

吸烟对肾癌细胞上皮间质-转化的影响及意义

张涛¹, 张涛涛¹, 吴旺宇¹, 耿浩¹, 刘杰², 王弦³, 万阳⁴,
张志华⁵, 马嘉兴¹, 方露¹, 钱伟伟¹, 李恩来¹, 张志辉¹, 于德新¹

摘要 目的 比较吸烟对肾透明细胞癌患者肿瘤组织上皮-间质转化(EMT)过程中上皮标志蛋白[E-钙黏素(E-cadherin)]与间质标志蛋白[N-钙黏素(N-cadherin)和波形蛋白(vimentin)]表达的影响,分析吸烟暴露量和戒烟时间与EMT相关蛋白表达的关系。方法 本研究是以医院为基础的病例-病例研究。通过问卷调查患者吸烟情况后,选取肾透明细胞癌患者60例,其中吸烟(吸烟组)和非吸烟(非吸烟组)患者各30例。同时收集患者肿瘤组织标本,采用Western blot检测两组患者肾癌组织中E-cadherin、N-cadherin、vimentin蛋白表达水平;采用免疫组织化学(IHC)染色方法检测肾癌组织切片中E-cadherin、N-cadherin、vimentin蛋白染色并按染色强度和面积进行分级。结果 Western blot检测发现,吸烟组肾癌患者E-cadherin表达较非吸烟组下降($P < 0.05$),然而vimentin表达升高($P < 0.05$)。与吸烟 < 20 包-年组患者相比,吸烟 > 20 包-年组患者肾透明细胞癌组织中vimentin表达升高($P < 0.05$)。IHC结果表明,吸烟组和非吸烟组患者vimentin的IHC评分分别为(4.17 ± 1.05)和(3.17 ± 1.02),吸烟组评分高于非吸烟组($P < 0.01$)。与吸烟 < 20 包-年组患者相比,吸烟 > 20 包-年组患者肾癌组织中vimentin的IHC评分升高($P < 0.05$),而E-cadherin和N-cadherin蛋白的IHC评分差异无统计学意义。结论 吸烟能够诱导肾癌细胞发生EMT,并且EMT可能在吸烟诱导肾癌发生进展过程中发挥重要作用;高吸烟暴露量可以促使肾癌细胞发生EMT,吸烟对于EMT的诱导效应是长期存在的,短期戒烟对于EMT的发生可能无影响。

关键词 吸烟;肾透明细胞癌;上皮-间质转化;E-钙黏素;N-钙黏素;波形蛋白

中图分类号 R 737.11

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2019)11-1760-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.11.020

2019-07-18 接收

基金项目 安徽高校自然科学研究重点项目(编号: KJ2018A0209)

作者单位 安徽医科大学第二附属医院¹ 泌尿外科、³ 病理科,合肥 230601

² 芜湖市第一人民医院泌尿外科,芜湖 241060

⁴ 安徽医科大学第四附属医院病理科,合肥 236000

⁵ 安徽医科大学公共卫生学院,合肥 230032

作者简介 张涛,男,副主任医师,硕士生导师;

于德新,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: yudx_urology@126.com

肾癌是泌尿系统常见的恶性程度较高的肿瘤,发病原因复杂多样^[1]。吸烟是肾癌最为明确的危险因素,不仅可以增加肾癌的发生率,而且会影响肿瘤的分期^[2]。高强度、长时间的吸烟会增加罹患进展期肾癌的可能性,并对患者预后产生不利影响^[3],但目前具体分子机制尚不明确。本研究主要探讨吸烟对于肾脏透明细胞癌患者的肿瘤细胞上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的诱导作用,尝试从EMT的角度揭示吸烟促进肾癌发展演变的机制。

