论著

文章编号:1000-5404(2005)10-1026-04

缺氧诱导因子-1α及E-钙粘蛋白在宫颈癌中的表达及意义

林 爽,李 力,王 云 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所妇产科,重庆 400042)

提 要:目的 探讨缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)、E-钙粘蛋白(E-cadherin)在宫颈癌中表达的意义以及HIF-1α/E-cadherin途径在宫颈癌发病过程中的调控作用。**方法** 取临床标本135例,采用免疫组织化学方法检测HIF-1α、E-cadherin蛋白的表达。**结果** 正常宫颈组织中几乎没有HIF-1α的表达,宫颈上皮内瘤变组织中HIF-1α阳性表达率为12.5%,宫颈癌组织从0期到Ⅳ期HIF-1α表达阳性率不断升高,在不同组织学分级(即高、中、低分化)的宫颈浸润癌组织中,HIF-1α的阳性表达与组织学分化程度呈负相关($r=-0.769$ $P<0.01$);在不同临床及病理分期中HIF-1α的表达水平与E-cadherin呈负相关。而随着从正常宫颈→宫颈上皮内瘤变→原位癌→浸润癌的转化,E-cadherin的阳性表达率呈递减趋势,在不同的临床分期中E-cadherin的阳性表达率逐渐降低,但与组织学分化程度呈负相关($r=-0.872$, $P<0.01$)。**结论** 低氧条件下HIF-1α通过对其下游因子E-cadherin表达水平的调控作用,参与宫颈癌的侵袭、转移,这在宫颈癌的发生、发展过程中可能起重要的作用。两者联合检测可以更准确地判断宫颈癌的恶性程度及生物学行为。

关键词: 宫颈癌;缺氧诱导因子;上皮型钙粘蛋白

中图法分类号: R341; R394.2; R737.33 **文献标识码:** A

Significance of HIF-1α and E-cadherin in cervical carcinoma

LIN Shuang, LI Li, WANG Yun (Department of Obsterics and Gynecology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To study the significance of the expressions of HIF-1α and E-cadherin in cervical carcinoma. **Methods** The expressions of HIF-1α and E-cadherin (E-cad) were determined in the clinical specimens of 109 cases of cervical carcinoma, 16 cases of cervical intraepithelial neoplasm and 10 cases of normal cervical tissue with immunohistochemical assay. **Results** There was nearly no expression of HIF-1α in the normal cervical tissue. The positive expression of HIF-1α and E-cad were 81.4% (70/86) and 28.6% (25/86) respectively in the tissue of invasive cervical carcinoma. The rate of positive expression of HIF-1α was significantly higher in invasive cervical carcinoma than in normal cervical tissue and cervical intraepithelial neoplasm ($P<0.01$). The positive rate of E-cad was significantly lower in cervical carcinoma *in situ* and invasive cervical carcinoma than in normal cervical tissue and in cervical intraepithelial neoplasm ($P<0.01$). There was a significant correlation of the expression rate of HIF-1α and E-cad with the FIGO stages or histological subtypes of cervical carcinoma and a significant negative correlation of the expression of HIF-1α and E-cad. **Conclusion** HIF-1α is over expressed in cervical carcinoma and may induce the expression of E-cad. Both HIF-1α and E-cad may exert important effects of the invasiveness of the carcinoma. The expression of HIF-1α and E-cad can serve as an indication of the metastasis of cervical carcinoma.

Key words: uterine cervix; carcinoma; hypoxia inducible factor-l (HIF-1α); E-cadherin

缺氧诱导因子1α(hypoxia inducible factor1α, HIF-1α)是在缺氧条件下广泛存在于哺乳动物和人体内的一种转录因子。它可调节多种靶基因如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、红细胞生成素(erythropoietin, Epo)等的表达,其活性在维持肿瘤细胞的能量代谢、新生血管形成,以及促进肿瘤增殖和转移中起重要作用。细胞间的粘附作用是建立和维持组织细胞正常形态和功能的基础,其异常将导致细胞的堆积、去分化,甚至侵袭和转移,形成恶性肿瘤。E-钙粘蛋白复合体是细胞间粘附分子的重要成员,不仅介导细胞间粘附,还直接或间接参与细胞的信号传导,对肿瘤侵袭和转移起重要的作用,但其具体调控机制尚不清楚,有研究表明HIF-1α能通过影响E-钙粘蛋白复

