

• 论著 • 临床研究 •

趋化因子受体 7 在食管鳞状细胞癌组织中表达的相关研究*

贺家勇¹, 付娟娟², 杨晨晨³, 何 丹^{4△}

(1. 中国石油乌鲁木齐石化总厂职工医院外一科, 新疆乌鲁木齐 830019; 2. 新疆维吾尔自治区人民医院病理科, 新疆乌鲁木齐 830000; 3. 新疆医科大学, 新疆乌鲁木齐 830011; 4. 新疆医科大学附属肿瘤医院胸外科, 新疆乌鲁木齐 830011)

摘要:目的 探讨趋化因子受体 7(CXCR7)在食管鳞状细胞癌(食管鳞癌)组织中的表达及其临床意义。方法 收集 2014 年 1 月至 2015 年 12 月新疆维吾尔自治区人民医院手术切除的食管癌组织蜡块标本 60 例, 经病理证实癌组织类型为鳞癌。采用免疫组化 S-P 法, 按照试剂盒操作说明书检测食管鳞癌及癌旁正常组织中 CXCR7 的表达, 分析食管鳞癌组织中 CXCR7 的表达与患者临床病理特征的关系。结果 在食管鳞癌组织中, CXCR7 主要定位于细胞质和细胞膜中, 呈淡黄色或棕黄色颗粒。食管鳞癌组织中 CXCR7 的阳性表达率为 71.2%(43/60), 阴性表达率为 28.3%(17/60), 癌旁组织中 CXCR7 的阳性表达率仅为 6.7%(4/60), CXCR7 在癌旁组织中阴性表达率为 93.3%(56/60)。CXCR7 在食管癌组织中的阳性表达率高于癌旁组织, 差异有统计学意义($\chi^2=53.197, P=0.000$)。CXCR7 表达与肿瘤 TNM 分期及淋巴结转移有关($P<0.05$)。发生淋巴结转移、TNM 分期为Ⅱ~Ⅲ期的食管癌患者 CXCR7 的阳性表达率高于未发生淋巴结转移、TNM 分期为Ⅰ期的食管癌患者, 差异有统计学意义($P<0.05$)。采用 COX 回归分析显示, 肿瘤淋巴结转移和 CXCR7 的表达为食管癌独立的预后影响因素。Kaplan-Meier 分析显示, 患者 CXCR7 的表达高, 生存时间更短, 低 CXCR7 表达的患者生存时间更长($P=0.000$)。结论 CXCR7 可能参与了食管癌发展和淋巴结转移过程。

关键词:趋化因子受体 7; 食管鳞状细胞癌; 表达; 临床意义

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.16.018

中图法分类号:R735.1

文章编号:1673-4130(2018)16-2001-04

文献标识码:A

The correlation study of expression of chemokine receptor 7 in esophageal squamous cell carcinoma*

HE Jiayong¹, FU Juanjuan², YANG Chenchen³, HE Dan^{4△}

(1. Department of Surgery, Staff-Worker Hospital of Urumqi Petrochemical Subsidiary China National Petroleum, Urumqi, Xinjiang 830019, China; 2. Department of Pathology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 3. Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China; 4. Department of Thoracic Surgery, Tumor Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of chemokine receptor 7 (CXCR7) in esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance. **Methods** Sixty patients with esophageal squamous cell carcinoma in Xinjiang Uygur Autonomous Region from January 2014 to December 2015 were enrolled. The type of squamous cell carcinoma was confirmed by pathology. Immunohistochemical S-P method was used to detect the expression of CXCR7 in esophageal squamous cell carcinoma and adjacent normal tissues. The relationship between the expression of CXCR7 in esophageal squamous cell carcinoma and clinicopathological features were analyzed. **Results** In esophageal squamous cell carcinoma, CXCR7 was mainly located in the cytoplasm and cell membrane, with pale yellow or brown particles. The positive expression rate of CXCR7 in esophageal squamous cell carcinoma was 71.2% (43/60) and negative expression rate was 28.3% (17/60). The positive expression rate of CXCR7 in paracancerous tissue was only 6.7% (4/60). The expression of CXCR7 in the adjacent tissues was 93.3% (56/60). The positive expression rate of CXCR7 in esophageal carcinoma tissues was significantly higher than that in adjacent tissues, and the difference was statistically significant ($\chi^2=53.197$,

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2017D01211);新疆医科大学科研创新基金资助项目(XJC201376)。

