

· 临床研究 ·

葡萄糖转运蛋白-1、缺氧诱导因子-1 α 在宫颈上皮癌变过程中的表达及意义

马宗丽, 沙红兰, 朱东兵, 马玉琴

如皋市人民医院妇产科, 江苏 南通 226500

摘要: **目的** 探讨宫颈上皮内瘤变(CIN)及宫颈鳞状细胞癌中缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、葡萄糖转运蛋白-1(Glut-1)的表达及其与肿瘤生物学行为的关系和意义。**方法** 收集 2008 年至 2013 年在如皋市人民医院手术的 110 例宫颈病变(48 例 CIN, 62 例宫颈鳞状细胞癌)组织及 30 例正常宫颈组织应用 SP 免疫组化法检测 HIF-1 α 和 Glut-1 蛋白在不同宫颈组织中的表达并分析其相关性。**结果** CIN、宫颈癌组 HIF-1 α 和 Glut-1 阳性表达率均明显高于正常宫颈组(P 均 < 0.01)。HIF-1 α 表达与临床分期及病理分级有关(P 均 < 0.01)。Glut-1 表达与肿瘤直径相关($P < 0.01$)。宫颈癌组织中 HIF-1 α 、Glut-1 的表达呈正相关($r = 0.482, P < 0.05$)。**结论** 宫颈鳞状细胞癌中 HIF-1 α 和 Glut-1 蛋白的表达与肿瘤的恶性进展密切相关,联合检测 HIF-1 α 和 Glut-1 可作为了解宫颈癌生物学行为的参考指标,并有可能为宫颈癌的基因治疗提供新的靶点和新的思路。

关键词: 缺氧诱导因子-1 α ; 葡萄糖转运蛋白-1; 免疫组化; 宫颈上皮内瘤变; 宫颈鳞状细胞癌

中图分类号: R 711.74 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2016)12-1675-03

恶性肿瘤细胞异常生长增殖使得实体肿瘤内普遍存在缺氧现象,肿瘤细胞对缺氧微环境的适应主要通过缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)介导的调节通路。作为核心转录因子,缺氧时 HIF-1 α 的表达及活性的增强进一步调控其下游基因,保证肿瘤细胞血管生成、能量平衡,促进侵袭转移。葡萄糖转运蛋白-1(Glut-1)是哺乳动物跨膜转运葡萄糖的重要载体,与肿瘤能量供应、生长增殖关系密切。本研究应用免疫组化方法检测宫颈上皮内瘤变(CIN)、宫颈癌组织中 HIF-1 α 和 Glut-1 的表达情况及相关性,结合临床资料,初步探讨 HIF-1 α 、Glut-1 在宫颈癌发生发展中的意义及其诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2008 年至 2013 年在如皋市人民医院手术的宫颈鳞状细胞癌组织 62 例,其中病理分级 G1~G2 级 24 例, G3 级 38 例; I a~II a 期 36 例, II b~IV 期 26 例。CIN 组织 48 例。所有病例均经病理检查确诊,患者年龄 35~75 岁,中位年龄 51.9 岁。对照组为同期子宫肌瘤行子宫全切术的正常宫颈组织 30 例。

1.2 主要试剂 鼠抗人 HIF-1 α 单克隆抗体、兔抗人 Glut-1 多克隆抗体及二氨基联苯胺(DAB)显色试

剂盒均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 HIF-1 α 及 Glut-1 蛋白的免疫组化染色 手术标本经 4% 甲醛固定包埋, 4 μm 厚连续切片 4 张。HIF-1 α 和 Glut-1 染色方法采用链霉菌抗生物素-过氧化物酶(SP)免疫组化法,按照试验盒操作说明进行:石蜡切片常规脱蜡、水化,抗原修复,依次滴加过氧化物酶阻断液、非免疫性动物血清、第一抗体、生物素标记的第二抗体、SP 溶液,最后 DAB 显色,洗涤、复染、脱水、透明及封片,显微镜下观察染色情况。

