

• 论著-临床研究 •

HIF-1 α 表达对膀胱尿路上皮癌预后的影响*邓光程¹ 张新明² 黄智超³ 王荫槐³ 赵洪青³ 吴洪涛³

[摘要] 目的:探讨缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)在膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma, BUC)中的表达及其与膀胱尿路上皮癌预后的影响。方法:回顾性分析 90 例手术治疗的膀胱尿路上皮癌患者的临床病理资料,采用免疫组化的方法检测切除标本中 HIF-1 α 的表达情况, Kaplan-Meier 法对 HIF-1 α 的表达,血红蛋白含量及吸烟史等变量进行分析,建立 Cox 比例风险回归模型分析多变量的影响。结果:90 例研究对象年龄 51~88 岁,平均(68.2 \pm 9.4)岁,血红蛋白含量 75~145 g/L,平均(109.5 \pm 13.9)g/L。所有患者均随访 5 年,中位总生存期为 34.0 个月,中位无病生存期 14.5 个月。不同水平 HIF-1 α 表达组之间临床病理分期、组织学分级、吸烟史和血红蛋白水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。HIF-1 α 的表达水平与临床病理分期及组织学分级均正相关($P < 0.001$)。HIF-1 α 的表达水平越高,其总生存期(overall survival, OS)及无病生存期(disease-free survival, DFS)越短,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Cox 比例风险回归模型中, HIF-1 α 的表达水平是影响 OS 及 DFS 的独立因素($P < 0.05$),血红蛋白水平是影响 DFS 的独立因素($P < 0.05$)。结论: HIF-1 α 的表达水平是膀胱尿路上皮癌的独立预后因素,且与膀胱尿路上皮癌的预后呈负相关。

[关键词] 膀胱尿路上皮癌;慢性缺氧;缺氧诱导因子 1 α ;预后

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2020.08.007

[中图分类号] R737.14 **[文献标志码]** A

Effects of hypoxia-inducible factor-1 α expression on prognosis of human bladder urothelial carcinoma

DENG Guangcheng¹ ZHANG Xinming² HUANG Zhichao³ WANG Yinhuai³
ZHAO Hongqing³ WU Hongtao³

(¹Department of Urology, Fourth Hospital of Changsha, Changsha, 410006, China; ²Department of Urology, Shenzhen Shekou People's Hospital; ³Department of Urology, Second Xiangya Hospital of Central South University)

Corresponding author: WU Hongtao, E-mail: wht168@csu.edu.cn

Abstract Objective: To investigate the correlations between hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) expression, resulting from chronic tumor hypoxia, and the prognosis in patients with bladder urothelial carcinoma (BUC). **Method:** We retrospectively evaluated the clinicopathological variables of 90 BUC cases who underwent operation. HIF-1 α protein expression and location in the specimens were analyzed by immunohistochemical method. The relationship to clinicopathological variables, including HIF-1 α expression level, serum hemoglobin level, and smoking history were evaluated by the Kaplan-Meier method. A multivariate analysis was performed, according to the Cox proportional hazards regression model. **Result:** Patient's age and serum hemoglobin level were 51 to 88 years (mean, 68.2 \pm 9.4 years) and 75 to 145 g/L (mean, 109.5 \pm 13.9 g/L), respectively. All patients were followed up for 5 years. The median overall survival (OS) and median disease-free survival (DFS) were 34.0 and 14.5 months, respectively. HIF-1 α expression had significant difference among several clinicopathological variables such as tumor stage, histological grade, smoking history, and serum hemoglobin level ($P < 0.05$). HIF-1 α expression was positively correlated with tumor stage and histological grade ($P < 0.001$). Kaplan-Meier analysis found that high level expression of HIF-1 α was tightly correlated with shorter OS and DFS ($P < 0.05$). Multivariate analyses demonstrated that HIF-1 α expression was an independent prognostic variable for OS ($P < 0.05$) and DFS ($P < 0.001$). In addition, the serum hemoglobin level was an independent prognostic variable for DFS ($P < 0.05$). **Conclusion:** HIF-1 α expression is an independent prognostic variable for BUC, and its high expression pre-

*基金项目:湖南省科学技术厅科技计划项目(No:2013SK3047)

¹长沙市第四医院泌尿外科(长沙,410006)

²深圳市蛇口人民医院泌尿外科

³中南大学湘雅二医院泌尿外科

通信作者:吴洪涛, E-mail: wht168@csu.edu.cn

dicts poor prognosis.

Key words bladder urothelial carcinoma; chronic hypoxia; hypoxia-inducible factor-1 α ; prognosis

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤,其中70%~80%为膀胱尿路上皮癌(bladder urothelial carcinoma, BUC)^[1]。目前主要根据其浸润生长的深度采取经尿道膀胱肿瘤切除术(transurethral resection of bladder tumor, TURBt)或膀胱根治性切除术治疗。但术后复发率达60%~70%,其中30%肿瘤恶性程度(病理分级和临床分期)增高^[2]。因此,深入了解膀胱尿路上皮癌恶性程度进展的发生机制,剖析膀胱尿路上皮癌恶性程度进展的相关影响因素,对制定临床诊疗方案和判断临床预后具有非常重要的意义。

