

## *Study of Chemokine Marker CXCR4 in Colorectal Cancer in Northern Iran*

Anahita Nosrati<sup>1</sup>,  
Zhila Torabizadeh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Pathology, Gastrointestinal Cancer Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> Professor, Department of Pathology, Gut and Liver Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received March 28, 2015 ; Accepted February 13, 2016)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer in men and fourth in women. In Iran, its prevalence rate is currently growing. Many risk factors are believed to be associated with this disease, but in recent years, the role of chemokines especially CXCR4 is outstanding. This study aimed at investigating the relationship between clinicopathological characteristics of patients and the rate of recurrence, metastasis, and death due to CRC by assessing the CXCR4 expression.

**Materials and methods:** The expression of CXCR4 was studied by immunohistochemistry method (IHC) on 50 CRC paraffin blocks which were qualified for both tumor and adjacent normal colorectal mucosa (as control).

**Results:** Fifty paraffin blocks (from 25 male and 25 female, mean age:  $64.57 \pm 13.9$ ) were composed of 47 adenocarcinomas and 3 mucinous carcinomas. The CXCR4 expression was negative in 21 cases (42%), cytoplasmic in 18 (36%), nuclear in 9 (18%), and both nuclear and cytoplasmic in 2 cases (4%). A significant relationship was found between CXCR4 expression and recurrence of CRC. But no association was found between the marker expression and other clinicopathologic parameters.

**Conclusion:** During the study on the chemokine expression, a relationship was found between CXCR4 and CRC recurrence. Therefore, after assessing more specimens, this chemokine marker could be used as a predictor of tumor recurrence in the future.

**Keywords:** Colorectal neoplasms, Chemokine, CXCR4, recurrence

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 25(134): 60-68 (Persian).

# مطالعه مارکر کموکاینی CXCR4 در سرطان های کولورکتال در شمال ایران

آناهیتا نصرتی<sup>۱</sup>  
ژیلا ترابی زاده<sup>۲</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** سرطان کولورکتال سومین سرطان شایع در مردان و چهارمین در زنان می باشد. میزان شیوع آن در حال حاضر خصوصاً در ایران در حال افزایش است. ریسک فاکتورهای متعددی بیان شده است، ولی در سال های اخیر نقش کموکاین ها خصوصاً CXCR4 برجسته می باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین ویژگی های کلینیکوپاتولوژیک بیماران و نیز وضعیت عود، متاستاز و مرگ ناشی از سرطان مربوطه با بروز مارکر CXCR4 می باشد.

**مواد و روش ها:** بروز مارکر کموکاینی CXCR4 بر روی ۵۰ بلوک پارافینه در قسمت بافت تومورال و بافت سالم مجاور به عنوان شاهد از طریق روش ایمونوهیستوشیمی مورد مطالعه قرار گرفت.

**یافته ها:** ۵۰ نمونه سرطان کولورکتال (۲۵ مرد و ۲۵ زن) با میانگین سنی  $۱۳/۹ \pm ۶۴/۵۷$  سال شامل ۴۷ آدنوکارسینوما و ۳ موسینوس کارسینوما بود. بروز مارکر در ۲۱ مورد (۴۲ درصد) منفی، در ۱۸ مورد (۳۶ درصد) سیتوپلاسمیک، در ۹ مورد (۱۸ درصد) نوکلئار و در ۲ مورد (۴ درصد) سیتوپلاسمیک و نوکلئار بود. به طور مشخصی، ارتباط بروز CXCR4 با عود از نظر آماری معنی دار شد ( $p=۰/۳$ ) ولیکن بیان مارکر با سایر پارامترهای کلینیکوپاتولوژیک ارتباط معنی داری نشان نداد.

**استنتاج:** در طی بررسی انجام شده بر روی مارکر کموکاینی CXCR4، ارتباطی بین بروز آن و عود تومور مشاهده شد. بنابراین شاید بتوان در آینده پس از بررسی روی نمونه های بیش تری از این نوع کموکاین، به عنوان مارکر پیشگویی کننده عود کنسرهای کولورکتال استفاده کرد.

