

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.25.011

趋化因子配体 10 及趋化因子受体 3 在膀胱癌中的表达及意义*

彭晓晖^{1,2}, 梁培育¹, 欧善际¹, 祖雄兵^{2△}

(1. 海南医学院附属医院泌尿外科, 海口 570102; 2. 中南大学湘雅医院泌尿外科, 长沙 410008)

[摘要] **目的** 检测趋化因子配体 10(CXCL10)及趋化因子受体 3(CXCR3)在膀胱癌中的表达并探讨其临床意义。**方法** 80 例膀胱癌患者和 33 例健康体检者分别纳入试验组和对照组。采用 ELISA 检测血清中 CXCL10 的表达,采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测外周血单一核细胞中 CXCR3 mRNA 的表达,并将 CXCL10 和 CXCR3 的表达强度与各临床参数进行相关性分析。**结果** 试验组外周血清中 CXCL10 及外周血单一核细胞中 CXCR3 mRNA 的表达量均显著高于对照组;试验组血清 CXCL10 及 CXCR3 mRNA 的表达与年龄、病理分期、分化程度、肿瘤大小等均不存在相关性($P>0.05$),但均与有无淋巴结转移相关($P<0.05$)。**结论** CXCL10 及 CXCR3 的表达与膀胱癌的发生发展及淋巴结转移可能存在相关性,阻断 CXCL10/CXCR3 反应轴,可能会成为膀胱癌治疗的一个新靶点。

[关键词] 膀胱肿瘤;趋化因子配体 10;受体,CXCR3**[中图分类号]** R737.14**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)25-3491-02**Clinical significance of CXCL10 and CXCR3 expression in patients with bladder neoplasm***Peng Xiaohui^{1,2}, Liang Peiyu¹, Ou Shangji¹, Zu Xiongbing^{2△}

(1. Department of Urology, the Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou, Hainan 570102, China;

2. Department of Urology, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410008, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression of CXCL10 and its receptor CXCR3 expression in bladder neoplasm and explore their clinical significance. **Methods** Totally 80 patients with bladder neoplasm and 33 healthy control were recruited in this study. The serum level of CXCL10 was determined by ELISA and CXCR3 mRNA in peripheral blood mononuclear cell was measured by RT-PCR. The relationship of serum CXCL10 and CXCR3 levels with clinical parameter were analyzed. **Results** The serum CXCL10 and CXCR3 levels in patients of bladder neoplasm were significantly higher than the control group($P>0.05$). The serum CXCL10 and CXCR3 levels was significantly correlated with lymphatic metastasis ($P<0.05$). **Conclusion** High expression of CXCL10 and CXCR3 may relate to bladder cancer and possibly correlate with lymphatic metastasis.

[Key words] bladder neoplasm; chemokine CCL10; receptors, CXCR3

膀胱癌是我国泌尿外科最常见的恶性肿瘤,其发病率及病死率在泌尿系统肿瘤中居首位^[1]。膀胱癌的主要诊断方法为膀胱镜检查及尿细胞学检查。其中膀胱镜检查是有创检查,患者不易接受。而尿细胞学检查的特异度较高,但灵敏度略低。荧光膀胱镜检查可以发现普通膀胱镜不易发现的小肿瘤及原位癌,荧光膀胱镜的缺点是其诊断膀胱癌的特异度不高,膀胱炎症、膀胱癌电切术和膀胱灌注治疗均会导致假阳性结果的发生^[2]。而趋化因子配体 10(CXCL10)及趋化因子受体 3(CXCR3)可能会成为膀胱癌检查及治疗的靶目标之一。CXCL10 与 CXCR3 结合产生相应的效应,通过激活免疫系统或抑制肿瘤血管的形成抑制肿瘤生长;通过促进肿瘤细胞增殖,分泌产生蛋白水解酶,诱导血管生成从而促进肿瘤发展与转移。本文通过对检测膀胱癌患者血中 CXCL10 和外周血单一核细胞中 CXCR3 的表达,探讨 CXCL10/CXCR3 反应轴与膀胱癌发生、发展、转移的关系及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 6 月至 2013 年 6 月于海南医学院附属医院泌尿外科收治的 80 例首次诊断原发性膀胱癌住院患者为试验组。试验组患者入选 4 周内未使用过任何药物,未接受化学治疗和放射治疗,肝、肾功能正常。排除并发感染性