肿瘤细胞的特点是不受调控的生长^[3]。肿瘤细胞失控性生长导致高代谢状态,并导致新生血管密度相对不足,绝大多数实体肿瘤内会出现相对或绝对的缺氧区域。在急性缺氧的影响下,可以导致肿瘤细胞缺乏氧气及营养物质,从而出现细胞分裂或分化受阻,甚至诱导肿瘤细胞的凋亡、坏死。从表面上看,缺氧环境有利于抑制肿瘤的生长和进展,可以作为一种治疗肿瘤的手段;但是,由于长期生存在慢性缺氧的条件下,对缺氧不耐受的肿瘤细胞死亡后,残存肿瘤细胞在一系列适应缺氧的调节因子和机制激活后逐步适应。那些能够适应低氧环境、低营养物质环境的残存肿瘤细胞将会继续生长进展,从而导致肿瘤的恶性程度进一步增高^[4]。

缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)是细胞在长时间缺氧环境下所产生的重要转录激活因子之一。迄今为止,已发现近800种靶基因在HIF-1的作用下发生转录、表达^[5]。这些靶基因翻译出来的蛋白质,绝大多数与肿瘤在慢性缺氧环境下生长、浸润和转移密切相关^[6]。研究已经证实,在低氧环境下肿瘤细胞主要通过激活HIF-1信号传导通路,加速肿瘤细胞细胞内的糖酵解,从而诱导肿瘤新生血管的生成,促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移等恶性生物学行为,从而使得肿瘤细胞能够对抗低氧环境,导致肿瘤的恶性程度进一步增加^[7-8]。肿瘤细胞不受调控的分裂增殖、高代谢状态以及大量细胞的坏死、凋亡和自噬等反应均可导致肿瘤组织氧耗量增加;与此同时,肿瘤细胞的不规则排列对氧分子从血管向细胞扩散过程的不利影响,肿瘤组织内血管癌栓、血栓和盲端的形成导致的微血管堵塞,以及肿瘤导致的贫血引起的红细胞氧输送能力的下降,这些因素都能导致氧供给不足,从而造成肿瘤组织内缺氧微环境的产生^[9]。尤其是患者本身还处于吸烟、肺功能不良或其他并存慢性疾病所造成的慢性缺氧状态时,是否

会进一步加重肿瘤细胞内的缺氧,从而进一步激活HIF-1相关的信号传导通路,导致肿瘤恶性生物学行为的发生和恶性程度的增加,对患者的预后产生不利影响目前尚不十分明确。本研究通过检测BUC中HIF-1 α 的表达水平,结合患者的临床病理资料和随访预后情况进行分析,初步探讨HIF-1 α 在BUC的表达情况及其与BUC预后的关系,以期为进一步深入研究HIF-1 α 在缺氧条件下对BUC恶性生物学行为的影响及其可能的分子生物学机制打下前期基础。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择中南大学湘雅二医院泌尿外科2012年6月~2014年6月行手术治疗的BUC患者90例。研究纳入标准:①病检确诊为BUC;②患者手术前后未行放化疗;③患者随访资料完全。排除标准:①病检证实非BUC;②手术前后曾行放化疗治疗;③未取得随访资料或随访资料缺失。90例研究对象中,男67例,女23例。其中行TURBt术42例,行膀胱全切术48例。按国际抗癌联盟(UICC)的TNM法(2002年第6版)进行肿瘤临床分期:T_a~T₁期(non-muscle invasive BUC)48例,T₂~T₄期(muscle invasive BUC)42例。按世界卫生组织WHO 1973分级法进行肿瘤的组织学分级:I级33例,II级30例,III级27例。肿瘤直径(肿瘤多发患者按最大肿瘤直径计算):肿瘤直径 \leq 3 cm 53例, $>$ 3 cm 37例。肿瘤单发者47例,多发者43例。所有标本均选用10%福尔马林固定,然后常规石蜡包埋,4 μ m连续切片,最后用免疫组化方法检测HIF-1 α 的表达情况。

1.2 方法

1.2.1 随访 90例患者全部采用腹部彩超、泌尿系CT、尿道膀胱镜和尿脱落细胞学检查4种方法进行随访,随访过程中发现可疑病变将进行尿道膀胱镜活检。手术后的前2年,每3月复查1次;术后第3年,每6月复查1次;之后改为每年复查1次,总计5年。

1.2.2 贫血及吸烟史的判定 通过查阅住院病历等资料,获得患者入院时血常规、血红蛋白检查结果。以血红蛋白含量110 g/L为分界线,将患者分成两组: \leq 110 g/L(贫血组)和 $>$ 110 g/L(正常组)。通过上述资料获取患者吸烟史等相关信息。查询记录患者是否吸烟,吸烟年龄,每天吸烟的支数,吸烟时间等。有研究表明:戒烟10年以上,吸烟所造成的相关影响才能基本消除。因而对于曾

经吸烟但后面成功戒烟的患者,戒烟 10 年以上,分为从不吸烟组;反之,分为经常吸烟组。以此标准,将 90 例患者分为从不吸烟组和经常吸烟组两组。

1.2.3 其他并存疾病 通过查阅住院病历等资料,记录其他并存疾病的患病情况。其他并存疾病包括:高血压病、冠心病、糖尿病、心脑血管疾病和其他恶性肿瘤。所有并存疾病的诊断均符合其相应的诊断标准,并能在上述资料中找到确切依据。

