

专科文献

在线投稿 稿件查询 期刊阅读

搜索: 请输入您想要的信息 搜索 高级搜索

您当前位置: 首页 >> 专科文献>> 肿瘤科

肿瘤科

CXCR4/CXCL12在肺癌转移中的初步研究

发表时间: 2011-9-13 11:04:13 来源: 创新医学网医学编辑部推荐

作者: 石新云,董永清,孙小军 作者单位: 312000 浙江省绍兴市第六医院呼吸内科(石新云 孙小军)中南大学肿瘤研究所(董永清)

肿瘤转移是一个具有高度组织性和器官选择性的复杂连续过程, 虽然已证明很多因素参与肿瘤的转移, 但是不同组织来源的肿瘤细胞迁移、侵袭到特定部位的分子机制还不清楚。趋化因子是一组结构相关的小分子, 具有调节各种类型的白细胞迁移、吸引具有特定的趋化因子受体的炎症细胞浸润到炎症部位参与炎症反应的作用。不同组织类型的肿瘤细胞常见的转移部位不同, 趋化因子及受体是否如趋化炎症细胞的定向移动一样来参与调节肿瘤细胞的定向迁移与转移成为目前研究的热点。近来的研究表明, 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[1, 2]。为探索趋化因子受体及配体CXCR4/CXCL12在肺癌细胞迁移中的作用, 作者检测肺癌组织、肺癌细胞系A549、

血管内皮细胞系VEC中趋化因子受体CXCR4以及肺癌患者胸水与淋巴组织中趋化因子CXCL12的表达, 并对其趋化活性进行相应分析, 以期趋化因子受体及配体CXCR4/CXCL12诱导肺癌细胞的定向迁移提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

(1)细胞系: A549细胞株为人肺腺癌细胞株, VEC细胞株为人血管内皮细胞株, 均由中南大学肿瘤研究所保存、提供。(2)临床标本: 选取2004年8月至2005年8月本院手术肺癌21例, 年龄23~72岁(中位年龄51岁), 其中大细胞性肺癌12例, 小细胞性肺癌7例, 未分化癌2例;TNM分期I期5例, II期7例, III期7例, IV期2例。同期手术的良好肺部肿瘤17例作对照组, 年龄31~60岁(中位年龄43岁), 取其正常肺组织(经术后病理学检查证实)进行实验。

1.2 研究方法

(1)标本的采集: 术中收集肺癌患者的肺癌组织, 颈部淋巴结组织, 支气管平滑肌组织以及良性肺肿瘤患者切除的正常肺组织, 置液氮中保存, 同时收集无血液污染的上述肺癌患者的胸水置于无菌离心管, 4℃保存, 于4h内检测CXCL12的趋化活性, 或-70℃保存(检测CXCL12的含量)。(2)肺癌患者胸水中趋化因子的检测: CXCL12的含量用ELISA试剂盒(Ferment公司)检测。(3)CXCR4和CXCL12 mRNA表达水平的测定: 将肺癌组织、颈部淋巴结组织、支气管平滑肌组织及良性肺肿瘤组织在液氮中研磨为粉末状, 然后与A549、VEC细胞均用TRIzol试剂一步法提取组织/细胞中的总RNA,用MMLV逆转录酶进行逆转录.PCR扩增CXCR4和CXCL12,同时扩增GAPDH作为内参照.CXCR4引物序列为:正义链5'-AGCTGTTGGTGAAAAGGTGGTCTATG-3'反义链5'-GCGCTTCTGGTGGCCCTTGGAGTGTG-3';CXCL12引物序列为:正义链5'-CCGCGCTCTGCCTCAGCGACGGGAAG-3',反义链5'-CTTGTTAAAGCTTTCTCCAGGTACT-3'。CXCR4和CXCL12产物的扩增长度分别为260bp和227bp。PCR反应条件: 94℃.预变性2min,然后 94℃变性60s, 56℃退火60s,72℃延伸60s,共30个循环,最后再72℃延伸10min后结束反应。 PCR产物经1.5%

特色服务

Serves

- 论文推荐 著书代理
- 统计学分析 学分获取
- 专业修稿 专业审稿
- 英文翻译 写作辅导

期刊约稿

- 中国社区医师
- 医学信息
- 吉林医学
- 中国医药指南
- 临床合理用药杂志

推荐期刊

吉林医学



- 期刊介绍
- 在线阅读
- 在线订阅
- 在线投稿

题名撰写

医学论文题名撰写中常见问题

在线客服...

