

ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 在喉鳞状 细胞癌中的表达及意义*

赵艳¹, 金鑫², 李楠¹, 秦燕子¹, 钱军^{2 Δ}

1. 蚌埠医学院第一附属医院 临床病理科 蚌埠医学院病理学教研室 (蚌埠 233003);

2. 蚌埠医学院第一附属医院 肿瘤外科 (蚌埠 233003)

【摘要】 目的 研究乙醛脱氢酶 1(ALDH1)、低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)和血管内皮生长因子(VEGF)在喉鳞状细胞癌(LSCC)组织中的表达及意义。**方法** 采用原位杂交实验检测 120 例 LSCC 和 60 例对照喉组织中 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF mRNA 表达,应用免疫组化 Elivision 法检测上述因子的蛋白表达情况,统计分析各因子表达与相关临床病理特征和预后的关系。**结果** ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF mRNA 在 LSCC 中的阳性表达率分别为 57.5%(69/120)、73.3%(88/120)和 56.7%(68/120),三者在 LSCC 中的蛋白阳性表达率分别为 55.8%(67/120)、70.8%(85/120)和 55.0%(66/120),与对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。随着 LSCC 患者临床分期的增高及淋巴结转移的出现,ALDH1 和 VEGF 蛋白的阳性表达率越高,差异有统计学意义($P<0.05$)。HIF-1 α 蛋白的阳性表达与患者的 TNM 分期、组织分化程度、淋巴结是否转移有关($P<0.05$)。三者的表达之间存在一定的正相关性($P<0.05$)。ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 三种因子中两者(或三者)联合表达阳性的患者淋巴结转移率高于只表达任一单个分子或两者均不表达(或三者不同时表达)的患者($P<0.05$)。三种因子表达阳性患者 5 年生存率均较阴性表达患者低(P 均 <0.05),三者联合表达的患者预后更差。**结论** ALDH1、HIF-1 α 及 VEGF 在 LSCC 中表达上调,三者的联合检测对 LSCC 的发生、发展、侵袭转移和判断预后有一定意义。

【关键词】 喉鳞状细胞癌 ALDH1 HIF-1 α VEGF 免疫组织化学

Expressions and Significance of ALDH1, HIF-1 α and VEGF in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma ZHAO Yan¹, JIN Xin², LI Nan¹, QIN Yan-zi¹, QIAN Jun^{2 Δ} . 1. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233003, China; 2. Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233003, China

Δ Corresponding author, E-mail: qianjun215036@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the expressions of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1), hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α), vascular endothelial growth factor (VEGF) in laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) and their relationships with clinical significance. **Methods** *In situ* hybridization (ISH) method and immuohistochemical staining were used to detect the mRNA and protein expressions of ALDH1, HIF-1 α and VEGF in 120 LSCC specimens and 60 cases of normal laryngeal tissue. Their relationships with clinical pathological parameters were analyzed. **Results** The positive rates of ALDH1, HIF-1 α and VEGF mRNA in LSCC were 57.5% (69/120), 73.3% (88/120), 56.7% (68/120), while the positive rates of proteins were 55.8% (67/120), 70.8% (85/120) and 55.0% (66/120), respectively, which were significantly higher than those in controls ($P<0.05$). The expression of ALDH1 and VEGF proteins were significantly correlated with TNM stage and lymph node metastasis ($P<0.05$). The expression of HIF-1 α protein was significantly correlated with TNM stage, the degree of differentiation and lymph node metastasis ($P<0.05$). The positive expression of ALDH1 was positively associated with those of HIF-1 α and VEGF ($P<0.05$). The lymph node metastasis rate increased with the positive factors. Kaplan-Meier survival analysis showed that the patients with positive expression of ALDH1, HIF-1 α and VEGF had lower 5-year overall survival rate than those with negative expression ($P<0.05$). **Conclusion** The expressions of ALDH1, HIF-1 α and VEGF are higher in LSCC, which may be used to determine the malignancy and prognosis of LSCC.

