维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)04-0407-05

CXCR4 在非小细胞肺癌中的表达及意义

李 醒,温剑虎

(重庆医科大学附属第一医院胸心外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨非小细胞肺癌(Non small cell lung cancer,NSCLC)中 CXC 类趋化因子受体 4(Chemokine CXC motif receptor 4,CXCR4)表达的意义,尤其是其表达在局部淋巴结转移中的作用。方法:未做治疗的 41 例 NSCLC 肿瘤原发灶、其中 25 例转移淋巴结和 20 例正常肺组织按 SABC 免疫组化法观察 CXCR4 的表达。结果:NSCLC 原发灶中肿瘤细胞 CXCR4 表达阳性率为 92.68%,高于正常肺组织细胞 CXCR4 表达阳性率 10%($P<0.001$)。不同临床特征 NSCLC 原发灶中肿瘤细胞 CXCR4 表达没有差异($P>0.05$)。CXCR4 表达强度与淋巴结转移也没有相关性($P>0.05$)。肿瘤细胞在淋巴结转移灶中 CXCR4 表达阳性率 96%,表达强度低于原发灶内($P<0.05$)。结论:(1)不同组织学类型的 NSCLC 可能有共同的来源。(2)CXCR4 高表达在 NSCLC 局部淋巴结转移中可能仅决定转移的靶向。

【关键词】非小细胞肺癌;CXC 类趋化因子受体 4;淋巴结;转移;免疫组化

【中国图书分类法分类号】R730.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-08-29

Reserch on expression of CXCR4 in non small cell lung cancer cells

LI Xing, et al

(*Department of Cardiac-thoracic Diseases, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the expression of CXCR4 in non small cell lung cancer(NSCLC), and further to explore the meaning of CXCR4, especially the role of CXCR4 in regional lymph nodes metastasis in NSCLC. *Methods*: SABC immunohistochemical staining was used to observe the expression of CXCR4. The specimens were 41 cases of primary tumor tissues of NSCLC, 25 cases of regional metastasized lymph nodes, and 20 cases of normal lung tissues. *Results*: The positive rate of the expression of CXCR4 was 92.68% in primary tumor cells, and was higher than that in normal lung cells($P<0.001$), which was only 10%. There was no significant difference of CXCR4 expression in primary tumor cells with different clinicopathological characteristics($P>0.05$). There was no significant correlation between the CXCR4 expression and the regional lymph nodes metastasis occurring($P>0.05$). The positive expression rate of CXCR4 was 96% in cancer cells in regional metastasized lymph nodes. And its expression was lower than that in primary tumors($P<0.05$). *Conclusions*: (1)NSCLCs of different histological types possibly have mutual origins. (2)CXCR4 probably only plays an role in inducing target metastasis of cancer cells to regional lymph nodes.

【Key words】 Non small cell lung cancer(NSCLC); Chemokine CXC motif receptor 4; Lymph node; Metastasis; Immunohistochemistry

肿瘤的淋巴结转移不是随机性的,而是肿瘤细胞器官选择性运动、生长的过程[1]。有研究提出:靶器官组织中的基质细胞衍生因子-1(Stromal cell-derived factor-1, SDF-1)和在乳腺癌细胞中特异性 CXCR4 同时高表达在决定乳腺癌器官特异性转移上起着关键作用[2]。对于肿瘤的起源,新的研究提出:肿瘤有可能来源于骨髓干细胞[3],而CXCR4正是骨髓干细胞的标志物之一。本研究以检测 NSCLC 细胞中 CXCR4 的表达,进一步从 NSCLC 的角度论证揭示 CXCR4 在上述两个方面中的意义。