疾病、系统性慢性疾病、肝肾功能不全患者,以及近 1 个月使用过糖皮质激素、免疫抑制剂等药物的患者。试验组中男 50 例,女 30 例;年龄 35~75 岁,平均(51.20±8.78)岁;中高分化 46 例,低分化 34 例;T₀ 期 22 例,T₁ 期 14 例,T₂ 期 15 例,T₃₊₄ 期 29 例;肿瘤直径小于 2 cm 者 45 例,≥2 cm 者 35 例;其中有 19 例发生淋巴结转移。取 33 例健康体检者为对照组,男 20 例,女 13 例;平均年龄(49.52±9.15)岁。对照组均无既往病史,无使用糖皮质激素、免疫抑制剂等药物的记录。试验组及对照组间年龄及性别构成差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 标本收集 膀胱癌患者确诊后未给予任何治疗,于次日凌晨空腹抽取肘静脉血 5 mL,即刻进行高速离心,吸取上清液,于-70℃低温冰箱冷冻保存;采用相同方法收集对照组血清。

1.3 主要试验方法 ELISA 法检测血清中 CXCL10 的水平, CXCL10 鼠抗人单克隆抗体 ELISA 检测试剂盒,购自 R&D 公司。详细方法参照试剂盒及实验设备说明书进行。逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)测定外周血单一核细胞中 CXCR3 mRNA 的表达量:外周血用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,采用等体积 Hanks 液稀释,梯度离心,分离出外周血单一核细胞。采用 RNA 试剂盒(上海生工生物工程有限公司)严格按照说明书提

取总 RNA。RT-PCR 采用一步法 RT-PCR 试剂盒 (Bio Basic 公司提供)。引物序列: CXCR3 上游引物为 5'-CCA ACC ACA AGT GCC AAA GG-3', 下游引物为 5'-CCA TAA TCG TAG GGA GAT GTG-3', 扩增片段 172 bp, 内参 β -actin 引物序列: 上游引物 5'-GTG GAC ATC CGC AAA GAC-3', 下游引物 5'-AAA GGG TGT AAC GCA ATC AA-3', 扩增片段为 305 bp。基因引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 反应步骤、反应体系等参照文献进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析处理, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验, 方差不齐则用 t' 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组中 CXCL10 的表达及对比研究 CXCL10 在试验组及对照组中的表达水平分别是 (872.46 ± 121.22) pg/L 和 (481.95 ± 105.97) pg/L, 差异有统计学意义 ($t = 13.75, P < 0.01$)。

2.2 两组中 CXCR3 的表达及对比研究 以 β -action mRNA 为内参计算 CXCR3 mRNA 的相对表达量, 试验组及对照组外周血单一核细胞中 CXCR3 mRNA 的拷贝数量分别为 $0.236 \pm 0.098, 0.098 \pm 0.046$, 差异有统计学意义 ($t = 7.187, P < 0.01$)。

2.3 试验组 CXCL10 与 CXCR3 的表达和膀胱癌临床各病理特征的关系 膀胱癌患者血清 CXCL10 及 CXCR3 mRNA 的表达与年龄、病理分期、分化程度、肿瘤大小等均不存在相关性 ($P > 0.05$), 其中, CXCL10 及 CXCR3 mRNA 的表达虽然与病理分期无明显相关性, 但检测数据显示, 随着病理分期的加重, CXCL10 及 CXCR3 mRNA 的表达有逐渐升高的趋势, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 膀胱癌患者血清 CXCL10 及 CXCR3 mRNA 的表达均与有无淋巴结转移相关 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 膀胱癌中 CXCL10 与 CXCR3 的表达和临床各病理特征的关系 ($\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	n	CXCL10(pg/L)	P ₁	CXCR3 mRNA	P ₂
年龄					
<50	28	854.52±119.51	0.522	0.257±0.098	0.744
≥50	52	891.49±129.45		0.245±0.109	
病理分期					
T _a	22	836.46±101.52	0.258	0.237±0.090	0.341
T ₁	14	855.37±114.43		0.245±0.096	
T ₂	15	892.21±105.65		0.261±0.109	
T ₃₊₄	29	901.67±101.17		0.264±0.086	
分化程度					
中高分化	46	833.66±114.85	0.236	0.242±0.102	0.604
低分化	34	889.53±125.47		0.261±0.107	
肿瘤大小					
<2 cm	45	865.14±120.05	0.702	0.231±0.100	0.240
≥2 cm	35	880.57±122.35		0.272±0.108	
淋巴结转移					
有	19	956.31±134.28	0.004	0.285±0.115	0.000
无	61	858.56±120.75		0.202±0.102	

