DOI：10.16781/j.0258-879x.2019.10.1078

·论　著·

宫颈癌中活化的蛋白激酶 C 受体 1、低氧诱导因子 1α 与血管内皮生长因子的表达及病理学意义

周　洋，刘晓军，孙　昊，吴玉仙*，金志军*
海军军医大学（第二军医大学）长征医院妇产科，上海 200003

[摘要]　**目的**　检测活化的蛋白激酶 C 受体 1（RACK1）、低氧诱导因子 1α（HIF-1α）、血管内皮生长因子（VEGF）在宫颈癌组织中的表达并探讨其病理学意义。**方法**　选取 2014 年 6 月至 2018 年 6 月于本院行手术切除并经病理确诊的 85 例宫颈癌组织样本及其对应的癌旁组织，通过免疫组织化学染色 ABC 法分别检测 RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白在宫颈癌组织及其癌旁组织中的表达。结合患者的临床病理资料，分析宫颈癌组织中 RACK1、HIF-1α 和 VEGF 蛋白表达与患者年龄及肿瘤直径、浸润深度、病理分级、淋巴结转移之间的关系，并分析三者表达之间的相关性。**结果**　RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白在宫颈癌组织中的表达均高于癌旁组织（P 均<0.05），阳性表达率分别为 81.2%（69/85）、63.5%（54/85）、89.4%（76/85）。RACK1 表达与肿瘤浸润深度、病理分级和淋巴结是否转移有关（P 均<0.05），HIF-1α 和 VEGF 表达均与肿瘤直径、浸润深度、病理分级及淋巴结是否转移有关（P 均<0.05）。RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白的表达两两之间呈正相关（RACK1 vs HIF-1α：r=0.523，P=0.043 9；RACK1 vs VEGF：r=0.428，P=0.033 7；HIF-1α vs VEGF：r=0.689，P=0.024 5）。**结论**　RACK1、HIF-1、VEGF 蛋白在宫颈癌组织中高表达且三者之间的表达呈正相关，提示其可能在肿瘤的发生、发展过程中起协同作用，可作为判断肿瘤侵袭、转移及预后的重要指标。

[关键词]　宫颈肿瘤；活化的蛋白激酶 C 受体 1；低氧诱导因子 1α；血管内皮生长因子
[中图分类号]　R 737.33　**[文献标志码]**　A　**[文章编号]**　0258-879X(2019)10-1078-05

Expression of receptor for activated C kinase 1, hypoxia-inducible factor 1α, and vascular endothelial growth factor in cervical cancer and their pathological significance

ZHOU Yang, LIU Xiao-jun, SUN Hao, WU Yu-xian*, JIN Zhi-jun*
Department of Gynaecology and Obstetrics, Changzheng Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200003, China

[Abstract]　**Objective**　To detect the expression of receptor for activated C kinase 1 (RACK1), hypoxia-inducible factor 1α (HIF-1α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in cervical cancer, and to explore their pathological significance. **Methods**　Eighty-five cervical cancer samples and their corresponding paracancerous tissues, which were surgically removed and confirmed by pathology in our hospital from Jun. 2014 to Jun. 2018, were included in this study. The protein expression levels of RACK1, HIF-1α and VEGF were detected by immunohistochemical staining. The relationship between the protein expression of RACK1, HIF-1α and VEGF in cervical cancer tissues and clinicopathological features, including age, tumor diameter, invasion depth, clinical stage and lymph node metastasis, were analyzed, and the correlation between the expression of RACK1, HIF-1α and VEGF was analyzed. **Results**　Compared with paracancerous tissues, the protein expression levels of RACK1, HIF-1α and VEGF in cervical cancer tissues were significantly higher (all P<0.05), with the positive rates being 81.2% (69/85), 63.5% (54/85), and 89.4% (76/85), respectively. The expression of RACK1 was associated with clinical stage, invasion depth and lymph node metastasis (all P<0.05). The expression levels of HIF-1α and VEGF were associated with the tumor diameter, invasion depth, clinical stage and lymph node metastasis (all P<0.05). The expression levels of RACK1, HIF-1, VEGF proteins were positively correlated with each other (RACK1 vs HIF-1α, r=0.523, P=0.043 9; RACK1 vs VEGF, r=0.428, P=0.033 7; HIF-1α vs VEGF, r=0.689, P=0.024 5). **Conclusion**　RACK1, HIF-1α and VEGF are highly expressed in cervical cancer and their expression levels are positively correlated, suggesting that they may play a synergistic role in the development and progression of cervical cancer, and can be an important marker for predicting

