

趋化因子受体 CXCR4 和 VEGF-C 蛋白在食管癌组织中的表达及临床意义

谢颂平,左涛,康敢军,范国华,黄杰,刘军韬,汪巍
(武汉大学人民医院,湖北 武汉 430060)

摘要:[目的] 探讨趋化因子受体(CXCR4)和血管内皮生长因子(VEGF-C)在食管癌组织中的表达情况,及其在食管癌发生、浸润、转移中的作用。[方法] 应用免疫组织化学方法检测 82 例食管癌组织、20 例正常食管组织中 CXCR4、VEGF-C 表达情况,并分析其与临床病理参数的关系。[结果] CXCR4 在 82 例食管癌组织中的阳性表达率为 64.6%,CXCR4 表达与食管癌患者年龄、性别无关($P>0.05$),而与分化程度、病理类型、TNM 分期、浸润深度和淋巴结转移有相关性($P<0.05$)。VEGF-C 在 82 例食管癌组织中的阳性表达率为 74.4%,VEGF-C 表达与食管癌患者年龄、性别、分化程度和病理类型无关($P>0.05$),而与 TNM 分期、浸润深度和淋巴结转移有相关性($P<0.05$)。[结论] CXCR4 和 VEGF-C 在食管癌组织中呈高表达,且与食管癌细胞侵袭、转移和淋巴结转移相关,在促进食管癌侵袭和转移中可能存在协同作用。

关键词:食管癌;CXCR4;血管内皮生长因子

中图分类号:R735.1 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2013)11-0914-04

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2013.11.A016

Expressions of Chemokine Receptor CXCR4 and VEGF-C Protein in Esophageal Carcinoma and Their Significance

XIE Song-ping, ZUO Tao, KANG Gan-jun, et al.

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

Abstract:[Purpose] To investigate the expressions of chemokine receptor (CXCR4) and vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) in esophageal carcinoma tissues, and their roles in tumorigenesis, invasion and metastasis. [Methods] Immunohistochemistry was applied to detect the expression of CXCR4 and VEGF-C in 82 samples of esophageal cancer tissue and 20 samples of normal esophageal tissue. The relationship between CXCR4, VEGF-C expression and the clinicopathological features were analyzed. [Results] Positive expression rates of CXCR-4 and VEGF-C were 64.6% and 74.4% respectively in esophageal cancer tissue. CXCR4 correlated to pathologic grade, histological type, clinical staging, invasion depth and lymph node metastasis (P all <0.05), but it did not correlate to gender and age ($P>0.05$). VEGF-C correlated to clinical staging, invasion depth and lymph node metastasis (P all <0.05), and did not correlate to gender, age, pathologic grade and histological type ($P>0.05$). [Conclusion] High expression of CXCR-4 and VEGF-C exists in esophageal cancer. CXCR-4 and VEGF-C might play synergistic effect in cancer metastasis, invasion and lymph node metastasis in esophageal cancer.

Key words: esophageal cancer; CXCR4; VEGF-C

食管癌是常见的消化道肿瘤之一,淋巴结转移是食管癌的主要转移方式。研究发现趋化因子 CXCR4 在食管癌组织中呈高表达,并介导食管癌细胞的迁移,在食管癌生长、转移中发挥重要作用^[1,2]。Strieter 等^[3]认为 CXCR4 类趋化因子具有刺激肿瘤血

管生成的作用。血管内皮生长因子 C (VEGF-C) 是血管内皮生长因子家族的成员之一,具有促进血管内皮细胞增殖、迁移、血管生成以及淋巴管生成等作用。本研究通过免疫组织化学方法检测食管癌组织中 CXCR4 和 VEGF-C 的表达及其与临床病理参数之间的关系,探讨食管癌淋巴道转移的机制。

