

论著·临床研究

青海地区 CXCL16、CXCR6、EGFR 及 sCXCL16 在非小细胞肺癌患者肺组织中表达及临床意义

张 珺¹, 阿祥仁^{2△}

(1. 西宁市第一人民医院老年科, 青海西宁 810000; 2. 青海省人民医院检验科, 青海西宁 810000)

摘要:目的 通过检测青海地区 CXC 型趋化因子配体 16(CXCL16)、受体细胞表面趋化因子受体 6(CXCR6)及表皮生长因子受体(EGFR)在人非小细胞肺癌(NSCLC)组织中表达和可溶性 CXCL16(sCXCL16)在 NSCLC 患者血清中的水平,探讨其在 NSCLC 患者体内的表达及临床意义。方法 通过免疫组化(IHC)检测青海地区 58 例 NSCLC 患者肺组织及 20 例健康肺组织中 CXCL16、CXCR6 及 EGFR 的水平,通过酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 58 例 NSCLC 患者血清及 32 例健康者血清中 sCXCL16 的水平。结果 CXCL16、CXCR6、EGFR 在 NSCLC 患者肺组织的表达与 NSCLC 的 TNM 分期及吸烟有关($P < 0.05$),与性别、年龄、病理分型、分化程度及胸膜转移无关($P > 0.05$)。sCXCL16 表达水平与 NSCLC 患者的 TNM 分期有关($P < 0.05$),与性别、年龄、病理分型、分化程度、淋巴结转移、吸烟及胸膜转移无关($P > 0.05$)。CXCL16 与 CXCR6、CXCL16 与 EGFR、CXCR6 与 EGFR 在 NSCLC 患者肺组织中表达均呈正相关($P < 0.01$),而 sCXCL16 表达水平与 CXCL16、CXCR6 及 EGFR 表达水平均不相关。结论 CXCL16、CXCR6、EGFR、sCXCL16 可能参与 NSCLC 的发生、发展,其高表达促进 NSCLC 的侵袭转移。CXCL16、CXCR6 及 EGFR 促进 NSCLC 侵袭转移中可能存在协同作用。

关键词:CXC 型趋化因子配体 16; 受体细胞表面趋化因子受体 6; 表皮生长因子受体; 非小细胞肺癌; 侵袭; 转移

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.22.029

中图法分类号:R734.2

文章编号:1673-4130(2018)22-2836-06

文献标识码:A

Expression and clinical significance of CXCL16, CXCR6, EGFR and sCXCL16 in lung tissues of patients with non-small cell lung cancer in qinghai region

ZHANG Jun¹, A Xiangren^{2△}

(1. Department of Geriatrics, Xining First People's Hospital, Xining, Qinghai 810000, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Xining, Qinghai 810000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of CXC chemokine ligand 16 (CXCL16), receptor cell surface chemokine receptor 6 (CXCR6) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in human with NSCLC tissues and the concentration of soluble CXCL16 (sCXCL16) in human non-small cell lung cancer (NSCLC) serums, to explore their significance in clinicopathologic features and prognosis of human NSCLC. **Methods** The levels of CXCL16, CXCR6 and EGFR in lung tissues of 58 NSCLC patients and 20 healthy lung tissues were detected by immunohistochemistry (IHC). The levels of sCXCL16 in serum of 58 NSCLC patients and 32 healthy people were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The expression of CXCL16, CXCR6 and EGFR in human NSCLC tissues was related to NSCLC in TNM staging and smoking ($P < 0.05$), and was not related to sex, age, pathological type, differentiation degree and pleural metastasis ($P > 0.05$). The expression level of sCXCL16 was related to the TNM stage of NSCLC patients ($P < 0.05$), and was not significantly correlated with sex, age, pathological type, differentiation, lymph node metastasis, smoking and pleural metastasis. CXCL16 was positively correlated with CXCR6, CXCL16 and EGFR, CXCR6 and EGFR in human NSCLC tissues ($P < 0.01$), whereas the expression level of sCXCL16 was not significantly correlated with CXCL16, CXCR6 and EGFR 22 expression, respectively. **Conclusion** CXCL16, CXCR6, EGFR and sCXCL16 may play a synergetic role in the occurrence and development of NSCLC, and their overexpressions may play an important role in invasiveness and metastasis of NSCLC, indicating that

作者简介:张珺,女,副主任医师,主要从事老年病与肿瘤专业相关研究。△ 通信作者, E-mail: 151516770@qq.com。

本文引用格式:张珺,阿祥仁. 青海地区 CXCL16、CXCR6、EGFR 及 sCXCL16 在非小细胞肺癌患者肺组织中表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22): 2836-2841.

