

CXCR4 在前列腺癌组织中的表达与意义

张 冉,王 栋,王菊蓉,郭满盈,邱 磊,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:**探讨趋化因子受体在前列腺癌组织中的表达及其意义。**方法:**采用酶标记免疫组织化学方法检测 45 例前列腺癌及 10 例前列腺增生组织中趋化因子受体 CCR1、CCR3、CXCR4 和 CCR5 的表达情况,应用 ELISA 双抗体夹心方法检测相应患者血清中趋化因子 SDF-1 的含量,并应用免疫发光方法检测相应患者血清中前列腺特异性抗原 PSA 的含量。**结果:**在前列腺癌组织上检测到趋化因子受体 CXCR4 的表达(表达率 55.5%),PSA>20 ng/ml 与 PSA<20 ng/ml 的前列腺癌组织上 CXCR4 的表达率分别为 61.2%和 42.8%,而前列腺增生组织中未发现这 4 种趋化因子受体的表达;与前列腺增生患者相比,在前列腺癌患者血清中 SDF-1 含量明显升高[(567.9±90.73) vs (169.1±46.01) pg/ml, $P<0.01$]。**结论:**在前列腺癌组织上发现有趋化因子受体 CXCR4 的表达,其表达可能在前列腺癌的发生、发展和转移中起重要作用。

[关键词] 受体,趋化因子;前列腺特异性抗原;SDF-1;前列腺肿瘤

[中图分类号] R 737.25

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-879X(2006)09-0965-04

Expression of chemokine receptor CXCR4 in human prostatic carcinoma tissues

ZHANG Ran, WANG Dong, WANG Ju-rong, GUO Man-ying, QIU Lei, GUO Bao-yu* (Department of Biochemistry Pharmacy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To detect the expression of chemokine receptor CXCR4 in human prostatic carcinoma and explore the role of CXCR4 in prostate cancer. **Methods:** Forty-five prostatic carcinoma specimens and 10 prostate hyperplasia specimens were immunohistochemically stained for CCR1, CCR3, CXCR4 and CCR5 expression. SDF-1 concentrations were measured by ELISA and PSA concentrations were measured by immune luminescence in the sera of patients. **Results:** CXCR4 expression was detected in prostatic carcinoma tissues (the positive rate was 55.5%) but not in prostate hyperplasia. The positive rate of CXCR4 was 61.2% when PSA concentrations >20 ng/ml and was 42.8% when PSA concentrations <20 ng/ml. SDF-1 concentrations in the patients with prostate carcinoma increased significantly compared to patients with prostate hyperplasia ($P<0.01$). **Conclusion:** CXCR4 is expressed in human prostatic carcinoma, and it may play an important role in the development, advancement and metastasis of human prostatic carcinoma.

[KEY WORDS] receptors, chemokine; prostate specific antigen; SDF-1; prostatic neoplasms

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(9):965-968]

CXCR4 是近年来发现的一个与 G 蛋白偶联的细胞趋化蛋白受体。它全长 352 个氨基酸且高度保守,具有 G 蛋白偶联受体所特有的 7 个跨膜区(7TM)。当 CXCR4 与其特异的配体也是惟一的配体 SDF-1(stromal cell derived factor I)结合后会构成机体内一个重要的反应轴,参与炎症细胞的浸润、淋巴细胞移行和细胞归巢^[1]。SDF-1 和 CXCR4 广泛地、组成性地表达于多种细胞和组织中,包括免疫细胞、脑、心脏、肾、肝、肺和脾,在免疫系统、循环系统及中枢神经系统的发育中起着至关重要的作用。CXCR4 是趋化因子受体超家族的重要成员之一,它主要表达于粒细胞、T 细胞、B 细胞和树突状细胞上,后来因发现其可作为 HIV 感染白细胞的协同受体而倍受关注,是近年来科学研究的热点之一。

已有文献报道趋化因子受体 CXCR4 参与乳腺

癌细胞系及乳腺癌原发灶,肺、肝等转移灶中均有高度表达。徐晓刚等发现 CXCR4 在涎腺腺样囊性癌(adenoid cystic carcinoma, ACC)肺高转移细胞株中高表达。另外 CXCR4 还与胰腺癌^[2]、神经母细胞瘤^[3]、黑色素瘤^[4]、白血病^[5]等疾病的发生、发展有密切关系。

