

HIF-1 α 的表达在肝移植后肝癌复发与转移中的意义 *

郭晓东 孟繁平[△] 熊 璐

(解放军第 302 医院 北京 100039)

摘要 目的 探讨肝癌组织中低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)表达与肝癌行肝移植治疗后肿瘤复发与转移之间的关系。方法 选择肝癌行全肝移植患者 45 例,应用免疫组化方法检测其切除的肝癌组织、癌旁组织中 HIF-1 α 的表达,分析其表达与移植后肝癌复发与转移之间的关系和意义。结果 肝癌组织中 HIF-1 α 阳性表达率明显高于癌旁组织($X^2=6.39$, $P<0.01$)。HIF-1 α 在肝癌组织中的表达与肿瘤直径、TNM 分期、有无淋巴结转移、有无门静脉癌栓及肿瘤播散灶密切相关($P<0.01$)。复发转移组和未复发转移组 HIF-1 α 阳性表达率比较,差异存在显著性($X^2=8.46$, $P<0.01$)。Cox 回归多因素分析表明 HIF-1 α 高表达是影响肝癌患者肝移植后肿瘤复发和转移的独立预后因素($P<0.01$)。结论 HIF-1 α 蛋白有望成为一个预测肝癌患者肝移植后复发和转移的重要指标。

关键词 肝肿瘤 肝移植 复发 转移 低氧诱导因子-1 α

中图分类号 R735.7 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2011)05-876-04

Clinical significance of HIF-1 α expression in recurrence and metastasis of patients with hepatocellular carcinoma undergoing liver transplantation*

GUO Xiao-dong, MENG Fan-ping[△], XIONG Lu
(302 Hospital of PLA, Beijing, 100039, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of HIF-1 α expression in the recurrence and metastasis of patients with hepatocellular carcinoma undergoing liver transplantation, and discuss their relationship. **Methods:** The expression of HIF-1 α protein was detected with immunohistochemical analysis in 45 cases of HCC and pericarcinoma tissues and the relationship between the expression of HIF-1 α with the recurrence and metastasis were explored. **Results:** The positive expression rate of HIF-1 α protein in HCC was significantly higher than that in pericarcinoma tissues ($X^2=6.39$, $P<0.01$). The expression of HIF-1 α was positively related to TNM type, lymph node metastasis and portal vein cancer-embolus($P<0.01$). The positive expression rate of HIF-1 α protein was different significantly between recurrence and metastasis positive group with recurrence and metastasis negative group($X^2=8.46$, $P<0.01$). The Cox proportional hazards model showed that HIF-1 α protein was an independent factor of the recurrence and metastasis for HCC patients after liver transplantation ($P<0.01$). **Conclusions:** The expression of HIF-1 α protein may act as markers predicting the recurrence and metastasis of patients with hepatocellular carcinoma undergoing liver transplantation.

Key words: Hepatocellular carcinoma; Liver transplantation; Recurrence; Metastasis; Hypoxia-inducible factor-1 α

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2011)05-876-04

近 40 多年来,肝移植技术及围手术期发展日益成熟,但对肝癌患者是否适宜于做肝移植却一直存在着争论,主要围绕移植后肿瘤的复发与转移问题。目前国际上不同的移植中心肝癌复发率约在 25%~67% 中、长期疗效不理想。因此,移植后肿瘤的复发与转移是阻碍肝癌肝移植继续向前发展的瓶颈问题^[1,2]。寻找与 HCC 肝移植术后肿瘤复发相关的生物学指标,对合理制定肝癌肝移植的手术适应证,对提高 HCC 肝移植的疗效和改善患者预后具有重要的临床意义^[3,4]。研究表明,大多数肿瘤特别恶性肿瘤在其增殖演变过程中,都具有缺氧的微环境^[5]。缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)是 Semenza 于 1992 年在缺氧诱导

的细胞核提取物中发现的一种转录因子,是目前发现的唯一的一种特异性调节生理或病理状态下氧平衡的关键性转录调控因子,与肿瘤生长浸润转移、血管生成密切相关^[6,7]。本研究应用免疫组织化学法检测 HIF-1 α 在肝细胞癌及癌旁组织中的表达情况,分析其对肝移植患者复发转移的影响,旨在寻找预测肝癌肝移植患者术后复发转移的临床指标,以指导移植后监测工作。

1 材料与方法

1.1 标本来源

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(30901795)

作者简介 郭晓东(1981-),主治医师,研究方向:肝病诊断与治疗,电话:13911161582

[△]通讯作者 孟繁平(1976-),博士后,主治医师,研究方向:肝癌的发生和转移的机制研究;