CXCL16, CXCR6 and EGFR may have a synergetic function in the invasiveness and metastasis of NSCLC.

Key words: CXC chemokine ligand 16; receptor cell surface chemokine receptor 6; epidermal growth factor receptor; non-small cell lung cancer; invasion; metastasis

青海省位于青藏高原东北部,平均海拔 2 500~3 000 m,高原低氧环境对肺部肿瘤的增殖和转移起到了一定的调控和促进作用,基因研究进展表明非小细胞肺癌(NSCLC)的发生、发展与相关基因密切相关。肺癌基因研究已成为肺癌研究的主要方向,其中人 CXC 型趋化因子配体 16(CXCL16)及受体细胞表面趋化因子受体 6(CXCR6)、表皮生长因子受体(EGFR)是肺癌研究价值较大热点基因^[1-3]。新近研究表明 CXCL16、CXCR6 和 EGFR 与肿瘤的关系密切。CXCL16 以跨膜型 CXCL16(TM-CXCL16)、可溶性 CXCL16(sCXCL16)2 种形式存在, TM-CXCL16 主要表现为增强细胞黏附作用,而 sCXCL16 主要表达诱导细胞的趋化作用。TM-CXCL16 在肿瘤细胞的表达是通过募集淋巴细胞的肿瘤浸润而改善预后。相比之下, sCXCL16 在癌症患者血清中的作用尚不清楚。CXCR6 及其配体 CXCL16 可能与多种恶性肿瘤组织细胞的增殖及侵袭、转移相关^[4-6]。EGFR 基因在促进 NSCLC 侵袭、转移中的作用较为明确,但与 CXC 的共同研究甚少,尤其与 CXCL16/CXCR6 共同研究鲜见报道。CXCL16、CXCR6 在多种肿瘤中的作用备受关注,而在 NSCLC 中的研究报道极少,仅有研究发现^[7],在 CXCL16/CXCR6 在 NSCLC 组织和细胞系中均呈共表达,体外加入 CXCL16 可显著增强 A549、95D 及 H292 3 种肺癌细胞株的增殖及侵袭能力,沉默 CXCR6 基因的 A549 细胞株增殖和侵袭迁移能力都明显降低,但未深入对 CXCL16/CXCR6 与临床病理特征、预后关系等进行研究。鉴于此,本研究实验研究 CXCL16/CXCR6 共表达与临床病理特征及预后的关系;EGFR 的表达水平与预后的确切关系;CXCL16、CXCR6 和 EGFR 在 NSCLC 的发生、发展过程中是否存在协同作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 收集本院 2015 年 8 月至 2016 年 9 月期间行手术切除的 58 例 NSCLC 标本,取其中 20 例正常肺组织(距病灶边缘>5 cm 的正常肺组织)作为对照。收集相应 58 例 NSCLC 患者术前血清,32 例健康者血清作为对照。58 例 NSCLC 患者年龄 43~80 岁,平均(58.95±9.84)岁。其中男 42 例(72.4%)、女 16 例(27.6%);腺癌 32(55.2%)例、鳞癌 22(37.9%)例、腺鳞癌 4(6.9%)例;分化程度:低等 15(25.9%)例、中等 30(51.7%)例、高等 13(22.4%)例;TMN 分期:Ⅰ~Ⅱ期 30(51.7%)例、Ⅲ~Ⅳ期 28(48.3%)例;吸烟:有 37(63.8%)例、无 21(36.2%)例;LN 转移:有 34(58.6%)例、无 24