P₁: CXCL10 统计学处理 P 值; P₂: CXCR3 统计学处理 P 值。

3 讨 论

趋化因子是一类拥有诱导属性的促炎细胞因子, 其受体是一组 G 耦联蛋白。根据其末端半胱氨酸序列的位置可分为 4 大类: C、CC、CXC 和 CXXXC。趋化因子作用广泛, 在感染性疾病、炎症性疾病、自身免疫系统疾病、肿瘤、变态反应、移植排斥、新生血管形成、AIDS 及淋巴细胞归巢等众多疾病过程及生理过程中均有趋化因子的参与^[3]。趋化因子与靶细胞表面特异性受体相结合才能发挥其众多的病理生理效应^[4]。在参与肿瘤的生物学效应中, 一方面, 趋化因子通过激活免疫活性细胞或抑制血管形成来抑制肿瘤的生长; 而另一方面, 趋化因子也可通过促进肿瘤细胞增殖, 大量分泌蛋白水解酶, 以及诱导血管生成从而促进肿瘤的发展和转移^[5]。CXC 趋化因子亚家族是一组与肿瘤的发展及转移密切相关的细胞因子。CXCR3 及 CXCL10 在肿瘤发生、发展及转移中发挥着重要作用^[6]。

本研究对 80 例膀胱癌患者及 33 例健康体检者进行了 CXCL10 及 CXCR3 的检测, 膀胱癌患者外周血清中 CXCL10 及外周血单一核细胞中 CXCR3 mRNA 的表达量均显著高于对照者, 提示 CXCL10 及 CXCR3 在膀胱癌的发生过程中可能起到一定的作用。通过与临床各参数之间的检验分析得出 CXCL10 及 CXCR3 的表达与临床因素如膀胱癌患者年龄、分化程度、肿瘤大小、病理分期等因素没有明显的相关性, 但数据显示, 随着临床病理分期的加重, CXCL10 及 CXCR3 的表达水平有升高的趋势, 提示 CXCL10 与 CXCR3 的表达与膀胱癌的发展可能存在相关性, 这有待于大样本临床资料的验证。CXCL10 及 CXCR3 的高表达与肿瘤的侵袭和转移有关。Bedognetti 等^[7] 研究显示, 恶性黑色素瘤中 CXCR3 的表达与黑色素瘤大小、有无淋巴结转移及远端转移等密切相关。Hilborn 等^[8] 研究发现, 乳腺癌组织中 CXCR3 和 CXCL10 表达越高, 转移的淋巴结也越多。Chaturvedi 等^[9] 指出, CXCR3 与肿瘤转移有关的机制可能是由于 CXCR3 高表达的恶性肿瘤细胞更容易迁徙至表达 CXCR3 配体的特异性靶器官。Kawada 等^[10] 报道结肠癌中 CXCR3 的表达与淋巴结转移存在密切的关系, 同时着重提示, 在结肠癌常见的一些转移部位如肺、肝、淋巴结中可检测到 CXCR3 的配体 CXCL10。本研究结果发现淋巴结转移组 CXCL10 和 CXCR3 的表达明显高于无淋巴结转移组, 这表明 CXCL10 和 CXCR3 可能在膀胱癌的淋巴结转移过程中起作用。因此推断, 对 CXCL10/CXCR3 与膀胱癌发病机制的深入研究有望为膀胱癌发病机制的研究及预后疗效判断等打下分子生物学理论基础; 利用分子生物学手段, 阻断 CXCL10/CXCR3 反应轴, 可能会成为膀胱癌治疗的一个新靶点。本次实验因条件限制, 未进行阻断 CXCL10/CXCR3 反应轴对膀胱癌治疗影响的相关研究, 将在今后的研究中进一步探索。

参考文献

- [1] 彭晓晖, 梁培育, 欧善际, 等. GRIM-19 的表达与膀胱癌组织临床特征的相关性研究[J]. 海南医学院学报, 2013, 19(10): 1372-1374.
- [2] Perlis N, Zlotta AR, Beyene J, et al. Immediate post-transurethral resection of bladder tumor intravesical chemotherapy prevents non-muscle-invasive bladder cancer recurrences: an updated meta-analysis on 2548 patients and quality-of-evidence review[J]. Eur Urol, (下转第 3496 页)