1 材料与方法

1.1 病例资料 本研究经安徽医科大学第二附属医院伦理委员会批准。选取了2017年12月~2019年2月于安徽医科大学第二附属医院确诊并于泌尿外科行手术治疗的肾透明细胞癌患者60例,吸烟患者(吸烟组)和非吸烟患者(非吸烟组)各30例。所有患者手术前没有进行新辅助靶向治疗或介入治疗,术前仔细询问患者的吸烟状态,如为吸烟患者,则需记录吸烟时间、吸烟量、是否戒烟和戒烟时间,并且规定戒烟 < 1 年的患者归入未戒烟组。手术标本离体后,立即留取癌组织和部分正常肾组织,送 -80°C 冰箱冻存。

1.2 主要试剂 鼠抗E-cadherin、鼠抗N-cadherin和兔抗vimentin抗体工作液、DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥公司;蛋白免疫印迹试验所用抗E-cadherin、抗N-cadherin、抗vimentin、抗3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)抗体购自美国Proteintech公司,稀释比例1:1 500;抗兔二抗购自南京巴傲德生物公司,稀释比例1:10 000。

1.3 试验方法

1.3.1 免疫组织化学染色(immunohistochemistry, IHC) 选取60例患者的蜡块,切片,常规方法脱腊、水化、抗原修复、滴加过氧化氢,放置室温10 min, PBS冲洗,滴加适量EMT标志性蛋白抗体试剂, 37°C 下孵育60 min, 冲洗去抗体,滴加合适剂量的二抗,置于室温20 min, 冲洗去二抗,加入DAB

显色液染色,观察染色程度,至合适深度后迅速用蒸馏水冲洗,结束染色,最后苏木精复染后封片。切片染色结果由两位高年资病理科医师分别进行判读,当判读结果不一致时,则请第三位病理科医师进行判读并做最终的判定。染色评估使用半定量计数法^[4]:光镜 100 倍下判断组织染色强度(0:无染色;1:低等强度染色;2:中等强度染色;3:强染色),然后在 400 倍下判断染色范围(0: < 5%; 1: 5% ~ 25%; 2: 26% ~ 75%; 3: > 75%)。把强度得分和范围得分相加得出最终免疫组化评分(0 ~ 6 分)。

1.3.2 蛋白免疫印迹试验(Western blot) 肾癌组织在 RIPA 缓冲液中置于组织研磨仪上裂解,BCA 法测定总蛋白浓度。质量相等的蛋白提取物经 SDS-PAGE 凝胶电泳然后转移到硝化纤维素膜上进行蛋白印记分析。其中以 GAPDH 作为内参。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组定量资料间采用非配对 t 检验,定性资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者人口学资料 共收集 60 例患者人口学资料,其中吸烟组和非吸烟组各 30 例。根据美国癌症联合会(American joint committee on cancer, AJCC) 2010 年肾癌分期标准,对肿瘤进行分期为 I、II、III、IV 期。根据患者病理结果对肿瘤进行分级,将 Fuhrman 和 WHO/ISUP 分级的 1、2 级统一为高分化,两者分级的 3 级统一为中分化,两者分级的 4 级统一为低分化。吸烟组患者的肿瘤最大径大于非吸烟组,且吸烟组肿瘤分期中 IV 期患者和肿瘤低分化患者都较非吸烟组多,吸烟组肿瘤分期的 I 期患者和肿瘤高分化患者都较非吸烟组少,但肿瘤分期和肿瘤分化的差异均无统计学意义,见表 1。患者吸烟情况见表 2。

2.2 E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 在吸烟组和非吸烟组肾透明细胞癌组织中的表达水平比较 在肿瘤组织中,Western blot 检测发现,吸烟组较非吸烟组 E-cadherin 表达下降($P < 0.05$),而 vimentin 表达升高($P < 0.05$)。吸烟组较非吸烟组 N-cadherin 表达有上调,但差异无统计学意义,见图 1。为了进一步检测 E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 在肾透明细胞癌组织中的表达,使用 IHC 方法检测三种蛋白的表达情况,见图 2。观察结果表明 E-cadherin 和 N-cadherin 染色于细胞膜着色较深,而 vimentin