(41.4%)例;胸膜转移:有 4(6.9%)例、无 54(93.1%)例。TMN 分期采用国际肺癌研究协会 2009 年第七版分期标准,病理形态学按照 2004 年世界卫生组织《肺癌组织学类型》标准。本研究已获得所有患者知情同意,并经本院伦理委员会批准。

1.1.2 纳入标准 病理学诊断为原发性 NSCLC,既往无肿瘤病史,无并发第二原发肿瘤;术前未行放疗、化疗、生物及免疫等任何肿瘤治疗。

1.2 试剂 兔抗人 CXCL16 多克隆抗体(ab101404)(Abcam 公司,美国);兔抗人 CXCR6 多克隆抗体(ab8023)(Abcam 公司,美国);兔抗人 EGFR 多克隆抗体(ab2430)(Abcam 公司,美国);Elivision 试剂盒(兔/鼠)(福州迈新生物技术开发有限公司,中国);人 CXCL16 ELISA 试剂盒(上海西唐生物科技有限公司,中国)。

1.3 方法 肺组织采用 HE 染色进行标本处理,采用免疫组织化学技术检测 CXCL16、CXCR6、EGFR 在组织中的表达水平,根据试剂盒说明采用 ELISA 法检测血清中 sCXCL16 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析, sCXCL16 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较采用 *t* 检验。NSCLC 组织中 CXCL16、CXCR6、EGFR 及 NSCLC 患者血清中 sCXCL16 的表达与临床病理特征的关系采用 χ^2 检验分析,相关性分析均采用 Spearman 等级相关,单因素生存分析采用 Kaplan-Meier 方法及 Log-Rank 检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CXCL16 免疫组化的检测结果及与临床病理特征的关系 CXCL16 染色主要定位于 NSCLC 细胞的细胞质和细胞膜,可见淡黄色至棕褐色染色,正常肺组织中未观察到明显阳性染色,仅部分炎症细胞中有中等强度表达,见图 1。CXCL16 在 NSCLC 组织中阳性率为 72.41%(42/58),在正常肺组织中阳性率为 35.00%(7/20),差异具有统计学意义($\chi^2 = 9.997$, $P = 0.002$)。CXCL16 在 NSCLC 患者性别、年龄、病理分型、分化程度、胸膜转移分组中,差异无统计学意义($P > 0.05$),CXCL16 在 NSCLC 的 LN 转移、TMN 分期、吸烟分组中,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 CXCR6 免疫组化的检测结果及与临床病理特征的关系 CXCR6 染色主要定位于 NSCLC 细胞的细胞质和细胞膜,可见淡黄色至棕褐色染色,正常肺组织中未观察到明显阳性染色,仅少数炎症细胞中有中等强度表达,见图 2。CXCR6 在 NSCLC 组织中阳

性率为 65.52% (38/58), 在正常肺组织中阳性率为 5.00% (1/20), 差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 22.768$, $P = 0.000$)。CXCR6 在 NSCLC 患者性别、年龄、病

理分型、分化程度、胸膜转移、吸烟比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), CXCR6 在 NSCLC 的 LN 转移、TNM 分期中差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

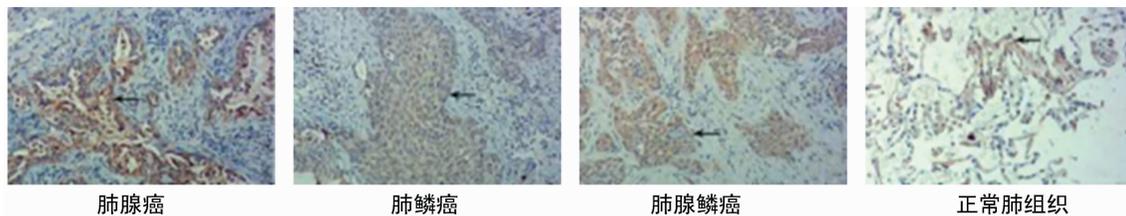


图 1 CXCL16 在各组肺组织中的表达 (200×)

表 1 NSCLC 组织中 CXCL16 及 CXCR6、EGFR 的表达与临床病理特征关系 [n(%)]

