

食管鳞癌组织 HIF-1 表达与放疗疗效的关系

张洪珍¹, 段昕波¹, 段哲萍¹, 刘斌¹, 祝淑钗²

Expression of HIF-1 and Its Prognostic Significance in Esophageal Squamous Cell Carcinoma

ZHANG Hong-zhen¹, DUAN Xin-bo¹, DUAN Zhe-ping¹, LIU Bin¹, ZHU Shu-chai²

1. Department of Radiation Oncology, Hebei Province People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China; 2. Department of Radiation Oncology, Hebei Cancer Hospital

Abstract: Objective To explore the prognostic importance of hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) expression in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). **Methods** The expression of HIF-1 was detected by immunohistochemical staining (SP) in fifty patients with ESCC received radiotherapy. **Results** HIF-1 was expressed in the nucleus of tumor cells in 34/50 (68%) cases with ESCC. The complete effective rate to radiotherapy and median survival periods and 95 confidence interval of those with positive expression of HIF-1 and with negative expression were 18.75%, 10 (7.86, 12.14) and 81.25%, 25 (15.57, 34.43) months, respectively. Patients with positive expression obviously survived less than those with negative expression and the difference was significant ($P < 0.05$). The positive rate of HIF-1 was closely related to clinical stage ($P < 0.05$) and no correlation with the differentiation degree of tumor ($P > 0.05$). **Conclusion** The expression of HIF-1 may serve as important parameter in evaluating response for radiotherapy and prognosis of ESCC.

Key words: Esophageal squamous cell cancer (ESCC); Hypoxia Inducible Factor 1 (HIF-1); Radiotherapy; Prognosis

摘要:目的 探讨食管鳞癌缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 的表达与放疗疗效的关系。方法 采用免疫组织化学 SP 法检测食管镜活检 50 例有完整随访资料的接受外照射治疗的食管鳞癌中 HIF-1 蛋白的表达。结果 50 例食管鳞癌放疗近期有效率为 86%。HIF-1 主要表达于食管鳞癌细胞的细胞核, 其阳性表达率为 68%; HIF-1 表达阳性和阴性组食管癌患者的放疗后近期完全缓解率、中位生存时间及 95% 的可信区间分别为 18.75%、10 (7.86, 12.14) 个月和 81.25%、25 (15.57, 34.43) 个月, HIF-1 阳性表达组的放疗后缓解率、生存期明显小于阴性组 ($P < 0.05$)。HIF-1 的表达与病理类型无明显关系 ($P > 0.05$)。与临床分期有关, I~II、III~IV 期 HIF-1 阳性表达率分别为 11.11%、78.05%, 两者差异具有显著性 ($P < 0.05$)。多因素 COX 模型逐步回归分析结果显示“临床分期”、“病变长度”和“HIF-1”三种因素对患者生存期的影响最大。结论 HIF-1 蛋白阳性表达是食管癌患者预后不良的标志, 其高表达与食管癌的放射抗拒性有密切关系。

关键词: 食管肿瘤; 缺氧诱导因子-1; 免疫组织化学; 放射治疗; 预后

中图分类号: R735.1; Q786 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2006)08-0602-03

0 引言

食管癌系我国高发恶性肿瘤, 放射治疗是主要治疗方法之一。然而, 放射治疗后 5 年生存率仅为 6%~10%, 局部无肿瘤残存占 28.1%, 肿瘤残存占 71.9%^[1]。肿瘤复发、转移、对放疗抗拒的基础是肿瘤微环境缺氧。缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 是直接对低氧作出反应的关键蛋白质。HIF-1 是 HIF-1 的

一个亚基, 决定 HIF-1 的活性。已发现在多种恶性肿瘤中均存在 HIF-1 蛋白的过表达, 且与预后不良密切相关^[2,3]。本研究采用免疫组织化学方法检测 50 例 1997 年 10 月~2004 年 10 月有完整随访资料的接受单纯放射治疗的食管癌存档蜡块。旨在探讨食管鳞癌组织中 HIF-1 表达及其与预后的关系。

