

• 论 著 •

HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 在皮肤鳞状细胞癌及基底细胞癌中的表达杨今言¹, 闫 军², 龚晓瑾³, 陈赵慧¹, 卢 娟¹, 李丽华¹, 宋珍珍¹

(新疆医科大学第二附属医院:1. 皮肤科;2. 普外科;3. 病理科, 乌鲁木齐 830064)

摘要:目的 探讨缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、葡萄糖转运蛋白-1(Glut-1)及血管内皮生长因子(VEGF)在皮肤鳞状细胞癌(SCC)及基底细胞癌(BCC)中的表达。方法 免疫组织化学法检测 43 例 SCC 标本、109 例 BCC 标本、30 例正常皮肤组织标本中 HIF-1 α 、Glut-1、VEGF 的表达,并分析三者之间的相关性。结果 SCC 及 BCC 中 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 阳性表达率显著高于正常皮肤组织($P < 0.05$);SCC 中 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 阳性表达率显著高于 BCC($P < 0.05$)。SCC 中 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 表达与 SCC 分化程度无关,但 3 个指标表达两两呈现正相关关系($P < 0.05$)。结论 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 在 SCC 及 BCC 中高表达,三者的表达可为 SCC 及 BCC 的诊断提供判断依据。

关键词:缺氧诱导因子-1 α ; 葡萄糖转运蛋白-1; 血管内皮生长因子; 皮肤鳞状细胞癌; 基底细胞癌

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.23.032 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)23-3515-03

Expression of HIF-1 α , Glut-1 and VEGF in squamous cell carcinoma and basal cell carcinomaYANG Jinyan¹, YAN Jun², GONG Xiaojin³, CHEN Zhaohui¹, LU Juan¹, LI Lihua¹, SONG Zhenzhen¹

(1. Department of Dermatology; 2. Department of General Surgery; 3. Department of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumq, Xinjiang 830064, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), glucose transporter-1(Glut-1) and vascular endothelial growth factor(VEGF) in squamous cell carcinoma(SCC) and basal cell carcinoma(BCC). **Methods** The expression of HIF-1 α , Glut-1 and VEGF was used to detected by immunohistochemistry in 43 cases of SCC, 109 cases of BCC and 30 cases of normal skin tissue, and to analyze the correlation between them. **Results** The expression of HIF-1 α , Glut-1 and VEGF in SCC and BCC tissue was significantly higher than that in normal skin tissue($P < 0.05$). The expression of HIF-1 α , Glut-1 and VEGF in SCC tissue was significantly higher than that in BCC tissue($P < 0.05$). The expression of HIF-1 α , Glut-1 and VEGF in SCC tissue was not correlated with the degree of tumor differentiation. The expression of HIF-1 α , Glut-1 and VEGF presented positive correlation with each other($P < 0.05$). **Conclusion** HIF-1 α , Glut-1 and VEGF are highly expressed in SCC and BCC, and the expression of three indicators could provide a basis for the diagnosis of SCC and BCC.

Key words: hypoxia-inducible factor-1 α ; glucose transporter-1; vascular endothelial growth factor; squamous cell carcinoma; basal cell carcinoma

皮肤鳞状细胞癌(SCC)和基底细胞癌(BCC)是皮肤肿瘤常见的两种病理形式,属于非色素性的皮肤癌。皮肤肿瘤和其他众多肿瘤细胞一样,处于缺氧、缺血微环境下,需要低氧反应元件对缺氧环境进行调控进而维持肿瘤细胞的迅速生长^[1]。缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)是典型的缺氧反应元件,能通过激活下游靶基因,促进靶基因转录,从而保证肿瘤细胞在缺血、缺氧环境下有足够的血、氧供应,促进肿瘤细胞存活及稳定生长^[2]。其中葡萄糖转运蛋白-1(Glut-1)是 HIF-1 α 下游靶基因之一,能主动运输葡萄糖,促进糖酵解使肿瘤细胞获得能量,进一步恶性增殖并扩散转移^[3]。另外血管内皮生长因子(VEGF)亦是 HIF-1 α 的下游靶基因之一,能与 HIF-1 α 相结合,提高自身转录活性,促进新生血管的产生,为肿瘤细胞提供营养并运输代谢产物^[4]。已报道 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 在众多肿瘤组织中高表达^[3-4],但三者在 SCC 及 BCC 中的关系报道较少,所以本研究将对 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 在 SCC 及 BCC 中的表达及相关性展开研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 取自新疆医科大学第二附属医院皮肤科及普外科 2014 年 3 月至 2017 年 3 月病理室确诊为 BCC 或 SCC 的标本 152 例。BCC 共 109 例,其中男 65 例,女 44 例;中位年龄 63.8 岁。SCC 共 43 例,其中男 28 例,女 14 例,中位年龄 48.9