组别	CXCL16	χ^2	P	CXCR6	χ^2	P	EGFR	χ^2	P
性别									
男	30(71.43)	0.000	1.000	27(64.29)	0.102	0.749	27(64.29)	0.604	0.437
女	12(75.00)			11(68.75)			12(75.00)		
年龄									
<60 岁	25(78.13)	1.166	0.280	23(71.88)	1.277	0.258	24(75.00)	1.951	0.163
≥60 岁	17(65.38)			15(57.69)			15(57.69)		
病理类型									
腺癌	24(75.00)	0.318	0.895	21(65.63)	0.194	1.000	25(81.25)	7.701	0.025
鳞癌	15(68.18)			14(63.64)			10(45.45)		
腺鳞癌	3(75.00)			3(75.00)			3(75.00)		
分化程度									
低等	12(80.00)	0.586	0.799	10(66.67)	0.151	0.927	9(60.00)	0.484	0.821
中等	21(70.00)			19(63.33)			21(70.00)		
高等	9(69.23)			9(69.23)			9(69.23)		
LN 转移									
有	31(91.18)	10.296	0.001	27(79.41)	7.021	0.008	30(88.24)	16.441	0.000
无	12(50.00)			11(45.83)			9(37.50)		
TNM 分期									
I~II 期	18(60.00)	4.794	0.029	16(53.33)	4.083	0.043	15(50.00)	8.386	0.004
III~IV 期	24(85.71)			22(78.57)			24(85.71)		
吸烟									
有	37(100.00)	38.93	0.000	24(64.86)	0.019	0.890	24(64.86)	0.262	0.609
无	5(23.81)			14(66.67)			15(71.43)		
胸膜转移									
有	4(100.00)	0.489	0.484	3(75.00)	0.000	1.000	4(100.00)	0.800	0.371
无	38(70.37)			35(64.81)			35(64.81)		

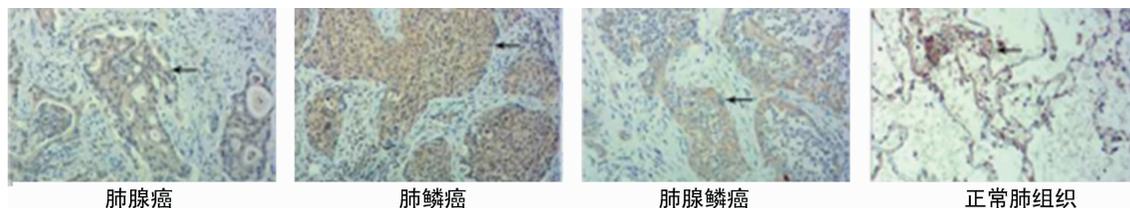


图 2 CXCR6 在各组肺组织中的表达 (200×)

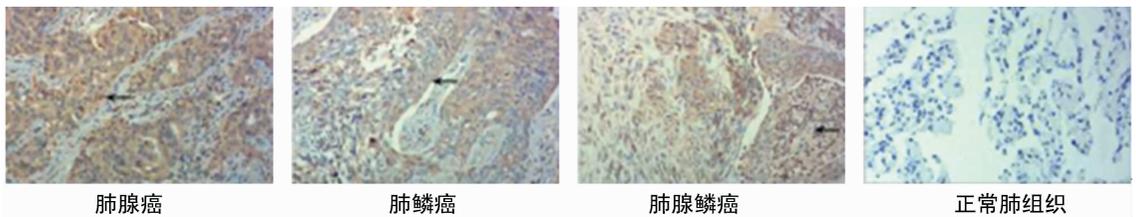


图 3 EGFR 在各组肺组织中的表达(200×)

