文章编号:1000-5404(2005)20-2063-04

论著

趋化因子受体 CXCR4 的表达与垂体腺瘤侵袭性关系的初步研究

黄绍崧[1], 杨 辉[1], 卞修武[2], 李成仁[3] (第三军医大学:[1]新桥医院神经外科,重庆 400037,[2]西南医院病理科,[3]基础医学部组织胚胎学教研室,重庆市神经科学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 探讨趋化因子受体 CXCR4 表达与腺瘤侵袭性的关系及其临床意义。**方法** 收集西南医院近年经手术切除的临床资料完整的78例垂体腺瘤标本及5例正常垂体组织,均经10%的甲醛固定、石蜡包埋。联合运用 Knosp 影像学标准及任祖渊标准、参考术中情况,将肿瘤标本分为侵袭性与非侵袭组;运用免疫组化的方法检测这83例标本中 CXCR4 蛋白表达情况;分析 CXCR4 表达与垂体腺瘤侵袭性的内在关系。**结果** 免疫组化实验结果显示 CXCR4 蛋白在正常垂体组织中及垂体腺瘤中均有表达,但在侵袭性垂体腺瘤组织中表达显著增高($P<0.01$);在不同组织类型的垂体腺瘤中也均有表达,但无明显差别($P>0.05$)。**结论** 初步提示趋化因子受体 CXCR4 表达水平和垂体腺瘤侵袭性相关,与组织类型无关。CXCR4 可作为评价肿瘤侵袭性的一项有效指标。

关键词: 趋化因子受体 CXCR4;垂体腺瘤;侵袭性
中图法分类号: R446.62;R730.21;R736.4 **文献标识码:** A

Relationship between invasiveness and CXCR4 expression in human pituitary adenomas

HUANG Shao-song[1], YANG Hui[1], BIAN Xiu-wu[2], LI Cheng-ren[3] ([1]Department of Neurosurgery, Xinqiao Hospital; [2]Department of Pathology, Southwest Hospital; [3]Department of Histology and Embryology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To explore the relationship between chemokine receptor CXCR4 expression and invasiveness of pituitary adenomas. **Methods** A total of 78 pituitary adenoma specimens with comprehensive clinical data were surgically removed in Southwest hospital and 5 normal pituitary tissue samples were used as control. All the samples were fixed with 10% formalin and then embedded with paraffin. Every case history was reviewed in detail. All the specimens were divided into invasive group (35 cases) and non-invasive group (43 cases) by the combined application of Knosp imaging diagnosis standard and Renzuyuan's standard and referring to all operation records. The expressions of CXCR4 protein in 83 specimens were examined by immunohistochemistry. The relation between the expression of CXCR4 protein and invasiveness of the pituitary adenomas was analyzed. **Results** Immunohistochemistry showed that there was significantly high CXCR4 protein expression in invasive group and low in non-invasive group and normal pituitary tissue. There was a significant correlation between the expression level of CXCR4 protein and invasiveness of the pituitary adenomas ($P<0.01$). There was no significant difference of the expression of CXCR4 protein among different histological types of pituitary adenomas ($P>0.05$). **Conclusion** High CXCR4 protein expression is associated with the invasiveness of pituitary adenomas, suggesting that the expression of CXCR4 may have a value to assess the invasive pituitary adenomas.

Key words: CXCR4; pituitary adenoma; invasiveness

研究表明,许多趋化因子及其受体与肿瘤的恶性表现密切相关,尤其是趋化因子受体 CXCR4 及其配体 SDF-1(stromal cell-derived factor 1)相互作用构成的反应轴备受关注[1~3]。已有研究表明[4~6],许多肿瘤细胞如白血病细胞、肺癌细胞、卵巢癌细胞等均有 CXCR4 的表达,它们不仅在肿瘤细胞的迁移中起着一定的作用,而且与肿瘤的发生、肿瘤细胞的增殖与分化等有密切关系,并认为 CXCR4 可能成为肿瘤治疗的一个新靶点。垂体腺瘤起源于垂体前叶细胞,对于垂体腺瘤细胞是否有 CXCR4 表达,其表达与垂体腺瘤的侵袭性有无关联,目前少见相关报道。本研究采用免疫组化的方法研究垂体腺瘤中趋化因子受体 CXCR4 表达情况,及其与垂体腺瘤侵袭性和组织类型的内在关系,

