肝癌患者血清趋化因子配体 18 的检测及其意义

邱少敏 彭 鹏△ 宋玉华 徐月娟

(东南大学附属南京市第二医院肿瘤科 江苏 南京 210003)

摘要 目的:为研究趋化因子配体 18(CLL18)在肝癌患者外周血中的表达,探讨其在肝癌癌浸润、转移中的作用。方法:选取 2008.1-2010.12 年我科的原发性肝癌患者,均经病理或临床确诊,年龄 18～70 岁,如曾实施化疗,须化疗结束 1 个月以上而有实体瘤者或手术未能切除者。有转移组 50 例,其中男性 25 例,女性 25 例。无转移组 50 例,其中男性 25 例,女性 25 例。对照组 50 例,为正常健康人群 50 例,其中男性 25 例,女性 25 例。以 ELISA 法检测外周血 CCL18 含量。结果:有转移组患者外周血中 CCL18 浓度为(137. 63± 35. 56) pg/mL显著高于健康人(47.53± 17.22)pg/mL(P<0.05)。无转移组患者外周血中 CCL18 浓度为(260. 27± 73.41) pg/mL 显著高于健康人(P<0.05)。结论:肝癌患者血浆中的 CCL18 水平显著高于正常人,并能反映肝癌的进展,有助于对肝癌患者进行预后判断,具有一定的临床价值。

关键词:趋化因子配体 18(CLL18);肝癌;转移

中图分类号:R735.7 **文献标识码**:A **文章编号**:1673-6273(2012)22-4275-02

Role of Chemokine CC-motif Ligand 18(CCL18)in Liver Cancer Metastasia

QIU Shao-min, PENG Peng△, SONG Yu-hua, XU Yue-juan

(Department of Oncology, Affiliated Nangjing Second Hospital of the Medical College of Southeast University, 210003, Nanjing, Jiangsu, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the possible role of CCL18 in migration and metastasis of liver cancer by studying it's expression in serum. Methods: The levels of serum CCL18 in 100 patients with liver cancer and 50 control groups were analyzed by ELISA method. Results: Showed that the levels of serum CCL18 in 100 patients with liver cancer (with metastatic: 137. 63± 35. 56 pg/mL, without metastatic: 260.27± 73.41 pg/mL) were significantly increased. Compared with control groups (P<0.05). Conclusions: It is deduced that CLL18 over-expression might play an important role in the invasion of liver cancer.

Key words: CCL18; Liver cancer; Metastasis

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 Document code: A

Article ID:1673-6273(2012)22-4275-02

近年来随着肿瘤发生率的不断增高,肝癌作为消化系统常见的恶性肿瘤发生率也呈现增高的趋势,其病死率在我国癌症病死率中居第二位[1,2]。

近来的研究表明炎性趋化因子受体及配体与肿瘤细胞的定向迁移、侵袭和转移有密切关系[3-7]。趋化因子配体 18(chemokine CC-motif ligand 18, CCL18)是新近发现的一种炎性趋化因子,主要由肿瘤浸润前方的巨噬细胞亚群表达,提示 CCL18 可能起着局部抗肿瘤免疫调节因子的作用,从而影响肿瘤的浸润、转移等生物学行为和病人的预后[8]。

有研究显示 CCL18 与某些恶性肿瘤如小结节性胸腺瘤、急性淋巴细胞白血病、卵巢癌等有一定关系,但与肝癌的关系则鲜有报道。为探索 CCL18 在肝癌转移中的作用,本研究通过 ELSA 方法检测肝癌患者外周血中 CCL18 的浓度,同时应用免疫组化检测无转移肝癌组织、有转移肝癌组织和正常肝组织中 CCL18 的表达情况,以探索 CCL18 与肝癌浸润、转移和临床的关系。

1 资料与方法

作者简介:邱少敏(1960),女,主任医师,硕士,研究方向:肿瘤学,E-mail:qiushaomin60@sohu.com

△通讯作者:彭鹏,E-mail:doctorpp@qq.com

(收稿日期:2012-03-05 接受日期:2012-03-28)

