

- (12): 1997-2003.
- [4] Kobayashi T, Ayusawa M, Suzuki H, et al. Revision of diagnostic guidelines for Kawasaki disease (6th revised edition) [J]. *Pediatr Int*, 2020, 62 (10): 1135-1138.
- [5] 卢晓颖. 川崎病生物学标志物研究进展 [J]. *国际儿科学杂志*, 2020, 47: 14-17.
- [6] Yanagisawa D, Ayusawa M, Kato M, et al. Factors affecting N-terminal pro-brain natriuretic peptide elevation in the acute phase of Kawasaki disease [J]. *Pediatr Int*, 2016, 58 (11): 1105-1111.
- [7] Hu P, Jiang GM, Wu Y, et al. TNF- $\alpha$  is superior to conventional inflammatory mediators in forecasting IVIG nonresponse and coronary arteritis in Chinese children with Kawasaki disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 471: 76-80.
- [8] 武万良, 蒋宁, 史延, 等. N 端脑利钠肽前体在川崎病急性期的变化及临床价值 [J]. *中国小儿急救医学*, 2016, 23: 561-564.
- [9] 李胜, 陈营, 冯爱民. NT-proBNP 及其在川崎病中的临床意义研究进展 [J]. *国际儿科学杂志*, 2019, 46: 499-502.
- [10] Rodriguez-Gonzalez M, Perez-Reviriego A A, Castellano-Martinez A, et al. N-terminal probrain natriuretic peptide as biomarker for diagnosis of Kawasaki disease [J]. *Biomark Med*, 2019, 13 (4): 307-323.
- [11] Lin K H, Chang S S, Yu C W, et al. Usefulness of natriuretic peptide for the diagnosis of Kawasaki disease: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMJ Open*, 2015, 5 (4): e6703.
- [12] 黎赛, 周舟, 胡彬, 等. 0~18 岁健康人群的血清 N 末端脑钠肽前体参考值范围研究 [J]. *医学临床研究*, 2015, 32 (4): 665-667.

## • 临床研究 •

# 原发性肝细胞性肝癌患者术后癌旁组织 CXCR4 表达的影响因素与术后生存时间

福建省福州市第二医院感控科 (福州 350007) 吴梅梅 王靖雯 魏丽丽 黄富妹 黄 警 郑益武 朱 琪<sup>1</sup>

**【摘 要】 目的** 探究原发性肝细胞性肝癌患者术后癌旁组织中 CXCR4 表达情况的影响因素与术后生存时间。**方法** 收集 34 例原发性肝细胞性肝癌手术病例的一般情况及临床特征并进行定期随访。使用免疫组织化学法检测原发性肝细胞性肝癌患者的癌组织及癌旁组织中 CXCR4 的表达情况。比较癌旁组织 CXCR4 不同表达时的一般情况及临床指征; 利用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, Log-rank 检验进行不同癌旁组织 CXCR4 表达的术后生存率的比较。**结果** 随访截至 2022 年 6 月, 19 例癌旁组织 CXCR4 阳性表达患者中死亡 8 例, 17 例癌旁组织 CXCR4 阴性表达患者中死亡 1 例。有 HBsAg 携带、Child 分级 B 级以及有饮酒史的肝癌患者, 术后癌旁组织中 CXCR4 的阳性表达率较高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。癌旁组织 CXCR4 阳性患者术后生存率低于阴性患者 (Log-rank  $\chi^2 = 5.89$ ,  $P = 0.015$ )。**结论** 术后癌旁组织 CXCR4 的表达情况对原发性肝细胞性肝癌术后患者的预后有影响。

**【关键词】** 原发性肝癌; 癌旁组织; CXCR4; 生存期

**【中图分类号】** R735.7 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2023)02-0008-04

**Study on the influencing factors of CXCR4 expression in paracancerous tissue and postoperative survival time in patients with primary hepatocellular carcinoma after surgery** WU Meimei, WANG Jingwen, WEI Lili, HUANG Fumei, HUANG Jing, ZHENG Yiwu, ZHU Qi. *Department of Infection Control, Fuzhou Municipal Second Hospital, Fuzhou, Fujian 350007, China*

