

论著 · 临床研究

胃癌组织 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 表达及其与病理特征的相关性研究*

杨 阳,徐细明 Δ

(武汉大学人民医院肿瘤中心,湖北武汉 430060)

摘要:目的 探讨胃癌组织缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、葡萄糖转运蛋白-1(GLUT-1)及乳酸脱氢酶-5(LDH-5)表达及其与病理特征的相关性。**方法** 选取2015年6月至2017年6月在该院行胃癌切除术的93例患者胃癌组织标本作为观察组,取其癌旁组织标本作为对照组。采用免疫组化MaxVision III法检测HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5表达。比较两组HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5阳性表达情况,胃癌组织标本中HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5两两间相关性,以及不同性别、年龄、临床分期及分化程度HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5的表达情况。**结果** 观察组HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5阳性表达率高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5两两之间呈正相关;不同性别和不同年龄HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);Ⅲ~Ⅳ期HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5阳性表达率均高于Ⅰ~Ⅱ期,低分化HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5阳性表达率均高于高、中分化,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 胃癌组织中HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5呈高表达,HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5呈线性正相关,且与临床病理特征具有明显相关性,随着临床分期升高和分化程度加重,HIF-1 α 、GLUT-1及LDH-5表达越高。

关键词:胃癌组织; 缺氧诱导因子-1 α ; 葡萄糖转运蛋白-1; 乳酸脱氢酶-5; 病理特征
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.12.011 **中图法分类号:**R735.2
文章编号:1673-4130(2018)12-1448-04 **文献标识码:**A

Expression of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 in gastric cancer tissues and their correlation with pathological features*

YANG Yang, XU Ximing Δ

(Cancer Center, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of hypoxia inducible factor 1 α (HIF-1 α), glucose transporter - 1 (GLUT-1) and lactate dehydrogenase -5 (LDH-5) in gastric cancer tissues and their correlation with pathological features. **Methods** From June 2015 to June 2017, 93 cases of gastric cancer resection were selected as the observation group, and the cancer adjacent tissues were taken as the control group. Immunohistochemical staining was used to detect the expression of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5. The gastric cancer tissues from 93 patients with gastric cancer who underwent gastrectomy in the hospital were taken as the observation group, and the adjacent tissues were taken as the control group. The expressions of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 in two groups were determined by Immunohistochemical MaxVision III method. The positive expressions of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 in two groups were compared, and the correlation between HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 in gastric cancer tissues, and the expressions of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 in different sex, age, clinical stage and differentiation degree were compared. **Results** The positive expression rates of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 in the observation group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$); HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 were positively correlated with each other; there were no significant differences of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 levels in different gender group and different age group ($P>0.05$); the positive expression rates of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 at Ⅲ

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372407)。
作者简介:杨阳,男,在读硕士研究生,主要从事恶性肿瘤靶向治疗和个体化治疗方面的研究。 Δ 通信作者, E-mail: doctorxu120@aliyun.com。
本文引用格式:杨阳,徐细明.胃癌组织 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 表达及其与病理特征的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39 (12): 1448-1450.

and IV stages were higher than those at I and II stages, the positive expression rates of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 of low differentiation were higher than those of high and middle differentiation and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The high expressions of HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 were observed in gastric cancer tissue. HIF-1 α , GLUT-1 and LDH-5 were linearly and positively correlated with each other, and had a significant correlation with the clinicopathological features. With the increase of clinical stage and the degree of differentiation, the expression of HIF-1 a, GLUT-1 and LDH-5 were higher.

