

· 综述 ·

CCR7 在恶性肿瘤细胞侵袭及淋巴定向转移中的作用

王翠兰 江其生

CCR7 属于 CC 类趋化因子受体,曾用名 EBI-1、BLR-2 和 CMKBR2,含 378 个氨基酸残基,基因定位于 17q12 ~ q21.2。与其结合的 CC 类趋化因子配体为 CCL21(也称为次级淋巴组织趋化因子,secondary lymphoid-tissue chemokine, SCL)和 CCL19(也称为 EBI1 配体趋化因子,EBI1-ligand chemokine, ELC),均特异性高表达于淋巴结、扁桃体、非淋巴组织的内皮淋巴导管、脾 T 细胞富集区及淋巴内皮中。研究发现,CCR7 在多种肿瘤细胞中高表达,且与其淋巴结转移密切相关。现将 CCR7 在肿瘤侵袭、转移中的作用综述如下。

一、生物学特性

CCR7 是由 Yoshida 等^[1]在 EB 病毒感染的 B 细胞中发现的,主要在幼稚 T 细胞、B 细胞和树突状细胞(dendritic cells, DCs)表面表达,在记忆 T 细胞、NK 细胞和 NKT 细胞表面也有表达。另外,在多种恶性肿瘤细胞中也检测到了 CCR7 的表达,如乳腺癌、黑色素瘤、肺癌、胃癌、食道癌、甲状腺癌、宫颈癌、胰腺癌、结肠癌、肝癌细胞癌和慢性淋巴细胞白血病等,并发现其与肿瘤细胞的淋巴结转移显著相关。

CCL21 为重要的 CC 族趋化因子成员(曾用名 6Ckine/SLC/exodus-2/TCA-4),是 CCR7 的配体之一,定位于人类染色体的 9p13,由 Nagria 等^[2]于 1997 年在淋巴结中发现并首次报道,主要分布于外周免疫器官或组织,在淋巴结和派尔结(Peyer's Patches, PPs)的毛细血管后微静脉也有表达,对淋巴细胞具有特异性趋化作用。其趋化的归宿主要是次级淋巴组织或器官(如脾脏、淋巴结等)。目前认为 CCL21 是第一个参与体内淋巴细胞归巢(lymphocyte homing)的趋化因子。CCL19 也是 CC 类趋化因子的成员之一(曾用名 MIP-3 β /ELC/exodus-3),是 CCR7 的另一个高亲和力的配体,最初由 Yoshida 等^[1]发现。CCL19 由 77 个氨基酸组成,其氨基酸序列中 20% ~ 30% 与人 CC 类趋化因子有同源性,32% 与 CCL21 有同源性。编码 CCL19 的基因同样定位于 9p13,但 CCL19 主要在次级淋巴器官和胸腺表达。在淋巴结中 CCL19 和 CCL21 的表达都很丰富,但 CCL21 的表达量相对更高,提示 CCL21 在淋巴细胞的归巢中起着更重要的作用^[3]。

二、CCR7 及其配体与肿瘤细胞淋巴转移

1. 乳腺癌: Muller 等^[4]于 2001 年在乳腺癌细胞中检测到趋化因子受体 CXCR4 和 CCR7 的高表达。CXCR4 的配体 CXCL12 多表达于肺、肝脏、骨髓等乳腺癌的特异转移器官,而 CCR7 的配体则多表达于淋巴结组织,且 CCL21 的表达高于 CCL19。Muller 首次提出了特异的趋化因子受体-配体之间的相互作用可能在乳腺癌的转移过程中起重要作用。趋化因子受体-配体信号轴的发现为“归巢”理论提供了有利的证据。

最近, Cunningham 等^[5]以转染 CCR7 的 MMTV-PyVmt 小鼠的乳腺肿瘤细胞 PyVmt 作为对象,以转移性乳腺癌的 FVB 同源小鼠模型评价 CCR7 调控转移的生理学意义,研究乳腺癌细胞淋巴转移的细胞分子学机制。研究发现,将转染空载体的 CCR7 阴性 PyVmt 细胞植入到 FVB 同源小鼠的乳房脂肪垫内,肿瘤转移至肺部的概率为 100% (10/10),但没有出现淋巴结转移(0/10);相反,CCR7 阳性的 PyVmt 细胞有 60% 的淋巴结转移率(6/10),肺部转移率降至 40% (4/10)。同时发现,CCR7 阳性的 PyVmt 肿瘤细胞增殖速度明显快于不表达 CCR7 的 PyVmt 细胞。再次证明了 CCR7 在乳腺癌淋巴结定向转移中的作用。

