

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.010

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.010>

CX3CL1 与 CX3CR1 在乳腺非特殊类型浸润性癌中的表达及其临床意义

孟媛, 许斌

(抚顺市中心医院病理科, 辽宁 抚顺 113006)

[摘要] 目的: 研究乳腺非特殊类型浸润性癌中趋化因子CX3CL1及其受体CX3CR1的表达, 分析CX3CL1和CX3CR1表达与乳腺非特殊类型浸润性癌的临床病理学特征、分子亚型、激素受体的关系。方法: 80例乳腺非特殊类型浸润性癌中, 应用免疫组织化学法观察CX3CL1, CX3CR1的表达情况, 然后进一步探讨乳腺非特殊类型浸润性癌中CX3CL1与CX3CR1单一表达或共同表达时, 与临床病理因素的关联。结果: 乳腺非特殊类型浸润性癌中CX3CL1和CX3CR1阳性表达率均与肿瘤临床分期相关($P < 0.05$); 乳腺非特殊类型浸润性癌中CX3CL1与CX3CR1共同表达时, 阳性率与肿瘤临床分期、淋巴结转移、非Luminal A分子分型以及患者较差的5年生存率相关($P < 0.05$)。结论: CX3CL1与CX3CR1在乳腺非特殊类型浸润性癌中同时阳性表达与患者较高肿瘤临床分期、淋巴结转移及较差的5年生存率相关。在乳腺非特殊类型浸润性癌中同时检测CX3CL1与CX3CR1表达, 比单独检测CX3CL1或CX3CR1分子标志更具有临床意义。

[关键词] 乳腺非特殊类型浸润性癌; CX3CL1; CX3CR1; 临床病理特征

Expression and clinical significance of CX3CL1 and CX3CR1 in non-specific invasive breast carcinoma

MENG Yuan, XU Bin

(Department of Pathology, Fushun Central Hospital, Fushun Liaoning 113006, China)

Abstract **Objective:** To discuss the expression of the chemokine CX3CL1 and its receptor CX3CR1 in non-specific invasive breast carcinoma, and to analyze the relationship between the expression of CX3CL1 and CX3CR1, and the clinicopathological characteristics, molecular subtypes and hormone receptors of non-specific invasive breast cancer. **Methods:** The expression of CX3CL1 and its receptor CX3CR1 were investigated in 80 invasive ductal breast cancer by immunohistochemistry. The relation of CX3CL1 and its receptor CX3CR1 expression or co-expression and clinicopathological characteristics, molecular subtype, biomarker was analyzed. **Results:** CX3CL1 and CX3CR1 positive expression are both correlated with tumor clinical stage ($P < 0.05$). The results of immunohistochemistry demonstrated CX3CL1 and CX3CR1 co-expression

收稿日期 (Date of reception): 2018-10-29

通信作者 (Corresponding author): 许斌, Email: 646922136@qq.com

is correlated tumor clinical stage with lymphatic metastasis in non-specific invasive breast carcinoma ($P<0.05$). CX3CL1 and CX3CR1 co-expression is linked to poor outcome in breast cancer patients. **Conclusion:** Co-expression of CX3CL1 and CX3CR1 could be correlated with poor outcome in non-specific invasive breast carcinoma.

Keywords non-specific invasive breast carcinoma; CX3CL1; CX3CR1; clinicopathological characteristics

趋化因子CX3CL1是CX3C家族的唯一成员, 具有膜结合型与分泌型2种类型。CX3CR1是CX3CL1的受体, CX3CR1属于跨膜G蛋白偶联受体超家族, 具有7次跨膜结构。研究^[1]显示CX3CL1在乳腺癌细胞系中表达, 并且可能与脊柱骨转移相关。虽然在结直肠癌^[2]、胰腺癌^[3]等多种恶性肿瘤均有CX3CR1表达, 但乳腺癌组织标本中CX3CR1是否表达还没有相关研究。本文拟探讨CX3CR1是否在乳腺非特殊类型浸润性癌中表达, CX3CL1与CX3CR1同时表达是否与乳腺非特殊类型浸润性癌的临床病理参数相关, 以及二者共表达是否与患者5年生存率有关。

