论著

文章编号:1000-5404(2010)12-1316-05

SDF-1/CXCR4 对喉癌细胞归巢的作用

张园园[1],胡国华[2],袁 琨[1],但 洋[3] (430030 武汉,武汉市中心医院耳鼻咽喉科[1];400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科[2];430060 武汉,武汉市第三医院整形科[3])

[摘要] **目的** 在体外探讨血管内皮生长因子C(vascular endothelial growth factor C,VEGF-C)、趋化因子受体(Cys-X-Cys receptor 4,CXCR4)及其配体基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor 1,SDF-1)在喉癌Hep-2细胞株中的表达及其在喉癌细胞归巢中的作用。**方法** ①分别用RT-PCR及Western blot检测喉癌Hep-2细胞株中CXCR4 mRNA和蛋白的表达和重组人SDF-1与CXCR4特异性拮抗剂(AMD3100)作用前后喉癌Hep-2细胞株中VEGF-C mRNA和蛋白表达水平的变化;②用甲基噻唑基四唑(MTT比色法)测定不同浓度重组人SDF-1以及AMD3100作用前后Hep-2细胞增殖率的变化;③Transwell小室迁移及体外侵袭实验检测不同浓度重组人SDF-1以及AMD3100对Hep-2细胞趋化活性的影响。**结果** ①在mRNA以及蛋白水平,CXCR4及VEGF-C在Hep-2细胞株中均有高表达,在不同浓度重组人SDF-1(1、10、100 ng/ml)作用Hep-2细胞株24 h后,VEGF-C的表达明显上调,且有明显的剂量依赖性,并能被1 μg/ml的CXCR4的特异性拮抗剂AMD3100阻断;②与对照组(未处理的Hep-2细胞)和10 ng/ml SDF-1组比较,100 ng/ml SDF-1组有明显促进喉癌细胞增殖的作用($P<0.05$),并能被1 μg/ml的AMD3100阻断;③与对照组和10 ng/ml SDF-1组比较,100 ng/ml SDF-1组同样有明显的促喉癌细胞迁移和侵袭的作用($P<0.05$),同样也能被1 μg/ml的AMD3100所阻断。**结论** SDF-1/CXCR4生物轴与VEGF-C协同促进喉癌细胞归巢,可作为干预喉癌淋巴转移的新手段。

[关键词] 细胞系,肿瘤;喉肿瘤;血管内皮生长因子-C;受体,CXCR4;趋化因子CXCL12

[中图法分类号] R73-37;R739.65;R394-33 **[文献标志码]** A

Effect of SDF-1/CXCR4 axis to homing of laryngeal carcinoma cell Hep-2

Zhang Yuanyuan[1], Hu Guohua[2], Yuan Kun[1], Dan Yang[3] ([1]Department of Otolaryngology, Central Hospital of Wuhan, Wuhan, Hubei Province, 430030; [2]Department of Otolaryngology, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, 400016; [3]Department of Plastic Surgery, Third Hospital of Wuhan, Wuhan, Hubei Province, 430060, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the *in vitro* expressions of chamotatic factor CXCL12 [also known as stromal cell-derived factor 1 (SDF-1)], the receptor of the factor, Cys-X-Cys receptor 4 (CXCR4) and vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) in human laryngeal carcinoma cell line Hep-2 and their roles in the homing of laryngeal carcinoma. **Methods** The expressions of CXCR4 mRNA and protein in Hep-2 cells was detected by RT-PCR and Western blotting, the expression of VEGF-C also was evaluated before and after incubated with SDF-1 (1, 10, 100 ng/ml) or the antagonist of CXCR4 AMD3100. Methythiazolyltetrazolium (MTT) assay was used to analyze the effect of different concentrations of SDF-1 on the proliferation of Hep-2 cells. Transwell invasion chamber and matrigel were used to evaluate the effect of various concentrations of SDF-1 and AMD3100 on the migration and invasion of Hep-2 cells. **Results** 1) The CXCR4 and VEGF-C were both overexpressed at mRNA and protein level in Hep-2 cells, and the expression of VEGF-C in Hep-2 cells was up-regulated with a concentration-dependent model, which was inhibited by CXCR4 antagonist ($P<0.05$). 2) SDF-1 (100 ng/ml) significantly enhanced the proliferation of Hep-2 cells compared with the control and 10 ng/ml SDF-1 groups (24 h: 0.585 ± 0.051 *vs* 0.425 ± 0.045 and 0.428 ± 0.039, $P<0.05$; 48 h: 0.631 ± 0.062 *vs* 0.497 ± 0.067 and 0.532 ± 0.039, $P<0.01$). This enhancing effect of SDF-1 was significantly inhibited by 1 μg/ml AMD3100. 3) The levels of migration and invasion of the Hep-2 cells treated with 100 ng/ml SDF-1 were significantly higher than those in the control and 10 ng/ml SDF-1 (migration: 286.7 ± 24.7 *vs* 48.0 ± 7.2 and 147.7 ± 37.0; invasion: 40.5 ± 4.5 *vs* 4.0 ± 1.0 and 17.7 ± 2.0, $P<0.05$), and was strongly inhibited by 1 μg/ml AMD3100. **Conclusion** SDF-1/CXCR4 can in coordination with VEGF-C