【Key words】 Laryngeal squamous cell carcinoma Aldehyde dehydrogenase 1 Hypoxia-inducible factor 1 α Vascular endothelial growth factor Immuohistochemistry

* 国家自然科学基金(No. 81173386)、安徽省高等学校自然科学研究一般项目(No. KJ2015B045by)和安徽省高等学校自然科学研究一般项目(No. KJ2015B040by)资助

Δ 通信作者, E-mail: qianjun215036@sina.com

喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC)是头颈部常见的上皮组织来源恶性肿瘤,具有发病隐匿、侵袭性强的特点。临床主要采用以手术为主的综合治疗,但多数患者仍存在复发和转移的危险,远期效果不容乐观。乙醛脱氢酶1(aldehyde dehydrogenase 1, ALDH1)被认为是多种肿瘤的干细胞标志物,低氧诱导因子1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α)是细胞平衡和缺氧诱导基因表达的中心环节,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可促进肿瘤内外脉管生成,是 HIF-1 α 的靶基因之一^[1]。3种因子在 LSCC 中虽已有研究,但三者的同时检测在调控 LSCC 生长和转移机制中的报道很少。本研究通过对 120 例 LSCC 组织和 60 例喉对照组织中 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 表达水平的检测,分析三者与临床病理因素之间的关系,探讨它们在 LSCC 发生发展、转移及预后中的作用。

1 资料与方法

1.1 标本收集

收集蚌埠医学院第一附属医院病理科 2006 年 1 月至 2008 年 7 月存档 LSCC 石蜡组织标本 137 例(患者术前未行放疗、化疗),60 例对照组织来自因良性病变而活检的喉组织,所有病例均具备完整的临床及病理资料并由 2 位病理医师复诊达成共识性诊断。入选病例随访至患者死亡或截止 2015 年 7 月,随访时间为 6~106 月,中位随访期 56 个月。剔除 17 例失访,共纳入 120 例。其中男 109 例,女 11 例。年龄 42~81 岁,中位年龄为 67 岁, ≥ 60 岁 84 例, < 60 岁 36 例。声门型 79 例,声门上型 38 例,声门下 3 例。根据 2002 年 AJCC 喉癌分期方案分期:I 期+II 期 50 例,III 期+IV 期 70 例。高分化及中分化 84 例,低分化 36 例。病理证实淋巴结转移者 52 例,未转移者 68 例。

1.2 抗体与试剂

鼠抗人 ALDH1 单克隆抗体(H-8, sc-166362, 滴度:1:100)、鼠抗人 HIF-1 α 单克隆抗体(型号 BM0912, 滴度:1:100)购自美国 Santa Cruz 公司。ALDH1、HIF-1 α 、VEGF 原位杂交试剂盒,兔抗人 VEGF 多克隆抗体(型号 BA0407, 即用型)、二抗及 DAB 显色剂购自武汉博士德生物技术有限公司。

1.3 原位杂交实验和免疫组化染色检测 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 的基因和蛋白表达

所有手术标本经体积分数为 10% 的中性甲醛

液固定,常规石蜡包埋,4 μm 切片、脱蜡水化。原位杂交实验探针为地高辛标记的 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 寡核苷酸,暴露 mRNA 核酸片段,经滴加预杂交液、杂交液、封闭液、生物素化鼠抗地高辛、生物素化过氧化物酶等步骤,DAB 显色,苏木素复染,脱水,透明,封片。Elivision 染色法检测 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 蛋白的表达,标本组织经抗原修复后,滴加 3% H_2O_2 溶液孵育,一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,滴加聚合物增强剂、酶标抗兔聚合物、DAB 显色,苏木素复染,脱水,透明,封片。以阳性对照切片为阳性对照,以 PBS 液(pH7.4)替代一抗作为阴性对照。

原位杂交检测结果以细胞浆出现淡黄色至棕褐色颗粒为阳性表达。判读标准参照文献^[2]:高倍镜下随机选取 10 个视野,每个视野观察不少于 100 个细胞。从着色强度和范围两方面综合计分。着色强度:无色,0 分;淡黄色,1 分;棕黄色,2 分;棕褐色,3 分。着色范围按阳性细胞所占百分比, $< 10\%$,1 分;11%~50%,2 分;51%~75%,3 分; $> 75\%$,4 分。两者乘积,积分 < 2 为阴性, ≥ 2 为阳性。ALDH1、VEGF 蛋白位于细胞浆,免疫组化阳性表现为肿瘤细胞胞浆出现淡黄色至棕褐色颗粒;HIF-1 α 蛋白以胞浆或胞核内着棕黄色为阳性。免疫组化结果判定标准参照原位杂交判定标准。

