

· 基础研究 ·

CXCR4 在鼻面部基底细胞癌中的 表达及临床意义

阎小军¹, 王珮华¹, 徐成志¹, 汪涛¹, 陈东¹, 陈颖²

(上海交通大学医学院附属第九人民医院 1. 耳鼻咽喉科; 2. 病理科, 上海 200011)

摘要: 目的 探讨 CXCR4 在鼻面部基底细胞癌、癌组织手术切缘及癌旁正常皮肤组织中的表达及临床意义。方法 通过免疫组织化学方法检测 60 例基底细胞癌组织、手术切缘及 30 例癌旁正常组织中 CXCR4 的表达。结果 CXCR4 在鼻面部基底细胞癌组织中的阳性表达率为 80% (48/60), 在病理学为阴性的手术切缘中的阳性表达率为 33% (20/60), 癌旁正常组织中的阳性表达率为 10% (3/30), 3 组之间有统计学意义 ($P < 0.05$)。CXCR4 的表达与肿瘤的病理类型有关, 而与年龄、性别及肿瘤的大小无关。结论 CXCR4 在鼻面部基底细胞癌中呈高表达, 其表达的程度与病理类型有关, 并可作为预测肿瘤安全切缘的分子标记物。

关键词: 鼻面部肿瘤; 基底细胞癌; 手术切缘; CXCR4

中图分类号: R730.261

文献标识码: A

文章编号: 1007-1520(2010)04-0257-04

Expression of CXCR4 in basal cell carcinoma of nasal surface and the significance in surgical margins

YAN Xiao-jun, WANG Pei-hua, XU Cheng-zhi, et al.

(Department of Otolaryngology, Affiliated Shanghai Ninth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao-Tong University, Shanghai 200011, China)

Abstract: **Objective** To discuss the expression of CXCR4 in specimens of nasalsurface basal cell carcinoma, surgical margin tissue, and normal skin, then to explore its possible role in the surgical margins of basal cell carcinoma of nasal surface. **Methods** Specimens of 60 basal cell carcinoma and 30 pieces of normal skin of nasal surface were collected from Jan 2007 to Jan 2009. Immunohistochemical technique (S-P) and image analysis were used for detecting the expression of CXCR4 in specimens of pathological negative margin, primary site of carcinoma and normal skin. And its relations to clinicopathological parameters were also analyzed. **Results** The expression rates of CXCR4 in primary site of carcinoma, pathological negative margin and normal skin were 80.0% (48/60), 33.3% (20/60) and 10.0% (3/30) respectively. The differences of the expression rates between each group were statistically significant ($P < 0.05$). There was a significant correlation between the expression of CXCR4 and the pathological categories ($P = 0.017$). No significant correlation was found between the expression of CXCR4 and age, sex and tumor size. **Conclusion** The expression of CXCR4 in basal cell carcinoma of nasal surface, surgical margins and normal skin is different. The CXCR4 may play an increasingly important role in establishing surgical margins, which may guide the surgical treatment for this tumor.

Key words: Nasal surface neoplasm; Basal cell carcinoma; Surgical margin; CXCR4

基金项目: 上海市卫生局科研计划项目(编号: 2008183)。
作者简介: 阎小军, 男, 硕士研究生。
通讯作者: 王珮华, Email: wangpeihua@yahoo.cn.

基底细胞癌(basal cell carcinoma, BCC)是最常见的皮肤恶性肿瘤, 占有皮肤肿瘤

的65%~75%^[1]。其起源于表皮及皮肤附属器的基底细胞,生长缓慢,局部呈浸润生长,很少转移,但局部侵犯可引起严重的外貌损伤及功能丧失,甚至威胁生命。据报道大部分的基底细胞癌发生于头面部,而外鼻及鼻周最容易受累^[2-3]。近来研究发现趋化因子受体CXCR4通过与特异性的配体趋化因子基质细胞衍生因子(SDF-1)相结合,能诱导靶细胞趋化性迁移及细胞骨架的重排,增强靶细胞与内皮细胞的黏附能力等,广泛参与细胞的生长、发育、分化、凋亡等多种生理功能,从而在多种肿瘤的发生、发展和转移过程中发挥重要作用。本研究通过免疫组织化学方法对同一患者鼻面部基底细胞癌、手术切缘及癌旁正常组织中的CXCR4表达进行研究,初步探讨其不同组织中表达的差异及其与临床病理因素的关系。

