

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.24.044

HIF1- α 和 PCDGF 在鼻咽癌诊断和预后评价中的临床价值研究 *

宋 鹏 林 端 陈艳丽 魏日富 刘接威[△]

(福建医科大学附属宁德市医院耳鼻咽喉头颈外科 福建 宁德 352000)

摘要 目的:探讨鼻咽癌患者缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)及畸胎瘤细胞源性生长因子(PCDGF)表达情况及与临床、预后关系。**方法:**选择我院2014年2月-2015年2月间诊治的鼻咽癌患者62例为观察组,健康志愿者40例为对照组,比较两组HIF-1 α 及PCDGF表达情况。观察鼻咽癌患者HIF-1 α 及PCDGF表达相关性,分析HIF-1 α 及PCDGF表达与预后关系。**结果:**观察组HIF-1 α 阳性表达率83.9%(52/62),PCDGF阳性表达率90.3%(56/62),均显著高于对照组的5.0%(2/40)和7.5%(3/40),差异有统计学意义($\chi^2=60.709, 68.396, P<0.05$)。观察组中,T3及T4期、III及IV期、有淋巴结转移者HIF-1 α 高表达、PCDGF高表达、HIF-1 α 和PCDGF高表达的比例明显高于T1及T2期,I及II期,无淋巴结转移者,差异有统计学意义($P<0.05$)。Spearman相关分析显示鼻咽癌患者HIF-1 α 与PCDGF表达呈正相关($r=0.856, P<0.01$)。随访36周,患者整体生存率为65.7%。HIF-1 α 和PCDGF低表达、HIF-1 α 高表达、PCDGF高表达、HIF-1 α 和PCDGF高表达鼻咽癌患者生存率分别为87.5%、56.7%、67.9%和52.2,四组生存情况比较,差异有统计学意义($\chi^2=4.433, P<0.05$)。**结论:**鼻咽癌患者HIF-1 α 和PCDGF具有高表达,其表达水平与患者临床、预后间关系密切。

关键词:鼻咽癌;缺氧诱导因子-1 α ;畸胎瘤细胞源性生长因子;预后

中图分类号:R739.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)24-4789-04

The Clinical Value of HIF1- α and PCDGF in the Diagnosis and Treatment of Nasopharyngeal Carcinoma*

SONG Peng, LIN Duan, CHEN Yan-li, WEI Ri-fu, LIN Jie-wei[△]

(Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Ningde Hospital, Fujian Medical University, Ningde, Fujian, 352000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of HIF-1 α and PCDGF in patients with nasopharyngeal carcinoma and its relationship with clinical and prognosis. **Methods:** 62 patients with nasopharyngeal carcinoma who were diagnosed and treated in our hospital from February 2014 to February 2015 were selected as the observation group, and 40 healthy volunteers as the control group. The expressions of HIF-1 α and PCDGF in two groups were compared. expression of HIF-1 α and PCDGF in patients with nasopharyngeal carcinoma were observed, the relationship between the expression of HIF-1 α and PCDGF and the prognosis were analyzed. **Results:** The positive expression rate of HIF-1 α in the observation group was 83.9% (52/62), and the positive expression rate of PCDGF was 90.3% (56/62), which was significantly higher than that in the control group 5% (2/40) and 7.5% (3/40), the difference was statistically significant ($\chi^2=60.709, 68.396, P<0.05$). In the observation group, the proportion of high expression of HIF-1 α and PCDGF and the high expression of HIF-1 α and PCDGF in T3, T4, III and IV lymph node metastasis were significantly higher than those in T1 and T2 stage. There was significant difference between stage I and II, no lymph node metastasis ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that the expression of HIF-1 α was positively correlated with the expression of PCDGF in nasopharyngeal carcinoma ($r=0.856, P<0.01$). After 36 weeks of follow-up, the overall survival rate of the patients was 65.7%. The survival rates of patients with nasopharyngeal carcinoma were 87.5%, 56.7%, 67.9%, and 52.2, respectively. The survival rates of patients with nasopharyngeal carcinoma were significantly lower than those of patients with low expression of HIF-1 α and PCDGF, high expression of HIF-1 α and PCDGF, and high expression of HIF-1 α and PCDGF. There was a statistically significant difference in survival between four groups ($\chi^2=4.433, P<0.05$). **Conclusion:** HIF-1 α and PCDGF are highly expressed in patients with nasopharyngeal carcinoma, and the expression level is closely related to the clinical and prognosis of the patients.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma; Hypoxic inducible factor -1 α ; Teratoma cell derived growth factor; Prognosis