[基金项目] 重庆市卫生局科研基金(2007-2-070);重庆市卫生局重点项目(2008-1-16)

[通信作者] 胡国华,电话:(023)89011232,E-mail:hghcq@sina.com

promote homing of laryngeal carcinoma cell line Hep-2, and may be a new pathway to prevent laryngeal carcinoma lymph node metastasis.

[**Key words**] cell line, tumor; laryngeal neoplasms; vascular endothelial growth factor C; receptors, CXCR4; chemokine CXCL12

Supported by the Foundation for Scientific Research of Chongqing Municipal of Health Bureau (2007-2-070, 2008-1-16). Corresponding author: Hu Guohua, Tel: 86-23-89011232, E-mail: hghcq@sina.com

喉癌是一种以淋巴道转移为主的恶性肿瘤,对于其淋巴结转移相关机制的研究一直是一个热点,但确切机制目前尚不完全清楚。近年来发现趋化因子 CXCL12 即配体基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor 1,SDF-1),与其趋化因子受体(Cys-X-Cys receptor 4,CXCR4)能够促进多种肿瘤细胞增生、迁移、抗凋亡以及远处转移,与肿瘤的趋向性侵袭、转移及预后密切相关,并被国际抗癌协会认为是目前最有效的抗癌药物靶点之一[1]。但 SDF-1/CXCR4 在喉癌淋巴转移中的作用尚需进一步探明。本研究通过检测喉癌 Hep-2 细胞株中趋化因子受体 CXCR4 的表达,初步探讨其与血管内皮生长因子-C(vascular endothelial growth factor C,VEGF-C)之间的相互作用,并对 SDF-1/CXCR4 作用下的喉癌细胞增生、侵袭及趋化活性进行相应分析,以期为 SDF-1/CXCR4 诱导喉癌细胞特异性的淋巴转移提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞培养与主要试剂

人喉鳞状细胞癌细胞株 Hep-2(上海细胞所)培养于 10% 胎牛血清培养液中,选用对数生长期细胞进行研究。细胞培养基(RPMI1640,美国 GIBCO 公司),胎牛血清(杭州四季青公司)。MMLV 逆转录酶试剂盒(Gibco-BRL USA,晶美生物有限公司),RT-PCR 试剂盒(TaKaRa 公司),CXCR4 cDNA、VEGF-C cDNA、GAPDH 序列引物由(TaKaRa 公司)合成。Matrigel 胶(美国 Sigma 公司),重组人 SDF-1(美国 Pepro Tech 公司,Catalog number:300-28A)-20 ℃保存,兔抗人 VEGF-C 多克隆抗体(Zymed 公司,USA),兔抗人 CXCR4 多克隆抗体(eBioscience Catalog Number:14-6009)。

