

HIF-1 α 、Survivin 在非小细胞肺癌中的表达

聂 弘¹ 高从荣¹ 赵 敏² 王 琪² 邹 强² 万 军³

摘要 目的 探讨缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、凋亡相关蛋白 Survivin 在非小细胞肺癌(NSCLC) 中的表达及其与临床病理特征的关系, 以及两种蛋白的相关性。方法 采用免疫组化法检测 52 例 NSCLC 组织及 20 例癌旁组织中 HIF-1 α 和 Survivin 的表达。结果 NSCLC 组织中 Survivin、HIF-1 α 的阳性表达率分别为 69% (36/52) 和 59% (31/52) 均高于癌旁组织。HIF-1 α 、Survivin 的表达与肿瘤临床分期及淋巴结转移病理分级相关($P < 0.05$)。HIF-1 α 的表达与 Survivin 表达($r = 0.406$, $P < 0.05$) 呈正相关。结论 在非小细胞肺癌组织中 HIF-1 α 、生存素表达明显高于癌旁组织; HIF-1 α 和 Survivin 在肿瘤发生、发展过程中存在相互作用并与非小细胞肺癌发展及预后密切相关。

关键词 缺氧诱导因子-1 α ; 生存素; 非小细胞肺癌

中图分类号 R 655.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)11-1674-03

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC) 是肺癌最常见类型, 约占肺癌的 80%, 其 5 年生存率仅 15% 左右^[1], 国内有研究者报道缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)、Survivin 在多种恶性肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移过程中起着重要作用, 并且 HIF-1 α 和 Survivin 的过表达与多种恶性肿瘤的生物学行为密切相关^[2-3]。该研究采用免疫组化法检测 52 例 NSCLC 组织及 20 例癌旁正常组织中 HIF-1 α 和 Survivin 的表达情况, 探讨两者与 NSCLC 临床病理特征的关系, 并对 HIF-1 α 与 Survivin 之间有无相关性进行分析, 探讨两者与 NSCLC 发生发展及预后的关系, 以期为 NSCLC 治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取 2012 年 11 月~2015 年 4 月安徽省合肥市第二人民医院胸心外科收治确诊为

2015-08-01 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1208085QH159)

作者单位: 安徽医科大学附属合肥医院(合肥市第二人民医院)¹ 胸心外科、² 病理科, 合肥 230011

³安徽医科大学第一附属医院胸外科, 合肥 230022

作者简介: 聂 弘, 男, 副主任医师, 责任作者, E-mail: hfzyywkn@126.com

NSCLC 的 52 例术后石蜡包埋标本, 其中男 30 例, 女 22 例; 年龄 44~76(54.8 ± 10.9) 岁。其中鳞癌 34 例, 腺癌 18 例, 按 2009 年(UICC) 肺癌的 TNM 分期标准进行临床分期: I 期患者 8 例, II 期患者 23 例, III 期患者 21 例; 52 例患者中伴有淋巴结转移 36 例, 无淋巴结转移患者 16 例。术前均未接受过化疗、放疗或免疫治疗, 所有病例均有完整的临床资料及随访资料。对照组取 20 例手术癌旁 5 cm 以外肺组织。

1.2 免疫组化法检测步骤 采取 SP 两步法, 按照试剂盒说明书严格执行。兔抗人 Survivin 多克隆抗体及兔抗人 HIF-1 α 多克隆抗体、DBA 试剂盒均由安科生物技术公司提供。应用德国病理图像分析仪进行观察和显微照相。Survivin 的阳性产物主要表达于细胞质, 少数在细胞核表达。HIF-1 α 阳性细胞全部为细胞质染色, 根据阳性肿瘤细胞占肿瘤细胞总数的比例分为: Survivin 阳性细胞数 < 10% 为阴性(-), 10%~25% 为弱阳性(+), 26%~50% 为中度阳性(++), > 50% 为强阳性(+++), (+ ~ ++) 均视为阳性表达。HIF-1 α 阳性细胞数 < 1% 为阴性(-), 1%~10% 为弱阳性(+), 11%~50% 为中度阳性(++), > 50% 为强阳性(+++)。所有结果判断均有两名病理科医师采取盲法分别判断。