收稿日期:2013-04-15;修回日期:2013-06-06

通讯作者:黄杰, E-mail: doctor_huangjie@126.com

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2010 年 5 月至 2011 年 5 月在武汉大学人民医院胸外科行手术切除的食管癌患者 82 例(含食管胃交界处癌 27 例)。手术前所有病例均未行化学药物治疗或放射治疗,所有标本均经病理组织学确诊为食管癌。其中男性 68 例,女性 14 例。年龄 47~79 岁,平均年龄 57.5 岁。TNM 分期:Ⅰ~Ⅱ期 63 例,Ⅲ期 19 例。病理组织学类型:鳞癌 55 例,腺癌 27 例。非淋巴结转移 50 例,伴淋巴结转移 32 例。肿瘤浸润深度:浅肌层 22 例,深肌层 39 例,侵犯周围组织 21 例。取 20 例距癌组织边缘大于 5cm 处的正常食管组织作为对照。

1.2 检测方法

SP 免疫组化试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,鼠抗人单克隆抗体 CXCR4、VEGF-C 购自武汉博士德公司。石蜡切片切至 2 μ m,行 SP 染色:切片脱蜡水化;3% H_2O_2 孵育 30min 灭活内源性过氧化物酶;枸橼酸钠缓冲液 PBS 修复抗原,滴加山羊血清封闭非特异性抗原;滴加一抗(浓缩液 1:100 稀释)4℃过夜,滴加二抗,室温下孵育 30min,DAB 染色,苏木素复染,常规脱水,透明,干燥,封片。

1.3 结果判定

CXCR4 表达于癌细胞的细胞膜和细胞质,呈黄色;VEGF-C 以细胞浆、细胞膜或间质呈棕色颗粒或团块为阳性。由两名病理科医生双盲法进行观测,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。

1.4 统计学处理

应用 SPSS13.0 软件进行分析,率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 CXCR4 和 VEGF-C 在食管癌组织和癌旁正常组织中的表达

CXCR4 在食管癌组织和癌旁正常组织中的阳性表达率分别为 64.6%(53/82)和 0(0/20),两者差

异具有统计学意义($\chi^2=26.91, P<0.05$)(Figure 1)。VEGF-C 在食管癌组织和癌旁正常组织中的阳性表达率分别为 74.4%(61/82)和 10%(2/20),两者差异也具有统计学意义($\chi^2=28.23, P<0.05$)(Figure 2)。

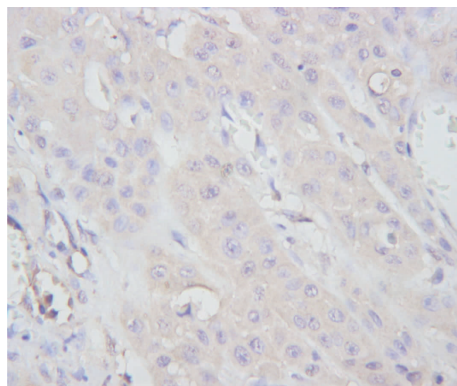


Figure 1 Expression of CXCR4 in esophageal cancer tissue($\times 400$)

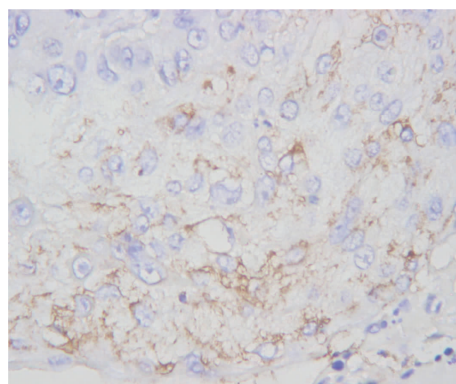


Figure 2 Expression of VEGF-C in esophageal cancer tissue($\times 400$)