前列腺癌是许多西方国家男性最常见的恶性肿瘤,在欧美国家居男性恶性肿瘤第二位。我国以前前列腺癌发病率较低,仅为 2.41/10 万男性人口,但近年来随着人口老龄化、饮食及生活条件的改善,发病率有明显增加的趋势^[6,7]。前列腺癌已成为科研领域一个越来越重要的课题。肿瘤的发生、发展是

[作者简介] 张 冉,硕士. E-mail:rain_zhang88@msn.com

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

多种因素参与的极其复杂的机制,研究表明趋化因子及其受体在多种肿瘤的生长、血管生成、迁移、侵袭和转移中起重要作用。目前国内外有关 CXCR4 的研究主要集中在乳腺癌和白血病等肿瘤。有关前列腺癌组织中表达情况的报道较少,而有关 CXCR4 与前列腺癌病理分期的关系则未见报道。本研究应用免疫组织化学方法检测了前列腺癌组织及前列腺增生组织中 CCR1、CCR3、CCR5 和 CXCR4 的表达并分析其表达与转移率的相关性,并应用 ELISA 方法检测了相应患者血清中趋化因子 SDF-1 的含量,以探讨趋化因子受体在前列腺癌的发生和发展中可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 研究对象 45 例前列腺癌患者为浙江省湖州市第一人民医院及解放军 98 医院泌尿外科 2003~2005 年间住院病例,中位年龄 65 岁,所有病例术后均经病理学检查确诊为前列腺癌。术前均未接受放疗或化疗,其中发生淋巴结、肺或骨转移的有 36 例,未发生转移的有 9 例。阴性对照为 10 例前列腺增生患者(由于正常人前列腺组织的取得有一定难度,故选择前列腺增生为阴性对照),中位年龄 63 岁。所有病例近期均无急性炎症及慢性病史。

1.2 免疫组织化学方法检测前列腺癌及前列腺增生组织中趋化因子受体的表达 无菌操作下收集手术切除的前列腺癌肿块,经 4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,切片,H-E 染色,筛选出 45 例前列腺癌蜡块为实验组,选出 10 例前列腺增生组织为对照组。CCR1、CCR3、CCR5 和 CXCR4 鼠抗人单克隆抗体为美国 RD 公司产品,采用华美生物工程公司即用

型 SP 免疫组化检测试剂盒标记染色,染色过程中切片均经微波加热进行抗原修复。实验步骤按试剂盒说明书进行。着色强度高于背景非特异性染色者为阳性。

1.3 ELISA 双抗体夹心方法检测前列腺癌患者血清中趋化因子的含量 利用上海博光科技有限公司提供的进口分装趋化因子 SDF-1 ELISA 双抗体夹心检测试剂盒,分别测定上述实验组和对照组血清中趋化因子 SDF-1 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(D)。建立标准曲线,求得趋化因子含量。

1.4 前列腺癌患者外周血中 PSA 的检测 用免疫荧光的方法对 45 名前列腺癌患者外周血中前列腺特异性抗原(PSA)进行检测,仪器为 Beckman Coulter 免疫发光仪,所用试剂购于杭州康大公司。

1.5 统计学处理 所有检测数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验进行组间比较。

2 结果

2.1 前列腺癌组织中趋化因子受体的表达 45 例前列腺癌组织中检测到 25 例表达 CXCR4,阳性率 55.5%,其中有淋巴结、骨或肺转移的 CXCR4 的表达率为 66.6%,未发生转移的 CXCR4 的表达率为 11.1%(两组比较, $P < 0.01$),未见有 CCR1、CCR3、CCR5 的阳性表达。10 例前列腺增生组织中均未检测到这 4 种趋化因子受体的表达。两组 CXCR4 阳性率差异显著($P < 0.01$)。