作者简介:贺家勇,男,副主任医师,主要从事胸外科疾病的诊治研究。△ 通信作者, E-mail:17013157@qq.com。

本文引用格式:贺家勇,付娟娟,杨晨晨,等.趋化因子受体 7 在食管鳞状细胞癌组织中表达的相关研究[J].国际检验医学杂志,2018,39

$P=0.000$). The expression of CXCR7 was correlated with TNM stage and lymph node metastasis ($P<0.05$). The positive rate of CXCR7 expression in patients with lymph node metastasis, stage II—III TNM was significantly higher than that in patients with no node metastasis and stage I, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). COX regression analysis showed that lymph node metastasis and CXCR7 expression were independent prognostic factors for esophageal cancer. Kaplan-Meier analysis showed that patients with high expression of CXCR7 and shorter survival time, and low CXCR7 expression in patients with longer survival time ($P=0.001$). **Conclusion** CXCR7 may be involved in the development of esophageal cancer and lymph node metastasis.

Key words: chemokine receptor 7; esophageal squamous cell carcinoma; expression; clinical significance

食管癌是常见的消化道恶性肿瘤之一^[1],食管鳞状细胞癌(简称食管鳞癌)是食管癌的主要病理类型。食管癌中期较易发生淋巴结及远处转移^[2-3],这可能是食管癌患者 5 年生存率还不到 17% 的主要原因。食管癌发病率及病死率分别位居所有恶性肿瘤中的第 8 位和第 6 位^[4]。为提高食管癌的早期诊断及患者预后,应充分研究食管癌的生物学特征,寻找新的治疗靶点。趋化因子是一类可诱导、促进炎症的细胞因子,是细胞因子超家族成员中的一类小分子多肽。趋化因子能激活趋化因子受体并与之结合,发挥各种生物学功能,根据趋化因子分子结构中氨基酸区域上半胱氨酸残基的数量及空间排列,可将趋化因子分为 C、CG、CXC 和 CX3C 4 个亚型^[5]。多项研究表明, CXCR4/CXCL12 信号通路在肿瘤的转移中起重要作用,过去认为 CXCR4 是 CXCL12 存在的唯一受体,多项研究已有证实 CXCR4 与食管癌的发生、发展相关,是临床判断预后和指导治疗的重要指标^[6-7]。趋化因子受体 7(CXCR7)是新报道的与 CXCL12 结合的又一受体, CXCR7 在氨基酸保守序列上与 CXCR4 具有相似性,同样也属于 H2V 的复合受体^[8-9]。目前关于 CXCR4 在食管癌中的作用文献报道较多,但 CXCR7 在食管癌中的作用文献少有报道,本研究利用免疫组织化学检测食管鳞癌组织标本中 CXCR7 的表达水平,探讨 CXCR7 与食管鳞癌临床病理特征及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014 年 1 月至 2015 年 12 月新疆维吾尔自治区人民医院手术切除的食管癌组织蜡块标本 60 例,经病理证实癌组织类型为食管鳞癌。术后病理分期采用第 7 版 AJCC 或 UICC 食管癌 TNM 分期标准^[10]。其中男 48 例,女 12 例,年龄 42~75 岁,平均 (52.4 ± 12.2) 岁,所有病例术前均未经放化疗,同时选取同一病例癌旁正常组织作为对照组。本研究经医院医学伦理委员会讨论并通过,并签署患者知情同意书。

1.2 仪器与试剂 CXCR7 抗体(北京博奥森生物技术有限公司);DAB 显色液、磷酸缓冲盐(PBS)粉、枸橼酸、通用型二抗均购自北京中杉金桥生物技术有限

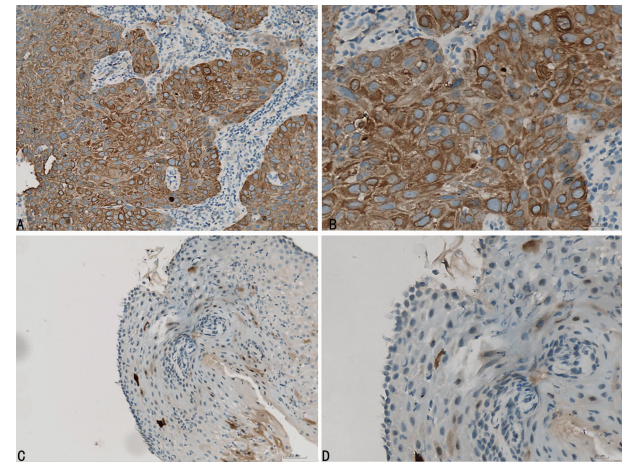
公司;苏木素染色液、中性树脂凝胶为碧云天生物技术有限公司产品。冰箱(青岛海尔股份有限公司),电子天平(雷韵试验仪器制造有限公司,型号 FA10004),电热恒温箱(汗诺仪器有限公司,型号 DHP-42),倒置显微镜(Olympus 公司,日本),电热鼓风干燥箱(博迅实业有限公司,型号 GZX-9070MBE),制冰机(SANYO 公司,日本,型号 SIM-F124),生物安全柜(力康生物医疗科技控股有限公司,型号 HFsafe-1200B2)。