[收稿日期]　2019-02-01　**[接受日期]**　2019-07-14
[作者简介]　周　洋，硕士．E-mail: zhouyang@smmu.edu.cn
*通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81885876, E-mail: wuyuxian76@163.com; Tel: 021-81885871, E-mail: j_zj888@163.com

the invasion, metastasis and prognosis.

[Key words] uterine cervical neoplasms; receptor for activated C kinase 1; hypoxia-inducible factor 1α; vascular endothelial growth factor

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(10): 1078-1082]

宫颈癌是恶性程度极高的妇科恶性肿瘤之一，其发病率在发展中国家位列妇科恶性肿瘤之首，在女性恶性肿瘤中仅次于乳腺癌位居第 4 位[1]。宫颈癌的早期治疗效果良好，患者 5 年生存率可超过 90%；而中晚期治疗效果欠佳，死亡率高，患者 5 年生存率仅约为 50%[2]。因此，宫颈癌的早期诊断和治疗对提高其疗效及降低死亡率尤为重要。近年来对宫颈癌发病机制的深入研究发现，宫颈癌的发生、发展、侵袭及转移涉及多基因的异常表达，其中包括活化的蛋白激酶 C 受体 1（receptor for activated C kinase 1，*RACK1*）、低氧诱导因子 1α（hypoxia-inducible factor 1α，*HIF-1α*）和血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，*VEGF*）等基因[3-5]。本研究通过免疫组织化学染色 ABC 法检测 85 例宫颈癌组织及其对应癌旁组织中 RACK1、HIF-1α 和 VEGF 蛋白的表达情况，拟分析这 3 种蛋白表达与宫颈癌患者临床病理特征的关系及这 3 种蛋白表达之间的相关性，探讨 RACK1、HIF-1α 和 VEGF 蛋白表达在宫颈癌诊疗中的临床意义。

1 资料和方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 6 月至 2018 年 6 月于我院行手术切除并经病理确诊的 85 例宫颈癌组织及对应癌旁组织标本。患者年龄为 28～75 岁，平均(50.5±10.1)岁，其中≤50 岁者 32 例、>50 岁者 53 例；肿瘤直径≤4 cm 者 64 例、>4 cm 者 21 例；肿瘤浸润深度≤1/2 肌层者 25 例、>1/2 肌层者 60 例；病理分级Ⅰ级者 10 例、Ⅱ级者 17 例、Ⅲ级者 58 例；淋巴结转移阴性者 46 例、阳性者 39 例。本研究通过我院伦理委员会审批。

1.2 免疫组织化学染色 取得宫颈癌组织及癌旁组织样本后，立即置于 10% 甲醛溶液中固定过夜，经梯度乙醇脱水，浸二甲苯和石蜡，然后包埋，切成 3 套 4 μm 厚白片，存放于 4 ℃ 冰箱中备染。采用免疫组织化学染色 ABC 法检测宫颈癌组织及其癌旁组织中 RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白的表达，按试剂盒说明书步骤操作。RACK1 兔抗人单克隆抗体购自英国 Abcam 公司，HIF-1α 鼠抗人单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司，VEGF 兔抗人单克隆抗体购自英国 Abcam 公司，免疫组织化学染色 ABC 试剂盒购自美国 Vectorlabs 公司。用已知阳性组织作阳性对照，抗体稀释液作阴性对照。

