

胰腺癌组织中缺氧诱导因子-2 α 的表达及临床意义*

党珊^{1a}, 周健^{1a}, 杨帆^{1b}, 周家琛², 易默^{1a}, 史丽萍^{1a}

(1. 陕西省人民医院 a. 消化内二科; b. 泌尿科, 西安 710068; 2. 大连医科大学, 辽宁大连 116044)

摘要:目的 探讨胰腺癌中缺氧诱导因子-2 α (HIF-2 α)的表达,并观察 HIF-2 α 的表达对患者预后生存的影响。方法 选取 62 例胰腺癌标本,采用免疫组织化学方法对胰腺癌组织中的 HIF-2 α 表达进行检测,分析其与临床病理特征及预后生存的关系。结果 32 例胰腺癌组织 HIF-2 α 表达阳性,阳性表达率 51.6%(32/62)。10 例正常胰腺组织 HIF-2 α 表达均阴性。HIF-2 α 阳性表达于细胞质。HIF-2 α 在胰腺癌组织中的表达与肿瘤 TNM 分期、血管侵犯有关,差异具有统计学意义($\chi^2=6.452, 4.089$; P 均 <0.05),而 HIF-2 α 在胰腺癌组织中的表达与性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、淋巴结转移、组织学分级无关,差异无统计学意义($\chi^2=0.008, 0.001, 0.518, 1.004, 2.325, 1.617$; P 均 >0.05)。胰腺癌中 HIF-2 α 阴性组病例 3 年生存率为 30%,而 HIF-2 α 阳性组病例 3 年生存率为 6.25%,两组之间差异具有统计学意义($\chi^2=5.984, P<0.05$)。结论 HIF-2 α 在胰腺癌组织中高表达可能与肿瘤发生、发展密切相关,HIF-2 α 有望成为胰腺癌新的治疗靶点和预后标志物。

关键词:胰腺癌;缺氧诱导因子-2 α

中图分类号:R735.9;R730.43 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2015)06-032-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.06.009

Expression of Hypoxia Inducible Factor 2 α in Pancreatic Carcinoma and Its Clinical Significance

DANG Shan^{1a}, ZHOU Jian^{1a}, YANG Fan^{1b}, ZHOU Jia-chen², YI Mo^{1a},

SHI Li-ping^{1a} (1a. the Second Department of Gastroenterology;

1b. Department of Urology, Shaanxi Provincial People's Hospital,

Xi'an 710068, China; 2. Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of hypoxia inducible factor alpha-2 (HIF-2 α) in pancreatic cancer, and to observe the effect of HIF-2 α on prognosis. **Methods** The expression of HIF-2 α in 62 pancreatic carcinoma specimen were detected by immunohistochemical method, and their relationships with clinicopathologic characteristics and prognosis of human pancreatic carcinoma were analyzed. **Results** The positive expression rate in pancreatic carcinoma specimen was 51.6%, while there was no positive expression in 10 normal pancreatic specimen. HIF-2 α positive expression in cytoplasm. The expression of HIF-2 α in pancreatic cancer was associated with TNM staging and vascular invasion, the difference was statistically significant ($\chi^2=6.452, 4.089$; $P<0.05$), however there was no significant correlation between the expression of HIF-2 α in pancreatic cancer with sex, age, tumor location, tumor size, lymph node metastasis and histological grade ($\chi^2=0.008, 0.001, 0.518, 1.004, 2.325, 1.617$; $P>0.05$). 3 year survival rate of HIF-2 α negative patients was 30%, and that of HIF-2 α positive patients was 6.25%, the difference was statistically significant between the two groups ($\chi^2=5.984, P<0.05$). **Conclusion** The high expression of HIF-2 α in pancreatic cancer is closely related with carcinogenesis and aggression, and it can be used as a new therapeutic target and prognostic marker of pancreatic carcinoma.

