

鼻咽癌患者 HIF-1 α 、VEGF-C、COX-2 和 IL-10 表达研究

张高明, 侯文权, 李志洙, 胡礼仪 (江苏省宿迁市沭阳县人民医院检验科 223600)

【摘要】 目的 探讨鼻咽癌患者缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、血管内皮生长因子-C(VEGF-C)、环氧合酶-2(COX-2)和白细胞介素-10(IL-10)的表达、相互关系及临床意义。**方法** 选取鼻咽癌病变组织 72 例, 鼻咽炎对照组 25 例, 健康对照组 25 例。采用免疫组化法检测组织中 HIF-1 α 、VEGF-C 和 COX-2; 用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中 IL-10 的表达。**结果** 鼻咽癌组织内存在 HIF-1 α 、VEGF-C、COX-2 和 IL-10 的表达, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与预后呈负相关; 而与年龄、性别、肿块类型无关。HIF-1 α 、VEGF-C、COX-2 和 IL-10 与临床分期有关, 随着临床分期的增高表达增强($P < 0.05$)。HIF-1 α 、VEGF-C 和 COX-2 的表达与淋巴结转移有关, 有淋巴结转移组阳性率明显高于无淋巴结转移组($P < 0.05$)。肿瘤中央区 HIF-1 α 、VEGF 的表达水平较周边区高, 肿瘤表达水平与微血管密度(MVD)密切相关($P < 0.05$)。IL-10 与淋巴转移无关。HIF-1 α 与 VEGF、COX-2 与 VEGF 呈正相关, 其余无直接相关性。**结论** HIF-1 α 、VEGF-C、COX-2 和 IL-10 的异常表达参与了鼻咽癌的发生发展, 联合检测上述指标可能为鼻咽癌的早期诊断、治疗、预后的判断提供有力的临床指导。

【关键词】 鼻咽癌; 缺氧诱导因子-1 α ; 血管内皮生长因子-C; 环氧合酶-2; 白细胞介素-10

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.24.020

中图分类号: R730.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)24-2728-03

Expression research of HIF-1 α , VEGF-C, COX-2 and IL-10 in nasopharyngeal carcinoma ZHANG Gao-ming, HOU Wen-quan, LI Zhi-shu, HU Li-yi, Shuyang County People's Hospital, Suqian, Jiangsu 223600, China

【Abstract】 Objective To investigate the expression, interrelation and clinical significance of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), vascular endothelial growth factor C(VEGF-C), cyclooxygenase-2(COX-2) and interleukin-10(IL-10) in the patients with nasopharyngeal carcinoma. **Methods** 72 samples from nasopharyngeal cancer tissues were collected with 25 samples of nasopharyngitis tissues and 25 samples of normal tissues as control. The immunohistochemical method was used to detect tissue HIF-1 α , VEGF-C and COX-2 and the ELISA test was adopted to determine serum IL-10. **Results** In the nasopharyngeal carcinoma tissues, the expression of HIF-1 α , VEGF-C, COX-2 and IL-10 had significant difference($P < 0.05$), which showed the negative correlation with prognosis, but no interrelation with age, sex, mass type. HIF-1 α , VEGF-C, COX-2 and IL-10 were related with the clinical stages, and with increase of clinical stages, the expressions were significantly enhanced($P < 0.05$). The expression of HIF-1 α , VEGF-C and COX-2 had interrelation with lymph node metastasis. The positive rate in lymphnodes metastasis group was significantly higher than that in without lymphnodes metastasis group($P < 0.05$). The expression level of HIF-1 α , VEGF-C and COX-2 in tumor central area was higher than that in tumor peripheral area, and the tumor expression level was closely related with tumor microvascular density(MVD)($P < 0.05$). IL-10 and lymph node metastasis had no interrelation. The positive relation existed between HIF-1 α and VEGH and between COX-2 and VEGF, the others had no direct correlation. **Conclusion** The abnormal expression of HIF-1 α , VEGF-C, COX-2 and IL-10 participates in the occurrence and development of nasopharyngeal carcinoma. Joint detection of the above indexes may provide powerful clinical guidance for judging early diagnosis, treatment and prognosis in nasopharyngeal carcinoma.