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR 检测喉癌 Hep-2 细胞中 CXCR4 mRNA 的表达以及 CXCR4/SDF-1 对 VEGF-C 的作用 将细胞分成 4 组:100 ng/ml SDF-1 组、100 ng/ml SDF-1 + 1 μg/ml AMD3100 组(预先用 1 μg/ml CXCR4 特异性拮抗剂 AMD3100 孵育 2 h 后再加入 100 ng/ml 重组人 SDF-1)、1 μg/ml AMD3100 组、对照组(不加任何药物刺激的 Hep-2 细胞)。提取各组总 RNA,逆转录合成 cDNA,扩增出 CXCR4 及 VEGF-C,以 GAPDH 为内对照。AMD3100 是 CXCR4 的特异性拮抗剂,1 μg/ml 的浓度是其阻止 HIV 进入细胞的最佳浓度[2],因此我们选用 1 μg/ml AMD3100 作为干预浓度。根据 GenBank 中 VEGF-C、CXCR4 的基因序列设计引物扩增如下:VEGF-C 正义链,5′-CTTCTTCTCTGTGGCGTGTTCT-3′,反义链,5′-GTCTCTTCTGTCCTTGAGTTGAGG-3′;CXCR4 正义链,5′-CTATGCAAGGCAGTCCATGT-3′,反义链,5′-CAATACCAGGCAGGATAAGG-3′;GAPDH 正义链,5′-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3′,反义链,5′-TCCACCACCCTG TTGCTGTA-3′。扩增片段大小分别为:GAPDH,450 bp;CXCR4,282 bp;VEGF-C,303 bp。电泳后以凝胶成像系统成像。

1.2.2 Western blot 分析 Hep-2 细胞中 CXCR4 蛋白表达以及 CXCR4/SDF-1 对 VEGF-C 的蛋白表达影响 分组方法同上。参照说明书提取蛋白、电泳、转膜、封闭,在对照组中加入 CXCR4 兔抗人单克隆抗体(1∶500),在各处理组样品中加入兔抗 VEGF-C 多克隆抗体(1∶25),再加入相应的二抗(1∶1 000),增强化学发光系统显色,实验独立重复 3 次。

1.2.3 MTT 法测重组人 SDF-1 对喉癌 Hep-2 细胞增殖能力的影响 用低血清(5% 胎牛血清)培养的细胞悬液按 1×10^4/200 μl 将细胞加入 96 孔板,设置 6 组:对照组(不加任何药物刺激的 Hep-2 细胞),1、10、100 ng/ml SDF-1 组,1 μg/ml AMD3100 + 100 ng/ml SDF-1 组(1 μg/ml CXCR4 拮抗剂 AMD3100 作用 Hep-2 细胞 30 min 后加入 100 ng/ml SDF-1),1 μg/ml AMD3100 组。孵育 24、48 h 后,每孔加入 20 μl MTT 溶液(5 mg/m1),37 ℃继续孵育 4 h,弃上清。每孔加入 200 μl DMSO,震荡 10 min,在酶联免疫检测仪上,570 nm 波长处测定各孔光密度值。

1.2.4 SDF-1 对 Hep-2 细胞的体外迁徙及迁徙抑制实验 将 Hep-2 细胞用低血清培养液制成单细胞悬液,参照文献[3]的方法,以每孔 2×10^5 个接种于 Transwell 小室(24 mm 周径,8 μm 孔径)的上室。按上述实验分组,分别将实验组 1、3、4、5、6 组的细胞 2×10^5 个加入下室。均为 3 复孔,于 37 ℃含 5% CO_2 孵箱中孵育 18 h,以 PBS 棉签拭去小室内膜面的细胞,95% 的乙醇固定,HE 染色,中性树胶封片,光镜下拍照并计数至少 5 个视野(×200 倍)的细胞数,表示肿瘤细胞的迁移能力变化。

1.2.5 SDF-1 对 Hep-2 细胞的体外侵袭实验 用无血清培养液将 Matrigel 稀释为 10 mg/L,将稀释好的 Matrigel 铺在 Transwell 小室的上室内,无菌台内自然风干。将上述实验分组分别加入下室,均为 3 复孔,于 37 ℃、5% CO_2 及饱合湿度环境下培养 36 h,取出 Transwell 小室,用棉签将上室细胞轻轻擦除,95% 酒精固定下室已侵袭的细胞 30 min,HE 染色,中性树胶封片。光镜下拍照并随机计数 5 个视野(×200)中的细胞,表示肿瘤细胞的侵袭力的变化。

