

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.19.027

趋化因子 MCP-1、MIP-1 α 的表达与 TAM 计数在胆囊癌中的临床病理意义

蔡春琳¹ 周力学² 曾 亮^{3,4 Δ} 蒋芳清¹ 陈跃飞¹

(1 长沙市第一医院感染四科 湖南 长沙 410011; 2 湖南省人民医院肝胆外科 湖南 长沙 410000; 3 湖南省肿瘤医院暨中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院病理科 湖南 长沙 410013; 4 吐鲁番地区中心医院病理科 新疆 吐鲁番 838000)

摘要 目的:检测胆囊腺癌组织中趋化因子 MCP-1 和 MIP-1 α 的表达、TAM 计数并探讨其临床病理意义。**方法:**收集中南大学湘雅二医院及湖南省人民医院近五年胆囊腺癌手术切除标本 36 例及慢性胆囊炎手术切除标本 10 例,采用原位分子杂交方法检测 MCP-1 和 MIP-1 α 的表达,免疫组化法进行 TAM 计数。**结果:**胆囊腺癌组织中 MCP-1、MIP-1 α mRNA 表达阳性率及评分均明显高于慢性胆囊炎($P<0.01$);高分化胆囊腺癌中二者的阳性率及评分均低于低分化胆囊腺癌,其中 MCP-1 mRNA 比较有显著性差异($P<0.05$);MCP-1、MIP-1 α mRNA 的表达呈显著正相关。胆囊腺癌组织 MCP-1 mRNA 表达阳性率及其评分与侵犯胆总管及发生淋巴结转移显著相关;MIP-1 α mRNA 表达阳性率及其评分与侵犯肝脏显著相关。胆囊腺癌组织中,TAM 计数(24.89 ± 0.84)明显高于慢性胆囊炎组织(16.19 ± 0.66),有显著性差异($P<0.01$)。TAM 与 MCP-1、MIP-1 α mRNA 表达评分值均呈显著正相关(r 分别为 0.580, 0.567)。MCP-1 mRNA 与 MIP-1 α mRNA 评分值之间呈显著正相关($r=0.638$)。**结论:**MCP-1、MIP-1 α 的表达增加及 TAM 计数升高可能调控和影响胆囊癌的发生和发展,MCP-1、MIP-1 α 可能促进 TAM 向胆囊癌组织迁移浸润。

关键词:胆囊癌;核细胞化学趋化蛋白-1;单核细胞炎症蛋白-1;肿瘤相关巨噬细胞

中图分类号:R735.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)19-3706-05

Clinicopathological Significance of Expression of Chemokine MCP-1, MIP-1 α and TAM Count in Gallbladder Carcinoma

CAI Chun-lin¹, ZHOU Li-xue², ZENG Liang^{3,4 Δ} , JIANG Fang-qing¹, CHEN Yue-fei¹

(1 Four Infection Department, The first hospital of Changsha City, Changsha, Hunan, 410011, China; 2 Department of hepatobiliary surgery, Hunan People's Hospital, Hunan, Changsha, 410000, China; 3 Department of Pathology, Hunan Provincial Tumor Hospital & Tumor Hospital of Xiangya School of medicine of Central South University, Hunan, Changsha, 410013, China; 4 Department of Pathology Tu lu fan Central Hospital, Turpan, Xinjiang, 838000, China)

ABSTRACT Objective: Expression of MCP-1, MIP-1 α and TAM count in gallbladder carcinoma tissue were detected in this study, and their clinical significance were analyzed. **Methods:** 36 cases of gallbladder carcinoma operation samples and 10 cases of chronic cholecystitis operation samples were collected from Hunan province People's Hospital and Second Xiangya Hospital. In situ hybridization method was used to detect the expression of MCP-1 and MIP-1 α , ABC immunohistochemical method was used for TAM count. **Results:** In gallbladder carcinoma, the positive rate and score of MCP-1 and MIP-1 α mRNA expression was significantly higher than that of the chronic cholecystitis($P<0.01$); The positive rate and score of high differentiation gallbladder adenocarcinoma were lower than those of the low differentiation gallbladder adenocarcinoma, while the MCP-1 mRNA expressed significantly differently between different differentiation groups ($P<0.05$); significant positive correlation was found between MCP-1 and MIP-1 α mRNA expression. In gallbladder adenocarcinoma tissue, the positive rate and score of MCP-1 mRNA expression were significantly related to the infringement of common bile duct and the incidence of lymph node metastasis; the positive rate and score of MIP-1 α mRNA expression were significantly related to the invasion of the liver. In 36 cases of gallbladder carcinoma tissue, TAM count (24.89 ± 0.84) was significantly higher than that of 10 cases of chronic cholecystitis group (16.19 ± 0.66) with significant difference ($P<0.01$). TAM count of MCP-1 and MIP-1 α mRNA positive cases were significantly higher than those in negative cases ($P<0.01$). TAM and MCP-1, MIP-1 α mRNA expression score showed significant positive correlation($r=0.580, 0.567$). Score of MCP-1 mRNA and MIP-1 α mRNA has a close positive correlation ($r=0.638$). **Conclusion:** The increased expression of MCP-1, MIP-1 α and TAM count enhancement may regulate and influence the occurrence and development of gallbladder carcinoma, MCP-1, MIP-1 α may promote TAM to gallbladder carcinoma tissue infiltration.