1.4 统计学方法

两样本率的比较采用卡方检验,相关性分析采用 Spearman 等级相关分析,生存分析用 Kaplan-Meier 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 在 LSCC 中的表达

结果见表 1、图 1~图 6。ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 在 60 例对照组织中阳性表达率较低,其 mRNA 及蛋白表达在 LSCC 中的阳性表达率高于对照组($P < 0.05$)。

2.2 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 在 LSCC 中的表达与临床病理特征的关系

结果见表 2。随着 LSCC 临床分期的增高和淋巴结转移的出现,ALDH1 和 VEGF 蛋白阳性表达率越高($P < 0.05$);随着 LSCC 临床分期的增高、组织分化程度降低及淋巴结转移的出现,HIF-1 α 蛋白的阳性表达率增加($P < 0.05$)。ALDH1、VEGF 和 HIF-1 α 的表达与患者性别、年龄、有无吸烟史及肿瘤在声门的位置无关($P > 0.05$)。

表 1 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 在 LSCC 和对照组中基因和蛋白的阳性表达

Table 1 Positive expression of ALDH1, HIF-1 α and VEGF mRNA and proteins in LSCC and control tissues							
Group	<i>n</i>	ALDH1/case (%)		HIF-1 α /case (%)		VEGF/case (%)	
		mRNA	Protein	mRNA	Protein	mRNA	Protein
LSCC	120	69 (57.5)	67 (55.8)	88 (73.3)	85 (70.8)	68 (56.7)	66 (55.0)
Control	60	7 (11.7) *	6 (10.0) *	10 (16.7) *	9 (15.0) *	8 (13.3) *	7 (11.7) *

