

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00043

趋化因子受体 4 在胃癌组织中的表达与预后关系分析

朱志强, 宁忠良, 邵峰, 胡斌, 梁伟*

安徽医科大学附属省立医院普通外科, 合肥 230001

[摘要] **目的** 探讨胃癌组织中趋化因子受体 4(CXCR4)的表达与临床病理、术后肿瘤转移复发及预后的关系。**方法** 141例胃癌组织及癌旁组织取自安徽医科大学附属省立医院普通外科 2007 年 11 月至 2008 年 11 月间外科手术患者标本,用免疫组化检测胃癌、癌旁组织中 CXCR4 的表达,分析其与胃癌临床病理特征的关系,进行 3 年随访,分析胃癌组织中 CXCR4 表达与转移复发以及预后的相关性。**结果** CXCR4 在胃癌组织中阳性表达为 60.3%(85/141),在癌旁组织的表达为 26.2%(37/141),两组差异有统计学意义($P<0.05$)。胃癌组织中 CXCR4 表达与胃癌 TNM 分期、淋巴结转移、浸润深度、胰腺包膜累及与与否有关($P<0.05$)。多参数 Logistic 回归模型分析显示,淋巴结转移、胃癌术后复发与胃癌组织中 CXCR4 表达有关($P<0.05$)。胃癌 CXCR4 阳性表达组 3 年生存率低于阴性表达组(43.1% vs 56.6%, $P<0.05$)。**结论** CXCR4 在胃癌组织中存在过度表达,与胃癌淋巴结转移、术后转移复发呈正相关性,胃癌组织 CXCR4 阳性表达组生存率低于阴性表达组, CXCR4 有望作为预测胃癌淋巴转移、术后复发以及预后的指标。

[关键词] 胃肿瘤; CXCR4 受体; 复发; 转移; 预后

[中图分类号] R 735.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)01-0043-05

Expression of CXCR4 in gastric cancer and its relationship with patient prognosis

ZHU Zhi-qiang, NING Zhong-liang, SHAO Feng, HU Bin, LIANG Wei*

Department of General Surgery, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui, China

[Abstract] **Objective** To discuss the relationship of CXCR4 expression with clinical pathology, post-operative metastasis, recurrence and prognosis of gastric cancer patients. **Methods** A total of 141 gastric cancer tissues and the corresponding adjacent tissues were taken from patients who were treated in the Department of General Surgery, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University between November 2007 to November 2008. Immunohistochemistry was performed to detect the CXCR4 expression in the gastric cancer tissues and adjacent tissues; the relationship of CXCR4 expression with clinical pathology of the patients was analyzed. The relationship of CXCR4 expression with recurrence and prognosis was analyzed based on a 3 year-follow-up. **Results** The positive rate of CXCR4 was 60.3%(85/141) in gastric cancer tissues, which was significantly higher than that in the corresponding adjacent tissues 26.2%(37/141, $P<0.05$). CXCR4 expression in the gastric cancer tissues was positively correlated with the TNM stage, depth of invasion, invasion of the pancreas capsule, and lymphatic metastasis ($P<0.05$). Logistic multivariate regression analysis showed that lymphatic metastasis and recurrence after surgery were correlated with the expression of CXCR4 in gastric cancer tissues($P<0.05$). The 3-year survival rate of patients with CXCR4 expression was significantly lower than patients without CXCR4 expression(43.1% vs 56.6%, $P<0.05$). **Conclusion** CXCR4 is over-expressed in gastric cancer tissues, and the expression is positively correlated with the lymphatic metastasis and recurrence after surgery. CXCR4 positive patients have a lower survival rate than patients without CXCR4 expression; all these makes CXCR4 a possible molecular marker for lymphatic metastasis, postoperative recurrence and prognosis in gastric cancer.