Keywords: pancreatic cancer; hypoxia inducible factor-2 alpha

缺氧诱导因子(hypoxia inducible factors, HIF)广泛存在于哺乳动物细胞并是调节细胞内氧代谢的关键因子,受缺氧信号调控,参与缺氧诱导等多种基因的转录,具有多种生物学效应,直接影响细胞在低氧环境下的适应能力,在许多缺氧性疾病的病理过程中都发挥着重要作用^[1]。HIF是由 α 、 β 两个亚基组成的异二聚体结构,其中 α 亚基是

功能亚基和活性亚基,受缺氧的调节,从而决定HIF的活性, β 亚基则稳定表达。本研究通过检测胰腺癌组织中HIF-2 α 的表达频率,分析其与临床病理特征的关系,探讨HIF-2 α 与胰腺癌发病及预后的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料 收集陕西省人民医院 1999 年 1

* 基金项目:陕西省 2012 科技计划项目(NO. 2012K13-01-14)。

作者简介:党珊(1980—),女,硕士,副主任医师,主要从事消化系统疾病的诊治和研究,E-mail: brightsandy@126.com。

月~2009年1月经手术切除的62例胰腺癌标本,其中男性41例,女性21例,年龄35~71岁,平均年龄56.3岁;依据2002年国际抗癌联盟(UICC)和美国癌症联合会(AJCC)修订的胰腺癌TNM分期法对肿瘤进行分期,临床I期、II期、III期和IV期者分别为3,20,29,10例;病理类型:62例胰腺癌标本中,58例导管腺癌,其中高分化10例,中分化14例,低分化34例;4例腺泡细胞癌。组织学分级:G1 11例,G2 29例,G3 22例。另外选取远离肿瘤的正常胰腺组织(经术后病理证实)10例作为对照组。由2名有经验的病理科医师对全部病例切片进行复查。所有标本均经10 ml/dl福尔马林固定,石蜡包埋,HE染色。所有病例按照HIF-2 α 免疫组化结果分为HIF-2 α 阳性组和HIF-2 α 阴性组。

1.2 试剂和仪器 HIF-2 α 多克隆抗体(购自武汉博士德公司,工作浓度1:200),辣根酶标记山羊抗兔IgG(二抗)、S-P免疫组化试剂盒和DAB显色剂(购自北京中杉试剂公司),奥林巴斯光学显微镜。

1.3 检测方法 免疫组化二步法:免疫组化S-P法参照试剂盒说明进行(4 μ m石蜡切片脱蜡至水。高压热抗原修复,PBS冲洗,每张切片滴加一滴过氧化物酶阻断剂,室温10 min,阻断内源性过氧化物酶。后经非免疫动物血清封闭,滴加一抗,4℃冰箱过夜。滴加生物素标记的第二抗体和辣根过氧化物酶标记的卵白素,室温下各孵育10 min)。DAB显色,苏木精复染,中性树胶封片。阳性标准的判断:HIF-2 α 主要表达于癌细胞胞质,其阳性细胞主要出现于肿瘤边缘或与正常组织交界。结果的判定采用双盲法,由两位有临床经验的病理科医生对免疫组化结果进行判读。结果判断标准:阳性反应部位呈棕黄色或褐色,胞核呈蓝色,在400倍光镜下观察10个视野,阳性细胞数 $\geq 10\%$,判定为阳性;阳性细胞数 $< 10\%$,判定为阴性。

1.4 统计学分析 采用SPSS 18.0统计软件对数据进行处理,比较表达是否具有统计学意义。率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HIF-2 α 在胰腺癌组织中的表达 见图1,图2。32例胰腺癌组织中标本HIF-2 α 表达阳性,阳性表达率51.6%。10例正常胰腺组织HIF-2 α 均表达阴性。HIF-2 α 阳性表达于细胞质。

2.2 HIF-2 α 在胰腺癌的表达与临床病理特征的关系 见表1。统计分析表明,HIF-2 α 在胰腺癌的表达与TNM分期、血管侵犯有关($P < 0.05$),

差异有统计学意义;HIF-2 α 在胰腺癌组织中表达与性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、淋巴结转移、组织学分级无关,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