然而, Wu 等^[6]在乳腺癌荷瘤小鼠中发现, CCL21 可以抑制肿瘤的增长,并通过淋巴细胞的免疫作用延长了小鼠的寿命,尤其是对 CCR7 阳性的乳腺癌细胞,无论其是否经过丝裂霉素 C 的治疗。提出了 CCR7-CCL21 可以增加肿瘤细胞免疫原性,并可通过淋巴细胞触发抗肿瘤效应的反向理论。他们认为,这是由于 CCR7-CCL21 定向上调人类白细胞抗原类 1 并抑制肿瘤细胞分泌的免疫抑制因子 FasL 和转化生长因子 β 实现的。这一理论的提出为 CCR7 在乳腺癌细胞中的作用提供了新依据, CCR7 在促进乳腺癌细胞淋巴转移的同时还具有一定的抗肿瘤效应,为乳腺癌的 CCR7 靶向治疗提供了新的思路。

2. 黑色素瘤: Wiley 等^[7]通过向鼠的 B16 黑色素瘤细胞中转染 CCR7 DNA 使其过表达 CCR7, 3 周后 58% 的引流淋巴结出现转移,对照组仅有 5% 的转移率。而且,通过单克隆抗体阻断 CCL21 的作用能够阻止淋巴结转移的发生,但 IgG 却不能。这表明 CCR7/CCL21 是特异性介导淋巴结转移的。

Fang 等^[8]用 CCR7 转导的 B16 黑色素瘤细胞通过逆转录病毒载体转染至小鼠耳部皮肤, 21 d 后发现 97% 的小鼠出现颈部淋巴结转移灶的同时出现皮肤新发转移肿瘤灶,认为 CCR7 具有促进肿瘤生成和促进淋巴结转移的作用。由于 CCL21 是

淋巴内皮细胞(lymphatic endothelial cells, LECs)所分泌的, Emmett 等^[9]用带有荧光标记的 LEC 注入黑色素瘤荷瘤小鼠体内,以观察高表达 CCR7 的黑色瘤细胞是否会向淋巴富集区定向迁移。结果发现,这些肿瘤细胞向带有荧光的 LECs 定向迁移和生长,而非血管内皮细胞,为肿瘤播散的定向性迁移提供了新证据。

3. 胃癌: Mashino 等^[10]发现在 6 个胃癌细胞系中有 4 个表达 CCR7,并在 CCR7 阳性细胞中通过 CCR7 诱导的趋化性和侵袭性反应证实了信号肽的存在。CCR7 被活化后,引起肿瘤细胞内肌动蛋白增长,促进胞内肌动蛋白重新分布和细胞伪足形成,而细胞骨架的改变正是细胞迁移的早期事件,是肿瘤细胞浸润、转移所必需的,也说明表达于肿瘤细胞上的 CCR7 是有功能的。同时,以免疫组化方法在 64 例胃癌患者中检测出 42 例(66%) CCR7 阳性,其淋巴结转移及淋巴管浸润情况与 CCR7 阴性组有显著性差异,且 CCR7 阳性患者预后较差。逐步回归分析发现 CCR7 的表达水平是与淋巴结转移相关的最重要的因素。

Ishigami 等^[11]对 CCR7 对胃癌患者预后的价值进行了研究,以免疫组化的方法检测了 224 例胃癌术后患者原位癌中 CCR7 的表达水平,结果发现,CCR7 表达于肿瘤细胞的胞质和细胞膜上,经多变量回归分析,CCR7 并不能作为独立的预测因子,但其高表达与胃癌淋巴结转移及患者术后生存期密切相关。术前活组织的标本中发现 CCR7 表达阳性则预示着淋巴结转移的可能。同样, Deguchi 等^[12]在研究 CCR7 在胃癌淋巴结转移中的临床意义中认为,CCR7 的表达预示着淋巴结转移阴性的胃癌患者出现淋巴管浸润的可能。

4. 慢性淋巴细胞白血病: Till 等^[13]认为慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)跨内皮细胞迁移(transendothelial cell migration, TEM)的发生与三种趋化因子 CCL21、CCL19 及 CXCL12 相关。通过免疫组化方法证实了 CCL21 和 CCL19 定位于最易于诱导 TEM 的部位-毛细血管后微静脉,而非 CXCL12。而且,敲除 CCR7 基因的表达可抑制 CLL 细胞 TEM 的发生。首次提出 CCR7 在 CLL 淋巴结转移中发挥重要作用。