Chinese Library Classification(CLC): R739.6 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)24-4789-04

* 基金项目:福建省自然科学基金项目(2014J01297)

作者简介:宋鹏(1985-),男,硕士研究生,主治医师,从事咽部恶性肿瘤的相关研究,电话:15359713578,E-mail:songpeng1216@163.com

△ 通讯作者:刘接威(1986-),男,主治医师,从事咽部恶性肿瘤的相关研究,电话:13616073847,E-mail:381716963@qq.com

(收稿日期:2019-08-05 接受日期:2019-08-28)

前言

鼻咽癌起源于鼻咽部粘膜,是最常见的鼻咽部恶性肿瘤,以鳞癌多见。我国鼻咽癌患者数量巨大,严重影响患者生活质量及生存时间。早期诊断并采取及时合理的干预措施对改善患者预后十分重要^[1,2]。缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)能够调控机体组织对缺氧刺激的反应,干预肿瘤细胞的增殖和转移^[3,4]。畸胎瘤细胞源性生长因子(PCDGF)在肿瘤的发生和发展中发挥重要作用,它可以通过多种途径促进肿瘤的发生及浸润,加速肿瘤微血管的生成^[5]。本研究通过对照研究,观察鼻咽癌患者HIF-1 α 及PCDGF的表达水平,探讨其表达与患者临床、预后的关系。

1 资料和方法

1.1 临床资料

纳入标准:经组织病理学确诊为鼻咽部鳞状细胞癌;年龄<75岁;研究前未经手术、放疗化疗及其它干预措施;符合知情同意原则。

排除标准:急性炎症;先天畸形;其它脏器原发性恶性肿瘤;鼻咽部继发性肿瘤;严重脏器功能不全;凝血功能异常;恶病质者。

选择我院2014年2月-2015年2月间诊治的鼻咽癌患者62例为观察组,包括男35例,女27例,年龄29~70岁,平均(57.2 $\pm$ 8.1)岁;T分期包括T1期10例,T2期16例,T3期24例,T4期12例;临床分期I期12例,II期18例,III期20例,IV期12例;伴有淋巴结转移40例。另选择同时段健康志愿者40例为对照组,包括男25例,女15例,年龄28-73岁,平均(55.7 $\pm$ 10.5)岁。两组性别、年龄一般资料上比较差异无统计学意义,具有可比性。

1.2 研究方法

分别取观察组患者病变组织及对照组受检者正常粘膜组织,标本检测方法为间接免疫荧光染色双层法。受检组织经

100%乙醇固定,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤2-3次后以含5%羊血清的PBS封闭30-60 min。而后行抗原抗体反应,加一抗后于37℃环境中避光反应30-60 min,以PBS洗涤2-3次。加二抗后仍于37℃环境中避光反应30-60 min,以PBS洗涤2-3次。反应结束后以缓冲甘油封片。双层法操作如下:选择稳固好的标本,滴加适量免疫血清,于37℃环境染色30 min,以PBS冲洗2-3次。再以同样方法加入兔抗人 γ -球蛋白荧光抗体进行染色处理,完成后以缓冲甘油封片,镜检。荧光显微镜下观察,以预实验阳性片为阳性对照,PBS代替一抗为阴性对照。以染色细胞<10%、10%-25%、25%-50%和>50%为-、+、++、+++。其中以-、+为低表达,++、+++为高表达。