* $P<0.05$, vs. LSCC group

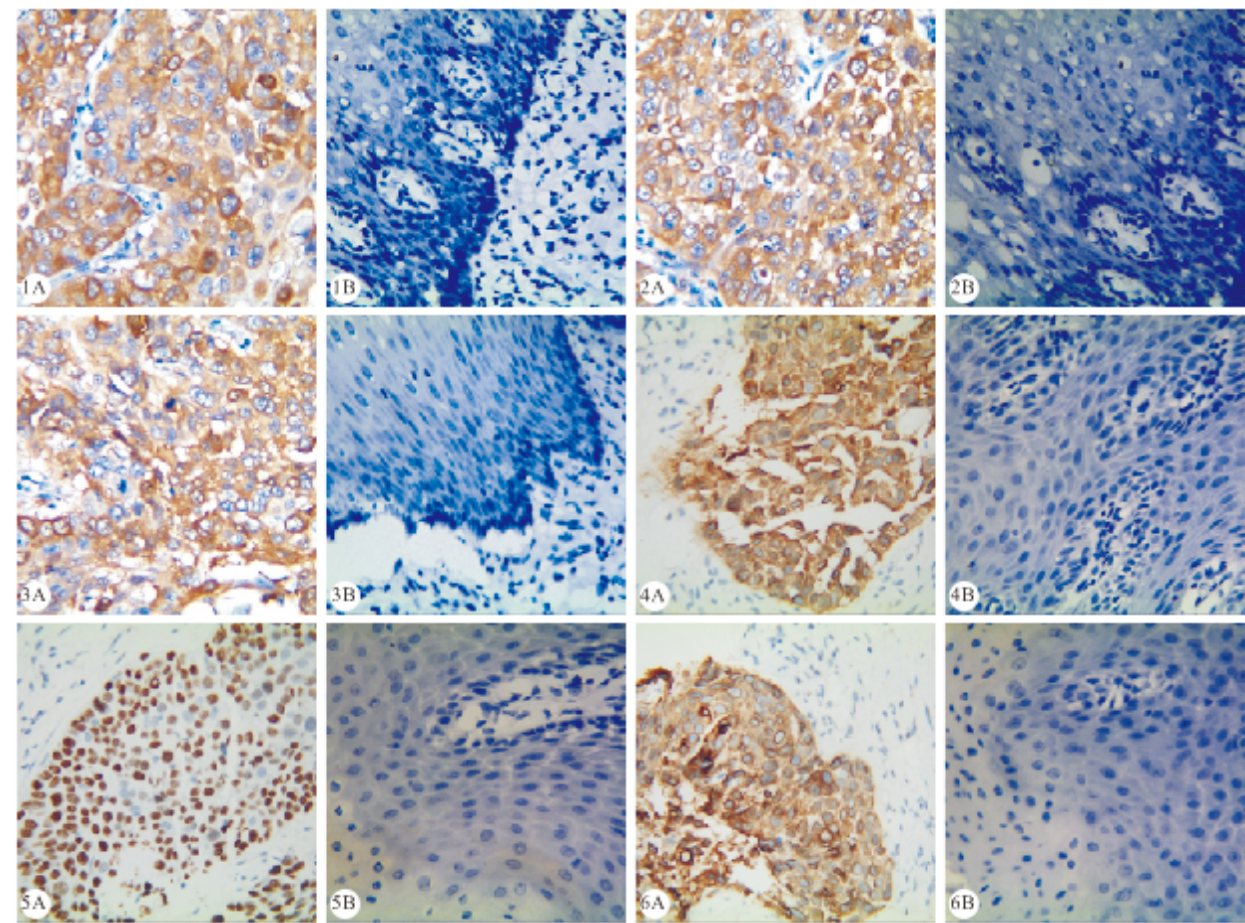


图 1 ALDH1 mRNA 在喉鳞状细胞癌(A)和对照(B)中的表达。原位杂交法 $\times 400$ 图 2 HIF-1 α mRNA 在喉鳞状细胞癌(A)和对照(B)中的表达。原位杂交法 $\times 400$ 图 3 VEGF mRNA 在喉鳞状细胞癌(A)和对照(B)中的表达。原位杂交法 $\times 400$ 图 4 ALDH1 蛋白在喉鳞状细胞癌(A)和对照(B)中的表达。Elivision 法 $\times 400$ 图 5 HIF-1 α 蛋白在喉鳞状细胞癌(A)和对照(B)中的表达。Elivision 法 $\times 400$ 图 6 VEGF 蛋白在喉鳞状细胞癌(A)和对照(B)中的表达。Elivision 法 $\times 400$

Fig 1 ALDH1 mRNA expression in LSCC (A) and control (B) tissues, ISH $\times 400$ Fig 2 HIF-1 α mRNA expression in LSCC (A) and control (B) tissues, ISH $\times 400$ Fig 3 VEGF mRNA expression in LSCC (A) and control (B) tissues, ISH $\times 400$ Fig 4 Expression of ALDH1 protein in LSCC (A) and control (B). Elivision $\times 400$ Fig 5 Expression of HIF-1 α protein in LSCC (A) and control (B). Elivision $\times 400$ Fig 6 Expression of VEGF protein in LSCC (A) and control (B). Elivision $\times 400$

2.3 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 蛋白在 LSCC 中表达的关系

结果见表 3。Spearman 等级相关分析显示，ALDH1 蛋白的表达与 VEGF 蛋白的表达呈正相关($r_s=0.329, P<0.001$)，与 HIF-1 α 蛋白的表达呈正相关($r_s=0.274, P<0.001$)；HIF-1 α 蛋白的表达与 VEGF 蛋白的表达呈正相关($r_s=0.457, P<$

0.001)。

2.4 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 蛋白联合表达与淋巴结转移的关系

结果见表 4。在共同表达 ALDH1 和 HIF-1 α 的患者中，淋巴结转移率(63.5%)高于单一表达(26.9%)或两者均不表达的患者(9.6%)(P 均 <0.05)。同样，共同表达 HIF-1 α 和 VEGF 及共同表

表 2 LSCC 中 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 蛋白的表达与患者的临床病理特征

Table 2 Expressions of ALDH1, HIF-1 α and VEGF proteins and clinicopathologic features in LSCC tissues

