

缺氧诱导因子-1 与血管内皮生长因子在非小细胞肺癌中的表达及意义

王小莉, 万毅新, 张启昆

Expression and Significance of HIF-1 and VEGF in Non-small Cell Lung Cancer

WANG Xiao-li, WAN Yi-xin, ZHANG Qi-kun

Department of Respiratory, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China

Abstract: **Objective** We examined the expression of HIF-1 gene and its relationship with VEGF protein in non-small lung cancer. **Methods** Immunohistochemical was used to examine the expression of HIF-1 and VEGF in 68 NSCLC tissue section. **Results** Positive HIF-1 and VEGF expression was noted 62% and 69.1% in 68 NSCLC tissue section respectively. In 20 cases of non-malignant tissue sections, HIF-1 expression was not detected and VEGF expression was only in 2 cases. The result showed: (1) there was no significant difference among age, sex, histopathological type, tumor size ($P > 0.05$). (2) Tumor differentiation, lymph node metastasis and TNM stage correlated with the expression of HIF-1 and VEGF ($P < 0.01$). (3) HIF-1 level positively correlated with VEGF level ($P < 0.01$). **Conclusion** The detection of VEGF and HIF-1 play an important role in prognosis and treatment of NSCLC.

Key words: Non-small cell lung cancer; Hypoxia-inducible factor 1 alpha; Vascular endothelial growth factor; Immunohistochemical

摘要: **目的** 探讨非小细胞肺癌中缺氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor 1 alpha, HIF-1) 的表达及其与血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的关系。 **方法** 采用免疫组织化学方法检测非小细胞肺癌组织中 HIF-1 和 VEGF 的表达。 **结果** 68 例非小细胞肺癌组织中 HIF-1 和 VEGF 的表达的阳性率分别为 62% 和 69.1%, 20 例正常肺组织 HIF-1 不表达, VEGF 阳性仅 2 例。 HIF-1 和 VEGF 的表达结果显示: (1) 与性别、年龄、病理类型、肿瘤大小无显著性差异 ($P > 0.05$); (2) 与分化程度、淋巴结转移、临床分期有显著性差异 ($P < 0.01$); (3) HIF-1 和 VEGF 的表达呈正相关 ($P < 0.01$)。 **结论** HIF-1 和 VEGF 联合检测对于肺癌的预后及治疗有一定的指导作用。

关键词: 非小细胞肺癌; 缺氧诱导因子-1; 血管内皮生长因子; 免疫组织化学

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)08-0487-03

0 引言

血管生成在肿瘤的发生、生长、侵袭及转移中起着重要作用,大量研究已证实血管内皮生长因子是刺激肿瘤血管生成最关键的生长因子^[1]。HIF-1 是缺氧条件下肿瘤细胞产生的一种核转录因子,在肿瘤血管生成中起着核心调控作用,调节包括 VEGF 在内的众多靶基因的表达。

1 资料和方法

1.1 资料 68 例 NSCLC 组织取自兰州大学第二医院病理科 2000 ~ 2003 年间保存的手术后石蜡标本。其中男性 53 例,女性 15 例,平均年龄 58 岁 (38 ~ 75 岁),按组织学分型:鳞癌 40 例,腺癌 22 例,大细胞癌 6 例。根据 WHO 肺癌分级程度:高分化 24 例,中分化 24 例,低分化 20 例。按国际抗癌联盟

(UICC) 1997 年肿瘤 TNM 分期标准: 期 20 例, 期 36 例, ~ 期 12 例。有淋巴结转移 38 例。20 例正常肺组织取自尸检中无肺疾病的肺组织。所有患者均未接受放化疗。

1.2 试剂 VEGF、HIF-1 抗体、免疫组化 SABC 检测盒均购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 免疫组化 SABC 法 步骤均按照 SABC 试剂盒的说明进行,VEGF 的工作浓度为 1:100, HIF-1 为 1:50。

1.4 结果判定 HIF-1 蛋白以细胞核或胞浆内有棕黄色细颗粒为阳性,肿瘤细胞无阳性反应为阴性(-),高倍镜下($\times 400$)对每张切片随机选择 5 个视野计数 200 个细胞/视野,共计 1000 个,阳性细胞数 $< 1\%$ 为阴性(-),阳性细胞数 $1\% \sim 10\%$ 为弱阳性(+), $11\% \sim 50\%$ 为中度阳性(++), $> 50\%$ 为强阳性(+++)。VEGF 染色判定按切片中着色细胞数量的比率分类: $< 10\%$ 为阴性, 10% 为阳性。