作者介绍:李 醒(1970-),男,主治医师,硕士,研究方向:胸部肿瘤的治疗。

通讯作者:温剑虎,男,教授,E-mail:jhw16@sina.com。

1 材料和方法

1.1 临床资料

选取 2004 年 1 月~2004 年 12 月,经重庆医科大学附属第一医院胸心外科治疗的 NSCLC 患者手术切除及探查标本 41 例。其中男性 29 例,女性 12 例;年龄(56.2±6.4)岁(25~77 岁),年龄<60 岁 22 例,年龄≥60 岁 19 例;鳞癌 16 例,腺癌 16 例,腺鳞癌 9 例;TNM 分期参照 1997 年国际抗癌

维普资讯 http://www.cqvip.com

联盟(UICC)新修订的肺癌 TNM 分期标准：Ⅰ期 14 例，Ⅱ期 10 例，Ⅲ期 15 例，Ⅳ期 2 例；有局部淋巴结转移 25 例，无局部淋巴结转移 16 例。以上标本原发肿瘤灶和局部淋巴结均经 HE 染色病理证实(见图 1、2)，且术前未经任何治疗。另选已知 CXCR4 阳性表达的乳腺侵润性导管癌标本 5 例作为免疫染色观察阳性对照，以及非肺部疾患的正常肺组织标本 20 例作为正常对照，对照组男性 12 例，女性 8 例；年龄(52.1 ± 4.8)岁(23～72 岁)，年龄 <60 岁 11 例，年龄≥60 岁 9 例，统计学检验与试验组均无差异(P>0.05)。

1.2 主要试剂及配制

兔抗人 CXCR4 单克隆抗体；克隆号：BA0761；按 1∶100 比例稀释。即用型 SABC 免疫组化试剂盒(SA1022 兔 IgG-1/2KIT)。二氨基联苯胺(Diaminobenzidin，DAB)显色剂。上述试剂购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 免疫组化染色

按武汉博士德生物工程有限公司提供即用型 SABC 免疫组化试剂盒(SA1022 兔 IgG-1/2KIT)使用说明书指示组织切片操作方法进行。

1.4 结果判断标准

细胞质呈棕黄或棕褐色为阳性细胞。每例标本观察 2 张切片，每张切片观察 5 个具有典型病理特征的视野区域，据染色程度及阳性细胞数来计算评分：

(1)染色程度：0 为阴性，1 为弱阳性，2 为中等阳性，3 为强阳性；

(2)阳性细胞数：阳性细胞 <10%为 0，阳性细胞 10%～24%为 1，阳性细胞 25%～49%为 2，阳性细胞 50%～74%为 3，阳性细胞≥75%为 4；

(1)×(2) 之乘积：0～1 分评为免疫组化染色阴性(-)；2～4 分评为免疫组化染色阳性(+)；6～8 分评为免疫组化染色阳性(++)；9～12 分评为免疫组化染色阳性(+++)。

1.5 统计分析方法

结果资料采用 SPSS11.0 统计学软件分析处理，采用卡方检验、等级计数资料按 Kruskal-Walls 检验、根据 χ^2、H 值计算 P 值。配对资料按符号检验，计算 P 值。P<0.05，有统计