1.3 免疫组织化学染色结果判定 免疫组织化学染色结束后，在显微镜下观察各抗体的染色质量、定位、强度和范围，由 2 名具有中级以上职称的病理医师分别独立对病理切片进行半定量评分。RACK1 染色主要定位于细胞膜和细胞质，HIF-1α、VEGF 染色主要定位于细胞核和细胞质。免疫组织化学染色强度分为 4 个等级：无着色计 0 分，浅黄色计 1 分，棕黄色计 2 分，棕褐色计 3 分；染色面积分为 4 个等级：阳性细胞占 0～5% 计 0 分，6%～25% 计 1 分，26%～50% 计 2 分，50% 以上计 3 分[3]。以染色强度与染色面积的乘积作为染色的最后得分，0～1 分为阴性，2～5 分为弱阳性，6～8 分为中阳性，9 分为强阳性；弱阳性、中阳性和强阳性的数目之和为各抗体染色阳性数量[3]。抗体的阳性率（%）＝阳性样本总数量/待测样本总数[3]。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。计数资料以例数和百分数表示，组间比较采用 χ^2 检验；RACK1、HIF-1α 和 VEGF 蛋白表达的相关性采用 Spearman 相关分析。检验水准(α)为 0.05。

2 结 果

2.1 免疫组织化学染色结果 免疫组织化学染色结果（图 1）显示，RACK-1 蛋白和 HIF-1α 蛋白在宫颈癌组织中多为中、强阳性表达，在癌旁组织中多为弱、中阳性表达；VEGF 蛋白在宫颈癌组织和癌旁组织中多为中、强阳性表达。癌旁组织中 RACK1 蛋白表达呈阳性的共有 21 例，阳性率为 24.7%（21/85），而其在宫颈癌组织中的阳性率为 81.2%（69/85）。癌旁组织中 HIF-1α 蛋白表达呈阳性的仅有 3 例，阳性率为 3.5%（3/85），而其在宫颈癌组织中的阳性率为 63.5%（54/85）。癌旁组织中 VEGF 蛋白表达呈阳性的有 13 例，阳性率为 15.3%（13/85），而其在宫颈癌组织中的阳性率高达 89.4%（76/85）。

RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白在宫颈癌组织和癌旁组织中的阳性表达差异均有统计学意义（χ^2=10.456，P<0.05；χ^2=28.767，P<0.05；χ^2=32.692，P<0.05）。

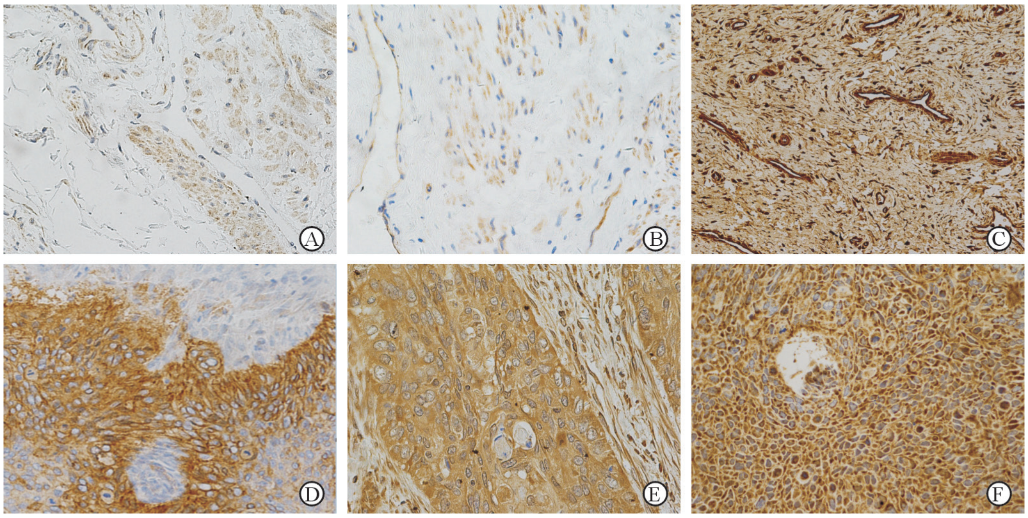

图 1　RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白在宫颈癌组织及对应癌旁组织中的表达

Fig 1　Expression of RACK1, HIF-1α, and VEGF in cervical cancer and corresponding paracancerous tissues