1.3 观察指标

比较观察组和对照组HIF-1 α 及PCDGF表达情况。观察鼻咽癌患者HIF-1 α 及PCDGF表达相关性,分析其与患者年龄、性别、T分期、临床分期及淋巴结转移情况间的关系。随访36个月,观察HIF-1 α 及PCDGF表达与预后关系。

1.4 统计学处理

采用SPSS22.0软件统计分析,计数资料以n%表示,统计学方法采用 χ^2 检验;相关性分析采用Spearman相关分析;Kaplan-Meier法计算生存率,Log Rank检验比较其差异。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组HIF-1 α 及PCDGF表达情况分析

观察组HIF-1 α 阳性表达52例,阳性率83.9%,PCDGF阳性表达56例,阳性率90.3,均显著高于对照组的5.0%(2/40)和7.5%(3/40),差异有统计学意义($\chi^2=60.709, 68.396, P<0.05$)。

观察组中,T3及T4期、III及IV期、有淋巴结转移者HIF-1 α 高表达、PCDGF高表达、HIF-1 α 和PCDGF高表达的比例明显高于T1及T2期,I及II期,无淋巴结转移者,差异有统计学意义($P<0.05$),表1。

表1 鼻咽癌患者HIF-1 α 及PCDGF表达情况

Table 1 Expression of HIF-1 α and PCDGF in patients with nasopharyngeal carcinoma

Item		n	HIF-1 α high expression (n=44)	High expression of PCDGF (n=46)	High expression of HIF-1 α and PCDGF (n=38)
Age	≥ 50 years old	41	29	30	26
	<50 years old	21	15	16	12
Gender	Male	35	28	28	23
	Female	27	16	18	15
T staginga	T1, T2	26	14	15	12
	T3, T4	36	30	31	26
Clinical stagea	I, II	30	17	18	14
	III, IV	32	27	28	24
Lymph node metastasisa	No	22	11	13	9
	Yes	40	33	33	29

Note: a, $\chi^2=6.371, 6.368, 4.324, 5.770, 6.116, 5.239, 7.276, 4.062, 5.970, P<0.05$.

2.2 鼻咽癌患者 HIF-1 α 表达与 PCDGF 表达关系分析

见表 2, HIF-1 α 及 PCDGF 均为低表达 10 例, HIF-1 α 及

PCDGF 均为高表达 38 例, 经 Spearman 相关分析, 鼻咽癌患者

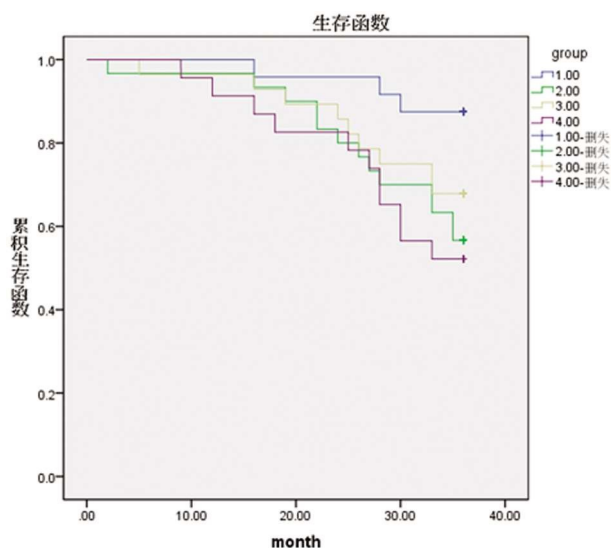
HIF-1 α 与 PCDGF 表达呈正相关($r=0.856, P<0.01$)

表 2 鼻咽癌患者 HIF-1 α 表达与 PCDGF 表达关系Table 2 Relationship between HIF-1 α expression and PCDGF expression in patients with nasopharyngeal carcinoma

HIF-1 α	PCDGF				Total
	-	+	++	+++	
-	4	2	3	1	10
+	1	3	2	2	8
++	1	2	5	5	13
+++	0	3	3	25	31
Total	6	10	13	33	62