于细胞质中着色较深。E-cadherin 在非吸烟组肾癌组织中高表达,在吸烟组肾癌组织中低表达;

表 1 两组肾癌患者人口学资料

分组	吸烟组 (n=30)	非吸烟组 (n=30)	χ^2/t 值	P 值
性别 [n(%)]			9.017	0.003
男	29(96.7)	20(66.7)		
女	1(3.3)	10(33.3)		
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	58.73 $\pm$ 11.91	60.20 $\pm$ 13.96	-0.439	0.663
肿瘤最大径(cm)	5.21 $\pm$ 2.87	4.69 $\pm$ 1.91	0.826	0.413
肿瘤分期(n)			5.934*	0.051
I	15	24		
II	5	2		
III	6	4		
IV	4	0		
肿瘤分级(n)			1.763#	0.185
高分化	16	21		
中分化	8	8		
低分化	6	1		

注: * 将 III 期和 IV 期肾癌患者合并进行统计分析; # 将中分化和低分化肾癌患者合并进行统计分析

表 2 两组肾癌患者的吸烟情况

吸烟状态	患者数	百分比(%)
吸烟	16	26.7
戒烟	14	23.3
不吸烟	30	50.0
吸烟时间(年)		
0	30	50.0
< 10	5	8.3
10 ~ 20	7	11.7
20 ~ 30	8	13.3
30 ~ 40	7	11.7
> 40	3	5.0
吸烟量(包/天)		
0	30	50.0
< 1	5	8.3
1	18	30.0
> 1	7	11.7
累计吸烟暴露(包-年)		
0	30	50.0
< 10	6	10.0
10 ~ 20	7	11.7
20 ~ 30	8	13.3
30 ~ 40	5	8.3
> 40	4	6.7
戒烟时长(年)		
不吸烟	30	50.0
> 30	1	1.7
20 ~ 30	3	5.0
10 ~ 20	5	8.3
1 ~ 10	5	8.3
未戒烟	16	26.7

注: 累计吸烟暴露(包-年) = 吸烟时间(年) $\times$ 吸烟量(包/天)

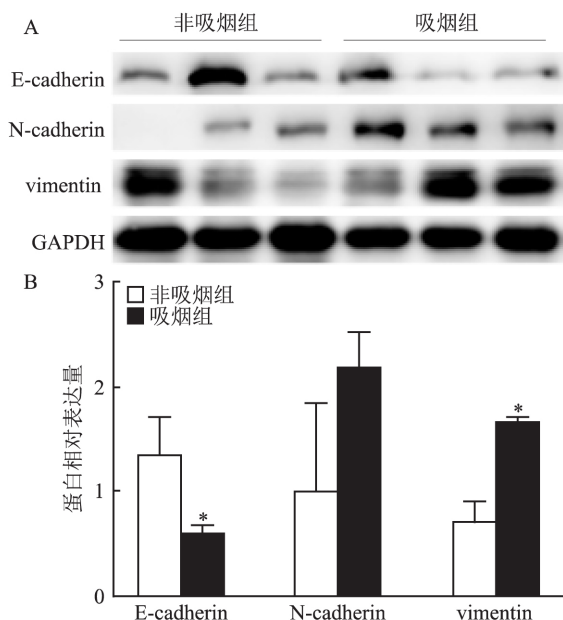


图1 Western blot 方法检测

非吸烟组和吸烟组肾透明细胞癌患者肿瘤组织

E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达水平

A: Western blot 检测蛋白表达结果; B: E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 蛋白相对表达量; 与非吸烟组比较: * $P < 0.05$

N-cadherin 和 vimentin 在非吸烟组肾癌组织中低表达,在吸烟组肾癌组织中高表达。吸烟组和非吸烟组患者的 E-cadherin 的 IHC 评分比较,吸烟组表达下调,但差异无统计学意义 ($P = 0.06$)。而吸烟组和非吸烟组患者 N-cadherin 的 IHC 评分表达差异无统计学意义。吸烟组和非吸烟组患者 vimentin 的 IHC 评分比较,吸烟组较非吸烟组表达升高 ($P <$