作者简介:黄绍崧(1971-),男,福建省永泰县人,硕士研究生,主治医师,主要从事垂体腺瘤侵袭性发病机制方面的研究。电话:(023)60753363
通讯作者:杨 辉,电话:(023)68755610
卞修武,电话:(023)68752247
收稿日期:2005-07-25;修回日期:2005-09-09

以期为寻找对侵袭性腺瘤采取综合治疗措施提供依据。

1 材料与方法

1.1 组织标本

78 例垂体腺瘤石蜡标本选自第三军医大学西南医院病理科 2000 年 1 月至 2004 年 7 月存档的经手术切除的石蜡包埋组织。其中男性 40 例，平均年龄 42.3 岁(13～76 岁)；女性 38 例，平均年龄 38.1 岁(15～55) 岁。病程 1.5 个月至 12 年，平均 28.6 个月。5 例正常垂体组织选自同期同年龄组非垂体腺疾病患者尸检标本作为对照。所有蜡块连续切片，厚度 5 μm，贴于涂有多聚类氨酸防脱片胶的载玻片，烤片后备用。

1.2 垂体腺瘤分型

主要依照 Knosp 等[7] 的影像学标准并参考任祖渊[8] 所述判定标准，结合对术中情况回顾，将肿瘤分为侵袭性组(43 例)和非侵袭性组(35 例)。根据有无分泌功能分类：生长激素型(GH) 15 例，泌乳激素型(PRL) 19 例，促肾上腺皮质激素型(ACTH) 6 例，促甲状腺激素型(TSH) 3 例，促卵泡激素型(FSH) 1 例和 34 例非功能性垂体腺瘤(non-secretory adenomas)。

1.3 主要试剂

一抗鼠抗人 CXCR4 单克隆抗体来自美国 Sigma-Aldrich 公司。SABC 试剂盒购自博士德生物试剂公司，DAB 来自美国 DAKO 公司。

1.4 免疫细胞化学检测 CXCR4 蛋白表达

采用 SABC 三步法染色。所有组织切片随机编号后，常规脱蜡至水，磷酸缓冲液 PBS 中放置 15 min。浸泡于 0.01 mol/L 柠檬酸缓冲液(pH 6.0) 中，置微波炉内煮沸 20 min 以修复抗原，3 % 过氧化氢甲醇液封闭 10 min，正常山羊血清孵育 20 min，加一抗 CXCR4 (1/1 000) 4 ℃孵育，湿化盒中过夜，滴加生物素化二抗，37 ℃孵育 40 min ，滴加试剂 SABC，37 ℃ 20 min，DAB 显色 5～10 min，置于图像分析仪中进行观察、检测。

阴性对照实验：用 0.01 mol/L PBS 代替一抗进行，其它步骤不变。

1.5 结果判定

CXCR4 阳性染色标准：瘤细胞胞膜和胞质呈棕黄色染色者为阳性。应用美国 Tiger920 细胞图像分析仪进行定量处理。取固定检测光源强度，每张切片随机选取 3 个高倍视野(×400) ，每个视野总测量面积为 2.965 8 ×104 μm^2，分别测得这 3 个视野的积分光密度(integral optical density，IOD) 值后取其平均值。

1.6 统计学分析

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 包统计分析软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 CXCR4 在侵袭性与非侵袭性垂体腺瘤中的表达