光镜下观察,CXCR4 的标准染色阳性为分布在胞质或胞膜周围的棕褐色颗粒。结果见图 1。

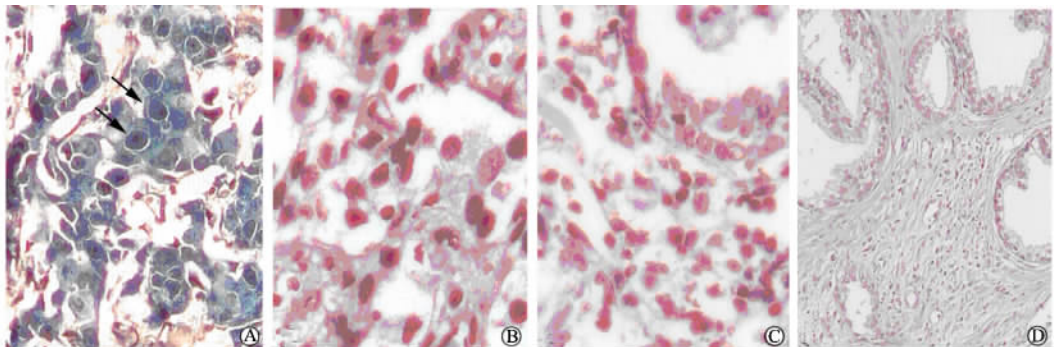


图 1 CXCR4 在前列腺癌组织的表达

Fig 1 Expression of CXCR4 in prostate carcinoma tissues

A: Prostate carcinoma; B: Prostate carcinoma (blank control); C, D: hyperplasia of prostate; A, B, C: $\times 400$; D: $\times 100$. Arrows in A showing positive staining of CXCR4

2.2 CXCR4基因在PCa组织中的表达与病理因素的关系 将PCa按组织分化程度(Gleason评分标准)分为高分化(1~4分)、中分化(4~7分)和低分化(8~10)3组,3组中CXCR4表达阳性率分别为1.5%(3/20)、70%(7/10)、100%(15/15)。高分化组与其他两组有显著差异($P<0.01$)。

按有无淋巴结或骨转移将PCa分为两组,转移组阳性率[66.6%(24/36)]明显高于无转移组[11.1%(1/9), $P<0.01$]。

2.3 血清中SDF-1含量 用ELISA检测前列腺癌患者和对照组血清中SDF-1的含量。发现前列腺癌患者外周血血清中SDF-1含量为(567.9±90.7) pg/ml,而对照组血清中SDF-1含量为(169.1±46.0) pg/ml。与对照组相比明显升高($P<0.05$)。

2.4 CXCR4的表达与PSA的关系 目前临床上广泛应用的血清前列腺特异性抗原(PSA)的检测在前列腺癌诊断方面有一定的价值,但也有其局限性,即PSA的升高,很大程度上意味着癌变已经发生而且无法判断其是否发生了转移。PSA>20 ng/ml的与PSA<20 ng/ml的前列腺癌组织上CXCR4的表达率分别为61.2%(19/31)和42.8%(6/14),两组相比虽然无显著性差异,但CXCR4表达率也有所提高。说明了PSA检测结果与CXCR4阳性结果的一致性。提示我们CXCR4的异常表达有可能成为一个比较好的临床检测前列腺癌的一个辅助手段。

3 讨论

趋化因子(chemokine)是一类对各种白细胞亚类如中性粒细胞,单核细胞或淋巴细胞都具有显著趋化作用的细胞因子,可由多种细胞产生,相对分子质量为7 000~14 000。根据其分子内特定半胱氨酸的数量及位置可分为CXC、CC、C、CX3C等4个家族,相应的趋化因子受体也分为CXCR、CCR、CR、CX3CR 4类。趋化因子通过与其受体结合而产生多种生理功能^[8],比如参与细胞的生长发育分化凋亡、淋巴细胞向炎症部位的聚集,病毒感染以及肿瘤的生长和转移等。趋化因子属G蛋白偶联的7次穿膜蛋白受体,趋化因子结合受体后诱导G蛋白复合物中的G α 亚基和G $\beta\gamma$ 亚基解离,G $\beta\gamma$ 亚基结合和活化磷脂酶C、磷脂酰肌醇3激酶和腺苷环化酶等引起一系列细胞内信号传递,使细胞活化,产生趋化运动,细胞定向迁移至趋化因子浓度较高的组织器官部位。其可能的机制包括一方面与趋化因子相互作用通过G蛋白受体偶联途径,最终产生刺激肿瘤生长增殖在内的多种作用^[9];另一方面趋化因子