**واژه های کلیدی:** سرطان کولورکتال، مارکر کموکاینی CXCR4، یافته های کلینیکوپاتولوژیک، عود مخففات: گیرنده مارکر کموکاینی CXCR4، لیگاند مارکر کموکاینی CXCL، سرطان کولورکتال CRC ایموهیستوشیمی IHC

## مقدمه

پاژه (paget) را به بنیان فرضیه دانه و خاک (seed and soil) در متاستاز سرطان سوق دارد (۳). از یک قرن قبل که نظریه پاژه مطرح شد، دیگران کوشش کردند که با انواع روش ها، این تئوری را تکمیل کنند. در این فرضیه، برای متاستاز، اهمیت و نقش

سومین سرطان شایع در مردان و چهارمین سرطان شایع در زنان (به جز سرطان پوست) سرطان کولورکتال بوده و میزان شیوع آن نسبت به سال های قبل در حال افزایش می باشد (۲،۱). مشاهده هجوم منظم، سیستماتیک و هدف دار ارگان ها توسط سرطان متاستاتیک سینه،

E-mail: zhtorabi@yahoo.com

**مؤلف مسئول:** ژیلایا ترابی زاده - ساری: مرکز آموزشی درمانی امام خمینی (ره)، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۱. استادیار، گروه پاتولوژی، مرکز تحقیقات سرطان دستگاه گوارش، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استاد، گروه پاتولوژی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۲/۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۱/۲۴

کولورکتال، دو الگوی ایموهیستوشیمی (IHC) مشخصی برای CXCR4 دارند که شامل سیتوپلاسمی غشایی و هسته‌ای، مشابه آن چه که در موارد هپاتوسلولار، کارسینوما سرطان سینه، سرطان ریه و سرطان نازوفارنژیال گزارش کرده‌اند. از آنجائی که CXCR4 یک پروتئین تمام جداری است، باور بر این است که بیان آن در غشاء پلاسمایی و سیتوپلاسم و هم‌چنین بیان هسته‌ای آن از طریق IHC قابل ردیابی است (۱۲). هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک بیماران و نیز وضعیت عود، متاستاز و مرگ ناشی از سرطان مربوطه با بروز مارکر CXCR4 می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی، ۵۰ بلوک پارافینه بیماران با تشخیص سرطان کولورکتال (گروه ورد) و نیز بافت سالم کنار تومور به عنوان گروه شاهد از بخش پاتولوژی بیمارستان امام خمینی (ره) شهرستان ساری از طریق روش ایموهیستوشیمی در دو گروه ۵۰ تایی مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا لام‌های هماتوکسلین و اتوزین به طور کامل بررسی شدند و بلوک‌های مناسب جهت رنگ‌آمیزی ایموهیستوشیمی انتخاب شدند. داده‌های کلینیکوپاتولوژیک بیماران شامل سن، جنس، محل، نوع تومور، عمق تهاجم عروق لنفاوی و خونی، متاستاز غدد لنفاوی و دوردست، تمایز، عود، بقا (مدت زمان به ماه)، وضعیت فعلی بیمار (زنده یا مرگ به علت تومور) مورد بررسی قرار گرفت. بیمارانی که قبل از عمل، تحت شیمی‌درمانی یا رادیوتراپی قرار گرفتند و یا سابقه IBD داشتند، از مطالعه حذف شدند.

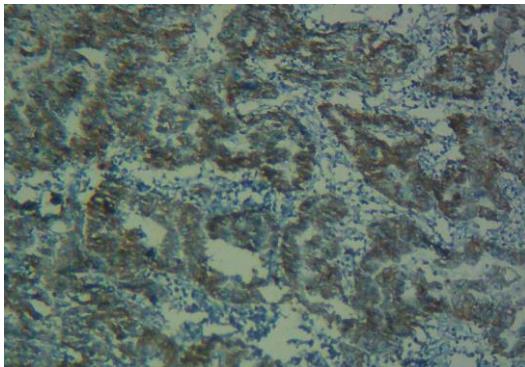
### رنگ‌آمیزی ایموهیستوشیمی

الف: آماده‌سازی بافت: پارافین‌زدایی نمونه با غوطه‌ور سازی در گزیرلول و آب دهی توسط غلظت‌های کاهش‌یابنده الکل انجام گرفت. سپس بافت‌ها را در بافر EDTA-Triss قرار داده و به ماکروفر حداکثر