Alfonso-Perez 等^[14]用鼠抗人 CCR7 单克隆抗体进行 CLL 分子靶向治疗的体外研究,这些抗体通过产生补体依赖性细胞毒反应杀伤缺乏正常 T 淋巴细胞患者的 CLL 细胞,同时抑制了 CCL19 诱导的 CLL 趋化迁移,为临床上应用 CCR7 靶向治疗 CLL 提供了理论依据。

5. 肺癌: 2003 年, Takanami 等^[15]应用 RT-PCR 及免疫组化方法在 71 例非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)术后患者的标本中检测到 45 例(63.4%)表达 CCR7 mRNA,且其表达水平与淋巴结转移、肿瘤分期、淋巴管浸润、CCR7 蛋白及 CXCR4 蛋白表达显著相关。在 45 例 CCR7 mRNA 阳性的患者中,26 例(57.8%)有淋巴结转移,经多元统计分析发现,CCR7 mRNA 的表达可作为肺癌淋巴结转移的独立预测指标。

另外, Koizumi 等^[16]发现 CCR7 高表达于非小细胞肺癌 Lu-99 细胞系中,其表达水平及与其配体 CCL21 的相互作用促进了 NSCLC 细胞株 Lu-99 的淋巴结转移。Maekawa 等^[17]在肺癌 A549 细胞和肺腺癌组织中检测出 CCR7 及 CXCR3(一种 CXC 类趋化因子受体)的高表达。通过中和抗体抑制 CCR7 及 CXCR3 的表达后发现,CCR7 抗体能明显抑制 CCL21 诱导的 A549 细胞迁移;而 CXCR3 抗体却未能抑制 CXCL10(CXCR3 的趋化因子配体)所诱导的迁移反应。由此可见,CCR7 与肺腺癌向淋巴管定向转移显著相关。这些研究均说明 CCR7 与其配体 CCL21 的相互作用在肺癌淋巴结转移中的重要性。

关于 CCR7 促进肺癌淋巴结转移的机制, Li 等^[18]认为在缺氧环境下,肺癌中的乏氧细胞通过产生乏氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF) HIF-1 和 HIF-2 上调肿瘤细胞表面 CCR7 的表达,进而促进肺癌细胞淋巴管迁移和侵袭。同时认为, CCR7 可上调 NSCLC 中基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-9 mRNA 及蛋白的表达,且两者与 NSCLC 侵袭和转移密切相关^[19]。

6. 食道癌: Ding 等^[20]在食道鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC)中也发现了 CCR7 的高表达,并发现其与食道鳞状细胞癌淋巴管弥散、淋巴结转移、肿瘤浸润程度、肿瘤淋巴结转移分期及患者预后显著相关。在体外实验中发现, CCR7 的配体 CCL21 可诱导伪足形成,并显著促进肿瘤细胞的迁移能力和能动性。同样, Ishida 等^[21]在 78 例食道 SCC 术后患者中检测到 CCR7 不仅表达于肿瘤细胞,还表达于受侵的淋巴细胞中,多变量 Logistic 回归分析, CCR7 高表达可作为食道癌淋巴结转移的独立预测因素。再次证实了 CCR7 在食道癌细胞淋巴结转移中的重要作用。

7. 肝癌: Schimanski 等^[22]发现 CCR7 高表达于肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织及肝癌细胞系中,其表达水平与肿瘤及患者的基本情况相关。在对肝细胞癌患者的研究中表明, CCR7 与原发肿瘤生长及淋巴管转移显著相关,认为 CCR7 的表达促进了 HCC 在肝内及淋巴管的播散。

8. 甲状腺癌: Sancho 等^[23]运用实时定量 PCR(real-time quantitative-PCR)法及免疫组化染色法检测出 CCR7 高表达于乳头状(papillary, PTC)及髓状(medullary, MTC)甲状腺癌细胞中,其表达与甲状腺癌的淋巴结转移显著相关。另外在表达 CCR7 的甲状腺癌细胞系(TPC-1)中发现, CCL21 的激活可促进肿瘤细胞的增殖及转移,其诱导的趋化效应包括肌动蛋白的聚合作用、促进 β 1-整联蛋白(β 1-integrin)的表达及 MMP 的分泌。认为甲状腺癌细胞中 CCR7 的活化是由高表达 CCL21 的淋巴管亲和组织受累及细胞增殖所诱导的,进而促进甲状腺癌增殖及淋巴结转移。