2.3 EGFR 免疫组化的检测结果及与临床病理特征的关系 EGFR 染色主要定位于 NSCLC 细胞的胞质和胞膜,可见淡黄色至棕褐色染色,正常肺组织中未观察到阳性染色结果,见图 3。EGFR 蛋白在 NSCLC 组织中阳性率为 67.24%(39/58),正常肺组织中不表达,差异具有统计学意义($\chi^2 = 27.888, P = 0.000$)。EGFR 在 NSCLC 患者性别、年龄、病理分型、分化程度、胸膜转移分组中,差异无统计学意义($P > 0.05$)。EGFR 在 NSCLC 的 LN 转移、TNM 分期、吸烟分组中,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.4 sCXCL16 血清浓度与临床病理特征的关系 NSCLC 患者、健康者血清中 sCXCL16 水平分别为 (572.82 ± 116.05) pg/mL、(329.47 ± 135.38) pg/mL,NSCLC 和健康者血清 sCXCL16 值经单样本 K-S 检验结果分别为 $Z = 0.852, P = 0.463$ 和 $Z = 0.819, P = 0.514$,两组数据检验分布为正态分布。经 t 检验比较 2 组血清水平平均数结果显示 $F = 0.938, t = 8.97, P = 0.000$,NSCLC 患者血清 sCXCL16 水平高于健康者,差异有统计学意义($P < 0.01$)。如表 2 所示,sCXCL16 水平值的数据呈正态分布,以均数 572.82 pg/mL 为截点分高低表达 2 组,高表达 24 例,低表达 34 例。sCXCL16 浓度在 NSCLC 性别、年龄、病理分型、分化程度、LN 转移、吸烟、胸膜转移分组中,比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。sCXCL16 浓度在 NSCLC 的 TNM 分期中,比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 sCXCL16 血清水平与临床病理特征的关系[n(%)]

组别	sCXCL16 高表达	χ^2	P
性别			
男	17(40.48)	0.051	0.821
女	7(43.75)		
年龄			
<60 岁	12(37.50)	0.443	0.506
≥60 岁	12(46.15)		
病理类型			
腺癌	11(34.38)	1.444	0.487
鳞癌	11(50.00)		
腺鳞癌	2(50.00)		
分化程度			
低等	9(60.00)	2.99	0.614

续表 2 sCXCL16 血清水平与临床病理特征的关系[n(%)]

组别	sCXCL16 高表达	χ^2	P
中等	10(33.33)		
高等	5(38.46)		
LN 转移			
有	15(44.12)	0.254	0.061
无	9(37.50)		
TNM 分期			
I ~ II 期	18(60.00)	5.545	0.019
III ~ IV 期	16(57.14)		
吸烟			
有	14(37.84)	0.528	0.467
无	10(47.62)		
胸膜转移			
有	2(50.00)	0.000	1.000
无	22(40.74)		

2.5 CXCL16、CXCR6、EGFR、sCXCL16 相关性分析 Spearman 等级相关分析显示,CXCL16 与 CXCR6 在 NSCLC 组织中表达呈正相关($r = 0.607, P < 0.01$),CXCL16 与 EGFR 在 NSCLC 组织中表达呈正相关($r = 0.473, P < 0.01$)CXCR6 与 EGFR 在 NSCLC 组织中表达呈正相关($r = 0.421, P < 0.01$),sCXCL16 在血清中与 CXCL16 在组织中表达呈不相关($r = 0.127, P > 0.05$),sCXCL16 在血清中与 CXCL16 在组织中表达呈不相关($r = 0.020, P > 0.05$),sCXCL16 在血清中与 EGFR 在组织中表达呈不相关($r = 0.139, P > 0.05$)。

3 讨论

目前越来越多的研究表明趋化因子受体家族及其相应配体可能在各系统恶性肿瘤的发生、发展中起着重要作用^[8-10]。近年来,趋化因子受体 CXCR6 及其配体 CXCL16 在肺癌组织中的表达及作用备受关注。MIR 等^[11]通过免疫组织化学方法检测了 78 份 NSCLC 组织标本,发现 CXCR6 在 NSCLC 组织中高度表达,腺癌组织中的表达显著高于鳞癌组织。国内胡卫东等^[12]研究证实人肺癌组织细胞及肺癌细胞株均高表达 CXCR6 及 CXCL16,提示 CXCR6/CXCL16 可能在肺癌的侵袭转移中起着关键作用。本研究结果提示 CXCL16/CXCR6 在 NSCLC 组织中表达明显高于正常肺组织,且二者在 NSCLC 的表达呈正相关。