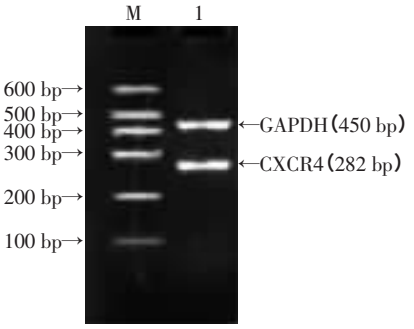
1.3 统计学方法

以上所有结果均采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,统计资料均采用多个样本均数间的多重比较的方差分析。

2 结果

2.1 Hep-2 细胞中 CXCR4 的表达

Hep-2 细胞中 CXCR4 mRNA 的表达水平为(0.70 ± 0.10),CXCR4 蛋白呈强阳性表达(0.84 ± 0.07)。见图 1、2。



M:标准;1:Hep-2 细胞株

图1 RT-PCR 检测 Hep-2 细胞 CXCR4 mRNA 的表达

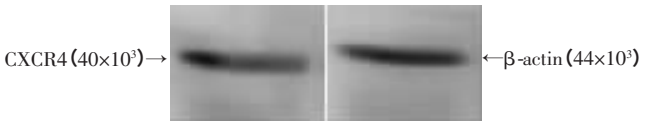
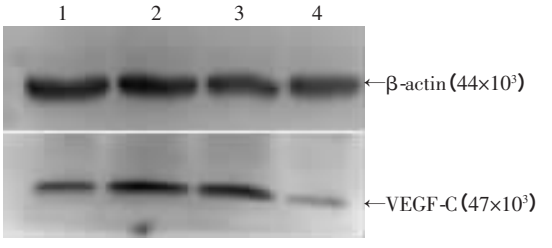


图2 Western blot 检测 Hep-2 细胞 CXCR4 蛋白的表达

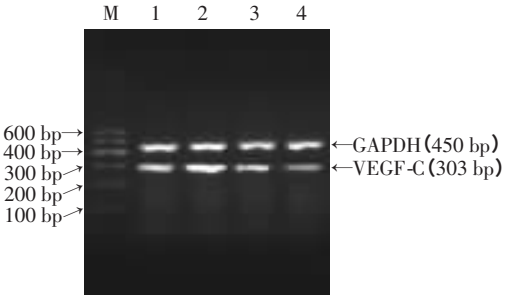
2.2 SDF-1 作用前后 Hep-2 细胞中 VEGF-C mRNA 和蛋白的表达

由图3、4可见,与对照组(0.85±0.03,0.66±0.08)比较,用100 ng/ml 重组人 SDF-1 处理 Hep-2 细胞 24 h 后,VEGF-C 蛋白及 mRNA 的表达明显增高(1.82±0.16, 1.68±0.10, $P<0.05$)。用 1 μg/ml 的 CXCR4 的特异性受体抑制剂 AMD3100 处理细胞后,VEGF-C 蛋白及 mRNA 的表达明显受抑制(0.29±0.02,0.37±0.06, $P<0.05$)。



1:对照组;2:100 ng/ml SDF-1;3:100 ng/ml SDF-1 + 1 μg/ml AMD3100;4:1 μg/ml AMD3100

图3 Western blot 检测 SDF-1 与 AMD3100 作用后各组细胞中 VEGF-C 蛋白的表达



M:标准;1:对照组;2:100 ng/ml SDF-1;3:100 ng/ml SDF-1 + 1 μg/ml AMD3100;4:1 μg/ml AMD3100

图4 RT-PCR 检测 SDF-1、AMD3100 作用后各组细胞中 VEGF-C mRNA 的表达

2.3 SDF-1/CXCR4 信号轴对 Hep-2 细胞增殖能力的影响

在低血清条件下培养 24 h 后,Hep-2 细胞增殖能力对照组与1、10 ng/ml SDF-1 组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);100 ng/ml SDF-1 组分别与对照组,1、10 ng/ml SDF-1 组比较细胞增殖能力均明显增强($P<0.05$)。但 100 ng/ml SDF-1 + 1 μg/ml AMD3100 组与 100 ng/ml SDF-1 组比较,其增殖作用则明显被抑制($P<0.05$);1 μg/ml AMD3100 组与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。培养 48 h 后,100 ng/ml SDF-1 组与对照组比较,增殖作用明显增强($P=0.000\,1$);而 100 ng/ml SDF-1 + 1 μg/ml AMD3100 组与 100 ng/ml SDF-1 组比较,增殖作用明显被抑制($P=0.000\,1$)。见表1。