2.3 鼻咽癌患者 HIF-1 α 及 PCDGF 表达与预后关系

随访 36 周, 患者整体生存率为 65.7%。HIF-1 α 和 PCDGF 低表达、HIF-1 α 高表达、PCDGF 高表达、HIF-1 α 和 PCDGF 高表达鼻咽癌患者的生存曲线见图 1, 其生存率分别为 87.5%、56.7%、67.9%和 52.2%, 四组生存情况比较, 差异有统计学意义($\chi^2=4.433, P<0.05$)。图 1

图 1 不同 HIF-1 α 及 PCDGF 表达鼻咽癌患者的生存曲线Fig.1 Survival curves of nasopharyngeal carcinoma patients with different HIF-1 α and PCDGF expression

Group1: Low expression of HIF-1 α and PCDGF; Group2: High expression of HIF-1 α ; Group3: High expression of PCDGF; Group4: High expression of HIF-1 α and PCDGF.

3 讨论

鼻咽癌以鳞状细胞癌多见, 多发生与鼻咽部粘膜凹陷处, 其发生和发展存在多中心性及异质性^[6-8]。遗传因素、EB 病毒感染、环境因素、饮食生活习惯等均可能与鼻咽癌发病有关^[9,10]。影像学检查及内镜检查可以明确病变的存在, 并对其侵犯范围进行评价, 从而指导临床诊疗。

HIF-1 α 为人体重要的转录因子, 与机体缺氧应激调节有关。正常情况下, HIF-1 α 存在于细胞质中, 在缺氧缺血状态下表达显著升高^[11-13]。近年研究显示, 恶性肿瘤细胞生长、增殖过

程中, 存在明显的缺氧反应, 其内 HIF-1 α 呈异常高表达^[14,15]。PCDGF 能够刺激机体细胞的增殖, 促进胚胎生长, 参与了机体细胞增殖、应激反应等过程^[16,17]。PCDGF 也是鼻咽癌重要的调节因子, 高水平的 PCDGF 能够促进鼻咽癌增殖、浸润, 而低水平的 PCDGF 则会抑制鼻咽癌的生长和浸润^[18,19]。本研究显示观察组 HIF-1 α 阳性表达率 83.9%(52/62), PCDGF 阳性表达率 90.3%(56/62), 均显著高于对照组的 5.0%(2/40) 和 7.5%(3/40), 提示鼻咽癌患者病灶中 HIF-1 α 和 PCDGF 表达显著高于正常人。而在不同类型鼻咽癌患者的比较中, 本研究发现 T3 及 T4 期、III 及 IV 期、有淋巴结转移者 HIF-1 α 高表达、PCDGF 高表达、HIF-1 α 和 PCDGF 高表达的比例更高, 提示 HIF-1 α 和 PCDGF 表达与鼻咽癌患者临床病理特征间存在密切关系。作为芳香烃受体核转位子基因的表达产物, HIF-1 α 能够促进肿瘤细胞在无血管形成的病灶中克服缺血缺氧环境, 从而促进肿瘤细胞的生长、浸润及播散^[20,21]。近年研究显示^[22,23], HIF-1 α 的活化表达与泛素蛋白酶体有关, 在其作用下, HIF-1 α 与多种基因的结合位点结合, 改善肿瘤病灶中缺氧状态, 促进肿瘤血管形成, 维持其能量代谢。研究显示^[24], PCDGF 通过抑制周期蛋白 D1 和 CDK4 活性而促进肿瘤细胞增殖。另外, PCDGF 通过对整合素等的激活作用也会促进肿瘤细胞的浸润和转移^[25,26]。而随着鼻咽癌临床病理分期的增加, 病变恶性行为更显著, 因此 HIF-1 α 和 PCDGF 高表达的可能性大为增加, 通过对靶细胞的作用, 高表达 HIF-1 α 和 PCDGF 能够促进鼻咽癌病灶中新生毛细血管的增生速度, 影响蛋白溶解酶及内皮细胞功能而促进肿瘤的增殖和浸润^[27,28]。通过相关性分析, 本研究发现鼻咽癌患者 HIF-1 α 与 PCDGF 表达呈显著正相关, 提示两者间存在密切关系, 但其具体机制尚需进一步研究。在患者预后方面, 本研究通过随访发现 HIF-1 α 和 PCDGF 低表达、HIF-1 α 高表达、PCDGF 高表达、HIF-1 α 和 PCDGF 高表达鼻咽癌患者生存率分别为 87.5%、56.7%、67.9%和 52.2%, 提示 HIF-1 α 和 PCDGF 高表达者预后更差, 而 HIF-1 α 和 PCDGF 低表达者预后相对较好。

