

非小细胞肺癌组织中趋化因子受体 CCR7 的表达及其临床意义

李春磊,裴艳志,邹志田,高磊,路通,凡航,朱晓峰

(佳木斯大学附属第一医院胸外科,黑龙江 佳木斯 154000)

摘要:目的 研究 CCR7 在 NSCLC 中的表达情况,探讨其与 NSCLC 的临床病理关系。方法 采取链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组化法检测 36 例非小细胞肺癌组织、5 例正常肺组织 CCR7 的表达情况及肺癌组织 D2-40 的表达情况。结果 CCR7 主要表达在细胞膜及细胞质,36 例组织标本中 29 例阳性表达,阳性率为 80.56%;正常肺组织的阳性率为 10.00%。癌组织淋巴结阳性标本中 CCR7 阳性率为 84.21%,阴性标本阳性率为 52.94% ($P < 0.05$)。结论 CCR7 在肺癌组织中高表达,并随着 TNM 分期的提高,CCR7 的表达也逐渐提高。并且 CCR7 高表达的癌组织样本中 D2-40 也呈现高表达。NSCLC 淋巴结转移与癌组织中的 CCR7 高表达关联密切,可能为今后预测 NSCLC 患者预后及治疗提供有力的理论依据。

关键词:非小细胞肺癌;CCR7;淋巴结转移

中图分类号:R734.2

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2018.17.004

文章编号:1006-1959(2018)17-0014-03

Expression of Chemokine Receptor CCR7 in Non-small Cell Lung Cancer and its Clinical Significance

LI Chun-lei, PEI Yan-zhi, ZOU Zhi-tian, GAO Lei, LU Tong, FAN Hang, ZHU Xiao-feng

(Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154000, Heilongjiang, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of CCR7 in NSCLC and to explore its clinicopathological relationship with NSCLC. Methods The expression of CCR7 in 36 cases of non-small cell lung cancer tissues and 5 normal lung tissues and the expression of D2-40 in lung cancer tissues were detected by streptomycin avidin-peroxidase immunohistochemistry. Results CCR7 was mainly expressed in cell membrane and cytoplasm, and 29 cases were positively expressed in 36 tissue samples, the positive rate was 80.56%; the positive rate of normal lung tissue was 10.00%. The positive rate of CCR7 in cancer tissue-positive specimens was 84.21%, and the positive rate in negative specimens was 52.94% ($P < 0.05$). Conclusion CCR7 is highly expressed in lung cancer tissues, and the expression of CCR7 is gradually increased with the increase of TNM staging. And D2-40 also showed high expression in cancer tissue samples with high CCR7 expression. NSCLC lymph node metastasis is closely related to the high expression of CCR7 in cancer tissues, which may provide a powerful theoretical basis for predicting the prognosis and treatment of patients with NSCLC.

Key words: Non-small cell lung cancer; CCR7; Lymph node metastasis

肺癌(lung cancer)发生于支气管黏膜及其腺体上皮的恶性肿瘤,是当今全世界威胁人类健康的最严重的恶性疾病之一,且其发病率呈逐年上升的趋势,现已位居恶性肿瘤发病率和死亡率之首,其中80%以上是非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)^[1]。现阶段的治疗方法以手术为主,放化疗等多学科综合治疗已成为学科共识。虽然目前在肺癌早期诊断及综合治疗方面取得了相当大的进展,但目前的5年生存期仍未达到令人满意的程度,即便是I期的NSCLC患者根治术后,仍会有相当一部分患者发生肿瘤的复发和远处转移,这提示着我们这些患者术前即有可能存在着一些转移,而淋巴

结转移最常见的途径,所以肺癌的淋巴结转移是临床治疗所面对的最大难题,直接影响着患者的生存期。趋化因子受体7(Chemokine receptor 7, CCR7)是一种G蛋白偶联的7次跨膜受体,在与配体相结合,可实现肿瘤细胞与淋巴细胞归巢类似的生物学行为,进而介导肿瘤细胞向特定器官的转移。现已发现,CCR7在多种实体肿瘤中高表达,如胰腺癌、乳腺癌、横纹肌肉瘤等,影响着肿瘤细胞的粘附、存活、淋巴管、血管生成等,在肿瘤的侵袭转移中发挥重要作用。本实验研究CCR7在NSCLC组织中表达情况及其临床病理的关系进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 NSCLC组织蜡块来自佳木斯大学附属第一医院胸外科从2010年1月~2015年12月行手术切除的肺癌组织,并选取5例手术切除的正常肺组织,按照《中国肿瘤病理学分类》,36例标本中