Key words: gastric cancer tissues; hypoxia inducible factor-1 α ; glucose transporter-1; lactate dehydrogenase-5; pathological features

胃癌是常见的一种恶性肿瘤,其发病率呈不断上升趋势^[1]。由于胃癌具有症状不典型、发病隐匿等特点和诊断手段的限制,大部分临床发现时已属晚期和进展期,虽采取综合治疗方法,但大部分会死于胃癌的复发及远处转移,从而成为影响其治愈率的重要因素,同时也是导致治疗效果不良的主要原因^[2-4]。因此,临床早期诊断、早期发现及早期治疗对改善胃癌预后尤为重要^[5]。近年来,胃癌侵袭和转移的分子机制成为研究热点,明确胃癌侵袭和转移的分子机制不仅有利于早期发现胃癌,而且能够为临床预后提供有价值的标志物,进一步改善患者预后^[6-7]。恶性肿瘤生长迅速,造成微环境缺氧,葡萄糖摄取及代谢增加,以此能够满足肿瘤生长的需要。缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)是在低氧条件下大量存在的一种调节蛋白,是调节细胞内氧代谢的一种关键因子;葡萄糖转运蛋白-1(GLUT-1)具有重要调节缺氧组织的能量代谢作用;乳酸脱氢酶-5(LDH-5)是生成乳酸的关键酶,与多种肿瘤组织密切相关。本文研究旨在探讨胃癌组织 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 表达及其与病理特征的相关性。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 6 月至 2017 年 6 月在本院行胃癌切除术的 93 例患者的癌组织标本作为观察组,取其癌旁组织标本作为对照组。93 例患者中,男 59 例,女 34 例;年龄 30~75 岁,平均(58.49 \pm 6.41)岁;临床分期:Ⅰ~Ⅱ期 24 例,Ⅲ~Ⅳ期 69 例;分化程度:高、中分化 46 例,低分化 47 例。

1.2 主要试剂 鼠抗人 HIF-1 α 单克隆抗体(福州迈新生物技术开发有限公司),兔抗人 GLUT-1 多克隆抗体(福州迈新生物技术开发有限公司),兔抗人 LDH-5 单克隆抗体(武汉珈源生物医学工程有限公司),DAB 显色试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司)。

1.3 主要仪器 RM2235 型切片机(徕卡仪器有限公司),PathCom 全自动病理染色仪(美国 PathCom Systems 公司),BX43 型光学显微镜(Olympus 公司)。

1.4 方法 采用免疫组化 MaxVision Ⅲ 法检测 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 表达,具体方法如下:石

蜡组织标本切片 4 μ m,脱蜡,梯度乙醇水化,以柠檬酸钠缓冲液(pH6.0)行高温高压抗原修复 2 min,关火焖 10 min,开盖放置流水冲洗压力锅外壁至修复液冷却至室温,待处理切片经流水冲洗干净后用 6%过氧化氢(H₂O₂)封闭 10 min 灭活内源性过氧化物酶,经水洗后的切片放于磷酸盐缓冲液(PBS)中等待上机,按 PathCom 全自动病理染色仪操作步骤上机操作,染色仪程序运行结束后经苏木素复染,脱水透明,封片镜检。空白阴性对照组以 PBS 代替一抗。

1.5 免疫组化染色结果 于高倍镜($\times 400$)下随机选取 5 个视野,计算阳性细胞百分率,以阳性细胞数 $>50\%$ 为强阳性(+++),以阳性细胞数 10%~50%为中度阳性(++),以阳性细胞数 $<10\%$ 为弱阳性(+),无阳性细胞为阴性(-)。

1.6 观察指标 (1)观察两组 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 阳性表达;(2)观察行胃癌切除术标本 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 两两之间的相关性;(3)观察不同临床病理特征 HIF-1 α 表达;(4)观察不同临床病理特征 GLUT-1 的表达;(5)观察不同临床病理特征 LDH-5 的表达。

1.7 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计学处理,计数资料以率或构成比表示,采用 χ^2 检验,参数间相关性采用 Spearman 等级相关分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 阳性表达比较 观察组 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 阳性表达率高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 阳性表达率比较[n(%)]

组别	<i>n</i>	HIF-1 α	GLUT-1	LDH-5
观察组	93	67(72.04)	62(66.67)	59(63.44)
对照组	93	18(19.35)	16(17.20)	12(12.90)
χ^2		52.019 3	46.720 8	50.321 4
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