A-C: Paracanceruos tissues; D-F: Cervical cancer tissues. A: Weakly to moderately positive expression of RACK1; B: Weakly to moderately positive expression of HIF-1α; C: Moderately to strongly positive expression of VEGF; D: Moderately to strongly positive expression of RACK1; E: Moderately to strongly positive expression of HIF-1α; F: Moderately to strongly positive expression of VEGF. RACK1: Receptor for activated C kinase 1; HIF-1α: Hypoxia-inducible factor 1α; VEGF: Vascular endothelial growth factor. Immunohistochemical staining ABC method. Original magnification: ×400

2.2　宫颈癌组织中 RACK1、HIF-1α 和 VEGF 蛋白的表达与患者临床病理特征的关系　RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白在宫颈癌组织中的表达与患者临床病理特征关系的分析结果显示，宫颈癌组织中 RACK1 蛋白的表达与肿瘤浸润深度、病理分级及淋巴结是否转移有关（P 均<0.05）；HIF-1α 和 VEGF 蛋白的表达与肿瘤直径、浸润深度、病理分级及淋巴结是否转移有关（P 均<0.05）。RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白表达均与患者年龄无关（P 均>0.05）。见表 1。

表 1　宫颈癌组织中 RACK1、HIF-1α 和 VEGF 蛋白表达与患者临床病理特征的关系

Tab 1　Relationship between expression of RACK1, HIF-1α and VEGF in cervical cancer tissues and patient clinicopathological features

n (%)

Feature	N	Positive expression					
		RACK1	P value	HIF-1α	P value	VEGF	P value
Age (year)			0.835 1		0.845 7		0.632 9
≤50	32	26 (81.2)		22 (68.8)		28 (87.5)	
>50	53	43 (81.1)		32 (60.4)		48 (90.6)	
Size d/cm			0.446 1		0.031 2		0.040 8
≤4	64	51 (79.7)		35 (54.7)		55 (85.9)	
>4	21	18 (85.7)		19 (90.5)		21 (100.0)	
Invasive depth			0.012 2		0.002 6		0.001 2
≤1/2 muscular layer	25	12 (48.0)		6 (24.0)		16 (64.0)	
>1/2 muscular layer	60	57 (95.0)		48 (80.0)		60 (100.0)	
Pathological grading			0.022 4		0.012 3		0.041 2
Ⅰ-Ⅱ	27	14 (51.9)		10 (37.0)		20 (74.1)	
Ⅲ	58	55 (94.8)		44 (75.9)		56 (96.6)	
Lymph node metastasis			0.043 7		0.000 4		0.039 6
Negative	46	33 (71.7)		20 (43.5)		37 (80.4)	
Positive	39	36 (92.3)		34 (87.2)		39 (100.0)	

RACK1: Receptor for activated C kinase 1; HIF-1α: Hypoxia-inducible factor 1α; VEGF: Vascular endothelial growth factor

2.3　宫颈癌组织中 RACK1、HIF-1α 和 VEGF 蛋白表达的相关性分析　宫颈癌组织中 RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白表达的 Spearman 相关分析结果显示，RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白的表达两两之间呈正相关关系（RACK1 vs HIF-1α：r＝0.523，P＝0.043 9；RACK1 vs VEGF：r＝0.428，P＝0.033 7；HIF-1α vs VEGF：r＝0.689，P＝0.024 5），提示这 3 种蛋白可能在宫颈癌的发生和发展中起协同作用。

3　讨　论

宫颈癌严重危害着广大女性的身体健康，其发生率和死亡率均居妇科肿瘤前列[1]。宫颈癌较易发生局部侵袭和淋巴结转移，伴有盆腔转移的宫颈癌患者术后复发率超过 50%[2,6]。因此，宫颈癌的早期的诊断和治疗十分重要。