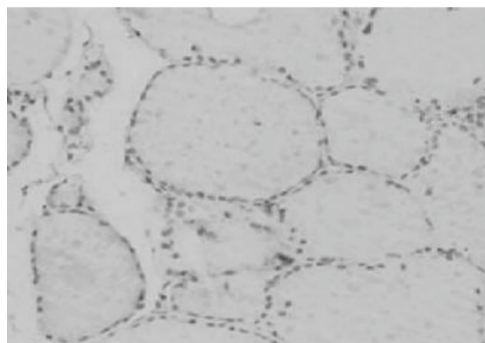


图1 HIF-2 α 在胰腺癌组织中的阳性表达(40 \times 10)

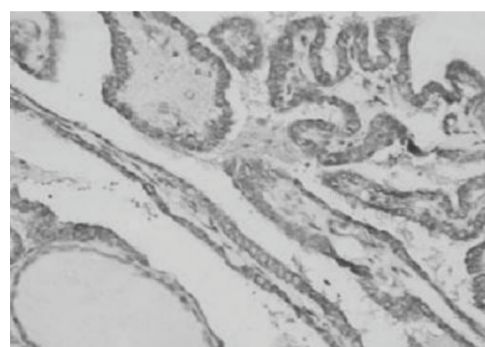


图2 HIF-2 α 在胰腺癌组织中的阴性表达(40 \times 10)

表1 HIF-2 α 表达与胰腺癌临床病理特征的关系

相关因素	HIF-2 α 阴性	HIF-2 α 阳性	χ^2	P值
性别	男	20	0.008	0.931
	女	10		
年龄	< 60 岁	17	0.001	0.974
	≥ 60 岁	13		
肿瘤部位	胰头部	12	0.518	0.472
	胰体尾部	18		
肿瘤大小	< 2 cm	16	1.004	0.316
	≥ 2 cm	14		
TNM分期	I期+II期	17	6.452	0.011 Δ
	III期+IV期	13		
血管侵犯	无	16	4.089	0.043 Δ
	有	14		
淋巴结转移	无	18	2.325	0.127
	有	12		
组织学分级	G1	7	1.617	0.445
	G2	12		
	G3	11		

注: Δ $P < 0.05$ 。

2.3 HIF-2 α 表达与胰腺癌生存时间的关系

HIF-2 α 阴性组病例3年生存率为30%,而HIF-2 α

阳性组病例3年生存率为6.25%,两组之间差异具有统计学意义($\chi^2=5.984, P<0.05$)。

3 讨论 肿瘤细胞在生长过程中,存在着对缺血缺氧的自身调节和适应,缺氧使HIF-2 α 的转录活性增强,表达增加,通过转录激活肿瘤血管形成、氧的运输、糖代谢、细胞增殖和凋亡等过程中的相应靶基因,使肿瘤细胞能适应缺氧微环境,并不断增殖、浸润和转移^[2]。

目前研究发现,HIF-2 α 蛋白在正常组织中无表达,但可在多种肿瘤细胞,包括肝癌、乳腺癌、肺癌、胃癌、肝癌、结肠癌等细胞中高表达,不同的癌组织其表达程度不一。Bangoura等^[3]通过对315例肝细胞肝癌标本、196例癌旁病变、22例正常肝组织进行免疫组化检测HIF-2 α 蛋白,研究结果发现肝细胞肝癌HIF-2 α 阳性表达率69.5%,癌旁组织HIF-2 α 阳性表达率55.6%,正常肝组织为0%。此外HIF-2 α 表达与肿瘤的分级、血管侵犯、肝内转移、坏死等显著正相关,预后生存分析,HIF-2 α 阳性表达的肝细胞肝癌患者的生存期明显缩短。Luan等^[4]研究发现HIF-2 α 在小细胞肺癌阳性表达率为24.4%,HIF-2 α 表达与肿瘤的生长和远处转移显著相关,生存分析表明,HIF-2 α 表达水平与患者的总生存期缩短相关,多变量分析中,HIF-2 α 表达和远处转移是小细胞肺癌的独立预后指标,同时研究结果表明,在小细胞肺癌HIF-2 α 可能成为药物治疗的新靶点。Li等^[5]通过对55例胃癌和40例正常胃组织进行免疫组化及定量逆转录聚合酶链反应检测,HIF-2 α mRNA表达水平和蛋白表达在胃癌组织中明显高于癌旁组织。HIF-2 α 在胃癌组织标本中阳性表达率为63.6%,明显高于正常胃组织标本,HIF-2 α 的表达与原发肿瘤大小、浸润深度显著相关。这些结果表明HIF-2 α 可能参与胃癌的发生和疾病的进展,是胃癌的一个潜在的治疗靶点。Wang等^[6]通过对129例甲状腺乳头状癌、61例结节性增生、118例正常甲状腺组织进行了免疫组化检测,HIF-2 α 在甲状腺乳头状癌表达上调,阳性表达与淋巴结转移明显相关,结果表明HIF-2 α 在甲状腺乳头状癌表达可能预测淋巴结转移风险高低。