岁。SCC 分化程度:高分化 31 例,低中分化 12 例。另外还选取 30 例的正常皮肤组织作为对照,取材部位取自非瘢痕疙瘩患者行植皮手术或清创缝合时多余的正常皮肤,为全厚皮片。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法检测皮肤组织中 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 表达 石蜡切片于二甲苯中脱蜡 3 次,再于无水乙醇和 95%、85%、7%乙醇中继续脱蜡。滴加 3%过氧化氢消除内源性的过氧化氢活性,然后将切片放入柠檬酸盐抗原修复盒中进行修复 2 min。10%山羊血清在室温下封闭 30 min。加入一抗溶液,4 $^{\circ}$ C 过夜孵育;第 2 天将切片置于湿盒中,加入试剂盒 A,在室温下孵育 10 min;磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后,加入二抗溶液,室温下孵育 30 min,PBS 洗涤;滴加二氨基联苯胺显色剂及底物的混合液,在显微镜下观察显色的效果,并用蒸馏水冲洗切片,终止二氨基联苯胺染色。苏木素复染、1%盐酸分化,氨水返蓝。最后将切片置于梯度乙醇中脱水,二甲苯中透明,中性树脂封片,并于显微镜下观察。以 PBS 液代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 结果判断 HIF-1 α 蛋白以细胞核内出现棕黄色及棕褐色的颗粒为阳性表达;Glut-1 蛋白以细胞膜上出现棕黄色及棕褐色的颗粒为阳性表达;VEGF 蛋白以细胞质中出现棕黄色及棕褐色的颗粒为阳性表达。切片是由有工作经验丰富的病

理科医师采用双盲法进行阅片。在高倍镜条件下随机选择 5 个视野,观察细胞的染色情况。每个视野阳性细胞数目占视野内总细胞数目的百分比乘以免疫染色的强度即是免疫反应的总得分。染色程度分级:没有染色的记为 0 分,染浅黄色的记为 1 分,染棕黄色的记为 2 分,染棕褐色的记为 3 分。阳性细胞所占百分比评分:没有阳性细胞的记为 0 分, <1% 为 1 分, ≥1%~10% 为 2 分, ≥11%~50% 为 3 分, ≥50% 为 4 分。

1.3 统计学处理 所有数据均用 SPSS17.0 软件统计分析,计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验,相关性分析采用 Spearman 相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 在 SCC、BCC 及正常皮肤组织中的表达 SCC 及 BCC 中 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 阳性表达率均显著高于正常皮肤组织 ($P < 0.05$); SCC 中 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 阳性表达率均显著高于 BCC ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 在 SCC、BCC 及正常皮肤组织中的表达[n(%)]

类别	n	HIF-1 α	Glut-1	VEGF
正常皮肤组织	30	4(13.33)	3(10.00)	2(6.67)
BCC	109	73(66.97)*	60(55.05)*	72(66.05)*
SCC	43	38(88.37)*#	32(74.41)*#	37(86.04)*#

注:与正常皮肤组织比较,* $P < 0.05$;与 BCC 比较,# $P < 0.05$

2.2 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 与 SCC 分化程度的关系 低中分化 SCC 中 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 阳性表达率高于高分化,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 阳性表达情况与 SCC 分化程度的关系[n(%)]

SCC 分化程度	n	HIF-1 α	Glut-1	VEGF
高分化	31	27(87.09)	22(70.09)	26(8.87)
低中分化	12	11(91.67)	9(75.00)	11(91.67)
P		0.053 7	0.064 2	0.051 2