1.1 一般资料

选取 2008.1-2010.12 年我科的原发性肝癌患者,均经病理或临床确诊,年龄 18-70 岁,如曾实施化疗,须化疗结束 1 个月以上而有实体瘤者或手术未能切除者。有转移组 50 例,其中男性 25 例,女性 25 例。无转移组 50 例,其中男性 25 例,女性 25 例。对照组 50 例,为正常健康人群其中男性 25 例,女性 25 例。

1.2 血清标本的保存及测定

采集空腹外周静脉血 5mL,室温静置 1 h,3000 r/min 离心 10 min,吸取血浆后 -80 ℃冰箱保存。采用双抗体夹心 ELISA 法检测 CCL18,CCL18 试剂盒(Genzyme 公司进口分装)购自上海森雄生物技术有限公司,按说明书操作。各试剂在使用前平衡至室温。

1.2.1 分别设空白孔、标准孔、待测样品孔。空白孔加样品稀释液 100 μL,余孔分别加标准品或待测样品 100 μL,为避免蒸发,板上加盖或将板平放在底部有湿纱布的金属湿盒中,37 ℃反应 120 分钟。

1.2.2 弃去孔中液体,吸干或甩干孔内反应液,不用洗涤。每孔加检测溶液 A 工作液 100 μL(稀释度 1:100,在使用前一小时内配制),37 ℃,60 分钟。

1.2.3 弃去孔中液体,吸干或甩干,洗板 3 次,每次浸泡 1-2 分钟,间歇摇动,浸泡时间不可随意缩短,吸干孔内液体,可甩去液体后在清洁毛巾或吸水纸上拍干。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2.4 每孔加检测溶液 B 工作液 100 μL,37 ℃,60 分钟。

1.2.5 弃去孔中液体,吸干或甩干,洗板 5 次,每次浸泡 1-2 分钟,间歇摇动,浸泡时间不可随意缩短,吸干孔内液体,可甩去液体后在清洁毛巾或吸水纸上拍干。

1.2.6 依次每孔加底物溶液 90 μL (现配现用) ,37℃避光放置 20-25 分钟。

1.2.7 依次每孔加终止溶液 50μL(2M H_2SO_4)终止反应,此时蓝色立转黄色。

1.2.8 在加终止液后 20 分钟以内用酶联仪在 450nm 波长依序测量各孔的光密度 (OD 值) 。

1.3 统计分析

以 SPSS13.0 统计软件对数据进行统计分析,采用 t 检验及秩和检验进行统计。

2 结果

CLL18 表达水平:50 例肝癌合并转移患者外周血中 CCL18 浓度为(137. 63± 35. 56) pg/mL,50 例健康组 (47.53± 17.22) pg/mL(P<0.05),两者比较, 有显著性差异(P<0.05)。50 例肝癌无转移患者外周血中 CCL18 浓度为 (260.27± 73.41) pg/mL,与健康组比较, 也有显著性差异(P<0.05) (见表 1) 。

表 1 各期肝癌患者外周血 CCL18 浓度及其与健康对照组比较

Table 1 The levels of serum CCL18 in 100 patients with liver cancer compared with controls

Group	Number of cases	Levels of serum CCL18 (pg/mL)
Control	50	47.53± 17.22
With metastatic	50	260.27± 73.41#
Without metastatic	50	137.63± 35.56*

Note: # P<0.05 Metastatic group compared with control group; * P<0.05 Without metastatic group compared with control group.

3 讨论

趋化因子(chemokines)是细胞因子中一组结构相似、以趋化多种白细胞为主要功能的细胞因子。相对分子量(8-10)× 10^3 (8-10 kD)左右,均含一定数目的保守半胱氨酸用于形成分子内二硫键,蛋白质水平近 20%-50%同源。趋化因子被分为 CCL、CXCL、CL、CX3CL 4 个亚家族,绝大多数趋化因子受体都含有与 G 蛋白耦联的 7 次跨膜结构, 受体通过与 G 蛋白耦联进行信号传导。趋化因子及其受体具有重要的生理意义和病理作用,在炎症、过敏性疾病、肿瘤、AIDS 等疾病中发挥重要作用。趋化因子对肿瘤生物学的影响是很复杂的。一方面,有些趋化因子能影响肿瘤细胞的存活, 刺激肿瘤细胞生长和血管形成,进而促进肿瘤的生长和转移。另一反面,有些趋化因子可以通过趋化免疫活性细胞以及抑制血管形成来抵抗肿瘤的生长和转移。趋化因子能直接影响肿瘤细胞的转化、存活、生长和抑制细胞凋亡。在肿瘤的生长和发展中存在血管生成及血管稳定因子之间的失衡。趋化因子可通过调节新生血管而间接影响肿瘤生长。目前趋化因子在肿瘤侵袭、转移过程中的作用已引起越来越多学者的关注。

