

CXCR4 的表达与肺腺癌顺铂耐药的临床研究

谢颂平,康敬军,江文洋,黄杰,毛志福,梁健,付印

(武汉大学人民医院,湖北 武汉 430060)

摘要: [目的] 分析 CXCR4 在肺腺癌中的表达及其与铂类耐药的关系。[方法] 采用免疫组化 SP 法检测 CXCR4 在 71 例ⅢA 期肺腺癌中的表达,分析其表达与肺腺癌顺铂耐药及预后的关系。[结果] CXCR4 在 71 例ⅢA 期肺腺癌中的阳性表达率为 85.9%。耐药组肺癌患者与敏感组相比,CXCR4 表达升高,且预后差,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。[结论] CXCR4 蛋白阳性表达与ⅢA 期肺腺癌顺铂耐药有关。

关键词: 肺肿瘤;腺癌;CXCR4;顺铂;耐药

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2015)07-0539-03

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2015.07.B001

Expression of CXCR4 and Cisplatin-resistance in Lung Adenocarcinoma

XIE Song-ping, KANG Gan-jun, JIANG Wen-yang, et al.

(Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the relationship of CXCR4 expression with cisplatin resistance in lung adenocarcinoma. [Methods] Expression of CXCR4 in 71 specimens of lung adenocarcinoma stageⅢA was detected immunohistochemically. The relationship of CXCR4 expression with cisplatin resistance and prognosis were analyzed. [Results] The positive rate of CXCR4 in lung adenocarcinoma was 85.9%(61/71). Patients in cisplatin-resistant group had higher expression rate of CXCR4 and worse prognosis compared with patients in cisplatin-sensitive group ($P<0.05$). [Conclusion] An elevated expression of CXCR4 is correlated with cisplatin resistance in lung adenocarcinoma patients.

Subject words: lung neoplasms; adenocarcinoma; CXCR4; cisplatin; drug resistance

肺癌是目前发病率和死亡率最高的恶性肿瘤,在手术的基础上联合顺铂为主的化疗已成为治疗肺癌的主要方案。化疗具有减少术后肿瘤细胞的残留及防止复发的作用。但由于肿瘤细胞对某些药物具有耐药性,导致目前多种化疗药物及多种化疗方案的疗效并不理想。探索肺癌的耐药机制是解决耐药问题、改善化疗效果的关键,也是目前肺癌研究的热点。趋化因子受体 CXCR4 属于 G 蛋白耦联的 7 次跨膜蛋白,目前研究发现 CXCR4 与多种恶性肿瘤的发生、增殖、浸润和转移有关,在肺腺癌中呈高表

达,但关于 CXCR4 的表达与肺腺癌顺铂耐药的关系少见报道。本研究目的是就此进行探讨,以期为顺铂耐药的肺腺癌的治疗提供实验室依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集自 2010 年 1 月至 2011 年 6 月在武汉大学人民医院胸外科就诊的临床病理资料完整的肺癌患者 71 例。均经病理诊断证实为ⅢA 期肺腺癌。年龄 47~67 岁,平均年龄 52.7 岁;女性 25 例,男性 46 例。其中高中分化 39 例,低分化 32 例。

1.2 铂类敏感与铂类耐药的标准

术后均以 GP 方案辅助化疗,吉西他滨 1000mg/m²,

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(2014CFA070)

通讯作者: 黄杰,主任,教授,主任医师,硕士生导师;武汉大学人民医院胸外科;湖北省武汉市解放路 238 号(430060);E-mail: doctor_huangjie@126.com

谢颂平与康敬军为共同第一作者

收稿日期: 2014-11-03; **修回日期:** 2014-12-15

iv, d_{1,8}, 顺铂 30mg/m², ivgtt, d₁₋₃, 每 21d 为 1 个周期, 连续化疗 4 个周期, 并对患者进行随访观察。以患者接受肺癌根治术的时间作为术后生存起始时间展开随访, 术后 2 年内每 3 个月 1 次, 3~5 年每半年 1 次 (化疗期间按化疗周期进行)。检查项目包括胸部 CT、脑 CT、腹部超声、全身骨扫描, 部分患者行正电子发射计算机断层扫描 (PET-CT) 检查, 评价患者生存情况。无病间隔至少超过 12 个月者被认为是对铂类敏感的患者; 无病间隔小于 12 个月被认为对铂类耐药。生存期自接受肺癌根治术开始至死亡或末次随访日止, 以月计。