作者简介:林 爽(1977-),女,河北省唐山市人,硕士研究生,主要从事妇科肿瘤方面的研究。电话:13110221225,E-mail:cqls2002@126.com

收稿日期:2005-03-17;修回日期:2005-03-29

合体的表达来参与肿瘤的侵袭和转移，但在宫颈癌方面研究甚少。我们通过应用免疫组化方法检测正常宫颈、宫颈上皮内瘤变、原位癌、浸润癌组织中 HIF-1α 及 E-钙粘蛋白(E-cadherin)的表达，以探讨 HIF-1α/E-cadherin 途径在宫颈癌发生、发展、浸润和转移中的作用。

1　材料与方法

1.1　临床资料

标本全部来自第三军医大学大坪医院妇产科，为 1996 年 1 月至 2004 年 10 月诊治的病例，共计 109 例。患者年龄 24～77 岁，中位年龄 46 岁，其中正常宫颈组织 10 例，宫颈上皮内瘤变 16 例，宫颈鳞癌 53 例，腺癌 23 例，鳞腺癌 10 例。按 FIGO 分期：0 期 23 例，Ⅰ期 21 例，Ⅱ期 29 例，Ⅲ期 23 例，Ⅳ期 13 例。组织学分级：高分化 24 例，中分化 46 例，低分化 16 例。

1.2　HIF-1α、E-cadherin 表达的检测

兔抗人 HIF-1α、E-cadherin 单克隆抗体、SABC 工作液试剂盒和 DAB 显色剂均购自武汉博士德生物工程有限公司。染色方法参照其说明进行。染色 20 min 后，DAB 显色，苏木精轻度复染，二甲苯透明，封片。显微镜下观察并计数阳性染色细胞数。

1.3　判断标准

HIF-1α 在石蜡切片中阳性染色主要定位于细胞核，呈现棕黄色颗粒。采用文献[1]方法，根据肿瘤细胞显色的比例及染色强度，对 HIF-1α 表达作半定量评定。按阳性细胞率评分：阳性细胞数占 < 11% 为 1 分；占 11%～50% 为 2 分；占 51%～80% 为 3 分；> 80% 为 4 分。按显色程度评分：染色弱为 1 分；中等染色为 2 分；强染色为 3 分。然后将两种评分结合起来分为 4 级：无论染色强度如何，细胞阳性率 ≤ 10% 为阴性；2～3 分为弱阳性(+)；4～5 分为中度阳性(++)；6～7 分为强阳性(+++)。

1.4　统计处理

应用 SPSS 12.0 统计软件进行 χ^2 检验、方差分析、相关性分析。

2　结果

2.1　HIF-1α 与宫颈癌生物学特性的关系

正常宫颈组织中 HIF-1α 基本无表达，在宫颈上皮内瘤变组织中，HIF-1α 仅有少量表达，两者均显著低于宫颈原位癌组织和浸润癌($P < 0.01$)，而原位癌又显著低于浸润癌($P < 0.01$)。

在不同临床分期的宫颈癌中 HIF-1α 阳性表达率分别为 41.2%、72.2%、80.8%、87.3%，相邻分期比较无差异性，但Ⅳ期肿瘤 HIF-1α 表达水平明显高于Ⅱ期肿瘤($P < 0.01$)；Ⅲ期肿瘤 HIF-1α 表达水平明显高于Ⅰ期肿瘤($P < 0.01$)。

在不同病理类型宫颈癌中，HIF-1α 的表达无显著差异性($P > 0.05$)。而在组织学分级，即高、中、低分化的宫颈癌组织中 HIF-1α 的阳性表达率则分别是 62.5%、84.7%、93.75%，与病理分级成负相关($r = -0.769$，$P < 0.01$)，见图 1、2。