2.2 胃癌组织标本 HIF-1 α 、GLUT-1 及 LDH-5 两两之间相关性 胃癌组织标本中 HIF-1 α 、GLUT-1

及 LDH-5 的表达两两之间呈线性正相关。见表 2。

表 2 胃癌组织标本中 HIF-1α、GLUT-1 及 LDH-5 两两之间相关性分析

指标	<i>r</i>	<i>P</i>
HIF-1α 与 GLUT-1	0.854	<0.05
GLUT-1 与 LDH-5	0.718	<0.05
HIF-1α 与 LDH-5	0.802	<0.05

2.3 不同临床病理特征 HIF-1α、GLUT-1 和 LDH-5 表达比较 不同性别和不同年龄胃癌组织标本中 HIF-1α、GLUT-1 和 LDH-5 阳性表达情况比较,差异无统计学意义($P>0.05$);Ⅲ~Ⅳ期胃癌组织标本中 HIF-1α、GLUT-1 和 LDH-5 阳性表达率高于Ⅰ~Ⅱ期,低分化 HIF-1α、GLUT-1 和 LDH-5 阳性表达率高于高、中分化,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 3 不同临床病理特征中 HIF-1α、GLUT-1 和 LDH-5 的表达比较(*n*)

病理特征	<i>n</i>	HIF-1α		GLUT-1		LDH-5	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
性别							
男	59	42	17	39	20	37	22
女	34	25	9	23	11	22	12
年龄							
≥60 岁	42	31	11	27	15	26	16
<60 岁	51	36	15	35	16	33	18
临床分期							
Ⅰ~Ⅱ期	24	5	19	3	21	4	20
Ⅲ~Ⅳ期	69	62*	7	59*	10	55*	14
分化程度							
高、中分化	46	28	18	19	27	21	25
低分化	47	39#	8	43#	4	38#	9

注:与Ⅰ~Ⅱ期比较,* $P<0.05$;与高、中分化比较,# $P<0.05$

3 讨 论

缺氧是实体肿瘤中存在的一个普遍现象。肿瘤快速生长,形成缺氧的微环境。HIF-1α 是目前发现的一种介导细胞低氧反应中关键的转录抑制因子,能够提高通过正性调节细胞生存、增加新生血管的数量及细胞糖酵解,使肿瘤细胞对缺氧做出应答,从而致使肿瘤细胞无限制的生长甚至转移^[8-9]。缺氧时,通过 HIF-1α 通路转录激活诱导血管内皮生长表皮因子、葡萄糖转运蛋白等基因表达,诱导新生血管形成和促进糖代谢,协同生长因子和选择性抗凋亡促进肿瘤增殖,从而为肿瘤细胞不断生长增殖提供需要^[10-11]。本研究结果表明,观察组 HIF-1α 阳性表达率高于对照组,说明胃癌组织 HIF-1α 呈高表达;Ⅲ~Ⅳ期 HIF-1α 阳性表达率高于Ⅰ~Ⅱ期,低分化 HIF-1α