**【Abstract】 Objective** To investigate the influencing factors of CXCR4 expression in paracancerous tissue and postoperative survival time in patients with primary hepatocellular carcinoma after surgery. **Methods** The general information and clinical characteristics of 34 cases of primary hepatocellular carcinoma were collected and followed up regularly. The expression of CXCR4 in cancer and paracancerous tissues of patients with primary hepatocellular carcinoma was detected by immunohistochemical method. The patients were divided into two groups according to different expression of CXCR4 in paracancerous tissues. Survival rates were calculated by using the Kaplan-Meier method and compared by using the Log-rank test. **Results** The follow-up ended in June 2022. Eight of the 19 patients with positive CXCR4 expression in paracancerous tissues died, and one of the 17 patients with CXCR4 negative expression in paracancerous tissues died. Patients with HBsAg carriage, Child grade B, and a his-

<sup>1</sup> 通信作者, Email: 86986281@qq.com

tory of alcohol consumption had higher positive expression of CXCR4 in postoperative paracancerous tissues, and all these differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The survival rate of patients with positive CXCR4 expression in paracancerous tissues was lower than that of patients with negative CXCR4 expression (Log-rank  $\chi^2 = 5.89$ ,  $P = 0.015$ ). **Conclusion** The expression of CXCR4 in paracancerous tissue has an impact on the prognosis of patients with primary hepatocellular carcinoma after surgery.

**【Key words】** primary hepatocellular carcinoma; paracancerous tissue; CXCR4; survival

肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球极为高发的高致死性消化系统异质性肿瘤, GLOBOCAN 最新的全球癌症数据显示原发性肝癌发病率排第 6 位、死亡率排第 2 位<sup>[1]</sup>, 可见肝癌发病率高、预后差。有众多的研究认为, 肿瘤的发生、发展、侵袭和转移与肿瘤局部微环境的生物学特性密切相关<sup>[2-3]</sup>。肿瘤微环境中的趋化因子是细胞因子中的一类, 由具有趋化功能的细胞因子家族构成, 通过直接和间接作用与多种癌症的发生与发展相关, 其中 CXCR2/CXCL1-3、CXCL5-8 及 CXCR4/CXCL12 轴为促肿瘤型趋化因子<sup>[4]</sup>。近年来, 通过机体免疫功能的调节、改变肿瘤微环境以干预肿瘤进展的免疫疗法已成为一种极具潜力的肝癌临床治疗方法<sup>[5-6]</sup>。为进一步了解肝癌微环境中趋化因子受体的表达及其对生存时间的影响, 本实验收集了 HCC 手术患者的癌组织、癌旁组织标本及相关临床资料, 探讨 HCC 患者术后癌旁组织中 CXCR4 表达的影响因素以及与患者预后的关联。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料:** 收集 2016 年 11 月至 2017 年 11 月 34 例某病理实验室及福州市第二医院原发性肝细胞性肝癌手术患者的临床资料。纳入标准: 1) 接受 HCC 根治性手术治疗; 2) 均经过手术病理确诊患有 HCC; 3) 术前均未接受放疗或者化疗等辅助治疗; 4) 术前 2 个月内无抗生素使用记录; 5) 手术可获得癌组织及癌旁组织; 6) 肿瘤分期明确; 7) 淋巴结清扫个数  $\geq 20$  个; 8) 无其他感染性疾病。排除标准: 1) 临床病理资料或组织标本不完整者; 2) 继发性肝肿瘤和 HCC 复发病例; 3) 其他组织学类型的原发性肝恶性肿瘤; 4) 术前血细胞计数提示感染; 5) 具有使用质子泵抑制剂 (PPI) 的历史; 6) 存在严重心脑血管器质性病变和精神病史。

**1.2 组织标本收集与处理:** 采用相同的方式进行组织取样, 每个研究对象至少获取 3 个组织样本。手术医生使用手术室无菌剪刀分别剪取每位 HCC 患者的癌组织和癌旁组织 (距离癌组织边界  $> 3$  cm), 剪取不同组织时更换剪刀、手术钳、镊子,