和趋化因子受体的相互作用能引起胞膜的皱褶和伪足的形成从而诱导肿瘤细胞的趋化性迁移,最终诱导肿瘤细胞从原发部位黏附并通过细胞外基质膜和血管基底膜,进入血液循环并转移至特定的器官。Schrader等^[10]发现在肾癌中有趋化因子受体CXCR4的表达,而高分化乳腺癌MCF7系细胞表面也表达多种趋化因子受体,对多种CC和CXC趋化因子有应答^[11]。这些表明肿瘤组织或细胞分泌趋化因子和表达趋化因子受体具有一定的普遍性。随着细胞生物学与分子生物学理论和技术的发展,证实肿瘤细胞的转移亦受趋化因子及其受体的严格调控。Mashino等^[12]的实验证实,胃癌优先通过淋巴管转移到淋巴结最主要的原因就是由于胃癌表达CCR7,而CCR7与其配体CCL21之间的相互作用促进了胃癌细胞向淋巴结的转移。Muller等^[11]研究分析了乳腺癌常见的远处转移部位如肺、骨髓和肝脏后发现在肺组织中存在高浓度的SDF-1,而乳腺癌细胞表面大量表达CXCR4,趋化因子SDF-1与CXCR4结合后,能够诱导肌动蛋白的聚合和细胞伪足的形成,从而产生趋化运动和侵袭反应。

前列腺癌进程中CXCR4及其配体的作用渐渐引起人们的关注。国内外相关文献^[13~15]主要集中在细胞学水平上对趋化因子受体CXCR4与前列腺癌转移进行研究,有关前列腺癌组织中表达情况的报道较少,而有关CXCR4在不同病理分期的前列腺癌组织中的表达则未见报道。我们用免疫组织化学方法检测45例前列腺癌及10例前列腺增生组织中CCR1、CCR3、CXCR4、CCR5的表达情况,应用免疫发光方法检测了相应患者血清中PSA含量,并且探讨了CXCR4的表达与临床病理特征的关系。本实验显示,对照组组织中无CXCR4阳性表达,而在前列腺癌组织上有趋化因子受体CXCR4的表达(表达率55.5%),具有显著差别。而且根据前列腺癌Gleason评分发现,阳性表达率随着癌组织分化程度的降低而升高,低分化组和中分化组的阳性率显著高于高分化组($P<0.01$)。这说明CXCR4的异常表达贯穿于前列腺癌整个浸润过程,其阳性表达率与淋巴结转移或骨转移(发生转移的CXCR4的表达率为66.6%,未发生转移的CXCR4的表达率为11.1%)呈正相关,提示CXCR4在一定程度上参与了转移的过程。以上结果提示有CXCR4表达的PCa具有更强的侵袭能力,易发生淋巴结或骨转移。本研究ELISA实验检测到肿瘤患者血清中SDF-1的含量明显升高,与对照组相比具有显著意义($P<0.01$)。说明作为CXCR4的配体,SDF-1可

能会趋化表达 CXCR4 的肿瘤细胞至血液循环中从而利于癌细胞进一步转移至靶器官。另外,在 PSA 实验中发现 PSA > 20 ng/ml 的与 PSA < 20 ng/ml 的前列腺癌组织上 CXCR4 的表达率分别为 61.2% 和 42.8%,两组相比虽然无显著性差异,但 CXCR4 表达率也有所提高。说明了 PSA 检测结果与 CXCR4 阳性结果的一致性。提示我们 CXCR4 的异常表达有可能成为一个比较好的临床检测前列腺癌的一个辅助手段。同时,我们也看到,并不是所有的前列腺癌组织中 CXCR4 都呈阳性表达,说明 CXCR4 的表达并不是前列腺癌发生、发展的惟一原因,肿瘤的发生、发展涉及到多种因素的作用,单独一个基因的异常变化不一定会导致细胞癌变。因此,单独研究一个基因的变异在前列腺癌发生、发展过程中的作用比较局限,有必要就 CXCR4 与其他基因的表达情况作更多、更深入的研究。因为趋化因子受体作用网络和肿瘤生长转移的复杂性, CXCR4 在前列腺癌发生发展中的作用细节还需要进一步的研究和探索。我们的实验结果为研究前列腺癌的机理提供了新的线索,并且可能会给前列腺癌的临床治疗探索新的靶点和思路。