1.2.4 免疫组化的方法及结果判定 HIF-1 α 多克隆抗体(浓缩型兔抗人 HIF-1 α 多克隆抗体)、免疫组化 SABC(strept avidin-biotin complex)试剂盒、DAB 酶底物显色试剂盒均购自武汉博士德公司。采用微波修复抗原 SP(streptavidin-peroxidase)法进行免疫组化染色,PBS 缓冲液(phosphate buffer saline)代替一抗作阴性对照。采用盲法阅片的方式,由 2 名病理科医师评估切片免疫组化的结果。认定 HIF-1 α 阳性表达为细胞核或细胞质内可见染色颗粒。每张切片高倍镜下($\times 400$)随机选择 5 个视野,根据阳性细胞的百分率及视野的染色强度分为 4 个等级,每个等级对应不同的分值:阳性细胞百分率为 0、1%~30%、31%~70%、71%~100%。分别对应 0、1、2、3 分;染色强度:无着色、浅黄色、棕黄色、棕褐色。分别对应 0、1、2、3 分;两项评分相加为综合评分。其中综合评分:0 分为阴性(-),1~2 分为弱阳性(+),3~4 分为阳性(++),5~6 分为强阳性(+++)^[6]。

1.3 统计学方法

本研究采用 SPSS 17.0 软件包进行统计学分析,所有统计学分析以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。所有病例血红蛋白含量、年龄计算平均值,结果以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示;所有病例的总生存期(OS)及无病生存期(DFS)计算中位数。年龄、临床分期、组织学分级、肿瘤大小、数目、吸烟史、血红蛋白含量、其他合并疾病分组后以卡方检验分析其与 HIF-1 α 表达水平的关系。对年龄、临床分期、组织学分级、肿瘤大小、数目、吸烟史、血红蛋白含量、HIF-1 α 表达水平进行 OS 和 DFS 的单因素分析;通过 Kaplan-Meier 法分析 HIF-1 α 的表达程度与 OS 和 DFS 的

关系,绘制生存曲线,同时利用 log-rank 检验生存曲线之间的差异。通过 Cox 比例风险回归模型分析年龄、临床分期、组织学分级、肿瘤大小、数目、吸烟史、血红蛋白含量、HIF-1 α 表达水平等变量对 OS 和 DFS 的影响,寻找独立预后因素。

2 结果

2.1 基本情况

研究对象基本情况如下:年龄 51~88 岁,平均(68.2 \pm 9.4)岁;从不吸烟者 40 例,经常吸烟者 50 例;合并高血压 31 例,合并糖尿病 16 例,合并心脑血管疾病 13 例;所有病例血红蛋白含量范围 75~145 g/L,平均(109.5 \pm 13.9)g/L。90 例患者均随访 5 年。中位 OS 34.0 个月,中位 DFS 14.5 个月。62 例患者(68.9%)在 5 年随访期内死亡,其中有 30 例患者(33.3%)死于其他并存疾病。HIF-1 α 阴性表达 23 例,弱阳性表达 18 例,阳性表达 28 例,强阳性表达 21 例(图 1)。

2.2 HIF-1 α 的表达水平与临床病理资料的关系

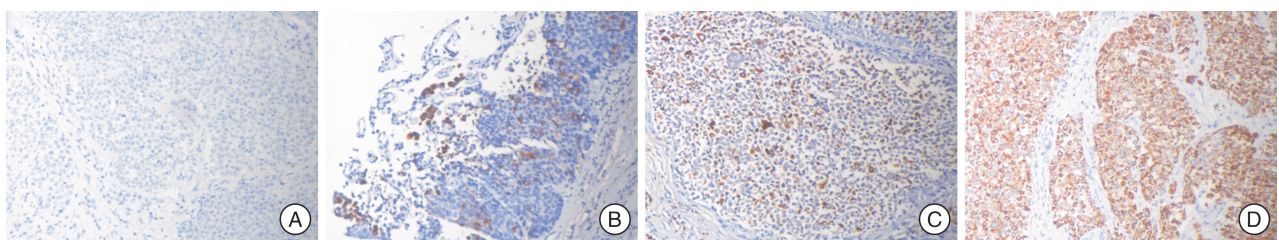
研究对象中临床分期 T_a~T₁ 与临床分期 T₂~T₄ 的 HIF-1 α 表达程度相比,差异有统计学意义($P < 0.001$)。组织学分级为 I 级、II 级及 III 级的 HIF-1 α 表达程度相比,差异有统计学意义($P < 0.001$)。表明随着肿瘤临床病理分期的上升和组织学分级的升高,HIF-1 α 的阳性表达程度也随之升高。HIF-1 α 的表达水平与其他临床资料,如:年龄、肿瘤大小、数目、其他合并疾病等无明显相关性,结果见表 1。

2.3 HIF-1 α 表达水平与生存期的关系

通过 Kaplan-Meier 法进行分析,HIF-1 α 的表达程度与 OS 和 DFS 相关,表达程度越高其生存期越短($P < 0.001$,表 2、图 2)。是否患有其他疾病对 OS 及 DFS 无显著影响(均 $P > 0.05$)。其他临床病理因素对 OS 和 DFS 的影响详见表 2。

2.4 Cox 比例风险回归模型多变量分析

多因素分析中,HIF-1 α 表达水平,年龄和肿瘤大小为影响 OS 的独立预后因素(均 $P < 0.05$);HIF-1 α 的表达程度,肿瘤大小及血红蛋白水平是影响 DFS 的独立预后因素(均 $P < 0.05$)。结果见表 3。



A: HIF-1 α 阴性表达, B: HIF-1 α 弱阳性表达, C: HIF-1 α 阳性表达, D: HIF-1 α 强阳性表达。

图 1 不同 HIF-1 α 表达水平的膀胱尿路上皮癌标本($\times 200$)

表 1 HIF-1 α 表达与患者临床病理资料的关系

例(%)

