autoimmune encephalomyelitis and human glioblastoma multiforme [J]. *Acta Neuropathol (Berl)*, 2003, 105(6): 586-592.
- [3] Boudreau F, Lussier CR, Mongrain S, et al. Loss of cathepsin L activity promotes Claudin-1 overexpression and intestinal neoplasia [J]. *FASEB J*, 2007, 21(14): 3853-3865.
- [4] Chen Y, Lu Q, Schneeberger EE, et al. Restoration of tight junction structure and barrier function by down-regulation of the mitogen-activated protein kinase pathway in ras-transformed Madin-Darby canine kidney cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(3): 849-862.
- [5] Lee DB, Huang E, Ward HJ. Tight junction biology and kidney dysfunction [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, 290(1): F20-34.
- [6] Tsukita S, Yamazaki Y, Katsuno T, et al. Tight junction-based epithelial microenvironment and cell proliferation [J]. *Oncogene*, 2008, 27(55): 6930-6938.
- [7] Wang N, Yu H, Ma J, et al. Evidence for tight junction protein disruption in intestinal mucosa of malignant obstructive jaundice patients [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2010, 45(2): 191-199.
- [8] D'Souza T, Indig FE, Morin PJ. Phosphorylation of Claudin-4 by PKCepsilon regulates tight junction barrier function in ovarian cancer cells [J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(15): 3364-3375.
- [9] Mankertz J, Hillenbrand B, Tavalali S, et al. Functional crosstalk between wnt signaling and cdx-related transcriptional activation in the regulation of the Claudin-2 promoter activity [J]. *Biochem J Biophys Res Commun*, 2004, 314(4): 1001-1007.
- [10] 何渝军, 刘宝华, 向德兵, 等.  $\beta$ -catenin 通路相关基因在大肠癌组织中的表达及其临床意义 [J]. *肿瘤学杂志*, 2008, 14(3): 179-182.

- [11] Hen Y, Lu Q, Schneeberger EE, et al. Restoration of tight junction structure and barrier function by down-regulation of the mitogen-activated protein kinase pathway in ras-transformed Madin-Darby canine kidney cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(3): 849–862.
- [12] Van Itallie CM, Anderson JM. The molecular physiology of tight junction pores [J]. *Physiology*, 2004, 19: 331–338.
- [13] Furuse M, Fujita K, Hiiiragi T, et al. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin [J]. *J Cell Biol*, 1998, 141(7): 1539–1550.
- [14] Iton M, Furuse M, Morita K, et al. Direct binding of three tight junction-associated MAGUKs, ZO-1, ZO-2, and ZO-3, with the COOH termini of claudins [J]. *J Cell Biol*, 1999, 147(6): 1351–1363.
- [15] Martinez-Estrada OM, Cullerés A, Soriano FX, et al. The transcription factors Slug and Snail act as repressors of Claudin-1 expression in epithelial cells [J]. *Biochem J*, 2006, 394(Pt 2): 449–457.
- [16] 陈琳. 紧密连接蛋白 Claudin-1 与大肠癌侵袭转移相关性的研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2007.
- [17] Boudreau F, Lussier CR, Mongrain S, et al. Loss of cathepsin L activity promotes Claudin-1 overexpression and intestinal neoplasia [J]. *FASEB J*, 2007, 21(14): 3853–3865.
- [18] Dhawan P, Singh AB, Deane NG, et al. Claudin-1 regulates cellular transformation and metastatic behavior in colon cancer [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(7): 1765–1776.
- [19] Resnick MB, Konkin T, Routhier J, et al. Claudin-1 is a strong prognostic indicator in stage II colonic cancer: a tissue microarray study [J]. *Mod Pathol*, 2005, 18(4): 511–518.
- [20] 张东, 杨春, 杨银学, 等. Claudin-2 在大肠癌中的表达及其与临床病理特征的关系 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2010, 32(5): 600–602.
- [21] Mees ST, Mennigen R, Spieker T, et al. Expression of tight and adherens junction proteins in ulcerative colitis associated colorectal carcinoma: upregulation of claudin-1, claudin-3, claudin-4, and beta-catenin [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2009, 24(4): 361–368.