防止交叉污染。观察组织的大小、形状、深度、范围、色泽和质地等, 剔除表面腐败、糜烂的组织, 将组织剪成小块后分别放入高压灭菌的冻存管中, 于 1 h 之内置于液氮中储存, 之后转入  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱储存备用。所有器具耗材均经过高压灭菌消毒。所有癌组织和癌旁组织标本随后均经过病理学苏木素-伊红染色 (hematoxylin-eosin staining, HE) 检查, 前者确诊为 HCC, 后者未检测到肿瘤细胞的存在。

**1.3 随访方法:** 采用电话随访方式, 从 2016 年 11 月随访至 2022 年 6 月 25 日。第 1 年内每 3 个月随访一次, 第 2 年起每半年随访一次。以患者在医院的确诊时间为随访起始时间, 生存时间以月计算, 失访或随访截止时仍存活者视为删失, 作截尾处理。

**1.4 实验方法:** 标本经 10% 中性福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 切片厚度  $5\ \mu\text{m}$ 。免疫组化 Envision 法染色。阴性对照用 PBS 替代一抗。用免疫组织化学法检测原发性肝细胞性肝癌的癌组织及癌旁组织中 CXCR4 的表达情况, CXCR4 可表达于胞质和胞膜, 但以胞质为主。对免疫组化 CXCR4 受体阳性表达情况的结果判定评分标准按 Shimizu 方法, 细胞基本不着色为 1 分, 中等着色为 2 分, 强着色为 3 分。着色细胞占计数细胞百分率为 0 者, 记 0 分,  $< 10\%$  为 1 分,  $10\% \sim 50\%$  为 2 分,  $> 50\%$  为 3 分。将每张切片着色程度得分与着色细胞百分率得分各自相乘, 即得阳性系数。阳性系数 0 分者为阴性 (-), 1~2 分为弱阳性 (+), 3~4 分为阳性 (++) , 大于 4 分为强阳性 (+++)。

**1.5 统计学分析:** 应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计数资料以例数及构成比表示, 采用  $\chi^2$  检验分析患者癌组织与癌旁组织中 CXCR4 表达、一般情况及临床特征的差异; 使用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 不同组别间生存率的差异使用 Log-Rank 进行检验。所有  $P$  值均为双侧概率检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 CXCR4 在癌组织及癌旁组织中的表达:** 本研究结果显示, 癌组织中 CXCR4 阳性表达率高达

79.41% (阳性表达 27 例, 阴性表达 7 例), 而癌旁组织阳性表达率为 55.88% (阳性表达 19 例, 阴性表达 15 例), 癌组织与癌旁组织中 CXCR4 的表达差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 4.08$ ,  $P = 0.039$ ), 癌组织中 CXCR4 的阳性表达率高于癌旁组织。

**2.2 不同癌旁组织 CXCR4 表达患者的一般情况及临床特征:** 本研究结果显示, 有 HBsAg 携带的患者、Child 分级 B 级以及有饮酒史的肝癌患者, 术后癌旁组织中 CXCR4 的阳性表达率较高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 而其他的一般情况及临床特征, 如年龄、性别、肝硬化、肿瘤个数、包膜完整性、家族史、甲胎蛋白及肿瘤大小在不同癌旁组织 CXCR4 表达分组中的分布差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 1。

表 1 不同癌旁组织 CXCR4 表达的一般情况及临床指征比较

变量	癌旁 CXCR4 表达 (例)		$\chi^2$ 值	P 值
	阳性	阴性		
年龄				
≤40 岁	4	2	0.02	0.894
>40 岁	15	13		
性别				
男	18	11	1.59	0.207
女	1	4		
HBsAg				
阳性	17	7	5.48	0.019
阴性	2	8		
肝硬化				
有	15	8	1.48	0.224
无	4	7		
Child 分级				
A 级	6	13	4.14	0.042
B 级	10	5		
肿瘤个数				
1 个	14	12	0.001	0.981
≥2 个	5	3		
包膜完整性				
是	4	2	0.02	0.894
否	15	13		
家族史				
有	11	8	0.07	0.790
无	8	7		
饮酒史				
有	12	4	4.48	0.034
无	7	11		
甲胎蛋白				
≤400 μg/L	13	10	<0.01	1.000
>400 μg/L	6	5		
肿瘤大小				
≤3 cm	8	10	2.31	0.315
3~5 cm	8	3		
>5 cm	3	2		