1 材料与方法

1.1 标本

本研究经抚顺市中心医院医学伦理委员会审核, 选用2010年1月至2012年12月抚顺市中心医院病理科女性乳腺非特殊类型浸润性癌及癌旁正常乳腺组织石蜡标本各80例, 患者资料齐全, 患者随访时间均超过5年。标本经过10%中性甲醛固定、石蜡包埋、HE染色, 依据乳腺2012版WHO分类标准^[4], 对80例乳腺癌进行组织学分级及临床分期, 组织学分级: 其中I级12例, II级48例, III级20例, 临床分期: I+II期71例, III期9例。雌激素受体(ER)和孕激素受体(PR)的阳性率, ER和PR的中等或强阳性率达到1%即为阳性。HER2的免疫组织化学评分范围为0~3, 3分为阳性。乳腺浸润性导管癌的分子亚型中Luminal A亚型39例, Luminal B亚型26例, HER2-OE亚型4例, TNBC亚型11例。

1.2 试剂

鼠抗人CX3CL1单克隆抗体购自美国Santa Cruz公司; 兔抗人CX3CR1单克隆抗体购自美国Abcam公司; 免疫组织化学用SP超敏试剂盒和DAB试剂盒购自北京中杉金桥公司。

1.3 方法

采用免疫组织化学SP法检测CX3CL1和CX3CR1: CX3CL1阳性表达于细胞质, CX3CR1阳性表达于细胞质, 阳性物质为棕黄色。按SP法试剂盒说明书步骤进行CX3CL1和CX3CR1抗体免疫组织化学染色。阳性判定: 以棕黄色颗粒染色为阳性反应。在乳腺非特殊类型浸润性癌与乳腺正常组织中对CX3CL1与CX3CR1的表达进行定量分析, 根据染色的广度和强度评分, 广度为肿瘤细胞阳性百分率, 分为4级: 阴性为0分, 阳性细胞数占总细胞数<30%为1分, 阳性细胞数占总细胞数30%~60%为2分, 阳性细胞数占总细胞数>60%为3分。细胞染色强度也分为4级: 0分阴性, 1分呈浅黄色, 2分呈黄色, 3分呈棕黄色。肿瘤细胞阳性评分×染色强度评分, 得出综合评分>3为阳性即为高表达。

1.4 统计学处理

应用SPSS 19.0统计学软件, 应用Pearson χ^2 检验分析乳腺非特殊类型浸润性癌与乳腺正常组织中CX3CL1和CX3CR1阳性表达, 乳腺非特殊类型浸润性癌中CX3CL1和CX3CR1阳性表达与临床病理因素关系; 累积生存率的计算采用Kaplan-Meier方法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺非特殊类型浸润性癌组织中CX3CL1和CX3CR1的表达

CX3CL1与CX3CR1均阳性表达于细胞质, CX3CL1在乳腺非特殊类型浸润性癌阳性率为33.75%(图1), 在癌旁正常乳腺组织中阳性率为8.80%, CX3CL1在乳腺非特殊类型浸润性癌阳性率明显高于CX3CL1在癌旁正常乳腺组织中阳性表达率($P<0.05$); CX3CR1在乳腺非特殊类型浸润性癌阳性率为37.5%(图1), 在癌旁正常乳腺组织中阳性率为12.5%, CX3CR1在乳腺非特殊类型浸润性癌阳性率明显高于CX3CR1在癌旁

正常乳腺组织中阳性表达率($P < 0.05$, 表1)。

2.2 乳腺非特殊类型浸润性癌中 CX3CL1 的阳性表达与临床病理因素、激素受体之间的关系

CX3CL1 阳性表达率与乳腺非特殊类型浸润性癌临床分期相关($P = 0.008$, 表2); CX3CL1 阳性表达率与组织学分级, 淋巴结转移, ER, PgR, HER2 无关。