Key words: Gallbladder carcinoma; MCP-1; MIP-1 α ; Tumor associated macrophage

Chinese Library Classification(CLC): R735.8 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)19-3706-05

作者简介:蔡春琳,女,本科,副主任医师,主要研究方向:肝胆系统疾病的诊断和治疗,电话:13627484736

Δ 通讯作者:曾亮,主任医师,E-mail: zlx03@126.com

(收稿日期:2013-11-25 接受日期:2013-12-23)

前言

胆囊癌是胆道系统常见的恶性肿瘤,易发生、浸润转移和复发,预后差。单核细胞化学趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant proteins, MCP-1)和单核细胞炎性蛋白-1(monocyte inflammatory protein-1, MIP-1)均为重要的化学趋化因子,新近国内外学者研究发现 MCP-1 和 MIP-1 α 表达水平与多种恶性肿瘤发生发展、血管生成、转移发生及其预后均有密切关系^[1-4]。而肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM)为浸润至肿瘤部位的巨噬细胞分化而成,对肿瘤的发生、生长速率、基质形成及溶解有着诸多影响^[5,6]。本研究应用免疫组织化学进行胆囊腺癌组织中 TAM 计数,应用原位分子杂交方法测定 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 的表达,旨在探讨 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 表达及 TAM 计数与胆囊腺癌的发生发展、生物学行为和特征及预后的关系,为胆囊癌的临床防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 病例情况

收集中南大学湘雅二医院及湖南省人民医院近五年胆囊腺癌手术切除标本 36 例,其中男 10 例,女 26 例,年龄 35~80 岁,平均为(52 $\pm$ 16)岁;均为胆囊腺癌,包括高分化 7 例,中分化 13 例,低分化 16 例;临床和病理证实侵犯胆总管 18 例(50%),侵犯肝脏 15 例(41.7%),淋巴结转移 16 例(44.4%)。另收集慢性胆囊炎手术切除标本 10 例,其中男 4 例,女 6 例,年龄 35~67 岁,平均(44 $\pm$ 10)岁,病检证实均为慢性胆囊炎,粘膜上皮均无异型增生等病理改变。上述标本经 10%中性福尔马林固定后,常规制作石蜡包埋连续切片,切片厚 4 μ m。

1.2 主要试剂和仪器

鼠抗人 CD68 单克隆抗体,生物素标记羊抗鼠 IgG,ABC 试剂盒,DAB-HC 显色试剂盒,MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 原位杂交试剂盒,以上试剂均购自武汉博士德公司。