[Key words] stomach neoplasms; CXCR4 receptors; recurrence; neoplasm metastasis; prognosis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(1): 43-47]

胃癌侵袭能力强,易发生淋巴转移,浸润程度与淋巴结的转移对其分期、预后有较大的影响。胃癌患者虽多能选择手术及化学治疗,但死亡原因多为

癌组织的浸润、转移。因此研究胃癌侵袭、扩散与转移,对提高患者的治愈率和生存率具有重要的意义。早期预测胃癌转移的发生,对于制定治疗方案、改善

[收稿日期] 2011-07-06

[接受日期] 2011-09-01

[作者简介] 朱志强, 硕士, 副主任医师. E-mail: zhuzhiqiang711010@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0551-2283325, E-mail: slliangwei@sina.com

预后十分有益。

趋化因子是一类能吸引或激活白细胞的促炎细胞因子,最近研究发现趋化因子受体 4(CXCR4)与多种肿瘤的侵袭和转移密切相关^[1-2]。淋巴结转移是胃癌重要的预后因素之一,CXCR4 能否成为特异性评价胃癌淋巴结转移潜能的分子标志物及其与胃癌远期预后的关系,其相关研究报道尚少。本实验应用免疫组织化学方法检测胃癌组织中 CXCR4 的表达情况,并对其与胃癌临床分期、浸润侵袭、淋巴结转移、术后转移复发及预后的相关性进行了探讨,现将结果报告如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 收集安徽医科大学附属省立医院普通外科在 2007 年 11 月至 2008 年 11 月间外科手术切除的 141 例患者胃癌组织标本(取距癌组织边缘 5 cm 的正常胃黏膜作为对照)。入选标准:(1)病理诊断证实;(2)行根治手术切除的胃癌;(3)术前未行放、化疗;(4)病历及随访资料完整。

141 例胃癌患者均行 D₂⁺根治术,手术切缘均未见胃癌细胞累及,通过门诊复查、电话联系或发放随访表格对其随访 3 年,3 年内肿瘤复发死亡者按复发病例处理,因其他疾病死亡者不列入本组资料。79 例术后有复发与转移。胃癌根治术后复发诊断标准:术后患者行常规化疗且定期复查。复查指标包括临床症状和体征、CEA 检测、B 超或 CT 检查,必要时行胃镜检查。复发部位分为吻合口复发、肝转移、腹膜播散、腹膜后间隙浸润复发、淋巴结及合并其他部位转移。

1.2 免疫组化检测 对所选标本的石蜡块进行 CXCR4 免疫组化方法测定。一抗(鼠抗人 CXCR4 单克隆抗体)购自武汉博士德生物技术有限公司,二抗(SP 免疫组化检测试剂盒及 DAB 显色剂)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。操作步骤按说明书书进行。

1.3 阳性结果判定 CXCR4 表达定位于细胞质/膜,以肿瘤细胞(癌旁组织中为腺上皮细胞)胞质/膜出现棕黄色颗粒为阳性细胞,阳性细胞计数仅限于肿瘤细胞/腺上皮细胞染色,间质染色除外。采用双盲法每例取 10 个不同高倍视野各计数 100 个细胞,按阳性细胞所占的百分比分为:(-)无阳性细胞或阳性癌细胞数≤10%;(+)阳性癌细胞数>10%。

1.4 统计学处理 所有资料用 Excel 软件建立数据库,计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据分析均用 SPSS 16.0 软件进行分析。阳性率的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验,采用多因素 Logistic 回归分析,两组生存率估计采用 Kaplan-Meier 生存曲线,两组生存率比较采用 Log-rank 检验。检验水平(α)为 0.05。

2 结果

2.1 CXCR4 在胃癌及癌旁组织中表达 胃癌组织免疫组化阳性结果见图 1A~1D,CXCR4 主要表达在胃癌细胞的胞膜及胞质中,呈均匀的棕黄色颗粒状染色(箭头所示)。胃癌组织中 CXCR4 阳性病例的百分比为 60.3%(85/141),而对照组 CXCR4 阳性表达为 26.2%(37/141),两组差异有统计学意义($P<0.05$)。