1.3 方法 取组织蜡块切片,经常规脱蜡、水化,采用免疫组化 S-P 法,按照试剂盒操作说明书进行, CXCR7 鼠抗人单克隆抗体浓度为 1:200,加生物素化二抗,DAB 显色、复染、脱水、透明和中性树胶封片后编号。结果判定采用单盲法,切片由病理科 1 位高级职称医生随机对结果进行评判。CXCR7 主要定位于细胞膜或细胞质内,阳性表达为淡黄至棕黄色染色,随机选取 5 个高倍视野($\times 400$ 倍)进行判断。评分标准^[11]:(1)按染色强度,阴性为 0 分,轻度为 1 分,中度染色为 2 分,强度为 3 分;(2)按阳性细胞所占比例,无阳性细胞为 0 分,阳性细胞所占比例为 1%~29%,1 分为 30%~59%,2 分为 $\geq 60\%$,3 分。阳性表达:阳性细胞所占比例评分 \times 染色强度评分 ≥ 2 分;阴性表达:阳性细胞所占比例评分 \times 染色强度评分 < 2 分。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件包进行分析,率的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验,生存率的计算采用 Kaplan-Meier 法,进行 Log-rank 检验进行生存分析,多因素分析采用 COX 风险比例模型,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食管鳞癌组织中 CXCR7 的表达分析 在食管鳞癌组织中, CXCR7 主要定位于细胞质和细胞膜中,呈淡黄色或棕黄色颗粒(图 1)。食管鳞癌组织中 CXCR7 的阳性表达率为 71.2%(43/60),阴性表达率为 28.8%(17/60),癌旁组织中 CXCR7 的阳性表达率仅为 6.7%(4/60),均为弱阳性表达, CXCR7 在癌旁组织中阴性表达率为 93.3%(56/60)。CXCR7 在食管癌组织中的阳性表达率高于癌旁组织,差异有统计学意义($\chi^2=53.197, P=0.000$)。



注:A 为食管癌组织(×200);B 为食管癌组织(×400);C 为配对癌旁正常食管组织(×200);D 为配对癌旁正常食管组织(×400)

图 1 CXCR7 在食管癌及配对癌旁正常食管组织中的表达

表 1 CXCR7 表达与食管鳞癌患者临床病理特征的关系(n)						
临床病理参数		n	CXCR7 的表达		χ^2	P
			阳性	阴性		
总例数		60	43	17		
性别	男性	48	35	13	0.185	0.667
	女性	12	8	4		
年龄	>60 岁	39	27	12	0.326	0.568
	≤60 岁	21	16	5		
肿瘤浸润程度	T1~T2	47	34	13	0.513	0.724
	T3	8	5	3		
	T4	5	4	1		
淋巴结转移	是	39	34	5	13.206	0.000
	否	21	9	12		
TNM 分期	I 期	12	5	7	7.146	0.008
	II~III 期	49	40	10		
分化程度	高分化	13	7	6	2.596	0.107
	中、低分化	33	25	8		
肿块体积	<10 cm ³	17	14	3	1.343	0.511
	10~20 cm ³	18	12	6		
	>20 cm ³	25	17	8		
大体类型	溃疡型	33	20	13	0.377	0.945
	髓质型	5	3	2		
	蕈伞型	25	17	8		
	缩窄型	3	2	1		

2.2 CXCR7 与食管癌患者临床病理特征的关系 CXCR7 表达与淋巴结转移($P=0.000$)、TNM 分期($P=0.008$)有关,其中发生淋巴结转移的患者 CXCR7 的阳性表达率高于未发生淋巴结转移的患者。TNM 分期为 II~III 期的食管癌患者 CXCR7 的阳性表达率高于 TNM 分期为 I 期的食管癌患者。分化

程度为中低分化的食管癌患者 CXCR7 阳性表达率高于高分化食管癌患者。CXCR7 表达与患者性别、年龄、肿瘤体积、大体类型、浸润程度无关($P>0.05$),CXCR7 表达与食管癌患者临床病理特征的关系,见表 1。