1.3 实验方法

1.3.1 原位分子杂交技术 石蜡切片经常规脱蜡至水化。30%过氧化氢 1 份与纯甲醇 9 份混合,室温处理 20 min。蒸馏水洗涤三次。暴露 RNA 片段:切片上滴加 3%柠檬酸新鲜稀释的胃蛋白酶(1 mL 3%柠檬酸加 2 滴浓缩型胃蛋白酶,混匀)37 $^{\circ}$ C 消化 15 min,原位杂交用 PBS 洗 3 次 $\times$ 5 min。含有 1/1000DEPC 的 1%多聚醛 /0.1MPBS(pH7.2-7.6)固定液室温固定 10 min。蒸馏水洗涤 3 次。预杂交:湿盒的准备,干的杂交盒底部加 20%甘油 20 mL 以保持湿度,每张切片加预杂交液 20 μ L,38-42 $^{\circ}$ C 2-4 hrs,吸去多余液体,不洗。杂交:每张切片加杂交液 20 μ L,将原位杂交专用盖玻片的保护膜揭开后盖在切片上,38-42 $^{\circ}$ C 杂交过夜。杂交后洗涤:揭掉盖玻片,37 $^{\circ}$ C 水温的 2 $\times$ SSC 洗涤 5 min $\times$ 2 次,37 $^{\circ}$ C 水温的 0.5 $\times$ SSC 洗涤 5 min $\times$ 1 次;37 $^{\circ}$ C 水温的 0.2 $\times$ SSC 洗涤 5 min $\times$ 1 次。滴加封闭液:37 $^{\circ}$ C 30 分钟。甩去多余液体,不洗。滴加生物素化兔抗地高辛:37 $^{\circ}$ C 60 min。原位杂交专用 PBS 洗涤 5 min $\times$ 4 次。滴加 SABC:37 $^{\circ}$ C 30 min,原位杂交专用 PBS 洗 5 min $\times$ 3 次。滴加生物素化过氧化物酶:37 $^{\circ}$ C 30 min,原位杂交专用 PBS 洗 5 min $\times$ 4 次。DAB 显色:使用 DAB 显色试剂盒(AR1022)取 1 mL 蒸馏水,加试剂 A、B、D

各 1 滴,混匀后加至切片,室温显色 20 min,蒸馏水洗涤。苏木素轻度复染,充分水洗。酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。IL-8 mRNA 表达的评分:细胞浆中出现棕黄色颗粒者为阳性细胞。IL-8mRNA 表达的评分方法^[7],将癌细胞原位杂交着色强度评分(0 分,无;1 分,弱;2 分,中;3 分,强)和阳性细胞评分(0 分,<5%;1 分,5-10%;2 分,11-20%;3 分,21-50%;4 分,>50% = 之和为该病例的评分值,将 0-2 分定为阴性表达病例(-),>2 分定为阳性表达病例(+)。对照:以原位杂交盒中阳性切片作为阳性对照,以 ISSC 替代杂交液作为阴性对照。

1.3.2 免疫组织化学方法 TAM 染色方法为常规的 ABC 免疫组化法,严格按照博士德公司试剂操作说明书操作,具体步骤如下:切片常规脱蜡至水化。将 30%过氧化氢 1 份+甲醛 9 份混合,室温 10 min 以灭活内源性过氧化物酶,蒸馏水洗 3 次。滴加复合消化液 5-10 min,蒸馏水洗 3 次。滴加正常山羊血清封闭液,室温 20 min,甩去多余液体,不洗。滴加 CD68 一抗,37 $^{\circ}$ C 60 min,4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜,PBS(pH7.2-7.6)洗 2 min $\times$ 3 次。滴加生物素化山羊抗鼠 IgG,37 $^{\circ}$ C 20 min,PBS(pH7.2-7.6)洗 2 min $\times$ 3 次。滴加 ABC 试剂,37 $^{\circ}$ C 30 min,PBS 液洗 2 min $\times$ 3 次。DAB 显色,使用 DAB 显色试剂盒,取 1 mL 蒸馏水,加试剂盒中 A、B、C 试剂各 1 滴,混匀后滴至切片,室温显色,镜下控制反应时间,蒸馏水洗涤。苏木素复染,蒸馏水冲洗返蓝。梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。CD68 阳性结果判断:阳性颗粒定位于巨噬细胞胞浆及胞核中。TAM 计数参照 Molin 法^[8],高倍镜下观察 5 个视野内 TAM 计数,求其均值为该病例的计数。对照:0.01MPBS 液替代一抗作为阴性对照,以多次替代对照有效的乳腺癌切片作为阳性对照。由两名病理科医生盲法阅片。

1.4 统计学分析

本资料采用 SPSS11.0 软件进行分析,其统计分析包括成组样本 t 检验、 χ^2 检验及 Pearson 相关分析方法,检验标准 $\alpha < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 胆囊腺癌和慢性胆囊炎组织中 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 的表达