收稿日期:2004-11-29;修回日期:2005-03-24

作者单位:730030 兰州大学第二医院呼吸内科

1.5 统计学处理 应用 SPSS 8.0 统计软件对数据进行统计学处理,采用 χ^2 检验和秩和检验。相关性采用 Spearman 等级相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 HIF-1 阳性反应为棕黄色颗粒,主要表达于胞核,胞浆也有表达,而在正常组织无表达。VEGF 阳性染色主要为细胞浆内出现棕黄色颗粒,正常肺组织 2 例呈弱阳性表达(见表 1)。68 例 NSCLC 组织中 HIF-1 的表达阳性率为 62% (42/68),其表达与肺癌组织不同分化程度、淋巴结转移、TNM 分期有显著性差异($P < 0.01$),与病理类型、年龄、性别、肿瘤大小无显著性差异($P > 0.05$)。VEGF 在 NSCLC 组织表达阳性率为 69.1% (47/68),其表达与肺癌组织不同分化程度、淋巴结转移、TNM 分期有显著性差异($P < 0.01$),与病理类型、年龄、性别、肿瘤大小无显著性差异($P > 0.05$) (见表 1、2)。

表 1 68 例 NSCLC 中 HIF-1 和 VEGF 临床因素的关系

项目	n	HIF-1				P*	VEGF		P#
		-	+	++	+++		-	+	
类型	癌组织	68	26	13	14	15	21	47	<0.01
	正常组织	20	20	0	0	0	18	2	<0.01
性别	男	53	20	8	12	12	16	37	>0.05
	女	15	6	4	2	3	5	10	>0.05
年龄	>65	48	18	10	9	11	14	34	>0.05
	<65	20	8	3	5	4	7	13	>0.05

注: * 为秩和检验, # 为卡方检验

2.2 68 例 NSCLC 组织中 HIF-1 和 VEGF 表达均阳性共有 37 例,经 Spearman 等级相关分析显示表达呈显著正相关($r = 0.488, P < 0.01$) (见表 3)。

3 讨论

恶性肿瘤在生长过程中,由于组织生长过快会造成局部严重缺氧和供能与耗能之间的不平衡。HIF-1 是缺氧条件下产生的一种异源二聚体转录因子,在缺氧诱导的基因表达中起着关键作用^[2]。HIF-1 主要由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 两个亚单位组成,其中 HIF-1 α 是唯一的氧调节亚单位,决定 HIF 的活性。缺氧条件下,肿瘤细胞内许多基因的转录和表达发生变化,从而对缺氧作出应激反应,这些基因被称为缺氧诱导基因(Hypoxia response gene, HRG),HRG 中受 HIF-1 调控的基因则称为 HIF-1 的靶基因。HIF-1 的靶基因涉及肿瘤细胞能量代谢、血管生成、肿瘤转移、离子代谢和儿茶酚胺代谢,VEGF 即是其中的一个靶基因。VEGF 作为最

表 2 68 例 NSCLC 中 HIF-1 和 VEGF 病理因素的关系

项目	n	HIF-1				P*	VEGF		P#
		-	+	++	+++		-	+	
肿瘤大小									
<3cm	11	4	2	3	2		3	8	
3cm	35	14	6	7	8	>0.05	11	24	
5cm	22	8	5	4	5		7	15	
病理分型									
鳞癌	40	16	9	7	8		10	30	
腺癌	22	8	3	5	6	>0.05	9	13	
大细胞癌	6	2	1	2	1		2	4	
TNM 分型									
Ⅰ期	20	14	3	2	1		12	8	
Ⅱ期	36	11	8	8	9	<0.01	8	28	
Ⅲ期	12	1	2	4	5		1	11	
淋巴结转移									
有	30	17	6	5	2	<0.01	16	14	
无	38	9	7	9	13		5	33	
分化程度									
高	24	15	5	3	1		14	10	
中	24	9	5	6	4	<0.01	5	19	
低	20	2	3	5	10		2	18	

