恶性肿瘤的分子诊断 文章编号:0253-3626(2011)06-0657-03

缺氧诱导因子-1α在胃腺癌的表达及临床意义

刘海燕[1],沈 雷[2],张 鹏[2],李静平[2],纪 亮[2]

(1.齐齐哈尔医学院病理学系微形态实验中心,齐齐哈尔 161006;2.齐齐哈尔医学院基础医学院解剖教研室,齐齐哈尔 161006)

【摘 要】目的:探讨缺氧诱导因子-1α(Hypoxia inducible factor-1,HIF-1α)表达与胃腺癌临床病理特征两者间的相关性。方法:应用免疫组织化学方法,检测63例胃腺癌组织、癌旁组织及正常组织中HIF-1α的表达。结果:HIF-1α蛋白在胃黏液腺癌组织的阳性率明显高于癌旁区组织、正常组织,差异具有显著性($P<0.05$);在胃黏液腺癌组织中,随着组织学病理分级的增加、临床分期的进展和淋巴结的转移,HIF-1α蛋白表达阳性率逐渐上升,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论:HIF-1α表达与胃癌浸润、淋巴结转移和肿瘤大小有关,参与胃癌的发生和发展;HIF-1α可作为判断胃癌患者生物学行为及预后的指标之一,也为临床提供靶向治疗的方向。

【关键词】缺氧诱导因子-1α;缺氧;转移;胃腺癌

【中国图书分类法分类号】R735.3 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-03-07

作者介绍:刘海燕(1972-),女,实验师,

研究方向:肿瘤血管转移途径的分子基础。

基金项目:2010年黑龙江省教育厅科学技术研究面上项目(编号:11551549)。

胞的凋亡。因此深入研究DKK-1与Wnt/β-catenin信号传导通路在肺癌中的作用,将为肺癌的治疗提供新的靶点。

参 考 文 献

[1] Semënov M V,Zhang X,He X.DKK1 antagonizes Wnt signaling without promotion of LRP6 internalization and degradation[J].J Biol Chem,2008,283(31):21427-21432.

[2] Sato H,Suzuki H,Toyota M,et al.Frequent epigenetic inactivation of DICKKOPF family genes in human gastrointestinal tumors[J].Carcinogenesis,2007,28(12):2459-2466.

[3] Lee J,Yoon Y S,Chung J H.Epigenetic silencing of the Wnt antagonist DICKKOPF-1 in cervical cancer cell lines[J].Gynecol Oncol,2008,109(2):270-274.

[4] Vibhakar R,Foltz G,Yoon J G,et al.Dickkopf-1 is an epigenetically silenced candidate tumor suppressor gene in medulloblastoma[J].Neuro Oncol,2007,9(2):135-144.

[5] Suzuki H,Toyota M,Carraway H,et al.Frequent epigenetic inactivation of Wnt antagonist genes in breast cancer[J].Br J Cancer,2008,98(6):1147-1156.

[6] Suzuki R,Onizuka M,Kojima M,et al.Preferential hypermethylation of the Dickkopf-1 promoter in core-binding factor leukaemia[J].Br J Haematol,2007,138(5):624-631.

[7] Licchesi J D,Westra W H,Hooker C M,et al.Epigenetic alteration of Wnt pathway antagonists in progressive glandular neoplasia of the lung[J].Carcinogenesis,2008,29(5):895-904.

[8] Koppen A,Ait-Aissa R,Hopman S,et al.Dickkopf-1 is down-regulated by MYCN and inhibits neuroblastoma cell proliferation[J].Cancer Lett,2007,256(2):218-228.

[9] Yi N,Liao Q P,Li T,et al.Novel expression profiles and invasiveness-related biology function of DKK1 in endometrial carcinoma[J].Oncol Rep,2009,21(6):1421-1427.

[10] Wirths O,Waha A,Weggen S,et al.Overexpression of human Dickkopf-1,an antagonist of wingless/WNT signaling,in human hepatoblastomas and Wilms' tumors[J].Lab Invest,2003,83(3):429-434.

[11] Mikheev A M,Mikheeva S A,Rostomily R,et al.Dickkopf-1 activates cell death in MDA-MB435 melanoma cells[J].Biochem Biophys Res Commun,2007,352(3):675-680.

[12] Daniels D L,Weis W I.Beta-catenin directly displaces Groucho/TLE repressors from Tcf/Lef in Wnt-mediated transcription activation[J].Nat Struct Mol Biol,2005,12(4):364-371.

[13] Pirinen R T,Hirvikoski P,Johansson R T,et al.Reduced expression of alpha-catenin,beta-catenin,and gamma-catenin is associated with high cell proliferative activity and poor differentiation in non-small cell lung cancer[J].J Clin Pathol,2001,54(5):391-395.

[14] Benetti R,Copetti T,Dell'Orso S,et al.The calpain system is involved in the constitutive regulation of beta-catenin signaling functions[J].J Biol Chem,2005,280(23):22070-22080.

[15] Mikheev A M,Mikheeva S A,Liu B,et al.A functional genomics approach for the identification of putative tumor suppressor genes:Dickkopf-1 as suppressor of Hela cell transformation[J].Carcinogenesis,2004,25(1):47-59.