表1 CXCR4/SDF-1 作用前后 Hep-2 细胞增殖力的变化[$D(570)$, $\bar{x}\pm s$]

组别	24 h	48 h
对照组	0.425±0.045[a]	0.497±0.067[b]
1 ng/ml SDF-1 组	0.426±0.028[a]	0.501±0.018[b]
10 ng/ml SDF-1 组	0.428±0.039[a]	0.532±0.039[b]
100 ng/ml SDF-1 组	0.585±0.051	0.631±0.062
100 ng/ml SDF-1 + 1 μg/ml AMD3100 组	0.414±0.068[a]	0.512±0.027[b]
1 μg/ml AMD3100 组	0.301±0.005[a]	0.346±0.057[b]

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 100 ng/ml SDF-1 组比较

2.4 SDF-1/CXCR4 信号轴对 Hep-2 细胞迁移能力的影响

发生迁移的 Hep-2 细胞数,对照组与1、10 ng/ml SDF-1 组比较均有显著差异($P<0.05$)。100 ng/ml SDF-1 组与对照组,1、10 ng/ml SDF-1 组比较均明显增多($P=0.000\,1$)。100 ng/ml SDF-1 + 1 μg/ml AMD3100 组、1 μg/ml AMD3100 组分别与 100 ng/ml SDF-1 组比较均明显被抑制($P<0.05$)。见表2。

表2 CXCR4/SDF-1 作用前后 Hep-2 细胞迁移及侵袭能力的变化($\bar{x}\pm s$)

组别	发生迁移的细胞数	发生侵袭的细胞数
对照组	48.0±7.2[b]	4.0±1.0[b]
1 ng/ml SDF-1 组	65.7±30.4[ab]	10.7±2.7[ab]
10 ng/ml SDF-1 组	147.7±37.0[ab]	17.7±2.0[ab]
100 ng/ml SDF-1 组	268.7±24.7	40.5±4.5
100 ng/ml SDF-1 + 1 μg/ml AMD3100 组	34.5±23.9[c]	7.5±2.0[c]
1 μg/ml AMD3100 组	30.0±7.2[c]	3.0±1.0[c]

a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.01$,c:$P<0.05$,与 100 ng/ml SDF-1 组比较

2.5 SDF-1/CXCR4 信号轴对 Hep-2 细胞侵袭能力的影响

穿过 Matrigel 的 Hep-2 细胞数,对照组与1、10 ng/ml SDF-1 组比较有显著差异($P<0.05$)。100 ng/ml SDF-1 组与对照组,1、10 ng/ml SDF-1 组比较均明显增多($P=0.000\,1$)。100 ng/ml SDF-1 + 1 μg/ml AMD3100 组、1 μg/ml AMD3100 组与 100 ng/ml SDF-1 组比较均明显被抑制($P<0.05$)。见表2。

3 讨论

喉癌的淋巴结转移一直是影响患者生存率的重要因素,但对其具体的转移机制了解甚少,直到 1996 年 Joukov 等[4]报道了 VEGF-C 可以选择性促进淋巴管增

生,增强淋巴管通透性,为肿瘤细胞的淋巴扩散提供有利条件,成为研究肿瘤转移新的切入点。最近,越来越多的研究证实 SDF-1/CXCR4 信号轴在恶性肿瘤的特异性转移中起到重要作用,已经成为一个新的恶性肿瘤的治疗靶点。转移是恶性肿瘤的重要生物学特征,不同肿瘤有不同的转移形式和好发部位。不同肿瘤组织的器官特异性转移方式首次由 Paget[5] 的"种子和土壤学说"提出,也就是"归巢"学说,他指出不同组织器官起源的肿瘤有其特定靶器官亲嗜性,如转移至局部淋巴结、骨髓、肺等。Muller 等[3] 在乳腺癌的研究中首次提出,乳腺癌的特异性转移与趋化因子受体配体对密切相关,淋巴结中的淋巴内皮细胞以及基质细胞能够分泌 SDF-1,它能与肿瘤细胞上的 CXCR4 受体相结合,促使肿瘤细胞向淋巴管移动,发生淋巴结的定向转移,且 CXCR4 拮抗剂能显著抑制乳腺癌动物模型的器官特异性转移。最近,CXCR4 被证明在多种肿瘤细胞中表达,且高表达 CXCR4 的肿瘤细胞,可能在 SDF-1 趋化、牵引下,逆浓度梯度归巢至作为配体产生源的某些器官,从而形成器官特异性的转移[6-8]。在胰腺癌[7] 等多种离体和动物试验中用小分子 CXCR4 抑制剂能够降低肿瘤的增殖与迁移能力。