2.3 乳腺非特殊类型浸润性癌中 CX3CR1 的阳性表达与临床病理因素、激素受体之间的关系

在80例乳腺非特殊类型浸润性癌中, CX3CR1 阳性表达率与乳腺非特殊类型浸润性癌临床分期相关($P = 0.012$, 表2)。CX3CR1 阳性率与组织学分级, 淋巴结转移, ER, PgR, HER2 无关。

2.4 乳腺非特殊类型浸润性癌中组织中 CX3CL1 与 CX3CR1 同时阳性表达与患者临床病理特征、激素受体、分子亚型之间的关系

Spearman 相关性分析显示: 在80例乳腺非特殊类型浸润性癌中, CX3CL1 和 CX3CR1 阳性表达率具有正相关性($r = 0.648$, $P < 0.001$; 表3)。CX3CL1 与 CX3CR1 同时阳性表达的有22例, 与乳腺非特殊类型浸润性癌临床分期和淋巴结转移、分子分型非 Luminal A 相关($P < 0.05$, 表4)。

2.5 乳腺非特殊类型浸润性癌中组织中 CX3CL1 和 CX3CR1 共同表达与患者 5 年生存率

Kaplan-Meier 法分析结果显示: CX3CL1 和 CX3CR1 共表达与乳腺非特殊类型浸润性癌较差的5年生存率相关(图2)。

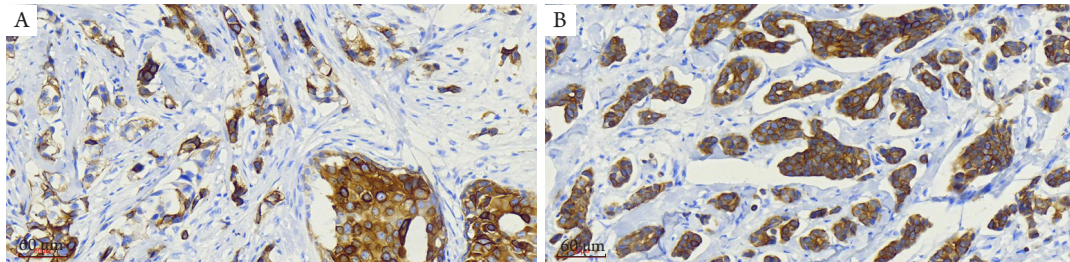


图1 CX3CL1和CX3CR1在乳腺非特殊类型浸润性癌中的表达(SP, $\times 200$)

Figure 1 Expression of CX3CL1 and CX3CR1 in non-specific invasive breast carcinoma (SP, $\times 200$)

(A) CX3CL1 在乳腺非特殊类型浸润性癌的表达; (B) CX3CR1 在乳腺非特殊类型浸润性癌的表达。

(A) Expression of CX3CL1 in non-specific invasive breast carcinoma; (B) Expression of CX3CR1 in non-specific invasive breast carcinoma.

表1 160例乳腺组织中CX3CL1和CX3CR1表达

Table 1 Expression of CX3CL1 and CX3CR1 in the 160 cases of breast tissue

病理类型	CX3CL1			CX3CR1		
	阳性例数	阳性率/%	<i>P</i>	阳性例数	阳性率/%	<i>P</i>
正常乳腺组织	7	8.8		10	12.5	
乳腺非特殊类型 浸润性癌	27	33.75	0.001	30	37.5	0.001

表2 80例乳腺非特殊类型浸润性癌中CX3CL1和CX3CR1表达与临床病理、激素受体的关系

Table 2 Relationship between CX3CL1 and CX3CR1 expression and clinical factors, biomarker in non-specific invasive breast carcinoma