Characteristic	<i>n</i>	ALDH1 protein/ case (%)		<i>P</i>	HIF-1 α protein/ case (%)		<i>P</i>	VEGF protein/ case (%)		<i>P</i>
		—	+		—	+		—	+	
Smoking history				0.061			0.485			0.318
Yes	81	31 (38.3)	50 (61.7)		22 (27.2)	59 (72.8)		39 (48.1)	42 (51.9)	
No	39	22 (56.4)	17 (43.6)		13 (33.3)	26 (56.4)		15 (38.5)	24 (61.5)	
Gender				0.467			0.212			0.215
Male	109	47 (43.1)	62 (56.9)		30 (27.5)	79 (72.5)		51 (46.8)	58 (53.2)	
Female	11	6 (54.5)	5 (45.5)		5 (45.5)	6 (54.5)		3 (27.3)	8 (72.7)	
Age				0.100			0.273			0.749
≥60 yr.	84	33 (39.3)	51 (60.7)		22 (26.2)	62 (73.8)		37 (44.0)	47 (56.0)	
<60 yr.	36	20 (55.6)	16 (44.4)		13 (36.1)	23 (63.9)		17 (47.2)	19 (52.8)	
Differentiation				0.659			0.016			0.631
Well and moderate	84	36 (42.9)	48 (57.1)		30 (35.7)	54 (64.3)		39 (46.4)	45 (53.6)	
Poor	36	17 (47.2)	19 (52.8)		5 (13.9)	31 (86.1)		15 (41.7)	21 (58.3)	
Tumor location				0.058			0.685			0.170
Non glottis type	41	23 (56.1)	18 (43.9)		11 (26.9)	30 (73.1)		22 (53.7)	19 (46.3)	
The glottis type	79	30 (38.0)	49 (62.0)		24 (30.4)	55 (69.6)		32 (40.5)	47 (59.5)	
Lymphatic metastasis				0.014			0.000			0.002
Negative	68	36 (52.9)	32 (47.1)		25 (36.8)	43 (63.2)		36 (52.9)	32 (47.1)	
Positive	52	17 (32.7)	35 (67.3)		10 (19.2)	42 (80.8)		18 (34.6)	34 (65.4)	
TNM stage				0.026			0.036			0.045
I + II	50	31 (62.0)	19 (38.0)		29 (58.0)	21 (42.0)		32 (64.0)	18 (36.0)	
III + IV	70	22 (31.4)	48 (68.6)		6 (8.6)	64 (91.4)		22 (31.4)	48 (68.6)	

表 3 LSCC 中 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达的关系

Table 3 Expressions of ALDH1, HIF-1 α , VEGF proteins and their relationship in LSCC tissues

Protein	ALDH1/case				HIF-1 α /case			
	—	+	<i>r</i>	<i>P</i>	—	+	<i>r</i>	<i>P</i>
VEGF			0.329	<0.001			0.457	<0.001
—	21	30			16	40		
+	32	37			19	45		
HIF-1 α			0.274	<0.001				
—	22	29						
+	31	38						

达 ALDH1 和 VEGF 的 LSCC 患者,其淋巴结转移率也高于单一表达或两者均不表达者(P 均 <0.05)。3 种因子同时表达的患者中,淋巴结转移率高于不同时表达组($P<0.05$)。

2.5 LSCC 患者的预后分析

至随访截止,120 例患者生存人数为 45 例,总体生存率为 37.5%;44 例总体生存时间(OS)≥5 年,即 5 年生存率为 36.7%。Kaplan-Meier 生存分析显示,ALDH1 蛋白阳性患者 5 年生存率为 11.9%(8/67),平均 OS 为(31.306±1.423)月(95%CI:28.764~35.109),阴性患者 5 年生存率为 67.9%(36/53),平均 OS 为(69.364±1.327)月(95%CI:66.754~71.975);HIF-1 α 蛋白阳性患者 5 年生存率为 22.4%(19/85),平均 OS(30.839±

表 4 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 蛋白联合表达与淋巴结转移的关系

Table 4 Correlation of combined expression of ALDH1, HIF-1 α and VEGF proteins with lymphatic metastasis

Combined expression	<i>n</i>	Lymphatic metastasis/ case (%)
ALDH1/HIF1- α		
Both negative	27	5 (9.6) *
Either one positive	36	14 (26.9) *
Both positive	57	33 (63.5)
ALDH1/VEGF		
Both negative	41	9 (17.3) *
Either one positive	26	13 (25.0) *
Both positive	53	30 (57.7)
VEGF/HIF1- α		
Both negative	29	6 (11.6) *
Either one positive	30	15 (28.8) *
Both positive	61	31 (59.6)
ALDH1/HIF1- α /VEGF		
At least one factor negative	69	20 (38.5) *
All positive	51	32 (61.5)

