

## CC趋化因子受体5在滤泡状甲状腺癌中的表达

弓雪莲,郭葆玉\* (第二军医大学药学院生化药学教研室,上海 200433)

**[摘要]** **目的:**研究CC趋化因子受体5(CCR5)在滤泡状甲状腺癌中的表达,并检测血清中CCR5配体的含量,为进一步探讨CCR5在滤泡状甲状腺癌演进和转移中的作用奠定基础。**方法:**采用免疫组化方法检测15例滤泡状甲状腺癌患者以及17例甲状腺腺瘤患者,12例癌旁甲状腺组织中CCR5的表达情况,同时应用酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测血清中CCL3、CCL4、CCL5的浓度。**结果:**滤泡状甲状腺癌组织中,CCR5表达阳性率(11/15)明显高于甲状腺腺瘤和正常甲状腺组织( $P < 0.01$ )。滤泡状甲状腺癌患者血清中CCL3、CCL5的浓度显著高于对照组( $P < 0.05$ )。**结论:**滤泡状甲状腺癌组织中存在着CCR5高表达,且外周血CCL3、CCL5浓度明显升高,提示CCR5可能在滤泡状甲状腺癌发病进程中发挥着重要的作用。

**[关键词]** CC趋化因子受体5;甲状腺肿瘤;腺瘤,滤泡性;CCL3; CCL5

**[中图分类号]** R 736.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)07-0701-04

### Expression of chemokine receptor CCR5 in human follicular thyroid carcinoma

GONG Xue-lian, GUO Bao-yu\* (Department of Biochemical Pharmacy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To study the expression of chemokine receptor CCR5 in follicular thyroid carcinoma and the serum level of CCR5 ligand, so as to assess the role of CCR5 in progression and metastasis of follicular thyroid carcinoma. **Methods:** Fifteen samples of follicular thyroid carcinoma, 17 samples of follicular thyroid adenoma and 12 adjacent normal samples were analyzed immunohistochemically for CCR5 expression. The sera concentrations of CCL3, CCL4 and CCL5 were measured by ELISA in all patients. **Results:** CCR5 was positive in follicular thyroid carcinoma samples, with the positive rate being 73.33%, and was not detected in the follicular thyroid adenoma and the normal samples ( $P < 0.01$ ). The concentrations of CCL3 and CCL5 in the sera of follicular thyroid carcinoma patients were significantly higher than those of the other 2 groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** CCR5 is highly expressed in follicular thyroid carcinoma tissues and the concentrations of CCL3 and CCL5 are obviously increased in the sera of patients, indicating that CCR5 may play an important role in the pathogenesis of follicular thyroid carcinoma.

**[KEY WORDS]** CC chemokine receptor 5; thyroid neoplasms; adenocarcinoma, follicular; CCL3; CCL5

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(7): 701-704]

CC趋化因子受体5(CC chemokine receptor 5, CCR5)为细胞膜蛋白,是趋化因子受体的一种亚型,具有G蛋白偶联受体家族(G protein coupled receptors, GPCRs)所特有的7个跨膜区,呈螺旋结构。是趋化因子CCL3(macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ , MIP-1 $\alpha$ ), CCL4 (MIP-1 $\beta$ )和CCL5 (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted, RANTES)的特异性受体。CCR5主要表达在单核细胞、T细胞等白细胞上,被认为是活化Th1细胞的表面标志物<sup>[1]</sup>。CCR5与许多疾病的发生发展有密切关系<sup>[2]</sup>,且与类风湿性关节炎、自身免疫性心肌炎、糖尿病等慢性炎症有着重要的联系<sup>[3-5]</sup>。研究表明趋化因子受体参与肿瘤的生长和分化,且与肿瘤转移有着密切的联系<sup>[6-7]</sup>。有报道CCR5及其配体与乳腺癌肿瘤的生长、转移及单核细胞浸润有关<sup>[7]</sup>,也与前列腺癌、肝癌及卵巢癌肿瘤组织的间质炎症细胞浸润有关<sup>[8-9]</sup>。

甲状腺癌在内分泌肿瘤和头颈部肿瘤中均占第

一位,虽然恶性程度较低,但容易转移到颈部软组织、颈部淋巴结、纵隔淋巴结、肺、骨等处。滤泡状甲状腺癌占甲状腺癌的10%~15%,多见于50岁以上女性,在早期即可出现血行转移,原发灶切除后5年存活率为30%~40%。滤泡状甲状腺癌常被误诊为甲状腺腺瘤,甚至在确诊为甲状腺腺瘤8~10年后,又出现了器质性转移。故滤泡状甲状腺癌的早期、准确诊断具有十分重要的理论和实践意义。