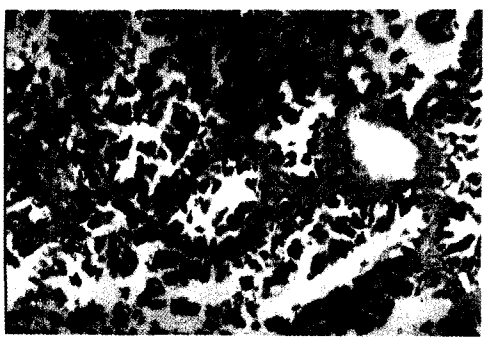


图 1 肺腺癌组织 HE×200

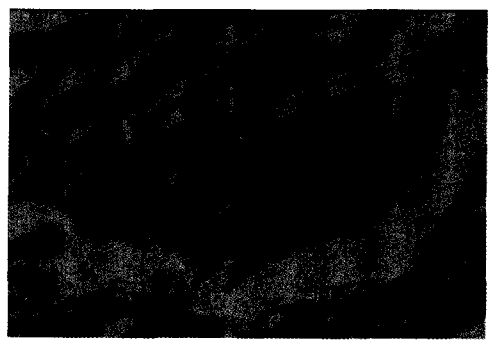


图 2 肺癌转移淋巴结组织 HE×400

表 1 不同临床病理特征 NSCLC 患者肿瘤细胞 CXCR4 的表达

项目	例数	CXCR4 的表达				P 值
		-	+	++	+++	
性别						
男	29	2	3	13	11	
女	12	1	6	1	4	P>0.05
年龄(岁)						
<60	22	3	6	3	10	
≥60	19	0	3	11	5	P>0.05
TNM 分期						
Ⅰ	14	1	4	6	3	
Ⅱ	10	0	1	5	4	
Ⅲ、Ⅳ	17	2	4	3	8	P>0.05
组织学类型						
鳞癌	16	2	2	7	5	
腺癌	16	1	5	5	5	
腺鳞癌	9	0	2	2	5	P>0.05

维普资讯 http://www.cqvip.com

学意义。

2 结 果

CXCR4 主要表达于细胞质内。检测的所有标本,同 1 例切片目标细胞的细胞质染色程度均呈现均匀一致性,染色同质细胞数均≥75%。5 例作为阳性对照的乳腺侵润性导管癌标本肿瘤细胞 CXCR4 表达均呈阳性。20 例正常肺组织细胞 CXCR4 阴性表达 18 例,阳性表达(+)2 例,阳性率仅 10%。

2.1 CXCR4 在 NSCLC 原发灶中的表达

NSCLC 原发灶中肿瘤细胞 CXCR4 阳性表达 38 例,CXCR4 阴性表达 3 例,阳性率为 92.68%,明显高于正常肺组织细胞(χ^2 =37.13,P<0.001);肿瘤间质细胞内不表达 CXCR4(见图 3)。

进一步分析结果提示:不同性别、年龄、TNM 分期、肿瘤组织学类型的 NSCLC 患者,其原发灶中肿瘤细胞 CXCR4 的表达没有差异(P>0.05,见表 1)。同时 CXCR4 的表达的强度与淋巴结转移情况也没有发现相关性(P>0.05,见表 2)。

2.2 CXCR4 在 NSCLC 淋巴结转移灶中的表达

NSCLC 肿瘤细胞在淋巴结转移灶中 CXCR4 阳性表达 24 例,阴性表达 1 例,阳性率 96%;淋巴结中淋巴细胞和其它间质细胞不表达 CXCR4 (见图 4)。配对对比分析发现:肿瘤细胞在淋巴结转移灶中的表达低于在原发灶中的表达(P<0.05,见表 3)。

表 2 NSCLC 中 CXCR4 的表达与淋巴结转移的关系

淋巴结转移	CXCR4 的表达				例数
	−	+	++	+++	
有	2	4	8	11	25
无	1	5	6	4	16
合计	3	9	14	15	41

Cochran Armitage 趋势检验:χ^2=1.05,P>0.05

表 3 原发灶和淋巴结转移灶中肿瘤细胞 CXCR4 的表达的配对研究

编号	原发灶(x_1)	符号(x_1−x_2,+/−)	淋巴结转移灶(x_2)
1	−	0	−
2	+++	+	+
3	+++	+	++
4	+++	+	++
5	−	−	++
6	+++	+	++
7	++	0	++
8	++	0	++
9	++	+	+
10	++	+	+
11	++	+	+
12	+	−	++
13	+++	+	++
14	++	+	+
15	+	−	+++
16	+++	0	+++
17	+++	+	+
18	++	+	+
19	+	0	+
20	+++	+	+
21	+++	+	++
22	+++	+	++
23	+++	+	++
24	++	0	++
25	+	−	++