2.2　E-cadherin 与宫颈癌生物学特性的关系

E-cadherin 在正常宫颈组织、宫颈上皮内瘤变、宫颈原位癌、浸润癌中的阳性表达率分别为 100%、77.12%、54.26%、28.67%，即随着从正常宫颈→宫颈上皮内瘤变→原位癌→浸润癌的转化，E-cadherin 的阳性表达率呈递减趋势，其中正常宫颈组织与宫颈上皮内瘤变均显著高于原位癌($P < 0.01$)，原位癌又显著高于浸润癌($P < 0.01$)，见图 3、4。

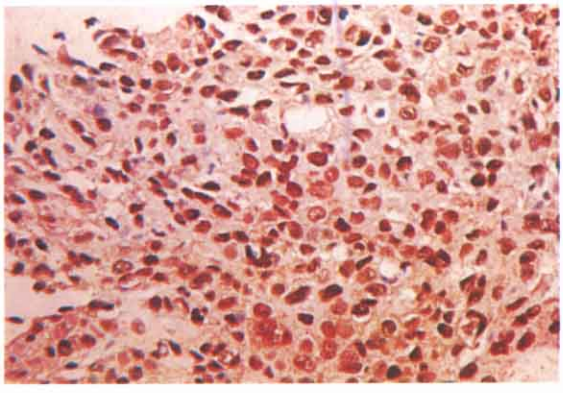


图 1　HIF-1α 在低分化宫颈鳞癌中高表达　(SABC × 400)

Fig 1　HIF-1α expression in low-differentiated cervix cancer (SABC × 400)

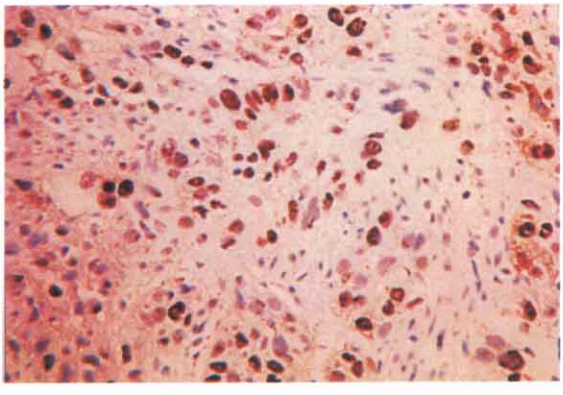


图 2　HIF-1α 在高分化宫颈鳞癌中的表达　(SABC × 400)

Fig 2　HIF-1α expression in high-differentiated cervix cancer (SABC × 400)

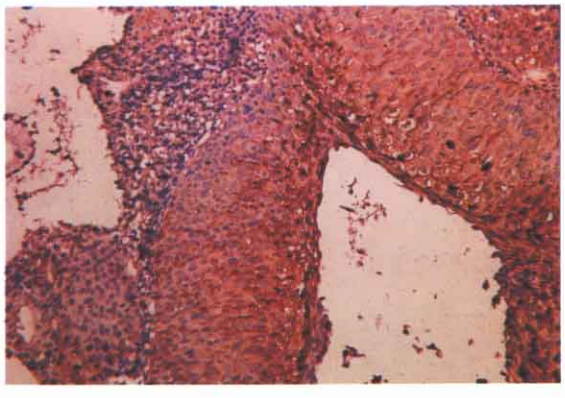


图 3　原位癌 E-cadherin 表达　(SABC × 400)

Fig 3　E-cadherin expression in cervix carcinoma *in situ*　(SABC × 400)

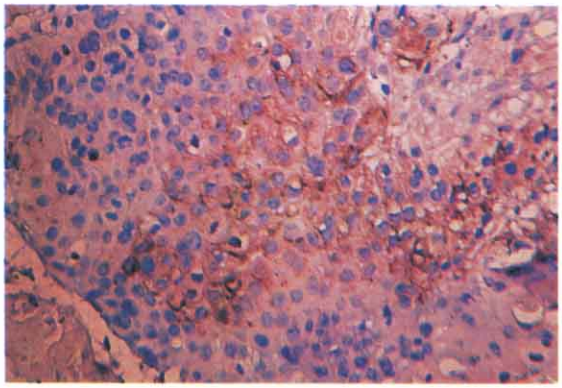


图4 浸润癌 E-cadherin 表达 (SABC×400)