E-mail: mengfp@hotmail.com

(收稿日期 2010-11-23 接受日期 2010-12-18)

本组标本来源于 2005 年 6 月~2006 年 11 月我院肝脏移植中心施行肝癌全肝移植的手术切除标本 45 例,每一例标本分别取癌组织、癌旁组织。所有病例均符合原发性肝癌临床诊断标准^[2],术前后均未接受放疗、化疗或其他治疗。其中男 38 例,女 7 例,年龄 40.5 ± 7.2 岁(28~62 岁),中位年龄 52 岁;病理分级按 2000 年 WHO 分级 I~II 级 19 例,III~IV 级 26 例;临床分期按 1977 年 TNM 分期 I~II 级 21 例,III~IV 级 24 例。术后随访患者 9~35 个月,收集记录所有患者完整的随访资料。

1.2 免疫组织化学检测

所有标本均经过 10%甲醛固定,石蜡包埋,4 μ m 厚连续切片。采用链菌素抗生物素-过氧化物酶法(SP)检测 HIF-1 α 的表达,兔抗人 HIF-1 α 多克隆抗体、通用型 SP 二抗试剂盒、DAB 显色试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司。操作程序严格按照说明书进行。阴性对照以 PBS 替代一抗,用已知阳性标本作阳性对照。

1.3 结果判断

HIF-1 α 表达以肿瘤细胞浆出现棕黄色颗粒为阳性。根据染色强度和阳性细胞数进行综合评分,染色强度:1 分,染色弱但明显强于阴性对照;2 分,染色清晰,中等程度;3 分,染色程度强。阳性细胞数:1 分,阳性细胞占 11~50%;2 分,阳性细胞占 51~80%;3 分,阳性细胞 $\geq 81\%$ 。上述两项积分相加,0 分为(-),1~2 分为(+),3~4 分为(++),5~6 分为(+++)。(-)和(+)为阴性,(++)和(+++)为阳性。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件并进行统计分析,计数资料多个样本率的比较和两个样本率之间的比较采用卡方检验,肿瘤分子标志物独立预测复发和转移的价值采用多因素 Cox 回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HIF-1 α 在肝癌和癌旁组织的表达

45 例肝癌组织和对应癌旁组织中,HIF-1 α 阳性表达率分别为 68.9%(31/45)、20.0%(9/45)。肝癌组织中 HIF-1 α 阳性表达率明显高于癌旁组织($X^2=6.39$, $P < 0.01$)。

2.2 HIF-1 α 的表达与肝癌临床病理学参数的相关性

HIF-1 α 在肝癌组织中的表达与肿瘤直径、TNM 分期、有无淋巴结转移、有无门静脉癌栓及肿瘤播散灶密切相关($P < 0.01$),而与其他临床病理学参数无关,见表 1。

2.3 HIF-1 α 表达与肝移植术后肝癌复发和转移的相关性

45 例肝移植后全部得到随访,截至 2008 年 5 月 31 日,随访时间为 9~35 个月,中位随访时间 18.2 个月。20 例于随访期间出现肝癌复发和转移。复发转移组和未复发转移组 HIF-1 α 阳性表达率分别为 90.0%(18/20)、52.0%(13/25),两组间差异存在显著性($X^2=8.46$, $P < 0.01$)。

2.4 肝癌复发和转移率的多因素 Cox 回归分析

Cox 回归单因素分析显示 45 例肝癌组织中,肿瘤直径、TNM 分期、有无淋巴结转移、有无门静脉癌栓、有无肿瘤播散

灶以及 HIF-1 α 高表达与肝移植术后肝癌复发和转移明显相关($P < 0.05$)。Cox 回归多因素分析表明门静脉癌栓、肿瘤播散灶、HIF-1 α 高表达是影响肝癌患者肝移植后肿瘤复发和转移的独立预后因素($P < 0.05$),见表 2。

3 讨论

目前肝脏移植技术已经成为治疗终末期肝病和部分无法行根治性手术切除的肝癌患者的新手段,能显著改善患者生活质量,并带给患者长期生存甚至治愈疾病的希望^[8,9]。但对于肝癌肝移植而言,预防肝移植术后肝癌复发仍是提高肝癌患者术后长期生存率的关键。因此,在肝移植术前预测复发高危患者以严格掌握手术指征,显得极为迫切^[10,11]。

