

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00970

## 肾癌组织 Notch 1、HIF-1 $\alpha$ 的表达及其与肿瘤临床分期的相关性

### Expression of Notch 1, HIF-1 $\alpha$ in human renal carcinoma and its relation with clinical tumor staging

闫润林, 王林辉, 孙颖浩\*

第二军医大学长海医院泌尿外科, 上海 200433

**[摘要]** **目的:**探讨肾癌组织 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  的表达及意义。**方法:**应用组织芯片、免疫组化染色法比较肾癌( $n=60$ )及正常肾组织( $n=30$ )中 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  蛋白的表达差异,分析二者表达与肿瘤临床分期的相关性。**结果:**肾癌组织 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  阳性表达率高于正常肾组织(40.0% vs 13.3%, 58.3% vs 0%,  $P<0.05$ );TNM 分期 III~IV 期肾癌组织 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  阳性表达率高于 I~II 期(27.5% vs 65.0%, 45.0% vs 85.0%,  $P<0.05$ )。**结论:**肾癌组织中 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  表达均高于正常肾组织,且与肿瘤临床分期有关,二者对判断临床预后可能具有一定价值。

**[关键词]** 肾肿瘤; Notch 1; HIF-1 $\alpha$ ; 肿瘤分期

**[中图分类号]** R 737.11

**[文献标志码]** B

**[文章编号]** 0258-879X(2009)08-0970-02

Notch 信号通路存在于许多动物体内,在细胞分化、增殖、凋亡等生理进程中起重要作用<sup>[1]</sup>。Notch 1 是 Notch 家族的一个重要成员,在多种肿瘤中都有异常表达,在肿瘤形成中起重要作用<sup>[2]</sup>。低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)与肿瘤细胞多药耐药基因、细胞凋亡、血管内皮生长因子及肿瘤细胞生存密切相关<sup>[3]</sup>,与 Notch 信号通路存在相互作用,能共同促进肿瘤生长<sup>[4-5]</sup>。

本研究应用高通量的组织微阵列技术和免疫组织化学染色法,检测肾癌组织中 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  的表达,并分析二者表达与临床病理特征的关系,初步探讨 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  作为肾癌生物学指标的可能价值。

#### 1 材料和方法

**1.1 标本来源** 选择 2006 年 4 月—2007 年 10 月我院行肾癌根治术后经病理证实的肾癌标本 60 例;按 TNM 分期(2002 AJCC): I 期 25 例, II 期 15 例, III 期 16 例, IV 期 4 例。其中男 38 例,女 22 例,年龄 42~76 岁,平均(53.3 $\pm$ 4.1)岁。取同期手术切除的切缘经病理证实为正常肾组织 30 例作为对照。所有标本均经 10% 中性甲醛溶液固定,常规石蜡包埋。

**1.2 组织芯片制作** 首先在显微镜下对所需的目的组织进行标记定位。利用组织微阵列制作仪(Beecher Instruments, Inc. USA)制作组织微阵列受体蜡块,依次从选取的肾癌和正常肾组织蜡块标记部位穿取直径为 2.0 mm 的组织芯头,插入有 72 个点阵的受体蜡块中并记录。4  $\mu$ m 连续切片,敷贴于 1% 多聚赖氨酸处理的载玻片上,60 $^{\circ}$ C 烤 5 h,置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。

**1.3 免疫组化染色及结果判定** 采用 EnVision 二步法染色, DAB 显色。兔抗人多克隆抗体 Notch 1(Thermo scientific)和兔抗人多克隆抗体 HIF-1 $\alpha$ (Abcam)作为一抗。结果判定:胞质和胞核出现细致棕色颗粒为阳性细胞;参照 Carcangiu 等<sup>[6]</sup>半定量评分方法,根据阳性细胞着色强度和阳性细胞数量记分,阳性着色强度按无色、淡棕色、棕黄色和棕褐色分别记为 0、1、2、3 分;阳性细胞数按  $<5\%$ 、 $5\% \sim 35\%$ 、 $36\% \sim 70\%$  和  $>70\%$  分别记为 0、1、2、3 分。取两项评分的乘积进行综合评分,  $\leq 1$  分为阴性、2~3 分为弱阳性、4~5 分为中度阳性、 $\geq 6$  分为强阳性。本实验中合并阴性和弱阳性作为阴性表达标准,中度阳性和强阳性作为阳性表达标准。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 11.0 软件进行数据处理,不同组间比较用  $\chi^2$  检验进行显著性检验,  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

#### 2 结果

**2.1 肾癌及正常肾组织中 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  的表达** Notch 1 蛋白表达定位于胞膜、部分细胞核及胞质(图 1A、1B); HIF-1 $\alpha$  蛋白表达位于癌细胞核及胞质(图 1C、1D)。统计结果表明: Notch 1、HIF-1 $\alpha$  在正常肾组织中的阳性表达率分别为 13.3%(4/30)、0%(0/30),在肾癌中的阳性表达率分别为 40.0%(24/60)、58.3%(35/60),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**2.2 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  蛋白表达与肾癌临床分期的相关性** 统计结果表明: Notch 1、HIF-1 $\alpha$  在 TNM 分期为 I~II 期肾癌组织中的阳性表达率分别为 27.5%(11/40)、45.0%(18/40),在 III~IV 期组织中的阳性表达率分别为 65.0%(13/