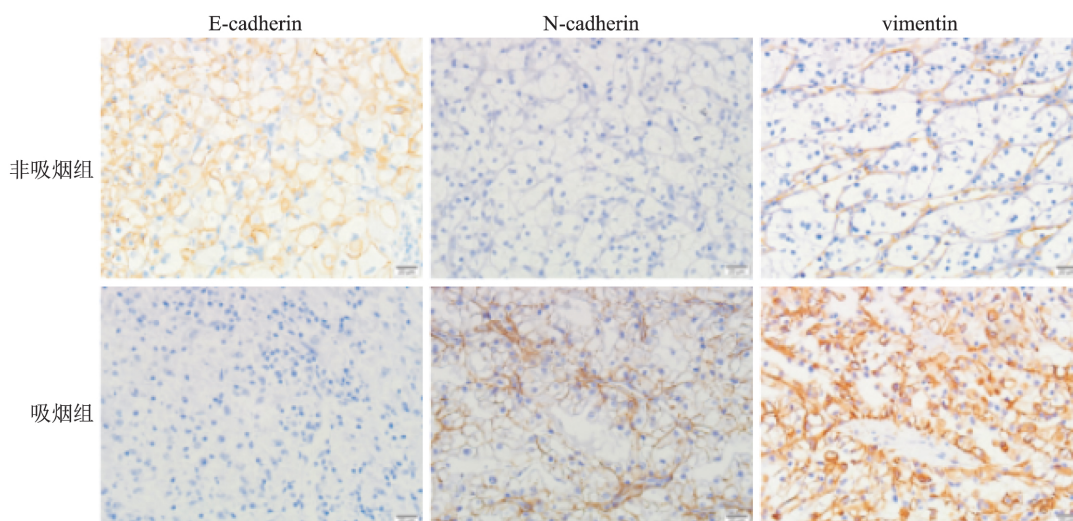
0.01),见图3。

2.3 吸烟状态与 E-cadherin、N-cadherin 及 vimentin 的 Western blot 检测结果的关系 吸烟组患者中,吸烟 < 20 包-年与吸烟 > 20 包-年患者分别为 13 例和 17 例,戒烟 > 10 年和戒烟 < 10 年者分别为 9 例和 21 例。与吸烟 < 20 包-年组患者相比,吸烟 > 20 包-年组患者肾透明细胞癌组织中 vimentin 表达升高 ($P < 0.05$),然而 E-cadherin 以及 N-cadherin 表达差异无统计学意义。与戒烟 > 10 年组患者比较,戒烟 < 10 年组患者肾癌组织中 E-cadherin、N-cadherin 以及 vimentin 表达差异均无统计学意义,见图 4A、B。

2.4 吸烟状态与 E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 的 IHC 评分的关系 与吸烟 < 20 包-年组患者相比,吸烟 > 20 包-年组的吸烟暴露时间较长的患者肾癌组织中 vimentin 的 IHC 评分升高 ($P < 0.05$),而 E-cadherin 和 N-cadherin 的 IHC 评分差异均无统计学意义。与戒烟 > 10 年组患者相比,戒烟 < 10 年组的吸烟患者肾癌组织中 E-cadherin、N-cadherin 以及 vimentin 的 IHC 评分差异无统计学意义。见图 4C、D。

3 讨论

肾癌的发病率逐年上升^[1],吸烟被认为是其发生发展最重要的危险因素^[5-8]。吸烟危害极大,烟草成分中含有多种致癌物,它们的燃烧产物可通过各种机制攻击细胞,从而呈网络状激活各条肿瘤相关的信号通路,导致肿瘤快速发生发展的结

图2 免疫组织化学方法检测非吸烟组和吸烟组肾透明细胞癌患者肿瘤组织 E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 蛋白染色 $\times 400$