1 材料和方法

1.1 标本来源

60例标本均来自于2007年1月~2009年1月上海交通大学医学院附属第九人民医院耳鼻咽喉科手术切除的鼻面部基底细胞癌组织标本60例、手术切缘60例及癌旁正常组织60例,且经病理证实。其中男28例,女32例;年龄28~84岁,平均年龄为60岁。病理类型:结节型48例,浅表型5例,浸润型2例,硬斑病型3例,微结节型2例。所有患者均无远处转移,术前均未经过放化疗处理。

1.2 试剂

CXCR4鼠抗人单克隆抗体(R&D Systems, USA),免疫组化(SABC)试剂盒及CXCR4原位杂交试剂盒。

1.3 免疫组化

SP法检测基底细胞癌标本中CXCR4蛋白表达。SP法免疫组化染色流程均设有对照作为质量控制:0.01 mol/L, pH 7.4的PBS代替一抗为阴性对照,同时取癌旁正常皮肤为对照,所有对照均与研究标本在同一条件下进行染色。结果判断:采用双盲法判定CXCR4阳性表达,以肿瘤细胞膜或胞质出现淡至深棕黄色颗粒为阳性。参考Al-

mofti等^[4]的统计方法:每张切片随机检测10个高倍视野,记录单一的阳性细胞占总细胞数的百分比。按阳性细胞分布分为以下等级。0级:阳性细胞<10%;1级:阳性细胞 $\geq 10\% \sim 25\%$;2级:阳性细胞 $> 25\% \sim 50\%$;3级:阳性细胞 $\geq 50\% \sim 75\%$;4级:阳性细胞75%以上。

1.4 统计学处理

采用SPSS 11.5统计软件,对免疫反应结果及与临床病理资料的关系采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义;对CXCR4蛋白表达结果进行方差分析。

2 结果

2.1 CXCR4在基底细胞癌组织、手术切缘及癌旁正常组织中的表达

在癌旁正常皮肤组织中,CXCR4呈较弱表达或无表达,30例中仅有3例阳性细胞小于25%;在基底细胞癌组织中呈较强的表达(图1),CXCR4阳性病例的百分比为80%(48/60);在病理学为阴性的手术切缘中也有中度的表达,表达率为33%(20/60)。其中基底细胞癌组织和手术切缘组织相比其表达具有明显的统计学意义($P = 0.008$)。癌组织与癌旁正常组织也有明显的统计学差异($P = 0.003$),而手术切缘与正常皮肤之间也存在明显的统计学意义($P = 0.046$)。

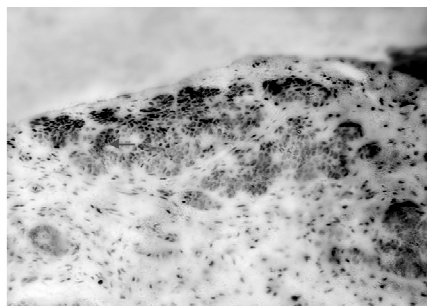


图1 CXCR4在鼻面部基底细胞癌组织中的表达,胞浆及胞膜呈棕褐色颗粒染色(箭头所示)(SP染色, $\times 200$)

2.2 CXCR4的表达与基底细胞癌临床病理参数的关系

CXCR4 表达与肿瘤的临床病理参数关系见表 1。由表 1 可知, CXCR4 的表达与肿瘤的病理类型有关, 由于结节型的恶性程度较高, 故表达率较其他类型为高, 两者具有统计学意义 ($P = 0.017$)。而与年龄、性别和肿瘤的大小无关。