项目	HIF-1 α 表达水平				P
	-	+	++	+++	
年龄/岁					0.093
<60	7(30.4)	5(27.8)	3(10.7)	4(19.0)	
60~69	6(26.1)	6(33.3)	13(46.4)	4(19.0)	
70~79	6(26.1)	4(22.2)	12(42.9)	7(33.3)	
≥ 80	4(17.4)	3(16.7)	0	6(28.6)	
临床病理分期					<0.001
T _a ~T ₁	21(91.3)	10(55.6)	13(46.4)	4(19.0)	
T ₂ ~T ₄	2(8.7)	8(44.4)	15(53.6)	17(81.0)	
组织学分级					<0.001
I 级	13(56.5)	8(44.4)	10(35.7)	2(9.5)	
II 级	10(43.5)	8(44.4)	8(28.6)	4(19.0)	
III 级	0	2(11.1)	10(35.7)	15(71.4)	
肿瘤数目					0.614
单发	11(47.8)	10(55.6)	17(60.7)	9(42.9)	
多发	12(52.2)	8(44.4)	11(39.3)	12(57.1)	
肿瘤直径/cm					0.521
≤ 3	16(69.6)	11(61.1)	16(57.1)	10(47.6)	
>3	7(30.4)	7(38.9)	12(42.9)	11(52.4)	
吸烟史					0.027
从不吸烟	14(60.9)	11(61.1)	7(25.0)	8(38.1)	
经常吸烟	9(39.1)	7(38.9)	21(75.0)	13(61.9)	
血红蛋白含量/(g·L ⁻¹)					0.047
≤ 110	8(34.8)	10(55.6)	17(60.7)	16(76.2)	
>110	15(65.2)	8(44.4)	11(39.3)	5(23.8)	
其他合并疾病					0.337
高血压病	11(47.8)	6(33.3)	9(32.1)	5(23.8)	
糖尿病	2(8.7)	4(22.2)	5(17.9)	5(23.8)	
心脑血管疾病	4(17.4)	3(16.7)	3(10.7)	3(14.3)	