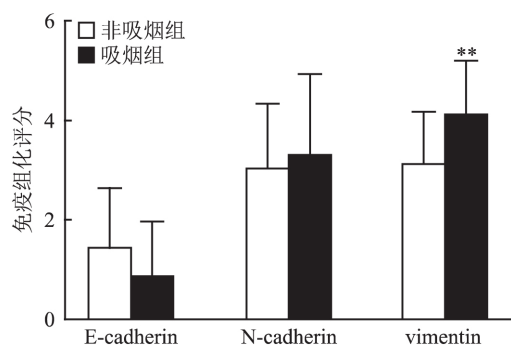


图3 免疫组织化学方法检测
非吸烟组和吸烟组肾透明细胞癌患者肿瘤组织
E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 蛋白染色评分
与非吸烟组比较: ** $P < 0.01$

局^[7]。但现有研究中,吸烟促进肾癌发展演变的研究多集中于流行病学领域。Kroeger et al^[8]对 802 例肾癌患者随访长达 232 个月,随后发现与不吸烟组比较,吸烟组肾癌患者具有相对更高的肿瘤分级,该组患者发生淋巴结转移和远处转移的风险更大,更重要的是,研究显示吸烟组患者的总生存时间和肿瘤特异性生存时间均较非吸烟组缩短,提示了吸烟对于肾癌可能存在的促进效应。虽有多位学者已经探明吸烟与肾癌进展存在关联性,但吸烟促进肾癌进展的具体分子机制仍然没有明确。

EMT 是首先发现于胚胎生长中的独特生理过

程。后来有研究^[9]显示 EMT 表型变化与上皮细胞转变,获得类似间质细胞运动和侵袭能力有关。有研究者在人正常膀胱上皮细胞和小鼠模型中均证实,上皮细胞发生 EMT 后会导致其细胞形态变化、增殖和侵袭能力显著增强^[9-11]。而蔡重阳等^[12]在人胰腺癌组织中研究发现,EMT 与胰腺癌的侵袭转移关系密切,胰腺癌组织中间质标志物表达升高,而上皮标志物的表达下降,并且二种标志物的表达水平与胰腺癌的分化程度、TNM 分期以及淋巴结转移状态等临床病理参数密切相关。近期有研究报告提出,EMT 与肿瘤的干细胞特性密切相关。Giordano et al^[13]研究表明,EMT 的诱导因子不仅诱导乳腺癌细胞 EMT 的发生,还会使癌细胞的干细胞特性得以增强。EMT 在肿瘤的发生、转移中发挥着不可或缺的作用,调控 EMT 可能成为今后治疗癌症复发转移的新策略^[14]。

在前期的体外细胞试验中,研究发现在人肾癌细胞系 ACHN 和 A498 中,香烟悬液可以诱导肾癌细胞发生 EMT,使肾癌细胞的形态、侵袭能力和 EMT 标志物的表达情况都发生了转变,而且发现 ERK5 可以通过调控下游转录因子 c-jun 和 c-fos 促进肾癌细胞 EMT 进程^[15]。而在本研究中,发现吸烟组肾癌患者较非吸烟组患者的肿瘤直径、肿瘤分期和肿瘤分级虽略有升高,但无统计学差异。同时

