

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 瑾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

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 \pm 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 (-), $10\% \sim 25\%$ 为弱阳性 (+), $26\% \sim 50\%$ 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 (-), $1\% \sim 10\%$ 为弱阳性 (+), $11\% \sim 50\%$ 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 \times 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。

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: hfzyywnh@126.com

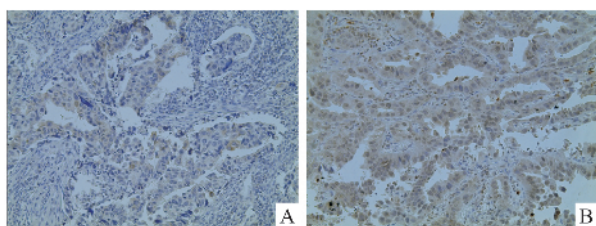


图1 Survivin 及 HIF-1 α 在 NSCLC 中的表达情况 DAB $\times 400$
A: Survivin; B: HIF-1 α

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、CyclinD1 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] Peppet 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, Kiritto 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, lymph node 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