临床病理参数	n	CX3CL1				CX3CR1			
		阳性例数	阳性率/%	χ^2	P	阳性例数	阳性率/%	χ^2	P
组织学分级									
I	12	3	25.0	0.349	0.555	3	25.0	0.349	0.555
II	48	19	39.6	0.126	0.723	20	41.7	0.262	0.786
III	20	5	25.0			7	35.0		
肿瘤临床分期									
I+II	71	22	37.5			23	32.4		
III+IV	9	5	73.7	7.544	0.008	7	77.8	7.019	0.012
淋巴结转移									
-	48	14	29.2			17	35.4		
+	32	13	40.6	1.127	0.288	13	40.6	0.222	0.663
ER									
-	15	7				9	42.9		
+	65	20	33.9	0.002	0.962	21	35.6	0.349	0.555
PgR									
-	23	8	34.8			8	34.8		
+	57	19	33.3	0.015	0.901	22	28.6	0.102	0.750
HER2									
-	47	12	25.5			14	29.8		
+	33	15	45.5	3.442	0.064	16	48.5	2.892	0.089

表3 80例乳腺非特殊类型浸润性癌中CX3CL1与CX3CR1的关系

Table 3 Relationships between the expression of CX3CL1 and CX3CR1 in 80 non-specific invasive breast carcinoma

CX3CL1	n	CX3CR1		r	P
		-	+		
-	53	45	8	0.648	<0.001
+	27	5	22		

表4 乳腺非特殊类型浸润性癌中CX3CL1与CX3CR1共表达及其与临床病理因素、分子亚型的相关性

Table 4 Relationship between CX3CL1 and CX3CR1 expression and clinical factors, molecular subtype in non-specific invasive breast carcinoma

临床病理参数	n	CX3CL1+CX3CR1			
		阳性例数	阳性率/%	χ^2	P
肿瘤临床分期				7.803	0.011
I+II	71	16	22.5		
III	9	6	66.7		
淋巴结转移				10.042	0.002
-	48	7	14.6		
+	32	15	46.9		
Luminal A				5.602	0.016
-	41	16	39.0		
+	39	6	15.4		
Luminal B				2.321	0.128
-	54	12	22.2		
+	26	10	38.5		
HER2-过表达型				0.004	1.00
-	73	20	27.4		
+	7	2	28.6		
基底细胞型				0.446	0.677
-	72	19	26.4		
+	8	3	37.5		

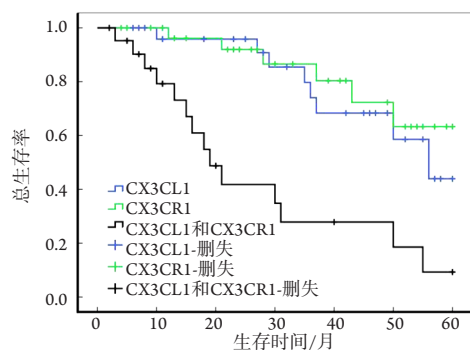


图2 Kaplan-Meier分析单独表达CX3CL1, CX3CR1及同时表达CX3CL1和CX3CR1患者5年生存曲线

Figure 2 Five-year survival curves of patients with CX3CL1, CX3CR1 expression alone and CX3CL1 and CX3CR1 expression simultaneously by Kaplan-Meier analysis

3 讨论

小分子分泌性蛋白超家族中的趋化因子, 根据氨基末端高度保守的2个半胱氨酸的特征分为C, CC, CXC, 和CX3C四大类。CX3CL1(也称为Fractalkine)是趋化因子CX3C族的唯一成员^[5], CX3CL1蛋白分子量是95 kD, 具有膜结合型与分泌型2种类型。分泌型CX3CL1则具有趋化表达CX3CR1细胞的功能, 分泌型的CX3CL1具有典型的趋化因子能力, CX3CL1能够趋化T细胞、NK细胞和单核细胞的移动^[6]。CX3CL1具有黏附和趋化白细胞游走的独特的分子结构, 使肿瘤微环境中白细胞数量增加, 增强宿主的抗肿瘤免疫的能力, 因此CX3CL1抗肿瘤的能力是通过CX3CL1增

强机体对肿瘤细胞的免疫能力实现的。但CX3CL1也能促进肿瘤细胞的黏附和迁移,因此CX3CL1也同样具有促进肿瘤细胞生长的能力^[7],例如肺的小细胞癌中有CX3CL1的相关表达,CX3CL1高表达时与肿瘤组织学分级及淋巴结转移呈正相关^[8]。所以在一些肿瘤中,CX3CL1与肿瘤的转移及局部复发有密切关系^[9]。