注: * 为秩和检验; # 为卡方检验

表 3 68 例 NSCLC 中 HIF-1 和 VEGF 表达之间的关系

VEGF	HIF-1				P*
	-	+	++	+++	
-	16	2	2	1	<0.01
+	10	11	12	14	

注: * Spearman 等级相关分析

主要的血管生成因子,与肿瘤的发生、发展、浸润、转移和预后密切相关。HIF-1 可诱导促血管生成因子 VEGF 的表达,促进新生血管形成,给瘤细胞的侵袭和转移创造条件。

研究证实 HIF-1 在多数实体癌呈过度表达^[3]。Zhong 等^[4]发现乳腺癌、肺癌等组织中 HIF-1 呈不同程度的表达,在肿瘤附近正常组织中不能测及。本研究显示 68 例 NSCLC 组织 HIF-1 表达的阳性率为 62%,在肿瘤的坏死周围及肿瘤浸润边缘表达较强,正常肺组织中不表达,有淋巴结转移的肿瘤 HIF-1 表达高于无淋巴结转移组,提示 HIF-1 与肿瘤的生长及淋巴结转移有关。随 TNM 分期增加, HIF-1 表达率也相应增高,提示 HIF-1 表达与患者的预后有关,且分化程度愈低其表达愈高,提示 HIF-1 表达与肿瘤的恶性程度有关。

VEGF 能够增加血管通透性,导致血浆蛋白、纤维蛋白及液体经血管外渗,引起细胞外基质改变,促进血管形成和新基质形成,从而为肿瘤生长、侵袭和转移提供基础。王靖华等^[5]等应用免疫组化研究显示 VEGF 参与了肺癌新生血管形成并促进肿瘤转

移,可作为肿瘤转移和预后指标。在本研究中发现 VEGF 在 NSCLC 组织表达的阳性率为 69.1%,坏死区域及肿瘤浸润边缘呈强表达,与淋巴结转移、分化程度及 TNM 分期相关,提示 VEGF 阳性表达在肺癌患者中转移率高,分化程度差,有着较差的病理生物学行为,从而有助于判断预后。

现有关 HIF-1 和 VEGF 关系的研究主要在基础方面,Liu 等^[6]第一次证实了 HIF-1 促进 VEGF mRNA 的稳定表达。HIF-1 能够增加其下游的靶基因,如 VEGF 和糖酵解的基因表达,从而影响血管的发生和细胞的能量代谢^[7]。本研究结果显示:HIF-1 和 VEGF 的表达存在正相关关系,提示 HIF-1 有诱导血管生成的作用。故认为 HIF-1 可介导 VEGF 表达的上调,从而使血管的生成增加,促进肿瘤的生长和转移。

总之,HIF-1 和 VEGF 在肺癌的发生、发展中具有重要作用,联合检测 HIF-1 和 VEGF 有助于判断肿瘤的侵袭、淋巴结转移和预后。目前抗血管生成已成为治疗肿瘤的新途径,针对 HIF-1 和 VEGF 的药物及基因治疗策略可能为肺癌的治疗提

供一个新思路。

参考文献:

- [1] Kaio E, Tanaka S, Kitadai Y, et al. Clinical significance of angiogenic factor expression at the deepest invasive site of advanced colorectal carcinoma[J]. *Oncology*, 2003, 64(1): 61-73.
- [2] Bracken CP, Whitelaw ML, Peet DL. The hypoxia-inducible factors: Key transcriptional regulators of hypoxic responses [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2003, 60(7): 1376-1393.
- [3] Birner P, Schindl M, Obermair A, et al. Overexpression of hypoxia inducible factor-1 alpha is a maker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(17): 4693-4696.
- [4] Zhong H, Demarzo AM, Laughner E, et al. Overexpression of hypoxia inducible factor-1 alpha in common human cancer and their metastase[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(22): 5380-5385.
- [5] 王靖华,李桂圆,陈龙邦,等. VEGF、p53、MMP-2 在非小细胞肺癌的表达及与肿瘤血管生成和淋巴结转移关系的研究[J]. *肿瘤防治研究*, 2003, 30(1): 39-41.
- [6] Liu LX, Lu H, Luo Y, et al. Stabilization of vascular endothelial growth factor mRNA by hypoxia inducible factor 1 [J]. *Biochem Biophys Res immune*, 2002, 291(4): 908-914.
- [7] Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: Master regulator of O₂ homeostasis[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 1998, 8(5): 588-594.

[编辑:刘红武]