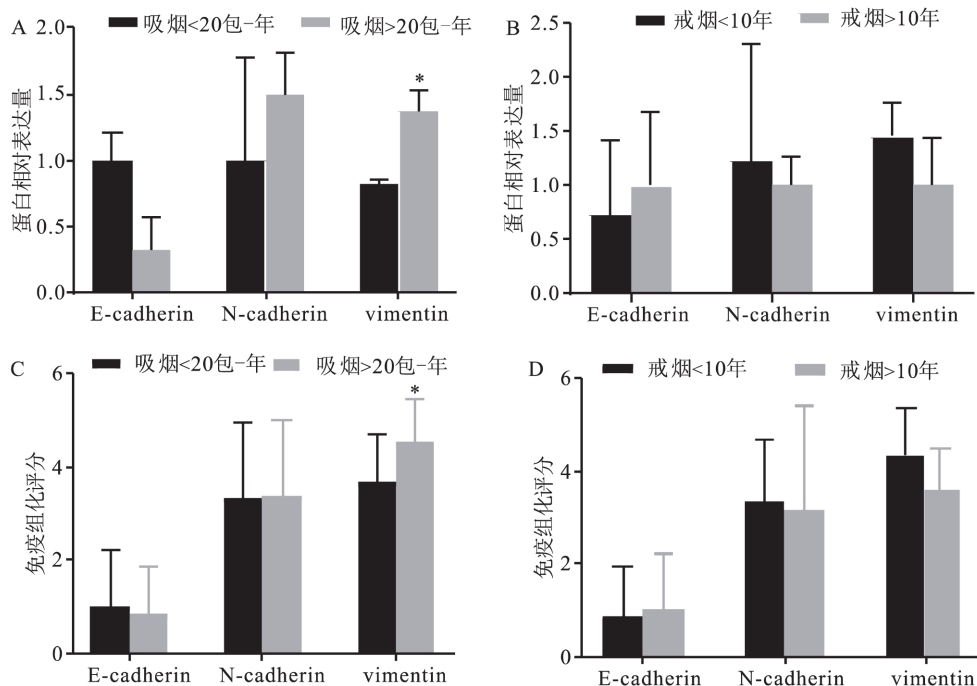


图4 吸烟状态与肾透明细胞癌患者肿瘤组织 E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达的关系
与吸烟组比较: * $P < 0.05$

在 Western blot 和 IHC 检测中均发现,吸烟组较非吸烟组患者 EMT 相关蛋白的表达发生了变化,结合体外细胞实验结果,认为吸烟可以诱导肾癌细胞发生 EMT,而 EMT 在吸烟诱导肾癌进展过程中可能发挥重要作用,但具体调控机制仍待进一步研究。同时 vimentin 的表达与吸烟总暴露量有相关性,说明总的吸烟暴露量是肾癌细胞发生 EMT 的重要影响因素。研究还显示吸烟患者中,戒烟 > 10 年组患者和 < 10 年组患者的 EMT 相关蛋白表达差异无统计学意义,说明吸烟对于肾癌组织发生 EMT 的诱导效应是长期存在的,短期戒烟对于 EMT 的发生可能无影响,而长期戒烟对于肾癌 EMT 的影响,因病例数量有限,研究尚难以深入开展。

本研究属于单中心的回顾性研究,收集的临床病例数量有限,未进行长时间的患者随访,缺乏肿瘤特异性生存期及总生存期等随访数据,但本研究使吸烟与 EMT 的关系在临床病例上得以呈现,并且初步的研究结果已经揭示了吸烟对肾癌组织 EMT 的诱导作用,与前期的体外细胞实验基本吻合。