36 例胆囊腺癌组织中,MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 表达阳性病例分别为 21 例(58.33%)和 18 例(50.00%),见图 1;二者的评分值分别为(1.94 $\pm$ 0.24)、(1.89 $\pm$ 0.24)。10 例慢性胆囊炎组织中两者阳性表达病例分别为 0 例(0%)和 1 例(10%);其评分值分别为 (0.7 $\pm$ 0.26)、(1.1 $\pm$ 0.35);胆囊腺癌组织中 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 阳性表达率及评分值均明显高于慢性胆囊炎,有显著性差异($P < 0.05$)。高分化腺癌组织中 MIP-1 α mRNA 阳性表达率及评分值低于低分化腺癌组,但无显著差异 ($P > 0.05$);高分化腺癌组织中 MCP-1 mRNA 阳性表达率及评分值明显低于低分化腺癌组,统计学分析有显著差异($P < 0.05$)。见表 1、2。

2.2 MCP-1 和 MIP-1 α 与胆囊癌临床病理特征的关系

21 例 MCP-1 mRNA 阳性病例中侵犯胆总管 11 例,侵犯肝脏 10 例,发生淋巴结转移 14 例;15 例 MCP-1 mRNA 阴性病例中侵犯胆总管 5 例,侵犯肝脏 5 例,发生淋巴结转移 2 例,提示

表 1 胆囊腺癌和慢性胆囊炎中 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 表达阳性率及其评分的比较

Table 1 Comparison of the positive rate and score of MCP-1 and MIP-1 α mRNA expression between Gallbladder carcinoma and Chronic cholecystitis

病变 Lesion	例数 N	MCP-1mRNA		MIP-1 α mRNA	
		阳性数(%) Positive rate	评分 Sore	阳性数(%) Positive rate	评分 Sore
胆囊腺癌 Gall bladder adenocarcinoma	36	58.3	1.9 $\pm$ 0.2*	50.0	1.9 $\pm$ 0.2**
胆囊炎 Chronic cholecystitis	10	0	0.7 $\pm$ 0.3	10	1.1 $\pm$ 0.4

注:与胆囊炎比较,*P<0.01,**P<0.05

Note: compared with Chronic cholecystitis, *P<0.01, **P<0.05

表 2 胆囊癌组织中 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 表达与分化程度的关系

Table 2 Relationship of Expression of MCP-1 and MIP-1 α mRNA with differentiation degree in the gallbladder carcinoma

分化 Differentiation	例数 N	MCP-1mRNA		MIP-1 α mRNA	
		阳性率(%) Positive rate	评分 Sore	阳性率(%) Positive rate	评分 Sore
高分化 Well-differentiated	7	14.3	1.0 $\pm$ 0.5	28.6	1.4 $\pm$ 0.5
中分化 Moderately differentiated	13	62.5**	1.9 $\pm$ 0.4**	38.5**	1.6 $\pm$ 0.4**
低分化 Poorly differentiated	16	75.0*	2.4 $\pm$ 0.3*	68.8**	2.3 $\pm$ 0.4**

注:与高分化腺癌比较 *P<0.05,**P>0.05

Note: compared with high differentiation adenocarcinoma, *P<0.05, **P>0.05

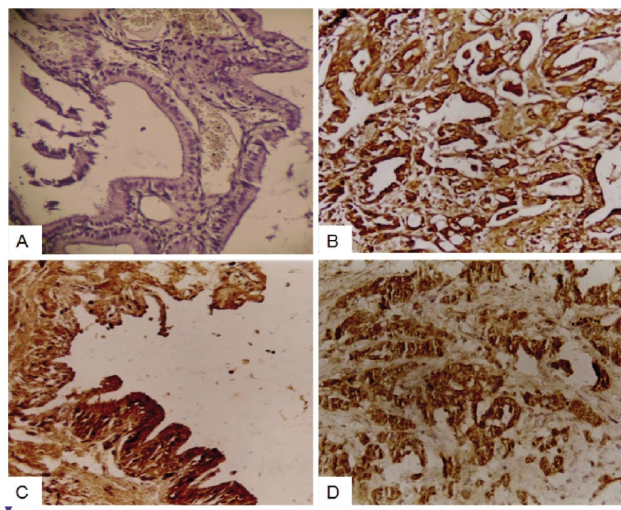


图 1 原位分子杂交染色检测胆囊癌和慢性胆囊炎组织中 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 表达(200 $\times$)

Fig. 1 MCP-1 and MIP-1 α mRNA expression in Gallbladder carcinoma and Chronic cholecystitis tissues by In situ hybridization staining(200 $\times$)

A: MCP-1 mRNA 在慢性胆囊炎组织中的表达 MCP-1 mRNA expression in Chronic cholecystitis tissues