RACK1 是一种高度保守的胞质内游离支架蛋白，其为蛋白激酶 CβⅡ（protein kinase CβⅡ，PKCβⅡ）受体。近年的研究表明，RACK1 蛋白的异常表达与肺癌、胃癌和胶质瘤等多种恶性肿瘤的发生和预后有关[7-10]。本研究结果表明，RACK1 在宫颈癌组织中高表达，阳性率为 81.2%（69/85），与肿瘤的浸润深度、病理分级及淋巴结是否转移有关（P 均＜0.05），提示其可作为宫颈癌发生、侵袭、转移的重要指标。

HIF-1α 是一种在缺氧状态下具有活性且稳定的转录因子，其可作为肿瘤内缺氧的一项指标[11-12]。文献报道，HIF-1α 在肝癌、宫颈癌、甲状腺癌等多种肿瘤组织中异常表达，并且与肿瘤的生长、侵袭、转移和预后相关[12-14]。本研究结果表明，HIF-1α 在宫颈癌组织中的表达高于癌旁组织，阳性率为 63.5%（54/85），且与肿瘤直径、浸润深度、病理分级及淋巴结是否转移有关（P 均＜0.05），提示 HIF-1α 在宫颈癌的生长、侵袭和转移中起重要作用。

VEGF 是血管新生过程中一种重要的因子，能够促进内皮细胞分裂增殖、增加血管内皮通透性、刺激新生血管形成，从而促进肿瘤的生长、侵袭和转移[15]。研究显示 VEGF 的高表达与肿瘤的恶性程度和患者的不良预后密切相关[16]。本研究结果表明，VEGF 在宫颈癌组织中的表达高于癌旁组织，阳性率为 89.4%（76/85），且与肿瘤直径、浸润深度、病理分级及淋巴结是否转移有关（P 均＜0.05），说明 VEGF 与宫颈癌发生、生长、侵袭和转移关系密切。

关于肿瘤组织中 RACK1 的表达与 HIF-1α 和 VEGF 的关系鲜有报道。有文献表明 RACK1 蛋白在新生血管中高表达[17]，而 HIF-1α 和 VEGF 蛋白在肿瘤新生血管形成时也同样高表达[12,18]，这 3 种蛋白可能在促进肿瘤新生血管的生长方面发挥各自作用。一般认为肿瘤的快速生长和肿瘤细胞的增殖特性使肿瘤组织处于低氧缺血状态，此时容易产生大量的 HIF-1α，从而激活包括 VEGF 在内的众多靶基因和蛋白的表达，诱导肿瘤新生血管形成，提高肿瘤组织内部能量转运能力，从而使肿瘤组织适应低氧环境，促进其生长、侵袭和转移[18-19]。本研究结果表明宫颈癌组织中高表达的 RACK1、HIF-1α、VEGF 蛋白两两之间呈正相关关系（RACK1 vs HIF-1α：r＝0.523，P＝0.043 9；RACK1 vs VEGF：r＝0.428，P＝0.033 7；HIF-1α vs VEGF：r＝0.689，P＝0.024 5），由此我们推测，宫颈癌组织在快速生长和发展的低氧状态下，HIF-1α 被激活并表达增加，从而刺激 VEGF 的高表达，或可能激活 RACK1，并通过一系列的信号通路活化，共同作用促进肿瘤新生血管形成，提高宫颈癌细胞的血液运输和交换能力以适应低氧环境，最终促进宫颈癌细胞的生长、侵袭和转移。

综上所述，RACK1、HIF-1α、VEGF 与宫颈癌的发生、发展、侵袭和转移关系密切，在宫颈癌的临床诊断和治疗过程中可作为监测肿瘤生长、侵袭和转移的重要参考指标，也为宫颈癌的精准基因治疗提供了可能的新靶点和新思路。

[参 考 文 献]

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, SIEGEL R L, TORRE L A, JEMAL A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68: 394-424.

[2] LAI J C, CHOU Y J, HUANG N, TSAI J J, HUANG S M, YANG Y C, et al. Survival analysis of stageⅡA1 andⅡA2 cervical cancer patients[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2013, 52: 33-38.