【Key words】 nasopharyngeal carcinoma; HIF-1 α ; VEGF-C; COX-2; IL-10

鼻咽癌是我国南方高发的恶性肿瘤之一, 具有低分化、高转移的特点, 大部分患者就诊时或早期已有颈部淋巴结转移, 预后不良^[1]。鼻咽癌细胞的侵袭和转移是一个复杂过程, 涉及到血管、淋巴管新生、细胞凋亡调控和免疫调控失衡等很多因素。肿瘤细胞的不断增殖使该部位处于缺氧状态, 导致缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)大量表达, 进一步产生 VEGF-C, 产生新淋巴管和血管, COX-2 有促进细胞增生及促进新生血管生成等多种功能, 进而使免疫调控失衡, Th1/Th2 平衡发生 Th2 漂移^[2-3]。但其发病机制尚不明确, 本研究观察上述指标的表达, 以探讨其与鼻咽癌的侵袭、转移关系及临床意义和它们之间的相关性, 提供有助于判断鼻咽癌患者病情及预后的预测指标,

为鼻咽癌的临床治疗提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2006 年 1 月至 2009 年 5 月来院诊治的临床病理资料完整的宫颈病变患者共 72 例(活检前均未行放化疗), 年龄(53.9 $\pm$ 11.9)岁。所有标本均经 2 位资深病理医师给予病理诊断。按国际 TNM 分期系统, I 期 3 例, II 期 19 例, III 期 41 例, IV 期 27 例; T0 期 1 例, T1 期 8 例, T2 期 41 例, T3 期 27 例, T4 期 13 例; N0 期 26 例, N1 期 22 例, N2 期 30 例, N3 期 12 例, 远处转移 5 例。临床治疗方式采用放疗为主。对照组: 20 例鼻咽炎性组织, 年龄 18~41 岁。随访记录患者肿瘤治疗效果缓解、复发或未控、转移、死亡的情况。随访

时间为 11~59 个月。

1.2 方法 组织标本经 10 %福尔马林固定,石蜡包埋,常规切片 4 μm。采用免疫组化法, HIF-1α 抗体、兔抗人 VEGF-C 多克隆抗体、鼠抗人 COX-2 单克隆抗体购自北京中杉生物技术公司。IL-10 ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司。用已知的阳性切片作阳性对照,用 PBS 代替一抗作为空白对照,显微镜下(×400)取 5 个不同视野各计数 100 个癌细胞。

血清标本于早上 6:00~9:00 时空腹采血 3 mL,分离血清,立即检测 IL-10,在美国 Molecular Devices 型酶标仪上测吸光度(A450),作标准曲线,计算结果。

全部检测由专人按照操作规程统一操作。

1.3 结果 HIF-1α、VEGF-C 和 COX-2 的阳性染色标准主要为细胞浆内出现黄色至棕黄色颗粒。IL-10 的参考值为 12.46~23.35 μg/mL。

1.4 统计学方法 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。统计学处理采用 SPSS13.0 软件分析。两组数比较用 χ^2 检验,多组均数比较用方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 2 HIF-1α、VEGF-C、COX-2 和 IL-10 的表达与鼻咽癌患者临床病理特征

项目		<i>n</i>	HIF-1α[<i>n</i> (%)]	VEGF-C[<i>n</i> (%)]	COX-2[<i>n</i> (%)]	IL-10(μg/mL)
性别	男	41	33(80)	35(85)	27(66)	131.2±7.43
	女	31	26(84)	25(80)	19(61)	136.9±8.01
年龄	≤50	29	24(83)	23(79)	18(62)	134.9±7.69
	>50	43	35(81)	37(86)	28(65)	129.9±8.11
病理	角化	4	3(75)	3(75)	2(50)	135.4±7.65
	未角化	30	23(77)	24(80)	21(70)	129.1±8.12
	未分化	38	33(87)	33(87)	23(60)	132.9±6.99
临床	I+II	20	12(60)	13(65)	9(45)	101.9±7.21
分期	III+IV	52	47(90)★	47(90)★	37(71)★	145.7±8.89★
TNM	T T0+T1+T2	41	33(80)	35(85)	25(63)	133.8±7.97
	分期 T3+T4	31	26(84)	25(81)	20(64)	131.5±7.89
N	N0+N1	34	23(68)	24(71)	19(56)	103.5±8.21
	N2+N3	38	36(95)★	36(95)★	27(71)★	143.7±9.09★
M	有	5	3(60)	2(40)	2(60)	132.9±6.88
	无	69	57(83)★	58(84)★	44(64)	129.5±6.57

注:★ $P < 0.05$ 。

HIF-1α 与 VEGF-C、COX-2 与 VEGF 呈正相关,其余无直接相关性。

3 讨 论

COX 是花生四烯酸合成前列腺素的一个限速酶,为诱导性表达,静息时并不表达,在大多数正常组织中难以发现,一般只在受刺激时(如癌基因产物)迅速合成,与本研究相符。

COX-2 在鼻咽癌中高表达,可促进细胞增殖、促进肿瘤新生血管形成、抑制 DNA 修复。本研究显示鼻咽癌组织中 COX-2 的阳性表达率高于鼻咽炎及正常鼻咽部黏膜组织,在鼻咽癌中的阳性表达率达 80.2%, I+II 期与 III+IV 期比较差异有统计学意义($P < 0.05$),表明它与肿瘤的进展密切相关。

