

HIF-1 α 、VEGF 在疣状胃炎中的表达及意义

卜煜锋 张晓海 张洪涛 桑旭东 高丽琴 褚利娟 施惠娟

摘要 目的 观察疣状胃炎胃黏膜组织中 HIF-1 α 、VEGF 的表达,探讨疣状胃炎的可能发生机制及其与癌前病变的关系。**方法** 经胃镜及病理确诊的疣状胃炎 94 例,其中非成熟型 46 例,成熟型 48 例,在隆起处近中心部位及距隆起病变边缘 5cm 的平坦胃黏膜处各取胃黏膜组织 2 块;设同期经胃镜和病理均确诊为慢性浅表性胃炎(慢性轻度、非活动型、Hp 阴性)30 例作为对照,取胃窦小弯处取胃黏膜组织 2 块;¹⁴C 标记尿素呼气试验检测患者幽门螺旋杆菌(Hp)感染情况,免疫组化 EnVision 二步法检测患者胃黏膜组织中 HIF-1 α 、VEGF 的表达情况。**结果** 疣状胃炎患者疣状病灶部位组织 HIF-1 α 、VEGF 的表达均较疣状旁 5cm 平坦处明显增高($P < 0.01$)。非成熟型和成熟型疣状胃炎患者其胃黏膜疣状病灶部位 HIF-1 α 、VEGF 的表达均较对照组明显增高($P < 0.01$, $P < 0.05$);但两组之间 HIF-1 α 、VEGF 的表达差异无显著性($P > 0.05$)。疣状胃炎患者胃黏膜组织 HIF-1 α 与 VEGF 的表达水平呈明显的正相关($r = 0.729$, $P < 0.01$)。**结论** HIF-1 α 及其下游因子 VEGF 在疣状胃炎患者疣状隆起病灶部位表达增强,可能参与了疣状胃炎的形成和发展。

关键词 疣状胃炎 缺氧诱导因子-1 α 亚基 血管内皮生长因子 幽门螺杆菌

Expression and Significance of HIF-1 α , VEGF in Verrucous Gastritis. Bu Yufeng, Zhang Xiaohai, Zhang Hongtao, Sang Xudong, Gao Liqin, Chu Lijuan, Shi Huijuan. Zhejiang Provincial Prevention Research Institute of Dermatitis, Zhejiang 313200, China

Abstract Objective To observe the expression of HIF-1 α , VEGF in gastric mucosa of verrucous gastritis, to explore the possible pathogenesis of verrucous gastritis. **Methods** All 94 cases patients in accordance with the endoscopic diagnostic criteria of verrucous gastritis were classified on the basis of endoscopic features, of which 46 cases belonged to immature, and 48 cases mature. From the mucosal protrusion and the flat gastric mucosa, 5cm from the edge of elevated lesion, two pieces of gastric mucosal specimens were obtained. Moreover, as the control, 30 cases of chronic superficial gastritis were diagnosed through endoscope and pathology, in which two pieces of gastric mucosal specimens in antral lesser curvature were obtained. Hp was detected with ¹⁴C-labeled urea breath test. HIF-1 α , VEGF expressions of gastric mucosa were detected with immunohistochemical EnVision two-step test. **Results** The expressions of HIF-1 α , VEGF in focus adjacent tissues of verrucous gastritis were obviously enhanced than those of the flat of focus adjacent tissues ($P < 0.01$). The expressions of HIF-1 α , VEGF in focus adjacent tissues of immature and mature verrucous gastritis were obviously enhanced than those in the control ($P < 0.01$, $P < 0.05$). But the difference between the two groups was insignificant ($P > 0.05$). The expressions of HIF-1 α in focus tissues of verrucous gastritis was obviously positive-related with the expressions of VEGF ($r = 0.729$, $P < 0.01$). **Conclusion** There is enhanced expression of HIF-1 α and its downstream factor VEGF in mucosal raised focuses of verrucous gastritis which may take part in the formation and development of verrucous gastritis.

Key words Verrucous gastritis; Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α); vascular endothelial growth factor (VEGF); Hp

疣状胃炎(Verrucous gastritis, VG)又称隆起糜烂性胃炎(raised erosive gastritis)、痘疹样胃炎,是一种特殊类型胃炎^[1],主要通过胃镜下的特征性表现来诊断。目前一些研究提示疣状胃炎是一种有一定转化趋势的胃黏膜慢性增生病变,存在着一些可能与胃癌发生相关的基因改变。研究显示低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)及其下游基因血管内皮生长因子(vascular endothelial growth

factor, VEGF)与胃癌前病变及胃癌发生发展密切相关。笔者检测了疣状胃炎患者胃黏膜 HIF-1 α 、VEGF 的表达,旨在探讨疣状胃炎与胃癌前病变发生相关基因之间的关系。