[3] 张巍. 宫颈癌患者 Twist、RACK-1 蛋白检测的临床意义[J]. 中国民康医学,2018,30:96-97.

[4] 李云,暴金玲,尹国武. 宫颈癌组织中 HIF-α、p53 及 Beclin1 的表达水平探讨[J]. 中国妇幼健康研

究,2018,29:181-184.
[5] 林伍梅,李艳芳,刘富元. Ⅰb～Ⅱa 期宫颈癌组织中HIF1α、VEGF 的表达变化及其与 MVD 的关系[J]. 山东医药,2010,50:95-96.
[6] ARBYN M, CASTELLSAGUÉ X, DE SANJOSÉ S, BRUNI L, SARAIYA M, BRAY F, et al. Worldwide burden of cervical cancer in 2008[J]. Ann Oncol, 2011, 22: 2675-2686.
[7] DUFF D, LONG A. Roles for RACK1 in cancer cell migration and invasion[J]. Cell Signal, 2017, 35: 250-255.
[8] 彭仁君. RACK1在胶质瘤中的表达及其功能的实验研究[D]. 长沙:中南大学,2014.
[9] FEI L, MA Y, ZHANG M, LIU X, LUO Y, WANG C, et al. RACK1 promotes lung cancer cell growth via an MCM7/RACK1/Akt signaling complex[J]. Oncotarget, 2017, 8: 40501-40513.
[10] 王娜娜. RACK1 在食管鳞癌预后及进展中的作用及与上皮间质转化的相关性研究[D]. 济南:山东大学,2015.
[11] SEMENZA G L. HIF-1, O_2, and the 3 PHDs: how animal cells signal hypoxia to the nucleus[J]. Cell, 2001, 107: 1-3.
[12] WANG M, ZHAO X, ZHU D, LIU T, LIANG X, LIU F, et al. HIF-1α promoted vasculogenic mimicry formation in hepatocellular carcinoma through LOXL2 up-regulation in hypoxic tumor microenvironment[J/OL]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36: 60. doi: 10.1186/s13046-017-0533-1.
[13] VUKOVIC V, HAUGLAND H K, NICKLEE T, MORRISON A J, HEDLEY D W. Hypoxia-inducible factor-α is an intrinsic marker for hypoxia in cervical cancer xenograft[J]. Cancer Res, 2001, 61: 7394-7398.
[14] LODEWIJK L, VAN DIEST P, VAN DER GROEP P, TER HOEVE N, SCHEPERS A, MORREAU J, et al. Expression of HIF-1α in medullary thyroid cancer identifies a subgroup with poor prognosis[J]. Oncotarget, 2017, 8: 28650-28659.
[15] KUEHN R, LELKES P I, BLOECHLE C, NIENDORF A, IZBICKI J R. Angiongesis, angiogenic growth factor, and cell adhesion molecules are upregulated in chronic pancreatic diseases: angiogenesis in chronic pancreatics and in pancreatic cancer[J]. Pancreas, 1999, 18: 96-103.
[16] GUYOT M, HILMI C, AMBROSETTI D, MERLANO M, LO NIGRO C, DURIVAULT J, et al. Targeting the pro-angiogenic forms of VEGF or inhibiting their expression as anti-cancer strategies[J]. Oncotarget, 2017, 8: 9174-9188.
[17] BERNS H, HUMAR R, HENGERER B, KIEFER F N, BATTEGAY E J. RACK1 is up-regulated in angiogenesis and human carcinomas[J]. FASEB J, 2000, 14: 2549-2558.
[18] ZHANG Y, LIU Y, ZOU J, YAN L, DU W, ZHANG Y, et al. Tetrahydrocurcumin induces mesenchymal-epithelial transition and suppresses angiogenesis by targeting HIF-1α and autophagy in human osteosarcoma[J]. Oncotarget, 2017, 8: 91134-91149.
[19] 曹文庆,赵峰霞,赵玉哲,张静. VEGF 与 Notch1 在乳腺癌浸润和转移中的作用及其相关性[J]. 肿瘤基础与临床,2012,25:480-483.

[本文编辑]　商素芳