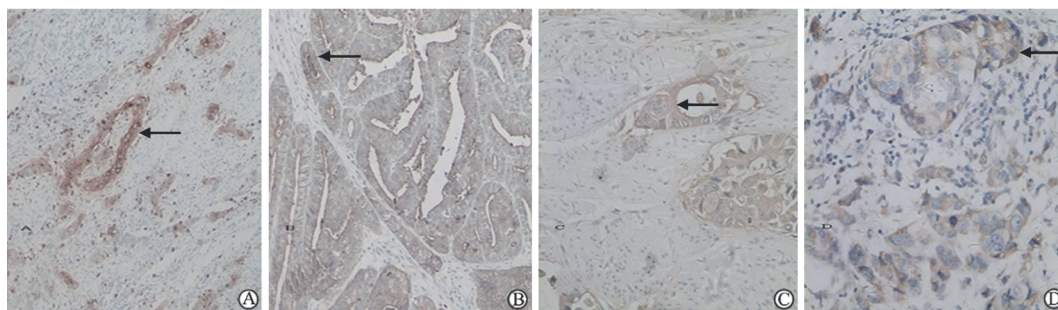


图 1 CXCR4 在胃癌组织中的阳性表达(SP 法)

Fig 1 Positive expression of CXCR4 in gastric cancer tissues(SP method)

A: Well differentiated adenocarcinoma; B,C: Moderately differentiated adenocarcinoma; D: Poorly differentiated adenocarcinoma. Arrows indicate the positive staining in gastric cancer (brown-yellow color). Original magnification:×200(A-C), ×400(D)

2.2 CXCR4 表达与胃癌临床病理特征的关系 胃癌组织中 CXCR4 表达与胃癌 TNM 分期、淋巴结转

移、浸润深度、胰腺包膜累及与否有关($P<0.05$),但与性别、年龄、组织学分化程度、肿瘤大小、肿瘤发生

部位无关($P>0.05$), 具体见表 1。

2.3 胃癌组织中 CXCR4 表达与淋巴转移的关系 141 例胃癌患者中, 有 98 例 (69.5%) 原发肿瘤的边缘存在转移淋巴结。对 98 例患者用多参数 Lo-

gistic 回归模型分析, 结果 (表 2) 显示, 淋巴结转移与胃癌组织中 CXCR4 表达、胃癌 TNM 分期、浸润深度及胰腺包膜累及与否有关 ($P<0.05$)。

表 1 胃癌组织中 CXCR4 表达与临床病理特征的关系

Tab 1 Correlation of CXCR4 expression with clinicopathologic features of gastric cancer tissues

Characteristics	N	CXCR4(+) n(%)	P	Characteristics	N	CXCR4(+) n(%)	P
Age(year)			0.370	Tumor location			0.098
<60	87	51(58.6)		Lower _{1/3}	58	33(56.9)	
≥60	54	34(63.0)		Middle _{1/3}	61	39((63.9))	
Gender			0.251	Upper _{1/3}	22	13(59.1)	
Male	103	59(57.3)		Lymph node metastasis			0.008*
Female	38	26(68.4)		No	43	10(23.3)	
Tumor histologic type			0.213	Yes	98	75(76.5)	
Highly differentiated	56	31(55.4)		Depth of tumor invasion			0.045*
Poorly differentiated	85	54(63.5)		T1-T2	28	9(32.1)	
Tumor size d/cm			0.214	T3-T4	113	76(67.3)	
≥5	70	45(64.3)		Invasion of the pancreas capsule			0.014*
<5	71	40(56.3)		No	120	67(55.8)	
Tumor stage			0.038*	Yes	21	18(85.7)	
I, II	33	15(45.5)					
III, IV	108	70(64.8)					

χ^2 test. * $P<0.05$

表 2 胃癌组织中 CXCR4 表达与淋巴结转移的关系

Tab 2 Correlation of CXCR4 expression with lymph node metastasis in gastric cancer tissues

Variables	β	P	95%CI for OR
Tumor histologic type	-0.65	0.195	0.195-1.395
Tumor size	-7.04	0.370	0.106-2.308
Depth of tumor invasion	-0.420	0.0054*	0.321-0.603
Tumor stage	-1.75	0.004*	0.550-0.580
Tumor location	0.58	0.228	0.613-5.197
Invasion of the pancreas capsule	-1.7448	0.0000*	2.637-12.427
CXCR4 expression in tumor	0.8804	0.0007*	0.153-0.802