符号检验:P<0.05

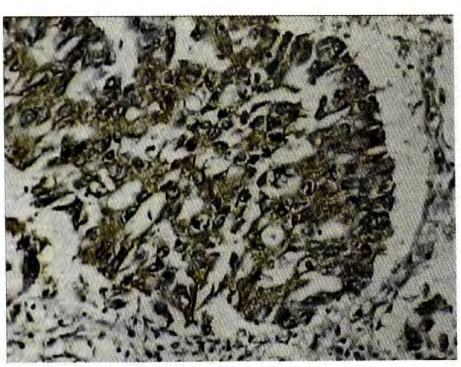


图 3 原发灶肺腺鳞癌细胞 CXCR4 的阳性表达 SABC×200

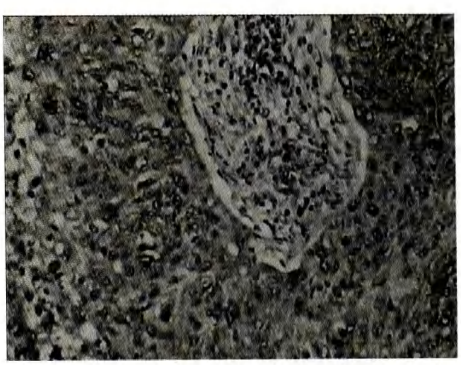


图 4 转移淋巴结肿瘤细胞 CXCR4 的阳性表达 SABC×200

维普资讯 http://www.cqvip.com

3 讨 论

3.1 CXCR4 与 NSCLC 的发生

在恶性肿瘤起源的问题上,越来越多的研究者逐渐接受这样的观点:肿瘤细胞的来源是由于机体或组织内本已存在的干细胞在特定的分化水平停止分化或分化失常[4]。但究竟起源于组织干细胞,抑或是骨髓干细胞,仍未形成共识。

JeanMarie Houghton 同事一起组成的小组[2]提出:胃癌可能来源于骨髓干细胞。Bender Kim 和她的同事[5]首次从小鼠肿瘤的最初阶段分离到一种干细胞,并将其命名为支气管肺泡干细胞(Brochioalveolar stem cells,BASCs)。她们在 BASCs 表面,发现了另一种蛋白质标记,这种蛋白标记也存在于研究较多的造血干细胞表面上。

发育成熟的体内 CXCR4 也主要表达在骨髓干细胞来源的细胞,参与骨髓干细胞和淋巴细胞的趋化运动和"归巢"[6]。本研究结果表明不同组织学类型 NSCLC 在 CXCR4 表达上没有差异性($P>0.05$)。由此提示:不同组织学类型 NSCLC 可能有共同的来源 - 可能是干细胞在不同解剖部位、不同环境因素作用下,在不同水平停止分化所致。本研究还表明:在正常肺组织细胞中 CXCR4 不表达或低表达(10%)。综合上述事实,肿瘤是骨髓干细胞起源的解释可能更具有说服力。

3.2 CXCR4 与 NSCLC 的淋巴结转移

国内外大量研究证明:肿瘤的转移不是随机性的,而是有选择性的,是具有嗜器官性的[1]。"归巢"理论认为不同器官具有通过分泌趋化因子捕获或吸引特定类型肿瘤细胞的特殊能力[7]。

Muller 等[2]提出:靶器官组织中的趋化因子 SDF-1和在乳腺癌细胞中特异性受体 CXCR4 同时高表达在决定乳腺癌器官特异性转移上起着非常关键的作用。Kato 等[7]证实了这一观点,并且指出:CXCR4 的高表达可能与乳腺癌转移至局部淋巴结有关。研究还发现 SDF-1 与 CXCR4 结合后,可以诱发癌细胞的与肌动蛋白聚合相关的假伪足形成、诱导定向迁移和侵袭[2]。