QQ留言 1254635326

QQ交谈 4006089123

545493140(重要)

400-6089-123 68590972

琼脂糖凝胶电泳分离,凝胶成像系统成像,并确定条带的光密度值。整个RT-PCR过程独立重复3次,以3次实验所得光密度值的平均数表示mRAN含量。(4)Western Blot分析:将同样大小肺癌组织及正常肺组织匀浆,以去污剂细胞裂解液将组织匀浆及细胞裂解,参照文献方法[3]提取蛋白。取80μg蛋白质样品进行SDS-PAGE电泳、转膜、温封闭1h后,加入0.05%Tween20的TBS缓冲液稀释的CXCR4兔抗人单克隆抗体(1:500),4℃孵育过夜,TBST漂洗3次后,加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗(1:1000),37℃温育1h,增强化学发光系统显色。利用投射仪图像分析系统扫描确定X线片上杂交条带的光密度值,实验独立重复3次,以所得光密度值的平均数表示蛋白含量。(5)趋化活性分析:以48孔微趋化板,分别检测重组人CXCL12和肺癌性胸水对CXCR4阳性细胞的趋化作用。参照文献[4]:下室分别加入不同浓度(0.1-200ng/ml)的重组人CXCL12或肺癌性胸水,同时以无趋化因子的培养基作阴性对照,均为3复孔,上室中加入A549、VEC细胞,上下室之间铺上10μm孔径的PVP聚碳酸膜,于37℃含5%CO<sub>2</sub>孵箱中孵育4.5h,以PBS棉签拭去膜背面的细胞,70%的甲醇固定,苏木精染色,计数至少5个视野(光镜,放大200倍)的细胞数。计算趋化指数CI(迁移到含有不同浓度趋化因子液体膜侧的细胞数与迁移到阴性对照液膜侧的细胞数的比值),以CI的大小表示趋化活性的高低。实验独立重复3次。(6)图像分析:运用德国LEICA Q550IW图像分析仪对RT-PCR和Western Blot结果进行图像分析,计算条带的积分光密度IA,IA=平均吸光度乘号X面积,分别采用CXCR4、CXCL12积分光密度比值表示其含量。

### 1.3 统计学方法

应用SPSS 11.0统计软件,CXCR4、CXCL12 mRNA和蛋白表达用 $\chi^2$ 检验,趋化活性比较及CXCR4的表达与临床病理分期相关性分析用t检验。

## 2 结果

### 2.1 CXCR4和CXCL12、mRNA水平的表达

肺癌A549细胞和血管内皮VEC细胞CXCR4的mRNA相对表达量分别为(2.14±1.15)和(1.72±1.20)。21例肺癌组织表达CXCR4 mRNA,其相对表达量为(2.21±1.09),与临床分期差异无显著性( $r=0.1$ ,  $p>0.5$ )。17例肺组织(取自良性肺肿瘤正常肺组织)未检测到CXCR4 mRNA的表达。肺癌患者支气管旁、颈部淋巴结组织75%(16/20)可见CXCL12 mRNA的表达,其相对表达量为(1.14±0.87);支气管平滑肌组织未检测到CXCL12 mRNA的表达。

### 2.2 CXCR4蛋白的表达

21例肺癌组织均可见CXCR4蛋白表达,其相对表达量为(1.51±0.12);肺癌A549细胞、血管内皮VEC细胞CXCR4蛋白相对表达量分别为(1.76±0.25)和(1.89±0.24)。17例正常肺组织未检测到CXCR4蛋白表达。

### 2.3 肺癌胸水中CXCL12的含量

18例肺癌患者胸水标本中均发现趋化因子CXCL12,其含量783~8,364pg/ml(中位数为6,871pg/ml)。

### 2.4 重组CXCL12、癌性胸水诱导肺癌细胞及血管内皮细胞的移动

肺癌性胸水可诱导肺癌细胞株A549的移动,其趋化指数为(1.9±0.8)。不同浓度的重组人CXCL12对肺癌细胞A549和血管内皮细胞VEC的趋化活性不同,浓度为100ng/ml时趋化活性最高,A549和VEC细胞的趋化指数分别为(3.9±1.2)和(4.1±1.6),与对照组(1.0±0.4)和(1.1±0.7)比较, $P<0.05$ 。CXCL12作用后,跨膜细胞经苏木精染色可见细胞与培养瓶中生长的细胞形态一致,而未染过的细胞基本成圆形。

## 3 讨论

CXCL12是CXC趋化因子亚家族的成员之一,通过与趋化因子受体CXCR4结合细胞发挥趋化作用[5]。CXCL12可诱导大多数循环淋巴细胞和CD34前体细胞的粘附与细胞表面的分泌性蛋白,如整合素相互作用,使细胞定向性迁移致特殊部位[6]。内皮细胞表达CXCR4,且CXCL12对之有强烈的趋化作用[7]。CXCR4和CXCL12基因缺失的小鼠由于心血管和神经系统的出血而导致围产期死亡[8]。其原因主要是由于CXCR4和CXCL12缺失,使胚胎前体细胞移动异常,而未能到达适当的微环境中造成的。本研究显示,肺癌表达CXCR4,肺癌性胸水及人重组CXCL12均对肺癌细胞及血管内皮细胞有趋化作用,表明它们的相互作用对体内造血细胞及非造血细胞的迁移起较为重要的作用。