Fig 4 E-cadherin expression in invasive uterine cervix carcinoma (SABC×400)

E-cadherin 在绝大多数宫颈癌组织中表达降低，在不同临床分期的宫颈癌中阳性表达率为 70.7%、63.5%、27.9%、12.3%，相邻分期间比较无差异性，但Ⅳ期肿瘤 E-cadherin 表达水平明显低于Ⅱ期肿瘤($P<0.01$)；Ⅲ期肿瘤 E-cadherin 表达水平明显低于Ⅰ期肿瘤($P<0.01$)。

E-cadherin 在不同病理类型宫颈癌中的表达，差异无显著性($P>0.05$)。而在组织学分级，即高、中、低分化的宫颈癌组织中的阳性表达率则分别是 49.4%、27.5%、16.2%，与病理分级呈正相关($r=0.872$, $P<0.01$)。

2.3 HIF-1α 与 E-cadherin 的生物学相关性

在不同的临床分期中 E-cadherin 阳性表达与 HIF-1α 呈负相关($r=-0.746$, $P<0.01$)。在不同的病理分期中 E-cadherin 的阳性表达也与 HIF-1α 呈负相关($r=-0.813$, $P<0.01$)。

2.4 HIF-1α、E-cadherin 联检的意义

在宫颈上皮内瘤变组织，HIF-1α、E-cadherin 两者异常表达率为 12.8%，在原位癌为 59.2%，在宫颈癌组织中联检异常表达率高达 80.5%(87/109)，且与 FIGO 分期、病理分级密切正相关($r=0.763$, $P<0.05$; $r=0.847$, $P<0.05$)。

3 讨论

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一，尽管由于宫颈刮片、阴道镜、液基细胞涂片、HPV DNA 检测等检测手段的应用，使宫颈癌的早期检测率大大提高，但是由于对肿瘤的恶性行为缺乏有效的监控手段，仍有许多患者死于复发和转移。初发时恶性程度较低的原位癌随时间的进展，恶性程度不断升高，最终发生浸润、转移而危害病人生命。

在影响肿瘤发生、发展的多种因素中，肿瘤细胞内部缺氧问题越来越受到重视。HIF-1α 是近年来发现的一种能被缺氧、NO 和 $CoCl_2$ 等诱导的核转录因子。细胞内 HIF-1α mRNA 表达水平受氧浓度调控，低氧时 HIF-1α mRNA 表达明显增加，当转入正常氧浓度时，其量迅速下降。HIF-1α 调节的基因涉及细胞能量代谢、离子代谢、血管发生及舒缩控制，它介导转录的基因有红细胞生成素、血管内皮生长因子[2]、糖酵解酶的基因等。由于 HIF-1α 的中枢纽带作用，上述因子发生一系列变化，最终引起新的血管形成，使肿瘤细胞适应乏氧微环境，而得以持续生长和扩散转移。我们采用免疫组化法检测宫颈组织中 HIF-1α 的表达，结果显示，正常宫颈组织中无 HIF-1α 阳性表达，宫颈上皮内瘤变、原位癌、浸润癌中阳性表达率呈上升趋势，且肿瘤组织与正常组织、癌前病变组织比较差异有显著性($P<0.01$)。这与 Zhong 等[1]所得结果相似，说明在宫颈癌发展的早期阶段，HIF-1α 已经出现升高现象，因此我们认为，临床上对 HIF-1α 蛋白的检测和研究将有助于宫颈癌的早期诊断及鉴别诊断，并能够预测肿瘤的发展趋势和转移潜能，有望成为一种新的临床诊断指标和肿瘤标记物。

