

CXCR4 及 CD44 和 CD133 的表达与上皮性卵巢癌临床病理特征的相关性*

陈永香^{1,2**}, 文芳³, 吴金健³, 吴章颖³, 訾聃^{3***}

(1. 贵州医科大学 临床医学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学附院 临床研究中心, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学附院 妇产科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] **目的:** 探讨上皮性卵巢癌(EOC)组织中趋化因子受体 4(CXCR4)、肿瘤干细胞分子标记物(CD133、CD44)的表达与临床病理之间的关系。**方法:** 选择 88 例 EOC 患者卵巢肿瘤组织标本作为 EOC 组, 同期 80 例卵巢巢良性上皮性肿瘤患者组织标本作为对照组, 采用免疫组织化学法检测两组组织中 CXCR4、CD44 及 CD133 的表达, 分析 CXCR4、CD44、CD133 表达与 EOC 患者临床病理特征的关系。**结果:** CXCR4 主要表达于细胞质中, 而 CD44、CD133 主要表达于细胞膜上, EOC 组 3 项指标的表达显著高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); CXCR4 及 CD44 表达均与临床分期、腹水中找到恶性细胞、淋巴结转移、大网膜转移有关($P < 0.05$), CD133 表达与临床分期、淋巴结转移、大网膜转移有关($P < 0.05$), 但 3 项指标均与年龄及病理类型无关($P > 0.05$)。**结论:** CXCR4、CD44 及 CD133 表达可能与上皮性卵巢癌侵袭有关。

[关键词] 趋化因子受体 4; 上皮性卵巢癌; 免疫组织化学; CD44; CD133

[中图分类号] R737.31 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)09-1084-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.09.019

Correlation between Clinicopathological Features of Epithelial Ovarian Cancer and Expression of CXCR4, CD44 and CD133

CHEN Yongxiang^{1,2}, WEN Fang³, WU Jinjian³, WU Zhangying³, ZI Dan³

(1. Clinical Medical College, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Clinical Research Center, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship between the expression of chemokine receptor 4 (CXCR4), tumor stem cell molecular markers (CD44, CD133) and clinicopathological features of epithelial ovarian carcinoma (EOC). **Methods:** A total of 88 specimens of ovarian tumors from patients with EOC were selected as EOC group and 80 specimens from patients with benign epithelial ovarian tumors were selected as control group. Immunohistochemical method was used to detect CXCR4, CD44 and CD133 expression, and the relationship between CXCR4, CD44 and CD133 expression and clinicopathological features of patients was analyzed. **Results:** CXCR4 was mainly expressed in the cytoplasm, while CD44 and CD133 were mainly expressed in the cell membrane. The expression levels of CXCR4, CD44 and CD133 in EOC group was higher than those in the control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The expression of CXCR4 and CD44 was correlated with clinical stage, malignant cells found in ascites, lymph node metastasis and omental metastasis ($P < 0.05$), and the expression of CD133 was correlated with clinical stage, lymph node metastasis and omental metastasis ($P < 0.05$). However, there was no correlation between the three indexes and age or pathological type ($P > 0.05$). **Conclusion:** The CXCR4, CD44, CD133 also play a role in the invasion and

*[基金项目] 贵州省教育厅科技拔尖人才支持项目[贵州省普通高等学校科技拔尖人才支持计划, 黔教合 KY 字(2016)072]; 贵阳市科技计划攻关项目[筑科合同(2018)1-91]; 贵州省贵阳市科技局国基培育项目(筑科合同 GY2015-40)

** 贵州医科大学 2016 级硕士研究生

*** 通信作者 E-mail: 2816497455@qq.com

网络出版时间: 2019-09-16 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190916.2137.019.html>

metastasis of epithelial ovarian cancer.
[**Key words**] chemokine receptor 4; epithelial ovarian cancer; immunohistochemical; CD44; CD133

卵巢癌(ovarian cancer)位列女性最常发生癌症的第 8 位^[1],而上皮性卵巢癌(epithelial ovarian carcinoma,EOC)占卵巢癌的 90%,因其早期临床症状不明显,易于转移及广泛播种,70% 的患者在诊断时已处于晚期^[2]。由于卵巢癌较易发生侵袭转移和肿瘤复发,5 年生存率仅 40%^[3]。目前针对卵巢癌的治疗主要是手术联合化疗,但治疗效果往往不尽如人意,约 60% ~ 85% 的卵巢癌患者在完成初级治疗后复发^[4]。在对肿瘤的研究中,趋化因子受体 4(Chemokine receptor 4,CXCR4)可作为疾病进展的标志物^[5],CXCR4 还参与了肿瘤的耐药性^[6];表面黏附分子 CD133 常在成体干细胞中表达,通过抑制分化来维持干细胞特性;CD44 是参与细胞与细胞相互作用(黏附和迁移)的细胞表面糖蛋白^[7]。本研究拟通过检测卵巢良恶性肿瘤组织中 CXCR4、CD44 及 CD133 的表达来探究 3 者对上皮性卵巢癌的影响。