1 资料与方法

1.1 入组条件 放射治疗前经食管镜活检病理证实为食管鳞状细胞癌; 卡氏评分 70 分; 未接受过手术、放射和化学治疗; 无恶性肿瘤病史、无严重内科疾病。

1.2 临床资料 50 例中, 男 37 例, 女 13 例; 年龄

收稿日期: 2006-01-16; 修回日期: 2006-03-20

基金项目: 河北省科技厅科技攻关课题 (052761764)

作者单位: 1. 050011 石家庄, 河北省人民医院放疗科;

2. 河北医科大学第四医院放疗科

通讯作者: 祝淑钗

作者简介: 张洪珍 (1966-), 女, 博士, 副主任医师, 主要从事恶性肿瘤临床放疗研究工作

范围 43 ~ 85 岁,平均年龄 62.84,中位年龄 65 岁。颈段、胸上、中、下段食管癌,分别为 10、11、23、6 例。组织病理学高分化/ 级、中分化/ 级、低分化/ 级分别为 20、21、9 例。全部病例均做了放射治疗前的食管镜、钡餐造影及胸部 CT 扫描和腹部超声波检查。按祝淑钗等^[4]提出的非手术治疗食管癌临床分期标准,50 例中 I、II、III、IV 期分别为 0、9、33、8 例。随访日截止到 2005 年 11 月 30 日。

1.3 治疗方案 根据食管钡餐造影和 CT 扫描结果在模拟定位机下定位,选用⁶⁰Co 线照射,多采用一前两后斜野等中心、源皮距照射。照射野宽度在前后垂直野多为 7.0cm,两后斜野多为 6.0cm;照射野长度为病变上下两端各外放 3.0 ~ 4.0cm,有纵隔淋巴结转移者常为不规则照射野。均采用常规分割照射,2.0 Gy/次,5 次/周,总剂量为 60 ~ 65 Gy。其中 6 例放疗后接受 3 ~ 4 个周期化疗。

1.4 HIF-1 蛋白的免疫组化染色 采用 SP 免疫组化染色,按说明书步骤操作。所用 HIF-1 蛋白的单克隆抗体为美国 Nomarker 公司产品,SP 免疫组化试剂盒购于晶美公司。HIF-1 一抗的工作浓度为 1:50。阴性对照用 PBS 代替一抗,用已知的 HIF-1 阳性的乳腺癌组织切片为阳性对照。

1.5 结果判定 放疗疗效评价:食管癌放疗结束时及结束后 3 个月内疗效评价参照 X 线片评价标准^[5]。完全缓解(CR);部分缓解(PR);无效(NR);有效(CR + PR)。HIF-1 蛋白的结果判断:HIF-1 表达的阳性判断标准按 Zhong 等^[2]的报道。(-):没有染色或 < 1% 的细胞核染色;(+) : 1% ~ 10% 的细胞核染色,或/ 和较弱的胞浆染色; (++) : 10% ~ 50% 的细胞核染色,或/ 和明显的胞浆染色; (+++) : > 50% 的细胞核染色,或/ 和较强的胞浆染色。(-) 为阴性;(+) ~ (+++) 为阳性。

1.6 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件,对数据进行统计学分析。实验结果计数资料采用 ² 检验和 Kaplan-Meier 生存分析,COX 模型多因素分析,以 P < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

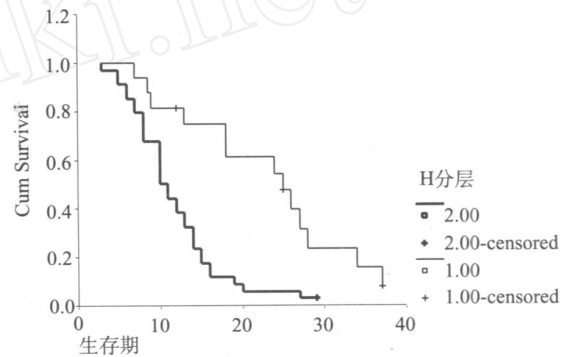
50 例食管鳞癌放疗近期有效率为 86%,1、2、3 年生存率分别为 54%、21%、7%。平均生存期 15.89 个月,中位生存期 13.0 个月。生存期与病变长度(P = 0.0022)、临床分期(P = 0.0000)和 HIF-1 蛋白的过表达有关(P = 0.0011);与性别、年龄、发病部位、病理分型、是否化疗没有关系。