B: MCP-1 mRNA 在胆囊癌组织中的表达 MCP-1 mRNA expression in Gallbladder carcinoma tissues

C: MIP-1 α mRNA 在慢性胆囊炎组织中的表达 MIP-1 α mRNA expression in Chronic cholecystitis tissues

D: MIP-1 α mRNA 在胆囊癌组织中的表达 MIP-1 α mRNA expression in Gallbladder carcinoma tissues

胆囊癌组织 MCP-1mRNA 表达阳性率与其发生淋巴结转移关系密切(χ^2 淋巴结转移 = 10.080, $P < 0.01$); 18 例 MIP-1 α mRNA 阳性病例中侵犯胆总管 11 例, 侵犯肝脏 11 例, 发生淋巴结转移 9 例; 18 例 MIP-1 α mRNA 阴性病例中侵犯胆总管 7 例, 侵犯肝脏 3 例, 发生淋巴结转移 7 例, 提示胆囊癌组织 MIP-1 α mRNA 表达阳性率与其侵犯肝脏关系密切 (χ^2 侵犯肝脏 = 7.481, $P < 0.01$), 见表 3。

MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 评分值间比较, 侵犯胆总管、肝脏和发生淋巴结转移病例 MCP-1mRNA (2.3 $\pm$ 0.3; 2.1 $\pm$ 0.4; 2.7 $\pm$ 0.3) 及 MIP-1 α mRNA (2.2 $\pm$ 0.3; 2.5 $\pm$ 0.4; 2.1 $\pm$ 0.3) 高于未侵犯胆总管、肝脏和发生淋巴结转移病例的 MCP-1mRNA (1.6 $\pm$ 0.4; 1.8 $\pm$ 0.3; 1.4 $\pm$ 0.3) 及 MIP-1 α mRNA (1.6 $\pm$ 0.3; 1.5 $\pm$ 0.3; 1.7 $\pm$ 0.3), 其中侵犯胆总管和发生淋巴结转移的 IL-8mRNA 评分之间、发生淋巴结转移的 MCP-1mRNA 评分之间及侵犯肝脏的 MIP-1 α mRNA 评分之间有显著差异($P < 0.05$), 见表 4。

2.3 胆囊癌组织中 MCP-1 和 MIP-1 α 与 TAM 计数的关系

免疫组织化学方法通过检测 CD68 表达来进行 TAM 计数。本组结果显示 36 例胆囊腺癌 TAM 计数均值为 (24.9 $\pm$ 0.9), 10 例慢性胆囊炎 TAM 计数值为 (16.2 $\pm$ 0.7), 经过正态性检验, 计数服从正态分布(峰度与偏度 P 值均 > 0.10), 胆囊腺癌组织 TAM 计数值显著高于慢性胆囊炎组织, 统计学分析有显著性差异($P < 0.01$)。进一步分析 MCP-1 和 MIP-1 α 与 TAM 计数的关系, 结果显示 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 表达阳性病例 TAM 计数明显高于阴性病例有显著性差异($P < 0.01$), 见表 4。经

表 3 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 表达与胆囊癌临床特征的关系Table 3 The relationship of MCP-1 and MIP-1 α mRNA expression with the clinical features of gallbladder carcinoma

	例数 No.	侵犯胆总管	侵犯肝脏	淋巴结转移
		Violations of the common bile duct Exp.(%)	Invasion of the liver Exp.(%)	Exp.(%)
MCP-1 mRNA (+)	21	11(52.38)***	10(47.62)***	14(66.67)**
MCP-1 mRNA (-)	15	5(33.33)	5(33.33)	2(13.33)
MIP-1 α mRNA (+)	18	11(61.11)***	10(55.56)**	9(50.00)***
MIP-1 α mRNA (-)	18	7(38.89)	3(16.67)	7(38.89)

注:与阴性组比较 *P<0.05, **P<0.01, ***P>0.05

Note: compared with the negative control group, *P<0.05, **P<0.01, ***P>0.05

Pearson 相关分析, TAM 计数与 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 评分间存在显著正相关($r=0.580$, $P<0.001$; $r=0.567$, $P<0.001$)。

表 4 胆囊癌中 MCP-1 和 MIP-1 α mRNA 表达阳性率与 TAM 计数的关系Table 4 Relationship between MCP-1 and MIP-1 α mRNA expression and TAM count in gallbladder carcinoma