本研究通过免疫组织化学方法检测了滤泡状甲状腺癌组织、甲状腺腺瘤肿瘤组织、癌旁正常甲状腺组织中CCR5的表达情况,同时应用ELISA方法检测滤泡性甲状腺癌患者外周血中CCL3、CCL4、

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30572200)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30572200)。

**[作者简介]** 弓雪莲,博士。E-mail: wintous2002@yahoo.com.cn

\* Corresponding author. E-mail: byguo1632000@yahoo.com.cn

CCL5 的浓度,为探索 CCR5 在滤泡状甲状腺癌病理发生过程中的作用奠定基础。

### 1 材料和方法

1.1 组织标本收集 2002 年 8 月至 2006 年 10 月期间山西省忻州市人民医院住院病例。按 1999 年 WHO 标准分类,15 例确诊为滤泡状甲状腺癌,男 6 例,女 9 例,平均 35.6(25~59)岁,另收集癌旁甲状腺组织 12 例,甲状腺腺瘤 17 例。术前均未接受放疗和化疗。术毕立即取肿瘤组织,以距肿瘤 0.5 cm 以上的正常甲状腺组织作为对照。

1.2 免疫组化检测 选出经病理学检查确诊为滤泡状甲状腺癌蜡块 15 例为实验组,甲状腺瘤 17 例以及癌旁甲状腺组织 12 例为对照组。将组织标本进行常规石蜡包埋,切片,H-E 染色,采用 SP 法进行免疫组化染色。小鼠来源的抗人 CCR5 单克隆抗体(MAB182)购于美国 R & D 公司,抗小鼠 Ultra-Vision TM 免疫组化系统(TM-015-HD)购自美国 Lab Vision 公司,实验步骤按试剂盒说明书进行,PBS 替代一抗作空白对照。

1.3 ELISA 双抗体夹心方法检测血清中相关趋化

因子的含量 患者均于术前 3 d 常规采血 10 ml,室温下 1 500 r/min 离心 15 min,分离血清,-70℃ 冷冻保存备用。CCL3、CCL4、CCL5 双抗体夹心检测试剂盒均为上海博光科技有限公司提供的进口分装产品,操作方法遵照说明书。分别测定上述实验组及对照组患者的血清中趋化因子 CCL3、CCL4、CCL5 的含量,实验步骤按照试剂盒说明书进行。实验完毕用 Dragon system MK 型酶标仪在 492 nm 处测光密度值。建立标准曲线,求得趋化因子含量。

1.4 统计学处理 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。计量资料两组间差异比较用 *t* 检验。计数资料差异用 Scheffé 多重比较检验(Scheffé's multiple comparison test)。

### 2 结果

2.1 免疫组化 光镜下观察,CCR5 标准染色阳性为分布在滤泡状甲状腺癌肿瘤细胞胞质或胞膜周围的棕色细颗粒状,见图 1A。15 例滤泡状甲状腺癌组织中 CCR5 阳性表达率为 73.33%(11/15),17 例甲状腺腺瘤和 12 例癌旁甲状腺组织均未检测到 CCR5 的表达,见图 1C、1D。组间 CCR5 阳性表达率的差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

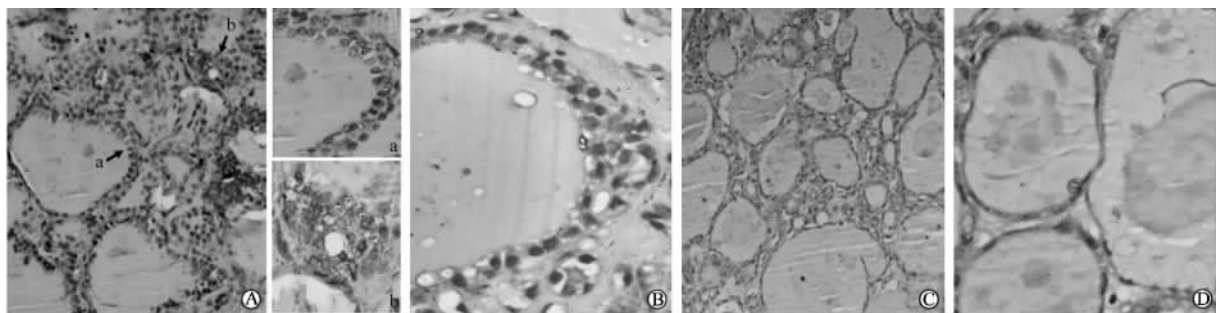


图 1 CCR5 在滤泡状甲状腺癌组织中的表达

Fig 1 Expression of CCR5 in follicular thyroid carcinoma

A: Follicular thyroid carcinoma (×100); a and b are the amplifications (×400); B: Follicular thyroid carcinoma (×400, blank control); C: Follicular thyroid adenoma (×100); D: Normal control (×400). Arrows in A showing positive staining of CCR5