1 资料与方法

1.1 基本资料

收集 2015 年 8 月 - 2017 年 4 月 EOC(浆液性卵巢癌、黏液性卵巢癌、混合性上皮性癌)患者病理蜡块标本 88 例作为 EOC 组,其中早期卵巢癌(FIGO I - II 期)26 例、晚期卵巢癌(FIGO III - IV 期)62 例,年龄 17 ~ 74 岁、平均(49.23 ± 12.49)岁;同期卵巢良性肿瘤(浆液性囊腺瘤、黏液性囊腺瘤)80 例作为对照组(NC 组),年龄 18 ~ 65 岁、平均(38.51 ± 10.77)岁。所有纳入本研究的患者的临床资料完整,手术标本病理诊断由贵州医科大学附属医院病理科完成。

1.2 研究方法

采用免疫组织化学方法检测两组标本 CXCR4、CD44 及 CD133 的表达情况。收集标本用 4% 多聚甲醛固定,脱水、包埋并切片,切片厚 4 μm,并行常规 HE 染色,免疫组织化学操作步骤按说明书上进行。采用双盲阅片,半定量积分法判定结果,以细胞核、细胞膜或细胞质呈黄色颗粒为阳性;依照细胞阳性着色程度(抗原含量),可分为弱阳性(+)1 分、中等阳性(++)2 分、强阳性(+++)3 分;依照阳性细胞数量,可分为弱阳性(+)1 分、指阳性细胞数在 25% 以下,中等阳性(++)2 分、指阳性细胞数在 25% ~ 49%,强阳性(+++)3 分、指阳性细胞数在 50% 以上。两组得分相乘,< 3 者为阴性,> 4 者为阳性,> 6 者为强阳性;至少随机观察 5 ~ 10 个高倍视野,取其均值。

3 分;依照阳性细胞数量,可分为弱阳性(+)1 分、指阳性细胞数在 25% 以下,中等阳性(++)2 分、指阳性细胞数在 25% ~ 49%,强阳性(+++)3 分、指阳性细胞数在 50% 以上。两组得分相乘,< 3 者为阴性,> 4 者为阳性,> 6 者为强阳性;至少随机观察 5 ~ 10 个高倍视野,取其均值。

1.3 观察指标

观察 CXCR4、CD44 及 CD133 在两组肿瘤组织中的表达情况。收集 EOC 患者临床病理资料包括年龄、病理类型、临床分期、腹水中找到恶性细胞、淋巴结转移及大网膜转移情况,了解 CXCR4、CD44 及 CD133 表达与 EOC 患者临床病理特征的关系。

1.4 统计学分析

应用 SPSS21.0 统计软件进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,CXCR4、CD44 及 CD133 在卵巢良恶性肿瘤临床病理相关性采用 χ^2 检验(当理论数 $T < 1$ 或 $n < 40$,则用 Fisher's 检验), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CXCR4、CD44 及 CD133 表达

实验结果表明,CXCR4 主要表达在细胞质中,CD44 及 CD133 表达在细胞膜上,颜色呈明显的棕黄色。EOC 组表达区域呈现较强的棕黄色,而对照组细胞的相应区域无该蛋白表达,EOC 组与对照组表达差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1、表 1。

2.2 CXCR4、CD133 及 CD44 的表达与 EOC 临床病理的关系

数据分析结果显示,CXCR4 与 EOC 临床分期、腹水中找到恶性细胞、淋巴结转移、大网膜转移有关,差异具有统计学意义($P < 0.05$);CD44 与 EOC 临床分期、腹水中找到恶性细胞、淋巴结转移、大网膜转移有关,差异有统计学意义($P < 0.05$);CD133 与 EOC 临床分期、淋巴结转移、大网膜转移有关,差异有统计学意义($P < 0.05$)。3 项指标均与年龄及病理类型无性,CD133 与腹水找到肿瘤细胞无关,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