移植后肿瘤复发除了与肿瘤的临床特征、术后免疫抑制剂的使用等因素相关外,还与肿瘤本身的生物学行为关系密切,且其复发过程和机制复杂,涉及多个基因产物参与^[12-13]。HIF-1 α 是缺氧条件下产生的一种异源二聚体转录因子,在缺氧诱导基因的表达式中处于中心地位^[14]。研究表明,HIF-1 α 在许多恶性肿瘤组织、癌前病变及早期癌变中均有一定程度的表达,提示肿瘤细胞缺氧可能发生在血管生成之前,并进而促进肿瘤的恶性转化^[15,16]。推测 HIF-1 α 对维持肿瘤细胞的能量代谢、新血管生成、促进肿瘤浸润和转移及肿瘤放化疗耐受等具有重要作用表达^[17]。

本组研究结果显示,肝癌组织中 HIF-1 α 阳性表达率明显高于癌旁组织($X^2=6.39$, $P < 0.01$),且与肿瘤直径、TNM 分期、有无淋巴结转移、有无门静脉癌栓及肿瘤播散灶密切相关($P < 0.01$),提示 HIF-1 α 基因的过度表达可能在肝癌发生过程中起一定作用,HIF-1 α 参与了肝癌细胞的恶性转化,并在癌变后继续保留并发挥其功能,其与肝癌的恶性生物学行为密切相关^[18,19]。

本研究还分析了 HIF-1 α 表达对肝移植患者复发转移的影响,发现复发转移组和未复发转移组 HIF-1 α 阳性表达率分别为,两组间差异存在显著性($X^2=8.46$, $P < 0.01$),提示肝癌组织中 HIF-1 α 高表达者可能具有复发和转移的潜在风险。且经 Cox 回归多因素分析表明 HIF-1 α 高表达是影响肝癌患者肝移植后肿瘤复发和转移的独立预后因素之一($P < 0.05$),提示 HIF-1 α 蛋白有望成为一个预测肝癌患者肝移植后复发和转移的重要指标,有利于临床监测移植后肝癌的复发与转移情况。但目前对 HIF-1 α 在肝细胞癌发生进展过程中所发挥的具体作用尚不清楚,仍有待从其基因水平层面进行深入地探索。

参考文献(References)

- [1] 汤钊献. 肝癌外科治疗的进展 [J]. 世界华人消化杂志.2003,11(3): 249-254
TANG Qinxian. Progress in Surgical Treatment of Primary Liver Cancer [J]. World Chin J Digestol.2003,11(3):249-254
- [2] Taketomi A, Fukuhara T, Morita K, et al. Improved results of a surgical resection for the recurrence of hepatocellular carcinoma after living donor liver transplantation [J]. Ann Surg Oncol, 2010, 17(9): 2283-2289
- [3] Dí az-Sánchez A, Matilla A, Núñez O, et al. Influence of treatment of hepatocellular carcinoma before liver transplantation on post

表 1 HIF-1α 的表达与肝癌临床病理学参数的相关性 n(%)

Table 1 The correlation between clinicopathological parameters of HCC and the expression of HIF-1α n(%)

临床病因 Clinicopathological parameters	n	HIF-1α 表达阳性率 The positive expression of HIF-1α
性别 Gender		
男 male	38	26(68.4)
女 female	7	5(71.4)
年龄(岁) Age(years)		
≤ 50	36	25(69.4)
> 50	9	6(66.7)
肿瘤直径(cm) Tumor diameter(cm)		
≤ 5.0	18	8(44.4) ^a
> 5.0	27	23(84.2)
AFP		
> 400μg/L	17	12(70.6)
≤ 400μg/L	28	19(67.9)
TNM 分期 TNM stage		
~	21	11(52.4) ^a
~	24	20(83.3)
病理分级 Pathological grade		
~	19	12(63.2)
~	26	19(73.1)
肿瘤播散灶 Tumor spread		
有 exist	9	9(100.0) ^a
无 none	36	22(61.1)
门静脉癌栓 Portal vein tumor thrombus		
有 exist	17	15(88.2) ^a
无 none	28	16(57.1)
淋巴结转移 Lymphatic metastasis		
有 exist	3	3(100.0) ^a
无 none	42	28(66.7)

注 : ^a P<0.05

表 2 肝癌复发和转移率的多因素 Cox 回归分析

Table 2 The recurrence and metastasis of HCC analyzed by the Cox proportional hazards model

参数 Parameters	B	SE	Wald	P	Exp(B)	95%CI
门静脉癌栓 Portal vein tumor thrombus	0.894	0.207	11.584	0.003	2.498	1.046~18.348
肿瘤播散灶 Tumor spread	0.926	0.186	9.106	0.000	1.952	1.968~15.459
HIF-1α 高表达 The positive expression of HIF-1α	0.729	0.192	14.935	0.001	2.152	0.819~4.097

transplant tumor recurrence and survival [J]. Gastroenterol Hepatol, 2010, 33(3):155-164