1.3 检测方法

兔抗人单克隆抗体 CXCR4 购自英国 Abcam 公司, SP 免疫组化试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。将所有石蜡切片进行 2μm 切片, 进行 Streptavidin-Peroxidase 染色法: 将切片脱蜡至水; 3% H₂O₂ 孵育 30min 对内源性过氧化物酶进行灭活; 枸橼酸钠缓冲液 PBS 进行抗原修复, 滴加山羊血清封闭非特异性抗原; 滴加一抗 CXCR4 (1:50) 4℃过夜; 滴加二抗, 室温下孵育 30min, 然后 DAB 染色, 苏木素复染, 常规脱水, 透明, 干燥, 封片。

1.4 结果判定标准

CXCR4 表达于癌细胞的细胞膜和细胞质, 呈淡黄色至棕黄色, 有时可呈“菊花样”巢状分布, 细胞核不染色。由两名病理科医生双盲观测, 400 倍光镜下随机选取 10 个视野。共计数 1000 个肿瘤细胞, 以定位明确、染色明显为标准, 计算阳性细胞百分数。阳性细胞数 < 20% 为阴性表达, ≥ 20% 为阳性

表达。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件, 统计方法采用 χ^2 检验。生存期采用 Kaplan-Meier 方法进行分析, 生存期比较采用 Log-rank 检验, 为排除非肿瘤性致死因素的干扰, 生存期计算时剔除术后 1 个月内死亡的病例。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

本组患者的肺癌组织中 CXCR4 的阳性表达率为 85.9% (61/71)。至术后 12 个月时, 本组共有 29 例患者被认定为顺铂耐药, 即耐药组 29 例, 敏感组 42 例; 两组在性别、年龄和分化程度上差异无统计学意义。转移部位为淋巴结转移 4 例、脑转移 2 例、双肺转移 2 例、骨转移 5 例、肝转移 3 例; 死亡 13 例。

在 29 例顺铂耐药组肺癌患者中, CXCR4 呈阳性表达者 28 例 (96.5%); 顺铂敏感组 42 例肺癌患者中 CXCR4 呈阳性表达者 33 例 (78.6%) (Figure 1)。可见耐药组与敏感组相比, CXCR4 表达升高, CXCR4 的表达在耐药组与敏感组中差异有统计学意义 ($\chi^2=4.58, P<0.05$)。

本研究随访截止时间为 2014 年 6 月, 无一例失访。本组 IIIA 期肺腺癌患者 1、2、3 年生存率分别为 81.7%、46.5% 和 33.8%; 平均生存时间为 24.2 个月。顺铂耐药组和顺铂敏感组生存曲线 (Figure 2), 经 Log-rank 检验, $\chi^2=22.64, P<0.05$, 差异有统计学意义。

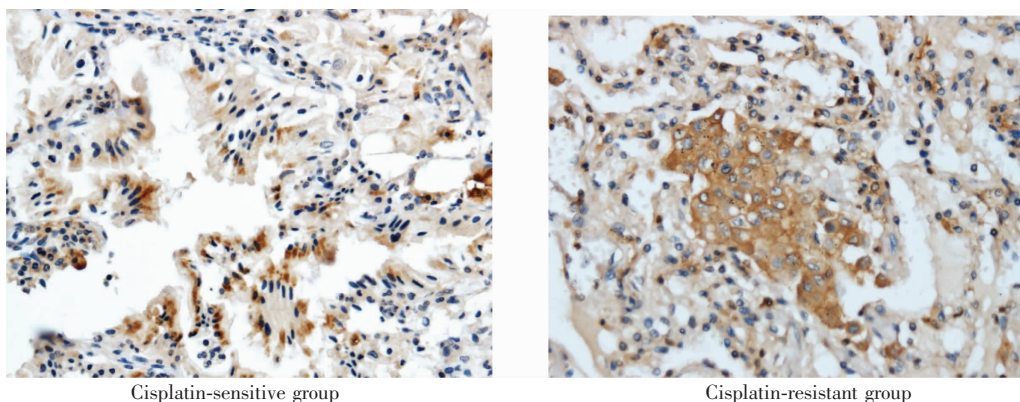
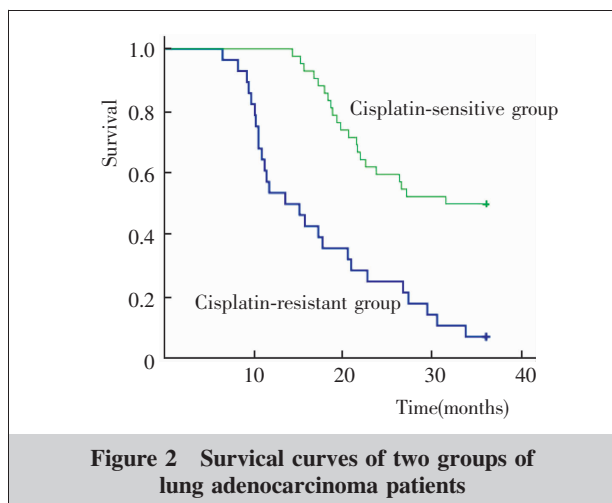