**2.3 不同癌旁组织 CXCR4 表达的术后生存率比较:** 随访截至 2022 年 6 月, 19 例癌旁组织 CXCR4 阳性表达患者中死亡 8 例, 15 例阴性表达患者中死亡 1 例, 随访病例平均生存时间为 44.24 个月, 两组生存率的差异具有统计学意义 (Log-rank  $\chi^2 = 5.89$ ,  $P = 0.015$ ), 见图 1。

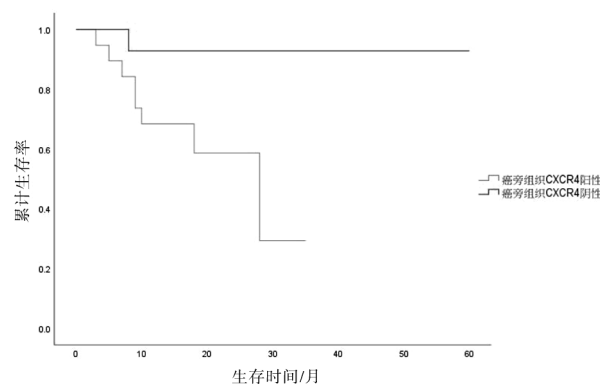


图 1 癌旁组织 CXCR4 表达对肝癌患者生存时间影响的生存曲线分析

### 3 讨论

众所周知, 肝癌是恶性肿瘤中预后较差的一类肿瘤, 治疗手段有限, 预后较差; 大量研究表明原发性肝癌预后不良的主要原因在于肝癌细胞的侵袭和转移能力<sup>[7]</sup>。血管生成在肿瘤的侵袭和转移中起着至关重要的作用。目前趋化因子及其受体, 例如 CXCR4/CXCL12 轴被认为是调节血管生成的重要因素, 对肝癌的生长和发展至关重要<sup>[8]</sup>。本研究也表明, 癌组织中 CXCR4 的表达远高于癌旁组织, 这与孙牧男等<sup>[9]</sup>的研究结果相一致; 也有研究表明, 癌组织中 CXCR4 在很多其他的实体瘤及白血病发病中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染是引发 HCC 的主要危险因素, 在我国 HCC 病例中占 80% 以上, 在全球亦占 HCC 病例的一半以上<sup>[11]</sup>。本研究统计发现: 34 例肝癌患者中 HBsAg 阳性患者占 70.59%, 并且 HBsAg 阳性与阴性肝癌患者术后癌旁组织中 CXCR4 的表达差异有统计学意义。此外, 本研究表明, 有无饮酒史的癌旁组织中 CXCR4 表达差异有统计学意义。众多的研究也表明, 饮酒史也是恶性肿瘤生长的独立危险因素<sup>[12-13]</sup>。除了 HBV、饮酒史, 在我们的研究中不同肝硬化 Child 分级的肝癌患者的预后差异有统计学意义, Child 分级是肝功能储备功能的一项指标, 代表着肝脏合成、代谢、解毒等功能的情况, 也有研究表明术前 Child

分级是影响原发性肝癌同种异体肝移植患者预后的危险因素<sup>[14]</sup>。

多项研究表明 CXCR4 与恶性肿瘤相关<sup>[15-16]</sup>，但尚未有研究探究肝癌患者手术标本不同癌旁组织 CXCR4 的术后生存时间。在我们的研究中随访发现，癌旁组织 CXCR4 表达阳性的患者截止 2022 年 6 月 19 例患者中死亡 8 例，生存率为 57.89%，而癌旁组织 CXCR4 阴性表达患者中死亡 1 例，剩余生存 93.33%，两组生存率差异有统计学意义，表明癌旁组织中 CXCR4 的表达与肝癌患者预后密切相关。这在对 CXCR4 与乳腺癌、胶质瘤、淋巴瘤等的相关性研究中均有体现<sup>[17-19]</sup>。这也提示我们在术后的患者癌旁组织的检测中可以增加检测 CXCR4，以更好地判断患者的预后，采取更积极的诊治措施，以进一步延长患者的生存时间。