表达状况 Expression status	例数 No.	TAM($\bar{X} \pm S$)
MCP-1 mRNA(+)	21	27.7 $\pm$ 1.0*
MCP-1 mRNA(-)	15	21.0 $\pm$ 0.9
MIP-1 α mRNA(+)	18	27.6 $\pm$ 1.1*
MIP-1 α mRNA(-)	18	22.2 $\pm$ 1.1

注:*与阴性组比较 P<0.01

Note: compared with the negative control group, P<0.01

3 讨论

趋化因子是一类对白细胞与炎性细胞有趋化和激活功能的细胞因子,可由肿瘤细胞和基质细胞分泌,它们源于一个始祖基因,由一组在结构和功能上相关的蛋白质组成,可分为 CXC 家族、C-C 家族、C 家族、CX3C。国内外研究发现趋化因子在介导多个免疫炎症反应的同时,也对恶性肿瘤的生长、进展、转移及预后产生影响。

MCP-1 属于趋化因子 C-C 家族,成熟的 MCP-1 是重要的吸引单核细胞到炎症部位的趋化因子,可由外周血单核细胞、内皮细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞和某些肿瘤细胞产生,对单核巨噬细胞、T 淋巴细胞、嗜碱性细胞、自然杀伤(NK)细胞和造血祖细胞都有趋化作用。在体外研究中, MCP-1 对单核巨噬细胞表现出多种作用,可引起后者胞浆内游离钙水平升高,表达粘附分子,释放溶酶体酶及超氧阴离子等,还能促使其生成组织因子和促炎细胞因子,同时在肿瘤发生、发展过程中发挥重要作用。本研究结果显示胆囊腺癌组织 MCP-1 mRNA 表达的阳性率及其评分显著高于慢性胆囊炎组织,提示 MCP-1 与胆囊腺癌的发生和进展有关;同时发现,高分化腺癌 MCP-1 mRNA 的表达阳性率及其评分明显低于低分化腺癌,说明 MCP-1 mRNA 高表达的胆囊腺癌组织分化差,恶性程度高。因此, MCP-1 可能是胆囊腺癌恶性程度的标志。此外, MCP-1 mRNA 表达阳性的胆囊腺癌组织易发生胆总管、肝脏侵犯及淋巴结转移,并与发生淋巴结转移存在密切关系,据此推测胆囊腺癌组织高表达 MCP-1 者易发生淋巴结转移,有助于胆囊癌的预后

预测,具体机制可能与其促血管生成、趋化巨噬细胞及促进 MMP 的表达等有关。研究发现^[9,10]乳腺癌组织表达 MCP-1,且 MCP-1 表达高的病例比 MCP-1 表达低的病例易发生转移,表明 MCP-1 与乳腺癌的发生发展有关。有报道^[11] MCP-1 是恶性黑色素瘤发生和侵袭中重要的信号分子。对多种恶性肿瘤的研究均证实 MCP-1 及其 mRNA 的表达与恶性肿瘤的微血管计数及转移密切相关^[12,13]。研究发现乳腺癌 MCP-1 的表达与肿瘤侵袭血管及膜型 MMP 的表达有关,认为乳腺癌 MCP-1 促进其侵袭血管与其促进膜型 MMP 的表达有关,这些研究报道均支持本研究结果。

MIP-1 α 也属于趋化因子 C-C 家族,多种细胞包括中性粒细胞、单核细胞、活化 T 细胞、肥大细胞、成纤维细胞及肿瘤细胞能分泌 MIP-1 α ,实验证实其靶效应可诱导和趋化酸性粒细胞、单核细胞、T 淋巴细胞、NK 细胞及造血干细胞,并增强其功能,在肿瘤局部发挥趋化免疫细胞的生物活性。研究发现, MIP-1 α 在肺癌、乳腺癌、前列腺癌中表现出对肿瘤血管生成的相关性,进而影响肿瘤的发展、转移等生物学行为^[14-16]。本组资料显示胆囊腺癌 MIP-1 α mRNA 表达及其评分明显高于慢性胆囊炎组,提示 MIP-1 α 与胆囊腺癌的发生和进展有关。高分化腺癌组织 MIP-1 α mRNA 的表达阳性率及其评分明显低于低分化腺癌组织,但无显著差异,提示 MIP-1 α 似乎并不能直接反映胆囊腺癌的病理情况。同时, MIP-1 α mRNA 表达的阳性的胆囊腺癌组织易侵犯胆总管、肝脏及发生淋巴结转移,并与侵犯肝脏的关系有显著性;据此高表达 MIP-1 α 的胆囊腺癌组织对肝脏的浸润强,而低表达 MIP-1 α 的胆囊腺癌组织对肝脏的浸润弱。因此,通过检测胆囊腺癌 MIP-1 α 的表达情况可协助我们选择适当的手术方式或预测其预后。

