

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.26.008
文章编号: 1005-8982 (2018) 26-0051-04

CXCR4 和 CXCR7 在肾透明细胞癌组织中的表达及其临床意义

吕栋, 滕志刚, 周云飞, 任选义

(河南省开封市中心医院 泌尿外科, 河南 开封 475000)

摘要: 目的 探讨趋化因子受体 4 (CXCR4) 蛋白和趋化因子受体 7 (CXCR7) 蛋白在肾透明细胞癌 (ccRCC) 组织中的表达及其相关性。**方法** 采用免疫组织化学 SABC 法检测 50 例 ccRCC 及 20 例癌旁正常组织中 CXCR4 和 CXCR7 蛋白的表达。**结果** ccRCC 组织中 CXCR4 和 CXCR7 表达高于癌旁正常组织 ($P < 0.05$); 两者表达与 ccRCC 组织的临床分期、病理分级及淋巴结转移关系密切 ($P < 0.05$), 与性别、年龄及肿瘤体积无关 ($P > 0.05$); 在 ccRCC 组织中, CXCR4 与 CXCR7 表达呈正相关 ($r_s = 0.467, P = 0.001$)。**结论** CXCR4 和 CXCR7 在 ccRCC 组织中呈高表达, 两者对 ccRCC 的发生、发展及转移有协同作用。

关键词: 肾透明细胞癌; 免疫组织化学法; 趋化因子受体 4; 趋化因子受体 7

中图分类号: R737.11

文献标识码: A

Expressions of CXCR4 and CXCR7 in renal clear cell carcinoma and clinical significance

Dong Lü, Zhi-gang Teng, Yu-fei Zhou, Xuan-yi Ren

(Department of Urology, Kaifeng Central Hospital, Kaifeng, Henan 475000, China)

Abstract: Objective To observe the expression of chemokine receptors 4 and 7 (CXCR4 and CXCR7) in renal clear cell carcinoma (RCC) and investigate their relationship. **Methods** The expressions of CXCR4 and CXCR7 proteins were detected by immunohistochemistry SABC method in 50 cases of RCC and 20 samples of paracancerous normal tissues. **Results** The expressions of CXCR4 and CXCR7 in the RCC were higher than those of the paracancerous tissues ($P < 0.05$). The expressions of CXCR4 and CXCR7 were closely related to clinical stage, degree of differentiation and lymph node metastasis ($P < 0.05$), and had no significant relationship with sex, age or tumor size ($P > 0.05$). The expression level of CXCR4 in the RCC was in positive correlation with CXCR7 ($r_s = 0.467, P = 0.001$). **Conclusions** CXCR4 and CXCR7 proteins are highly expressed in RCC. They may play a synergistic effect in the occurrence and development of RCC.

Keywords: renal clear cell carcinoma; immunohistochemistry; CXCR4; CXCR7

趋化因子相对分子质量为 $10 \times 10^3 \sim 12 \times 10^3$, 是细胞因子超家族中具有化学趋化作用的小分子蛋白, 现发现约 50 种趋化因子和约 20 种受体^[1]。趋化因子与其相对应的受体结合后, 在血管生成、胚胎发育、炎症和肿瘤等生理或病理过程中发挥作用。

CHATTERJEE 等^[2]报道趋化因子受体与肿瘤的转移特性有关以来, 更多研究发现趋化因子受体与肿瘤的发展密切相关。过去认为趋化因子受体 4 (chemokine receptor 4, CXCR4) 是趋化因子基质细胞衍生因子 1 (stromal cell derived factor-1, CXCL12) 的唯一受体,

收稿日期: 2018-01-03

[通信作者] 滕志刚, Tel: 0371-25672510

然而最近研究发现 CXCL12 尚存在趋化因子受体 7 (chemokine receptor 7, CXCR7) 这一新的受体^[3-4], CXCL12/CXCR7 生物轴同样在肿瘤发展过程中起重要作用。因此本实验检测趋化因子受体 CXCR4 和 CXCR7 在肾透明细胞癌 (clear cell renal cell carcinoma, ccRCC) 组织中的表达, 并探讨其相关性, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2010 年 9 月 -2015 年 8 月在河南省开封市中心医院泌尿外科行手术切除且临床资料完整的 50 例肾癌患者, 取其 ccRCC 组织标本。其中, 男性 28 例, 女性 22 例; 年龄 49 ~ 83 岁, 平均 62.4 岁。采用 2004 年世界卫生组织肾癌组织学分级方法: 高、中分化 32 例, 低分化 18 例。按照 2010 版 UICC/AJCC 的 TNM 分期系统进行临床分期: I 期 16 例, II 期 14 例, III 期 12 例, IV 期 8 例; 其中骨转移 3 例, 淋巴结转移 14 例; 外科切缘阴性 46 例, 阳性 4 例。所有患者术前未行放、化疗。随机切取 20 例远离肾癌的正常肾组织作为对照, 其中男性 12 例, 女性 8 例; 年龄 49 ~ 83 岁, 平均 67.4 岁。