[参考文献]

- [1] 苏丽萍,张进平,徐焕军. CXCR4 在肺癌转移中的作用及其机制研究[J]. 中华医学杂志,2005,85:1190-1194
- [2] Koshiba T, Hosotani R, Miyamoto Y, et al. Expression of stromal cell derived factor 1 and CXCR4 ligand receptor system in pancreatic cancer; a possible role for tumor progression[J]. Clin Cancer Res, 2006; 3530-3535.
- [3] Geminder H, Sagi-Assif O, Goldberg L, 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]. J Immunol, 2001, 167: 4747-4757.
- [4] Robledo MM, Bartolome RA, Longe N, et al. Expression of functional chemokine receptors CXCR3 and CXCR4 on human melanoma cells[J]. J Biol Chem, 2001, 276: 45098-45105.
- [5] Mohle R, Schittenhelm M, Failenschmid C, et al. Functional response of leukaemic blasts to stromal cell derived factor-1 correlates with preferential expression of the chemokine receptor CXCR4 in acute myelomonocytic and lymphonlastic leukaemia [J]. Br J Haematol, 2001, 10: 563-572.
- [6] Zafiroopoulos A, Crikas N, Passam AM, et al. Significant involvement of CCR2-64I and CXCL12-3a in the development of sporadic breast cancer[J]. J Med Genet, 2004, 41: e59.
- [7] Manes 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.
- [8] Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors[J]. Annu Rev Immunol, 2000, 18: 217-242.
- [9] Frederick MJ, Clayman GL. Chemokines in cancer[J]. Exp Rev Mol Med, 2001, 18: 1-18.
- [10] Schrader AJ, Lechner O, Templin M, et al. CXCR4/CXCL12 expression and signalling in kidney cancer [J]. Br J Cancer, 2002, 86(8): 1250-1256.
- [11] Muller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. Nature, 2001, 410: 50-56.
- [12] Mashino K, Sadanaga N, Yamaguchi H, et al. Expression of chemokine receptor CCR7 is associated with lymph node metastasis of gastric carcinoma [J]. Cancer Res, 2002, 62: 2937-2941.
- [13] Robinson SC, Scott KA, Wilson JL, et al. A chemokine receptor antagonist inhibits experimental breast tumor growth [J]. Cancer Res, 2003, 63: 8360-8365.
- [14] Shim H, Lau SK, Devi S, et al. Lower expression of CXCR4 in lymph node metastases than in primary breast cancers: Potential regulation by ligand-dependent degradation and HIF-1alpha [J/OL]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 346: 252-258. [2006-05-26].
- [15] Stoff Khalili MA, Stoff A, Rivera AA, et al. Preclinical evaluation of transcriptional targeting strategies for carcinoma of the breast in a tissue slice model system [J/OL]. Breast Cancer Res, 2005, 7: R1141-R1152. [2005-11-16].

[收稿日期] 2006-03-15

[修回日期] 2006-08-21

[本文编辑] 尹 茶

《果蔬食疗妙方》已出版

本书由葛德宏主编,以“有问必答”和“友情提醒”的方式,介绍哪些果蔬具备哪些保健价值,哪些果蔬可以帮助哪些人远离疾病,哪些疾病怎样注意忌口,着重为补虚、健脑、延年和 29 种常见病患者逐一提供多种果蔬膳食处方。

由第二军医大学出版社出版、发行,ISBN 7-81060-556-9/R. 426,定价 18.00 元。

订购电话:021-65493093,地址:上海市翔殷路 800 号 第二军医大学出版社发行科,邮编 200433