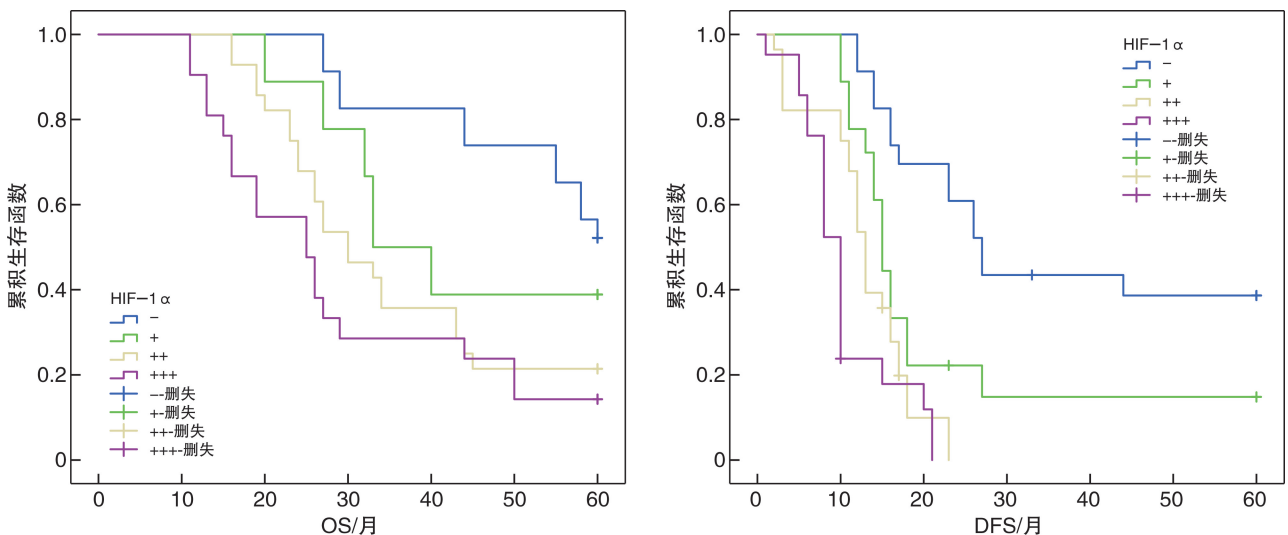


图 2 不同表达水平 HIF-1 α 的生存曲线

表 2 临床病理资料与生存期的单因素分析

项目	例数	OS/月		P	DFS/月		P
		$\bar{x} \pm s$	95%CI		$\bar{x} \pm s$	95%CI	
年龄/岁				0.002			0.022
<60	19	46.3±3.5	39.5~53.1		16.9±1.8	13.4~20.4	
60~69	29	42.2±3.4	35.5~48.9		28.2±4.2	19.9~36.5	
70~79	29	39.4±2.8	33.8~44.9		18.3±2.7	13.0~23.6	
≥80	13	24.5±3.6	17.3~31.6		13.5±3.9	6.0~21.1	
临床病理分期				<0.001			0.002
T _a ~T ₁	48	45.7±2.4	40.9~50.5		26.1±3.0	20.3~31.9	
T ₂ ~T ₄	42	32.6±2.3	28.1~28.1		13.2±1.0	11.2~15.2	
组织学分级				0.248			<0.001
I级	33	45.0±2.5	40.1~49.8		25.6±3.3	19.1~32.1	
II级	30	38.7±3.5	31.8~45.6		21.5±3.5	14.8~28.3	
III级	27	34.0±3.2	27.8~43.2		11.8±0.8	10.2~13.4	
肿瘤数目				0.047			0.082
单发	47	38.1±2.1	34.0~42.2		16.0±1.4	13.3~18.6	
多发	43	41.3±3.1	35.3~47.2		24.9±3.3	18.4~31.4	
肿瘤直径/cm				0.042			0.077
≤3	53	43.3±2.2	39.0~47.7		23.8±2.7	18.5~29.0	
>3	37	34.2±2.9	28.6~39.9		14.3±1.4	11.6~17.1	
吸烟史				0.099			0.373
从不吸烟	40	43.7±2.8	38.3~49.1		22.5±2.9	16.9~28.2	
经常吸烟	50	36.3±2.3	31.7~40.9		18.9±2.4	14.2~23.6	
血红蛋白含量/(g·L ⁻¹)				0.097			0.002
≤110	51	35.8±2.4	31.1~40.5		16.3±2.1	12.1~20.4	
>110	39	44.6±2.6	39.5~49.7		26.0±3.1	19.9~32.0	
HIF-1α 表达水平				<0.001			<0.001
-	23	52.4±2.6	47.3~57.6		36.3±4.2	28.1~44.5	
+	18	42.1±3.6	35.1~49.1		21.8±4.0	13.9~29.6	
++	28	35.2±2.9	29.6~40.8		12.8±1.1	10.6~15.0	
+++	21	29.3±3.7	22.1~36.5		10.4±1.2	8.0~12.9	

表 3 临床病理资料的多因素 Cox 分析

变量	B	RR	95%CI	P
OS				
HIF-1α 表达水平	0.427	1.533	1.083~2.170	0.016
年龄	0.430	1.537	1.114~2.120	0.009
肿瘤直径	0.713	2.040	1.042~3.994	0.038
DFS				
HIF-1α 表达水平	0.758	2.133	1.510~3.013	<0.001
肿瘤直径	0.702	2.018	1.129~3.609	0.018
血红蛋白含量	-0.719	0.487	0.273~0.871	0.015

3 讨论

HIF-1 是一个由 120 ku 的 α 亚单位(HIF-1α) 和 91~94 ku 的 β 亚单位(HIF-1β)组成的异二聚

体复合物,属于转录因子 Bhlh/pas 家族成员。HIF-1α 其功能受氧浓度调节,是缺氧调节亚单位。HIF-1β 为结构亚单位,又叫芳烃受体核转位子(the arylhydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT),可与其他具有 Bhlh 结构的蛋白,如 HIF-1α 形成异二聚体,两者结合后可以引起构象改变。这一特性与 HIF-1 和 DNA 存在高亲和性结合密切相关^[10]。HIF-1α 有两个核定位序列(nuclear localization sequence,NLS),分别定位于 C 端和 N 端。C 末端的核定位序列与 HIF-1α 在核内的聚集有关,而 N 端 PAS 和 Bhlh 结构域与 HIF-1 的异二聚化、与 DNA 的结合以及转录激活密切相关^[11]。HIF-1α 还具有唯一的氧依赖性降解结构域(oxygen dependent degradation domain,ODDD)。在常氧条件下,其羟基化使 HIF-1 可以被 von-Hippel-Lindau 蛋白所识别,并激活泛素依赖的降解途径降解^[12]。

在缺氧条件下, HIF-1 α 缺氧诱导因子 1 抑制因子以及脯氨酰羟化酶等酶的活性受到抑制, HIF-1 α 的降解减少, 蛋白水平上调^[13]。研究发现证实抑癌基因对调节 HIF-1 的含量也具有重要的意义: 抑癌基因 P53 及其蛋白产物既可以抑制 HIF-1 α 的激活, 又可以促进其通过蛋白酶途径降解^[14]。另外, 还有其他调节途径, 如: 使磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸去磷酸化, 抑制 PIP3 激酶的磷酸化作用, 阻断丝/苏氨酸及其下游激酶的活性, 也能下调 HIF-1 α 的表达^[15-16]。还有一些小分子物质和细胞因子, 如活性氧自由基、肿瘤坏死因子 α 、血管紧张素等, 可以通过 P53/JNK (c-jun N-terminal Kinase, c-Jun 氨基端激酶, 一种能够使 c-Jun 氨基末端活性区 Ser63 和 Ser73 发生磷酸化的蛋白激酶) 和(或) RAS/RAF1/MEK1/ERK1/2 信号传导途径 (RAS/RAF/MEK/ERK 信号级联通路, 这是一条有丝分裂原活化蛋白激酶通路。Ras 是一种只有一条多肽链的低分子质量 G 蛋白, 是癌基因 ras 的表达产物。Ras 本身具有内源性 GTP 酶活性, 可以催化 GTP 分解为 ADP, 从而实现将细胞外信号传递到细胞内。Raf 是丝/苏氨酸蛋白激酶 MAPKKK 中主要成员, 其作用是磷酸化并激活下游底物 MAPKK; MEK, 即分裂原活化抑制剂; 细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK), 包括 ERK1 和 ERK2, 对 HIF-1 α 的表达进行调节^[17-18]。HIF-1 参与调控的靶基因涉及肿瘤新生血管的生成、能量代谢、激素代谢及肿瘤转移等多方面^[5,15]。当肿瘤处于低氧分压环境中时, HIF-1 α 的转录增加, 与 HIF-1 β 结合形成异二聚体, 从而使得 HIF-1 蛋白含量上调, 诱导血管内皮细胞生长因子表达, 促进肿瘤内新生血管的生成, 为肿瘤细胞的生长分化提供充足的氧及营养物质。诱导葡萄糖载体蛋白 1 的表达以上调糖代谢的速率进而产生充足的能量以适应低氧代谢, 上调碳酸酐酶 9 的活性, 维持细胞内外 PH 值的平衡。抑制凋亡相关基因的表达, 用以对抗缺氧所导致的细胞凋亡, 增加基因点突变和染色体重排的概率, 这些都使得肿瘤细胞能够适应低氧环境, 造成肿瘤浸润、复发、转移等一系列恶性生物学行为的发生。从这个意义上说: HIF-1 α 表达可使肿瘤细胞更具侵袭性^[19-20]。

