

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.23.025

趋化因子受体 CCR3 在上皮性卵巢癌中的表达及临床意义*

李志杰¹ 张卓然² 韩世愈¹ 史文华¹ 林楠¹

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院妇产科 黑龙江 哈尔滨 150001; 2 哈尔滨医科大学附属第四医院药剂科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨趋化因子受体 CCR3 在上皮性卵巢癌组织中的表达情况,以及其与卵巢癌临床病理特征的关系。**方法:**收集上皮性卵巢癌组织、良性上皮性卵巢肿瘤组织以及正常卵巢组织标本各 30 例,采用多聚腺苷酸加尾实时荧光定量反转录聚合酶链反应[poly(A)-RT-qPCR]检测其 CCR3 的表达,并分析上皮性卵巢癌组织中 CCR3 的表达与患者临床病理特征之间的关系。**结果:**上皮性卵巢癌组织中 CCR3 的表达显著高于良性卵巢肿瘤组和正常卵巢组,差异有统计学意义($P<0.05$);且上皮性卵巢癌组织中 CCR3 的表达与患者的分期、组织分级及淋巴结转移均显著相关($P<0.05$)。**结论:**CCR3 在上皮性卵巢癌组织中呈高表达,且在上皮性卵巢癌的发生和发展过程中均起着十分重要的作用。

关键词:卵巢癌;趋化因子受体;CCR3;逆转录聚合酶反应

中图分类号:R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)23-4494-03

Expression and Clinical Significance of CCR3 in Human Epithelial Ovarian Cancer*

LI Zhi-jie¹, ZHANG Zhuo-ran², HAN Shi-yu¹, SHI Wen-hua¹, LIN Nan¹

(1 Department of Obstetrics and Gynecology, Forth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China; 2 Pharmacy department, Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of chemokine receptor CCR3 in epithelial ovarian carcinoma, and the relationship with the clinicopathological characteristics. **Methods:** Tissue samples of epithelial ovarian cancer (30 cases), benign ovarian tumor (30 cases) and normal ovarian (30 cases) were collected, the polyadenylation real-time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (A [poly]-RT-qPCR) were used to detect the expression of CCR3, and analyze the correlation of CCR3 expression with the clinicopathological characteristics. **Results:** The expression of CCR3 in ovarian cancer group was significantly higher than those in the benign ovarian tumors and normal ovarian group ($P<0.05$), which was also markedly correlated with the staging, histological grade and lymph node metastasis of epithelial ovarian carcinoma ($P<0.05$). **Conclusion:** The upregulation of CCR3 expression played an important role in the development of epithelial ovarian carcinoma.

Key words: Ovarian cancer; Chemokine receptor; CCR3; Reverse transcriptase polymerase chain reaction

Chinese Library Classification(CLC): R737.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)23-4494-03

前言

卵巢癌是危害妇女生命与健康的主要恶性肿瘤之一,其中上皮性卵巢癌约占 85%-90%。卵巢癌的发生和发展是一个多步骤、多基因、多因素、多阶段的过程^[1],其起病隐匿、致病性强、病死率高。目前,卵巢癌的治疗方式仍以手术以及化疗为主,但由于肿瘤耐药性的增加,存活率仍较低^[2]。靶向基因治疗是近年来肿瘤领域治疗新的方式,但针对单个异常基因的治疗往往很难达到很好的治疗效果,多种基因靶点治疗可通过不同机制发挥作用^[3]。因此,寻找新的基因治疗靶点意义重大。CCR3 属于 G 蛋白耦联受体家族,最近研究发现其表达与肾细胞癌、皮肤癌、胶质细胞瘤发生、发展关系密切,但在卵巢癌方面的研究较少。本研究旨在探讨上皮性卵巢癌中 CCR3 的表达水平及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般临床资料

标本来源于黑龙江某三甲医院住院手术患者,术前均为经过化疗,其中上皮性卵巢癌组织、良性上皮性卵巢肿瘤组织以及正常卵巢组织标本各 30 例,常规冷冻后保存,所有标本均由病理确诊。手术病理分期采用 FIGO 标准进行,其中 I 期 4 例,II 期 3 例,III 期 10 例,IV 期 13 例;淋巴结转移 17 例,无淋巴结转移 13 例;内膜样肿瘤 11 例,黏液性肿瘤 10 例,浆液性肿瘤 9 例。

1.2 试剂及仪器

引物设计按引物常规要求设计,为跨目的基因内含子、含两个外显子部分碱基的序列,并经 blastn 基因库搜索(5'TCCA-CACTCTGAGAATGACCATCT3', 5'AGCGTTTGTATGATTC-

* 基金项目:黑龙江省卫生厅科研项目(2010132)

作者简介:李志杰(1978-),女,主治医师,研究方向:妇科肿瘤,E-mail:lizhijie1978@126.com

(收稿日期:2014-02-17 接受日期:2014-03-15)