这种结果提示 NSCLC 细胞存在 CXCL16 及其受体 CXCR6 的异常表达,推测其可能参与肺癌发生、发展,且在促进肺癌进程中可能存在协同作用^[13]。分析 CXCL16/CXCR6 在 NSCLC 发生、发展中的作用机制可能为:(1) NSCLC 细胞可通过合成和分泌 sCXCL16,以自分泌和旁分泌的方式促进自身的增殖、侵袭、转移。CXCR6 同时可能上调分泌肿瘤进展相关细胞因子,实现促血管新生作用,从而协同调控以上各生物学行为。(2) NSCLC 细胞可通过上调表达的 TM-CXCL16,在机体的抗肿瘤免疫应答中发挥主要作用。

CXCL16/CXCR6 的表达水平均在分期较晚或者有 LN 转移的 NSCLC 患者中明显升高,提示二者的高表达可能促进 NSCLC 侵袭、转移。有研究报道,二者在有 LN 侵袭、低分化的膀胱癌中表达高于无 LN 侵袭及高分化者,二者的表达与膀胱癌的侵袭行为密切相关^[14]。NSCLC 的 LN 转移较常见,本实验结果有 LN 转移的 NSCLC 原发灶高表达 CXCL16/CXCR6,根据现有研究推断 NSCLC 的 LN 转移组织可能存在 CXCL16、CXCR6 的高表达。

在许多肿瘤中能检测到 EGFR 蛋白的表达,研究提示 EGFR 与肿瘤细胞的增殖、血管生成、肿瘤侵袭、转移及细胞凋亡的抑制密切相关^[15-18]。本实验结果显示,EGFR、CXCL16 和 CXCR6 在 NSCLC 组织中的表达均高于正常肺组织,并均与 TNM 分期、LN 转移情况密切相关。通过等级相关分析显示,EGFR 与 CXCL16 二者的表达呈正相关,EGFR 与 CXCR6 二者的表达呈正相关,该结果提示 EGFR 与 CXCL16 或与 CXCR6 共表达在促进 NSCLC 的发生、发展过程中可能存在协同作用,但具体机制仍然不清楚,有待于以后进一步研究。

sCXCL16 在癌症血清中的作用尚未明确^[19-20],已有研究表明,sCXCL16 在胰腺导管腺癌、直肠癌患者血清浓度明显高于健康者^[21]。目前研究中,没有涉及 sCXCL16 在 NSCLC 患者血清中的研究。本实验结果显示,sCXCL16 在 NSCLC 患者血清中的水平明显高于健康者,在 NSCLC 晚期患者中水平明显高于早期患者。该结果提示,sCXCL16 的水平随着 NSCLC 的 TNM 分期增加而升高,其高水平可能促进 NSCLC 侵袭、转移。既往研究显示,sCXCL16 促进肿瘤细胞增殖,TM-CXCL16 则抑制增殖^[22-23]。分析 sCXCL16 在 NSCLC 晚期患者血清中高水平的意义,一方面 TM-CXCL16 可能更倾向于裂解产生 sCXCL16,使血清中 sCXCL16 水平升高,促进肺癌细胞的生长、迁移。另一方面 TM-CXCL16 裂解后相对表达降低,影响炎症细胞的聚集,削弱机体的抗肿瘤免疫,有利于肺癌的异位生长。HALD 等^[24]检测了 NSCLC 患者组织标本中的 CXCR6 及 CXCL16 表达情况,发现患者术后的病理组织类型、组织分化程度、TNM 分期、

是否血管浸润及淋巴结转移与患者预后差相关,但 NSCLC 组织基质细胞中 CXCL16 的高表达却预示患者更好的预后。本研究结果提示,CXCL16 在 NSCLC 患者性别、年龄、病理分型、分化程度、胸膜转移分组中,差异无统计学意义($P>0.05$)。