1.2 方法

使用免疫组织化学 SABC 三步法。一抗试剂 CXCR4 和 CXCR7 为浓缩型羊多克隆抗体, 工作液浓度 1 : 100; 二抗试剂为浓缩型兔抗羊多克隆抗体, 稀释比例 1 : 200。兔抗人 CXCR4 一抗、兔抗人 CXCR7 一抗、兔抗 SABC 试剂盒及 DAB 显色剂由上海哈灵生物科技有限公司提供, 所有标本用 10% 甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 2 ~ 4 μm 连续切片。应用免疫组织化学 SABC 法检测, 组织切片常规脱蜡, 水化后经 3% 过氧化氢处理, 加热抗原修复, 按试剂盒说明书进行操作。所有实验均设阳性对照及阴性对照, 用已知 CXCR4、CXCR7 表达的阳性图片作阳性对照, PBS 代替一抗作为阴性对照。

免疫组织化学法阳性反应为黄棕色颗粒, 阳性表达定位于细胞质或细胞膜。用半定量积分判断结果: ①阳性细胞数 $\leq 10\%$ 为 0 分, 10% ~ 30% 为 1 分, 31% ~ 60% 为 2 分, 61% ~ 80% 为 3 分, >80% 为 4 分; ②阳性强度: 无着色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 黄色为 2 分, 棕黄色为 3 分。将两者积分相乘, 0 分阴性 (-), 1 ~ 4 分弱阳性 (+), 5 ~ 8 分阳性 (++) , 9 ~ 12 分

强阳性 (+++)。将 ccRCC 组织标本及正常肾组织标本中 CXCR4 和 CXCR7 蛋白的表达水平进行比较, 分析 ccRCC 组织中 CXCR4 和 CXCR7 的表达水平及其与患者临床病理学指标的相关性。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 13.0 统计软件, 计数资料以率 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验或一致性检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CXCR4、CXCR7 在 ccRCC 和癌旁组织中的表达

免疫组织化学法结果显示, CXCR4 和 CXCR7 蛋白阳性表达于细胞浆和细胞膜, 以细胞浆为主。ccRCC 组织中, CXCR4 和 CXCR7 蛋白含量升高。CXCR4 在 ccRCC 组织中的阳性表达率为 72% (36/50), 在正常肾组织为 10% (2/20); CXCR7 在 ccRCC 组织中的阳性表达率为 70% (35/50), 在正常肾组织为 15% (3/20), 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=22.128$ 和 0.000, $P=17.414$ 和 0.000)。见图 1 ~ 3。

2.2 CXCR4、CXCR7 与患者临床病理特征的关系

CXCR4、CXCR7 蛋白的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小等无相关性 ($P > 0.05$), 与患者 TNM 分期、组织学分级及有无淋巴结转移关系密切 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 CXCR4、CXCR7 在 ccRCC 组织中表达的相关性

CXCR4 与 CXCR7 蛋白在 ccRCC 组织中的表达呈正相关 ($r=0.467$, Kappa=0.740, $P=0.001$)。见表 2。

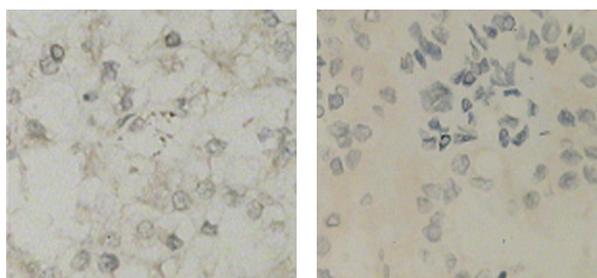


图 1 CXCR4 在 ccRCC 组织中阳性表达
(免疫组织化学 SABC 法 $\times 400$)