CTGTGTAG3',南京金斯瑞生物科技有限公司合成),PCR 反应仪为美国 ABI 7700 (PE 公司)。Real Time 扩增试剂盒(OMEGA 公司),总蛋白提取试剂盒(BestBio 公司),逆转录试剂盒(Sigma 公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本的获取 无菌手术切除新鲜组织大小约 0.2 cm×0.2 cm× 0.2 cm,用生理盐水冲洗 2~3 遍,采用 Eppendof 管收集,-80℃ 冻存备用。

1.3.2 检测方法 按试剂盒操作说明进行 poly(A)-RT-qPCR,以 U6 为内参进行比值定量计算,得出 CCR3 的表达结果。

1.3.3 结果的判定 以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示肿瘤组织 CCR3 的表达量相对于正常卵巢组表达量的变化倍数,其中 $\Delta\Delta CT = \Delta CT$ 实验组 - ΔCT 对照组。结果根据各标本记录的 CT 值进行相对定

量分析。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计量资料两组间比较采用 t 检验,多组比较用方差分析及 SNK-q 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 上皮性卵巢癌组织、良性上皮性卵巢肿瘤组织以及正常卵巢组织中 CCR3 表达的比较

CCR3 在卵巢癌组织中的表达明显高于良性上皮性卵巢肿瘤组织以及正常卵巢组织($P < 0.05$);但 CCR3 在良性卵巢肿瘤和正常卵巢组织中的表达无显著差异($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 上皮性卵巢癌组织、良性上皮性卵巢肿瘤组织以及正常卵巢组织中 CCR3 表达的比较

Table 1 Comparison of the CCR3 expression between ovarian cancer, benign ovarian tumor and normal ovary tissue

Group	n	Numerical value of ΔCT	Comparative method	P
Ovarian cancer(A)	30	20.510± 0.118	A:B	<0.05
Benign ovarian tumor(B)	30	27.860± 0.125	A:C	<0.05
Normal ovary(C)	30	29.210± 0.167	B:C	>0.05

2.2 上皮性卵巢癌组织中 CCR3 的表达与患者临床病理特征的关系

由表 2 可见,CCR3 的表达在不同组织类型卵巢癌中无显著差异 ($P > 0.05$)。随着临床分期的增加以及组织分化的进展,

CCR3 的表达明显增加;其在 III、IV 期中的表达量高于 I、II 期 ($P < 0.05$);在 G1、G2 级中的表达低于 G3 级($P < 0.05$)。CCR3 在有淋巴结转移的卵巢癌组织中的表达高于无淋巴结转移的卵巢癌组织($P < 0.05$)。

表 2 卵巢癌组织中 CCR3 的表达和临床病理特征的关系($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Relationship between the expression of CCR3 in ovarian carcinoma and the clinicopathological characteristics($\bar{x} \pm s$)

Clinicopathological characteristics	n	$2^{-\Delta\Delta CT}$	P
Age			
≥ 50	14	0.014± 0.001	>0.05
<50	16	0.013± 0.001	
Histological grading			
G1-G2	7	0.008± 0.001	<0.05
G3	23	0.012± 0.001	
Lymph node metastasis			
Positive	17	0.014± 0.001	<0.05
Negative	13	0.008± 0.001	
Histological types			
Serous ovarian cancer	9	0.014± 0.001	>0.05
Mucinous ovarian carcinoma	10	0.013± 0.001	
Endometrioid ovarian cancer	11	0.012± 0.001	

3 讨论

趋化因子主要通过趋化感染或损伤的炎性细胞引起炎症或免疫反应^[4]。目前发现的趋化因子约 50 余种,近年来研究表

明大多数肿瘤细胞能分泌趋化因子^[5]。在肿瘤细胞中,趋化因子的作用较复杂^[6]:部分趋化因子通过细胞免疫或抑制新生血管的发生显示出抗肿瘤活性,部分趋化因子增加肿瘤生长和转移,机制包括直接激活肿瘤细胞生长、增加细胞迁移和血管新

生等^[7]。

趋化因子通过与 G 蛋白偶联的跨膜受体的相互作用发挥其生物效应,该受体称为趋化因子受体。目前报道的趋化因子受体约 20 余种,其与肿瘤的发生、发展关系密切。Müller 等^[8]报道了 CXCR4 与乳腺癌的迁移与进展关系密切,而 CXCR4、CCR7、CCR9、CCR10 与黑色素瘤的发生有关^[9]。研究显示,原发性黑色素瘤细胞株和 CCL21/SLC 的诱导转移的黑色素瘤细胞株中 CCR7 的表达异常^[10,11]。CCR9 被发现与肠道恶性黑色素瘤转移相关,而 CCR10 被发现与淋巴结转移相关^[12,13]。Murakami 等^[14]发现在小鼠黑色素瘤 B16 细胞株中 CCR10 过表达,抵抗宿主的免疫反应形成肿瘤。