鼻咽癌组织为满足自己生长的需要可以诱导血管生成,能形成丰富的微血管网,但由于微血管网结构和功能相对不足,致使肿瘤缺氧和坏死持续存在^[4-6]。缺氧使肿瘤细胞表达 HIF-1α,进而促进 VEGF-C 的表达,VEGF 在维持肿瘤细胞的

2 结 果

鼻咽癌组织内存在 HIF-1α、VEGF-C、COX-2 和 IL-10 的表达,差异有统计学意义($P < 0.05$);与预后呈负相关;而与年龄、性别、肿块类型无关。HIF-1α、VEGF-C 和 COX-2 的表达与淋巴结转移有关。鼻咽癌组与对照组比较见表 1,鼻咽癌各期与对照组比较见表 2。

表 1 HIF-1α、VEGF-C、COX-2 和 IL-10 各组的表达情况

项目	<i>n</i>	HIF-1α <i>n</i> (%)	VEGF-C <i>n</i> (%)	COX-2 <i>n</i> (%)	IL-10 (μg/mL)
健康组	25	2(8)	1(4)	0(0)	19.32±3.59
鼻咽炎组	25	6(24)▼	7(28)▼	7(28)▼	58.63±5.84▼
鼻咽癌组	72	59(82)▼◆	60(83)▼◆	46(64)▼◆	135.6±7.99▼◆

注:▼与正常组织比 $P < 0.05$;◆与鼻咽炎比 $P < 0.05$ 。

能量代谢、新生血管形成以及促进肿瘤增殖和转移中起着重要作用^[7],鼻咽癌组织中 HIF-1α 和 VEGF-C 的表达与临床分期、颈淋巴结转移呈正相关^[8],在具有淋巴结转移的肿瘤组织中明显增高($P < 0.05$),在Ⅲ、Ⅳ期肿瘤组织中的表达较Ⅰ、Ⅱ期高($P < 0.05$),提示 HIF-1α 和 VEGF-C 与鼻咽癌的病程进展有关,可能诱导肿瘤内淋巴管的生成,从而使肿瘤细胞通过淋巴道进行转移性播散。有研究结果显示,HIF-1α 和 VEGF-C 在宫颈癌中表达阳性率为 81.5%、81.5%,肿瘤中央区细胞 HIF-1α 和 VEGF-C 表达水平及微血管密度(MVD)高于肿瘤外周区,说明肿瘤中央区缺氧严重程度较比外周区更重,这可能由于肿瘤诱导新生血管生长首先从肿瘤与宿主交界处开始,中央区新生血管功能缺陷和数量在同一时间均落后于外周区^[9-10]。HIF-1α 和 VEGF-C 的表达随着临床分期的增高表达增强,有淋巴转移的比无转移者表达强,差异有统计学意义($P < 0.05$),HIF-1α 与 VEGF-C 呈正相关。

本研究表明鼻咽癌患者外周血的 IL-10 水平高于健康人,

证明鼻咽癌患者体液免疫功能亢进,免疫功能紊乱。虽然 IL-10 水平随临床分期的提高而升高,Ⅰ+Ⅱ期与Ⅲ+Ⅳ期比较有差异($P<0.05$),表明它与肿瘤的进展密切相关。IL-10 可以抑制活化的 T 细胞特别是 Th1 细胞产生细胞因子 IFN- γ 、NK 细胞等效应细胞对肿瘤细胞的杀伤作用^[10]、抑制树突细胞等抗原呈递细胞的抗原呈递作用及激活免疫调节 T 细胞产生免疫忍耐。帮助肿瘤细胞的免疫逃避,促进肿瘤进一步发展。

综上所述,作者认为 HIF-1 α 、VEGF-C、COX-2 和 IL-10 的异常表达参与了鼻咽癌的发生发展,联合检测上述指标可为鼻咽癌的早期诊断、治疗、预后的判断提供有力的临床指导。

参考文献

[1] Kvinnsland S, Anker G, Dirix LY, et al. High activity and tolerability demonstrated for exemestane in postmenopausal Women with metastatic breast cancer who had previously failed on tamoxifen treatment[J]. Eur J Cancer, 2000, 36(8): 976-982.

[2] Farrar JD, Asnagli H, Murphy KM. T helper subset development: roles of instruction, selection, and transcription[J]. J Clin Invest, 2002, 109(4): 431-435.