肿瘤细胞的特点是不受调控的生长^[3]。肿瘤细胞失控性生长导致高代谢状态, 并导致新生血管密度相对不足, 绝大多数实体肿瘤内会出现相对或绝对的缺氧区域。而 HIF-1 是肿瘤细胞为适应低氧环境而产生的一种核转录因子, 故 HIF-1 α 在实体肿瘤中广泛的表达^[21]。Zhong 等利用免疫组化方法检测了 19 种实体肿瘤中 HIF-1 α 的表达, 其中

前列腺、肾、结肠、乳腺、肺、胃、胰腺、卵巢、皮肤肿瘤中都有 HIF-1 α 的过表达^[22-25]。Vasilios 等^[26] 研究了 140 例浅表性膀胱癌发现 HIF-1 α 均呈阳性表达, 相对照的正常膀胱上皮组织均阴性表达, 而且 HIF-1 α 的表达程度与肿瘤的恶性程度有关。我们的研究结果证实: HIF-1 α 在 BUC 组织中呈高表达, 表达率 74.4%, 与既往研究结果相似。随着 HIF-1 α 表达强度的增加, 患者的 OS 和 DFS 逐渐缩短。Cox 分析显示, HIF-1 α 的表达水平是预测 BUC 患者不良预后的一个重要指标。

贫血是恶性肿瘤患者最常见的合并症之一, 膀胱尿路上皮癌也不例外。有研究表明, 约 50% 恶性肿瘤患者合并不同程度的贫血, 而晚期恶性肿瘤及接受过放疗的患者贫血发生率高达 90%^[27]。而对于膀胱肿瘤的患者来说: 镜下血尿或肉眼血尿导致慢性失血; 肿瘤晚期发生骨转移, 骨髓受累引起造血障碍; 营养不良和恶病质等都是引起贫血的原因。贫血造成外周血中血红蛋白浓度降低, 多伴有红细胞数量或红细胞压积的减少, 单位体积血液结合、运输氧的能力下降, 身体各脏器、组织、细胞供氧不足, 从而造成内环境缺氧。Caro 等^[28] 研究发现, 合并贫血的肿瘤患者, 其总死亡的相对危险性比未合并贫血的增加 65%, 其具体数值与肿瘤的种类相关, 从肺癌的 19% 到头颈部肿瘤的 75%。我们的研究结果显示: 合并贫血的膀胱尿路上皮癌患者 OS 和 DFS 均短于血红蛋白正常的患者, 并且 DFS 的差异有统计学意义, 贫血是影响患者 DFS 的独立影响因素, 且与其负相关。另外, 后续进一步的研究可能会得出更为确切的结论。

吸烟是目前公认的 BUC 最为肯定的致病危险因素, 约 30%~50% 的 BUC 患者由吸烟引起。吸烟人群中, 罹患 BUC 的危险性较不吸烟人群增加 2~4 倍, 其危险性的增加与吸烟的强度和时间的成正比^[29]。但我们的研究结果显示, 虽然经常吸烟者的 OS 及 DFS 的均值较从不吸烟者短, 但差异无统计学意义。究其原因, 可能与患者在确诊 BUC 之后是否能够戒烟有关。少数患者在确诊 BUC 之后仍会继续吸烟, 但大多数的患者在确诊 BUC 后就戒烟了。目前认为, 吸烟引起机体组织缺氧的机制有急性影响和慢性影响两个方面: 急性影响在于烟雾中的一氧化碳与血红蛋白形成碳氧血红蛋白, 阻断血红蛋白分子与氧分子的结合, 影响氧分子在血液中的运输^[30]; 慢性影响主要通过长期吸烟导致的气道破坏和肺泡萎陷, 肺内气体交换障碍, 进而影响肺通气和换气功能^[31]。两者作用的最终结果都是导致机体组织内氧分压下降, 造成内环境缺氧。其中究竟是急性影响还是慢性影响起主导作用目前还没有肯定的结论, 这可能是我们的研究结