参考文献

- [1] 韩苏军,王 栋,李长岭,等. 1998-2008 年中国肾癌发病趋势分析 [J]. 癌症进展,2018,16(10):46-9.
- [2] Tsivian M, Moreira D M, Caso J R, et al. Cigarette smoking is associated with advanced renal cell carcinoma [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(15):2027-31.
- [3] Kroeger N, Klatte T, Birkhauser F D, et al. Smoking negatively impacts renal cell carcinoma overall and cancer-specific survival [J]. Cancer,2012,118(7):1795-802.
- [4] Sugimoto M, Kohashi K, Itsumi M, et al. Epithelial to mesenchymal transition in clear cell renal cell carcinoma with rhabdoid features [J]. Pathobiology, 2016,83(6):277-86.
- [5] Cumberbatch M G, Rota M, Catto J W F, et al. The role of tobacco smoke in bladder and kidney carcinogenesis: a comparison of exposures and meta-analysis of incidence and mortality risks [J]. Eur Urol,2016,70(3):458-66.
- [6] Patel N H, Attwood K M, Hanzly M, et al. Comparative analysis of smoking as a risk factor among renal cell carcinoma histologic subtypes [J]. J Urol,2015,194(3):640-6.
- [7] Faux S P, Tai T, Thorne D, et al. The role of oxidative stress in the biological responses of lung epithelial cells to cigarette smoke [J]. Biomarkers,2009,14(sup1):90-6.
- [8] Thiery J P, Acloque H, Huang R Y, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease [J]. Cell,2009,139(5):871-90.
- [9] Yu D, Hao G, Liu Z, et al. Cigarette smoke induced urocytic epithelial mesenchymal transition via MAPK pathways [J]. Oncotarget,2017,8(5):8791-800.
- [10] Hao G, Li Z, Liang Z, et al. Cigarette smoke extract-induced proliferation of normal human urothelial cells via the MAPK/AP-1 pathway [J]. Oncol Lett, 2017,13(1):469-75.
- [11] Jie M, Hao G, Zhiqi L, et al. ERK5 regulates tobacco smoke-induced urocytic epithelial-mesenchymal transition in BALB/c mice [J]. Mol Med Rep, 2017, 15(6):3893-7.
- [12] 蔡重阳,汤志刚,黄 强,等. Peroxiredoxin 1 与 EMT 相关蛋白在胰腺癌组织中的表达及其临床意义 [J]. 安徽医科大学学报, 2015,50(3):368-72.
- [13] Giordano A, Gao H, Anfossi S, et al. Epithelial-mesenchymal transition and stem cell markers in patients with HER2-positive metastatic breast cancer [J]. Mol Cancer Ther,2012,11:2526-34.
- [14] Piva F, Giuliotti M, Santoni M, et al. Epithelial to mesenchymal transition in renal cell carcinoma: implications for cancer therapy [J]. Mol Diagn Ther, 2016, 20(2):111-7.
- [15] 刘 杰. ERK5 信号通路在吸烟暴露诱导的肾癌细胞上皮间质转化中的作用研究 [D]. 合肥:安徽医科大学,2017.

Effect and significance of smoking on epithelial-mesenchymal transition in clear cell renal cell carcinoma

Zhang Tao, Zhang Taotao, Wu Wangyu, et al

(Dept of Urology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To compare the expression of E-cadherin, N-cadherin and vimentin in renal cell carcinoma tissues between smokers and non-smokers. **Methods** 60 cases of patients with clear cell renal cell carcinoma were collected, including 30 cases of smoking samples and 30 cases of non-smoking samples. The expression of epithelial-mesenchymal transition(EMT) markers such as E-cadherin, N-cadherin and vimentin was detected by Western blot and immunohistochemistry in all patients. Then the relationship between smoking exposure and smoking cessation time and the expression level of EMT-related proteins was analyzed. **Results** Western blot results showed that the expression of E-cadherin in smoking group was much lower than that in non-smoking group($P < 0.05$), while

网络出版时间: 2019-9-19 10:05 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190917.1059.021.html>