NSCLC 与乳腺癌具有相似的转移靶器官,本研究结果 NSCLC 普遍性高表达 CXCR4(92.68%),这有利于淋巴结中的 SDF-1 捕获肿瘤细胞。提示:CXCR4 可能在 NSCLC 的局部淋巴结转移中也起着类似的重要作用。另外,本研究中肿瘤细胞 CXCR4 的表达在不同性别、年龄、TNM 分期中是没有差异的($P>0.05$)。Schmid 等[8]研究发现乳腺导管癌原位癌也表达 CXCR4。说明 CXCR4 的表达不是获得性的,不是肿瘤细胞在不同生长环境、不同生长过程中出现的,而是肿瘤细胞特质性的,肿瘤的转移是肿瘤细胞的重要基本生物学特征。

不同组织学类型 NSCLC 局部淋巴结转移的能力是不同的[9]。本研究没有提示 CXCR4 的表达强度在不同组织类型中的差异以及与局部淋巴结转移的相关性($P>0.05$)。但 CXCR4 是 SDF-1 的唯一受体,两者效应已有共识。鉴于肺自身也是肿瘤转移的常见器官,SDF-1 在肺内也呈现较高表达,仅较淋巴结低,而 CXCR4 阳性表达的肿瘤细胞体外迁移试验中与环境中 SDF-1 浓度相关[2]。说明:肿瘤的侵润转移是多因素、多步骤,是复杂的。就 NSCLC 而言,CXCR4 可能仅仅决定肿瘤细胞转移的靶向,而不是局部淋巴结转移主要决定因素。而且,NSCLC 淋巴结靶向性转移也可能还有其他因素介导。

本研究还发现 NSCLC 肿瘤细胞在局部淋巴结转移灶中的表达低于在原发灶中的表达($P<0.05$)。间接证实了 SDF-1 与 CXCR4 受体结合后能下调肿瘤细胞的 CXCR4 表达[10]。这种现象的机理尚不清楚。有研究发现 SDF-1 除与 CXCR4 形成复合物外,同时与细胞膜表面硫酸肝素蛋白多糖 syndecan-4 结合,syndecan-4 是不依赖 CXCR4 的 SDF-1 另一个信号转导分子[11]。SDF-1 下调肿瘤细胞的CXCR4 表达是否与 SDF-1/syndecan-4 有关尚待证实。由此我们推测通过这种效应,有利于将捕获的肿瘤细胞局限在该淋巴结内生长、增殖,减少肿瘤细胞从该淋巴结逃逸,防止肿瘤细胞再被其它富含 SDF-1 的器官捕获。这可能是肿瘤细胞淋巴结靶向性转移的另一有利机制,同时也可能是肿瘤淋巴结转移一般遵循逐级转移这一规律的机制之一。

参 考 文 献

[1] Nicolson GL.Paracrine and autocrine growth mechanism in tumor metastasis to specific sites with particular emphasis on brain and lung metastasis[J]. Cancer Metastasis Rev,1993;12(3):325-343.

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

(下转第 449 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

除过程可能有相似之处。本实验结果表明,38.5℃～34.5℃和 38.5℃～41.8℃2 种温度变化可改变顺式阿曲库铵的药代动力学参数,且温度变化越大,对 $t_{1/2\beta}$ 的影响越大。34.5℃时,$t_{1/2\beta}$ 延长约 5min;41.8℃时,$t_{1/2\beta}$ 缩短约 4min。总之,在麻醉和手术过程中,高体温病人可适当加大用药量,以维持最佳的肌松效应;而在易出现低体温的病人,应积极预防低体温的出现,以防止肌松残余作用。

体温影响肌松药的原因主要有两方面,首先,体温影响肝、肾及骨骼肌的血流分布,改变循环血流速度[7],而肌松药消除对这些因素都有明显的温度依赖性。其次,体温可影响神经肌肉接头处递质的释放,改变突触后膜对乙酰胆碱的敏感性,当给予肌松药时这种作用得到进一步强化,从而使肌松药的阻滞效能改变,但也有报道神经肌肉接头对非去极化肌松药的敏感性没有发生变化[8]。总之,由于体温对肌松药阻滞神经肌肉传导作用的影响是复杂的,目前的研究结果还有争议,对于这些影响,究竟是肌松药代谢和排泄的改变,还是局部作用部位突触的影响,什么起了主要作用,研究者们仍缺乏一致的看法。

综上所述,体温变化可改变顺式阿曲库铵在兔体内的药物代谢动力学。但本实验对顺式阿曲库铵的研究的温度点还非常有限,对于其在更多温度点的药物代谢情况以及对神经肌肉突触的影响,还有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Jauchem JR.The role of autacoids and the autonomic nervous system in cardiovascular responses to radio-frequency energy heating [J]. Auton Autacoid Pharmacol,2006;26(2):121-140.