2.3 SCC 及 BCC 中 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 表达的关系 经 Spearman 相关性分析表明,SCC 及 BCC 中 HIF-1 α 与 Glut-1 呈正相关 ($r = 0.587, P = 0.020$),HIF-1 α 与 VEGF 呈正相关 ($r = 0.321, P = 0.010$),Glut-1 与 VEGF 呈正相关 ($r = 0.479, P = 0.028$)。

3 讨 论

随着肿瘤恶性程度加深,细胞能量代谢的速度加快,肿瘤组织需要更多的葡萄糖代谢提供能量及新生的血管来调节并适应肿瘤缺氧、缺血的微环境,进一步促进肿瘤细胞的生长并导致恶性循环。HIF-1 α 是调节肿瘤细胞适应缺氧环境的一种核转录调控因子,由 α 、 β 两个亚基组成,在正常氧状态下低表达或者不表达,在缺氧条件下能与靶基因的低氧反应元件相结合,促进靶基因(VEGF、Glut-1、HIF-1 α 等)的转录活性,使细胞能够在缺氧、缺血的环境中得到足够的能量并促进细胞存活及不断的生长,为细胞的侵袭扩散提供充足的条件^[2]。张红等^[5]和 An 等^[6]研究已经表明 HIF-1 α 在 SCC 中的表达高于正常皮肤组织,且其表达量与微血管密度正相关。郝玉琴等^[7]的研究表明 SCC 及 BCC 中的 HIF-1 α 表达量显著高于正常皮肤组织,且 SCC 高于 BCC。本研究对 SCC、BCC 及正常皮肤组织中的免疫组织化学结果与郝玉琴等^[7]研究结果一致,即 HIF-1 α 在正常皮肤组织、BCC 及 SCC 中的表达量逐渐升高。另外本研究还发现低中分化 SCC 中 HIF-1 α 表达量高于高分化,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$),说明 HIF-1 α 的表达量与 SCC

分化程度无关。

葡萄糖糖酵解是肿瘤缺氧、缺血条件下获得能量的主要来源之一,糖酵解过程需要葡萄糖转运体摄取葡萄糖后才能进行糖代谢。Glut 是葡萄糖转运体的载体,有 14 个成员,其中 Glut-1 较为常见,能主动运输葡萄糖,促使细胞糖酵解产生能量以维持细胞所需能量。研究已经表明 Glut-1 是 HIF-1 α 下游重要靶基因之一,是细胞代谢旺盛的标志之一,在众多肿瘤组织中高度表达^[3,8]。郝玉琴等^[7]研究表明 SCC 及 BCC 中 Glut-1 表达量显著高于正常皮肤组织,且 SCC 高于 BCC,同时 Glut-1 表达与 SCC 的分化程度无关,此结果与本研究一致,说明在 SCC 及 BCC 的发生、发展中 HIF-1 α 起着促进作用。另外在肿瘤缺氧微环境下,如果肿瘤直径低于 2 mm 的时候,需要有新生血管的产生来为肿瘤的生长提供充足的能量。VEGF 就是其中影响最大的促血管生成因子之一,不仅能够促进细胞分裂增殖,还增加了血管通透性,进而为肿瘤组织的快速生长及扩散提供有利条件。VEGF 在众多肿瘤组织中高表达,是 HIF-1 α 下游重要靶基因之一^[4,9]。李轶楠等^[10]和黄琨等^[11]研究表明 SCC 及 BCC 中 VEGF 蛋白及 mRNA 表达显著高于正常皮肤组织。孙祺琳等^[12]还证实 SCC 中 VEGF 蛋白表达高于正常皮肤组织。本研究结果表明 SCC 及 BCC 中 VEGF 蛋白表达高于正常皮肤组织,SCC 高于 BCC,与上述报道结果一致,另外本研究结果还表明 VEGF 与 SCC 分化程度无关,与黄琨等^[11]研究一致。从而说明 VEGF 对 SCC 及 BCC 起促进作用,当把 VEGF 作为治疗靶点后无需考虑 SCC 的分化程度。