表 1 CXCR4 表达与鼻面部基底细胞癌临床病理特征的关系 (%)

临床病理参数	例数 (n=60)	CXCR4 阳性 (n=48)	CXCR4 阴性 (n=12)	P 值
年龄				0.645
<60 岁	28	23(82.1)	5(17.9)	
≥60 岁	32	25(78.1)	7(21.9)	
性别				0.734
男	28	24(85.7)	4(14.3)	
女	32	24(75.0)	8(25.0)	
肿瘤大小				0.153
<2 cm	50	39(78.0)	11(22.0)	
≥2 cm	10	9(90.0)	1(10.0)	
病理类型				0.017*
结节型	48	40(83.3)	8(16.7)	
其他类型	12	8(66.7)	4(33.3)	

注: 结节型较其他类型表达率为高, * $P < 0.05$

3 讨论

目前关于手术安全切缘的界定仍然是以病理学为金标准, 但在病理学诊断为切缘阴性的患者中仍然有 10% - 30% 的病例出现局部肿瘤的复发^[5], 造成如此大的差异原因很多, 除了肿瘤本身的因素之外, 其中之一就是目前对肿瘤切缘的界定缺乏统一的标准, 因此有必要探索一种新的、更为准确的判定肿瘤切缘的方法。

一般来说作为预测肿瘤分子标记物必须满足以下条件^[6]: 首先, 这个分子标记物对肿瘤细胞必须是特异的和敏感的, 并且能够区分正常细胞和肿瘤细胞。其次, 其基因改变应该早于肿瘤发生浸润性改变之前, 而且要贯穿于肿瘤的发生、发展及转移过程始终。再次, 此标记物必须能够被广泛的运用在大部分的研究群体中。既往研究最多的肿瘤分子标记物是 P53, P53 基因突变被

发现在多种肿瘤当中, 并且在大多数的头颈部肿瘤当中有表达。有研究表明在病理组织学为阴性的切缘中, 52% 的癌前病变可通过检测其中的 P53 突变发觉, 而在这些阳性分子切缘的患者中有 38% 的病例出现局部复发, 分子切缘为阴性的患者则未出现局部的复发^[7]。由此可见 P53 在判断肿瘤切缘中有一定的价值。但是 P53 在切缘中的表达率总体水平不是很高, 因此有必要再寻找一种新的能够在基底细胞癌中有较高表达的分子标记物, 以弥补其不足。

趋化因子是一组具有趋化作用的细胞因子, 能吸引免疫细胞到免疫应答部位参与免疫调节和免疫病理反应。其中 CXCR4 是目前被认为与肿瘤关系比较密切的一类受体, 其通过与特异性的配体 SDF-1 相结合, 能诱导靶细胞趋化性迁移及细胞骨架的重排, 增强靶细胞与内皮细胞的黏附能力等。广泛参与细胞的生长、发育、分化、凋亡等多种生理功能, 从而在多种肿瘤的发生、发展和转移过程中发挥重要作用。Muller 等^[8]首次报到了趋化因子受体 CXCR4 在人类乳腺癌以及远处转移灶中高度表达。随后其在多种肿瘤中被报道有高表达, 目前研究表明至少有 23 种不同类型的恶性肿瘤表达 SDF-1 及其受体 CXCR4, 其中包括头颈部肿瘤^[9-11]。然而关于其在基底细胞癌中表达的文献报道甚少。本研究通过免疫组化研究, 发现鼻面部基底细胞癌中 CXCR4 呈强阳性表达, 其阳性表达率为 80%, 而在正常皮肤中无表达或表达较弱, 在病理学为阴性的切缘组织中也有较高的表达率, 为 33%。三者之间均有明显的统计学差异 (P 值分别为 0.008, 0.003 和 0.046)。参照以上肿瘤分子标记物的标准, 我们认为 CXCR4 可以作为一种预测肿瘤发生、发展及转移的特异性标记物, 并在肿瘤的手术切缘判定中发挥重要作用。