1.4 结果判定 HIF-1 α 蛋白表达部位为细胞核棕黄色染色。Glut-1 蛋白表达部位为细胞膜棕黄色染色。按照 Bachtary 等^[1]的方法,综合染色强度和阳性细胞百分比行半定量处理,即染色弱者为 1 分,染色清晰者为 2 分,染色强者为 3 分;在 400 倍高倍镜下,每张片随机选择 5 个高倍视野,每视野计数 100 个细胞,共计 500 个细胞。阳性细胞数 $< 10\%$ 为 0 分, $11\% \sim 50\%$ 为 2 分, $51\% \sim 80\%$ 为 3 分, $> 80\%$ 为 4 分,最终评分为上述两项评分的总分。总分 < 2 分者为阴性表达,总分 ≥ 3 分者为阳性表达。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,率的比较采用 χ^2 检验和分割 χ^2 检验,分割 χ^2 检验时检验水准校正为 $\alpha = 0.0175$;用 Spearman 等级相关行相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HIF-1 α 、Glut-1 蛋白在不同宫颈组织中的表达

从正常宫颈组织、CIN 到宫颈癌, HIF-1 α 、Glut-1 蛋白阳性表达率均呈渐进性增强, 各组间差异显著(P 均 < 0.01)。见表 1。

2.2 HIF-1 α 、Glut-1 蛋白表达与宫颈癌生物学行为的关系 HIF-1 α 阳性表达与肿瘤细胞分化程度及临床分期相关(P 均 < 0.01); Glut-1 阳性表达与肿瘤大小相关($P < 0.01$)。见表 2。

2.3 宫颈癌中 HIF-1 α 、Glut-1 的表达相关性 宫颈癌中 HIF-1 α 、Glut-1 的表达呈正相关($r = 0.482, P < 0.05$)。见表 3。

表 1 HIF-1 α 和 Glut-1 在不同宫颈组织的阳性表达例(%)

分组	例数	HIF-1 α 阳性	Glut-1 阳性
正常宫颈	30	2(6.7)	0
CIN	48	23(47.9) ^①	12(25.0) ^①
宫颈癌	62	46(74.2) ^{①②}	33(53.2) ^{①②}

注:与正常宫颈比较,^① $P < 0.01$;与 CIN 比较,^② $P < 0.01$ 。

表 2 HIF-1 α 、Glut-1 阳性表达与宫颈癌病理参数的关系(例)

病理参数	例数	HIF-1 α		χ^2 值	P 值	Glut-1		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性			阳性	阴性		
组织学分级									
G1 ~ G2	24	13	11	8.20	< 0.01	14	10	0.01	> 0.05
G3	38	33	5			19	19		
临床分期									
I a ~ II a	36	22	14	7.67	< 0.01	18	18	0.36	> 0.05
II b ~ IV	26	24	2			15	11		
肿瘤大小									
≤ 3 cm	39	28	11	0.32	> 0.05	15	24	9.20	< 0.01
> 3 cm	23	18	5			18	5		

表 3 宫颈癌中 HIF-1 α 与 Glut-1 表达的相关性(例)

HIF-1 α	Glut-1		合计	r 值	P 值
	阳性	阴性			
阳性	31	15	46	0.482	< 0.05
阴性	2	14	16		
合计	33	29	62		

3 讨论

恶性实体肿瘤生长代谢的基本特征之一是微环境缺氧以及对葡萄糖的摄取及代谢增加。哺乳动物主要通过 HIF-1 α 的调节维持氧平衡。目前已知 HIF-1 α 靶基因有 100 多种, 其功能涉及血管生成、血管塑性、红细胞生成、糖转运、糖分解、离子转运、细胞增殖和存活等, 这些功能与肿瘤的代谢、浸润和转移密切相关^[2]。研究证实, 在绝大多数的肺癌、肠癌、前列腺癌等癌组织中检测到 HIF-1 α 的过表达。HIF-1 α 不仅在恶性肿瘤中高表达, 在部分早期癌变和癌前病变中也存在高表达。Bachtiary 等^[1]用免疫