阳性表达率高于高、中分化,说明随着临床分期和分化程度加重,HIF-1α 阳性表达率越高。GLUT 是一类分布在细胞膜上的跨膜糖蛋白,且为一种葡萄糖跨膜进入细胞的载体^[12]。GLUT-1 是 GLUT 中分布最广泛的一种转运体,其功能主要是为细胞提供基本的葡萄糖供应,同时还能够为增殖分裂的细胞提供相应增加的葡萄糖。有研究证实,肿瘤细胞通常异常高表达 GLUT-1,从而为增加葡萄糖的摄取满足其能量需求^[13]。因此认为 GLUT-1 是细胞恶性变的早期标准。GLUT-1 不仅能够反映肿瘤增殖、侵袭转移和缺氧程度等重要程度,而且可对肿瘤分期、治疗及预后给予客观评价^[14]。本研究结果表明,观察组 GLUT-1 阳性表达率高于对照组,说明胃癌组织 GLUT-1 呈高表达;Ⅲ~Ⅳ期 GLUT-1 阳性表达率高于Ⅰ~Ⅱ期,低分化 GLUT-1 阳性表达率高于高、中分化,说明随着临床分期和分化程度加重 GLUT-1 阳性表达率越高。恶性肿瘤细胞在有氧条件下进行糖酵解反应,这是肿瘤细胞一种基本生物学特性。肿瘤细胞为满足生长增殖需要,通常于有氧环境中经糖酵解获得更多的能量和营养。LDH 是在肿瘤细胞糖酵解过程中催化丙酮酸生成乳酸的一种关键酶。有研究表明,在多种恶性肿瘤组织中 LDH-5 呈异常高表达,且于肿瘤的多种恶性表征和预后密切相关^[15]。本研究结果表明,观察组 LDH-5 阳性表达率高于对照组,说明胃癌组织 LDH-5 呈高表达;Ⅲ~Ⅳ期 LDH-5 阳性表达率高于Ⅰ~Ⅱ期,低分化 LDH-5 阳性表达率高于高、中分化,说明随着临床分期和分化程度加重 LDH-5 阳性表达率越高。目前,临床上关于胃癌组织 HIF-1α、GLUT-1 及 LDH-5 表达及其与病理特征的相关性研究报道甚少。本文通过初步研究证实,行胃癌组织标本 HIF-1α、GLUT-1 及 LDH-5 两两之间呈线性正相关。但由于本文还存在样本量较少,指标不够全面不足,因而还需在后续中做进一步多中心、多样本的研究,为临床提供可靠依据。

综上所述,胃癌组织中 HIF-1α、GLUT-1 及 LDH-5 呈高表达,HIF-1α、GLUT-1 及 LDH-5 两两之间呈线性正相关,且与临床病理特征有明显相关性,随着临床分期升高和分化程度加重,HIF-1α、GLUT-1 及 LDH-5 表达越高。

参考文献

[1] 洪勇强,战微微,杨继东,等. 超声双重造影在进展期胃癌诊断及疗效评估中的研究[J]. 中华全科医学,2015,13(1):97-99.

[2] 杜娟,杨磊,席妍,等. 血清胃蛋白酶原及肿瘤标志物联合检测在老年胃癌诊断中的意义[J]. 中国医药导报,2015,12(32):97-99.

- release in women with the luteinized unruptured follicle syndrome[J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2016, 43 (2): 178-180.
- [11] CHECK J H, WILSON C, COHEN R, et al. Mid-luteal phase injection of subcutaneous leuprolide acetate improves live delivered pregnancy and implantation rates in younger women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) [J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2015, 42(4):427-428.
- [12] 陈兰媚, 张文金, 张绵新, 等. IVF/ICSI-ET 术患者胚胎移植后不同黄体支持用药的护理指导[J]. 国际护理学杂志, 2017, 36(8):1147-1149.
- [13] OU J P, XING W J, LI T, et al. Short versus long gonadotropin-releasing hormone analogue suppression protocols in advanced age women undergoing IVF/ICSI[J]. Gynecol Endocrinol, 2016, 32(8):622-624.
- [14] BU Z, SUN Y. The impact of endometrial thickness on the day of human chorionic gonadotrophin(hCG) administration on ongoing pregnancy rate in patients with different ovarian response[J]. PLoS One, 2015, 10 (12): e0145703.
- [15] 韩文菊, 王磊, 罗海娇, 等. IVF-ET 治疗的原发性不孕症患者的病因分析及妊娠结局观察[J]. 中国实用医药, 2017, 12(4):97-98.
- [16] ACET M, AKTÜN L H, BAŞARAN OGLU S, et al. Premature progesterone elevation does not affect pregnancy outcome in high-responder patients undergoing short-interval coasting in IVF cycles[J]. Med Sci Monit Basic Res, 2015, 30(21):247-252.
- [17] CHECK J H, CHOE J K, COHEN R, et al. Effect of taking a one time injection of one mg leuprolide acetate three days after embryo transfer on pregnancy outcome and level of first beta human chorionic gonadotropin (beta-hCG) level[J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2015, 42(5):568-570.
- [18] 彭玲, 储亚平, 魏兆莲, 等. 40 岁以上高龄妇女获卵数对体外受精-胚胎移植助孕结局的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(1):105-108.
- [19] XING W, LIN H, LI Y, et al. Is the GnRH antagonist protocol effective at preventing OHSS for potentially high responders undergoing IVF/ICSI? [J]. PLoS One, 2015, 10(10):e0140286.
- [20] 赵敏, 郑文捷, 李晓东, 等. 黄体酮注射液与阴道缓释凝胶对实施体外受精与胚胎移植技术孕妇妊娠结局的影响比较: Meta 分析[J]. 福建医科大学学报, 2017, 51(1):61-67.
- [21] DAI W, BU Z Q, WANG L L, et al. The relationship between the changes in the level of progesterone and the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer[J]. Syst Biol Reprod Med, 2015, 61(6):388-397.