Multiple logistic regression analysis. * $P<0.05$

2.4 胃癌组织中 CXCR4 表达与术后转移复发的关系 对 141 例胃癌患者随访 3 年, 其中有 79 例术后复发转移。用多参数 Logistic 回归模型分析显

示, 胃癌术后复发与胃癌组织中 CXCR4 表达、胃癌 TNM 分期、浸润深度、胰腺包膜累及与否、淋巴结转移等因素有关 ($P<0.05$, 表 3)。

表 3 胃癌组织中 CXCR4 表达与胃癌术后复发的关系

Tab 3 Correlation of CXCR4 expression with tumor postoperative recurrence in gastric cancer tissues

Variables	β	P	95%CI for OR
Tumor histologic type	-0.287	0.880	0.320-56.160
Tumor size	0.759	0.480	0.002-1.869
Depth of tumor invasion	-0.184	0.005*	0.321-0.603
Tumor stage	-2.148	0.036*	0.016-0.871
Tumor location	1.530	0.455	0.870-23.245
Invasion of the pancreas capsule	0.168	0.005*	0.007-0.539
Lymph node metastasis	0.118	0.009*	0.020-0.629
CXCR4 expression in tumor	0.417	0.017*	0.045-0.842

Multiple logistic regression analysis. * $P<0.05$

2.5 胃癌组织中 CXCR4 表达与术后生存率的关系 对 141 例患者随访 3 年,胃癌组织 CXCR4 表达阴性组 3 年生存率为 56.6%,表达阳性组为 43.1%,两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。

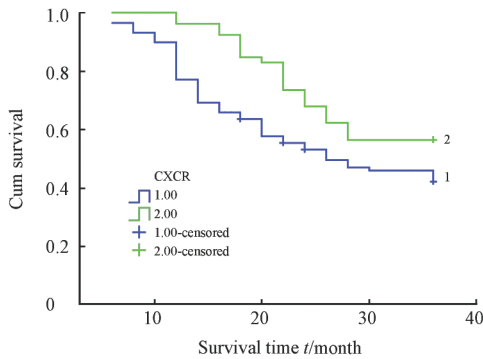


图 2 141 例胃癌患者的累积生存曲线

Fig 2 Survival curves for 141 patients with gastric cancer
Log-rank $P = 0.036$. 1: CXCR4 positive expression; 2: CXCR4 negative expression

3 讨论

近年来研究发现 SDF-1/CXCR4 相互作用构成的反应轴在多种肿瘤侵袭和器官特异性转移中发挥重要作用^[3-4],肿瘤组织高表达特异的趋化因子受体,同时有些器官高表达其相应的趋化因子配体,肿瘤细胞借助趋化因子与其受体的特异结合力,可实现向这些器官特异性的转移。CXCR4 不仅表达于细胞表面而且也可在胞质中检测到^[5]。多种不同类型的恶性肿瘤组织均表达 CXCR4^[6-7],Lee 等^[8]对 MKN-28、MKN-45、MKN-74、SNU16、KATO III 在内的 5 个胃癌细胞系进行研究,结果表明 CXCR4 参与了胃癌的演进。本研究结果显示,CXCR4 在胃癌组织及癌旁组织中均有表达,阳性率分别为 60.3% (58/141)、26.3% (37/141),提示 CXCR4 可能与胃癌的发生、发展有关。

体外实验中用激光共聚焦显微镜观察到,100 nmol/L 的 SDF-1 可使乳腺癌细胞内的丝状肌动蛋白(F2 肌动蛋白)显著增加,细胞形成明显的伪足,并呈剂量依赖性诱导乳腺癌细胞定向迁移和侵袭,而抗 CXCR4 抗体可阻断这一效应^[9]。Kato 等^[10]曾对 79 例手术切除的乳腺浸润性导管癌组织进行研究,观察到所有患者的癌组织均表达 CXCR4,其表达水平与淋巴结转移范围正相关。Schimanski 等^[11]发现原发性肝癌 CXCR4 的表达与肿瘤大小、淋巴结转移、肿瘤可切除性及预后有关,与 p53 失真