同时本研究相关性分析还证实了 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 表达两两呈现正相关,可能是源于 Glut-1 及 VEGF 是 HIF-1 α 的下游靶基因,受 HIF-1 α 调控,如基因沉默低氧条件下的近端肾小管上皮细胞中 HIF-1 α 的表达能显著下调 Glut-1 及 VEGF 表达,并导致细胞生长抑制及坏死^[13]。同时也有研究表明 Glut-1 及 VEGF 在乳腺癌、非小细胞肺癌中表达正相关^[14-15]。从而说明靶向上调或下调 HIF-1 α 的表达,能进一步地调控 Glut-1 及 VEGF 的表达,从而对肿瘤细胞的生长、代谢及血管生成产生显著的影响。

综上所述,SCC 及 BCC 中 HIF-1 α 、Glut-1 及 VEGF 高表达,在肿瘤发生、发展中起着促进作用,且三者表达两两呈现正相关,可为 SCC 及 BCC 的诊断提供依据。

参考文献

- [1] 王月,杨希川. 皮肤鳞状细胞癌的研究进展[J]. 实用皮肤病学杂志,2016,9(1):38-40.
- [2] 郭树鹏,杨柳,张莉琳,等. HIF-1 α 信号通路在肿瘤细胞调控中的研究进展[J]. 现代生物医学进展,2015,15(16):3145-3148.
- [3] 余苏云,刘兆国,贾琦,等. 葡萄糖转运蛋白 1 与肿瘤能量代谢关系的研究进展[J]. 中国药理学通报,2016,32(7):906-909.
- [4] 刘登辉,刘红光. HIF-1 α 和 VEGF 在乳腺癌中作用的研究进展[J]. 肿瘤药学,2013,3(1):7-12.
- [5] 张红,邹时国,干亚丹. COX-2 和 HIF-1 α 在皮肤癌中的表达及与血管生成的关系[J]. 中国现代医生,2013,51(10):35-37.
- [6] An XJ, Xu GF, Yang L, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha, vascular endothelial growth factor and prolyl hydroxylase domain protein(下转第 3519 页)

维、汉族冠心病患者血液学结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 5。

3 讨 论

随着人们生活水平的提高,以及生活饮食和习惯的改变,高血压、高血脂、冠心病等疾病的发病呈上升趋势,并且新疆地区高血压、高血脂发病率较高^[2,4-5]。有文献报道显示,维族人与汉族人相比较,血脂水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)^[1,6],糖尿病发病率亦升高^[7]。

本研究发现,维族体检者 HB 水平高于参考范围者较多,但结果显示维族体检者共有 36 例贫血患者,并且 33 例为小细胞低色素性贫血,贫血检出率为 1.8%;而汉族体检者贫血患者仅检出 7 例,贫血检出率为 0.35%,两组贫血检出率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 19.77, P < 0.05$),因此在维族与汉族血液参数结果比较中,虽然维族的 HB 水平高于汉族体检者,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。原因可能为维族体检者均来自于农三师 51 团而汉族体检者均来自于石河子市,农三师 51 团海拔 1 480 m,石河子市海拔 443 m,两组研究对象 HB 水平差异与当地海拔较高,以及维族无肉不餐的饮食习惯有关。但维族居民贫富差距大,农三师 51 团土地贫瘠、偏远落后,农民及放牧者与事业单位的职工生活相差较大,贫穷地区的维族人民的营养状况较差,维族男性的营养性贫血检出率较高,与家庭经济情况及男、女性分工有关。

比较不同性别维、汉民族体检者的血液检测结果发现,汉族男性的 HB、GLU 高于维族男性、TG 低于维族男性,而汉族女性 HB、GLU、TG 低于维族女性,且差异均有统计学意义($P < 0.05$)。同时,维族体检者中冠心病患者男、女性比例为 1:3,而汉族体检者中冠心病患者男、女性比例为 19:15,两者差异有统计学意义($\chi^2 = 13.40, P < 0.05$),原因可能如下:维族女性婚后、产后体脂、体质量增加,体形改变较大,并且文化水平较低,健康意识较差,农三师 51 团维族家庭后代多、经济压力大,女性主要负责照顾家庭,男性主要负责务农养家,因为社会家庭分工,以及经济和种族差异等原因,使得维族人群中女性慢性病患者多^[8-10]。

通过此次研究结果发现,维族与汉族体检人群的血液检测

结果比较,突出差异表现为以下几个方面:维族女性高 GLU、高血脂、高 HB 者多,高血压、冠心病等疾病发病多于男性,而男性的营养性贫血发病高于女性,此种差异与生活饮食、文化程度及价值观有关。