Figure 1 Expression of CXCR4 in cisplatin-sensitive group and cisplatin-resistant group (×400)



3 讨论

目前 NSCLC 肺癌一线化疗方案多采用铂类为主联合吉西他滨、长春瑞滨、紫杉醇或多西他赛的化疗方案^[1]。然而,肺癌的顺铂耐药问题十分突出,致使许多患者化疗效果不佳,或者即使初治效果较好,但再次治疗效果甚微或无效。一些研究已发现导致铂类耐药的因素,比如铂类药物的转运、解毒、DNA 损伤及凋亡蛋白等,但具体的耐药机制尚不明确。

CXCL12 为 CXCR4 趋化因子家族成员,其主要由肿瘤微环境中的成纤维细胞、内皮细胞与炎症细胞等分泌。CXCR4 是 CXCL12 的特异性受体,为七次跨膜 G 蛋白偶联受体。文献报道 CXCR4 在多种恶性肿瘤的发生发展和转移中起重要作用,且与肿瘤的转移和不良预后密切相关^[2]。研究发现 CXCR4 在肺癌组织中的表达高于癌旁组织;并且在伴有淋巴结转移或远处器官转移的肿瘤组织中高表达^[3-5]。Giulia 等^[6]研究发现,应用顺铂对不同肺癌细胞株裸鼠移植瘤化疗 1 周后,CXCR4、CD133 双阳性细胞亚群比例明显上升,这表明 CXCR4 阳性肺癌细胞可能与肿瘤耐药相关;而 Domanska 等^[7]研究发现通过采用 AMD3100 阻断前列腺癌的 CXCR4 受体,可以增强前列腺癌的化疗敏感性。也有研究发现肿瘤细胞黏附间质细胞后可避免细胞毒性药物的杀伤作用,导致癌细胞耐药^[8];而肿瘤细胞通过高表达 CX-

CR4 可以稳固黏附间质细胞。我们通过免疫组化发现耐药组肺癌患者与敏感组相比,CXCR4 表达升高,两组差异有统计学意义($P<0.05$)。以上证据结合我们的研究结果支持 CXCR4 可能具有潜在的促进肺癌顺铂耐药作用,但作用效果和具体信号途径如何,仍需要我们进一步实验探索。

参考文献:

- [1] Li CH,Liu MY,Liu W,et al. Randomized control study of nedaplatin or cisplatin concomitant with other chemotherapy in the treatment of advanced non-small cell lung cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2014,15(2):731-736.
- [2] Scala S,Ottiano A,Ascierto PA,et al. Expression of CXCR4 predicts poor prognosis in patients with malignant melanoma[J]. Clin Cancer Res,2005,11(5):1835-1841
- [3] Pfeiffer M,Hartmann TN,Leick M,et al. Alternative implication of CXCR4 in JAK2/STAT3 activation in small cell lung cancer[J]. Br J Cancer,2009,100(12):1949-1956.
- [4] Xie SP,Zeng WH,Zuo T,et al.Expression of chemokines receptor-4 and vascular endothelial growth factor in non-small lung cancer [J].Chinese Journal of Experimental Surgery,2012,29(11):2307-2308.[谢颂平,曾文慧,左涛,等.趋化因子受体 4、血管内皮生长因子在非小细胞肺癌组织中的表达及其意义 [J]. 中华实验外科杂志,2012,29(11):2307-2308.]
- [5] Xie SP,Zeng WH,ZUO T,et al.Expression of chemokines receptor 4 and vascular endothelial growth factor in primary lung carcinoma and its brain metastatic foci[J].Chinese Journal of Experimental Surgery,2012,29(12):2525-2526.[谢颂平,曾文慧,左涛,等.趋化因子受体 4 和血管内皮生长因子在肺癌及其脑转移瘤的表达和意义[J].中华实验外科杂志,2012,29(12):2525-2526.]
- [6] Bertdini G,Boz L,Perego P,et al.Highly tumorigenic lung cancer CD133⁺ cells display stem-like features and are spared by cisplatin treatment [J]. PNAS,2009,106(38):16281-16286.
- [7] Domanska UM,Timmer-Bosscha H,Nagengast WB,et al. CXCR4 inhibition with AMD3100 sensitizes prostate cancer to docetaxel chemotherapy[J]. Neoplasia,2012,14(8):709-718
- [8] Li ZW,Dalton WS. Tumor microenvironment and drug resistance in hematologic malignancies[J]. Blood Rev,2006,20(6):333-342.