果没有达到统计学意义的原因之一。如果在研究中采用独立的调查问卷、选择合适的对照,或许会提高获取吸烟相关研究资料的准确性、全面性,从而获得更好的研究效果。

虽然既往有类似 HIF-1 α 对 BUC 影响的研究报道^[32-34],但是他们的研究要么没有进行术后随访,要么没有做生存分析,或是研究对象仅仅针对高级别的 BUC。而我们的此次研究的研究对象囊括了高级别、低级别的 BUC,并对 90 例患者全部做了严密的 5 年术后随访及相应生存分析。受到回顾性研究方法的限制,比如:样本量较小、研究对象的选择无法进行严格控制,无法得到所有需要的资料和数据等,我们的这次研究不可避免的存在一些不足。在以后的研究中,我们可以做出适当改进,比如在统计分析阶段采用分层分析、多因素分析等多种方法校正,进行前瞻性的设计,建立细胞或动物模型的实验方式,进一步对 HIF-1 α 和 BUC 生物学行为及预后之间的关系进行研究。由于 HIF-1 α 的表达程度与 BUC 的不良预后显著相关,可以考虑通过对 HIF-1 α 表达程度的检测来评估 BUC 患者的预后。随着 HIF-1 α 与 BUC 恶性生物学行为研究的深入,我们甚至可以通过对 HIF-1 α 的表达及转录活性的抑制,降低其表达水平,遏制膀胱尿路上皮癌的浸润、复发及转移,如:使用高压氧治疗,改善实体肿瘤内环境的缺氧,抑制 HIF-1 α 的激活;或采用特异性的 HIF-1 α 抑制剂或中和抗体来阻断 HIF-1 α 的作用。HIF-1 α 在 BUC 诊断治疗中的作用值得进一步深入研究。

[参考文献]

- 1 韩苏军,张思维,陈万青,等. 中国膀胱癌发病现状及流行趋势分析[J]. 癌症进展,2013,11(1):89-95.
- 2 Ratliff TL,Ritchey JK,Yuan JJ,et al. T-cell subsets required for intravesical bcg immunotherapy for bladder cancer[J]. J Urol,1993,150(3):1018-1023.
- 3 周瑜. 微环境对实体肿瘤生长影响的模拟研究[C]. 复旦大学,2012.
- 4 Carmeliet P,Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications angiogenesis [J]. Nature, 2011, 473(7347):298-307.
- 5 Harada H. Hypoxia-inducible factor 1-mediated characteristic features of cancer cells for tumor radioresistance [J]. J Radiat Res,2016,57(Suppl 1):i99-i105.
- 6 李沙,李树仁,郝清卿. 过表达缺氧诱导因子 1 α 心肌干细胞能提高心肌梗死后心功能及移植细胞的存活率[J]. 中国组织工程研究,2017,21(1):103-109.
- 7 Ajdukovic J. Hif-1--a big chapter in the cancer tale[J]. Exp oncol,2016,38(1):9-12.
- 8 Soni S,Padwad YS. Hif-1 in cancer therapy:Two decade long story of a transcription factor[J]. Acta oncol,2017,56(4):503-515.
- 9 Semenza GL. Hif-1 and tumor progression:Pathophysiology and therapeutics[J]. Trends Mol Med,2002,8(4 Suppl):S62-S67.
- 10 周雅,徐冉,杨明根,等. 机体缺氧状态与肾透明细胞癌预后的关系[J]. 中华泌尿外科杂志,2012,33(8):598-602.
- 11 Masoud GN,Li W. Hif-1alpha pathway:Role,regulation and intervention for cancer therapy[J]. Acta Pharm Sin B,2015,5(5):378-389.
- 12 Bruick RK,McKnight SL. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify hif[J]. Science,2001,294(5545):1337-1340.
- 13 Xia Y,Choi HK,Lee K. Recent advances in hypoxia-inducible factor(hif)-1 inhibitors[J]. Eur J Med Chem,2012(49):24-40.
- 14 Ravi R,Mookerjee B,Bhujwalla ZM,et al. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha[J]. Genes Dev,2000,14(1):34-44.
- 15 Unwith S,Zhao H,Hennah L,et al. The potential role of hif on tumour progression and dissemination[J]. Int J Cancer,2015,136(11):2491-2503.
- 16 Amelio I,Melino G. The p53 family and the hypoxia-inducible factors(hifs):Determinants of cancer progression[J]. Trends Biochem Sci,2015,40(8):425-434.
- 17 Koshikawa N,Hayashi J,Nakagawara A,et al. Reactive oxygen species-generating mitochondrial DNA mutation up-regulates hypoxia-inducible factor-1alpha gene transcription via phosphatidylinositol 3-kinase-akt/protein kinase c/histone deacetylase pathway[J]. J Biol Chem,2009,284(48):33185-33194.
- 18 Gao N,Ding M,Zheng JZ,et al. Vanadate-induced expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha and vascular endothelial growth factor through phosphatidylinositol 3-kinase/akt pathway and reactive oxygen species [J]. J Biol Chem,2002,277(35):31963-31971.
- 19 Balamurugan K. Hif-1 at the crossroads of hypoxia, inflammation, and cancer[J]. Int J Cancer,2016,138(5):1058-1066.
- 20 Lu X,Kang Y. Hypoxia and hypoxia-inducible factors: Master regulators of metastasis[J]. Clin Cancer Res,2010,16(24):5928-5935.
- 21 Brahimi-Horn C,Pouyssegur J. The role of the hypoxia-inducible factor in tumor metabolism growth and invasion[J]. Bulletin du cancer,2006,93(8):E73-E80.
- 22 Park JW,Hwang MS,Suh SI,et al. Melatonin down-regulates hif-1 alpha expression through inhibition of protein translation in prostate cancer cells[J]. J Pineal Res,2009,46(4):415-421.
- 23 Schodel J,Gramp S,Maher ER,et al. Hypoxia,hypoxia-inducible transcription factors, and renal cancer[J]. Eur Urol,2016,69(4):646-657.