组化法检测 67 例宫颈癌组织, 发现 HIF-1 α 在 72.1% 的宫颈癌组织呈阳性表达, 提示 HIF-1 α 在宫颈癌组织中的表达也是一种普遍现象。Vaupel^[3] 的研究显示治疗前肿瘤乏氧为独立的不良预后因子。我们的实验提示, HIF-1 α 在正常宫颈组织中表达极低, 在宫颈正常组织 \rightarrow CIN \rightarrow 宫颈癌的转化过程中, HIF-1 α 表达逐渐增强, 这提示 HIF-1 α 是宫颈癌发生的早期分子事件, 参与了宫颈癌的形成。HIF-1 α 作为肿瘤标记物, 对诊断 CIN 及宫颈癌有一定参考价值^[4]。我们的实验还表明, II b ~ IV 期宫颈癌组织中 HIF-1 α 的表达显著高于 I a ~ II a 期, 提示 HIF-1 α 与患者的预后相关。

Glut-1 是高效转运葡萄糖分子的特异蛋白, 亦是 HIF-1 α 下游靶基因, 被认为是内源性乏氧标记物。HIF-1 α 通过介导乏氧反应基因(HRG)的调控而上调 Glut 的表达^[5]。在不典型增生组织中, Glut-1 表达增强但明显弱于癌组织, 表达强度与不典型增生程度正相关, 可作为早期诊断癌前病变的依据^[6], 研究还表明, 在脑组织以外的正常组织中不能检测到 Glut-1 的表达, 而在恶性肿瘤组织中 Glut-1 普遍高表达, 阳性率可达 50% 以上^[7-8], 本实验数据与之相近。本研究结果还显示, HIF-1 α 蛋白与 Glut-1 蛋白表达呈正相关, 与申彦等^[9]的研究结果一致, 提示 Glut-1 的部分表达由 HIF-1 α 介导, 佐证了 Glut-1 是 HIF-1 α 靶基因的学说, 在宫颈癌细胞缺氧时 HIF-1 α 表达增加, 激活 Glut-1 蛋白表达, 二者协同作用, 促进了宫颈癌恶性行为的发展。

综上所述, 我们认为 HIF-1 α 、Glut-1 参与了宫颈癌的发生发展过程, 二者的阳性表达预示着侵袭性的生物学行为。随着对缺氧调节通路及其调控因素作用机制的进一步深入研究, 阻断 HIF-1 α /Glut-1 途径有望成为一种针对宫颈癌合理有效的治疗手段。

参考文献

- [1] Bachtiary B, Schindl M, Pötter R, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha indicates diminished response to radiotherapy and unfavorable prognosis in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(6): 2234 - 2240.
- [2] Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(10): 721 - 732.
- [3] Vaupel P. Prognostic potential of the pre-therapeutic tumor oxygenation status [J]. Adv Exp Med Biol, 2009, 645: 241 - 246.
- [4] 马宗丽, 仲建新. 缺氧诱导因子 1 α 和碳酸酐酶 IX 在宫颈上皮癌变过程中的表达及意义 [J]. 江苏医药, 2014, 40(8): 903 - 905.
- [5] Sivridis E, Giatromanolaki A, Gatter KC, et al. Association of hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha with activated angiogenic pathways and prognosis in patients with endometrial carcinoma [J].

Cancer, 2002, 95(5):1055-1063.

- [6] 聂琴, 辛现良, 耿美玉. 葡萄糖载体-1 研究进展[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(10):1267-1270.
- [7] Markowska J, Grabowski JP, Tomaszewska K, et al. Significance of hypoxia in uterine cervical cancer. Multicentre study [J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2007, 28(5):386-388.
- [8] Wincewicz A, Sulkowska M, Koda M, et al. Clinicopathological sig-

nificance and linkage of the distribution of HIF-1 alpha and glut-1 in human primary colorectal cancer [J]. Pathol Oncol Res, 2007, 13(1):15-20.

- [9] 申彦, 张新莹, 师宜荃, 等. Glut-1、HIF-1 α 及 P53 在卵巢癌中的表达及意义[J]. 天津医科大学学报, 2013, 19(5):383-386.