2.1 食管鳞癌组织中 HIF-1 蛋白表达 食管鳞癌组织中 HIF-1 蛋白细胞核阳性表达率为 68%

(34/50),没有出现其他形式的 HIF-1 蛋白阳性表达。HIF-1 细胞核阳性表达与食管癌 TNM 分期呈正相关(P < 0.05)。临床分期中 I ~ II 期、III ~ IV 期 HIF-1 阳性表达率分别为 11.11%、78.05%,两者差异具有显著性(P < 0.05)。与患者的性别、年龄、病理分化程度无相关性(P > 0.05)。

2.2 食管鳞癌组织中 HIF-1 蛋白表达与食管癌放疗近期疗效和生存期的关系 50 例食管鳞癌放疗近期有效率为 86%;HIF-1 表达阳性和阴性组食管癌患者放疗后近期完全缓解率、中位生存时间及 95% 的可信区间分别为 18.75%、10 (7.86, 12.14) 个月和 81.25%、25 (15.57, 34.43) 个月。HIF-1 表达阳性患者放疗后缓解率、生存期明显小于阴性表达者(P < 0.05),见图 1、表 1。

2.3 多因素 COX 模型逐步回归分析结果 结果显示,“临床分期”、“病变长度”和“HIF-1 表达”3 种因素对患者生存期的影响最大,而与病理分级无关。



1 为阴性表达;2 为阳性表达
图 1 HIF-1 表达与食管鳞癌的生存曲线

表 1 HIF-1 表达与食管癌放疗近期疗效和生存期的关系

	CR	PR	NR	P	Median Survival	95% CI	P
HIF-1							
Positive	3	25	6	0.0000	10	7.86 ~ 12.14	0.0011
Negative	16	2	1		25	15.57 ~ 34.43	

3 讨论

放射治疗是食管癌主要治疗方法之一,然而,单纯放疗后 5 年生存率约 6% ~ 10%,局部复发高达 80% 以上。因此从分子水平揭示放射抗拒性的机制,为改善放射治疗疗效及对临床预后评估及指导治疗有重要意义。

大多数实体肿瘤具有缺氧的微环境。研究表明肿瘤细胞存在的缺氧诱导因子 1 (HIF-1) 在肿瘤缺氧环境中起着中枢纽带作用,不仅与肿瘤血管生成、

能量代谢、侵袭转移有关,还与放疗、化疗的抵抗性密切相关。HIF-1 是缺氧条件下广泛存在于哺乳动物和人体内的一种异源二聚体核转录因子,由 亚基(HIF-1 β)和 亚基(HIF-1 α)组成。HIF-1 是唯一的 O₂ 调节亚单位,决定 HIF-1 的活性。缺氧条件下,细胞核产生 HIF-1 与靶基因上的 HIF-1 结合位点结合,形成转录起始复合物从而启动和促进靶基因的转录。靶基因转录启动后,相应的蛋白质产物增加,这些产物在肿瘤细胞适应缺氧、能量代谢、肿瘤新生血管形成和转移、放疗抗性和化疗耐药起重要作用^[6]。研究表明,HIF-1 在多种人类肿瘤、癌前病变和早期癌变中存在高表达,在宫颈癌^[3]、乳腺癌^[7]、咽喉部鳞癌^[8]和胃癌^[9]的研究中发现 HIF-1 表达与肿瘤大小、淋巴结转移呈正相关,并与肿瘤放化疗的缓解率、总生存期及无瘤生存期呈负相关。研究表明 HIF-1 是促进食管鳞癌血管生成和淋巴结转移的重要因素^[10]。Matsuyama 等^[11]对 215 例食管鳞状细胞癌患者检测了 HIF-1、VEGF 蛋白表达,95%病人 HIF-1 蛋白阳性表达,在 HIF-1 高表达组 VEGF 表达也显著增高。Sohda 等^[12]用免疫组化技术,检测 65 例放化疗前食管癌标本 HIF-1 及 p53、p21 表达并观察这些基因的蛋白表达能否预测患者放化疗治疗的效果、评估基因蛋白表达与细胞增生和凋亡的关系中,结果显示 HIF-1 独立于 p53 和 p21 与放化疗明显负相关,而且发现 44.4% HIF-1 阴性表达组对治疗敏感。