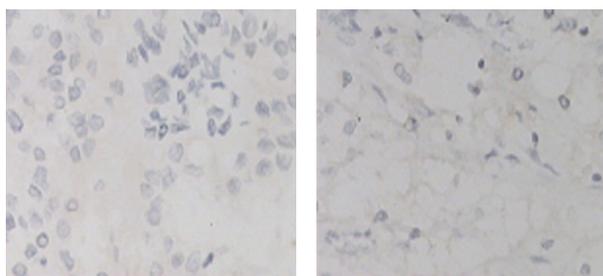


图 2 CXCR4 在正常肾组织中阴性表达
(免疫组织化学 SABC 法 × 400)

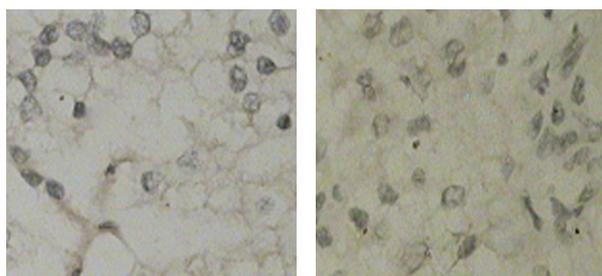


图 3 CXCR7 在 ccRCC 组织中阳性表达
(免疫组织化学 SABC 法 × 400)

表 1 ccRCC 患者临床病理特征与 CXCR4、CXCR7 蛋白表达的关系

| 因素 | 例数 | CXCR4 阳性表达 例 (%) | χ^2 值 | P 值 | CXCR7 阳性表达 例 (%) | χ^2 值 | P 值 |
|---------------|----|------------------|------------|-------|------------------|------------|-------|
| 年龄 | | | | | | | |
| ≤ 55 岁 | 24 | 18 (75) | 0.206 | 0.650 | 19 (79) | 1.847 | 0.174 |
| >55 岁 | 26 | 18 (69) | | | 16 (62) | | |
| 性别 | | | | | | | |
| 男 | 26 | 19 (73) | 0.031 | 0.086 | 20 (77) | 1.236 | 0.266 |
| 女 | 24 | 17 (71) | | | 15 (63) | | |
| 肿瘤大小 | | | | | | | |
| ≤ 7 cm | 35 | 71 (25) | 0.019 | 0.891 | 71 (24) | 0.113 | 0.736 |
| >7 cm | 15 | 73 (11) | | | 73 (11) | | |
| TNM 分期 | | | | | | | |
| I、II 期 | 30 | 60 (18) | 5.375 | 0.021 | 56 (17) | 6.349 | 0.012 |
| III、IV 期 | 20 | 90 (18) | | | 90 (18) | | |
| 组织学分级 | | | | | | | |
| 中、高分化 | 32 | 63 (20) | 3.979 | 0.046 | 60 (19) | 4.778 | 0.029 |
| 低分化 | 18 | 89 (16) | | | 89 (16) | | |
| 淋巴结转移 | | | | | | | |
| 无 | 36 | 64 (23) | 4.196 | 0.041 | 61 (22) | 4.837 | 0.028 |
| 有 | 14 | 93 (13) | | | 93 (13) | | |

表 2 CXCR4、CXCR7 在 ccRCC 组织中表达的相关性 例

| CXCR7 | CXCR4 | | 合计 |
|-------|-------|----|----|
| | 阳性 | 阴性 | |
| 阳性 | 30 | 5 | 35 |
| 阴性 | 6 | 9 | 15 |
| 合计 | 36 | 14 | 50 |

3 讨论

CXCR4 是有 7 个跨膜结构域的 GTP- 蛋白偶连的跨膜受体之一, 在免疫系统和中枢神经系统的细胞

中广泛表达^[5]。不同的肿瘤高表达特异的趋化因子受体, 肿瘤细胞借助趋化因子与受体的特异结合力, 最终向这些器官特异性转移。CXCR4 作为 CXCL12 的受体不仅表达于细胞浆, 也可在细胞膜中检测到。CXCL12/CXCR4 生物轴在多种恶性肿瘤的特定转移中起关键作用, 在淋巴结、肺、肝及骨髓肿瘤常见的转移灶中均发现 CXCL12/CXCR4 高表达^[6], 但其在肾肿瘤组织中的研究甚少^[7]。最近研究发现, CXCL12 尚存在 CXCR7 受体, CXCL12/CXCR7 生物轴同样在肿瘤发展过程中起重要作用^[3-4, 8]。CXCR7 作为膜相关的受体蛋白, 在多种肿瘤细胞、内皮细胞及胎肝细胞中高表达, 在正常细胞中不表达。CXCR7 在乳腺

