论著

文章编号:1000-5404(2012)05-0406-03

粒细胞集落刺激因子及其受体在儿童肾母细胞瘤中的表达

张永波,何大维,何文飞,卞则栋,吴 鑫,易钦君,魏光辉 (400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院泌尿外科,儿童发育疾病研究省部共建教育部重点实验室,儿科学重庆市重点实验室,重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地)

[摘要] **目的** 检测粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor,G-CSF)及其受体(G-CSFR)在儿童肾母细胞瘤中的表达。**方法** 收集我院2009年1月至2011年6月确诊的肾母细胞瘤患者手术标本27例。应用免疫组织化学方法检测肿瘤标本的G-CSF、G-CSFR的表达和分布情况。**结果** 肾母细胞瘤标本中粒细胞集落刺激因子和其受体的表达率分别是62.96%、66.67%。其中,G-CSF和G-CSFR在同一样本中均阳性表达者16例(59.26%),均阴性表达者8例(29.63%)。G-CSF阳性和G-CSFR阴性表达1例(3.70%),G-CSF阴性和G-CSFR阳性表达2例(7.41%)。G-CSF和GCSFR的表达与性别、年龄、临床分期和病理分型均无相关性($P>0.05$)。**结论** G-CSF,G-CSFR在儿童肾母细胞瘤中高表达,无论性别、年龄、临床分期以及病理类型,均应检测肿瘤G-CSF、G-CSFR表达,对于G-CSFR阳性表达的患者,建议使用G-CSF时,应慎重考虑其对肿瘤的影响。

[关键词] 粒细胞集落刺激因子;粒细胞集落刺激因子受体;肾母细胞瘤
[中图法分类号] R392.11; R730.23; R737.11 [文献标志码] A

Expression of G-CSF and its receptor in children Wilm's tumor

Zhang Yongbo, He Dawei, He Wenfei, Bian Zedong, Wu Xin, Yi Qinjun, Wei Guanghui (Department of Urology, Key Laboratory of Child Development and Disorders Cofounded by Chongqing and Ministry of Education, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400014, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) and its receptor (G-CSFR) in children Wilm's tumor. **Methods** Tumor samples of 27 children with identified Wilm's tumor who hospitalized in our department from January 2009 to June 2011 were collected. Immunohistochemistry was used to detect the expression and distribution of G-CSF and its receptor in these tumor specimens. **Results** G-CSF and its receptor were expressed in 62.96% and 66.67% respectively in Wilm's tumor specimens. Co-expression of G-CSF and G-CSFR in a same sample were found in 16 cases (59.26%). There were 8 cases (29.63%) showing no expression of G-CSF and G-CSFR. One case (3.70%) had expression G-CSF but not its receptor, while 2 cases (7.41%) had expression of the receptor but no G-CSF. G-CSF and G-CSFR expression had no significant correlation with gender, age, clinical stage and pathology types ($P>0.05$). **Conclusion** G-CSF and G-CSFR are highly expressed in children Wilm's tumor regardless of gender, age, clinical stage and pathology types of tumor. Their expression should be detected as a routine examination. For the G-CSFR-positive patients, application of G-CSF should be carefully considered for its impact on the tumor.

[**Key words**] granulocyte-colony stimulating factor; receptors, granulocyte-colony stimulating factor; Wilm's tumor

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81170556) and the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2010BB5112). Corresponding author: He Dawei, Tel:86-23-63633394, E-mail: dw.he@163.com

重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)在临床上主要应用于肿瘤化疗导致的粒细胞减少和骨髓移植后的干细胞动员,刺激骨髓粒细胞增殖,减少或者避免由于粒细胞缺乏引起的感染。粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)与粒细胞集落刺激因子受体(G-CSFR)结合能刺激骨髓干细胞增殖,同样可能与肿瘤细胞G-CSFR结合,促进肿瘤细胞增殖。无论肿瘤产生的内源性G-CSF,还是外源性G-CSF,一旦与肿瘤内G-CSFR结合,将影响肿瘤细胞生物学行为,以至于改变疗效。肾母细胞瘤是儿童常见的恶性实体肿瘤之一,罕见于15岁以上者[1]。临床化疗期间,rhG-CSF已常规作为降低化疗期间药物骨髓抑制的促进粒细胞增生的辅助药物[2-4]。但是,

[基金项目] 国家自然科学基金(81170556);重庆市自然科学基金(CSTC2010BB5112)
[通信作者] 何大维,电话:(023)63633394,E-mail:dw.he@163.com

儿童肾母细胞瘤有关 G-CSF 及 G-CSFR 表达的研究甚少。为此,本研究采用免疫组织化学技术检测儿童肾母细胞瘤中 G-CSF 以及 G-CSFR 的表达情况,初步探讨检测 G-CSF 及 G-CSFR 在肾母细胞瘤表达的临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料和组织样本