4 结 论

青海地区 CXCL16、CXCR6、EGFR、sCXCL16 可能参与人 NSCLC 的发生、发展,其高表达促进人 NSCLC 的侵袭转移。CXCL16、CXCR6 及 EGFR 表达呈正相关,提示在促进人 NSCLC 侵袭转移中可能存在协同作用。CXCR6 可能参与了 NSCLC 发生、发展的恶性过程,其高表达可能提示 NSCLC 患者预后不良,但 CXCR6 的表达能否作为一个早期检测诊断的标记及其在 NSCLC 发生、发展中的具体分子机制仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] 刘先领,江舟.肺癌分子靶向治疗的实践与展望[J].医学与哲学,2016,37(18):17-20.
- [2] 刘月平,刘俊英,陈砚凝,等.肺癌患者表皮生长因子受体的突变及临床病理特征[J].广东医学,2016,37(9):1365-1368.
- [3] 周慧芬,王定森,李勇,等.RNAi 沉默 CXCR6 基因对肺癌 A549 细胞增殖、体外侵袭力和裸鼠成瘤能力的影响[J].癌症进展,2016,14(4):335-339.
- [4] SINGH R, KAPUR N, SINGH S, et al. CXCR6-CXCL16 axis promotes prostate cancer by mediating cytoskeleton rearrangement via Ezrin activation and av β 3 integrin clustering[J]. *OneTarget*, 2016,7(6):7343-7353.
- [5] XIAO G, WANG X, WANG J H, et al. CXCL16/CXCR6 chemokine signaling mediates breast cancer progression by pERK1/2 dependent mechanisms [J]. *Oncotarget*, 2015,6(16):14165-14178.
- [6] WANG Y H, DONG Y Y, REN G J, et al. Vascular endothelial cells facilitated HCC invasion and metastasis through the Akt and NF- κ B pathways induced by paracrine cytokines[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2013,32(1):32-51.
- [7] HU W, LIU Y, ZHOU W, et al. CXCL16 and CXCR6 are coexpressed in human lung cancer in vivo and mediate the invasion of lung cancer cell lines in vitro[J]. *PLoS One*, 2014,9(6):e99056.
- [8] SARVAIYA P J, GUO D, LESNIAK M S, et al. Chemokines in tumor progression and metastasis[J]. *OneTarget*, 2013,4(12):2171-2185.
- [9] RIVAS-FUENTES S, SALGADO-AGUAYO A, BELLOSO S P, et al. Role of chemokines in non-small cell lung cancer: angiogenesis and inflammation [J]. *J Cancer*, 2015,6(10):938-952.
- [10] CHOI Y H, BURDICK M D, STRICTER R M, et al. CXCR4, but not CXCR7, discriminates metastatic behavior in non-small cell lung cancer cell lines [J]. *Mol Cancer Res*,

2014,12(1):38-47.

- [11] MIR H, SINGH R, SINGH S, et al. CXCR6 expression in non-small cell lung carcinoma supports metastatic process via modulating metalloproteinases[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(12):9985-9998.
- [12] 周雯慧, 刘越, 胡卫东, 等. 趋化因子及其受体 CXCL16/CXCR6 在人肺癌转移中的作用[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2011, 31(12):1076-1080.
- [13] 吴润华, 黄衍杨, 唐景清. 趋化因子受体 CXCR6 及其配体 CXCL16 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. *山西医科大学学报*, 2017, 48(8):830-835.
- [14] LEE J T, LEE S D, LEE J Z, et al. Expression analysis and clinical significance of CXCL16/CXCR6 in patients with bladder cancer[J]. *Oncol Letters*, 2012, 5(1):229-235.
- [15] 王杰, 刘畅, 钟殿胜, 等. 免疫组化法检测 NSCLC 患者 EGFR 突变的相关研究[J]. *中国肺癌杂志*, 2015, 18(4):212-218.
- [16] 孟谊, 杨杨, 樊祥山, 等. VEGF、EGFR 的表达与非小细胞肺癌生物学行为的相关性[J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 23(5):633-636.
- [17] 张连美, 仲纪祥, 孙苏安. EGFR、ALK 和 Ki-67 在非小细胞肺癌中的表达及相关性分析[J]. *临床肺科杂志*, 2017, 22(1):4-7.
- [18] 王杰, 衣素琴, 王欢, 等. 非小细胞肺癌中 c-Met、EGFR、K-Ras 和 EML4-ALK 基因的检测分析[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2015, 20(10):902-908.
- [10] ALYA A, AL ZOBAIR, BARRAK F, et al. Concomitant overexpression of both EGFR and CXCR4 is associated

with worse prognosis, a new molecular subtype of non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(4):1524-1532.