2.2 血清中趋化因子含量 滤泡状甲状腺癌患者血清中 CCL3、CCL5 浓度显著高于甲状腺腺瘤组和正常对照组( $P < 0.05$ ),而组间 CCL4 的含量并无统计学差异。见表 1。

### 3 讨论

用 CCR5 的拮抗剂 Met-CCL5 处理乳腺癌小鼠模型 5 周,肿瘤的体积和质量较对照组显著减小。Met-CCL5 还可减少浸润至肿瘤组织的巨噬细胞,从而起到抗肿瘤的作用<sup>[10]</sup>。在小鼠的肿瘤部位注射 CCL5 可使浸润至肿瘤部位的 NK 细胞、CD4 和

CD8 细胞增多,因而可减缓肿瘤的生长,且可降低肿瘤的发病率<sup>[11]</sup>。然而对于 CCR5 敲除鼠和 T/B 细胞缺陷的 RAG-2 敲除鼠并无此效应的发生。

乳腺癌细胞株 MCF-7 可表达 CCR5<sup>[12]</sup>。CCR5 可通过白喉毒素、JAK2 以及 p38 丝分裂素激活的蛋白激酶途径调节 p53 的转录活性。封闭 CCR5 受体可明显促进具有野生型 p53 的肿瘤细胞的增殖,但并不影响 p53 突变癌细胞的增殖。另一研究<sup>[8]</sup>通过对患者癌组织进行活检发现浸润性乳腺导管癌和乳腺小叶癌的癌细胞均可表达 CCR5,且 CCR5 与 RANTES 的结合可增加乳腺癌细胞 MMPs 等因

表1 滤泡状甲状腺癌患者及甲状腺腺瘤患者与癌旁正常甲状腺组织血清CCL3、CCL4、CCL5含量  
Tab 1 Concentrations of CCL3, CCL4, CCL5 in sera of patients with follicular thyroid carcinoma, follicular thyroid adenoma and normal controls

( $\bar{x} \pm s, \rho_B / \text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$ )

| Group | n  | Concentration  |               |                |
|-------|----|----------------|---------------|----------------|
|       |    | CCL3           | CCL4          | CCL5           |
| A     | 15 | 47.29 ± 15.89* | 34.13 ± 14.14 | 88.24 ± 20.82* |
| B     | 17 | 26.13 ± 9.75   | 29.83 ± 7.17  | 49.73 ± 13.28  |
| C     | 12 | 22.41 ± 8.93   | 32.78 ± 11.26 | 54.62 ± 17.92  |

A: Follicular thyroid carcinoma; B: Follicular thyroid adenoma; C: Normal control. \*  $P < 0.05$  vs follicular thyroid adenoma group or normal control

子的表达,从而促进肿瘤细胞的转移,加速疾病进程。毛细胞性白血病和外套细胞淋巴瘤患者的恶性B细胞亦可表达CCR5<sup>[13]</sup>。对不同类型的原发性神经胶质瘤的肿瘤组织进行分析<sup>[14]</sup>发现60%的成胶质细胞瘤表达CCR5增多,且病情较轻的肿瘤CCR5的表达量亦减少,故CCR5可能有促进成胶质细胞瘤形成的作用。以上研究证明CCR5可以通过两种途径对肿瘤发生作用:(1)通过调节和迁移免疫细胞间接对肿瘤起作用。(2)肿瘤细胞自身表达的CCR5通过与不同的细胞因子结合而作用于肿瘤本身。另有研究<sup>[6,15]</sup>发现,与由趋化因子及其受体介导的淋巴细胞的迁移类似,在肿瘤细胞转移至靶部位过程中趋化因子及其受体亦起着关键的介导作用。

滤泡状甲状腺癌是一种已分化的甲状腺癌,往往仍保有甲状腺表皮细胞之特性,多继发于缺碘性甲状腺肿大所致的甲状腺上皮细胞增生。我们通过免疫组化检测发现滤泡状甲状腺癌细胞可表达CCR5,而甲状腺的常见转移部位肺组织、淋巴组织、血管内皮细胞以及骨髓基质细胞皆可表达CCL3、CCL4以及CCL5,且CCL5在单核细胞向树突状细胞的分化过程中持续表达,树突状细胞则广泛分布于淋巴组织及骨髓中。这提示CCR5极有可能在滤泡状甲状腺癌的演进和转移过程中发挥着重要的作用。