同时我们在分析 CXCR4 表达与临床病理的关系时发现, CXCR4 的表达与肿瘤的病理类型有关, 结节型的表达率较其他类型的明显高, 由于结节型的侵袭度较其他类型高, 故我们认为 CXCR4 的表达与肿瘤的侵袭程度密切相关, 而与年龄、性别及肿瘤的

大小则无明显的关系。

本研究结果证明, CXCR4 在鼻面部基底细胞癌中呈高表达, 其表达的程度与病理类型有关, 病理学为阴性的手术切缘亦有一定的表达, 正常组织中几乎无表达。因此, 我们推测 CXCR4 可成为鼻面部基底细胞癌治疗的新靶点, 并可作为预测肿瘤切缘的新的分子标记物。进一步的深入研究, 对于了解基底细胞癌手术预后及复发、转移的分子机制均有重要意义。

参考文献:

- [1] Skelton LA. The effective treatment of basal cell carcinoma [J]. *Br J Nurs*, 2009, 18(6): 346, 348 - 350.
- [2] 柴灵莺, 汤建国. 头面部基底细胞癌 41 例临床分析 [J]. *临床耳鼻咽喉科杂志*, 2006, 20(7): 297 - 299.
- [3] Evacs GR, Williams JZ, Ainslie NB. Cutaneous nasal malignance; is primary reconstruction safe? [J]. *Head Neck*, 1997, 19(3): 182 - 187.
- [4] Almofiti A, Uchida D, Begum NM, et al. The clinicopathological significance of the expression of CXCR4 protein in oral squamous cell carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2004, 25(1): 65 - 71.
- [5] van Houten VM, Leemans CR, Kummer JA, et al. Molecular Diagnosis of Surgical Margins and Local Recurrence in Head and Neck Cancer Patients: A Prospective Study [J]. *Clinical Cancer Research*, 2004, 10(11): 3614 - 3620.
- [6] Rodrigo JP, Ferlito A, Suárez C, et al. New molecular diagnostic methods in head and neck cancer [J]. *Head Neck*, 2005, 27(11): 995 - 1003.
- [7] Bradley PJ, MacLennan K, Brakenhoff RH, et al. Status of primary tumour surgical margins in squamous head and neck cancer: prognostic implications [J]. *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery*, 2007, 15(2): 74 - 81.
- [8] Müller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [J]. *Nature*, 2001, 410(6824): 50 - 56.
- [9] Balkwill F. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4 [J]. *Semin Cancer Biol*, 2004, 14(3): 171 - 179.
- [10] 徐萌, 李五一, 陈新明, 等. 口腔鳞癌中趋化因子受体 CXCR4 的临床病理及细胞学研究 [J]. *中华口腔医学杂志*, 2006, 41(6): 372 - 375.
- [11] Katayama A, Ogino T, Bandoh N, et al. Expression of CXCR4 and its down-regulation by IFN-gamma in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(8): 2937 - 2946.
(修回日期: 2010-03-24)
- (上接第 256 页)
- [10] Yaffe MB, Xu j, Burke PA, et al. Priming of the neutrophil respiratory burst is species dependent and involves MAP kinase activation [J]. *Surgery*, 1999, 126(2): 248 - 254.
- [11] Hamilton LM, Davies DE, Wilson SJ, et al. The bronchial epithelium in asthma much more than a passive barrier [J]. *Monaldi Arch Chest Dis*, 2001, 56(1): 48 - 54.
- [12] Yamaya M, Finkbeiner WE, Chun SY, et al. Differentiated structure and function of cultures from human tracheal epithelium [J]. *An J physiol*, 1992, 262(6): 713 - 724.
- [13] Dean JL, Brook M, Clark AR, et al. p38 mitogen-activated protein kinase regulates cyclooxygenase-2 mRNA stability and transcription in popoly sacharide-treated human monocytes [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(1): 264 - 269.
(修回日期: 2010-05-21)