综上所述，本研究中近 80% 的肝癌手术患者的癌组织及一半以上的癌旁组织标本中 CXCR4 表达上调呈阳性。CXCR4 过表达不仅是肿瘤侵袭性的标志，也可能是肝癌患者预后不良的标志。对 CXCR4 的进一步研究有助于明确肝癌复发及远处转移的分子机制，为肝癌复发及延长患者生存期提供可能的新策略。

#### 参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 70 (4): 313.
- [2] 马莉, 杨文娟, 马青梅, 等. CXCL 家族作为肝癌微环境预后与治疗标志物的生物信息学分析 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2022, 43 (1): 29-42.
- [3] 张敏, 张红河, 来茂德. 肿瘤免疫编辑中肿瘤微环境的变化 [J]. 中华病理学杂志, 2021, 50 (9): 1098-1102.
- [4] Nagarsheth N, Wicha M S, Zou W. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy [J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17 (9): 559-572.
- [5] Bhoori S, Mazzaferro V. Combined immunotherapy and VEGF-antagonist in hepatocellular carcinoma: a step forward [J]. The Lancet Oncology, 2020, 21 (6): 740-741.
- [6] 徐鸣, 全培青, 王秋梅, 等. 血清 CXCL12 及其受体 CXCR4, CXCR7 水平对宫颈癌复发的预测价值 [J]. 检验医学与临床, 2022, 19 (8): 1065-1069.
- [7] Liu P, Ping L, Yu H, et al. CXCL12/CXCR4 axis induces proliferation and invasion in human endometrial cancer [J]. Am J Transl Res, 2016, 8 (4): 1719-1729.
- [8] Gao P T, Ding G Y, Yang X, et al. Invasive potential of hepatocellular carcinoma is enhanced by loss of selenium-binding protein 1 and subsequent upregulation of CXCR4 [J]. Am J Cancer Res, 2018, 8 (6): 1040-1049.
- [9] 孙牧男, 刘磊, 马寅芙, 等. CXCL12/CXCR4 在小细胞肺癌患者中的表达及临床意义 [J]. 中国实验诊断学, 2015, 19 (1): 50-53.
- [10] 王森, 落继先, Istvan Boldogh. CXCL12-CXCR4 在人类恶性肿瘤中的生物学功能 (英文) [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2022, 8 (5): 577-586.
- [11] 谢永丽, 汤华. YTHDF1 对 HBV 蛋白表达和 HBsAg 和 HBeAg 抗原分泌的作用 [J]. 天津医科大学学报, 2021, 27 (5): 461-466.
- [12] 孙冬雪, 杨柱, 龙奉玺, 等. 基于酒伤理论探讨肝癌癌前病变中医治疗 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22 (6): 56-60.
- [13] Byrne S, Boyle T, Ahmed M, et al. Lifestyle, genetic risk and incidence of cancer: a prospective cohort study of 13 cancer types [J]. Int J Epidemiol, 2023: dyac238.
- [14] 蒋建强. 术前 Child 分级、微血管侵犯与原发肝癌同种异体肝移植患者预后的相关性 [J]. 中国卫生工程学, 2020, 19 (5): 775-776.
- [15] Chatterjee S, Azad B B, Nimmagadda S. The intricate role of CXCR4 in cancer [J]. Adv Cancer Res, 2014, 124: 31-82.
- [16] Alsayed R K M E, Khan A Q, Ahmad F, et al. Epigenetic regulation of CXCR4 signaling in cancer pathogenesis and progression [J]. Semin Cancer Biol, 2022, 86 (Pt 2): 697-708.
- [17] 唐超莉. CXCR4 表达与三阴性乳腺癌的相关性研究 [J]. 中国当代医药, 2020, 27 (19): 118-121.
- [18] Moreno M J, Bosch R, Dieguez-Gonzalez R, 等. CXCR4 表达可增强弥漫大 B 细胞淋巴瘤的播散能力并降低患者生存期 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2015, 31 (10): 1122.
- [19] 唐文龙. CXCL12/CXCR4 在胶质瘤中的表达情况及其与复发、瘤周水肿的关系 [D]. 福州: 福建医科大学, 2016.