综上所述, 鼻咽癌患者 HIF-1 α 和 PCDGF 存在高表达, 且其表达水平与患者临床、预后间关系密切, HIF-1 α 和 PCDGF 高表达提示预后不佳。

参考文献(References)

- [1] 罗耀凌, 陈浩, 彭颂国, 等. 联合检测 EB 病毒不同抗体及 EB 病毒 DNA 在鼻咽癌血清学诊断中的价值 [J]. 中华医学杂志, 2013, 93

- (44): 3516-3519
- [2] 毕佩, 王洁, 鲁娟, 等. 鼻咽癌免疫逃逸中 EB 病毒募集 Treg 细胞相关性分析[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 52(9): 692-697
 - [3] Pan WL, Wong JH, Fang EF, et al. Preferential cytotoxicity of the type I ribosome inactivating protein alpha-momorcharin on human nasopharyngeal carcinoma cells under normoxia and hypoxia [J]. Biochem Pharmacol, 2014, 89(3): 329-339
 - [4] Wan XB, Fan XJ, Huang PY, et al. Aurora-A activation, correlated with hypoxia-inducible factor-1 α , promotes radiochemoresistance and predicts poor outcome for nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Sci, 2012, 103(8): 1586-94
 - [5] Chen Z, Xu XH. Combining antiangiogenic therapy and radiation in nasopharyngeal carcinoma[J]. Saudi Med J, 2015, 36(6): 659-64
 - [6] 谢磊, 于振海, 黄钢, 等. 缺氧诱导因子 1 α (HIF1 α)下调 HepG2 细胞中甘氨酸 -N- 甲基转移酶(GNMT)基因的表达[J]. 复旦学报(医学版), 2013, 40(5): 511-515
 - [7] S. Doumas, A. Fort-Schaale, C. Skoulakis, et al. Current thinking on the management of abnormal retropharyngeal nodes in patients with oral, oropharyngeal, and nasopharyngeal squamous cell carcinoma: a structured review[J]. British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery, 2019, 57(6): 515-528
 - [8] Ma Yuxiang, Fang Wenfeng, Zhang Yang, et al. A Phase I/II Open-Label Study of Nivolumab in Previously Treated Advanced or Recurrent Nasopharyngeal Carcinoma and Other Solid Tumors [J]. The oncologist, 2019, 24(7): 891-e431
 - [9] Ouyang J, Wu M, Huang C, et al. Overexpression of oxidored-nitro domain containing protein 1 inhibits human nasopharyngeal carcinoma and cervical cancer cell proliferation and induces apoptosis: Involvement of mitochondrial apoptotic pathways[J]. Oncol Rep, 2013, 29(1): 79-86
 - [10] 蔡永林, 郑裕明, 成积儒, 等. EB 病毒 Rta/IgG/EBNA1/IgA、VCA/IgA 及 EA/IgA 抗体与鼻咽癌分期的关系[J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(3): 509-511
 - [11] Benders AA, Tang W, Middeldorp JM, et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 is not associated with vessel density nor with hypoxia inducible factor 1 alpha expression in nasopharyngeal carcinoma tissue[J]. Head Neck Pathol, 2009, 3(4): 276-282
 - [12] Boso Daniele, Rampazzo Elena, Zanon Carlo, et al. HIF-1 α /Wnt signaling-dependent control of gene transcription regulates neuronal differentiation of glioblastoma stem cells [J]. Theranostics, 2019, 9(17): 4860-4877
 - [13] 梁赓, 杜伟, 李爽, 等. 抑制 HIF1 α 表达对低氧培养 SGC-7901 胃癌细胞 CD44 表达的影响[J]. 实用癌症杂志, 2015, (9): 1269-1272
 - [14] 姚平, 时开网, 张厚斌, 等. SYBR Green 实时定量 PCR 检测胰腺癌中 HIF1 α 、VEGF 和 bFGF 的表达及其临床意义[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(8): 1377-1379