本课题组已研究证实喉癌组织中的 CXCR4 与 VEGF-C 呈高表达,两者的表达呈显著正相关,而其转移灶淋巴结组织中则有 SDF-1 的高表达,三者均与喉癌淋巴结转移显著相关[9]。表明淋巴结中的 SDF-1 可能通过 CXCR4 直接作用于喉癌的颈淋巴结转移,且 SDF-1/CXCR4 与 VEGF-C 在喉癌淋巴结转移过程中起到协同作用。为进一步了解 SDF-1/CXCR4 在喉癌特异性淋巴结转移中的作用,本研究结果提示,在喉癌 Hep-2 细胞中,CXCR4 与 VEGF-C mRNA 及蛋白均呈高表达,这与前期对喉癌组织的研究[9] 以及孙梯业[10]、彭亦良等[11] 对胃癌和结肠癌的报道相近。在外源性 SDF-1 作用 Hep-2 细胞后,VEGF-C mRNA 及蛋白表达明显上调,且呈剂量依赖性。这与 JIANG 等[12] 对卵巢癌的报道一致,在 SDF-1 的作用下,卵巢癌细胞 VEGF-C 的表达上调,从而增强癌细胞侵袭、迁移和转移的能力,这些作用可被抗 CXCR4 单克隆抗体所抑制。体外实验[12,13] 表明 SDF-1/CXCR4 与 VEGF-C 能通过 PI3/Akt 和 MEK/ERK 途径相互调节,SDF-1/CXCR4 可促进 VEGF-C 的表达上调,反过来,VEGF-C 又能促进 SDF-1/CXCR4 的表达增加,从而形成一个正反馈环,加速肿瘤的转移。因此,我们认为,SDF-1/CXCR4 与 VEGF-C 之间存在交叉通路,其相互调节,协同作用介导并促进了喉癌的颈淋巴结转移,寻找两者的共同靶点可能是一种新的对付喉癌的途径。

在对基底细胞癌、前列腺癌、卵巢癌的研究中证实,SDF-1 能刺激低营养状态下的这些癌细胞的增殖及生存能力[14,15]。因为癌细胞在低血供的情况下很难增殖并发生器官转移,而 SDF-1 则能起到促进癌细胞增殖、生存并发生转移的能力。本研究发现,在低血清培养条件下 SDF-1 可以刺激 CXCR4 阳性表达的 Hep-2 细胞增殖,并被 CXCR4 特异性拮抗剂 AMD3100 所抑制,并且单纯 AMD3100 也能抑制其增殖。这与对结肠癌、卵巢癌的研究相似[16,17],但对胰腺癌、淋巴造血细胞等的研究[7,18] 发现 SDF-1 不能引起细胞增殖。我们认为,上述结果的不同在于细胞种类不同和细胞培养条件不同,并建议最好在无血清培养条件下进行。本研究通过 MTT 及侵袭实验发现重组人 SDF-1 能够对低血清培养条件下的 Hep-2 细胞的生存、增殖和转移起到刺激作用,这些效应能被 CXCR4 特异性拮抗剂 AMD3100 抑制,说明 SDF-1 对喉癌细胞的增殖的效应是通过 CXCR4 来介导实现的。