2.2 CXCR4 和 VEGF-C 与临床病理参数的关系

CXCR4 在食管癌组织中的表达与患者年龄、性别等无相关性($P>0.05$),而与组织分化程度、癌肿食管壁浸润深度、TNM 分期、病理类型和淋巴结转移具有相关性。低分化组食管癌组织的 CXCR4 阳性表达率(88.5%)高于高、中分化组(53.5%)。CXCR4 阳性表达率随食管壁肌层浸润深度而增加,由食管壁浅肌层的 45.5%增加至食管壁外层的 85.7%。临床Ⅰ~Ⅱ期和Ⅲ期食管癌组织 CXCR4 蛋白阳性表达率分别为 58.7%和 84.2%。淋巴结转移组食管癌 CXCR4 蛋白阳性表达率为 84.3%,无淋巴结转移组

Table 1 Relationship between CXCR4, VEGF-C expression and clinicopathological features

Clinicopathological features	N	CXCR4				VEGF-C			
		Negative(n)	Positive(n)	χ^2	P	Negative(n)	Positive(n)	χ^2	P
Age(years)				0.208	>0.05			0.023	>0.05
<60	48	16	32			12	36		
≥60	34	13	21			9	25		
Gender				0.001	>0.05			0.078	>0.05
Male	68	24	44			17	51		
Female	14	5	9			4	10		
Clinical staging				4.146	<0.05			5.373	<0.05
I ~ II	63	26	37			20	43		
III	19	3	16			1	18		
Clinical differentiation				9.456	<0.05			0.813	>0.05
High~middle	56	26	30			16	40		
Low	26	3	23			5	21		
Lymphatic metastasis				8.947	<0.05			4.734	<0.05
No	50	24	26			17	33		
Yes	32	5	27			4	28		
Histological type				4.998	<0.05			0.001	>0.05
Adenocarcinoma	27	5	22			7	20		
Squamous carcinoma	55	24	31			14	41		
Invasion depth				7.626	<0.05			7.380	<0.05
Submucosa	22	12	10			10	12		
Muscularis propria	39	14	25			9	30		
Subserosa	21	3	18			2	19		

Table 2 Relationship between CXCR4 and VEGF-C expression in esophageal cancer

Index	CXCR4 positive	CXCR4 negative	Total
VEGF-C positive	44	17	61
VEGF-C negative	9	12	21
Total	53	29	82

Note: $\chi^2=5.86$, $P<0.05$

阳性表达率为 52.0%。腺癌中阳性表达率为 81.5%，高于鳞癌(Table 1)。

VEGF-C 与癌组织食管壁浸润深度、TNM 分期和淋巴结转移具有相关性,而与患者年龄、性别、分化程度和病理类型等无相关性($P>0.05$)。食管癌组织 VEGF-C 阳性表达率随食管壁肌层浸润深度而增加,由食管壁浅肌层的 54.5%增加至食管壁外层的 90.5%。临床 I ~ II 期和 III 期食管癌组织 VEGF-C 阳性表达率分别为 68.3%和 94.7%。淋巴结转移组食管癌组织 VEGF-C 阳性表达率为 87.5%，无淋巴结转移组阳性表达率为 66.0%(Table 1)。

在食管癌组织中,CXCR4 表达与 VEGF-C 表达呈正相关($\chi^2=5.86$, $P<0.05$)(Table 2)。

3 讨 论

趋化/归巢理论认为器官生成和分泌特异性趋化因子,吸引表达相应受体的肿瘤细胞向其趋化^[4],趋化因子及其相应受体作为肿瘤细胞定向移动的“发令者”和“指导者”,在其浓度梯度下非随机性地选择器官及定向转移。CXCR4 是肿瘤细胞表达最为普遍的趋化因子受体,与 CXCL12 特异性结合后可激活肿瘤细胞内多种信号通路,与肿瘤细胞生长、侵袭、转移及血管新生相关^[5]。Müller 等^[6]研究表明,CXCR4 在乳腺癌细胞中的表达高于正常乳腺细胞,其特异性配体 CXCL12 与乳腺癌细胞 CXCR4 结合后转导调节肌动蛋白聚合以及伪足形成的信号,从而导致乳腺癌细胞趋化和侵袭,而功能性阻断这一受体可抑制癌细胞转移。因此,CXCL12-CXCR4 信号转导途径在乳腺癌转移中具有重要作用。Gockel 等^[7]通过对食管癌中蛋白进行检测发现,CXCR4 表达率为 94.1%,并且肿瘤细胞分化程度与 CXCR4 表达强度呈负相关,肿瘤细胞表达 CXCR4 和不表达 CXCR4 的食管癌患者的中位生存时间分别为 20 个