收稿日期: 2016-07-15 编辑: 王国品

· 临床研究 ·

结肠梗阻 30 例的预后及其影响因素

孙慰军, 王学群, 刘志威

广东省惠州市博罗县人民医院内二科, 广东 惠州 516100

摘要: **目的** 探讨分析结肠梗阻的预后的相关影响因素, 旨在为制定科学的医护措施提供参考依据。**方法** 选取惠州市博罗县人民医院 2015 年 1 月至 2016 年 2 月间, 收治的 30 例结肠梗阻患者为研究对象, 以患者的性别、年龄、梗阻部位、梗阻性质、术前美国麻醉师协会(ASA)评分、术前肾功能、腹膜炎、手术方法、术后并发感染等为自变量, 以患者病死率作为因变量, 先进行单因素分析, 对有统计学意义的变量逐步引入的方法进行多因素 Cox 回归分析。**结果** 本组 30 例结肠梗阻患者, 入院 30 d 内死亡 6 例, 病死率 20.0%。单因素分析结果显示, 患者年龄、术前 ASA 评分、术前肾功能、合并腹膜炎、肠镜下支架置入术、术后并发感染是结肠梗阻死亡的影响因素, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。多因素分析结果显示, 患者年龄、术前 ASA 评分、合并腹膜炎、肠镜下支架置入术、术后并发感染是影响结肠梗阻死亡的相关因素($P < 0.05$, $P < 0.01$), 其中术后并发感染是影响预后最为重要的独立危险因素, 肠镜下支架置入术是影响预后的保护性因素。**结论** 对于结肠梗阻患者, 尤其是高龄、术前 ASA 评分等级为 III-IV 级或合并腹膜炎者, 应加强护理干预, 密切监测心肝肾肺肾等重要脏器功能变化, 及时纠正水、电解质与酸碱平衡, 恶性梗阻尽量选择实施肠镜下支架置入术, 并积极应用抗生素预防感染, 从而改善结肠梗阻预后, 降低病死率。

关键词: 结肠梗阻; 预后; 病死率; 影响因素; 术后感染

中图分类号: R 574.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2016)12-1677-03

结肠梗阻是一种需要积极进行干预治疗的急腹症, 具有较高的发病率与病死率, 主要是结直肠癌、结肠憩室、结肠扭转、结肠外盆腔肿瘤等所导致^[1-2]。一旦发生结肠梗阻, 肠内容物由于回盲瓣的关闭只能排进不能排出, 而结肠部位的肠壁薄、血供少, 容易导致局部穿孔、坏死的发生^[3-4]。正常条件下, 结肠内的细菌含量相对较高, 而梗阻发生后细菌繁殖显著加快, 容易引发全身性感染, 严重者还可能导致毒血症、中毒性休克等, 给患者的生命安全造成巨大的威胁^[5-6]。本文探讨分析我院收治的结肠梗阻患者预后的相关影响因素, 旨在为制定科学的医护措施提供参考依据。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取我院 2015 年 1 月至 2016 年 2 月间收治的 30 例结肠梗阻患者为研究对象, 所有患者经症状、腹部体征临床诊断及腹部平片或腹部 CT、结肠镜等检查确诊, 由家属签署相关知情同意后, 在梗阻发生后尽快进行手术治疗。其中男性 16 例, 女性 14 例; 年龄 52~85(67.8 \pm 5.4)岁; 近端结肠梗阻 13 例, 其中多为升结肠梗阻(7 例); 远端结肠梗阻 17 例, 其中多为降结肠梗阻(8 例); 梗阻原因: 结直肠肿瘤 24 例, 结肠憩室 2 例, 肠外肿瘤 2 例, 炎症性肠病 1 例, 结肠疝 1 例。

1.2 治疗方法 所有患者入院后, 均立即完善相关检查, 予以禁水禁食、补充水电解质、能量支持、心电监护、胃肠减压、解痉等基础性治疗。在知情同意下, 22 例结肠梗阻的患者在术前选择实施肠镜下支架置