CCR3 在嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和 Th2 淋巴细胞表面表达,在过敏性炎症中发挥重要作用。CCR3 配体包括 CCL11/Eotaxin、CCL13/MCP-4,诱导嗜中性粒细胞趋化和组胺分泌导致过敏性炎症。此外,研究报道的配体还包括 CCL5/RANTES、CCL7/MCP-3、CCL8/MCP-2、CCL15/hcc-2、CCL24/Eotaxin-2、CCL26/Eotaxin-3。CCR3 在炎性细胞增多性霍奇金淋巴瘤中发挥作用。Lee YJ 等^[17]通过免疫组化方法证实 CCR3 在皮肤高度恶性肿瘤中的表达明显增加,包括鳞状细胞癌和基底细胞癌,CCR3 蛋白的高表达可以提高皮肤恶性肿瘤的致瘤潜力。在肾细胞癌中,CCR3 的表达与恶性程度相关^[18]。Kouno J 等^[19]研究表明,CCR3 和 CCR5 趋化因子受体系统参与了脑肿瘤尤其是在胶质母细胞瘤的发生、发展。在卵巢癌与趋化因子受体关系中,CCR9 被证实与卵巢癌关系密切,其高表达与卵巢癌发展、转移有关^[15,16]。但 CCR3 在卵巢癌发生发展中的作用尚属未知。

本次研究采用 poly (A)-RT-qPCR 方法检测卵巢癌组织标本中 CCR3 的表达,结果显示上皮性卵巢癌组织中 CCR3 的表达明显高于良性卵巢肿瘤组织和正常卵巢组织,且随着卵巢癌组织临床分期及组织分化的进展,CCR3 的表达有上升的趋势,CCR3 在上皮性卵巢癌组织中的高表达与其分期、组织分级及淋巴结转移密切相关。这表明 CCR3 在上皮性卵巢癌的发生和发展过程中均起着十分重要的作用,但其具体的作用机制尚有待于更深入的研究。

参考文献(References)

- [1] Rescigno P, Cerillo I, Ruocco R, et al. New hypothesis on pathogenesis of ovarian cancer lead to future tailored approaches[J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 852839
- [2] Kigawa J. New strategy for overcoming resistance to chemotherapy of ovarian cancer[J]. Yonago Acta Med, 2013, 56(2): 43-50
- [3] 王景苗, 靳卫国. 卵巢癌靶向基因治疗研究进展 [J]. 泰山医学院学报, 2010, 31(08): 640-642
Wang Jing-miao, Jin Wei-guo. Ovarian cancer targeting gene therapy research progress [J]. Journal of Taishan Medical College, 2010, 31(08): 640-642
- [4] Horuk R. Chemokines [J]. Scientific World Journal, 2007, 7: 224-232
- [5] Guernon J, Combadière C. Role of chemokines polymorphisms in diseases[J]. Immunol Lett, 2012, 145(1-2): 15-22
- [6] Raman D, Sobolik-Delmaire T, Richmond A. Chemokines in health and disease[J]. Exp Cell Res, 2011, 317(5): 575-589
- [7] Fusi A, Liu Z, Kümmeler V, et al. Expression of chemokine receptors on circulating tumor cells in patients with solid tumors[J]. J Transl Med, 2012, 10: 52
- [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] Liu Y, Ji R, Li J, et al. Correlation effect of EGFR and CXCR4 and CCR7 chemokine receptors in predicting breast cancer metastasis and prognosis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2010, 29: 16
- [10] Takeuchi H, Fujimoto A, Tanaka M, et al. CCL21 chemokine regulates chemokine receptor CCR7 bearing malignant melanoma cells[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10: 2351-2358
- [11] Zhou S, Xu S, Tao H, et al. CCR7 Expression and Intratumoral FOXP3 (+) Regulatory T Cells are Correlated with Overall Survival and Lymph Node Metastasis in Gastric Cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e74430
- [12] Letsch A, Keilholz U, Schadendorf D, et al. Functional CCR9 expression is associated with small intestinal metastasis [J]. J Invest Dermatol, 2004, 122(3): 685-690
- [13] Kai H, Kadono T, Kakinuma T, et al. CCR10 and CCL27 are overexpressed in cutaneous squamous cell carcinoma [J]. Pathol Res Pract, 2011, 207(1): 43-48
- [14] Murakami T, Cardones AR, Finkelstein SE, et al. Immune evasion by murine melanoma mediated through CC chemokine receptor-10 [J]. J Exp Med, 2003, 198(9): 1337-1347
- [15] Johnson EL, Singh R, Singh S, et al. CCL25-CCR9 interaction modulates ovarian cancer cell migration, metalloproteinase expression, and invasion[J]. World J Surg Oncol, 2010, 8: 62
- [16] Singh R, Stockard CR, Grizzle WE, et al. Expression and histopathological correlation of CCR9 and CCL25 in ovarian cancer [J]. Int J Oncol, 2011, 39(2): 373-381
- [17] Lee YJ, Kim DH, Lee SH, et al. Chemokine Receptor CCR3 Expression in Malignant Cutaneous Tumors[J]. Ann Dermatol, 2010, 22(4): 412-417
- [18] Jährer K, Zelle-Rieser C, Perathoner A. Upregulation of functional chemokine receptor CCR3 in human renal cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(7): 2459-2465
- [19] Kouno J, Nagai H, Nagahata T, et al. Up-regulation of CC chemokine, CCL3L1, and receptors, CCR3, CCR5 in human glioblastoma that promotes cell growth[J]. J Neurooncol, 2004, 70(3): 301-307