2.2 CXCR7 在食管癌表达的多因素分析 单因素分析结果显示,TNM 分期、淋巴结转移和 CXCR7 的表达为食管鳞癌复发及转移相关的风险因素,采用 COX 回归分析显示,肿瘤淋巴结转移和 CXCR7 表达为食管癌独立的预后影响因素($P<0.05$),见表 2。

表 2 CXCR7 在食管癌表达的多因素分析						
项目	B	SE	Wald	df	P	Exp(B)
CXCR7 表达	-0.821	4.199	0.038	1	0.045	0.440
性别	1.221	9.364	0.017	1	0.896	3.391
年龄	—	—	4.900	28	1.000	—
淋巴结转移	—	—	0.038	2	0.041	—
分化程度	—	—	0.299	3	0.960	—

注:—表示无数据

2.3 CXCR7 的表达与患者的预后关系 60 例患者中,有 32 例行术后规则化疗(第 1~5 天,给予氟尿嘧啶 500 mg/m²,第 1~3 天,给予顺铂 40 mg/m²),其中 13 例患者发生远处转移,随访 2 年,有 11 例死亡。最短随访 3 个月,最长随访 24 个月。随访至 2016 年 12 月 31 日,患者中位生存期为 18 个月。Kaplan-Meier 分析显示,患者 CXCR7 的表达高,生存时间更短,低 CXCR7 表达的患者生存时间更长,见图 2(Log-rank 检验, $P=0.000$)。

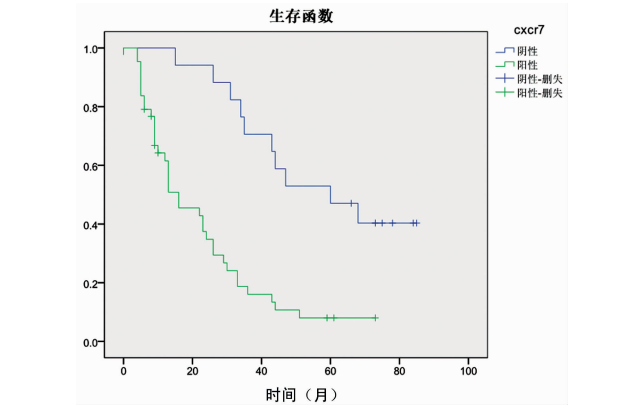


图 2 CXCR7 表达与食管鳞癌患者总生存期的关系

3 讨论

已有研究证明,趋化因子及其受体在肿瘤的发展中起重要作用。有研究报道,趋化因子配体(CXCL)12/基质衍生物因子(SDF)-1 和白细胞介素 8(IL-8)/CXCL-8 参与各种实体瘤的进展和转移。最近,CXCL-8 及其受体 CXCR2 在食管癌中的作用已得到可靠证实,CXCL12 及其受体 CXCR7 在食管癌中的功能和临床意义文献报道较少,WU 等^[12]研究报道,CXCR7 与食管鳞癌的组织类型、临床分期有关,沉默

CXCR7 可降低细胞的活性,增加食管癌细胞的凋亡率,这些结果提示 CXCR7 在食管鳞癌中发挥重要作用,沉默 CXCR7 可能是食管癌潜在的治疗方法。CHEN 等^[13] 研究结果显示,在肝细胞癌(HCC)中,CXCR7 能够起到 HCC 血管生成能力,此外过表达 CXCR7 能增加 HCC 细胞中磷酸化的 AKT 的表达。过表达 CXCR7 能增加肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-6 和 IL-8 在 HCC 细胞中的表达,LY294002 对 AKT 的抑制作用消除了 HCC 细胞中 CXCR7 诱导血管的生成能力,研究结果表明,CXCR7 通过 AKT 途径在 HCC 起重要的促血管生成作用,CXCR7 可能是 HCC 中抗血管生成治疗的潜在靶标。

在食管癌中,大多数研究者关注 CXCL12-CXCR4 轴在食管癌细胞增殖、侵袭、耐药中的作用^[14-15],但 CXCR7 在食管癌中的作用少有研究,为进一步明确食管癌中 CXCR7 的作用,本研究应用免疫组织化学方法检测 CXCR7 表达情况,结果显示 CXCR7 在癌组织中的表达显著高于癌旁组织。本研究分析了 60 例食管癌和癌旁组织中的表达,结果发现Ⅲ期食管癌组织 CXCR4 阳性表达率高于Ⅰ期患者,淋巴结转移者 CXCR7 阳性表达率高于无淋巴结转移组,中分化程度食管癌患者 CXCR7 阳性表达率高于高分化程度的食管癌患者,表明 CXCR7 可能参与了食管癌发展和淋巴结转移过程。有研究发现,CXCR7 的阳性表达与肿瘤浸润程度、淋巴结转移个数与肿瘤分期呈明显相关性^[16-17],本研究与之研究结果相一致。CXCR7 的表达与食管癌的增殖及转移相关,具体作用机制仍不清楚,可通过细胞水平实验、动物实验等进一步验证 CXCR7 在食管癌中的作用。另外,为了了解 CXCR7 是否是患者预后的独立危险因素,采用多因素 COX 回归分析患者预后的影响因素,结果发现肿瘤的淋巴结转移和 CXCR7 表达是食管癌独立的预后影响因素,提示 CXCR7 与食管癌患者的预后有关,今后还需扩大样本进行进一步研究。