* $P<0.05$, vs. both/all positive

1.357)月(95%CI:28.175~33.512),阴性患者 5 年生存率为 71.4%(25/35),平均 OS 为(67.986±1.347)月(95%CI:65.297~70.677);VEGF 蛋白阳性患者 5 年生存率为 18.2%(12/66),平均 OS 为(30.327±1.374)月(95%CI:27.985~34.573),阴性患者 5 年生存率为 59.3%(32/54),平均 OS 为(68.746±1.306)月(95%CI:65.847~71.328)。以上

蛋白阳性表达组与阴性表达组间患者 5 年生存率的差异均有统计学意义($P<0.05$),即 ALDH1、HIF-1 α 和 VEGF 蛋白阳性表达患者预后均较阴性表达患者差。以上 3 种蛋白联合表达阳性患者的 5 年生存率为 9.8%(5/51),平均 OS 为(28.416 ± 1.531)月(95%

CI: $26.984\sim33.729$),3 种蛋白非联合表达患者 5 年生存率为 56.5%(39/69),平均 OS 为(68.874 ± 1.967)月(95%CI: $66.864\sim72.035$),3 种蛋白联合表达组与非联合表达组间患者 5 年生存率的差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 7~图 10。

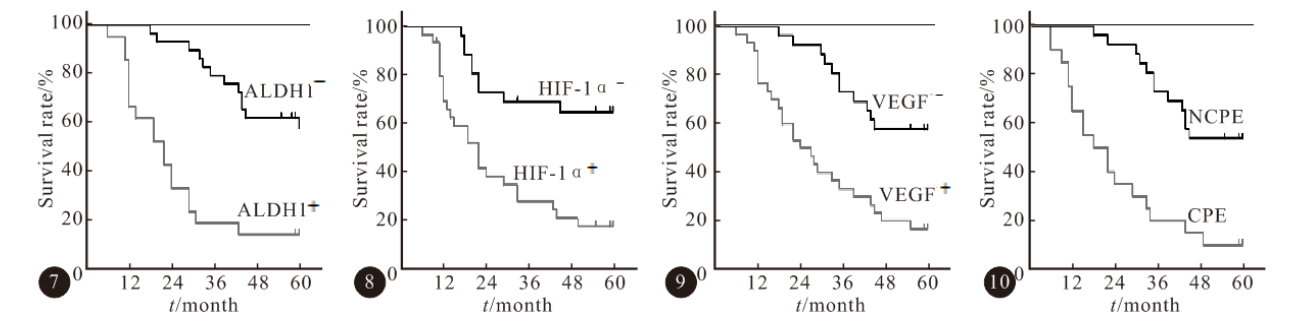


图 7 ALDH1 阳性与阴性表达组患者生存曲线 图 8 HIF-1 α 阳性与阴性表达组患者生存曲线 图 9 VEGF 阳性与阴性表达组患者生存曲线 图 10 联合表达组与非联合表达组患者生存曲线

Fig 7 Survival curves of patients with positive and negative ALDH1 expression Fig 8 Survival curves of patients with positive and negative HIF-1 α expression Fig 9 Survival curves of patients with positive and negative VEGF expression Fig 10 Survival curves of patients with combined positive expression (CPE) of three factors and non-combined positive expression (NCPE)

3 讨论

LSCC 因为易于局部复发和远处转移,在头颈部各种肿瘤中有较高的致残及致死率。虽然采取手术、放化疗为主的综合治疗,但很多患者复发后治疗效果更差。面对肿瘤治疗中治疗抵抗及复发这一瓶颈问题,越来越多的学者将目光投向具有无限增殖和分化潜能,决定肿瘤的发生、发展,驱动肿瘤形成、侵袭和转移的肿瘤干细胞上^[3]。肿瘤干细胞通常处于静止期,具有耐药性,常规治疗后的再度活跃将导致肿瘤复发,这也是恶性肿瘤治疗失败的根本原因^[4]。