Wagner 等^[24]以 PTC 甲状腺癌细胞为研究对象,用免疫组化染色法检测出 CCR7 的高表达,且在血管淋巴管浸润的 PTC 甲状腺癌细胞中检测出 CCR7 mRNA 的高表达,其水平与患者淋巴外蔓延、血管淋巴管浸润及淋巴结转移相关。

9. 宫颈癌: Kodama 等^[25]发现 CCR7 高表达于宫颈鳞状上皮细胞癌中,与肿瘤体积、间质浸润深度、阴道是否受侵、淋巴管受累或淋巴结转移相关。Logistic 回归分析, CCR7 可作为骨盆淋巴结转移的独立影响因素。CCR7 的高表达明显降低患者的

无瘤生存率及总存活率,可作为总存活率的独立预测指标。认为,CCR7的高表达与宫颈癌的淋巴结转移密切相关,可作为宫颈癌患者预后的独立预测指标。

10. 结肠癌:Yu等^[26]运用干扰RNA转染技术,以抗-CCR7 siRNA转染结肠癌细胞株SW620检测,检测其对肿瘤细胞体外增殖及侵袭能力的影响;并以抗-CCR7 siRNA转染SW620荷瘤小鼠的肿瘤细胞,观察其对小鼠淋巴生成及淋巴结转移的抑制作用。结果发现,抗-CCR7 siRNA可明显降低结肠癌细胞中CCR7 mRNA的表达水平,并抑制结肠癌细胞淋巴结转移及淋巴生成。由此认为,CCR7可作为肿瘤治疗及新型药物研发理想的靶点。

Li等^[27]同样运用干扰RNA转染技术,以小发夹结构RNA(short hairpin RNA, shRNA)干扰结肠癌SW480细胞中CCR7的表达,结果发现CCR7表达的降低不仅抑制荷瘤小鼠肿瘤增殖及淋巴结转移,延长了小鼠的生存期,还抑制MMP-9的生成。认为CCR7通过对MMP-9表达的调控来促进结肠癌淋巴结转移,与Li等^[19]在NSCLC中的研究结果高度一致。

11. 胰腺癌:Nakata等^[28]对89例术后治愈、无血行转移及腹膜后扩散的胰腺导管癌患者标本进行了免疫组化染色分析,发现32.6%(29/89)的标本CCR7表达阳性,且CCR7表达阳性的患者生存期要明显低于CCR7阴性患者。认为CCR7的表达对可手术切除的胰腺癌患者生存期的影响可能与淋巴管扩散有关,采用抑制CCR7蛋白表达的方法有可能提高胰腺癌患者的生存期。

三、展望

综上所述,尽管少量报道显示CCR7/CCL21在肿瘤免疫方面发挥一定的抑制肿瘤作用,然而,大量研究证实CCR7及其趋化因子配体在促进肿瘤侵袭和淋巴转移过程中所发挥的作用是不容忽视的。CCR7能否作为特异性评价某些实体肿瘤淋巴结转移的分子标志物或者预后判断因素,还有待进一步研究。随着研究的不断深入,CCR7及其配体在肿瘤侵袭转移及诊断治疗中的价值将得到进一步阐明。