**[收稿日期]** 2009-02-04 **[接受日期]** 2009-04-07

**[作者简介]** 闫润林, 硕士. E-mail: whataday1@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-35030006, E-mail: sunyh@medmail.com.cn

20)、85.0%(17/20), III~IV期患者 HIF-1 $\alpha$ 、Notch 1 阳性表达率较 I~II期高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

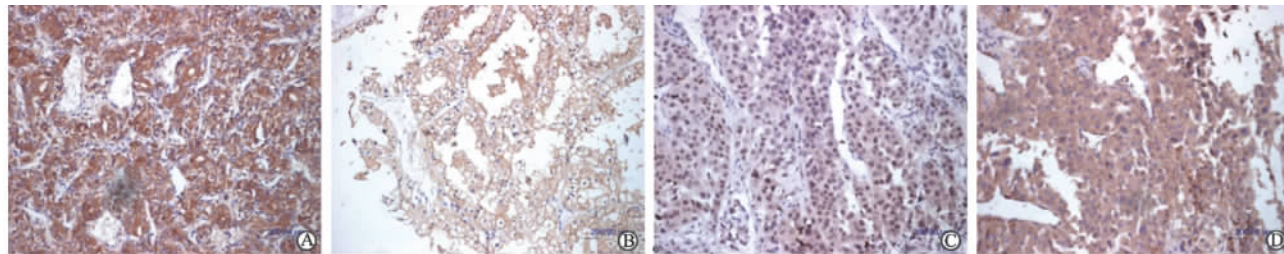


图1 肾癌组织 Notch 1(A、B)和 HIF-1 $\alpha$ (C、D)免疫组化染色结果

Original magnification:  $\times 200$

### 3 讨论

Notch 受体是无脊椎动物和脊椎动物发育过程中一类十分重要的信号受体家族,通过与邻近细胞的相互作用来精确调控各谱系细胞的分化,在个体系统发育、模式形成、肿瘤发生以及神经退行性疾病等生理病理过程中起着重要作用,能够促进肿瘤生长<sup>[1]</sup>。本研究结果发现肾癌组织中 Notch 1 的阳性表达率明显高于正常肾组织( $P<0.05$ ),提示 Notch 1 在肾癌的发展中也发挥一定作用。相对缺氧是实体肿瘤的普遍现象,HIF-1 是肿瘤细胞适应缺氧而产生的一种核转录因子。HIF-1 $\alpha$  是氧调节亚基,也是功能亚基,决定了 HIF-1 的活性。本研究结果表明,肾癌组织 HIF-1 $\alpha$  阳性表达明显高于正常组织( $P<0.05$ ),提示 HIF-1 $\alpha$  在肾癌的发生发展中可能发挥一定的作用。

Notch 信号通路与缺氧反应通路存在相互作用<sup>[4-5,7]</sup>。Mizokami 等<sup>[7]</sup>发现,在缺氧条件下,Notch 活性升高,HIF-1 $\alpha$  与 Notch 1 相互作用,可以增强 HIF-1 $\alpha$  的稳定性,并且 HIF-1 $\alpha$  作为 Notch 靶基因 Hey2 的启动子发挥作用,这种相互作用与肿瘤生长相关。本研究结果提示肾癌组织中 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  表达均高于正常肾组织,且与肿瘤临床分期有关,提示肾癌组织中 Notch 1、HIF-1 $\alpha$  异常高表达时患者预后不良,二者对判断临床预后可能具有一定价值。

### [参考文献]

- [1] Artavanis-Tsakonas S, Rand M D, Lake R J. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development[J]. Science, 1999, 284: 770-776.
- [2] Leong K G, Karsan A. Recent insights into the role of Notch signaling in tumorigenesis[J]. Blood, 2006, 107: 2223-2233.
- [3] Semenza G L. Targeting HIF-1 for cancer therapy[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3: 721-732.
- [4] Wilkins S E, Hyvärinen J, Chicher J, Gorman J J, Peet D J, Bilton R L, et al. Differences in hydroxylation and binding of Notch and HIF-1 $\alpha$  demonstrate substrate selectivity for factor inhibiting HIF-1 (FIH-1)[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41: 1563-1571.
- [5] Semenza G L. Hypoxia-inducible factor 1(HIF-1) pathway[J]. Sci STKE, 2007, 2007: cm8.
- [6] Carcangiu M L, Chambers J T, Voynick I M, Pirro M, Schwartz P E. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. Part I: Clinical and histologic correlations[J]. Am J Clin Pathol, 1990, 94: 247-254.
- [7] Mizokami K, Kakeji Y, Oda S, Irie K, Yonemura T, Konishi F, et al. Clinicopathologic significance of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  overexpression in gastric carcinomas[J]. J Surg Oncol, 2006, 94: 149-154.

[本文编辑] 贾泽军