CCL18 (pulmonary and activation-regulated chemokine)属 CC 族趋化因子,主要由树突状细胞(DC)及巨噬细胞分泌,吸引初始 T 细胞(naive T cells)及皮质层的 B 淋巴细胞参与初次免疫应答,属于组成性趋化因子,多与自身免疫疾病相关[9,10],其在肿瘤中的表达及意义文献报道不多。CCL18 与恶性肿瘤如急性成淋巴细胞白血病 (ALL) 、卵巢癌、胃癌、乳腺癌的关系亦有少量报道[11-15]。

我们的研究结果表明,有转移肝癌组患者外周血中 CCL18 浓度为(137. 63± 35. 56) pg/mL显著高于健康人 (47.53± 17.22) pg/mL(P<0.05)。无转移组患者外周血中 CCL18 浓度为(260. 27± 73.41) pg/mL显著高于健康人 (47.53± 17.22) pg/mL(P<0.05),提示 CLL18 与肝癌的发生、发展有密切关系。

4 展望

根据我们的实验结果, 检测外周血 CCL18 水平有望成为监测肝癌患者病情变化的一个新指标, 采用 ELISA 方法检测外周血 CCL18 浓度操作简单、创伤小,便于复查,值得进一步研究。

参 考 文 献 (References)

[1] 张智策,许建林,朱姣等.原发性中晚期肝癌 19 例三维适形放疗疗效分析[J].现代肿瘤医学,2007,15(10):1472-1473

[2] 吴莉,文小平,黄薇.原发性肝癌三维适形放疗联合介入治疗的临床研究[J].中华放射医学防护杂志,2006,26(3):256-258

[3] Motohiro H, Nobuyuke O, Kazumasa, H, et al. CC chemokinereceptor-7 on dendritic cells induced affer interaction with apoptotic tumor cells: critical role in migration from the tumor siteto draining lymph nodes[J]. Cancer Research, 2000,60(8):2209-2217

[4] Gerard C, Rollins BJ. Chemokines and disease [J]. Nat Immunol, 2001,2:108-115

[5] Wiley HE, Gonzalez EB, Maki T, et al. Expression of CC chemokine receptor-7 and regional lymph node metastasis of B16 murinemelanoma[J]. Natl Cancer Inst, 2001,93(21),1638-1643

[6] Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis[J]. Nat Rev Cancer, 2010, 9(1): 239-252

[7] Mashino K, Sadanaga N, Yamaguchi H, et al. Expression of chemokine receptor CCR7 is associated with lymph node metastasis of gastric carcinoma[J]. Cancer Res, 2002,62(10):2937-2941

[8] Evemie S, Sofie S, Paul P, et al. Identification of Bioligically Active Chemokine Isoforms From Ascitic Fluid and Elebated Levels of CCL18/Pulmonary and Activation-regulated Chemokine in Ovarian Carcinoma[J]. J Biol Chem, 2002,277(27): 24584-24593

(下转第 4280 页)

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

误治, 2007, 20(10):64-65
Zhang Yan-yan, Zhang Yan-jun. Arthritis tophi misdiagnosed as tumor [J]. Clinical misdiagnosis, 2007, 20 (10):64-65

[7] 卫东,潘宁,刘健民. 巨大痛风石 6 例手术治疗临床分析[J]. 实用医院临床杂志, 2005, 2(3):59-60
Wei Dong, Pan Ning, Liu Jian-min. Huge gout in six cases of surgical treatment of analysis [J]. Practical Journal of Clinical Medicine, 2005, 2(3):59-60