CXCR4 蛋白阳性染色为棕黄色染色，定位于细胞质及细胞膜中，在侵袭性垂体腺瘤组中显著高表达(图 1A)，在非侵袭性腺瘤组及正常垂体组织中也有一定表达(图 1B)，CXCR4 表达水平侵袭性垂体腺瘤组较非侵袭性组有明显的增高($P < 0.01$)，非侵袭性垂体腺瘤中的表达水平与正常垂体组织相比较亦有显著统计学意义($P < 0.05$)，见表 1。

表 1 侵袭性和非侵袭性腺瘤组 CXCR4 表达的比较(IOD，$\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of the CXCR4 expression between invasive and non-invasive adenoma groups (IOD，$\bar{x} \pm s$)

Groups	n	IOD
Invasive adenomas	43	8 122.89 ± 705.79★
Non-invasive adenomas	35	5 543.55 ± 1 051.47◆
Normal pituitary tissue	5	4 450.02 ± 473.74

★：$P < 0.01$，*vs* noninvasive adenomas；◆：$P < 0.05$，*vs* normal pituitary tissue

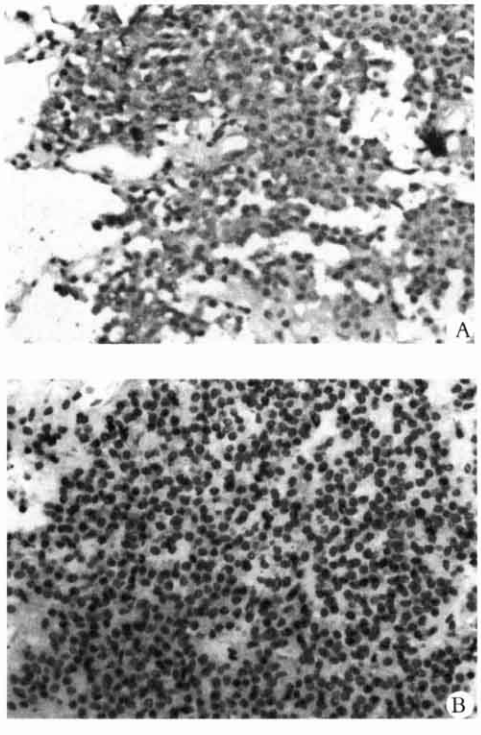
2.2 CXCR4 在不同组织类型垂体腺瘤中的表达

CXCR4 在不同组织类型垂体腺瘤中均有阳性表达，但表达强度无明显差别($P > 0.05$)，见表 2。

表 2 不同组织类型垂体腺瘤 CXCR4 表达的比较(IOD，$\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of the CXCR4 expression in different histological types of pituitary adenoma groups (IOD，$\bar{x} \pm s$)

Histological type	n	IOD
GH adenomas	15	6 980.54 ± 1 742.89
PRL adenomas	19	7 354.23 ± 1 456.22
ACTH adenomas	6	6 529.49 ± 1 672.25
TSH adenomas	3	7 542.35 ± 1 861.15
FSH adenomas	1	7 006.33
Non-secretory adenomas	34	6 766.47 ± 1 546.37



A：Invasive adenomas；B：Non-invasive adenomas

图 1 垂体腺瘤 CXCR4 抗体免疫组化染色 (SABC ×400)

Fig 1 Immunohistochemical staining of pituitary adenomas using CXCR4 antibody (SABC ×400)