本组资料同时发现 MCP-1 mRNA、MIP-1 α mRNA 表达阳性率及其评分之间存在密切正相关,说明这两种趋化因子在胆囊腺癌的发展等方面中可能存在相互协同、共同促进作用^[17,18],能存在相互影响和共同调控的作用通道,具体机制有待更深入研究。

研究发现^[19,20]在恶性肿瘤的间质内有数量不等,程度不均的炎性细胞浸润,包括单核/巨噬系统来源的巨噬细胞、肥大细胞及中性粒细胞,并从各方面对其进行了研究。研究发现 TAM 能诱导和表达多种细胞因子和生长因子,其作用可能在介导局部免疫过程的同时,对肿瘤的生长及肿瘤微环境的构建也有重要意义。胆囊腺癌的发展及预后是否也与巨噬细胞有关,国内外尚未见相关文献。本研究结果显示在胆囊腺癌组织

中均有一定数量的 TAM 浸润,明显高于慢性胆囊炎浸润数量,提示 TAM 与胆囊腺癌的进展密切相关。同时也发现,胆囊腺癌 MCP-1mRNA、MIP-1 α mRNA 表达评分与 TAM 计数之间存在高度密切正相关,并且 MCP-1mRNA、MIP-1 α mRNA 阳性表达的胆囊腺癌的 TAM 计数明显高于其阴性表达的病例,说明胆囊腺癌间质中的 TAM 浸润和癌组织 MCP-1、MIP-1 α mRNA 表达水平存在密切的相关,推测这两种化学趋化因子均可促进 TAM 向胆囊腺癌组织迁移和浸润,TAM 诱导分泌多种细胞因子,促进肿瘤血管生成,进而促进胆囊腺癌的进展^[21]。有研究报道发现 MCP-1、MIP-1 α 对免疫细胞的影响。在黑色素瘤的研究中发现宿主来源的 MCP-1 和 MIP-1 α 可促进淋巴细胞向肿瘤组织浸润并产生细胞因子^[22]。对胶质瘤的研究发现肿瘤释放的 ATP 分子可通过调节 ATP ionotropic receptor P2X 来增加在肿瘤中浸润的小胶质细胞/巨噬细胞中 MIP-1 α 和 MCP-1 的表达^[23]。有报道在乳腺癌中间质 MCP-1 表达与巨噬细胞数量存在显著正相关^[24]。这些研究说明 MCP-1、MIP-1 α 与各种免疫细胞包括巨噬细胞间有着功能上的密切联系,但具体调控机制还有待进一步研究。