کموکتین‌ها برجسته می‌شود. بر طبق این مکانیسم تاثیرگذار، ارگان‌های هدف، کموکتین‌های ویژه‌ای را تولید و رها می‌سازند که سلول‌های سرطانی نزدیک یا دور را که حاوی رسپتورهای آن‌ها هستند، جلب می‌کنند (۳). با توجه به این که متاستاز در ارگان‌های دورتر در فرد مبتلا به سرطان کولون بر امید به زندگی او تاثیر می‌گذارد، ارزیابی مولکول‌های مربوط به متاستاز که می‌توانند به عنوان نشانگرهای پیش‌آگهی دهنده در متاستاز سرطان کولون استفاده شوند، حیاتی است (۴). هم‌چنین علت مرگ در بیماران CRC، غالباً متاستاز می‌باشد (۵). Chemotactic cytokines یا به عبارت دیگر کموکتین‌ها، از مدت‌ها قبل به عنوان یک واسطه حیاتی در پاسخ التهابی سیستم‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی از طریق سیستم تنظیم بازسازی سلول‌ها، در محل جراحت یا عفونت شناخته شده بوده‌اند (۶). بیان کموکتین CXC، با گسترش کولورکتال پیوند خورده است. کموکتین‌ها خانواده بزرگی از مولکول‌های کموکتیک علامت‌دهنده هستند که به‌طور روز افزونی در مطالعات جدید توجهات را به خود جلب کرده‌اند. کموکتین‌ها به چهار گروه اصلی شامل CXCR4, CXCR3, CXCR2 بر طبق پایه جایگیری باقیمانده سیستمین آن‌ها کلاسه‌بندی می‌شوند (۷). CXCR4 در واقع یک پروتئین بسیار حفاظت شده با رسپتورهای دو تایی است که با گیرنده CXCL12 پیوند دارد (۸). میزان بالای بیان CXCR4 با متاستازهای لنف‌نود در سرطان‌های دهانی همراه بوده است (۹).

در تعدادی از مطالعات بیان شده است تیاژولیدیندیون که باعث کاهش بیان CXCR4 می‌گردد، در مطالعات کلینیکی باعث کاهش متاستاز سلول‌های تومورال HT-29 در رکتوم موش‌ها می‌گردد (۱۰). علی‌رغم افزایش دانش درباره بیان CXCR4 در CRC و درگیری CXCR4 در تهاجم و انتشار سرطان کولورکتال، مکانیسم‌های صحیح واکنشی و متاستازهای کبد کاملاً شناخته شده نیست (۱۱). سلول‌های تومورال کنسر

نرم افزار (SPSS IBM SPSS) sstatistic SPSS IBM (SPSS) ۰/۱، ۰/۲ و با استفاده از روش های T and Student dpaire test T، test exact Fishers، ۲X مورد آنالیز قرار گرفت. P-value کم تر از ۰/۰۵، معنی دار در نظر گرفته شد.

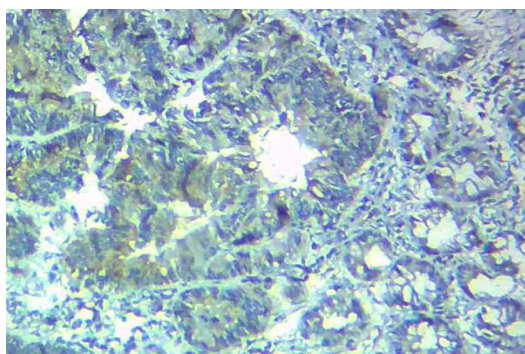


تصویر شماره ۲: کولورکتال آدنوکارسینوما، ایمونوهیستوکمیستری، مثبت از نظر CXCR4 (بزرگ نمایی ۱۰X)

## یافته ها

### یافته بررسی ایمونوهیستوشیمی

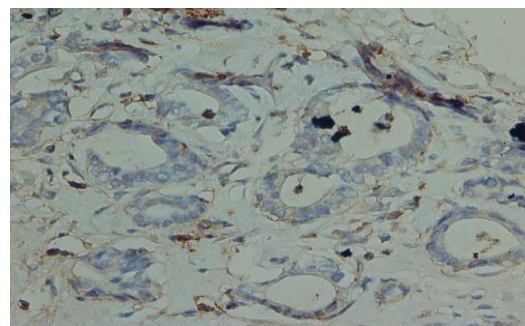
بر حسب یافته های پاتولوژیک، بیان مارکر CXCR4 در تومور، در ۲۱ مورد (۴۲ درصد) منفی، در ۱۸ مورد (۳۶ درصد) سیتوپلاسمیک، در ۹ مورد (۱۸ درصد) نوکلئار و در ۲ مورد (۴ درصد) سیتوپلاسمیک و نوکلئار بود در حالی که این مارکر در تمامی موارد در بافت نرمال مجاور تومور منفی گردید (تصویر شماره ۳).