作者简介:李春磊(1988.9-),男,安徽阜阳人,硕士研究生,研究方向:肺癌的手术治疗及预后

通讯作者:朱晓峰(1970.1-),男,黑龙江佳木斯人,博士,主任医师,教授,研究生导师,研究方向:肺癌的基础和临床研究

鳞癌 15 例,腺癌 19 例,腺鳞癌 2 例。淋巴结转移 19 例;年龄 48~75 岁,中位年龄 60 岁。所入选患者手术前均未行放疗或化疗治疗。36 例患者按照国际抗癌协会(UICC)2009 年新修订的第七版非小细胞肺癌 TNM 分期分为:I 期 8 例、II 期 15 例、III 期 13 例。所有切片经过 10%中性福尔马林溶液浸泡固定,并常规石蜡包埋,4 μm 连续切片,免疫组织化学 SP 法染色。

1.2 主要试剂 鼠抗人 CCR7 购买自哈尔滨博士德生物科技有限公司。检测系统 DAB 显示试剂盒购买于北京中杉金桥生物科技有限公司。

1.3 实验方法 所有标本均经过柠檬酸缓冲液(pH=6.0)高温高压抗原修复,采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组化法(SP 法)免疫组织化学法染色。严格按照试剂盒操作进行。CCR7 稀释浓度为 1:100。用已知的 CCR7 阳性切片作 CCR7 的阳性对照。PBS 取代一抗作阴性对照。所有切片采用 DAB 显色,苏木精复染,中性树脂封片,光镜下观察。

1.4 结果判定 按照 Andre 等^[2]的方法对 CCR7 的结

果进行判读,由两位资深病理医师双盲阅片,根据免疫组织化学染色阳性的细胞比例和染色的强度进行评分,以细胞膜或细胞浆呈棕黄色颗粒为阳性细胞。染色强度判:无色记为 0 分;浅黄色记为 1 分;棕黄色记为 2 分;棕褐色记为 3 分;根据着色细胞比例评分: $\leq 10\%$ 记为 0 分;11%~25%记为 1 分;26%~50%记为 2 分;51%~75%记为 3 分。两者评分之和 ≥ 3 分记为阳性,<3 分记为阴性。

1.5 统计学方法 本次研究数据采用 SPSS21.0 统计软件进行分析,计数资料以(%)表示,行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

随着 TNM 分期的提高,其阳性率也逐渐提高。正常肺组织多为染色阴性或浅黄色,染色的面积小,见图 1。CCR7 在 NSCLC 中高表达,且表达主要在细胞膜和(或)细胞质中,见图 2。36 例 NSCLC 组织有 80.56%的标本阳性表达,正常肺组织为 10.00%($P < 0.05$)。同时,本实验还发现 CCR7 的表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小、病理类型无关,而与淋巴结是否

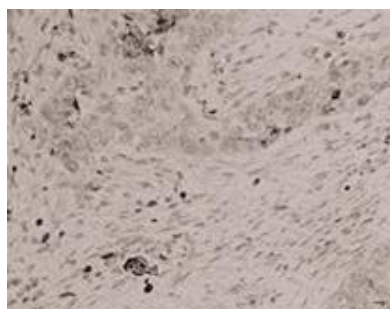


图 1 正常肺组织 CCR7 的表达($\times 400$)

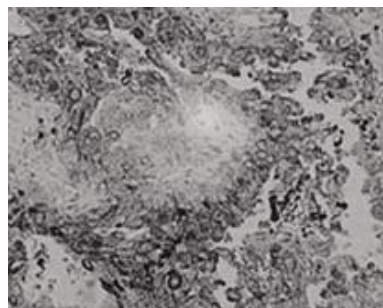


图 2 NSCLC 组织中 CCR7 的表达($\times 400$)

转移、肿瘤的 TNM 分期相关,见表 1。

3 讨论

肿瘤转移和侵袭是人类癌症的关键恶性特征。肿瘤患者的死亡主要是由癌细胞扩散到远处的器官造成。癌症转移的重要特征之一就是淋巴结受累。目前肿瘤新生淋巴管及新生血管的研究已成为研究肿瘤转移的热点。CCR7 在肿瘤淋巴管和血管的生成中起到重要作用。CCR7 在所有原始 T 细胞和一些记忆 T 细胞,B 细胞和成熟树突状细胞上表达。在免疫和炎症反应期间,CCR7 与其配体趋化因子配体 19(CCL19)或趋化因子配体 21(CCL21)相互作用时,可促进淋巴细胞运输和归巢到淋巴结^[3-5]。相关文献报道^[6]CCR7 可与其配体 CCL19/CCL21 相结合,在多种生长因子,如 VEGF-C、D 等的参与下,可趋化肿瘤向淋巴结转移。

D2-40 是近年来发现的一种淋巴管标志物,可与癌胚抗原 M2A 特异性结合,且只与淋巴管内皮反应,不与血管内皮反应,被认为是最具有特异性的淋巴管标志物^[7]。相关研究显示^[8] D2-40 抗体可更敏感的检测出肿瘤淋巴管的生成,可更有效的预测肿瘤的淋巴结转移。