DNA-index in liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis[J]. Ann Surg, 2009, 250(6):1008-1013

[4] Jonas S, Al-Abadi H, Benckert C, et al. Prognostic significance of the

[5] Raza SA, Clifford GM, Franceschi S. Worldwide variation in the

- relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma: A systematic review [J]. Br J Cancer, 2007, 96 (7):1127-1134
- [6] Matsuyama T, Nakanishi K, Hayashi T et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 α in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Cancer Sci 2005 96(3):176-182
- [7] Lu XG, Xing CG, Feng YZ et al. Clinical significance of immunohistochemical expression of hypoxia-inducible factor-1 α as a prognostic marker in rectal adenocarcinoma [J]. Clin Colorectal Cancer 2006 5(5):350-353
- [8] Hasegawa K, Kokudo N. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma [J]. Surg Today, 2009, 39(10):833-43
- [9] Cherqui D, Laurent A, Mocellin N. Liver resection for transplantable hepatocellular carcinoma: long-term survival and role of secondary liver transplantation [J]. Ann Surg, 2009, 250(5):738-746
- [10] Schwartz M. Liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Liver Transpl, 2004, 10(2 Suppl 1):81-85
- [11] Zhou Jian, Fan Jia, Wu Zhi quan et al. Liver transplantation for patients with hepatocellular carcinoma at the Liver Cancer Institute of Fudan University [J]. China Chin Med J, 2005, 118: 654-659
- [12] Dudek K, Kornasiewicz O, Remiszewski P, et al. Impact of tumor characteristic on the outcome of liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Transplant Proc, 2009, 41(8):3135-3137
- [13] D'Amico F, Schwartz M, Vitale A, et al. Predicting recurrence after liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma exceeding the up-to-seven criteria [J]. Liver Transpl, 2009, 15(10): 1278-1287
- [14] Rey S, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodelling [J]. Cardiovasc Res, 2010, 86(2):236-242
- [15] 张芳杰, 唐望先, 吴翠环, 等. 缺氧诱导因子 α 蛋白在肝癌中的表达及意义 [J]. 中华肝脏病杂志 2006, 14(4) 281-284
- ZHANG Fang-jie, TANG Wang-xian, WU Cui-huan, et al. Expression and significance of hypoxia-inducible factor-1 α in hepatocellular carcinoma tissues [J]. Chinese Journal of Hepatology 2006, 14(4) : 281-284
- [16] Jokilehto T, Jaakkola PM. The role of HIF prolyl hydroxylases in tumour growth [J]. J Cell Mol Med, 2010, 14(4):758-70
- [17] Huang GW, Yang LY, Lu WQ. Expression of hypoxia-inducible factor 1 α and vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma: Impact on neovascularization and survival [J]. World J Gastroenterol 2005, 11(11):1705-1708
- [18] Manalo DJ, Rowan A, Lavoie T et al. Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1 [J]. Blood, 2005, 105(2):659
- [19] Kaidi A, Qualtrough D, Williams AC et al. Direct transcriptional up-regulation of cyclooxygenase-2 by hypoxia-inducible factor (HIF)-1 promotes colorectal tumor cell survival and enhances HIF-1 transcriptional activity during hypoxia [J]. Cancer Res 2006, 66(13): 6683-6691

(上接第 875 页)

- [13] Kaufer H. Mechanics of the treatment of hip injuries [J]. Clin Orthop. 1980, 146 :53-61
- [14] 杨晋才, 王庆一, 曲铁兵, 等. DHS 支持钢板治疗不稳定股骨粗隆间骨折的临床效果 [J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2006, 21(5) :403-404
- YANG Jin-cai, WANG Qing-yi, QU Tie-bing, et al. Clinical effect of DHS supporting plate in treatment of unstable intertrochanteric fracture
- [15] 罗从风, 朱越, 王磊, 等. 459 例动力髋螺钉治疗股骨粗隆周围骨折结果分析 [J]. 中华创伤骨科杂志 2002, 4(3) :188-191
- LUO Cong-feng, ZHU Yue, WANG Lei, et al. 459 cases of dynamic hip screws for peritrochanteric fractures [J]. Chin J Orthop Trauma, 2002, 4(3):188-191
- [16] 张保中, 邱贵兴. 高龄股骨转子间骨折的手术治疗 [J]. 中华创伤杂志 2005, 21(8) :582-584
- ZHANG Bao-zhong, QIU Gui-xing. Operative treatment of intertrochanteric fractures in the elderly [J]. Chin J Trauma, 2005, 21(8):582-584