تصویر شماره ۳: بافت نرمال منفی (سمت راست) در مجاورت بافت تومور مثبت از نظر CXCR4 (بزرگ نمایی ۱۰X)

قدرت منتقل می کنیم تا بافر به نقطه جوش برسد و بعد از ۱۵ دقیقه، بافت ها خارج می شوند. پس از شستشو با آب جاری و بافر TBS، در اتافک مرطوب قرار داده و با استفاده از کیت تشخیصی آنتی بادی مونوکلونال موشی با رقت ۱/۱۰۰ (ANTICXCR4) مربوط به شرکت ABCAM، به مدت یک شب در محیط اتاق انکوبه گردید. سپس بافت ها به مدت ۳۰ دقیقه با پراکسیداز مجاور شده و پس از شستشو با بافر TBS و ایجاد رنگ زمینه، با هماتوگسیلین واکنش کروموزنیک توسط کیت مربوطه انجام گرفت.

بررسی رنگ آمیزی CXCR4: لام های آماده شده به روش نیمه کمی توسط دو پاتولوژیست مستقل به صورت یک سویه (blind) و با استفاده از میکروسکوپ نوری Labomed ۴۰۰Lx در نماهای با قدرت پایین و بالا (X۴۰۰-X۱۰۰) برای تعیین میزان رنگ پذیری در کل سطح تومور بررسی شد. رنگ آمیزی سیتوپلاسمیک و هسته ای و نیز سیتوپلاسمیک - هسته ای مجزا، به عنوان موارد مثبت در نظر گرفته شد (تصویر شماره ۱ و ۲). موارد رنگ آمیزی زیر ۵ درصد و یا بسیار ضعیف، منفی تلقی شد.



تصویر شماره ۱: کولورکتال آدنوکارسینوما، ایمونوهیستوکمیستری، منفی از نظر CXCR4 (بزرگ نمایی ۱۰X)

### آنالیز آماری

داده های بیماران شامل یافته های کلینیکوپاتولوژیک و نتایج ایمونوهیستوشیمی از طریق

### خصوصیات بیماران بر حسب بیان مارکر CXCR4

در این مطالعه، ۵۰ بلوک پارافینه بیماران با تشخیص سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن بیماران مذکور  $64/57 \pm 13/9$  سال با دامنه ۲۸-۹۳ سال بود. ۲۵ نفر از بیماران مورد مطالعه مرد و ۲۵ نفر زن بودند. میانگین سن مردان و زنان به ترتیب  $63/48 \pm 15/62$  و  $65/71 \pm 12/11$  سال بود و طبق آزمون T-test، تفاوت معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد. پاتولوژی تومور در ۴۷ نفر آدنوکارسینوما و در ۳ نفر موسینوس کارسینوما بود. شیوع آدنوکارسینوما در مردان و زنان به ترتیب ۸۸ درصد و ۱۰۰ درصد بود. ضمن این که هر سه مورد موسینوس کارسینوما در مردان بود، ولی بر حسب آزمون دقیق فیشر، بین جنس و پاتولوژی تومور رابطه معنی دار وجود نداشت. ولیکن بیماران با بیان سیتوپلاسمیک، از میانگین سنی بالاتری نسبت به بقیه برخوردار بودند و هم چنین بیان سیتوپلاسمیک در زنان شایع تر بود. بر حسب میزان تمایز، ۳۱ مورد (۶۲ درصد) از نمونه‌ها well differentiated، ۱۳ مورد (۲۶ درصد) moderately differentiated، ۳ مورد (۶ درصد) poorly differentiated، ۱ مورد (۲ درصد) moderately to poorly differentiated و ۲ مورد (۴ درصد) well to moderately differentiated بودند. موارد منفی و سیتوپلاسمیک، بیش تر وجه تمایز خوب داشتند. موارد نوکلئار و نوکلئار + سیتوپلاسمیک نیز دارای وجه تمایز خوب یا متوسط بودند. اما انجام آزمون دقیق فیشر نیز نشان داد بین وجه تمایز و بیان ژن CXCR4 ارتباط معنی دار وجود نداشت (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی تمایز بر حسب بیان مارکهای مورد

مطالعه ۱

تمایز	مارکر منفی	سیتوپلاسمیک و نوکلئار	نوکلئار	سیتوپلاسمیک	جمع
Well	۱۴(۶۶/۷)	۱۲(۶۶/۷)	۴(۴۴/۴)	۱(۵۰)	۳۱(۶۲)
Moderately poorly	۴(۱۹)	۴(۲۲/۲)	۴(۴۴/۴)	۱(۵۰)	۱۳(۲۶)
Moderately to poorly	۱(۴/۸)	۱(۵/۶)	۱(۱۱/۱)	۰(۰)	۳(۶)
Well to moderately	۱(۴/۸)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۲)
جمع	۲۱(۱۰۰)	۱۸(۱۰۰)	۹(۱۰۰)	۰(۰)	۲۴(۱۰۰)