3　讨论

CXCR4 作为 HIV 入侵机体的协同受体，1996 年由 Yu feng 等首先克隆出来，对于 SDF-1/CXCR4 信号系统的研究主要集中在免疫系统，研究表明它在造血干细胞归巢、淋巴细胞迁移和 HIV 感染等方面发挥着重要作用[9]。近年来研究表明，某些肿瘤细胞可以局限性地表达一些趋化因子和趋化因子受体如 IL-8、MCP-1、CXCR4 和 CCR7 等，为趋化因子及其受体参与肿瘤细胞侵袭和转移提供了直接或间接的证据[10~12]。Muller 等[11]研究发现，乳腺肿瘤细胞较正常乳腺细胞 CXCR4 表达明显增高，其特异性配体 CXCR4（SDF-1α）与乳腺肿瘤细胞 CXCR4 结合后，可转导调节肌动蛋白聚合和伪足形成的信号，从而导致肿瘤细胞趋化和侵袭，而功能性阻断这一受体可以抑制肿瘤的转移。他们的研究结果显示趋化因子信号途径在乳腺癌转移中的重要作用。Sehgal 等[13]报道 CXCR4 在脑恶性胶质瘤细胞中过表达，抑制瘤细胞 CXCR4 表达，可显著抑制瘤细胞的增殖，因此，认为 CXCR4 基因是人恶性胶质瘤细胞增殖所需要的。近年趋化因子受体 CXCR4 及其配体 SDF-1 相互作用形成的反应轴 SDF-1/CXCR4 在肿瘤细胞侵袭及转移中的作用越来越受到人们的关注，并由此推断认为一些不同的肿瘤细胞亦可能通过 SDF-1/CXCR4 途径介导它们的转移[14]。除此之外，越来越多的研究表明 CXCR4 与肿瘤细胞的增殖和分化等恶性表现也有重要关联。Bertolini 等[5]研究发现，用 CXCR4 单克隆抗体中和非霍奇金淋巴瘤细胞的 CXCR4，可促进瘤细胞凋亡，减弱瘤细胞的增殖，同时还抑制瘤细胞经内皮和基质的迁移，认为中和 CXCR4 可作为非霍奇金淋巴瘤临床治疗的一个重要途径，表明 CXCR4 在肿瘤细胞增殖分化中的作用也不容忽视。Tecimer 等[15]研究发现 CXCR2 在神经内分泌细胞及肿瘤中均有表达，并认为其与内分泌功能及肿瘤形成有一定关系。

侵袭性垂体腺瘤与一般垂体腺瘤相比，其特点有：①以年轻患者多见，但也有报道认为其与年龄无明显相关性。②常累及颅神经，侵蚀邻近硬膜并包绕颈内动脉，肿瘤卒中的发生率高。③临床症状进展快，尤其是视力视野改变往往迅速而且严重，这与肿瘤增长迅速有关。④手术全切除困难，术后需要结合放疗和药物治疗；术后复发率高，复发时间相对较短。许多研究表明，术后复发与肿瘤的侵袭性行为显著相关。⑤影像学检查多见骨质破坏。对于其发病机制尚未有明确的定论。鉴于其与恶性肿瘤有许多相似的特性，对其发病机制及治疗方面的研究也多借鉴恶性肿瘤相类似的方法。本实验用免疫组化的方法初步探讨 CXCR4 在垂体腺瘤中的表达及其与侵袭性之间的关系，结果显示：①侵袭性垂体腺瘤组的 CXCR4 表达较非侵袭性垂体腺瘤组有显著的增高（$P<0.01$）；②非侵袭性垂体腺瘤 CXCR4 的表达较正常垂体组织也有明显增高（$P<0.05$）；③CXCR4 的表达与垂体腺瘤的组织类型无明显差异。这些结果显示，CXCR4 表达与垂体腺瘤侵袭性关系密切，提示 SDF-1α/CXCR4 的相互作用与肿瘤细胞迁移、侵袭等有关，这可能是 CXCR4/SDF-1α 的相互作用激发了细胞内信号传导，导致下游效应分子的聚集，使细胞内骨架蛋白重排，从而诱导了细胞的趋化迁移，并进而形成了肿瘤侵袭的特性。同时，趋化因子具有诱导血管生成的作用，这可能也与垂体腺瘤的侵袭性有关。本研究初步提示了 CXCR4 可能是侵袭性垂体腺瘤发病机制的一个重要原因。由于垂体腺瘤细胞的原代分离、培养十分困难，对于 CXCR4 与侵袭性垂体腺瘤的关系及其作用机制还有待进一步研究。

通过本研究的结果，不仅让我们能够从趋化因子受体的角度认识侵袭性垂体腺瘤形成的可能机制，而且有望对于制定以趋化因子受体为靶点的针对侵袭性垂体腺瘤的综合治疗提供参考。

参考文献：

[1] Schrader A J, Lechner O, Templin M, *et al*. CXCR4/CXCL12 expression and signalling in kidney cancer[J]. Br J Cancer, 2002, 86(8): 1250 - 1256.