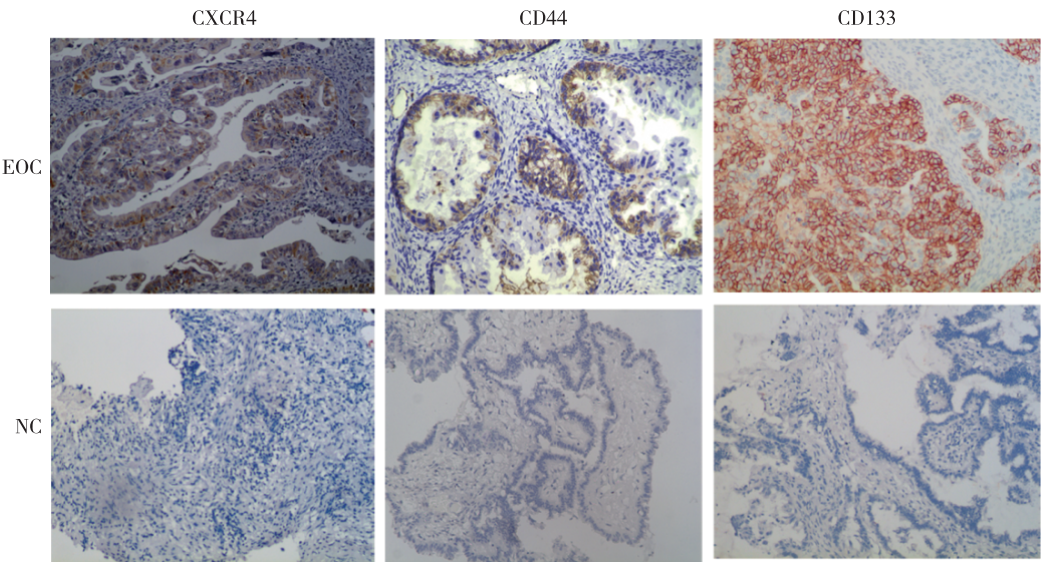


图 1 CXCR4、CD44、CD133 在卵巢良恶性肿瘤中的表达 (DAB, ×200)

Fig. 1 The expression of CXCR4, CD44 and CD133 inbenign and malignant ovarian tumors

表 1 CXCR4、CD44 及 CD133 在卵巢良恶性肿瘤中的阳性表达

Tab. 1 Positive expression of CXCR4, CD44 and CD133 in benign and malignant ovarian tumors

组别	n	CXCR4		CD44		CD133	
		-	+ ⁽¹⁾	-	+ ⁽¹⁾	-	+ ⁽¹⁾
EOC 组	88	27	61	35	53	27	61
对照组	80	64	16	53	27	46	34
χ^2		35.836		9.87		9.269	
P		0.000		0.001		0.000	

注：⁽¹⁾ 包括阳性和强阳性。

表 2 CXCR4、CD133、CD44 的表达与 EOC 临床病理的关系

Tab. 2 Correlation between expression of CXCR4, CD133, CD44 and clinical pathology in EOC group

特征	n	CXCR4		χ^2 /Fisher	P	CD44		χ^2 /Fisher	P	CD133		χ^2 /Fisher	P
		-	+ ⁽¹⁾			-	+ ⁽¹⁾			-	+ ⁽¹⁾		
年龄													
<60 岁	68	21	47	0.006	0.940	29	39	1.032	0.310	22	46	0.393	0.531
≥60 岁	20	6	14			6	14			5	15		
临床分期													
I - II 期	26	17	9	20.896	0.000	17	9	10.106	0.001	15	11	12.659	0.000
III-IV 期	62	10	52			18	44			12	50		
病理类型													
浆液性	82	23	59	3.967 ⁽²⁾	0.088	32	60	1.178 ⁽²⁾	0.807	26	56	1.112 ⁽²⁾	0.797
黏液性	3	2	1			1	2			1	2		
混合性	3	2	1			2	1			0	3		
腹水恶性细胞													
阳性	60	13	47	7.206	0.007	19	41	5.173	0.023	15	45	2.862	0.091
阴性	28	14	14			16	12			12	16		
淋巴结转移													
阳性	48	10	38	4.816	0.028	11	37	12.526	0.000	10	38	4.816	0.028
阴性	40	17	23			24	16			17	23		
大网膜转移													
阳性	57	11	46	9.859	0.002	17	40	6.685	0.010	11	46	9.859	0.002
阴性	31	16	15			18	13			16	15		