肿瘤的侵袭和转移是一个复杂的过程,其中肿瘤细胞穿透脉管基底膜和内皮细胞层是肿瘤细胞浸润转移到靶组织的重要过程。本研究通过 Transwell 小室及 Matrigel 侵袭模型对 Hep-2 细胞的趋化性及侵袭性研究显示 SDF-1 对 CXCR4 高表达的喉癌 Hep-2 细胞的迁移及侵袭作用呈明显剂量依赖性,且能被 CXCR4 特异性拮抗剂 AMD3100 所抑制。这与 Muller[3]、邱际华等[19] 对乳腺癌与鼻咽癌细胞的研究结果相似,肺、肝、淋巴结这些易发生转移的组织中由于 SDF-1 的高表达,引起乳腺癌细胞的嗜器官性趋化,即高表达 CXCR4 的肿瘤细胞,可能在 SDF-1 趋化、牵引下,逆浓度梯度转移至作为配体产生源的某些器官. 从而形成器官特异性的转移 。因此我们认为 SDF-1 能够直接促进 CXCR4 作用下的喉癌细胞发生迁移及侵袭,从而导致喉癌发生颈部淋巴结转移。

总之,我们初步的研究结果表明 SDF-1/CXCR4 生物轴在喉癌细胞的增殖、迁移、侵袭并归巢至相应淋巴结一系列级联过程中扮演了不容忽视的角色,并与 VEGF-C 协同直接促进喉癌细胞向淋巴结组织归巢,SDF-1/CXCR4 生物轴很可能与 VEGF-C 一起成为喉癌淋巴转移分子靶向治疗的一个重要靶点。进一步的临床与基础研究将为此提供更多的证据,并有助于评估其可行性。

参考文献:

[1] Broxterman H J, Georgopapadakou N H. Anticancer therapeutics: a surge of new developments increasingly target tumor and stroma[J]. Drug Resist Updat, 2007, 10(4/5): 182-193.

[2] Schols D, Struyf S, Van-Damme J, *et al*. Inhibition of T-tropic HIV strains by selective antagonization of the chemokine receptor CXCR4 [J]. J Exp Med, 1997, 186(8): 1383 - 1388.
[3] Muller A, Homey B, Soto H, *et al*. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. Nature, 2001, 410(6824): 50 - 56.
[4] Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, *et al*. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases[J]. EMBO J, 1996, 15(2): 290 - 298.
[5] Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast [J]. Lancet, 1889, 133(3421): 571 573.
[6] Lee H J, Kim S W, Kim H Y, *et al*. Chemokine receptor CXCR4 expression, function, and clinical implications in gastric cancer[J]. Int J Oncol, 2009, 34(2): 473 - 480.
[7] Saur D, Seidler B, Schneider G, *et al*. CXCR4 expression increases liver and lung metastasis in a mouse model of pancreatic cancer[J]. Gastroenterology, 2005, 129(4): 1237 - 1250.
[8] Zlotnik A. Chemokines and cancer[J]. Int J Cancer, 2006, 119(9): 2026 - 2029.
[9] 张园园, 胡国华, 李忠万, 等. SDF-1/CXCR4 与 VEGF-C 在喉癌中的表达及与淋巴结转移的关系[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34(5): 537 - 542.
[10] 孙梯业, 赵永亮, 颜伟, 等. CXCR4 在 VEGF-C 介导的胃癌淋巴道转移中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(2): 162 - 166.
[11] 彭亦良, 梁后杰, 高晋华, 等. CXCR4 和 VEGF-C 在结肠癌组织中的表达及与淋巴结转移之间的关系[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(4): 357 - 359.
[12] Jiang Y P, Wu X H, Xing H Y, *et al*. Role of CXCL12 in metastasis of human ovarian cancer[J]. Chin Med J (Engl), 2007, 120(14): 1251 - 1255.
[13] Zagzag D, Esencay M, Mendez O, *et al*. Hypoxia- and vascular endothelial growth factor-induced stromal cell-derived factor-1alpha/CXCR4 expression in glioblastomas: one plausible explanation of Scherer's structures[J]. Am J Pathol, 2008, 173(2): 545 - 560.
[14] Chen G S, Yu H S, Lan C C, *et al*. CXC chemokine receptor CXCR4 expression enhances tumorigenesis and angiogenesis of basal cell carcinoma[J]. Br J Dermatol, 2006, 154(5): 910 - 918.
[15] Zhang S, Qi L, Li M, *et al*. Chemokine CXCL12 and its receptor CXCR4 expression are associated with perineural invasion of prostate cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2008, 27: 62.
[16] Li J K, Yu L, Shen Y, *et al*. Inhibition of CXCR4 activity with AMD3100 decreases invasion of human colorectal cancer cells *in vitro* [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(15): 2308 - 2313.
[17] Kajiyama H, Shibata K, Terauchi M, *et al*. Involvement of SDF-1alpha/CXCR4 axis in the enhanced peritoneal metastasis of epithelial ovarian carcinoma[J]. Int J Cancer, 2008, 122(1): 91 - 99.
[18] 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.
[19] 邱际华, 刘求真, 陈丽, 等. CXCR4/SDF-1 对鼻咽癌细胞增殖与迁移能力的影响[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(7): 598 - 600.