无关,认为 CXCR4 与原发肝癌浸润和侵袭转移有关。Hashimoto 等^[12]研究发现,CXCR4/mTOR 信号通路在胃癌细胞株 NUGC4 腹膜转移中起了重要作用,同时用药物阻断该通路可以减少其转移且诱导肿瘤细胞凋亡,认为阻断 CXCR4/mTOR 信号通路是一种抑制胃癌腹膜转移良好的治疗策略。这些研究表明 CXCR4 与多种肿瘤的侵袭、转移有关。本研究采用免疫组织化学 SP 法检测胃癌组织中 CXCR4 的表达,研究表明胃癌组织中 CXCR4 表达与胃癌 TNM 分期、浸润深度、胰腺包膜累及与否有关($P < 0.05$),T3 与 T4、Ⅲ和Ⅳ期以及有淋巴结转移、胰腺包膜有肿瘤累及者其 CXCR4 阳性表达率明显高于 T1 与 T2、I 和 II 期、无淋巴结转移、胰腺包膜未被肿瘤累及者,CXCR4 表达上调可能促进胃癌细胞异常增殖,与胃癌的侵袭与进展有关。

在胃癌手术治疗、化疗以及放疗等综合治疗后,预测肿瘤复发与转移、评估胃癌的预后是提高胃癌生存率的关键,目前国内外对评价胃癌预后尚无特异性的肿瘤标志物。淋巴结是胃癌最常见的转移部位,而且淋巴结转移是胃癌公认的一个重要的预后因素^[13-15]。虽然研究表明 CXCR4 参与了多种恶性肿瘤的淋巴结转移^[16-18],但迄今为止关于 CXCR4 与胃癌淋巴转移及预后关系仍存有争议。Kwak 等^[19]对 307 块胃癌组织行免疫组化检测,认为 CXCR4 表达与肿瘤分化、Lauren 分类、T 分期等相关,而与淋巴结转移无显著相关性($P > 0.05$),说明 CXCR4 不能评估胃癌预后。然而 Zhao 等^[20]研究发现 CXCR4 表达与胃癌分期及淋巴结转移正相关。Arigami 等^[21]的研究亦提示胃癌组织 CXCR4 的表达可预测肿瘤的淋巴结转移及淋巴结微转移。