本实验发现:①CCR7 在 NSCLC 组织中的表达显著高于正常组织,且随着 TNM 分期的提高,NSCLC 组织 CCR7 的阳性率逐渐提高;②淋巴结阳性的 NSCLC 的 CCR7 的表达率高于淋巴结阴性的标本;③淋巴结阳性组的 MLVD 高于淋巴结阴性组 MLVD;④CCR7 在不同病理类型的 NSCLC 表达,差异无临床意义及统计学意义。

本实验采用 SP 法证实了 CCR7 与 NSCLC 淋巴结的转移高度相关。相关研究^[9-11]证明 CCR7 可与其

表 1 36 例非小细胞肺癌组织中 CCR7 的表达与临床病理特征的关系[n(%)]

项目	组别	n	CCR7 的表达		χ^2	P
			阴性	阳性		
年龄(岁)	≥60	19	4(11.11)	15(41.67)	0.80	1.00
	<60	17	3(8.33)	14(38.89)		
性别	男	20	4(11.11)	16(44.44)	0.93	0.63
	女	16	3(8.33)	13(36.11)		
肿瘤直径	T1	10	4(11.11)	6(16.67)	4.11	0.13
	T2	12	2(5.56)	10(27.78)		
	T3	14	1(2.87)	13(36.11)		
淋巴结转移	无	17	6(16.67)	11(30.56)	0.04	0.03
	有	19	1(2.78)	18(50.00)		
TNM 分期	I	8	4(11.11)	4(11.11)	3.64	0.04
	II	15	2(5.56)	13(36.11)		
	III	13	1(2.78)	12(33.33)		
病理分型	腺癌	19	6(16.67)	13(36.11)	3.38	0.15
	鳞癌	15	1(2.78)	14(38.89)		
	腺鳞癌	2	0	2(5.56)		
	合计	36	7(19.44)	29(80.56)		

配体结合,形成 CCR7/CCL19/CCL21 系统,通过 ERK/Akt 通路诱导 VEGF-C、D 的上调,从而促进肿瘤微淋巴管生成,为 NSCLC 淋巴结转移打下伏笔。并且该实验测定 D2-40 发现淋巴结阳性的组织 MLVD 的表达率明显高于淋巴结阴性的标本,从侧面印证 CCR7 与 NSCLC 淋巴结转移密切相关。

综上所述,CCR7 高表达与 NSCLC 淋巴结的转移关系密切,可能为今后 NSCLC 患者的治疗及预后提供有力的理论依据。积极寻找阻断 CCR7 作用通路的靶点,将成为未来研究 NSCLC 淋巴管生成和淋巴结转移新的方向。

参考文献:

- [1]Jemal A,Bray F,Center MM,et al.Global cancer statistics[J].Ca A Cancer Journal for Clinicians,2015,65(2):87-108.
- [2]Andre F,Cabioglu N,Assi H,et al.Expression of chemokine receptors predicts the site of metastatic relapse in patients with axillary node positive primary breast cancer[J].Annals of Oncology Official Journal of the European Society for Medical Oncology,2006,17(6):945.
- [3]Chiara LD,Crean J.Emerging Transcriptional Mechanisms in the Regulation of Epithelial to Mesenchymal Transition and Cellular Plasticity in the Kidney[J].Journal of Clinical Medicine,2016,5(1):6.
- [4]Mitsugu F,Takaaki M,Akihiko I.Biomedical insights into cell adhesion and migration -from a viewpoint of central nervous

system tumor immunology [J].Frontiers in Cell&Developmental Biology,2015,3(3):55.

[5]Nowruz D,Ehsan S,Parva P,et al.Comparison The Effects of Two Monocyte Isolation Methods,Plastic Adherence and Magnetic Activated Cell Sorting Methods,on Phagocytic Activity of Generated Dendritic Cells[J].Cell Journal,2013,15(3):218-223.

[6]蔡庆勇.CCR7 基因对食管鳞状细胞癌新生血管的作用及机制研究[D].第三军医大学,2016.

[7]张春芳,齐冬雪,杨聪颖,等.SALL4、D2-40 和 Glypican-3 在睾丸生殖细胞肿瘤诊断中的应用[J].临床与实验病理学杂志,2015(8):850-854.

[8]高强,丁贵坡,张旋.乳腺癌组织中 D2-40 标记的淋巴管浸润与淋巴结转移的关系[J].中国实用医刊,2014,41(6):19-21.

[9]杨润祥,刘林,马飞,等.甲状腺癌中 CCR7 和 D2-40 的表达及其与淋巴结转移的关系[J].肿瘤防治研究,2014,41(5):418-422.

[10]Zhang YY,Liu ZB,Ye XG,et al.Iodine regulates G2M progression induced by CCL21 CCR7 interaction in primary cultures of papillary thyroid cancer cells with RET PTC expression [J].Molecular Medicine Reports,2016,14(4):3941-3946.

[11]Irinio T,Takeuchi H,Matsuda S,et al.CC -Chemokine receptor CCR7:a key molecule for lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma [J].Bmc Cancer,2014,14(1):291.

收稿日期:2018-3-12;修回日期:2018-4-11

编辑/李桦