میانگین اندازه تومور در کل بیماران مورد مطالعه،  $4/57 \pm 1/94$  سانتی متر بود. میانگین اندازه تومور در بیماران منفی  $4/6 \pm 1/85$  سانتی متر، در بیماران با بروز سیتوپلاسمیک  $4/47 \pm 1/99$  سانتی متر، در موارد نوکلئار  $4/56 \pm 2/13$  سانتی متر و در موارد سیتوپلاسمیک + نوکلئار  $5/35 \pm 3/32$  سانتی متر بود. انجام آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نیز نشان داد بین سایز تومور و بیان ژن CXCR4 ارتباط معنی دار وجود نداشت. در ۲۷ نفر (۵۴ درصد)، محل تومور در کولون راست، در ۳ نفر (۶ درصد) در کولون چپ، در ۱۹ نفر (۳۸ درصد) در محل رکتوم و در ۱ مورد (۲ درصد) محل تومور نامشخص بود، ولیکن بیان مارکر CXCR4 بر حسب محل تومور اختلاف معنی دار نداشت. از ۵۰ بیمار مطالعه شده، ۲۰ نفر (۴۰ درصد) دارای متاستاز غدد لنفاوی بودند. هم چنین در ۷ نفر (۱۴ درصد) از بیماران مطالعه شده، تهاجم به عروق لنفاوی مشاهده شده و در ۳۰ نفر (۶۰ درصد) چنین تهاجمی مشاهده نشد. وضعیت ۱۳ بیمار (۲۶ درصد) نیز از این نظر مشخص نبود، متاستاز غدد لنفاوی و تهاجم به عروق لنفاوی بر حسب بیان مارکهای مورد مطالعه تفاوت معنی دار نداشت. در ۱۰ نفر (۲۰ درصد) از بیماران، تهاجم به عروق خونی مشاهده شده و در ۲۷ نفر (۵۴ درصد) چنین تهاجمی مشاهده نشد. وضعیت ۱۳ بیمار (۲۶ درصد) نیز از این نظر مشخص نبود. در جدول شماره ۱، توزیع فراوانی وجود تهاجم به عروق لنفاوی بر حسب بیان مارکر CXCR4 نشان داده شده است. بر حسب آزمون دقیق فیشر، تهاجم به عروق خونی بر حسب بیان مارکر مورد مطالعه تفاوت معنی دار ندارد.

برابر نتایج به دست آمده از متاستاز تومور، ۱ نفر (۲ درصد) متاستاز داشته و ۳۱ نفر (۶۲ درصد) متاستاز نداشتند. ۱۱ نفر (۲۲ درصد) MIA و ۵ نفر (۱۰ درصد) MIB بوده و وضعیت ۲ نفر (۴ درصد) نامشخص بود. ۴ نفر (۸ درصد) T2، ۱۶ نفر (۳۲ درصد) T3، ۱۹ نفر (۳۸ درصد) T4 و وضعیت ۱۱ نفر (۲۲ درصد) مشخص نبود.

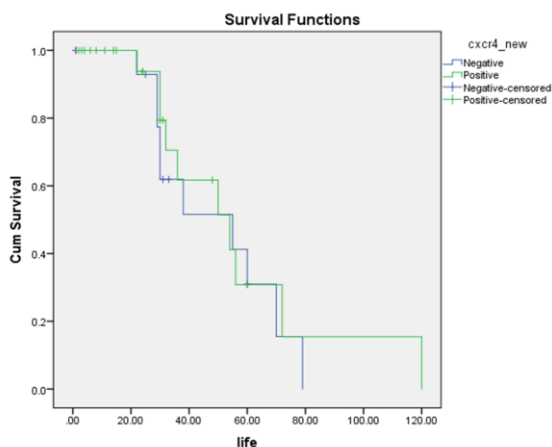
جدول شماره ۲: توزیع فراوانی مرحله بیماری بر حسب بیان بیان