我们在研究中还发现，Ⅳ期宫颈癌组织中 HIF-1α 表达水平明显高于Ⅱ期肿瘤，$P<0.01$；Ⅲ期肿瘤 HIF-1α 表达水平明显高于Ⅰ期肿瘤 $P<0.01$。24 例高分化癌中有 15 例 HIF-1α 为阳性表达，16 例低分化癌中有 15 例 HIF-1α 检测全部为阳性。统计学数字表明 HIF-1α 的表达水平与宫颈癌的分化程度呈负相关，分化程度越低，其阳性率越高；并且随着临床分期、宫颈浸润深度的增加，HIF-1α 的表达也有明显增高，均与文献[3]报道一致。研究结果说明在宫颈癌的生长过程中，同样存在着缺氧、低糖状态，或者有调控 HIF-1α 的上游调节基因的失活或激活，从而导致 HIF-1α 在细胞内聚集。并且随着肿瘤向深层生长，缺氧加重，HIF-1α 水平更高，考虑在低分化的肿瘤中，可能存在更多的癌基因激活或着抑癌基因失活，从而减慢了 HIF-1α 的降解，同时更增加了它在胞内的水平。

虽然 HIF-1α 能通过对多种靶基因的调控促进肿瘤侵袭和转移。但是肿瘤细胞的侵袭、转移还取决于侵袭启动因素及侵袭抑制因素的平衡。一个重要的侵袭抑制复合物就是由 E-钙粘蛋白通过连结素与肌动蛋白细胞骨架连接形成的。E-cadherin 是钙离子依赖的同质亲和性细胞粘附分子，以同源二聚体的形式广泛分布于组织中，维持细胞的极性、形态和结构的完整性。E-cadherin 表达的丧失或下降与肿瘤的低分化、高侵袭、淋巴结转移及远处转移的发生和高复发率成正相关。E 钙粘蛋白通过 E-钙粘蛋白复合体发挥作用，因此无论是 E-钙粘蛋白本身或其他组分的改变均可能影响其功能的发挥，导致其失活而影响细胞间粘附和细胞生长周期。本研究在宫颈上皮内瘤变及宫颈原位癌中均发现 E-cadherin 异常表达，推断这种在宫颈癌发展的早期改变，可能是发生在 E-cadherin 基因水平上的异常，是发展成恶性程度高、浸润性生长的分子

学基础。本组研究还表明 E-cadherin 在宫颈上皮内瘤变组织中的表达明显低于正常宫颈($P<0.01$)。同样说明 E-cadherin 表达降低是宫颈癌发生的早期事件,同时 E-cadherin 表达水平与随 FIGO 分期增高呈下降趋势,与病理分期均呈正相关,与文献[4,5]报道一致。

在影响 E-钙粘蛋白复合体功能发挥的多种因素中,肿瘤内部的缺氧问题越来越多地被科学界所重视。Imai 等[6]对 76 例卵巢癌患者进行 E-钙粘蛋白及 HIF-1α 检测表明低氧时 HIF-1α 能通过其下游因子 SNAIL 对 E-钙粘蛋白复合体的表达进行下调,从而引起卵巢癌的侵袭和转移。也有相关研究表明在缺氧和组织坏死的情况下细胞可以释放 EGF 和 TNF-α 增加 E-钙粘蛋白复合体的解体,导致细胞侵袭能力增加和 β-catenin 在细胞内积聚。本研究表明 80.7% 的 HIF-1α 表达升高者伴有 E-cadherin 表达降低,这种现象充分说明 HIF-1α/E-cadherin 途径在介导细胞粘附和维持细胞正常形态结构方面起着至关重要的作用,其功能的损坏可能是细胞恶性转化的关键步骤和特征。但是研究表明有些高度恶性的病例中可见到 E-cadherin 基本正常表达,提示癌细胞 E-cadherin 功能状态可能存在异常,破坏了细胞间的连接机制,或者同时存在其它途径同时对 E-cadherin 的表达起调控作用。

我们的研究还发现联合检测 HIF-1α、E-cadherin 异常表达率在宫颈上皮内瘤变及宫颈癌中均高于其中任何一项单独检测,而且与肿瘤 FIGO 分期、病理类型显著相关,充分说明 HIF-1α/E-cadherin 途径有联检的必要性。可将 2 种指标联合检测,作为判断肿瘤恶性程度及预后的辅助分子生物学指标。