CX3CL1的受体是CX3CR1,CX3CR1属于跨膜G蛋白偶联受体超家族,具有7次跨膜结构^[10],在NK细胞、CD8T细胞、单核细胞和树突状细胞上均有CX3CR1的表达。CX3CR1可在前列腺癌、肾癌、胃癌等多种恶性肿瘤中表达。CX3CL1和CX3CR1结合可以介导细胞黏附,引发胞内的钙离子流动,两者共同表达。其在炎症及神经细胞中的相关研究较多^[6],在结肠癌^[2]、前列腺癌^[11]中也有CX3CL1和CX3CR1同时表达的报道。对胰腺导管腺癌的研究结果显示CX3CL1和CX3CR1共表达与胰腺导管腺癌患者较差的预后相关^[3,12]。

研究^[13-15]显示:乳腺癌中高表达CX3CL1与患者较差的5年生存率相关,CX3CL1在乳腺癌中高表达会促进肿瘤的生长,与乳腺癌骨转移相关。然而在乳腺癌中,CX3CL1高表达会增强CD8阳性的T细胞及NK-T细胞高表达,增强机体对肿瘤细胞的杀伤能力,与乳腺癌的较好预后相关^[16]。上述研究说明CX3CL1在乳腺癌中的表达与患者预后紧密联系。

CX3CL1与乳腺癌的关系已经有相关研究^[13]。但CX3CR1是否在乳腺非特殊类型浸润性癌中表达;CX3CL1和CX3CR1是否可以共表达;如果可以共表达CX3CL1和CX3CR1,是否与乳腺非特殊类型浸润性癌患者的淋巴结转移、患者5年存活率及治疗相关等还没有相关研究。

在本研究中,CX3CL1在乳腺非特殊类型浸润性癌中的阳性表达率明显高于癌旁正常乳腺组织中CX3CL1的阳性表达率。同时CX3CR1在乳腺非特殊类型浸润性癌中阳性表达率也明显高于正常的癌旁正常乳腺组织;CX3CL1在乳腺非特殊类型浸润性癌中的阳性表达率与乳腺癌的组织学分级相关;同时,CX3CR1也与乳腺癌的组织学分级相关。那么在乳腺非特殊类型浸润性癌中,同时表达CX3CL1与CX3CR1是否与乳腺临床病理参数相关,是否与乳腺癌较差的5年生存率相关。本研究结果表明:在乳腺非特殊类型浸润性癌中同时表达CX3CL1和CX3CR1,不仅与患者较差的临床分期相关、还与患者的淋巴结转移、与患者非Luminal A分型、较差的5年生存率相关。

既往研究^[1,17-18]显示:CX3CL1和CX3CR1相结合后,可以活化Src/FAK,AKT/NF- κ B,Wnt/ β -catenin等多条信号转导通路。因此推测乳腺非特殊类型浸润性癌中,在肿瘤侵袭、转移复杂过程中,单独表达CX3CL1或CX3CR1不能启动更多的信号通路,但CX3CL1和CX3CR1同时表达后,可以活化启动更多条信号通路。提示在乳腺浸润性导管癌中,CX3CL1和CX3CR1共表达后,可能启动了更多的信号通路,增强肿瘤侵袭及转移能力。因此考虑同时表达CX3CL1与CX3CR1,可以预测乳腺非特殊类型浸润性癌的转移以及较差的预后。另外,CX3CL1和CX3CR1同时表达也与乳腺非特殊类型浸润性癌的非Luminal A分子分型相关,表明CX3CL1和CX3CR1同时表达,与乳腺非特殊类型浸润性癌临床治疗也有相关关系。

本研究仍存在一些局限性,本研究只选用80例乳腺非特殊类型浸润性癌石蜡标本,病例数相对较少;另外没有在细胞系中做相关检测。本研究结果显示:在乳腺非特殊类型浸润性癌组织学标本中CX3CL1与CX3CR1阳性表达率高于癌旁正常乳腺组织;在乳腺浸润性癌中同时表达CX3CL1与CX3CR1与乳腺癌较差预后相关,与非Luminal A分子分型相关。因此,在乳腺非特殊类型浸润性癌患者中同时检测CX3CL1与CX3CR1能帮助预测患者的预后和指导相关的治疗。