[2] Payne A S, Cornelius L A. The role of chemokines in melanoma tumor growth and metastasis[J]. J Invest Dermatol, 2002, 118(6): 915 - 922.

[3] Libura J, Drukala J, Majka M, *et al*. CXCR4-SDF-1 signaling is active in rhabdomyosarcoma cells and regulates locomotion, chemotaxis, and adhesion[J]. Blood, 2002, 100(7): 2597 - 2606.

[4] Kijima T, Maulik G, Ma P C, *et al*. Regulation of cellular proliferation, cytoskeletal function, and signal transduction through CXCR4 and c-Kit in small cell lung cancer cells[J]. Cancer Res, 2002, 62(21): 6304 - 6311.

[5] Bertolini F, Dell' Agnola C, Mancuso P, *et al*. CXCR4 neutralization, a novel therapeutic approach for non-Hodgkin's lymphoma[J]. Cancer Res, 2002, 62(11): 3106 - 3122.

[6] Shibuta K, Mori M, Shimoda K, *et al*. Regional expression of CXCL12/CXCR4 in liver and hepatocellular carcinoma and cell-cycle variation during *in vitro* differentiation[J]. Jpn J Cancer Res, 2002, 93(7): 789 - 797.

[7] Knosp E, Steiner E, Kitz K, *et al*. Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings[J]. Neurosurgery, 1993, 33(4): 610 - 618.

[8] 任祖渊. 侵袭性垂体腺瘤的研究现状及展望[J]. 中华神经外科杂志, 2000, 16(增刊): 112 - 115.

[9] Kim C H, Broxmeyer H E. SLC/exodus2/6Ckine/TCA4 induces chemotaxis of hematopoietic progenitor cells: differential activity of ligands of CCR7, CXCR3, or CXCR4 in chemotaxis vs. suppression of progenitor proliferation[J]. J Leukoc Biol, 1999, 66(3): 455-461.

[10] Ohta M, Kitadai Y, Tanaka S, *et al*. Monocyte chemoattractant protein-1 expression correlates with macrophage infiltration and tumor vascularity in human esophageal squamous cell carcinomas[J]. Int J Cancer, 2002, 102(3): 220-224.

[11] Muller A, Homey B, Soto H, *et al*. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. Nature, 2001, 410(6824): 50-56.

[12] Liotta L A. An attractive force in metastasis [J]. Nature, 2001, 410(6824): 24-25.

[13] Sehgal A, Keener C, Boynton A L, *et al*. CXCR-4, a chemokine receptor, is overexpressed in and required for proliferation of glioblastoma tumor cells [J]. J Surg Oncol, 1998, 69(2): 99-104.

[14] Murphy P M. Chemokines and the molecular basis of cancer metastasis[J]. N Engl J Med, 2001, 345(11): 833-835.

[15] Tecimer T, Dlott J, Chuntharapai A, *et al*. Expression of the chemokine receptor CXCR2 in normal and neoplastic neuroendocrine cells [J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(4): 520-525.

(编辑 陈聪连)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2005)20-2066-01

肾癌合并下腔静脉巨大癌栓1例

A case report of renal cell carcinoma with large vena cava tumor thrombi

刘 京,刘 宏,吴雄飞 (第三军医大学西南医院全军泌尿外科中心肾科,重庆 400038)