收集 2009 年 1 月至 2011 年 6 月在重庆医科大学附属儿童医院泌尿外科住院的肾母细胞瘤患者 27 例,其中男性 13 例,女性 14 例,年龄 0.4 ~ 9.4 岁,平均 3.2 岁。年龄 3 岁以下 16 例,3 岁及 3 岁以上 11 例。患者均是以肾脏包块入院,经影像学检查和术后组织病理学确诊的肾脏母细胞瘤纳入研究对象。按照 NWTSG 分期[5],Ⅰ期 6 例,Ⅱ期 6 例,Ⅲ期 11 例,Ⅳ期 4 例。按照肿瘤组织结构分型[5]。

1.2 免疫组化方法及结果判定

标本均经 10% 中性甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋保存,标本连续切片,切片厚 5 μm。采用 S-P 法染色检测 G-CSF 和 G-CSFR 表达。常规脱蜡水化,3% 过氧化氢溶液灭活内源性活性酶 10 min,微波抗原修复,胎牛血清封闭 30 min,加一抗[1∶100, G-CSF (N-20): sc-1318, 1∶100, G-CSFR (H-176): sc-9173, Santa Cruz Biotechnology],4 ℃冰箱过夜孵育,滴加二抗工作液,步骤按照 S-P 二步法免疫组化学检测,实验过程按照说明书操作,DAB 显色,苏木精复染,透明,封片。PBS 代替一抗作为阴性对照片。光镜观察免疫组化结果,棕黄色为阳性表达,定性观察 G-CSF 和 G-CSFR 在肿瘤标本中的表达情况。

1.3 统计学分析

通过 SPSS 16.0 统计软件对相关数据进行统计学分析,采用 Fisher's 精确检验以及 Spearman 相关性分析。

2 结果

2.1 G-CSF 和 G-CSFR 在肿瘤内表达情况

27 例肾母细胞瘤标本中,G-CSF 和 G-CSFR 阳性表达率分别是 62.96%、66.67%。G-CSF 及其受体在肿瘤细胞均有表达(图 1)。其中,G-CSF 和 G-CSFR 在同一样本中均阳性表达者 16 例(59.26%),均阴性表达者 8 例(29.63%)。G-CSF 阳性和 G-CSFR 阴性表达 1 例(3.70%),G-CSF 阴性和 G-CSFR 阳性表达 2 例(7.41%)。

2.2 肾母细胞瘤 G-CSF 和 G-CSFR 表达与年龄、性别的关系

G-CSF 的表达:不同性别和年龄间差异无统计学意义(P = 0.120, P = 0.124);G-CSFR 的表达:不同性别和年龄间差异亦无显著性(P = 0.114, P = 0.420)。见表 1。

2.3 肾母细胞瘤 G-CSF 和 G-CSFR 表达与临床分期的关系

G-CSF 的表达与 NWTSG 分期差异无统计学意义(χ^2 = 0.653, P = 0.884),G-CSFR 的表达与 NWTSG 分期差异亦无显著性(χ^2 = 4.602, P = 0.203)。见表 1。

2.4 肾母细胞瘤 G-CSF 和 G-CSFR 表达与肿瘤组织分型的关系

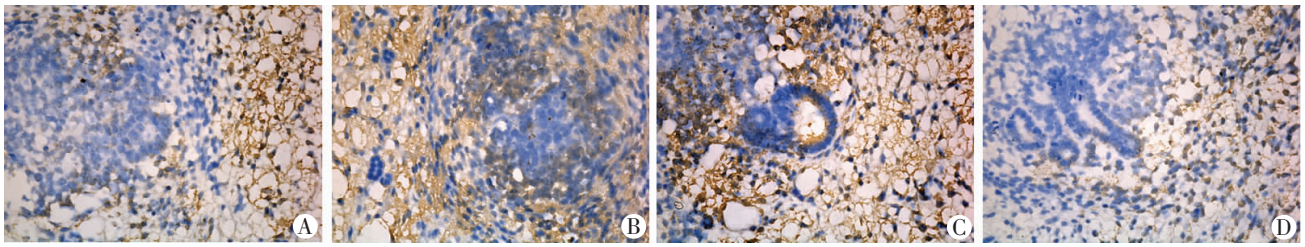
G-CSF 的表达在各病理分型中差异无统计学意义(χ^2 = 3.587, P = 0.465),G-CSFR 的表达在各病理分型中差异无显著性(χ^2 = 2.975, P = 0.562)。见表 1。

表 1 G-CSF 和 G-CSFR 阳性表达与肾母细胞瘤临床病理因素的关系[例(%)]