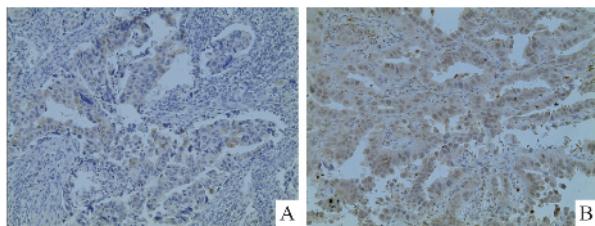
1.3 统计学处理 应用 SPSS 16.0 统计软件进行分析, 计量资料采用 χ^2 检验, 其中两组样本间率的比较采用四格表资料的检验; 多组样本间率的比较采用行 × 列表资料检验。

2 结果

2.1 Survivin 及 HIF-1 α 在 NSCLC 中的表达情况

免疫组化染色显示 Survivin、HIF-1 α 均表达于 NSCLC 组织的细胞质中, 阳性表达率均为 69.0% (36/52)。

2.2 HIF-1 α 、Survivin 在 NSCLC 与癌旁正常肺组织中表达的比较 Survivin、HIF-1 α 总阳性表达率分别为 69.0% (36/52)、59.6% (31/52), 二者表达率在 NSCLC 与癌旁正常肺组织间差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

图1 Survivin 及 HIF-1 α 在 NSCLC 中的表达情况 DAB \times 400A: Survivin; B: HIF-1 α 表1 Survivin、HIF-1 α 在 NSCLC、癌旁正常肺组织中的表达(n)

组织来源	Survivin		χ^2 值	P 值	HIF-1 α		χ^2 值	P 值
	阳性	阴性			阳性	阴性		
NSCLC	36	16	17.11	0.00	31	21	5.07	0.02
癌旁组织	3	17			6	14		

2.3 HIF-1 α 、Survivin 表达水平与 NSCLC 患者临床病理特征的关系 HIF-1 α 表达阳性率与组织的淋巴结转移($P < 0.05$)、分化程度($P < 0.01$)及 TNM 分期有关($P < 0.05$)。NSCLC 组织中 Survivin 表达阳性率与患者的性别、年龄无关($P > 0.05$)，而与癌组织的淋巴结转移($P < 0.01$)、分化程度($P < 0.05$)及 TNM 分期有关($P < 0.01$)。见表 2。

表2 Survivin、HIF-1 α 的表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	Survivin				HIF-1 α			
	阳性	阴性	χ^2 值	P 值	阳性	阴性	χ^2 值	P 值
性别								
男	21	9	0.15	0.700	18	12	0.19	0.670
女	15	5			13	11		
年龄(岁)								
≤55	11	6	0.24	0.620	10	7	0.01	0.940
>55	25	10			21	14		
淋巴结转移								
有	30	6	10.92	0.010	32	4	5.52	0.020
无	6	10			9	7		
组织学分级								
高中分化	20	8	4.25	0.030	30	6	8.92	0.000
低分化	14	10			10	6		
临床分期								
I 级	3	5			2	6		
II 级	20	3	8.25	0.012	16	7	7.03	0.030
III 级	12	9			16	5		

2.4 HIF-1 α 与 Survivin 蛋白表达的相关性 在 36 例 Survivin 蛋白表达阳性的患者中 26 例 HIF-1 α 蛋白表达呈阳性 22 例 HIF-1 α 蛋白表达阴性的患者中，Survivin 蛋白表达呈阴性是 12 例。HIF-1 α 与 Survivin 在 NSCLC 中的表达呈正相关($r = 0.406$, $P = 0.030$)。