[2] Cammu G,Coddens J,Hendrickx J,et al. Dose requirements of infusions of cisatracurium or rocuronium during hypothermic cardiopulmonary bypass[J]. Br J Anaesth,2000;84(5):587-590.

[3] Dhonneur G,Cerf C,Lagneau F,et al. The pharmacokinetics of cisatracurium in patients with acute respiratory distress syndrome[J]. Anesth Analg,2001;93(2):400-404.

[4] 奠利求,黄文起,谭洁芳,等.新的中效矶松药—顺式阿曲库铵[J].麻醉学与复苏分册,2000;21(3):170-172.

[5] Heier T,Caldwell JE. Impact of hypothermia on the response to neuromuscular blocking drugs[J]. Anesthesiology,2006;104(5):1070-1080.

[6] Koundourakis E,Hoffmann F,Theisohn M,et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of atracurium and its metabolite laudanosine in cardiac surgery involving cardiopulmonary bypass with induced hypothermia[J]. Clinical Drug Investigation,1996;12(4):188-197.

[7] Hultstr ō m M,Jansson L,Bodin B,et al. Moderate hypothermia induced a preferential increase in pancreatic islet blood flow in anesthetized rats[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,2007;293(3):1438-1443.

[8] Heier T,Caldwell JE,Sharma MI,et al. Mild intraoperation hypothermia does not change the pharmacodynamics (concentration-effect relationship) of vecuronium in humans[J]. Anesth Analg,1994;78(5):973-977.

(责任编辑:关蕴良)

(上接第 410 页)

[3] Houghton J,Stoicov C,Nomura S,et al. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells[J]. Science,2004;306(5701):1568-1571.

[4] Bianco P,Riminucci M, Gronthos S,et al. Bone Marrow Stromal Stem Cells:Nature,Biology,and Potential Applications[J]. Stem Cells,2001;19(3):180-192.

[5] Kim CF,Jackson EL,Woolfenden AE,et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer[J]. Cell,2005;121(6):823-835.

[6] Campbell JJ,Butcher EC. Chemokinesin tissue-specific and microenvironment-specific lymphocyte homing[J]. Curr Opin Immunal,2000;12(3):336-341.

[7] Kato M,Kitayama J,Kazama S,et al. Expession pattern of CXC chemokine recepter-4 is correlated with lymph node metastasis in human invasion ductal carcinoma[J]. Breast Cancer Res,2003;5(5):R144-150.

[8] Schmid BC,Rudas M,Rezniczek GA,et al. CXCR4 is expressed in ductal carcinoma in situ of the breast and in atypical ductal hyperplasia[J]. Breast Cancer Res Treat,2004;84(3):247-250.

[9] 赫 捷,张汝刚,汪良骏,等. 肺腺鳞癌 54 例外科疗效分析[J].癌症,2000;19(5):458-459,467.

[10] Hila G,Orit SA,Lilach G,et al. A possible role for CXCR4 and its ligand,the CXC Chemokine stromal cell-derived factor-1,in the development of bone marrow metastases in neuroblastoma [J]. Journal of Immunology,2001;167(8):4747-4757.

[11] Brule S,Charnaux N,Sutton A,et al. The shedding of syndecan-4 and syndecan-1 from HeLa cells and human primary macrophages is accelerated by SDF-1/CXCL12 and mediated by the matrix metalloproteinase-9[J]. Glycobiology,2006;16(6):488-501.

(责任编辑:关蕴良)