目前HIF-2 α 在胰腺癌中的研究尚不多见,国内有研究表明HIF-2 α 在胰腺癌组织中的表达率为55%,明显高于正常胰腺组织,且其阳性表达程度与TNM分期、肿瘤大小有关,表明HIF-2 α 是一个重要的预后指标^[7]。本研究使用免疫组织化学的方法检测62例胰腺癌组织中HIF-2 α 的表达,结果发现HIF-2 α 在肿瘤组织中高表达,而在正常

胰腺组织中无表达,此外胰腺癌组织中HIF-2 α 的表达与肿瘤TNM分期、血管侵犯等密切相关,而且HIF-2 α 阳性表达的患者生存率明显缩短,这些结果与目前研究基本一致,提示HIF-2 α 高表达可能使胰腺癌细胞适应缺氧微环境,并不断增殖、浸润和转移,可能促进肿瘤的发生和进展并影响预后。

综上所述,HIF-2 α 的过表达与多种肿瘤的发生、发展及预后密切相关,Zimmer等^[8]通过运用靶向HIF-2 α 的shRNA取得了实验性肿瘤抑制反证了HIF-2 α 促进肿瘤生长的作用。因此HIF-2 α 有望成为肿瘤治疗的靶点和预后标志物。目前针对HIF-2 α 的靶向治疗研究才刚刚起步,需要我们更加深入地研究以了解其调控机制,这将有助于进一步揭示缺血缺氧性疾病如胰腺癌等恶性实体肿瘤的发病机制,为肿瘤的治疗和预后判断提供帮助。

参考文献:

- [1] Wiesener MS, Jürgensen JS, Rosenberger C, et al. Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2 α in distinct cell populations of different organs [J]. FASEB J, 2003, 17(2): 271-273.
- [2] Covelto KL, Kehler J, Yu H, et al. HIF-2 α regulates Oct-4: effects of hypoxia on stem cell function, embryonic development, and tumor growth [J]. Genes Dev, 2006, 20(5): 557-570.
- [3] Bangoura G, Liu ZS, Qian Q, et al. Prognostic significance of HIF-2 α /EPAS1 expression in hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(23): 3176-3182.
- [4] Luan Y, Gao C, Miao Y, et al. Clinicopathological and prognostic significance of HIF-1 α and HIF-2 α expression in small cell lung cancer [J]. Pathol Res Pract, 2013, 209(3): 184-189.
- [5] Li N, Wang HX, Qin C, et al. Relationship between clinicopathological features and HIF-2 α in gastric adenocarcinoma [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(1): 1404-1413.
- [6] Wang N, Luo HJ, Yin GB, et al. Overexpression of HIF-2 α , TWIST, and CXCR4 is associated with lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma [J]. Clin Dev Immunol, 2013(2013): 589423.
- [7] 朱东明, 李德春, 张晓懿, 等. 缺氧诱导因子2在胰腺癌中的表达及其临床意义 [J]. 苏州大学学报(医学版), 2008, 28(3): 423-425, 429.
Zhu DM, Li DC, Zhang XY, et al. Expression of hypoxia-inducible factor 2 α in pancreatic carcinoma and its clinical significance [J]. Suzhou University Journal of Medical Science, 2008, 28(3): 423-425, 429.
- [8] Zimmer M, Doucette D, Siddiqui N, et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor is sufficient for growth suppression of VHL-/- tumors [J]. Mole Cancer Res, 2004, 2(2): 89-95.