[8] 庄永清,付强.手部痛风的手术治疗[J].中华手外科杂志, 2006, 22(5): 296-298
Zhuang Yong-qing, Fu Qiang. Hand surgical treatment of gout[J]. Journal of Hand Surger y, 2006, 22(5):296-298

[9] Vuorinen-Markkola H, Yki-Jarvinen H. Hyperuricemia and insulin resistance[J]. Clin Endocrinol Metab, 1994, 78:25-29

[10] Chou P, Lin KC, Lin HY, et al. Gender differences in the relationships of serum uric acid with fasting serum insulin and plasma glucose in patients without diabetes[J]. Rheumatol, 2001, 28:571-576

[11] akahashi S, Moriwaki Y, Tsutsumi Z, et al. Increased visceral fat accumulation further aggravates the risks of insulin resistance in gout [J].Metabolism, 2001, 50:393-398

[12] Keith MP, Gilliland WR. Updates in the management of gout[J]. Amj Med, 2007, 120:221-224

[13] Horiuchi H, Ota M, Nishimura S, et al. Allopurinol inducesrenal toxicityby impairingpyrimidine m eta bo lis m inmice [J]. Life Sci, 2000, 66:(20)51-70

[14] Dalbeth N, Stamp L. Allopruinol dosing in renal impairment:walking the tightrope between adequate urate lowering and adverse events[J]. Semin Dial, 2007, 20:391-395

[15] Terkeltaub R. Gout in 2006: the perfect storm [J]. Bull NYU Hosp Jt Dis, 2006, 64:82-86

[16] Khosravan R, Grabowski B, Wu J, et al. Effct of food or antacid on pharmacokinetics and pharmacodynamics of febuxostat in healthy subjects[J]. BrJ ClinPharmacol, 2008, 65:355-363

[17] 梁树雄,席亚鸣,王华曦.骶尾部巨大痛风石一例[J].暨南大学学报 f (医学版) , 2001, 22(6):6-7
Liang Shu-xiong, Xi Ya-ming, Wang Hua-xi. The sacrococcygeal great case of tophi[J]. Jinan Universet y, 2001, 22(6):6-7

[18] 黄清仆,班开洪.晚期第一跖趾关节巨大痛风石结节的手术治疗[J]. 四川医学,2007,2(28):205-206
Huang Qing-pu, Ban Kai-hong. Late the first metatarsophalan geal jo-in tsurgical treatment of giant tophi nodules [J]. Sichuan Medical, 2007, 2(28):205-206

[19] 张普国,黄必留.多关节晚期痛风石的手术治疗[J].实用医学杂志, 2000,7(16):548-550
Zhang Pu-guo, Huang Bi-liu. Late polyarticular gout stone surgery[J]. Practical Journal of Medicital, 2000, 7(16):548-550

(上接第 4276 页)

[9] Kodera M, Hasegawa M, Komura K, et al. Serum pulmonaryand activation-regulated chemokine/CCL18 levels in patients with systemic sclerosis: a sensitive indicatorofactive pulmonary fibrosis [J]. ArthritisRheum, 2005, 52 (9): 2889-2896

[10] Deegan PB, Moran MT, McFarlane I, et al. Clinical evaluation of chemokine and enzymatic biomarkers ofGaucher disease [J].Blood CellsMolDis, 2005, 35 (2): 259-267

[11] Struyf S, Schutyser E, Gouwy M, et al. CCL18 /CCL18 is a plasma CC chemokine with increased levels in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Am J Patho, 2003,163(5): 2065-2075

[12] Schutyser E, Struyf S, ProostP, et al. Identification of biologically active chemokine isoforms from ascitic fluid and elevated levels of CCL18/pulmonary and activation-regulated chemokine in ovarian carcinoma[J]. J Biol Chem, 2002,277(27):24584-24593

[13] Leung SY, Yuen ST, C hu KM, et al. Expression profiling identifies chemokine (C-C motif) ligand 18 as an indepen dentprognostic indicator in gastric cancer [J]. Gastroenterology, 2004,127(2):457-469

[14] 孙立伶, 陆文奇. 血清趋化因子配体 18 在胃癌及癌前病变中的表达意义 [J]. 现代医药卫生, 2011,27(2):170-171

[15] Muller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. Nature, 2001,410(6824):50-56

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net