[3] Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up[J]. Genes Dev, 2000, 14(14): 1693-1711.

[4] Yu KJ, Bashirova A, Madeleine MM, et al. Evaluation of the association with cervical cancer of polymorphisms in syndecan-1, a heparan sulfate proteoglycan involved with

viral cell entry[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2007, 16(11): 2504-2510.

[5] Hsu YM, Chen YF, Chou CY, et al. KCl cotransporter-3 down-regulates E-cadherin / β -catenin complex to promote epithelial-mesenchymal transition[J]. Cancer Res, 2004; 67(22): 11064-11069.

[6] Banuelos CA, Ban  th JP, Macphail SH, et al. Radiosensitization by the histone deacetylase inhibitor PCI224781[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(22): 6816-6820.

[7] Katsuta M, Miyashita M, Makino H, et al. Correlation of hypoxia inducible factor-1 α with lymphatic metastasis via vascular endothelial growth factor-C in human esophageal cancer[J]. Exp Mol Pathol, 2005, 78(2): 123-130.

[8] Tee YT, Han CP, Ko JL, et al. Evaluation of matrix metalloproteinase expression in cervical carcinogenesis using tissue array and integrated optical density for immunoreactivity[J]. Reprod Sci, 2007; 14(7): 719-723.

[9] Turini ME, DuBois RN. Cyclooxygenase 2: a therapeutic target[J]. Annu Rev Med, 2002, 53: 35-57.

[10] Yang L, Carbone DP. Tumor-host immune interactions and dendritic cell dysfunction[J]. Adv Cancer Res, 2004, 92: 13-27.

(收稿日期: 2010-06-11)

(上接第 2727 页)

3 讨论

HFMD 是以口腔、手、足发生疱疹为主要特征,在我国常由柯萨奇 A 组 16 型病毒引起。该病多为 5 岁以下儿童,尤其是 2 岁以内婴幼儿,本病呈自限经过,大多预后良好。有文献报道,该病不仅可引起心肌损害^[1],亦有并发或暴发性心肌炎导致死亡的报道^[2],因此 HFMD 感染不能忽视心肌改变。

心肌酶谱 AST、LDH、CK、CK-MB、 α -HBDH 的活性,与心脏损伤密切相关,其中 CK-MB 是心肌特异性同工酶,在心肌细胞中含量最高,正常血清中含量极微,当心肌细胞受损时释放入血,对判断心肌损害具有高度特异性^[3]。

cTn I 反映心肌细胞损害的特异性高达 97%~100%。且 cTn I 仅存于心脏,而心脏只有一种 cTn I 存在,故 cTn I 是理想的心肌细胞特异性标志物^[4]。cTn I 具有诊断时间窗口长的特点,并可以对临床治疗进行疗效评价及指导临床治疗,也可进行预后评价。

而 CRP 是由肝细胞合成的一种急性时相反应蛋白,健康人血清中仅含微量。在感染、损伤或炎性反应的刺激下只要数小时血清 CRP 就会急剧增高,并于 24~48 h 达高峰。CRP 增高的幅度与感染的程度和范围有关^[5]。高水平的 C 反应蛋白在冠心病患者中也可作为预后的风险评估^[6]。

本研究中心肌酶、肌钙蛋白 I 和 CRP 检测结果显示,手足口病患者组结果均比健康对照组升高。实验结果表明当患者心肌酶谱肌钙蛋白 I 和 CRP 水平的联合检测能及早发现心肌

损伤情况,为临床医生及时处理并发心肌炎的发生和进展提供依据。

参考文献

[1] 黎灿. 219 例手足口病患儿心肌酶检测结果分析[J]. 医学创新研究杂志, 2008, 10(5): 33-34.

[2] Mina PC. An overview of the evolution of enterovirus 71 and its clinical and public health significance[J]. Fems Microbiol Rev, 2006, 26(1): 91-92.

[3] 肖曙芳, 刘益林, 杨芸凤, 等. 58 例婴幼儿轮状病毒性肠炎心肌酶测定及临床意义[J]. 临床儿科杂志, 1999, 17(4): 224-225.

[4] 金美花, 于敏奇. 心肌肌钙蛋白 I 在小儿病毒性心肌炎临床诊断中的评价[J]. 中国实验诊断学杂志, 2008, 12(7): 919-920.

[5] 刘平, 袁强, 郑清容. 血清 C-反应蛋白与外科感染范围的关系[J]. 武汉医学杂志, 1993, 17(1): 28-29.

[6] Rosenson RS, Koenig W. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular risk in patients with coronary heart disease[J]. Curr Opin Cardiol, 2002, 17(4): 325-331.

(收稿日期: 2010-06-11)