临床病理因素	n	G-CSF 阳性	G-CSFR 阳性
性别			
男	13	6(46.15)	6(46.15)
女	14	11(78.57)	12(85.71)
年龄			
<3 岁	16	8(50.00)	10(62.50)
≥3 岁	11	9(81.82)	8(72.73)
NWTSG 分期			
Ⅰ期	6	4(66.67)	6(100.00)
Ⅱ期	6	4(66.67)	3(50.00)
Ⅲ期	11	6(54.55)	6(54.55)
Ⅳ期	4	3(75.00)	3(75.00)
病理分型			
混合型	11	7(63.64)	7(63.64)
间叶型	3	3(100.00)	3(100.00)
胚芽型	5	3(60.00)	3(60.00)
上皮型	7	3(42.86)	4(57.14)
囊性部分分化型	1	1(100.00)	1(100.00)

3 讨论

临床上重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)主要应用于肿瘤化疗或放疗后的中性粒细胞减少以及骨髓移植时外周血干细胞的动员[4, 6-8],动物实验发现 G-CSF 具有一定的心肌保护作用[9],并且可以动员循环间充质干细胞降低严重颅脑创伤小鼠死亡,参与了创伤修复[10]。但是随着临床的广泛使用,G-CSF 与肿瘤的预后的相关性引起了临床医生的注意,Asano 等[11]报道了首例能产生 G-CSF 的肺癌,此后陆续发现尤文肉瘤、直肠癌、卵巢癌等多种是实体肿瘤能分泌 G-CSF



A:肾母细胞瘤混合型,G-CSF 在肿瘤细胞表达,主要是在间叶肿瘤细胞和胚芽部分肿瘤细胞表达;B:肾母细胞瘤混合型,G-CSFR 在肿瘤细胞表达,主要是在胚芽肿瘤细胞表达;A,B 为同一标本;C:肾母细胞瘤上皮为主型,仅 G-CSFR 在肿瘤细胞表达,主要是在胚芽肿瘤细胞表达;D:肾母细胞瘤混合型,仅 G-CSF 在肿瘤细胞表达,主要是在间叶肿瘤细胞表达

图 1 免疫组化法检测肾母细胞瘤 G-CSF 和 G-CSFR 表达 (S-P ×400)

及表达其受体[12-16]，提示实体肿瘤可能存在自分泌或者旁分泌机制产生G-CSF，影响肿瘤细胞生物学行为。动物实验[12, 17]发现在外源性G-CSF干预的肺癌细胞株LLCS、KLN205以及尤文肉瘤细胞株TC/7-1裸鼠移植瘤模型中，干预组较空白组在瘤体体积和毛细血管密度有统计学差异，提示外源性的G-CSF可能促进肿瘤的增长，并且体外实验研究[18]表明G-CSF可促进G-CSFR阳性的实体肿瘤细胞的增殖。同时临床研究[19]表明，在非小细胞肺癌患者手术前后血清G-CSF的比较发现，术后血清G-CSF明显下降，类似研究发现非小细胞肺癌患者血清G-CSF水平与正常人显著高于正常人，对比有统计学差异[20]，提示G-CSF的表达与病情和治疗效果可能也有着密切的联系。

但是目前很少有G-CSF和G-CSFR在儿童实体肿瘤表达的报道。本研究通过应用免疫组化S-P法检测肾母细胞瘤G-CSF和G-CSFR的表达情况，结果发现在肾母细胞瘤标本中G-CSF和G-CSFR的阳性表达率分别高达62.96%、66.67%，且同一肿瘤内G-CSF和G-CSFR均表达为59.26%。但是，G-CSF和G-CSFR的表达与年龄、性别无相关性，与Tsuzuki等[21]检测G-CSF和G-CSFR在口咽癌中表达的发现一致，此外G-CSF和G-CSFR的表达与临床分期和病理分型也无相关性。本研究发现肾母细胞瘤可自身产生G-CSF，并且各期肿瘤均有G-CSFR的表达，因此一旦内源性的G-CSF与G-CSFR结合，很可能会促进肿瘤细胞增殖，即使部分肿瘤内自身不产生G-CSF，但是肿瘤阳性表达G-CSFR，理论上会与外源性G-CSF结合，促进肿瘤细胞生长，或者复发[18]。而本研究中因G-CSFR表达在临床各期均有样本阳性表达，因此，作者建议，临床肾母细胞瘤治疗中，应常规检测肿瘤G-CSF和G-CSFR表达，一旦G-CSFR阳性表达，应谨慎使用rhG-CSF。但是，是否G-CSF和G-CSFR的表达就一定是肾母细胞瘤发生及治疗中的不良因素，尤其是肾母细胞瘤患者远期生存状况，还需要大样本量的进一步研究。

参考文献：

[1] 叶锦，靳风烁，江军，等. 成人肾母细胞瘤11例报告[J]. 第三军医大学学报，2003，25(4)：300-304.