(责任编辑:冉明会)

Expression of hypoxia inducible factor-1α in human gastric adenocarcinoma and it's clinical significance

LIU Hai-yan[1], SHEN Lei[1], ZHANG Peng[2], LI Jing-ping[2], JI Liang[2]

(1. Microorganism Experimental Center of Department of Pathology; 2. Department of Anatomic, College of Basic Medicine, Qiqihar Medical University)

【Abstract】*Objective*: To observe the relativity between the expression of HIF-1α and the pathological clinical characteristics of gastric adenocarcinoma. *Methods*: To detect the expression of HIF-1α in the 63 normal gastric tissues and gastric adenocarcinoma using immunohistochemistry. *Results*: The positive rate of HIF-1α protein in gastric adenocarcinoma were apparently higher than the adjacent mucosa and normal gastric tissues ($P<0.05$). In gastric adenocarcinoma, along with the increase of histopathological grading, the advances of clinical staging, the metastasis of lymph node, the positive rate of HIF-1α protein increased gradually ($P<0.05$). *Conclusion*: The expression of HIF-1α were related to invasion of gastric cancer、the metastasis of lymph node、the size of the tumor. It may be taken as an index for evaluating carcinogenesis, progression, biological behaviors and prognosis of gastric carcinoma, and it may provide the way for clinical targeting treatment.

【Key words】hypoxia inducible factor-1(HIF-1α); hypoxia; metastasis; gastric adenocarcinoma

对缺氧的耐受性和新生血管的形成是实体瘤发生、发展和转移过程中不可缺少的两个方面，在缺氧环境中肿瘤细胞多基因表达，其中缺氧诱导因子-1α(Hypoxia inducible factor-1, HIF-1α)是细胞缺氧耐受的主要调节因子之一，HIF-1α 在维持肿瘤细胞对缺氧微环境的自身调节和促进肿瘤细胞浸润、转移机制中起主要作用[1]。血管生成是肿瘤恶性转化、生长和转移的生物学基础与重要环节。本研究将采用免疫组化技术观察胃黏液腺癌癌区组织、癌旁区组织、手术切缘区正常组织中 HIF-1α 蛋白的关系，进一步探讨 HIF-1α在胃黏液腺癌转移机制中的作用及与肿瘤分期的关系。

1 材料和方法

1.1 资料

选择齐齐哈尔医学院第三附属医院 2004 年 5 月-2007 年 2 月手术切除，病理确诊为胃黏液腺癌标本 63 例，所有患者术前均没有接受化疗，其中男性 38 例，女性 25 例，年龄在 34~77 岁之间，平均年龄为 55.5 岁（均知情同意），发生淋巴结转移 27 例，肝脏转移 23 例，组织学分级Ⅰ级有 17 例，Ⅱ级有 25 例，Ⅲ级有 21 例。每例均取癌组织、癌旁组织（距肿瘤边缘 1~2 cm）、手术切缘正常组织（距肿瘤边缘>8 cm）各一块。

1.2 方法

手术标本常规甲醛固定，24 h 内取材，鼠抗人 HIF-1α多克隆抗体和免疫组化试剂盒均购于晶美生物技术有限公司。采用免疫组织化学 SP 法染色，基本步骤严格按试剂盒说明书进行。用已知的胃癌阳性切片作为阳性对照，PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判断

组织样本采用双盲法进行鉴定，染色结果按 HIF-1α 所占上皮细胞百分比计算免疫反应[2]：阴性（0~10%），弱（10%~30%），中度（30%~60%），强（>60%）。样本显示，HIF-1α 表达于肿瘤上皮细胞的细胞核。

1.4 统计学处理

数据分析采用 SPSS11.5 软件，根据数据类型分别采用 χ^2 检验，t 检验和方差分析。$P<0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 胃黏液腺癌各组织中 HIF-1α 表达

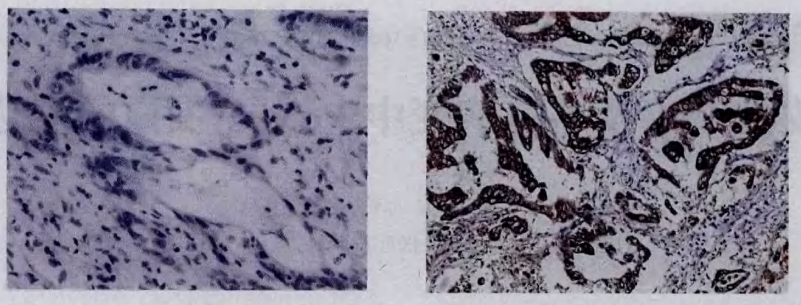
63 例胃黏液腺癌切缘区正常组织的 HIF-1α 表达皆为阴性；17 例Ⅰ级和 25 例Ⅱ级胃黏液腺癌病例中 HIF-1α 表达阳性的为 27 例（64.3%）；21 例Ⅲ级胃黏液腺癌病例中，18 例（85.7%）HIF-1α 表达阳性，组间比较差异具有统计学意义（$P<0.01$），见表 1、图 1。