癌、宫颈癌、肺癌等多种肿瘤细胞株中高表达^[9-11]，但对肾肿瘤的研究甚少。目前，CXCR4 和 CXCR7 在肾肿瘤发生、发展过程中的作用尚不明确。本研究发现，CXCR4 在 ccRCC 组织中呈高表达，其阳性率为 72.0%，相比癌旁肾组织，CXCR4 蛋白表达升高。同样 CXCR7 在 ccRCC 组织中的阳性表达率为 70%，高于正常肾组织的 15%。尤其重要的是，本实验结果表明 CXCR4、CXCR7 的阳性表达与患者 TNM 分期、组织学分级及有无淋巴结转移关系密切，与患者的性别、年龄及肿瘤大小无关。本组资料显示，随着 ccRCC 细胞的恶性程度升高和分化变差，CXCR4 和 CXCR7 蛋白的阳性表达水平逐渐升高；同样随着浸润深度增加和淋巴结转移的发生，即进展期 ccRCC 组织中 CXCR4 和 CXCR7 蛋白的阳性表达率升高。据此推测，CXCR4 和 CXCR7 可能作为促癌基因发挥作用，其高表达与肾肿瘤分期、分级及恶性发展进程相关，可用来推断 ccRCC 的预后。本实验结果表明，CXCR4 与 CXCR7 蛋白在 ccRCC 组织中表达呈正相关，两者共阳性表达 30 例（60%，30/50），提示两者可能通过 CXCL12/CXCR4/CXCR7 生物轴，借助于某种复杂的信号转导机制，协同作用于 ccRCC 的发生、发展及转移，其具体机制尚需研究。

本研究认为，CXCR4、CXCR7 在 ccRCC 组织中高表达，其与 ccRCC TNM 分期和组织学分级关系密切，联合检测 2 种蛋白的表达可作为判断 ccRCC 预后的生物学指标。

参 考 文 献:

- [1] LINDOSO R S, COLLINO F, CAMUSSI G, et al. Extracellular vesicles derived from renal cancer stem cells induce a pro-tumorigenic phenotype in mesenchymal stromal cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10): 7959-7969.
- [2] CHATTERJEE M, BORST O, WALKER B, et al. Macrophage migration inhibitory factor limits activation-induced apoptosis of platelets via CXCR7-dependent Akt signaling[J]. *Circ Re*, 2014, 115(11): 939-949.
- [3] LERANÒ C, SANTAGATA S, NAPOLITANO M, et al. CXCR4 and CXCR7 transduce through mTOR in human renal cancer cells[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 11(15): 3-5.
- [4] HAEGE S, EINER C, THIELE S, et al. CXC chemokine receptor 7 (CXCR7) regulates CXCR4 protein expression and capillary tuft development in mouse kidney[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): 34-36.
- [5] GHEISARI Y, AZADMANESH K, AHMADBEIGI N, et al. Genetic modification of mesenchymal stem cells to overexpress CXCR4 and CXCR7 does not improve the homing and therapeutic potentials of these cells in experimental acute kidney injury[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(16): 2969-2980.
- [6] D'ALTERIO C, CONSALES C, POLIMENO M, et al. CXCR4 and CXCR7 expression predicts poor prognosis in renal cancer[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2010, 10(7): 772-781.
- [7] MAZZINGHI B, RONCONI E, LAZZERI E, et al. Essential but differential role for CXCR4 and CXCR7 in the therapeutic homing of human renal progenitor cells[J]. *Exp Med*, 2008, 205(2): 479-490.
- [8] CIRCELLI L, SCIAMMARELLA C, GUADAGNO E, et al. CXCR4/CXCL12/CXCR7 axis is functional in neuroendocrine tumors and signals on mTOR[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(14): 18865-18875.
- [9] HATTERMANN K, MEHDORN H M. Differential expression of CXCR4 and CXCR7 with various stem cell markers in paired human primary and recurrent glioblastomas[J]. *Int [J] Oncol*, 2016, 48(4): 1408-1416.
- [10] SAND L G, SCOTLANDI K, BERGHUIS D. CXCL14, CXCR7 expression and CXCR4 splice variant ratio associate with survival and metastases in Ewing sarcoma patients[J]. *Eur J Cancer*, 2015, 51(17): 2624-2633.
- [11] BURNS J M, SUMMERS B C, WANG Y, et al. A novel chemokine receptor for SDF-1 and I-TAC involved in cell survival, cell adhesion, and tumor development[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(9): 2201-2213.

(童颖丹 编辑)