[参考文献]

- 1 王锦宁. 导尿管相关尿路感染的预防研究进展[J]. 中国伤残医学, 2013, 21(6): 434-453.
- 2 Wang R, Michele R, Hacker RL. Cost-effectiveness of prophylactic antibiotic use to prevent catheter-associated urinary tract infections[J]. *Int Urogynecol J*, 2020, 31(2): 285-289.
- 3 Venkatesan N, Shroff S, Jeyachandran K, et al. Effect of uropathogens on in vitro encrustation of polyurethane double J ureteral stents[J]. *Urol Res*, 2011, 39(1): 29-37.
- 4 Justin C, Dirk L. Encrustation of Indwelling Urinary Devices[M]. Hoboken, New Jersey, US: John Wiley & Sons Inc, 2017: 215-226.
- 5 Raffaella C, Francesca B, Francesca M, et al. Chitosans as new tools against biofilms formation on the surface of silicone urinary catheters[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 118(Pt B): 2193-2200.
- 6 Ren L, Xu L, Feng J, et al. In vitro study of role of trace amount of Cu release from Cu-bearing stainless steel targeting for reduction of in-stent restenosis[J]. *J Mater Sci-Mater M*, 2012, 23(5): 1235-1245.
- 7 Zhao J, Cao Z, Ren L, et al. A novel ureteral stent material with antibacterial and reducing encrustation properties[J]. *Mat Sci Eng C*, 2016, 68: 221-228.
- 8 Zhao J, Ren L, Zhang B, et al. In vitro study on infectious ureteral encrustation resistance of Cu-bearing stainless steel[J]. *J Mater Sci Technol*, 2017, 12(33): 1604-1609.
- 9 Haddad L. Synthetic urine and method of making same [P]. US, US20040077106 A1, 2006.
- 10 Frant M, Dayyoub E, Bakowsky U, et al. Evaluation of a ureteral catheter coating by means of a Bio-encrustation in vitro model[J]. *Int J Pharm*, 2018, 546(1-2): 86-96.
- 11 Luo Y, Samantha W, Peter AC, et al. Ureteral Stent Technology: Drug-eluting Stents and Stent Coatings [J]. *A J Urol*, 2015, 2(4): 194-201.
- 12 Bird ED, Thomas WC. Effect of Various Metals on Mineralization in vitro[J]. *Exp Biol Med*, 1963, 112(3): 640-643.
- 13 Meyer J, Angino E. The role of trace metals in calcium urolithiasis[J]. *Invest Urol*, 1977, 14(5): 347-350.
- 14 Valentina C, Angelica C, Marco L, et al. Ureteral double-J stents performances toward encrustation after long-term indwelling in a dynamic in vitro model[J]. *J Biomed Mater Res Part B*, 2017, 105(8): 2244-2253.
- 15 Shabeena KS, Rahul B, Muhammed AP, et al. Characteristics of bacterial colonization after indwelling double-J ureteral stents for different time duration[J]. *Urol Ann*, 2018, 10(1): 71-75.
- 16 Verkoelen CF. Crystal retention in renal stone disease: a crucial role for the glycosaminoglycan hyaluronan[J]? *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(6): 1673-1687.
- 17 Davis NF, Cunnane EM, Quinlan MR, et al. Biomaterials and Regenerative Medicine in Urology [J]. *Cell Biol Trans Med*, 2018, 3: 189-198.

(收稿日期: 2019-11-16)

(上接第 630 页)

- 24 Berghoff AS, Ilhan-Mutlu A, Wohrer A, et al. Prognostic significance of ki67 proliferation index, hif1 alpha index and microvascular density in patients with non-small cell lung cancer brain metastases[J]. *Strahlenther Onkol*, 2014, 190(7): 676-685.
- 25 Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(22): 5830-5835.
- 26 Vasilios E, Andreas C, Kastriotis L, et al. Evaluation of hypoxia-inducible factor 1alpha overexpression as a predictor of tumour recurrence and progression in superficial urothelial bladder carcinoma[J]. *BJU Int*, 2005, 95(3): 425-431.
- 27 Glaspy J, Cavill I. Role of iron in optimizing responses of anemic cancer patients to erythropoietin[J]. *Oncology (Williston Park)*, 1999, 13(4): 461-473.
- 28 Caro JJ, Salas M, Ward A, et al. Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: A systemic, quantitative review[J]. *Cancer*, 2001, 91(12): 2214-2221.
- 29 张薇, 项永兵, 邵常霞, 等. 吸烟和环境烟草烟雾暴露与膀胱癌关系的病例对照研究[J]. *肿瘤*, 2006, 26(1): 42-47.
- 30 Sue DY, Oren A, Hansen J. Lung function and exercise performance in smoking and nonsmoking asbestos-exposed workers[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1986, 132: 612-618.
- 31 王西凤, 邢华. 吸烟对老年 COPD 患者肺功能和气道炎性反应的影响[J]. *疑难病杂志*, 2013, 12(2): 96-98.
- 32 Lukasz P, Pihowicz P, Lukasz K, et al. HIF-1 α expression is inversely associated with tumor stage, grade and microvessel density in urothelial bladder carcinoma. [J]. *Pol J Pathol*, 2018, 69(4): 395-404.
- 33 Deniz H, Karakök M, Yagci F, et al. Evaluation of relationship between HIF-1alpha immunoreactivity and stage, grade, angiogenic profile and proliferative index in bladder urothelial carcinomas. [J]. *Int Urol Nephrol*, 2010(42): 103-107.
- 34 Hunter BA, Eustace A, Irlam JJ, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 α predicts benefit from hypoxia modification in invasive bladder cancer. [J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(3): 437-443.

(收稿日期: 2019-11-23)