参 考 文 献

- [1] Yoshida R, Nagira M, Kitaura M, et al. Secondary lymphoid-tissue chemokine is a functional ligand for the CC chemokine receptor CCR7. *J Biol Chem*, 1998, 273:7118-7122.
- [2] Nagira M, Imai T, Hieshima K, et al. Molecular cloning of a novel human CC chemokine secondary lymphoid-tissue chemokine that is a potent chemoattractant for lymphocytes and mapped to chromosome 9p13. *J Biol Chem*, 1997, 272:19518-19524.
- [3] Stein JV, Soriano SF, M'riani C, et al. CCR7-mediated physiological lymphocyte homing involves activation of a tyrosine kinase pathway. *Blood*, 2003, 101:38-44.
- [4] Muller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature*, 2001, 410:50-56.
- [5] Cunningham HD, Shannon LA, Calloway PA, et al. Expression of the C-C chemokine receptor 7 mediates metastasis of breast cancer to the lymph nodes in mice. *Transl Oncol*, 2010, 3:354-361.
- [6] Wu S, Lu X, Zhang ZL, et al. CC chemokine ligand 21 enhances the immunogenicity of the breast cancer cell line MCF-7 upon assistance of TLR2. *Carcinogenesis*, 2011, 32:296-304.
- [7] Wiley HE, Gonzalez EB, Maki W, et al. Expression of CC chemokine receptor-7 and regional lymph node metastasis of B16 murine melanoma. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93:1638-1643.
- [8] Fang L, Lee VC, Cha E, et al. CCR7 regulates B16 murine melanoma cell tumorigenesis in skin. *J Leukoc Biol*, 2008, 84:965-972.
- [9] Emmett MS, Lanati S, Dunn DB, et al. CCR7 Mediates Directed Growth of Melanomas Towards Lymphatics. *Microcirculation*, 2011, 18:172-182.
- [10] Mashino K, Sadanaga N, Yamaguchi H, et al. Expression of chemokine receptor CCR7 is associated with lymph node metastasis of gastric carcinoma. *Cancer Res*, 2002, 62:2937-2941.
- [11] Ishigami S, Natsugoe S, Nakajo A, et al. Prognostic value of CCR7 expression in gastric cancer. *Hepatogastroenterology*, 2007, 54:1025-1028.
- [12] Deguchi K, Ichikawa D, Soga K, et al. Clinical significance of vascular endothelial growth factors C and D and chemokine receptor CCR7 in gastric cancer. *Anticancer Res*, 2010, 30:2361-2366.
- [13] Till KJ, Lin K, Zuzel M, et al. The chemokine receptor CCR7 and alpha4 integrin are important for migration of chronic lymphocytic leukemia cells into lymph nodes. *Blood*, 2002, 99:2977-2984.
- [14] Alfonso-Perez M, Lopez-Giral S, Quintana NE, et al. Anti-CCR7 monoclonal antibodies as a novel tool for the treatment of chronic lymphocyte leukemia. *J Leukoc Biol*, 2006, 79:1157-1165.
- [15] Takanami I. Overexpression of CCR7 mRNA in nonsmall cell lung cancer: correlation with lymph node metastasis. *Int J Cancer*, 2003, 105:186-189.
- [16] Koizumi K, Kozawa Y, Ohashi Y, et al. CCL21 promotes the migration and adhesion of highly lymph node metastatic human non-small cell lung cancer Lu-99 in vitro. *Oncol Rep*, 2007, 17:1511-1516.
- [17] Maekawa S, Iwasaki A, Shirakusa T, et al. Association between the expression of chemokine receptors CCR7 and CXCR3, and lymph node metastatic potential in lung adenocarcinoma. *Oncol Rep*, 2008, 19:1461-1468.
- [18] Li Y, Qiu X, Zhang S, et al. Hypoxia induced CCR7 expression via HIF-1alpha and HIF-2alpha correlates with migration and invasion in lung cancer cells. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8:322-330.

- [19] Li Y, Liu W, Fang L, et al. Chemokine receptor 7 induces metastasis of NSCLC via upregulating MMP-9 expression. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*, 2010, 13:1016-1020.
- [20] Ding Y, Shimada Y, Maeda M, et al. Association of CC chemokine receptor 7 with lymph node metastasis of esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2003, 9:3406-3412.
- [21] Ishida K, Iwahashi M, Nakamori M, et al. High CCR7 mRNA expression of cancer cells is associated with lymph node involvement in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*, 2009, 34:915-922.
- [22] Schimanski CC, Bahre R, Gockel I, et al. Chemokine receptor CCR7 enhances intrahepatic and lymphatic dissemination of human hepatocellular cancer. *Oncol Rep*, 2006, 16:109-113.
- [23] Sancho M, Vieira JM, Casalou C, et al. Expression and function of the chemokine receptor CCR7 in thyroid carcinomas. *J Endocrinol*, 2006, 191: 229-238.
- [24] Wagner PL, Moo TA, Arora N, et al. The chemokine receptors CXCR4 and CCR7 are associated with tumor size and pathologic indicators of tumor aggressiveness in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15:2833-2841.
- [25] Kodama J, Hasengaowa, Kusumoto T, et al. Association of CXCR4 and CCR7 chemokine receptor expression and lymph node metastasis in human cervical cancer. *Ann Oncol*, 2007, 18:70-76.
- [26] Yu S, Duan J, Zhou Z, et al. A critical role of CCR7 in invasiveness and metastasis of SW620 colon cancer cell in vitro and in vivo. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7:1037-1043.
- [27] Li J, Sun R, Tao K, et al. The CCL21/CCR7 pathway plays a key role in human colon cancer metastasis through regulation of matrix metalloproteinase-9. *Dig Liver Dis*, 2011, 43:40-47.
- [28] Nakata B, Fukunaga S, Noda E, et al. Chemokine receptor CCR7 expression correlates with lymph node metastasis in pancreatic cancer. *Oncology*, 2008, 74:69-75.

(收稿日期:2011-03-25)

(本文编辑:戚红丹)