3 讨论

Survivin 是哺乳类凋亡抑制蛋白的重要成员，广泛表达于人类各种肿瘤组织中，具有促使细胞转化，调节细胞有丝分裂和抑制细胞凋亡等作用。Survivin 蛋白是一种位于细胞核与细胞质之间的穿梭蛋白，Survivin 过表达可能促进肿瘤细胞逃避生长监控，抑制了肿瘤细胞凋亡，使异常细胞的生存增殖能力增强，导致肿瘤浸润和转移，更易发生淋巴结转移，对恶性肿瘤的发生、发展起重要作用^[4]。大量研究^[2-3]显示，Survivin 在食管癌、乳腺癌及肝癌的表达情况与患者的年龄、性别、肿瘤位置等情况无关。而与临床分期、肿瘤分级关系密切。Survivin 能否作为肺癌患者预后的参考指标，Yang et al^[5]认为 Survivin 在鳞癌中表达最高，其表达与淋巴结转移、肿瘤分化程度、TNM 分期及预后相关，并在肿瘤发生发展过程中起重要的促进作用^[5-6]。邹亚峰等^[7]的免疫组化研究结果显示：Survivin 在 I 期和 II 期的 NSCLC 患者的表达水平明显低于 III 期患者。本研究也表明，在 NSCLC 组织中，Survivin 与组织学分级、肿瘤大小、淋巴结转移关系密切，提示 Survivin 在 NSCLC 的发生发展过程中，特别是在 NSCLC 侵袭转移过程中起着非常重要的作用。

NSCLC 的发生发展过程中有许多转录调控因子的参与，HIF-1 是近年发现的一种是由 HIF-1 α 、HIF-1 β 组成的异源二聚体转录因子，其中 HIF-1 α 决定 HIF-1 活性，在低氧环境中 HIF-1 发挥转录和基因调控作用，HIF-1 α 的下游基因有 40 多种^[8]，其中转化生长因子- β (TGF- β)、血管内皮生长因子(VEGF)等对肿瘤的生长发展起促进作用，目前已在多种恶性肿瘤组织及坏死的肿瘤组织中甚至癌前病变中检测到 HIF-1 α 蛋白的过度表达，而相应良性病变中及正常的肺组织中 HIF-1 α 表达很低，冯跃庆等^[9]研究显示，在乳腺癌中，肿瘤 TNM 分期越晚，恶性度越高及发生淋巴结转移者 HIF-1 α 表达越高，HIF-1 α 表达率与患者生存率相关。冯春来等^[10]发现肺肿瘤组织及坏死的肿瘤组织中 HIF-1 α 过度表达，而正常的肺组织中 HIF-1 α 表达很低，推测 HIF-1 α 表达与淋巴结转移及临床分期有密切关系。本研究也得出相同结论，推测 HIF-1 α 可能是肺癌进展和转移的一个重要因素。

有研究^[11-12]显示在缺氧环境中 Survivin 表达增加，在乳腺癌、结直肠癌中的 HIF-1 α 和 Survivin 表达呈正相关，可能 HIF-1 α 直接诱导或间接影响

Survivin 增强抑制细胞凋亡, 沈圆兵等^[13]研究发现 HIF-1 α 基因沉默可以使下游靶基因 Survivin 的表达下调, 抑制肺腺癌的生长。进一步研究^[14-15]显示 HIF-1 α 对胰岛素样生长因子和 Notch-1 受体诱导的 Survivin 的表达有协调作用, 上述实验都表明 HIF-1 α 在 Survivin 的表达调控中起着重要的作用。本研究结果也表明, 在 NSCLC 中, HIF-1 α 和 Survivin 的表达呈显著正相关, 提示两者在 NSCLC 的发生及发展中有协同作用。