مارکر CXCR4

مرحله	مارکر	منفی	سیتوپلاسمیک	نوکلنار	سیتوپلاسمیک و نوکلنار	جمع
I		۳(۱۷/۶)	۲(۱۲/۵)	۰(۰)	۰(۰)	۵(۱۲/۲)
IIA		۵(۲۹/۴)	۹(۵۶/۳)	۲(۲۸/۶)	۰(۰)	۱۶(۳۹)
IIIB		۱(۵/۹)	۲(۱۲/۵)	۱(۱۴/۳)	۰(۰)	۴(۹/۸)
IIIA		۲(۱۱/۸)	۱(۶/۳)	۰(۰)	۰(۰)	۳(۷/۳)
IIIB		۶(۳۵/۳)	۲(۱۲/۵)	۴(۵۷/۱)	۱(۱۰۰)	۱۳(۳۱/۷)
جمع		۱۷(۱۰۰)	۱۶(۱۰۰)	۷(۱۰۰)	۱(۱۰۰)	۴۱(۱۰۰)

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی عود بر حسب بیان مارکر CXCR4

عود	مارکر	منفی	سیتوپلاسمیک	نوکلنار	سیتوپلاسمیک و نوکلنار	جمع
دارد		۴(۲۳/۵)	۱(۷/۷)	۳(۴۲/۹)	۲(۱۰۰)	۱۰(۲۵/۶)
ندارد		۱۳(۷۶/۵)	۱۲(۹۲/۳)	۴(۵۷/۱)	۰(۰)	۲۹(۷۴/۴)
جمع		۱۷(۱۰۰)	۱۳(۱۰۰)	۷(۱۰۰)	۲(۱۰۰)	۳۹(۱۰۰)



نمودار شماره ۱: مقایسه بقای بیماران بر حسب ماه با بیان CXCR4

## بحث

سرطان کولورکتال یکی از شایع ترین سرطان‌های بدن می‌باشد و در سال‌های اخیر، خصوصاً میزان آن افزایش یافته است (۲۰۱). بیان کموکین‌ها خصوصاً CXCR4 با گسترش کولورکتال کنسر بیان شده است. Oladipo و همکاران، افزایش معنی‌داری از بیان کموکین‌های CXCR4 در اپی‌تلیوم تومور در قیاس با بافت نرمال مجاور آن یافتند (۷). در همین مورد، Yoshitake و همکاران به این نتیجه رسیدند که بیان CXCR4 در اپی‌تلیوم نرمال کولورکتال در مجاورت تومور به طور ژنرالیزه ولی ضعیف مشاهده شد (۱۲).

انجام آزمون دقیق فیشر بر روی داده‌های مذکور نشان داد بین عمق تومور، متاستاز و بیان ژن CXCR4 ارتباط معنی‌دار وجود نداشت. برابر نتایج به دست آمده، ۵ بیمار (۱۰ درصد) در مرحله I، ۱۶ نفر (۳۲ درصد) در II A، ۴ نفر (۸ درصد) در II B، ۳ نفر (۶ درصد) در II IA، ۱۳ نفر (۲۶ درصد) در مرحله IIIB و مرحله بیماری در ۹ نفر (۱۸ درصد) مشخص نبود. جدول در ۲ مرحله بیماری بر حسب بیان مارکر CXCR4 نشان داده شده است که بر طبق آمار به دست آمده، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

از ۵۰ بیمار مطالعه شده، ۱۱ نفر (۲۲ درصد) دچار متاستاز کبدی بوده و در ۳۷ نفر (۷۴ درصد) متاستاز کبدی رخ نداد. وضعیت ۲ بیمار (۴ درصد) نیز از نظر متاستاز کبدی مشخص نبود که متاستاز کبدی بر حسب بیان مارکر مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. برابر نتایج مطالعه، در ۱۰ نفر (۲۰ درصد) بیماران مورد مطالعه، بیماری بعد از درمان اولیه مجدداً عود نموده و ۲۹ نفر (۵۸ درصد) عود نداشته و وضعیت عود در ۱۱ نفر (۲۲ درصد) مشخص نبود. در جداول شماره ۲ و ۳، توزیع فراوانی عود بر حسب بیان مارکر CXCR4 نشان داده شده است. انجام آزمون دقیق فیشر بر روی داده‌های مذکور نیز نشان داد توزیع فراوانی عود بر حسب بیان ژن مذکور اختلاف معنی‌دار داشت (p=۰/۰۳۱). برابر نتایج به دست آمده در طی مدت بررسی، ۲۰ نفر (۴۰ درصد) از بیماران مورد مطالعه فوت شده و ۲۱ نفر (۴۲ درصد) در قید حیات بودند و وضعیت ۹ بیمار (۱۸ درصد) نیز مشخص نبود و بروز مرگ بر حسب بیان مارکر CXCR4 تفاوت معنی‌دار نداشت.