ALDH1 是 ALDH 家族成员之一,在维甲酸合成、乙醛代谢、环磷酸胺代谢和氧化应激反应等过程中发挥作用,在造血系统、神经系统的干/祖细胞中含量很高^[5]。近年的研究认为它可作为肿瘤干细胞的标记物,在乳腺癌、肺癌、胃癌^[6-7]等多种肿瘤中表达较高。本课题组前期也已通过细胞实验证实 ALDH1 可作为喉癌 Hep-2 细胞系肿瘤干细胞的标志物之一^[8]。本次实验通过原位杂交技术及免疫组化方法从转录水平及蛋白层面进一步证实,ALDH1 mRNA 和 ALDH1 蛋白在 LSCC 组中阳性率高于对照组,两者的表达水平基本一致。说明 ALDH1 在 LSCC 的发生、发展中发挥一定的作用。

随着肿瘤干细胞的深入研究,微环境对干细胞

的影响越发引起学者们的关注。肿瘤微环境保持干细胞的未分化状态,使其免受分化、凋亡等刺激的影响,微环境异常有可能导致干细胞突变成肿瘤干细胞^[9]。恶性肿瘤生长迅速,血供不足、低氧是肿瘤内的普遍现象。缺氧环境下,间充质干细胞表达并分泌转化生长因子- β (TGF- β),促进肿瘤的生长,抑制肿瘤干细胞及肿瘤相关间质细胞的分化能力^[10]。缺氧还能上调葡萄糖转运蛋白,过表达碳酸酐酶,提高糖酵解能力,为肿瘤干细胞的存活提供条件^[11]。低氧诱导因子-1(HIF-1)作为低氧依赖的核转录因子,是肿瘤适应低氧环境、克服缺氧这一不利因素的中心,它也是肿瘤供氧和供能的中心,参与下游多个靶基因表达的调控,是研究肿瘤低氧状态的重要靶基因^[12]。它由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 两个亚单位组成,其中 HIF-1 α 既是 HIF-1 的活性亚基,又是功能亚基,决定了 HIF-1 的活性,介导细胞对缺氧环境进行适应性反应^[13]。近年来,国内外学者检测多种肿瘤中 HIF-1 α 的表达情况,发现在结肠癌、乳腺癌等肿瘤中 HIF-1 α 都呈不同程度阳性表达,而在正常组织中表达较少^[14-15]。本实验发现在 120 例 LSCC 组织中,HIF-1 α 在转录及蛋白水平上的表达均明显高于对照组,与上述文献报道一致。

VEGF 通过诱导内皮细胞增殖,是促进肿瘤血管生成最有效的细胞因子^[16]。处于缺氧状态的肿瘤组织通过分泌 VEGF,促进血管内皮细胞分裂增

生,形成新生血管,输送营养物质,供应肿瘤生长。缺氧刺激使 HIF-1 α 蛋白合成增加上调 VEGF 表达,促进血管内皮有丝分裂,形成新生血管,改善组织供血^[17]。本实验结果显示 HIF-1 α 和 VEGF 在 LSCC 中的表达均高于对照组,两者的表达都与患者的 TNM 分期、淋巴结转移有关($P < 0.05$),且存在着正相关关系($r_s = 0.457, P < 0.001$)。它们与 ALDH1 亦存在不同程度的正相关性,提示缺氧状态有可能影响到肿瘤微环境而对喉正常干细胞的分化发展构成影响。

本研究进一步分析 ALDH1、HIF-1 α 、VEGF 三者与 LSCC 临床病理特征的关系,它们均与淋巴结转移和临床分期相关,随着淋巴结转移的出现和临床分期的增高,其阳性表达率越高;三种因子中两者(或三者)同时表达阳性的患者淋巴结转移率高于只表达任一单个分子或两者均不表达(或三者不同时表达)的患者。三种因子之间存在正相关关系,表明它们两两之间可能存在着一定的信号通路使得一个因子的表达能影响另外两个因子的表达,三者共同在 LSCC 淋巴结转移过程中发挥作用。预后分析表明 LSCC 组织中上述因子表达阳性的患者预后均较阴性患者差,三者联合表达的患者预后更差,提示上述三种因子的联合检测对判断预后也具有一定价值。