月和76个月。本研究发 现Ⅲ期食管癌组织的 CXCR4 蛋白阳性表达率 (84.2%) 高于 I ~ II 期 (58.7%)。肿瘤浸润深度越深和伴淋巴结转移食管癌的 CXCR4 蛋白阳性表达则越高,提示 CXCR4 参与了食管癌发展和淋巴结转移。

恶性肿瘤内部存在新生淋巴管,VEGF-C 通过激活淋巴管内皮细胞上的受体 VEGFR-3 增加淋巴管的数目和改变淋巴管内皮细胞的功能,从而促进肿瘤内淋巴管生成;而新生淋巴管基膜不完整,内皮细胞间有较大裂隙,肿瘤细胞易入侵,从而使肿瘤细胞经淋巴结转移而有利于肿瘤细胞向淋巴管内渗透转移^[8]。本研究结果显示 VEGF-C 表达与食管癌临床分期、淋巴结转移和浸润深度等相关。Ⅲ期食管癌组织 VEGF-C 阳性表达率高于 I ~ II 期。肿瘤浸润深度越深和伴淋巴结转移食管癌的 VEGF-C 阳性表达越高,提示 VEGF-C 参与了食管癌发展和淋巴结转移。

综上所述,CXCR4 和 VEGF-C 在食管癌组织中的表达呈正相关,并且与淋巴结转移相关。CXCR4 和 VEGF-C 的表达可能存在协同作用,因此联合检测 CXCR4 和 VEGF-C 有利于判断食管癌侵袭、转移能力以及判断预后。

参考文献:

[1] Xie SP,Zeng WH,Zuo T,et al.The expression of the chemokine receptor CXCR4 in esophageal cancer and its clinical significance[J].China Cancer,2012,21(6):446-447.

[谢颂平,曾文慧,左涛,等.趋化因子受体 CXCR4 在食管癌中的表达及临床意义[J].中国肿瘤,2012,21(6):446-447.]

- [2] Ye K,Xu JH,Zheng ZR,et al.The impact of siRNA on CXCR4 gene expression and invasion in cell lines of esophageal cancer [J].Chinese Journal of Experimental Surgery,2010,27(12):1949.[叶凯,许建华,郑正荣,等.小干扰 RNA 对食管癌细胞株 CXCR4 的基因表达和侵袭力的影响[J].中华实验外科杂志,2010,27(12):1949.]
- [3] Stricter RM,Polverini PJ,Kunkel SL,et al.The functional role of the ELR motif in CXC chemokine-mediated angiogenesis[J].J Biol Chem,1995,270(45):27348-27357.
- [4] Stetler-Stevenson WG,Kleiner DE Jr. Molecular biology of cancer: Invasion and metastasis[A]. DeVita VT Jr,Hellman S,Rosenberg SA. Cancer: Principles and Practice of Oncology [M]. Philadelphia: PA,Lippincott Williams & Wilkins,2001. 123-136.
- [5] Balkwill F. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4 [J]. Semin Cancer Biol,2004,14(3):171-179.
- [6] Müller A,Homey B,Soto H,et al.Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [J].Nature,2001,410(6824):50-56.
- [7] Gockel I,Schimanski CC,Heinrich C,et al. Expression of chemokine receptor CXCR4 in esophageal squamous cell and adenocarcinoma[J].BMC Cancer,2006,6:290.
- [8] Hirakawa S,Brown LF,Kodama S,et al.VEGF-C-induced lymphangiogenesis in sentinel lymph nodes promotes tumor metastasis to distant sites [J]. Blood,2007,109(3):1010-1017.