本研究显示,食管鳞癌组织中 HIF-1 阳性核表达率为 68%。HIF-1 表达阳性和阴性组食管癌患者放疗后近期完全缓解率、中位生存时间及 95% 的可信区间分别为 18.75%、10(7.86,12.14)个月和 81.25%、25(15.57,34.43)个月。HIF-1 的表达与肿瘤的分化程度无明显关系($P > 0.05$)。与临床分期有关,临床分期中 I~II 期、III~IV 期 HIF-1 阳性表达率分别为 11.11%、78.05%,多因素 COX 模型逐步回归分析结果显示“临床分期”、“病变长度”和“HIF-1”3 种因素对患者生存期的影响最大。因此,可以认为 HIF-1 蛋白阳性表达是食管癌患者

预后不良的标志,其高表达与食管癌的放射抗拒性有密切关系。

参考文献:

- [1] 肖泽芬,林冬梅,吕宁,等. 32 例食管癌放射治疗后死亡的尸检分析[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2001, 10(2): 81-82.
- [2] Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases[J]. Cancer Res, 1999, 59 (22): 5830-5835.
- [3] Burri P, Djonov V, Aebersold DM, et al. Significant correlation of hypoxia-inducible factor-1alpha with treatment outcome in cervical cancer treated with radical radiotherapy[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2003, 56 (2): 494-501.
- [4] 祝淑钗,李任,李娟,等. 非手术治疗胸段食管癌临床分期与预后关系的初步探讨[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2004, 13 (3): 189-192.
- [5] 万钧,肖爱芹,高淑珍,等. 食管癌放疗后近期疗效评价标准[J]. 中国放射肿瘤学, 1989, 3: 205-207.
- [6] Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(10): 721-732.
- [7] Bos R, van der Groep P, Greijer AE, et al. Levels of hypoxia-inducible factor-1alpha independently predict prognosis in patients with lymph node negative breast carcinoma[J]. Cancer, 2003, 97 (6): 1573-1581.
- [8] Aebersold DM, Burri P, Beer KT, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha: a novel predictive and prognostic parameter in the radiotherapy of oropharyngeal cancer. Cancer Res[J]. 2001, 61 (7): 2911-2916.
- [9] Takahashi R, Tanaka S, Hiyama T, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha expression and angiogenesis in gastrointestinal stromal tumor of the stomach[J]. Oncol, 2003, 10(4): 797-802.
- [10] Kurokawa T, Miyamoto M, Kato K, et al. Overexpression of hypoxia-inducible-factor 1alpha (HIF-1alpha) in oesophageal squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis and pathologic stage[J]. Br J Cancer, 2003, 89 (6): 1042-1047.
- [11] Matsuyama T, Nakanishi K, Hayashi T, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Sci, 2005, 96 (3): 176-182.
- [12] Sohda M, Ishikawa H, Masuda N, et al. Pretreatment evaluation of combined HIF-1alpha, p53 and p21 expression is a useful and sensitive indicator of response to radiation and chemotherapy in esophageal cancer[J]. Int J Cancer, 2004, 110 (6): 838-844.

[编辑:安 凤]