(**收稿**:2009-11-23;**修回**:2010-01-27)
(编辑 王 红)

(上接1315页)

2 讨论

CT、MRI出现后,国际上将脑灰质异位症统一分为:①室管膜下HGM(Subependymal HGM,SEH,室旁结节型);②皮质下HGM(Subependymal HGM,SCH,板型或岛型);③带状HGM(Band HGM,BH,带型)。本例患者影像诊断为室管膜下HGM,其头颅MRI表现为大小不等的结节状异位灶紧贴侧脑室表面或突入侧脑室,这些异位灶可单发或多发,分布在一侧或两侧侧脑室周围[4]。异位灶本身及周围的白质组织均发育正常,故此类患者的运动和语言功能多无异常,没有或仅有轻微的智能障碍,但90%的结节状灰质异位患者可表现为癫痫[3]。癫痫发作类型多样,以强直-阵挛及复杂部分性发作多见。室管膜下HGM本院曾报道过2例青年起病,以复杂部分发作为主要表现的灰质异位个案。本例患者61岁起病,以癫痫为首发和唯一的临床表现,不伴智能障碍和神经功能缺失,国内外文献未见报道。临床上对于老年不明原因的癫痫患者需考虑到HGM的可能性。赵凯宇等[5]指出不典型灰质异位症CT诊断有一定局限性,头颅MRI是灰质异位症首选检查手段。但仍需与结节性硬化、肿瘤颅内播散相鉴别。无症状的皮质异位症患者一般无需治疗。药物治疗HGM所致癫痫,卡马西平常为首选[6]。罗智刚等[7]对于HGM所致的难治性癫痫,认为采用联合异位灰质切除、皮层灼热及同层颞前叶切除等术式的外科手术是有效的治疗方法。有研究[8]表明结节型HGM手术治疗较好,但手术长期疗效有待进一步观察。

参考文献:

[1] Kobayashi E, Bagshaw A P, Grova C, *et al*. Grey matter heterotopia: what EEG-fMRI can tell as about epileptogenicity of neuronal migration disorders[J]. Brain, 2006, 129(Pt2): 366 - 374.
[2] 李洪亮, 邵宝富, 郭慧琴, 等. 脑灰质异位症4例报告及临床分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2006, 5(1): 17 - 18.
[3] Guerrini R. Genetic malformations of the cerebral cortex and epilepsy [J]. Epilepsia, 2005, 46(Suppl 1): 32 - 37.
[4] 赵松耀, 周东, 范秉林, 等. 脑灰质异位症伴癫痫两例报告并文献分析[J]. 现代预防医学, 2007, (5): 985 - 986.
[5] 赵凯宇, 李晓红. 大脑灰质异位症的临床表现和影像学特征[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(12): 2031 - 2032.
[6] Lu J, Sheen V. Periventricular heterotopia [J]. Epilepsy Behavior, 2005, 7(2): 143 - 149.
[7] 罗智刚, 唐运林, 周连银, 等. 灰质异位所致癫痫的外科治疗[J]. 中华神经医学杂志, 2009, 8(1): 33 - 35.
[8] Luders H, Schuele S U. Epilepsy surgery in patients with malformations of cortical development[J]. Curr Opin Neurol, 2006, 19(2): 169 - 174.

(**收稿**:2010-03-29;**修回**:2010-05-06)
(编辑 汪勤俭)