- dividuals[J]. *PLoS Genet*, 2012, 8(3): e1002607.
- [3] Wu Y, Li Y, Lange EM, et al. Genome-wide association study for adiponectin levels in Filipino women identifies CDH13 and a novel uncommon haplotype at KNG1-ADIPOQ[J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(24): 4955-4964.
- [4] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008; Globocan 2008[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2893-2917.
- [5] 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 等. 中国肿瘤登记地区 2007 年肿瘤发病和死亡分析[J]. *中国肿瘤*, 2011, 20(3): 162-169.
- [6] Macinnis RJ, English DR, Hopper JL, et al. Body size and composition and colon cancer risk in men[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004, 13(4): 553-559.
- [7] Filippi E, Sentinelli F, Trischitta V, et al. Association of the human adiponectin gene and insulin resistance[J]. *Eur J Hum Genet*, 2004, 12(3): 199-205.
- [8] Kaklamani VG, Wisinski KB, Sadim M, et al. Variants of the adiponectin (ADIPOQ) and adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) genes and colorectal cancer risk[J]. *JAMA*, 2008, 300(13): 1523-1531.
- [9] Joshi RK, Kim WJ, Lee SA. Association between obesity-related adipokines and colorectal cancer; a case-control study and meta-analysis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(24): 7941-7949.
- [10] Wei EK, Giovannucci E, Fuchs CS, et al. Low plasma adiponectin levels and risk of colorectal cancer in men; a prospective study[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(22): 1688-1694.
- [11] Lukanova A, Soderberg S, Kaaks R, et al. Serum adipone-
- ctin is not associated with risk of colorectal cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 15(2): 401-402.
- [12] Beltcheva O, Boyadzhieva M, Angelova O, et al. The rs266729 single-nucleotide polymorphism in the adiponectin gene shows association with gestational diabetes[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2014, 289(4): 743-748.
- [13] Chu HY, Wang ML, Zhong DY, et al. AdipoQ polymorphisms are associated with type 2 diabetes mellitus; a meta-analysis study[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2013, 29(7): 532-545.
- [14] Dieudonne MN, Bussiere M, Dos Santos E, et al. Adiponectin mediates antiproliferative and apoptotic responses in human MCF7 breast cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 345(1): 271-279.
- [15] Ashktorab H, Paydar M, Yazdi S, et al. BMI and the risk of colorectal adenoma in African-Americans[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2014, 22(5): 1387-1391.
- [16] Rickles AS, Iannuzzi JC, Mironov O, et al. Visceral obesity and colorectal cancer; are we missing the boat with BMI? [J]. *J Gastrointest Surg*, 2013, 17(1): 133-143.
- [17] Basen-Engquist K, Chang M. Obesity and cancer risk; recent review and evidence[J]. *Curr Oncol Rep*, 2011, 13(1): 71-76.
- [18] Noto H, Tsujimoto T, Sasazuki T, et al. Significantly increased risk of cancer in patients with diabetes mellitus; a systematic review and meta-analysis[J]. *Endocr Pract*, 2011, 17(4): 616-628.
- (收稿日期: 2015-03-08 修回日期: 2015-05-20)
-
- (上接第 3492 页)
- 2013, 64(3): 421-430.
- [3] Jawa RS, Quist E, Boyer CW, et al. Mesenteric ischemia-reperfusion injury up-regulates certain CC, CXC, and XC chemokines and results in multi-organ injury in a time-dependent manner[J]. *Eur Cytokine Netw*, 2014, 24(4): 148-156.
- [4] Bernat V, Heinrich MR, Baumeister P, et al. Synthesis and application of the first radioligand targeting the allosteric binding pocket of chemokine receptor CXCR3 [J]. *ChemMedChem*, 2012, 7(8): 1481-1489.
- [5] Singh AK, Arya RK, Trivedi AK, et al. Chemokine receptor trio; CXCR3, CXCR4 and CXCR7 crosstalk via CXCL11 and CXCL12 [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2013, 24(1): 41-49.
- [6] Murakami T, Kawada K, Iwamoto M, et al. The role of CXCR3 and CXCR4 in colorectal cancer metastasis[J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(2): 276-287.
- [7] Bedognetti D, Spivey TL, Zhao Y, et al. CXCR3/CCR5 pathways in metastatic melanoma patients treated with adoptive therapy and interleukin-2 [J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(9): 2412-2423.
- [8] Hilborn E, Sivik T, Fornander T, et al. C-X-C ligand 10 and C-X-C receptor 3 status can predict tamoxifen treatment response in breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 145(1): 73-82.
- [9] Chaturvedi P, Gilkes DM, Wong CC, et al. Hypoxia-inducible factor-dependent breast cancer-mesenchymal stem cell bidirectional signaling promotes metastasis[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(1): 189-205.
- [10] Kawada K, Taketo MM. Significance and mechanism of lymph node metastasis in cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(4): 1214-1218.
- (收稿日期: 2015-03-10 修回日期: 2015-05-20)