(收稿日期:2018-01-04 修回日期:2018-03-09)

(上接第 1450 页)

- [3] WANG W, SEERUTTUN S R, FANG C, et al. Prognostic significance of carcinoembryonic antigen staining in cancer tissues of gastric cancer patients[J]. Ann Surg Oncol, 2016, 23(4):1244-1251.
- [4] 牛昊书, 陈海华, 伏亦伟, 等. 窄带成像结合放大内镜技术观察胃表面微血管在早期胃癌诊断中的价值[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2015, 24(10):1192-1195.
- [5] 江婷婷, 王亚雷. 窄带成像技术联合放大内镜靶向活检在早期胃癌诊断中的价值[J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(11):1693-1696.
- [6] LI B, LIU H Y, GUO S H, et al. Detection of microsatellite instability in gastric cancer and dysplasia tissues[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(11):21442-21447.
- [7] 杜彦钊, 杜艳景, 马建明, 等. 血清肿瘤标记物在胃癌诊断中的应用[J]. 现代消化及介入诊疗, 2016, 21(2):247-249.
- [8] 刘伟, 安杰, 侯会池, 等. 腹腔镜 CO₂ 气腹对胃癌组织 HIF-1 α 、TAMs 及 CD34 表达的影响[J]. 中国现代普通外科进展, 2016, 19(4):267-270.
- [9] 冷雪梅, 李元宽. 联合检测血清 PGR、HIF-1 α 和 CEA 在胃癌诊断中的价值[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(9):1331-1332.
- [10] ZHANG C, TIAN W, MENG L, et al. PRL-3 promotes gastric cancer migration and invasion through a NF- κ B-HIF-1 α -miR-210 axis[J]. J Mol Med (Berl), 2016, 94(4):401-415.
- [11] 金秀, 王潇飞, 王红红, 等. 硫酸右旋糖苷抑制人胃癌细胞 HIF-1 α 和整合素 β 1 表达及其相关性[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(1):53-57.
- [12] YANG H J, XU W J, GUAN Y H, et al. Expression of glut-1 and HK-II in pancreatic cancer and their impact on prognosis and FDG accumulation[J]. Transl Oncol, 2016, 9(6):583-591.
- [13] YIN S L, LAN C, PEI H et al. Expression of interleukin 1 β in gastric cancer tissue and its effects on gastric cancer [J]. Onco Targets Ther, 2016, 9(1):31-35.
- [14] VAZ C V, MARQUES R, ALVES M G, et al. Androgens enhance the glycolytic metabolism and lactate export in prostate cancer cells by modulating the expression of GLUT1, GLUT3, PFK, LDH and MCT4 genes [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2016, 142(1):5-16.
- [15] ZHANG Q, WANG P, SHAO M, et al. Clinicopathological correlation of keratinocyte growth factor and matrix metalloproteinase-9 expression in human gastric cancer[J]. Tumori, 2015, 101(5):566-571.

(收稿日期:2018-01-05 修回日期:2018-03-10)