2.2 HIF-1α 蛋白表达与胃黏液腺癌临床病例特征的关系

在胃黏液腺癌中，随着组织学病理分级的增加、临床分期的进展和淋巴结的转移，HIF-1α 蛋白表达阳性率则逐渐上升，差异有统计学意义（$P<0.01$），HIF-1α 表达与肿瘤大小无关（$P>0.05$），见表 2。

3 讨 论

HIF-1α 是缺氧条件下存在于人体内的一种异源二聚体核转录因子。因血管内皮生长因子（Vascular endothelial growth factor, VEGF）是其重要靶基因，故 HIF-1α 被认为是肿瘤血管生成环节中的中心启动子。研究已证明，HIF-1α 在大多数实体癌中呈过度表达[3]。更重要的是：有研究发现，一些癌前病变如宫颈内皮瘤和早期肿瘤如淋巴结阴性的乳腺癌、早期宫颈癌、卵巢癌等组织中过度表达的 HIF-1α 是肿瘤侵袭性的标志物之一[4]。本研究中胃黏液腺癌癌区组织中 HIF-1α表达均显著高于癌旁区、切缘区，提示 HIF-1α 可能在胃黏液



A. 阴性对照组　　B. 阳性实验组

图 1　HIF-1α 在胃腺癌的表达（SP 染色×100）

表 1　胃黏液腺癌各组织中 HIF-1α 表达

组织学分级	例数	癌区		癌旁区	
		阳性	阴性	阳性	阴性
Ⅰ	17	11*（64.7%）	6（35.3%）	4*（23.5%）	13（76.5%）
Ⅱ	25	16□（64.0%）	9（36.0%）	6□（24.0%）	19（76.0%）
Ⅲ	21	18▲（85.7%）	3（14.3%）	5▲（23.8%）	16（76.2%）

注：*，$P<0.01$；□，$P<0.01$；▲，$P<0.01$

表 2　胃黏液腺癌临床病例特征与 HIF-1α 蛋白表达的关系

项目		例数	HIF-1α 蛋白阳性	率（%）	P
肿瘤直径	<5 cm	36	23	63.9	0.850
	>5 cm	27	17	62.7	
淋巴结转移	有	27	21	77.8	0.028
	无	36	17	47.2	
组织学分级	Ⅰ	17	5	29.4	0.007
	Ⅱ	25	16	64.0	
	Ⅲ	21	18	85.7	
临床分期	Ⅰ期	12	5	41.6	0.021
	Ⅱ期	29	20	68.9	
	Ⅲ期	22	18	81.8	

腺腺癌癌变中起一定作用。同时，HIF-1α 表达随胃黏液腺癌肿瘤分期的增加而升高，则提示其在肿瘤进展、转移中起重要作用。HIF-1α 蛋白在临床晚期、低分化、有腹水的胃黏液腺癌中阳性表达较高，说明肿瘤生长迅速往往导致肿瘤组织的血液供应不足而发生缺血性坏死，诱导 HIF-1α 蛋白的阳性表达。

在胃黏液腺癌的生长、血管转移中 HIF-1α 使肿瘤耐受缺氧环境，另一方面 HIF-1α 又刺激肿瘤血管生成[5]；癌细胞及间质细胞分泌蛋白酶不仅通过降解细胞外基质和基底膜，促进肿瘤的侵袭转移，而且也可以促进肿瘤组织中新生血管的形成，增强了肿瘤侵袭能力和转移能力。但是，随着肿瘤的迅速生长，常导致瘤体组织的血液供应不足而发生缺血性坏死，造成了局部缺氧的微环境，又诱导 HIF-1α 蛋白的阳性表达。如此重复，导致 HIF-1α、促血管因子等相互影响关系，在胃黏液腺癌血管生成和侵袭、转移中具有双重作用。

所以通过抑制 HIF-1α 活性抗胃癌血管生成，从而抑制胃癌的生长和转移具有重要意义，可以预见，以 HIF-1α 为靶点的治疗将为胃黏液腺癌的治疗开辟一条新的途径。

参 考 文 献

[1] 樊利芳，刁路明，陈德基，等.肺癌组织中 HIF-1α 的表达及其凋亡和增殖的关系[J].癌症，2002，21(3)：254-258.

[2] Sehgal G，Hua J.Requirement of matrix metalloproteinase-9(glatinase B)expression in metastasis by murine pros-trate carcinoma[J].Am J Pathol，1998，152：591-599.

[3] John A，Tuszynki G.The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis[J].Pathol Oncol Res，2001，7(1)：14-23.

[4] 孙　琳，史炼钢，胡　祥，等.转化生长因子 β1 在 Borrmann Ⅳ型胃癌侵袭、转移中的作用[J].中国医师进修杂志，2006，29(15)：34-36.

[5] Zagzag D，Lukyanov Y，Lan L，et al.Hypoxia-inducible factor 1 and VEGF upregulate CXCR4 in glioblastoma:implications for angiogenesis and glioma cell invasion[J].Lab Invest，2006，86：1221-1232.

（责任编辑：关蕴良）