4 结 论

本研究结果显示,CXCR7 在食管癌组织中高表达,同时阳性表达率随着 TNM 分期增加和肿瘤淋巴结转移呈上升趋势,CXCR7 可能参与了食管癌的进展。生存分析显示癌组织 CXCR7 表达情况可对食管癌患者生存期产生影响,提示检测 CXCR7 可能会成为预测食管癌预后的重要指标。今后需进一步研究 CXCR7 在食管癌中的调节机制,全面地了解 CXCR7 在食管癌中的作用机制,为探索以 CXCR7 为靶点的肿瘤治疗方法提供基础和理论依据。

参考文献

[1] WU C C, CHEN C J. Esophageal carcinoma[J]. N Engl J

Med, 2015, 372(15): 1470-1473.

- [2] WANG H, DENG F, LIU Q, et al. Prognostic significance of lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Pathol Res Pract, 2017, 213(7): 842-847.
- [3] ZHOU Y, DU J, LI H, et al. Clinicopathologic analysis of lymph node status in superficial esophageal squamous carcinoma[J]. World J Surg Oncol, 2016, 14(1): 259.
- [4] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [5] CHENG Z H, SHI Y X, YUAN M, et al. Chemokines and their receptors in lung cancer progression and metastasis[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2016, 17(5): 342-351.
- [6] MONA C E, BESSERER-OFFROY É, CABANA J, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of CXCR4 ligands[J]. Org Biomol Chem, 2016, 14(43): 10298-10311.
- [7] WANG X, CAO Y, ZHANG S, et al. Stem cell autocrine CXCL12/CXCR4 stimulates invasion and metastasis of esophageal cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(22): 36149-36160.
- [8] SÁNCHEZ-MARTÍN L, SÁNCHEZ-MATEOS P, CABAÑAS C. CXCR7 impact on CXCL12 biology and disease[J]. Trends Mol Med, 2013, 19(1): 12-22.
- [9] 曹学良, 付鹏, 栾厦, 等. CXCR4/CXCL12 在肿瘤中的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(3): 577-579.
- [10] 何健, 王杰军, 钱建新, 等. 第 6 版和第 7 版 UICC-AJCC TNM 分期系统预测食管癌根治性切除术后生存情况的比较: 基于 400 例食管癌患者的临床分析[J]. 肿瘤, 2013, 33(2): 164-170.
- [11] 张冉, 木合塔江·吐尔逊, 马晓梅. 原发性肺癌组织中 VEGF、HIF-1 α 、EGFR 的表达及其相关性研究[J]. 新疆医科大学学报, 2016, 39(8): 992-996.
- [12] WU K, CUI L, YANG Y, et al. Silencing of CXCR2 and CXCR7 protects against esophageal cancer[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(8): 3398-3408.
- [13] CHEN Y, TENG F, WANG G, et al. Overexpression of CXCR7 induces angiogenic capacity of human hepatocellular carcinoma cells via the AKT signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2016, 36(4): 2275-2281.
- [14] ŁUKASZEWICZ-ZAJCC M, MROCZKO B, KOZŁOWSKI M, et al. The serum concentrations of chemokine CXCL12 and its specific receptor CXCR4 in patients with esophageal cancer[J]. Dis Markers, 2016(11): 7963895.
- [15] WANG X, CAO Y, ZHANG S, et al. Stem cell autocrine CXCL12/CXCR4 stimulates invasion and metastasis of esophageal cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(22): 36149-36160.
- [16] 郭晶. 趋化因子受体 CXCR4 和 CXCR7 在食管癌中的表达及其作用[D]. 上海: 复旦大学, 2013.
- [17] 郭晶, 卢春来, 古杰, 等. 趋化因子受体 7(CXCR7)在食管鳞形细胞癌组织中的表达及其临床意义[J]. 复旦学报(医学版), 2013, 40(1): 26-30.