KSHV K15P 及其突变体的慢病毒包装与稳定细胞株的筛选及其对内皮细胞增殖迁移的影响

周 畅¹, 许常青¹, 许方玮², 方 圆¹, 陈 伟¹, 文 志¹, 林 康¹, 王林定¹

摘要 目的 包装包含卡波肉瘤相关疱疹病毒(KSHV) K15P 及其突变体 K15P(YF) 基因的慢病毒颗粒,并对此基因在 EA.hy926 细胞内稳定表达进行研究。方法 通过 PCR 方法扩增获得 KSHV K15P、K15P(YF) 基因片段,使用限制性内切酶 Not I 与 BamH I 酶切和 TA 克隆法构建 T 载体与慢病毒表达载体 pHAGE-CMV-MCS-K15P-Puro、pHAGE-CMV-MCS-K15P(YF)-Puro,通过 lip2000 将构建好的慢病毒表达载体与两种辅助包装质粒 PSPAX2 和 pMD2.g 共转染 HEK 293T 细胞,48 h 后收集慢病毒。慢病毒感染 EA.hy926 细胞并通过嘌呤霉素筛选稳定表达株,Western blot 检测 K15P 与 K15P(YF) 蛋白的表达。Transwell 与 CCK8 实验检测 K15P 对内皮细胞的增殖迁移影响。结果 成功构建慢病毒表达载体,筛选出稳定表达 K15P、K15P(YF) 蛋白的 EA.hy926 细胞。在 EA.hy926 细胞 Transwell 迁移实验中,与空载体组和 K15P 突变体组(0.98 ± 0.23) 比较, K15P 组(2.25

± 0.15) 的 EA.hy926 细胞的迁移能力明显增强($P < 0.01$), 三组细胞迁移量差异有统计学意义($F = 113.5, P < 0.01$); CCK8 增殖活性实验中,与空载体组和 K15P(YF) 组(109.23 ± 12.58) 比较, K15P 组(138.69 ± 7.47) 的 EA.hy926 细胞的增殖能力明显增强($P < 0.01$), 三组细胞增殖活性差异有统计学意义($F = 40.78, P < 0.01$)。结论 K15P 蛋白增强了内皮细胞的增殖与迁移,而 K15P(YF) 突变体的促进细胞增殖迁移能力减弱,提示 K15P 蛋白可能在 KS 的发生发展中参与重要作用。

关键词 卡波肉瘤相关疱疹病毒; K15P; K15P(YF); 慢病毒; EA.hy926

中图分类号 R 394.3; R 373.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2019)11-1765-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.11.021

2019-06-24 接收

项目基金: 国家自然科学基金(编号:81271837); 安徽高校自然科学基金项目(编号: KJ2012A161); 安徽省自然科学基金(编号: 1708085MH193)

作者单位: ¹ 安徽医科大学微生物学教研室,合肥 230032

² 国际关系学院英语系,北京 100089

作者简介: 周 畅,男,硕士研究生;

王林定,男,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: wan-glinding@ahmu.edu.cn

卡波肉瘤(Kapos's sarcoma, KS) 是一种罕见的肿瘤,其特征是广泛的新生血管生成、炎性细胞浸润和内皮来源的非典型分化梭形细胞。KS 是由一种致癌的 γ 疱疹病毒卡波肉瘤相关疱疹病毒(Kapos sarcoma associated herpesvirus, KSHV) 又称人疱疹病毒-8(human herpes virus-8, HHV-8) 引起的。KSHV 于 1994 年由华裔科学家 Chang et al^[1] 在 KS 组织中发现该病毒。除 KS 之外它与原发渗液性淋巴瘤

the expression of vimentin was significantly higher($P < 0.05$). And the expression of vimentin of renal cancer tissues was significantly higher in the group of smoking > 20 pack-years than that in the group of smoking < 20 pack-years($P < 0.05$). Meanwhile, IHC staining showed that the IHC scores of vimentin in smoking group and non-smoking group were (4.17 ± 1.05) and (3.17 ± 1.02), respectively, which revealed that the expression of vimentin in smoking group was significantly higher than that in non-smoking group($P < 0.01$). In addition, the IHC score of vimentin in renal cancer patients with smoking > 20 pack-years group was significantly higher than that of patients with smoking < 20 pack-years group($P < 0.05$). Nevertheless, the difference in E-cadherin and N-cadherin's IHC scores between smoking and non-smoking group was not significant. **Conclusion** Smoking induced EMT in tumor cells of renal cancer patients, and EMT may play an important role in the progression of smoking-induced renal cell carcinoma. Total smoking exposure is an independent factor in the development of EMT in renal cancer. The induction effect of smoking on EMT is long-term, and short-term smoking cessation make no difference to EMT.

Key words smoking; clear cell renal cell carcinoma; epithelial-mesenchymal transition; E-cadherin; N-cadherin; vimentin