میانگین مدت زمان بقاء بیماران از زمان تشخیص بیماری ۳۳/۸۳±۲۴/۶۶ ماه با دامنه ۱-۱۲۰ ماه بود. (نمودار شماره ۱). زمان بقاء بیماران بر حسب بیان مارکر نشان می‌دهد که طبق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، میانگین زمان بقاء بیماران بر حسب بیان مارکر مذکور اختلاف معنی‌دار نداشت.

Kim و همکاران به این نتیجه دست یافتند که بیان CXCR4 در نمونه‌های تومور از بیماران با مرحله ۱ و ۲، مرتبط با ریسک افزایش یافته عود مجدد ناحیه‌ای و یا متاستازهای دور دست می‌باشد (۳). در مطالعه ما بیان مارکر، واضحاً با عود رابطه آماری نشان داد، ولی با متاستاز دوردست، اختلاف معنی‌داری به دست نیامد. هم‌چنین آن‌ها دریافتند که بیان بالای CXCR4 در نمونه‌های ابتدایی تومور از بیماران مرحله چهار با بقا کلی بدتری همراه است (۳).

اما در مطالعه ما، بین زمان بقاء بیماران و بیان مارکر مذکور اختلاف معنی‌داری به دست نیامد. هم‌چنین Park و همکارانش هم در یک مطالعه نشان دادند که بیان SDF-1 و به طبع آن رسپتور CXCR4، نه تنها با تهاجم لنفاتیک، عروقی و متاستاز لنفاتیک در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال همراه است، بلکه ارتباط آن را با زمان بقاء بیماران نیز مشخص ساختند (۱۳). یافته دیگر آن‌ها بیان بسیار بالاتر و مشخص‌تری از CXCR4 در متاستازهای کبدی بود (۳). اما در مطالعه ما، بین بیان بالای این مارکر و متاستاز کبدی ارتباط معنی‌داری به دست نیامد. البته Robie و همکاران نیز اختلاف مهمی در بیان CXCR4 در ارتباط با ویژگی‌های متاستاتیک به دست نیاوردند (۱۱). اما آن‌ها در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که در بافت‌های CRC، بیان مارکر CXCR4 با روش IHC و RT-PCR در مقایسه با بافت‌های نرمال مجاور UP-Regulated، داشته است و نیز بیان مارکر در بیماران با متاستاز کبدی در تومور اولیه شان، تفاوت معنی‌داری در قیاس با بیمارانی که دچار متاستاز نشده بودند، نداشت (۱۱).

Wang و همکارانش ذکر کردند که بیان هسته‌ای و نه بیان سیتوپلاسمیک CXCR4، با تهاجم لنفوواسکولار ارتباط دارد. اما در مطالعه ما ارتباط این کموکین با تهاجم عروق خونی معنی‌دار نبود (۱۴).

Kim و همکاران دریافتند که در بیماران با بیان بافتی بالای CXCR4، بقا به طور چشمگیری کاهش

یافته بود (۳) ولی در مطالعه ما نتیجه معنی‌داری به دست نیامد. Yoshitake و همکارانش نیز به این نتیجه رسیدند که بیان مارکر در متاستاز غده لنفاوی و مرحله بالای تومور مثبت است. آن‌ها هم‌چنین بین CXCR4 منفی و نوع نوکلئاز مثبت CXCR4، مقایسه‌ای انجام داده و نشان دادند که میزان بدخیمی مشخصاً در تومورهای CXCR4 مثبت نوع نوکلئاز بالاتر است (۱۲).

در تحقیق Yu و همکارانش، این نتیجه به دست آمد که CXCR4 در ۷۳/۶ درصد نمونه‌های بافتی مثبت شد (۴) که این رقم در مطالعه ما در ۵۸ درصد مثبت بوده است که شاید بتوان تفاوت‌های نژادی را مسئول آن دانست. در ضمن ارتباطی بین بیان بالای CXCR4 و تهاجمات لنفی و عروقی پیدا کردند که در مطالعه ما هیچ ارتباط معنی‌داری در این رابطه به دست نیامد. آن‌ها هم‌چنین در تحقیق خود ارتباطی بین بیان CXCR4 و پارامترهای کلینیکوپاتولوژیکال نظیر محل، اندازه و عمق تهاجم تومور نیافتند (۴) که یافته‌های ما نیز منطبق با آن‌ها می‌باشد. در مطالعه ما بین دو جنس در بیان مارکر تفاوتی مشاهده نشد. همین‌طور در سایر مقالات تفاوتی در بین دو جنس در بیان مارکر مشاهده نشد (۴،۶). بر طبق داده‌های ما، بین بیان مارکر CXCR4 و میزان تمایز و متاستاز دور دست اختلاف معنی‌داری به دست نیامد. Schimansky و همکاران نیز در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که هیچ تفاوت چشمگیری در بیان CXCR4 در ارتباط با رفتار متاستاتیک وجود ندارد (۹).