我们发现,与甲状腺腺瘤与癌旁甲状腺组织相比,CCR5在滤泡状甲状腺癌组织细胞表达含量增加,且滤泡状甲状腺癌患者外周血中CCR5的同源配体CCL3、CCL5含量明显上升,故我们认为CCR5与滤泡性甲状腺癌有着密切的联系。基于其原理我们做如下推测:首先,CCR5在癌组织的表达可能趋化免疫细胞和趋化因子等迁移至癌组织,借此调节免疫性因素,从而达到抗肿瘤的作用;再次CCR5可

能为滤泡性甲状腺癌的转移提供物质基础,癌细胞通过与外周血中的CCL3、CCL5结合,由癌组织迁移至外周血中,继而转移至具有丰富CCL3和CCL5的肺组织、淋巴组织、血管内皮细胞以及骨髓基质细胞。除此以外,CCR5还可作为甲状腺腺瘤与滤泡状甲状腺癌鉴别诊断的一个重要指标,从而为二者的鉴别诊断提供科学依据。

由于趋化因子受体作用网络和肿瘤生长转移的复杂性,CCR5在滤泡状甲状腺癌发生发展中的作用细节需要进一步的实验探讨。我们的实验结果为研究滤泡性甲状腺癌的机制提供了新的线索,并为其临床治疗提供了新的思路。

### [参考文献]

- [1] Loetscher P, Uguccioni M, Bordoli L, et al. CCR5 is characteristic of Th1 lymphocytes[J]. *Nature*, 1998, 391: 344-345.
- [2] Bieniasz P D, Cullen B R. Chemokine receptors and human immunodeficiency virus infection [J]. *Front Biosci*, 1998, 3: 44-58.
- [3] Suzuki N, Nakajima A, Yoshino S, et al. Selective accumulation of CCR5<sup>+</sup> T lymphocytes into inflamed joints of rheumatoid arthritis[J]. *Int Immunol*, 1999, 11: 553-559.
- [4] Göser S, Öttl R, Brodner A, et al. Critical role for monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-1alpha in induction of experimental autoimmune myocarditis and effective anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy[J]. *Circulation*, 2005, 112: 3400-3407.
- [5] Carvalho-Pinto C, Garcia M I, Gómez L, et al. Leukocyte attraction through the CCR5 receptor controls progress from insulinitis to diabetes in non-obese diabetic mice[J]. *Eur J Immunol*, 2004, 34: 548-557.
- [6] Zlotnik A. Chemokines and cancer[J]. *Int J Cancer*, 2006, 119: 2026-2029.
- [7] Muller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. *Nature*, 2001, 410: 50-56.
- [8] Azenshtein E, Luboshits G, Shina S, et al. The CC chemokine RANTES in breast carcinoma progression: regulation of expression and potential mechanisms of promalignant activity[J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 1093-1102.
- [9] Vaday G G, Peehl D M, Kadam P A, et al. Expression of CCL5 (RANTES) and CCR5 in prostate cancer[J]. *Prostate*, 2006, 66: 124-134.
- [10] Robinson S C, Scott K A, Wilson J L, et al. A chemokine receptor antagonist inhibits experimental breast tumor growth[J]. *Cancer Res*, 2003, 63: 8360-8365.
- [11] Lavergne E, Combadière C, Iga M, et al. Intratumoral CC chemokine ligand 5 overexpression delays tumor growth and increases tumor cell infiltration[J]. *J Immunol*, 2004, 173: 3755-3762.
- [12] Mañes S, Mira E, Colomer R, et al. CCR5 expression influences the progression of human breast cancer in a p53-dependent manner[J]. *J Exp Med*, 2003, 198: 1381-1389.

- [13] Trentin L, Cabrelle A, Facco M, et al. Homeostatic chemokines drive migration of malignant B cells in patients with non-Hodgkin lymphomas[J]. *Blood*, 2004, 104: 502-508.
- [14] Kouno J, Nagai H, Nagahata T, et al. Up-regulation of CC chemokine, CCL3L1, and receptors, CCR3, CCR5 in human glioblastoma that promotes cell growth[J]. *J Neurooncol*, 2004, 70: 301-307.
- [15] Moore M A S. The role of chemoattraction in cancer metastases [J]. *BioEssays*, 2001, 23: 674-676.
- [收稿日期] 2007-01-29 [修回日期] 2007-03-28
- [本文编辑] 尹 茶