参考文献

- [1] 郝立君,崔彦杰,刘红春. 新疆乌鲁木齐市维吾尔族与汉族居民血脂水平差异分析[J]. 新疆医科大学学报, 2015, 38(4):486-487.
- [2] 裴晓黎,王淑霞. 新疆喀什地区冠心病患者血脂状况的临床研究[J]. 中国实用医药, 2014, 9(14):86.
- [3] 陈苗苗,郑静,孙敬雯,等. 新疆 2 585 例汉、维、哈族血脂水平调查[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(7):1719-1722.
- [4] 史超,刘旭华,加米拉·托尔地,等. 维吾尔族及汉族老年冠心病患者疾病认知情况调查分析[J]. 上海护理, 2014, 14(5):44-47.
- [5] 李欢,达娜,梁杰. 血脂与骨密度:新疆男性高血压患者相关性[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(20):3152-3157.
- [6] 翟雪芹,刘浩,王晓峰. 维吾尔族与汉族早发冠心病患者中医证型与血脂及纤维蛋白原相关性研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(4):478-481.
- [7] 孔焱,王福刚,刘鑫,等. 克拉玛依地区维吾尔族、汉族 2 型糖尿病患者血脂水平对比分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(12):1651-1656.
- [8] 陈建莉,明少菊,蒙华. 农三师团场汉族和维族居民慢性病患病现状 & 危险因素分析[J]. 中国慢性病预防与控制, 2010, 18(4):362-364.
- [9] 黄萍,古力娜尔. 维吾尔族、汉族男性高血压患者肾功能和血脂分析比较[J]. 社区医学杂志, 2013, 11(4):37-38.
- [10] 段玮,张金刚,马雅静. 新疆石河子地区维汉两民族居民血脂水平及影响因素分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(18):2411-2413.

(收稿日期:2017-05-01 修回日期:2017-08-01)

(上接第 3516 页)

2 in cutaneous squamous cell carcinoma and precursor lesions and their relationship with histological stages and clinical features[J]. J Dermatol, 2014, 41(S1):76-83.

- [7] 郝玉琴,冯红霞,张秀丽. HIF-1 α 和 Glut-1 在皮肤鳞状细胞癌和基底细胞癌中的表达[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2010, 26(9):618-621.
- [8] 梁辉,宫伟,姬宏斌,等. 缺氧时肝癌 HepG2 细胞 HIF-1 α 对 GLUT-1 表达的影响及机制探讨[J]. 实用肿瘤杂志, 2013, 28(3):265-269.
- [9] 倪嘉延,吴裕丹,黄康华,等. HIF-1 α 基因干扰对大鼠 CBRH-7919 肝癌细胞 HIF-1 α 与 VEGF 表达影响的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(22):1704-1708.
- [10] 李铁楠,李东宁. ID-1, VEGF 及 Tsp-1 在皮肤鳞状细胞癌和基底细胞癌组织中的表达[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2013, 27(8):767-771.
- [11] 黄琨,黄闯,单葵,等. PCDGF 和 VEGF 蛋白在皮肤鳞状

细胞癌,基底细胞癌中的表达及临床意义[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(3):306-309.

- [12] 孙祺琳,陈军. 皮肤鳞状细胞癌及基底细胞癌中环氧化酶-2 与血管内皮生长因子的表达[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(2):403-405.
- [13] Chen YE, Jiang SH, Zou JZ, et al. Silencing HIF-1 aggravates growth inhibition and necrosis of proximal renal tubular epithelial cell under hypoxia[J]. Ren Fail, 2016, 38(10):1726-1734.
- [14] 廖志东,郑少秋,匡亚玲,等. HER-2、HIF-1 α 、GLUT-1 及 VEGF 表达在乳腺浸润性导管癌淋巴结转移中作用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(1):22-25.
- [15] 张欣,吴立平,康保洁. 葡萄糖转运蛋白 1、血管内皮生长因子及增殖细胞核抗原在非小细胞肺癌中的表达及其相关性[J]. 中国医药导报, 2016, 13(4):73-76.

(收稿日期:2017-05-05 修回日期:2017-08-05)