بیان مارکر بر حسب محل تومور، تهاجم عروق خونی، مرحله و بروز مرگ و میر در سرطان‌های کولورکتال در مطالعه ما اختلاف معنی‌داری نداشت ولی در تحقیق Hembreuff و همکاران، تنها بین بیان مارکر و محل تومور در مورد تومور رکتال معنی‌دار بود، ولی در تومورهای فقط کولون، معنی‌دار نبود؛ ولی بین مرحله بیماری، تهاجم عروق خونی و بروز مرگ و میر نکته معنی‌داری به دست نیامد (۶).

## سپاسگزاری

اطلاعات همکاری داشتند، کمال تشکر را داریم.

از دکتر کامیار خدادادی که در جمع آوری

## References

- Nosrati A, Naghshvar F, Torabizadeh Zh, Salehi F. Correlation of colorectal cancer stem cell marker CD 24 Expression with clinicopathologic features and survival of patients with colorectal cancer from sari, Iran. *Govaresh* 2014; 19(2): 86-93.
- Nosrati A, Naghshvar F, Torabizadeh Zh, Haghshenas MR, Sangsefidi H. Relationship between human papilloma virus and colorectal cancer in northern Iran. *Middle East Journal of Cancer* 2015; 6(4): 237-241.
- Kim Y, Takeuchi H, Lam ST, Turner PR, Wang HJ, Kuo C, et al. Chemokine receptor CXCR<sub>4</sub> expression in colorectal cancer patients increases the risk for recurrence and for poor survival. *J Clin Oncol* 2005; 23(12): 2744-2753.
- Yu L, Shem Y, Li JK, Sun YH, Wang YC, Zhang JH. Expression of chemokine receptor CXCR<sub>4</sub> in colorectal carcinoma and its relationship with clinicopathological parameters. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2008; 11(5): 482-6
- Pourhoseingholi MA. Increase burden of colorectal cancer in Asia. *World J Gastrointest Oncol* 2012; 4(4): 68-70.
- Hembruff SL, Cheng N. Chemokine signaling in cancers implications on the tumor microenvironments and therapeutic targeting. *Cancer Ther* 2009; 7(A): 254-267.
- Oladipo O, Colon S, OGrady A, Purcell C, Willson C, Maxwell PJ, et al. The expression and prognostic impact of CXC-Chemokines in stage II and III colorectal cancer. *Epithelial and stromal tissue. Br J Cancer* 2011; 104(3): 480-487.
- Romain B, Hechet-Haas M, Rohr S, Brigand C, Galzi OJL, Gaub Mp, et al. Hypoxia differentially regulated CXCR<sub>4</sub> and CXCR<sub>7</sub> signaling in colon cancer. *Mol Cancer* 2014; 13: 58.
- Schimansky CC, Schwald S, Simiantonaki N, Jayasinghe C, Gonner U, Wilsbery V, et al. Effect of chemokine receptors CXCR<sub>4</sub> and CCR 7 on the metastatic behavior of human colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11(5): 1743-1750.
- Lee Richard C, Blay J. Thiazolidinedione drug down-regulated CXCR<sub>4</sub> expression on human colorectal cancer cells in a peroxisome proliferation activated receptor Y-dependent manner. *Int J Oncol* 2007; 30: 1215-1222
- Robie C, Frick VO, Gadjar P, Wagner M, Justinger C, Faust SK, et al. CXC receptor-4 mRNA Silencing abrogates CXCL<sub>12</sub>- Induced migration of colorectal cancer cells. *Journal of Translational Medicine* 2011; 9: 22.
- Yoshitake N, Fukui H, Yamagashi H, Fujii S, Tomita S, Ichikawa K, et al. Expression of SDF-1 and nuclear CXCR<sub>4</sub> predicts lymph node metastasis in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2008; 98(10): 1682-1689.
- Park SJ, Aun TS, Cho SW, Kim CJ, Jung DJ, Son MW, et al. Stromal-cell-derived factor 1 promotes tumor progression in colorectal cancer. *J Korean Soc Coloproctol* 2012; 28(1): 27-34.



- 
14. Wang SC, Lin JK, Wang HS, Yang SH, Li AFY, Chang SC. Nuclear expression of CXCR<sub>4</sub> is associated with advanced colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25(10): 1185-1191.