本研究对临床资料采用多参数 Logistic 回归模型进行分析,结果显示淋巴结转移、胃癌术后复发均与胃癌组织中 CXCR4 表达相关,推测高表达 CXCR4 的胃癌细胞较易被高表达其配体 SDF-1 的淋巴结、腹膜等器官吸引,从而较易实现特异性的转移。通过进一步对病例随访发现胃癌 CXCR4 阳性表达组 3 年生存率低于阴性表达组 (43.1% vs 56.6%),这与 Kwak 等^[19]的研究结果不同,提示 CXCR4 的检测有望作为预测胃癌淋巴转移、术后复发转移以及预后的指标。近年来越来越多的研究人员开始关注 CXCR4 在胃癌中的表达对评价预后是否有意义,这有待于我们今后进一步采用 real-time PCR 方法检测和扩大样本量来研究。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Wu M H, Chen Q, Li D, Li X, Huang C, Tang Y, et al. LRRC4 inhibits human glioblastoma cells proliferation, invasion and proMMP-2 activation by reducing SDF-1/CXCR4-mediated ERK1/2 and AKT signaling pathways[J]. *Cell Biochem*, 2008, 103:245-255.
- [2] Phillips R J, Burdick M D, Lutz M, Belperion J A, Keane M P, Strieter R M. The stromal derived factor-1/CXCL12-CXC chemokine receptor 4 biological axis in non-small cell lung cancer metastases[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167: 1676-1686.
- [3] Balakin K V, Ivanenkov Y A, Tkachenko S E, Kiselyov A S, Ivachtchenko A V. Regulators of chemokine receptor activity as promising anticancer therapeutics[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2008, 8:299-340.
- [4] Takeuchi H, Kitago M, Hoon D S. Effects of chemokines on tumor metastasis[J]. *Cancer Treat Res*, 2007, 135:177-184.
- [5] Kollet O, Petit I, Kahn J, Samira S, Dar A, Peled A, et al. Human CD34⁺ CXCR4⁺ sorted cells harbor intracellular CXCR4, which can be functionally expressed and provide NOD/SCID repopulation[J]. *Blood*, 2002, 100:2778-2786.
- [6] Chan C C, Shen D, Hackett J J, Buqqaq R R, Tuailon N. Expression of chemokine receptors, CXCR4 and CXCR5, and chemokines, BLC and SDF-1, in the eyes of patients with primary intraocular lymphoma [J]. *Ophthalmology*, 2003, 110:421-426.
- [7] Balkwill F. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4[J]. *Semin Cancer Biol*, 2004, 4: 171-179.
- [8] Lee H J, Kim S W, Kim H Y, Li S, Yun H S, Kim S, et al. Chemokine receptor CXCR4 expression, function, and clinical implications in gastric cancer[J]. *Int J Oncol*, 2009, 34:473-480.
- [9] Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan M E, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. *Nature*, 2001, 410:50-56.
- [10] Kato M, Kitayama J, Kazama S, Nagawa H. Expression pattern of CXC chemokine receptor-4 is correlated with lymph node metastasis in human invasive ductal carcinoma[J]. *Breast Cancer Res*, 2003, 5:R144-R150.
- [11] Schimanski C C, Bahre R, Gockel I, Müller A, Frerichs K, Hörner V, et al. Dissemination of hepatocellular carcinoma is mediated via chemokine receptor CXCR4 [J]. *Br J Cancer*, 2006, 95:210-217.
- [12] Hashimoto I, Koizumi K, Tatematsu M, Minami T, Cho S, Takano N, et al. Blocking on the CXCR4/mTOR signalling pathway induces the anti-metastatic properties and autophagic cell death in peritoneal disseminated gastric cancer cells[J]. *Eur J Cancer*, 2008, 44:1022-1029.
- [13] Kwon S J, Kim G S. Prognostic significance of lymph node metastasis in advanced carcinoma of the stomach[J]. *Br J Surg*, 1996, 83:1600-1603.
- [14] Takagane A, Terashima M, Abe K. Evaluation of the ratio of lymph node metastasis as a prognostic factor in patients with gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 1999, 2:122-128.
- [15] Nitti D, Marchet A, Olivieri M, Ambrosi A, Mencarelli R, Belluco C, et al. Ratio between metastatic and examined lymph nodes is an independent prognostic factor after D2 resection for gastric cancer: analysis of a large European monoinstitutional experience[J]. *Ann Surg Oncol*, 2003, 10:1077-1085.
- [16] Yoshitake N, Fukui H, Yamagishi H, Sekikawa A, Fujii S, Tomita S, et al. Expression of SDF-1 alpha and nuclear CXCR4 predicts lymph node metastasis in colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2008, 98:1682-1689.
- [17] Hu J, Deng X, Bian X, Li G, Tong Y, Li Y, et al. The expression of functional chemokine receptor CXCR4 is associated with the metastatic potential of human nasopharyngeal carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11:4658-4665.
- [18] Yasuoka H, Kodama R, Hirokawa M, Takamura Y, Miyauchi A, Sanke T, et al. CXCR4 expression in papillary thyroid carcinoma: induction by nitric oxide and correlation with lymph node metastasis[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8:274.
- [19] Kwak M K, Hur K, Park D J, Lee H J, Lee H S, Kim W H, et al. Expression of chemokine receptors in human gastric cancer [J]. *Tumor Biol*, 2005, 26:65-70.
- [20] Zhao B C, Wang Z J, Mao W Z, Ma H C, Han J G, Zhao B, et al. CXCR4/SDF-1 axis is involved in lymph node metastasis of gastric carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17: 2389-2396.
- [21] Arigami T, Naatsugoe S, Uenosono Y, Yanagita S, Arima H, Hirata M, et al. CCR7 and CXCR4 expression predicts lymph node status including micrometastasis in gastric cancer[J]. *Int J Oncol*, 2009, 35:19-24.

[本文编辑] 尹 茶