HIF-1α 作为缺氧反应调控的中间因子,E-cadherin 作为调控肿瘤细胞间粘附的重要因子,均在肿瘤侵袭、转移过程中起重要的作用,因此对 HIF-1α/E-cadherin 表达调控机制的研究将为宫颈癌的诊治提供重要线索。

参考文献:

[1] Zhong H, Semenza G L, Simons J W, *et al*. Up-regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is an early event in prostate carcinogenesis[J]. Cancer Detect Prev, 2004, 28(2): 88 - 93.
[2] Kelly B D, Hackett S F, Hirota k, *et al*. Cell type-specific regulation of angiogenic growth factor gene expression and induction of angiogenesis in nonischemic tissue by a constitutively active form of hypoxia-inducible factor 1[J]. Circ Res, 2003, 93(11): 1074 - 1081.
[3] Bos R, Zhong H, Hanrahan C F, *et al*. Levels of hypoxia-inducible factor-1α during breast carcinogenesis[J]. J Natl Cancer Inst, 2001, 93(4): 309 - 314.
[4] Lee Y C, Wu C T, Chen C S, *et al*. The significance of E-cadherin and alpha-, beta-, and gamma-catenin expression in surgically treated non-small cell lung cancers of 3 cm or less in size[J]. J Thorac Cardiovase Surg, 2002, 123(3): 502 - 507.
[5] Koksal I T, Ozcon F, Kilicaslan I, *et al*. Expression of E-cadherin in prostate cancer in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: correlation with pathological features[J]. Pathology, 2002, 34(3): 233 - 238.
[6] Imai T, Horiuchi A, Wang C, *et al*. Hypoxia attenuates the expression of E-cadherin *via* up-regulation of SNAIL in ovarian carcinoma cells[J]. Am J Pathol, 2003, 163(4): 1437 - 1447.

(编辑 张大春)

文章编号:1000-5404(2005)10-1029-01

个案与短篇

颈动脉鞘金属异物取出术1例

A case report of removal of metal foreign body in carotid sheath

周亚光,任 黎 (成都军区昆明总医院耳鼻咽喉科,昆明 650032)

颈部外露,易受到外界致伤因子的损伤,引起异物存留,需及时取出;有关颈动脉鞘金属异物取出术报道较少见,尤其是嵌入颈内静脉壁的金属片异物取出。我科于2003年8月收治嵌入颈内静脉壁金属异物1例,现报告如下。

1 病例介绍

患者,男,30岁,因施工中不慎被金属片击伤右侧颈部,自当地医院行异物取出术,未取出;转诊我科,自诉有刺激性咳嗽,吞咽正常,查体:体温:36.8 ℃,右侧颈部呈"Z"形切口,缝线在位,伤口对合好,无感染体征。术前行颈部X线正、侧位片,见异物位于C_6下缘,颈部血管造影示多属异物与右颈总动脉、右甲状总干及右侧锁骨下动脉毗邻,以上动脉无阻流征;CT扫描示与右颈内静脉毗邻。

术前血常规、凝血功能、生化、肝功、胸片及心电图正常,各项检查无手术禁忌证。遂于全麻下行右侧颈动脉鞘解剖+金属异物取出术:自舌骨水平至右侧锁骨上缘,沿右侧胸锁乳突肌前缘切开皮肤及皮下组织,解剖右侧颈动脉鞘;术中发现环状软骨段颈动脉鞘周围有大量明胶海绵填充,C_5-C_6段颈动脉鞘及邻近组织有机化灶,术中借助定位X线透视确定异物位于此段;越过此段,向下解剖颈动脉鞘至右侧锁骨上缘;在C_6相

(下转1032页)

作者简介:周亚光(1974-),男,湖北省潜江市人,硕士,主治医师,主要从事血液循环障碍外科性运输方面的研究。电话:(0871)3073697,E-mail:cgzhou@yahoo.com.cn

收稿日期:2004-05-24;修回日期:2004-07-09