综上所述,本研究从组织病理学水平对 MCP-1、MIP-1 α 表达和 TAM 计数在胆囊癌中临床病理意义进行了初步探讨,为这几项指标应用于胆囊癌的诊断和预后预测提供了重要依据。结果表明 MCP-1、MIP-1 α 的表达增加及 TAM 计数升高可能调控和影响胆囊癌的发生和发展,MCP-1、MIP-1 α 可能促进 TAM 向胆囊癌组织迁移浸润。但关于它们的功能,特别是相互间的功能联系,还有待细胞分子生物学的进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Michiels K, Schutyser E, Conings R, et al. Carcinoma cell-derived chemokines and their presence in oral fluid [J]. *Eur J Oral Sci*, 2009, 117(4): 362-368
- [2] Owen JL, Criscitiello MF, Libreros S, et al. Expression of the inflammatory chemokines CCL2, CCL5 and CXCL2 and the receptors CCR1-3 and CXCR2 in T lymphocytes from mammary tumor-bearing mice[J]. *Cell Immunol*, 2011, 270(2): 172-182
- [3] Olsnes C, Stavang H, Brokstad K, et al. Chemokines are secreted by monocytes following OK-432 (lyophilized *Streptococcus pyogenes*) stimulation[J]. *BMC Immuno*, 2009, 10: 6
- [4] Baier PK, Eggstein S, Wolff-Vorbeck G. Chemokines in human colorectal carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(5): 3581-3584
- [5] Baay M, Brouwer A, Pauwels P. Tumor cells and tumor-associated macrophages: secreted proteins as potential targets for therapy [J]. *Clin Dev Immunol*, 2011, 2011: 565187
- [6] Miravet M, Dissard R, Klein J. Renal tubular fluid shear stress facilitates monocyte activation toward inflammatory macrophages[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302(11): F1409-1417
- [7] Weidner N, Carrol PR, Flax J, et al. Tumor angiogenesis correlation with metastasis in invasive prostate carcinoma [J]. *Am J Pathol*, 1993, 143: 401-409
- [8] Molin D, Edstrom A, Glimelius I, et al. Mast cell infiltration correlates with poor prognosis in Hodgkins lymphoma[J]. *Br J Haematol*, 2002, 119: 122-124
- [9] Fader AN, Rasool N, Vaziri SA, et al. CCL2 expression in primary ovarian carcinoma is correlated with chemotherapy response and survival outcomes[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(12): 4791-4798
- [10] Lin CW, Shen SC, Ko CH, et al. Reciprocal activation of macrophages and breast carcinoma cells by nitric oxide and colony-stimulating factor-1[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(12): 2039-2048
- [11] Tang M, Wang Y, Han S, et al. Endogenous PGE (2) induces MCP-1 expression via EP4/p38 MAPK signaling in melanoma[J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(2): 645-650
- [12] Yu DC, Chen J, Sun XT, et al. Mechanism of endothelial progenitor cell recruitment into neo-vessels in adjacent non-tumor tissues in hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 435
- [13] Soria G, Yaal-Hahoshen N, Azenshtein E, et al. Concomitant expression of the chemokines RANTES and MCP-1 in human breast cancer: a basis for tumor-promoting interactions [J]. *Cytokine*, 2008, 44(1): 191-200
- [14] Wolff HA, Rolke D, Rave-Fränk M, et al. Analysis of chemokine and chemokine receptor expression in squamous cell carcinoma of the head and neck (SCCHN) cell lines[J]. *Radiat Environ Biophys*, 2011, 50(1): 145-154
- [15] He S, Wang L, Wu Y, et al. CCL3 and CCL20-recruited dendritic cells modified by melanoma antigen gene-1 induce anti-tumor immunity against gastric cancer ex vivo and in vivo [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29: 37
- [16] Xu J, Futakuchi M, Iigo M, et al. Involvement of macrophage inflammatory protein 1alpha (MIP1alpha) in promotion of rat lung and mammary carcinogenic activity of nanoscale titanium dioxide particles administered by intra-pulmonary spraying[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(5): 927-935
- [17] Lv M, Xiaoping X, Cai H, et al. Cytokines as prognostic tool in breast carcinoma[J]. *Front Biosci*, 2011, 16: 2515-2526
- [18] Melinceanu L, Lerescu L, Tucureanu C, et al. Serum perioperative profile of cytokines in patients with squamous cell carcinoma of the larynx[J]. *J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2011, 40(2): 143-150
- [19] Schraml P, Moch H, Knuth A, et al. Tumor-associated macrophages subvert T-cell function and correlate with reduced survival in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(3): e23562
- [20] Ajili F, Kourda N, Darouiche A, et al. Prognostic value of tumor-associated macrophages count in human non-muscle-invasive bladder cancer treated by BCG immunotherapy[J]. *Ultrastruct Pathol*, 2013, 37(1): 56-61
- [21] Fujimoto H, Sangai T, Ishii G, et al. Stromal MCP-1 in mammary tumors induces tumor-associated macrophage infiltration and contributes to tumor progression[J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(6): 1276-1284
- [22] Nakasone Y, Fujimoto M, Matsushita T, et al. Host-derived MCP-1 and MIP-1 α regulate protective anti-tumor immunity to localized and metastatic B16 melanoma[J]. *Am J Pathol*, 2012, 180(1): 365-374
- [23] Fang KM, Wang YL, Huang MC, et al. Expression of macrophage inflammatory protein-1 α and monocyte chemoattractant protein-1 in glioma-infiltrating microglia: involvement of ATP and P2X₂ receptor [J]. *J Neurosci Res*, 2011, 89(2): 199-211
- [24] Fujimoto H, Sangai T, Ishii G, et al. Stromal MCP-1 in mammary tumors induces tumor-associated macrophage infiltration and contributes to tumor progression[J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(6): 1276-1284