注：⁽¹⁾ 包括阳性和强阳性，⁽²⁾ 检验方法为 Fisher 检验。

3 讨论

卵巢癌是女性生殖系统疾病中致死率最高的恶性肿瘤,多数患者诊断时已属晚期,失去最佳手术时期,严重威胁女性的身心健康^[8]。细胞因子受体 CXCR4 的表达使卵巢癌具有了侵袭性^[9],而在对胶质瘤细胞的研究中,将其与 CD44、CD133 共同作为干细胞标志物^[10]。CXCR4 的细胞外结构域与其配体结合,引起构象变化,允许趋化因子紧密结合形成受体袋,接下来,发生第二次构象变化,通过 G α 亚基从 G β /G γ 二聚体的解离激活细胞内三聚体 G 蛋白^[11],一旦激活,cAMP 刺激酪氨酸激酶的 Src 家族,激活 Ras、Raf、丝裂原活化蛋白激酶 (MEK) 和 ERK 途径;除此之外还存在许多途径,包括 c-Jun^[12]、NF- κ B^[13] 及 mTORC2^[14] 途径。在本研究中,通过免疫组织化学发现 CXCR4、CD44、CD133 在 EOC 组织中均有表达,EOC 患者中 CXCR4 阳性率为 69.32%,而在良性卵巢肿瘤中仅占为 20%, χ^2 检验结果也显示在卵巢良恶性肿瘤中 CXCR4 的表达差异有统计学意义 ($P < 0.001$); CD44、CD133 在卵巢良恶性肿瘤中的表达差异有统计学意义 ($P < 0.001$),因此有理由相信,3 者对卵巢癌的发生发展是有影响的。

CXCR4 与其特异性的配体结合形成 CXCR4/CXCL12 轴,它涉及干细胞的维持和(或)分化,癌症发生和其他多种病理途径^[15]。在食管癌的研究中发现,自分泌 CXCL12 / CXCR4 是通过 ERK1 / 2 信号通路转化食管癌干细胞转移特性的主要机制之一^[16],在胰腺导管癌的研究中发现,在 Krüppel 样转录因子 10 缺失的情况下靶向 CXCR4/CXCL12 能抑制胰腺导管癌的进展^[17]。在子宫内膜癌中,CD133⁺ CXCR4⁺ 的原发性子宫内膜癌细胞生长更快,干细胞特征相关基因 mRNA 高表达,产生更多球体,并且具有比其他亚群更高的克隆形成能力,它们对抗癌药物的抵抗能力也更强^[18],而 Kimura T 等^[19] 的研究也证实在滑膜肉瘤中,CXCR4⁺ 细胞的致瘤性比阴性细胞更高,并具有自我更新和多能分化能力,因此针对 CXCR4⁺ 的肿瘤细胞群的治疗将成为肿瘤治疗的新思路。临床上,腹水肿瘤细胞、淋巴结转移、大网膜转移常作为卵巢肿瘤分期的主要依据,本研究中证实 3 者均与 CXCR4、CD44、CD133 的表达有关,因此 CXCR4、CD44 及 CD133 可能通过某种机制促进了卵

巢癌的侵袭和转移。
综上,在 EOC 中,CXCR4、CD44、CD133 促进了卵巢癌的侵袭转移,这或许将为卵巢癌的治疗提供新的策略,但具体机制有待进一步研究。

4 参考文献

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERIMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2018, 68 (6): 394 - 424.

[2] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 3 版. 人民卫生出版, 2014.

[3] LIEBER S, REINARTZ S, RAIFER H, et al. Prognosis of ovarian cancer is associated with effector memory CD8 + T cell accumulation in ascites, CXCL9 levels and activation-triggered signal transduction in T cells [J]. Oncoimmunology, 2018, 7(5): e1424672.

[4] VOELKER R. Pursuing an effective ovarian cancer vaccine [J]. JAMA, 2018, 320(9): 858 - 860.

[5] YIN Y, LIU L, ZHAO Z, et al. Simvastatin inhibits sonic hedgehog signaling and stemness features of pancreatic cancer [J]. Cancer Letters, 2018, 426: 14 - 24.

[6] CAO H, LI W, ZHOU Y, et al. Oroxylin a inhibits the protection of bone marrow microenvironment on CML cells through CXCL12/CXCR4/P-gpsignaling pathway [J]. Frontiers in Oncology, 2019, 9: 188.

[7] FU Q, LI W, LI S, et al. CD44 facilitates adherence of Streptococcus equi subsp. zooepidemicus to LA-4 cells [J]. Microbial Pathogenesis, 2019, 128: 250 - 253.

[8] OTTEVANGER P B. Ovarian cancer stem cells more questions than answers [J]. Seminars in Cancer Biology, 2017, 44: 67 - 71.

[9] FIGUERAS A, ALSINA-SANCHIS E, LAHIGUERA Á, et al. A role for CXCR4 in peritoneal and hematogenous ovarian cancer dissemination [J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2018, 17(2): 532 - 543.

[10] ERHART F, BLAUENSTINER B, ZIRKOVITS G, et al. Gliomasphere marker combinatorics: multidimensional flow cytometry detects CD44 + /CD133 + /ITGA6 + /CD36 + signature [J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2019, 23(1): 281 - 292.

[11] OLDHAM W M, VANEPS N, PREININGER A M, et al. Mechanism of the receptor-catalyzed activation of heterotrimeric G proteins [J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2006, 13(9): 772 - 777.