- [19] 易童, 崔曙, 龚志勇, 等. 趋化因子受体 6 在膀胱尿路上皮癌中的表达及其临床意义[J]. *四川医学*, 2015, 36(10):1363-1367.
- [20] HOJO S, KOIZUMI K, TSUNEYAMA K, et al. High-level expression of chemokine CXCL16 by tumor cells correlates with a good prognosis and increased tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(10):4725-4731.
- [21] MATSUSHITA K, TOIYAMA Y, TANAKA K, et al. Soluble CXCL16 in preoperative Serum is a Novel Prognostic Marker and Predicts Recurrence of Liver Metastases in Colorectal Cancer Patients [J]. *Ann Surg Oncol*, 2011, 19(Suppl 3):S518-527
- [22] 周雯慧, 刘越, 胡卫东, 等. 趋化因子及其受体 CXCL16/CXCR6 在人肺癌转移中的作用[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2011, 31(12):1076-1080.
- [23] 汤红平, 刘芳, 唐冬生, 等. 趋化因子 CXCL16 及其受体 CXCR6 在恶性肿瘤中的表达与作用[J]. *佛山科学技术学院学报(自然科学版)*, 2014, 32(6):29-35.
- [24] HALD S M, KISELEV Y, AL-SAAD S, et al. Prognostic impact of CX-CL16 and CXCR6 in non-small cell lung cancer: combined high-CXCL16 expression in tumor stroma and cancer cells yields improved survival [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(1):441.

(收稿日期:2018-04-12 修回日期:2018-07-02)

(上接第 2835 页)

free and total triiodothyronine for the Beckman Coulter Dxl-800 analyzers by indirect method using data obtained from Chinese population in Zhejiang Province, China[J]. *J Clin Lab Anal*, 2017, 31(4):.

- [16] SUN R, XIA J. The reference intervals of thyroid hormones for pregnant women in Zhejiang province[J]. *Lab Med*, 2017, 49(1):5-10.
- [17] ALPDEMIR M, ALPDEMIR M F. Determination of reference range with the indirect method of the 25-hydroxy vitamin D3 test in the balikesir region, Turkey[J]. *Turk J Med Sci*, 2016, 46(5):1512-1517.
- [18] LYKKEBOE S, NIELSEN C G, CHRISTENSEN P A. Indirect method for validating transference of reference intervals[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 56(3):463-470.
- [19] 吴文浩, 沈隽霏, 吴炯, 等. 间接法建立上海地区常规肝肾功能生化检验项目参考区间[J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39(12):906-910.
- [20] RIOND B, STEFFEN F, SCHMIED O, et al. Lutz H total protein measurement in canine cerebrospinal fluid: agreement between a turbidimetric assay and 2 dye-binding

methods and determination of reference intervals using an indirect a posteriori method[J]. *Vet Clin Pathol*, 2014, 43(1):78-88.

- [21] KUTLUTURK F, YILDIRIM B, OZTURK B, et al. Etikan I the reference intervals of thyroid stimulating hormone in healthy individuals with normal levels of serum free thyroxine and without sonographic pathologies[J]. *Endocr Res*, 2014, 39(2):56-60.
- [22] KRATZSCH J, FIEDLER G M, LEICHTLE A, et al. Thierry J new reference intervals for thyrotropin and thyroid hormones based on National academy of clinical biochemistry criteria and regular ultrasonography of the thyroid[J]. *Clin Chem*, 2005, 51(8):1480-1486.
- [23] TAKEDA K, MISHIBA M, SUGIURA H, et al. Evaluated reference intervals for serum free thyroxine and thyrotropin using the conventional outlier rejection test without regard to presence of thyroid antibodies and prevalence of thyroid dysfunction in Japanese subjects [J]. *Endocr J*, 2009, 56(9):1059-1066.

(收稿日期:2018-06-02 修回日期:2018-08-08)