研究表明,乳腺癌、结直肠癌、胰腺癌等均表达有功能活性的趋化因子受体,调节肿瘤细胞的迁移[9~11]。本研究显示,肺癌细胞及血管内皮细胞表达有功能活性的趋化因子受体CXCR4,与CXCL12作用后,诱发细胞与肌动蛋白聚合相关的假伪足形成、定向性迁移、侵袭和血管生成,其作用过程与癌细胞侵袭转移机制相吻合。肺癌最常见的转移方式是直接,其次为淋巴结转移。肺癌性胸水中CXCL12的含量较高,肺门淋巴结有CXCL12的表达,癌性胸水和重组CXCL12均可诱导肺癌细胞的迁移,这进一步说明CXCR4/CXCL12可能在卵巢癌的转移中起一定作用。

综上所述,CXCR4/CXCL12受体配体系统可介导肺癌细胞及血管内皮细胞的迁移,这可能与肺癌的转移有密切关系。因此,研究肿瘤细胞迁移的机制、探讨CXCR4在肺癌细胞迁移中的作用有助于寻找肺癌治疗的分子靶点。

### 【参考文献】

2 Zlotnik A.Chemokines and cancer. Ernst Schering Res Found Workshop, 2004, (45):53~58.

3 Eugenin EA,Berman JW.Chemokine-dependent mechanisms of leukocyte trafficking across a model of the blood-brain barrier.Methods, 2003, 29(4):351~361.

4 Zang YC,Samanta AK,Halder JB,et al.Aberrant T cell migration toward RANTES and MIP-1 alpha in patients with multiple sclerosis. Overexpression of chemokine receptor CCR5.Brain, 2000, 123 ( 9):1874~1882.

5 Nagasawa T.Chemokine CXCL12 and its receptor CXCR4. Nippon Rinsho, 2005, 63(8):128~231.

6 Burger M,Glodek A,Hartmann T,et al.Functional expression of CXCR4 (CD184) on small-cell lung cancer cells mediates migration, integrin activation, and adhesion to stromal cells.Oncogene, 2003, 22(50):8093~8101.

7 Scotton CJ,Wilson JL,Milliken D,et al.Epithelial cancer cell migration: a role for chemokine receptors?Cancer Res, 2001, 61 (13):4961~4965.

8 Salcedo R,Oppenheim JJ.Role of chemokines in angiogenesis: CXCL12/SDF-1 and CXCR4 interaction, a key regulator of endothelial cell responses.Microcirculation, 2003, 10(3~4):359~370.

9 Fernandis AZ,Prasad A,Band H,et al.Regulation of CXCR4-mediated chemotaxis and chemoinvasion of breast cancer cells.Oncogene, 2004, 23(1):157~167.

10 Brand S,Dambacher J,Beigel F,et al.CXCR4 and CXCL12 are inversely expressed in colorectal cancer cells and modulate cancer cell migration, invasion and MMP-9 activation. Exp Cell Res, 2005, 310(1):117~130.

11 Mori T, Doi R, Koizumi M,et al.CXCR4 antagonist inhibits stromal cell-derived factor 1-induced migration and invasion of human pancreatic cancer.Mol Cancer Ther, 2004, 3(1):29~37.

## 最热点击



创新之冠花落谁家?



医学编辑中心成立了



考试第一练兵平台



看视频学在线投稿

## 相关文章



▶ CXCR4/CXCL12在肺癌转移中的初步研究

2011-9-13



★ 加入收藏夹

复制给朋友

分享到外站

评论内容

请文明上网，文明评论。

发表评论

重置

▲ 上一页

当前第1页, 共1页

▼ 下一页

### 友情链接

心理咨询师 | 脱发 | 家庭医生在线 | 中医养生 | 宁波整形 | 食道癌研究所 | 华东健康网 | 99健康网 | 小儿肾病 | 309医院骨科 | 樊灵水蔗糖 | 99192健康网 | 医药资讯 | 健康养生 | 好头发社区 | 南北巷装修社区 | 中国手术在线 | 成都牙科 | 中华食管癌 | 健康无忧 | 湖南省肿瘤医院 | 黄石妇科医院 | 中医人 | 医药卫生网 | 福州男科医院 | 上海眼科医院 | 健康无忧 | 广州男科医院 | 广州男科疾病网 | 39大夫网 | 中华爱肝网 | 健康商城 | 上海男科医院 | 煲汤食谱大全 | 广州心理咨询 | 114网址大全 | 中医网 | 腾讯企业QQ | 杭州整形美容医院

— 卫生厅网站 —

— 医学网站 —

— 医院网站 —

— 合作网站 —

— 论坛 —

— 权威机构 —

关于我们 | 合作伙伴 | 特色服务 | 客户留言 | 免责声明 | 学术团队 | 学术动态 | 项目合作 | 招贤纳士 | 联系方式

电话: 400-6089-123 029-68590970 68590971 68590972 68590973 传真: 029-68590977

服务邮箱: vip@yixue360.com QQ: 1254635326 (修稿) QQ: 545493140 (项目合作)

Copyright © 2007 - 2009 www.yixue360.com , All Rights Reserved 陕ICP备:08003669号



**创新医学网**  
www.yixue360.com

 匿名交谈