综上,在 LSCC 的发生发展中 ALDH1、HIF-1 α 及 VEGF 三者发挥着一定的作用,HIF-1 α /VEGF 介导的缺氧微环境有可能促进 ALDH1 阳性的 LSCC 干细胞产生,同时赋予肿瘤更强的侵袭转移能力,深入研究 LSCC 组织中 HIF-1 α /VEGF 及 ALDH1 表达之间的关系有望为 LSCC 的临床治疗提供新的思路和切入点。

参 考 文 献

- [1] LEE YH, BAE HC, NOH KH, *et al.* Gain of HIF-1 α under normoxia in cancer mediates immune adaptation through the AKT/ERK and VEGFA axes. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(6): 1438-1446.
- [2] JIANG F, QIU Q, KHANNA A, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell associated marker in lung cancer. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(3): 330-338.
- [3] 俞 岚, 周 蕾, 武世伍, 等. 上皮性卵巢癌中 CD133 与 EMT 相关因子表达的关系. *南方医科大学学报*, 2015, 35(9): 1297-1302.
- [4] GARNER EF, BEIERLE EA. Cancer stem cells and their interaction with the tumor microenvironment in neuroblastoma. *Cancers (Basel)*, 2015, 8(1). pii: E5. doi: 10.3390/cancers8010005.
- [5] DE BEÇA FF, CAETANO P, GERHARD R, *et al.* Cancer stem cells markers CD44, CD24 and ALDH1 in breast cancer special histological types. *J Clin Pathol*, 2013, 66(3): 187-191.
- [6] GINESTIER C, HUR MH, CHARAFE-JAUFFRET E, *et al.* ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(5): 555-567.
- [7] 赵 艳, 金 鑫, 于东红, 等. 乙醛脱氢酶 1 在胃癌组织中的表达及与幽门螺杆菌 L 型感染的关系. *华中科技大学学报(医学版)*, 2014, 43(6): 648-652.
- [8] 金 鑫, 赵 艳, 唐 洁, 等. 乙醛脱氢酶 1 作为喉癌 Hep-2 细胞系肿瘤干细胞标志物的实验研究. *中华肿瘤杂志*, 2011, 33(12): 900-904.
- [9] KISE K, KINUGASA-KATAYAMA Y, TAKAKURA N. Tumor microenvironment for cancer stem cells. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 9(8): 195-197.
- [10] MYSZCZYSZYN A, CZARNECKA AM, MATAK D, *et al.* The role of hypoxia and cancer stem cells in renal cell carcinoma pathogenesis. *Stem Cell Rev*, 2015, 11(6): 919-943.
- [11] NGUYEN LK, CAVADAS MA, SCHOLZ CC, *et al.* A dynamic model of the hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) network. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 6): 1454-1463.
- [12] 牛 非, 李 燕, 来芳芳, 等. 低氧诱导因子 1 抑制剂的抗肿瘤研究进展. *药科学报*, 2014, 49(6): 832-836.
- [13] METHENI M, LOMBÈS A, BOUILLAUD F, *et al.* HIF-1 α induction, proliferation and glycolysis of Theileria-infected leukocytes. *Cell Microbiol*, 2015, 17(4): 467-472.
- [14] ROMAIN B, HACHET-HAAS M, ROHR S, *et al.* Hypoxia differentially regulated CXCR4 and CXCR7 signaling in colon cancer. *Mol Cancer*, 2014, 13: 58 [2016-04-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3975457/>. doi: 10.1186/1476-4598-13-58.
- [15] MARONI P, MATTEUCCI E, DRAGO L, *et al.* Hypoxia induced E-cadherin involving regulators of Hippo pathway due to HIF-1 α stabilization/nuclear translocation in bone metastasis from breast carcinoma. *Exp Cell Res*, 2015, 330(2): 287-299.
- [16] KONDO K, KANEKO T, BABA M, *et al.* VEGF-C and VEGF-A synergistically enhance lymph node metastasis of gastric cancer. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(4): 633-637.
- [17] FRAGA CA, DE OLIVEIRA MV, DE OLIVEIRA ÈS. A high HIF-1 α expression genotype is associated with poor prognosis of upper aerodigestive tract carcinoma patients. *Oral Oncol*, 2012, 48(2): 130-135.

(2016-08-20 收稿, 2017-01-10 修回)

编辑 余 琳