 - [15] Walid Mahfouf, Mohsen Hosseini, Elodie Muzotte, et al. Loss of Epidermal HIF-1 α Blocks UVB-Induced Tumorigenesis by Affecting DNA Repair Capacity and Oxidative Stress [J]. Journal of Investigative Dermatology, 2019, 139(9)
 - [16] O'Neil JD, Owen TJ, Wood VH, et al. Epstein-Barr virus-encoded EBNA1 modulates the AP-1 transcription factor pathway in nasopharyngeal carcinoma cells and enhances angiogenesis in vitro [J]. J Gen Virol, 2008, 89(Pt 11): 2833-2842
 - [17] 黄闯, 李进, 李真华, 等. 舌鳞状细胞癌中 PCDGF 和 MMP-9 蛋白的表达及临床意义[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(9): 1040-1043
 - [18] Raab-Traub N. Nasopharyngeal Carcinoma: An Evolving Role for the Epstein-Barr Virus[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2015, 390(Pt 1): 339-363
 - [19] King AD, Vlantis AC, Yuen TW, et al. Detection of Nasopharyngeal Carcinoma by MR Imaging: Diagnostic Accuracy of MRI Compared with Endoscopy and Endoscopic Biopsy Based on Long-Term Follow-Up[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2015, 36(12): 2380-2385
 - [20] 梁佳, 林力, 寿铸, 等. 鼻咽癌畸胎瘤细胞源性生长因子表达及 siRNA 对 HNE-1 细胞株增殖的抑制[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(15): 1572-1575
 - [21] Yuetao Zhao, Xin-xin Wang, Wei Wu, et al. EZH2 regulates PD-L1 expression via HIF-1 α in non-small cell lung cancer cells [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 517(2): 201-209
 - [22] Ooft ML, Braunius WW, Heus P, et al. Prognostic significance of the EGFR pathway in nasopharyngeal carcinoma: a systematic review and meta-analysis[J]. Biomark Med, 2015, 9(10): 997-1010
 - [23] Aga M, Bentz GL, Raffa S, et al. Exosomal HIF1 α supports invasive potential of nasopharyngeal carcinoma-associated LMP1-positive exosomes[J]. Oncogene, 2014, 33(37): 4613-4622
 - [24] 李景丽. 畸胎瘤细胞源性生长因子与肿瘤关系的究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(3): 359-362
 - [25] Zheng Qing-Feng, Liu Shuo-Yan, Wang Hai-Yan, et al. Effect of PC cell-derived growth factor RNA interference on biological behavior of esophageal squamous carcinoma cells[J]. Zhonghua wei chang wai ke za zhi = Chinese journal of gastrointestinal surgery, 2013, 16 (9): 874-877
 - [26] Huang K, Huang C, Shan K, et al. Significance of PC cell-derived growth factor and cyclin D1 expression in cutaneous squamous cell carcinoma.[J]. Clinical and Experimental Dermatology, 2012, 37(4): 411-417
 - [27] Koyama Junji, Horiike Atsushi, Yoshizawa Takahiro, et al. Correlation between thyroid transcription factor-1 expression, immune-related thyroid dysfunction, and efficacy of anti-programmed cell death protein-1 treatment in non-small cell lung cancer [J]. Journal of thoracic disease, 2019, 11(5): 1919-1928
 - [28] Zhang C, Yang X, Zhang Q, et al. Berberine radiosensitizes human nasopharyngeal carcinoma by suppressing hypoxia-inducible factor-1 α expression[J]. Acta Otolaryngol, 2014, 134(2): 185-192