- [22] Kuhn S, Koch M, Nübel T, et al. A complex of EpCAM, Claudin-7, CD44 variant isoforms, and tetraspanins promotes colorectal cancer progression [J]. *Mol Cancer Res*, 2007, 5(6): 553–567.
- [23] De Oliveira SS, De Oliveira IM, De Souza W. Claudins upregulation in human colorectal cancer [J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(27): 6179–6185.
- [24] Jakab C, Rusvai M, Gálfi P, et al. Expression of Claudin-1, -3, -4, -5 and -7 proteins in low grade colorectal carcinoma of canines [J]. *Histol Histopathol*, 2010, 25(1): 55–62.
- [25] Ueda J, Semba S, Chiba H, et al. Heterogeneous expression of Claudin-4 in human colorectal cancer: decreased Claudin-4 expression at the invasive front correlates cancer invasion and metastasis [J]. *Pathobiology*, 2007, 74(1): 32–41.
- [26] Soini Y, Tammola S, Helin H, et al. Claudins 1, 3, 4 and 5 in gastric carcinoma, loss of claudin expression associates with the diffuse subtype [J]. *Virchows Arch*, 2006, 448(1): 52–58.
- [27] Németh Z, Szász AM, Tátrai P, et al. Claudin-1, -2, -3, -4, -7, -8, and -10 protein expression in biliary tract cancers [J]. *Histochem Cytochem*, 2009, 57(2): 113–121.
- [28] Al Moustafa AE, Alaoui-Jamali MA, Batist G, et al. Identification of genes associated with head and neck carcinogenesis by cDNA microarray comparison between matched primary normal epithelial and squamous carcinoma cells [J]. *Oncogene*, 2002, 21(17): 2634–2640.
- [29] Kominsky SL, Argani P, Korz D, et al. Loss of the tight junction protein claudin-7 correlates with histological grade in both ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of the breast [J]. *Oncogene*, 2003, 22(13): 2021–2033.
- [30] Kuhn S, Koch M, Nübel T, et al. A complex of EpCAM, claudin-7, CD44 variant isoforms, and tetraspanins promotes colorectal cancer progression [J]. *Mol Cancer Res*, 2007, 5(6): 553–567.
- [31] 唐伟军, 吴志勇. VEGF 及其受体家族、Claudin 家族与结直肠癌关系研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2009.
- [32] Darido C, Buchert M, Pannequin J, et al. Defective Claudin-7 regulation by Tcf-4 and Sox-9 disrupts the polarity and increases the tumorigenicity of colorectal cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(11): 4258–4268.
- [33] Matsuda M, Sentani K, Noguchi T, et al. Immunohistochemical analysis of colorectal cancer with gastric phenotype: Claudin-18 is associated with poor prognosis [J]. *Pathol Int*, 2010, 60(10): 673–680.
- [34] Takehara M, Nishimura T, Mima S, et al. Effect of claudin expression on paracellular permeability, migration and invasion of colonic cancer cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(5): 825–831.
- [35] Saeki R, Kondoh M, Kakutani H, et al. A claudin-targeting molecule as an inhibitor of tumor metastasis [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 334(2): 576–582.
- [36] Soler AP, Miller RD, Laughlin KV, et al. Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer [J]. *Carcinogenesis*, 1999, 20(8): 1425–1431.
- [37] 胡向荣, 刁路明, 赵碧芬, 等. COX-2, E-cadherin, VEGF 在大肠癌中的表达及意义 [J]. *肿瘤学杂志*, 2007, 13(5): 403–405.
- [38] Mazzon E, Cuzzocrea S. Role of TNF- $\alpha$  in ileum tight junction alteration in mouse model of restraint stress [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2008, 294(5): G1268–G1280.
- [39] Jonges LE, Nagelkerke JF, Ensink NG, et al. Caspase-3 activity as a prognostic factor in colorectal carcinoma [J]. *Lab Invest*, 2001, 81(5): 681–688.
- [40] 吴运生, 程清洲. 大肠癌及腺瘤中 Caspase-3 和 BCL-2 的表达及临床意义 [J]. *数理医学杂志*, 2003, 16(4): 300–302.
- [41] Takala H, Saarnio J, Wiik H, et al. Claudin 1, 3, 4, 5 and 7 in esophageal cancer: loss of claudin 3 and 4 expression is associated with metastatic behavior [J]. *APMIS*, 2007, 115(7): 838–847.