参考文献

1. Liang Y, Yi L, Liu P, et al. CX3CL1 involves in breast cancer metastasizing to the spine via the Src/FAK signaling pathway[J]. *J Cancer*, 2018, 9(19): 3603-3612.
2. Ohta M, Tanaka F, Yamaguchi H, et al. The high expression of Fractalkine results in a better prognosis for colorectal cancer patients[J]. *Int J Oncol*, 2005, 26(1): 41-47.
3. Huang L, Ma B, Ma J, et al. Fractalkine/CX3CR1 axis modulated the development of pancreatic ductal adenocarcinoma via JAK/STAT signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(4): 1510-1517.
4. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, et al. WHO classification of tumours of the breast[M]. Lyon: LARC Press, 2012.
5. Corcione A, Ferretti E, Pistoia V. CX3CL1/fractalkine is a novel regulator of normal and malignant human B cell function[J]. *Leukoc Biol*, 2012, 92(1): 51-58.
6. Fraticelli P, Sironi M, Bianchi G, et al. Fractalkine (CX3CL1) as an amplification circuit of polarized 1 responses[J]. *J Clin Invest*, 2001,

- 107(9): 1173-1181.
7. Nevo I, Sagi-Assif O, Meshel T, et al. The involvement of the fractalkine receptor in the transmigration of neuroblastoma cells through bone marrow endothelial cells[J]. *Cancer Lett*, 2009, 273(1): 127-139.
 8. Su YC, Chang H, Sun SJ, et al. Differential impact of CX3CL1 on lung cancer prognosis in smokers and non-smokers[J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(5): 629-639.
 9. Andre F, Cabioglu N, Assi H, et al. Expression of chemokine receptors predicts the site of metastatic relapse in patients with axillary node positive primary breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2006, 17(6): 945-951.
 10. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors[J]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18: 217-242.
 11. Shulby SA, Dolloff NG, Stearns ME, et al. CX3CR1-fractalkine expression regulates cellular mechanisms involved in adhesion, migration, and survival of human prostate cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(14): 4693-4698.
 12. Liu W, Bian C, Liang Y, et al. CX3CL1: a potential chemokine widely involved in the process spinal metastases[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 15213-15219.
 13. Tsang JY, Ni YB, Chan SK, et al. CX3CL1 expression is associated with poor outcome in breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 140(3): 495-504.
 14. Tardáguila M, Mira E, García-Cabezas MA, et al. CX3CL1 promotes breast cancer via transactivation of the EGF pathway[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(14): 4461-4473.
 15. Jamieson-Gladney WL, Zhang Y, Fong AM, et al. The chemokine receptor CX3CR1 is directly involved in the arrest of breast cancer cells to the skeleton[J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(5): R91.
 16. Park MH, Lee JS, Yoon JH. High expression of CX3CL1 by tumor cells correlates with a good prognosis and increased tumor-infiltrating CD8⁺ T cells, natural killer cells, and dendritic cells in breast carcinoma[J]. *J Surg Oncol*, 2012, 106(4): 386-392.
 17. Sun Y, Wang F, Sun X, et al. CX3CR1 regulates osteoarthritis chondrocyte proliferation and apoptosis via Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96(12): 1317-1323.
 18. Wang H, Cai J, Du S, et al. Fractalkine/CX3CR1 induces apoptosis resistance and proliferation through the activation of the AKT/NF- κ B cascade in pancreatic cancer cells[J]. *Cell Biochem Funct*, 2017, 35(6): 315-326.

本文引用: 孟媛, 许斌. CX3CL1与CX3CR1在乳腺非特殊类型浸润性癌中的表达及其临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(4): 752-758. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.010

Cite this article as: MENG Yuan, XU Bin. Expression and clinical significance of CX3CL1 and CX3CR1 in non-specific invasive breast carcinoma[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(4): 752-758. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.010