[2] Hershman D, Hurley D, Wong M, *et al*. Impact of primary prophylaxis on febrile neutropenia within community practices in the US[J]. J Med Econ, 2009, 12(3): 203-210.

[3] Wheatley K, Goldstone A H, Littlewood T, *et al*. Randomized placebo-controlled trial of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) as supportive care after induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukaemia: a study of the United Kingdom Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party[J]. Br J Haematol, 2009, 146(1): 54-63.

[4] Kuderer N M, Dale D C, Crawford J, *et al*. Impact of primary prophylaxis with granulocyte colony-stimulating factor on febrile neutropenia and mortality in adult cancer patients receiving chemotherapy: a systematic review[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(21): 3158-3167.

[5] 施诚仁，金先庆，李仲智. 小儿外科学[M]. 第4版. 北京：人民卫生出版社，2009：136-140.

[6] 戴光熙，张一军，张林生，等. 常规剂量化疗和G-CSF对外周血造血细胞的动员作用观察[J]. 第三军医大学学报，1996，18(5)：450-452.

[7] 宫立众，张茂宏，徐从高. 外周血干细胞收集物中有核细胞成分分析[J]. 第三军医大学学报，2001，23(11)：1321-1323.

[8] 王存邦，陈幸华，欧英贤，等. G-CSF对不同人群$CD34^+$细胞及T细胞亚群影响的动态变化研究[J]. 第三军医大学学报，2005，27(12)：1269-1271.

[9] 付振虹，董蔚，盖鲁粤. 促红细胞生成素联合粒细胞集落刺激因子对乳鼠缺氧心肌细胞的保护作用[J]. 第三军医大学学报，2009，31(6)：541-544.

[10] 邓均，艾国平，周桃莉，等. G-CSF动员循环间充质干细胞及其对小鼠颅脑损伤修复的可行性分析[J]. 第三军医大学学报，2007，29(12)：1131-1134.

[11] Asano S, Urabe A, Okabe T, *et al*. Demonstration of granulopoietic factor(s) in the plasma of nude mice transplanted with a human lung cancer and in the tumor tissue[J]. Blood, 1977, 49(5): 845-852.

[12] Morales-Arias J, Meyers P A, Bolontrade M F, *et al*. Expression of granulocyte-colony-stimulating factor and its receptor in human Ewing sarcoma cells and patient tumor specimens: potential consequences of granulocyte-colony-stimulating factor administration [J]. Cancer, 2007, 110(7): 1568-1577.

[13] Yang X, Liu F, Xu Z, *et al*. Expression of granulocyte colony stimulating factor receptor in human colorectal cancer[J]. Postgrad Med J, 2005, 81(955): 333-337.

[14] 杨小冬，刘福坤，许哲，等. G-CSF受体及其mRNA在结直肠癌和其附近正常黏膜中的表达[J]. 解放军医学杂志，2005，30(2)：149-152.

[15] Savarese T M, Mitchell K, McQuain C, *et al*. Coexpression of granulocyte colony stimulating factor and its receptor in primary ovarian carcinomas[J]. Cancer Lett, 2001, 162(1): 105-115.

[16] Ninci E B, Brandstetter T, Meinhold-Heerlein I, *et al*. G-CSF receptor expression in ovarian cancer[J]. Int J Gynecol Cancer, 2000, 10(1): 19-26.

[17] Okazaki T, Ebihara S, Asada M, *et al*. Granulocyte colony-stimulating factor promotes tumor angiogenesis via increasing circulating endothelial progenitor cells and Grl^+CD11b^+ cells in cancer animal models[J]. Int Immunol, 2006, 18(1): 1-9.

[18] Ohmi C, Matsuyama H, Tei Y, *et al*. Granulocyte colony-stimulating factor may promote proliferation of human bladder cancer cells mediated by basic fibroblast growth factor[J]. Scand J Urol Nephrol, 2003, 37(4): 286-291.

[19] Mroczko B, Szmitkowski M, Niklinski J. Granulocyte-Colony stimulating factor and macrophage-colony stimulating factor in patients with non-small-cell lung cancer[J]. Clin Chem Lab Med, 2001, 39(5): 374-379.

[20] Bahar B, Acedil-Ayc-Iota B, Coskun U, *et al*. Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) and macrophage colony stimulating factor (M-CSF) as potential tumor markers in non small cell lung cancer diagnosis[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2010, 11(3): 709-712.

[21] Tsuzuki H, Fujieda S, Sunaga H, *et al*. Expression of granulocyte colony-stimulating factor receptor correlates with prognosis in oral and mesopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Res, 1998, 58(4): 794-800.

（收稿：2011-09-26；修回：2011-11-25）

（编辑 王 红）