患者,男性,56岁,因发现右肋下包块2个月入院。专科查体:右肋下包块约60 mm×55 mm,质硬,无明显压痛,活动度差,随呼吸上下移动。肝、肾功、血常规、凝血功能等常规检验结果均正常。KUB+IVP见双肾功能正常,右肾集合系统中下部有压迫。彩超、CT及增强等影像学检查见右肾下极可见95 mm×86 mm的不均质占位,肝门处下腔静脉内径达到4.6 cm,自右肾静脉入口平面以上下腔静脉内有长达9 cm的癌栓形成。在全麻下行右肾癌根治术+下腔静脉癌栓取出术,术后恢复良好,病理报告为右肾透明细胞癌伴下腔静脉癌栓形成。行生物治疗1个疗程后出院,术后随访8个月无复发、转移。

讨论

肾细胞癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤,在同期的肾癌患者中,约3%~10%可发生下腔静脉癌栓[1,2],其中0.3%~1.0%的癌栓可扩张至右心房。CT对肾静脉和下腔静脉癌栓的诊断准确率高达90%,但MRI在显示癌栓及判断有无肿大淋巴结方面优于CT。一般认为,无远处转移和/或淋巴转移的合并下腔静脉癌栓的肾癌是有可能通过手术治愈。肾癌根治术是手术的前提,然后根据癌栓的长度、分型、有无浸润、梗阻程度、侧支循环的建立情况决定对下腔静脉癌栓处腔静脉的处理[3],而且肾癌的预后与下腔静脉癌栓的长度及延伸水平无关,主要取决于是否有远处转移或淋巴转移,与TNM分期有关。单纯的肾癌合并下腔静脉癌栓术后5年生存率为47%~68%,癌栓有无血管壁浸润,是否完全取尽对其预后也有影响。本例患者癌栓长达9 cm,达到肝内。但癌栓为非浸润性生长、质韧、不易脱落,对侧侧支循环建立良好,遂采取肝移植技术[4]行癌栓取出术是安全、可靠的。如果下腔静脉癌栓质脆易脱落,就需要体外循环技术[5]支持或安置临时下腔静脉过滤器[6]。

总之,对合并下腔静脉癌栓的肾癌患者,应尽早明确诊断,了解癌栓的长度、部位、大小、梗阻程度、有无浸润血管壁、有无远处转移或淋巴转移。对没有远处转移和/或淋巴转移的肾癌合并腔静脉癌栓患者,应及早手术、取尽癌栓,尽量提高患者的生存率

关键词:肾细胞癌;下腔静脉癌栓
中图法分类号:R730.6;R737.11 文献标识码:B

参考文献:

[1] Li M K, Yip S K, Cheng W S. Inferior vena cava thrombectomy for renal cell carcinoma with thrombus [J]. Ann Acad Med Singapore, 1999, 28(4): 508-511.

[2] 程四国,葛 红,范小玲,等.肾癌并下腔静脉癌栓7例分析[J].郑州大学学报(医学版),2004,39(2):357-358.

[2] Brand F, Soulie M, Soual P, *et al*. Renal adenocarcinoma with retrohepatic vena cava thrombus: role of extracorporeal circulation in a retrospective series of 10 case [J]. Prog Urol, 1999, 9(4): 642-648.

[3] Gallucci M, Borzomati D, Flammia G, *et al*. Liver harvesting surgical technique for the treatment of retro-hepatic caval thrombosis concomitant to renal cell carcinoma: perioperative and long-term results in 15 patients without mortality [J]. Eur Urol, 2004, 45(2): 194-202.

[4] Kuczyk M A, Munch T, Machtens S, *et al*. The impact of extracorporeal circulation on therapy-related mortality and long-term survival of patients with renal cell cancer and intracaval neoplastic extension [J]. World J Urol, 2002, 20(4): 227-231.

[5] Wellons E, Rosenthal D, Schoborg T, *et al*. Renal cell carcinoma invading the inferior vena cava: use of a "temporary" vena cava filter to prevent tumor emboli during nephrectomy [J]? Urology, 2004, 63(2): 380-382.

(编辑 陈聪连)

作者简介:刘 京(1976-),男,重庆市人,硕士,医师,主要从事肾移植方面的研究。电话:(023)68765836

收稿日期:2005-03-28;修回日期:2005-05-10