参考文献

- [1] Zeni E, Mazzetti L, Miotto D, et al. Macrophage expression of interleukin-10 is a prognostic factor in non small cell lung cancer [J]. Eur Respir 2007, 30(4): 627-32.
- [2] 林华德, 梁华晟, 黄宇, 等. Survivin、HIF-1 α 在肝细胞癌组织中的表达及其意义 [J]. 广西医科大学学报 2010, 27(6): 886-7.
- [3] 柴小军, 王剑云, 郑健, 等. 食管癌组织中 HIF-1 α 、Survivin、CyclinD 1 蛋白的表达及其意义 [J]. 现代生物医学进展 2013, 13(2): 221-4.
- [4] Saito T, Hams S, Izumi H, et al. Centrosome amplification induced by survivin suppression enhances both chromosome instability and radiosensitivity in glioma cells [J]. Br J Cancer 2008, 98(2): 345-55.
- [5] Yang D X, Li N E, Ma Y, et al. Expression of survivin in non-small lung cancer and their relationship to intratumoral microvessel density [J]. Chin J Cancer 2010, 29(4): 396-402.
- [6] 黄仲, 杨志雄, 廖思海, 等. survivin 在非小细胞肺癌中的表达及其与细胞凋亡的关系 [J]. 肿瘤预防及治疗 2011, 24(4): 142-5.
- [7] 邹亚峰, 刘桂舫. Survivin 和血管内皮生长因子在非小细胞肺癌中表达的相关性研究 [J]. 河北医药 2011, 33(1): 54-6.
- [8] Pepetti M, Herman I M. Mechanisms of normal and tumor derived angiogenesis [J]. Am J Physiol Cell Physiol 2002, 282(5): 947-70.
- [9] 冯跃庆, 王钟富, 谷元廷, 等. HIF-1 和 Bak 在乳腺癌中的表达及其临床意义 [J]. 肿瘤临床与基础 2006, 19(4): 96-9.
- [10] 冯春来, 刘浩, 王志刚. HIF-1 α 在肺癌中的表达及临床意义 [J]. 南京医科大学学报 2011, 28(8): 1031-6.
- [11] Zhang Q Z, Tang X D, Zhang Z F, et al. Nicotine induces hypoxia-inducible factor-1A expression in human lung cancer cells via nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling pathways [J]. Clin Cancer Res 2007, 13(16): 4686.
- [12] Enatsu S, Iwasaki A, Shirakusa T, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha and its prognostic significance in small-sized adenocarcinomas of the lung [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2006, 29(6): 891-5.
- [13] 沈圆兵, 陈余清, 王效静, 等. HIF-1 α 基因沉默对人肺腺癌细胞 A549 裸鼠移植瘤生长及 survivin 表达的影响 [J]. 实用癌症杂志 2011, 26(2): 111-3.
- [14] Chen Y Q, Li D M, Liu H L, et al. Notch-1 signaling facilitates survivin expression in human non-small cell lung cancer cells [J]. Cancer Biol Ther 2011, 11(1): 113-5.
- [15] Hu Y, Kirito K, Yoshida K, et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor-1 function enhances the sensitivity of multiple myeloma cells to melphalan [J]. Mol Cancer Ther 2009, 8(8): 23-9.

The expression of HIF-1 α and Survivin in human non-small cell lung cancer

Nie Hong¹, Gao Congrong¹, Zhao Min², et al

(¹Dept of Cardiothoracic Surgery, ²Dept of Pathology, The Affiliated Hefei Hospital of Anhui Medical University
The Second People's Hospital of Hefei) Hefei 230011)

Abstract Objective To study the expression of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and Survivin in human non-small cell lung cancer (NSCLC) and the relationship between such expression and clinicopathological features of NSCLC. **Methods** 52 cases of tissue specimen including NSCLC, neighboring noncancerous tissue were collected. These specimens were detected by immunohistochemical methods. **Results** The expression of HIF-1 α and Survivin showed significant difference ($P < 0.01$) between NSCLC tissues and neighboring noncancerous tissues. The positive rates of expression of HIF-1 α , Survivin were correlated with the tumor differentiation degree, lymphnode metastasis and tumor stage ($P < 0.05$), and significant and positive correlation was observed between the positive rate of expression of Survivin and HIF-1 α ($P < 0.05$). **Conclusion** The overexpression of HIF-1 α and Survivin is found in NSCLC. Survivin and HIF-1 α may play a synergistic role in the genesis and progression of the malignancy and there may be a certain synergy between Survivin in the process of tumor occurrence and development.

Key words HIF-1 α ; Survivin; non-small cell lung cancer