对象与方法

1. 对象:观察组选取 2009 年 1~12 月期间因各种上腹部不适来笔者所在科室就诊经胃镜病理检查符合疣状胃炎诊断标准的初诊病人,就诊前两周内未服用质子泵抑制剂、抗生素、含铋制剂,共 94 例,其中男性 47 人,女性 47 人,年龄 21~70 岁,平均年龄 50.40 岁,疣状胃炎诊断标准采用悉尼系统和 2000 年全国慢性胃炎研讨会共识意见中疣状胃炎诊断标准^[1,2];疣状胃炎分型按日本学者 Kawai 分型分为未成熟型和

作者单位:313200 德清,浙江省皮肤病防治研究所/浙江省武康疗养院

成熟型^[3]。对照组选择同期因各种上腹部不适来笔者所在科室就诊经胃镜病理检查符合为慢性轻度非活动型浅表性胃炎且 Hp 感染阴性患者(近似正常胃黏膜状态);共 30 例,其中男性 14 人,女性 16 人,年龄 27~65 岁,平均年龄 45.67 岁。排除标准:年龄小于 18 岁和大于 70 岁;合并其他肝炎病毒感染;合并有心、脑、肾、造血系统等脏器功能严重损伤者及精神病患者;以及妊娠或哺乳期妇女。

2. 主要试剂:HIF-1 α 鼠单抗为美国 Santa Cruz 公司产品(批号 F1206),工作浓度 1:60;VEGF 抗体兔多抗为自武汉博士德生物技术有限公司产品(批号 200811),工作浓度 1:75。EnVision 免疫组化检测试剂盒美国 DAKO 公司产品(批号 GK500705)。

3. 方法:观察组患者在胃镜下最大疣状隆起处及距该隆起病变边缘 5cm 的平坦胃黏膜处各取胃黏膜组织 2 块;对照组 30 例患者在胃窦小弯处取胃黏膜组织 2 块。胃黏膜 HIF-1 α 、VEGF 表达采用免疫组织 EnVision 二步法检测。结果判定:HIF-1 α 阳性细胞表现为细胞核或细胞核与部分细胞质内呈现棕黄色颗粒;VEGF 阳性细胞表现为细胞质内呈棕黄色颗粒。根据着色程度及着色细胞阳性范围进行计算。阳性强度:不着色者为 0 分,着色淡者为 1 分,中等着色为 2 分;着色深者为 3 分。着色细胞的阳性范围:无着色为 0 分,着色阳性细胞小于 1/3 为 1 分,着色阳性细胞 1/3~1/2 为 2 分,着色阳性细胞 >1/2 为 3 分;将每张切片着色程度与着色细胞阳性范围得分各自相加为其最后计分。

4. 统计学方法:采用 SPSS 11.0 软件包统计,数据采用均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,根据数据性质分别采用两个独立样本的非参数检验和两相关样本的非参数检验,相关性分析采用 Spearman 检验。

结 果

1. HIF-1 α 、VEGF 在疣状胃炎患者胃黏膜的表达:疣状胃炎患者胃黏膜组织中 HIF-1 α 、VEGF 均有不同程度表达。疣状隆起部位 HIF-1 α 、VEGF 表达均较疣状旁 5cm 平坦处明显增高($P < 0.01$,表 1)。

表 1 胃黏膜疣状隆起部位及其旁 5CM 处 HIF-1 α 、VEGF 的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HIF-1 α	VEGF
疣状病变部位	94	2.19 $\pm$ 1.15 *	3.60 $\pm$ 1.16 *
疣状灶旁 5cm 部位	94	1.46 $\pm$ 1.11	3.09 $\pm$ 1.22

与疣状灶旁 5cm 部位比较, * $P < 0.01$

2. 不同分型疣状胃炎患者疣状隆起部位 HIF-1 α 、VEGF 的表达:非成熟型和成熟型疣状胃炎其疣状隆起部位胃黏膜 HIF-1 α 、VEGF 的表达均较对照组明显增高($P < 0.01$, $P < 0.05$);而非成熟型和成熟

型疣状胃炎两组间其胃黏膜 HIF-1 α 、VEGF 的表达差异无显著性($P > 0.05$)(表 2)。

表 2 不同分型疣状胃炎患者疣状隆起部位 HIF-1 α 、VEGF 的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HIF-1 α	VEGF
对照	30	0.83 $\pm$ 1.09	2.87 $\pm$ 0.92
非成熟型	46	2.03 $\pm$ 1.19 *	3.80 $\pm$ 1.15 *
成熟型	48	2.34 $\pm$ 1.11 *	3.41 $\pm$ 1.14 **

与对照组比较, * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$

3. 幽门螺杆菌(heicobacter pylori, Hp)感染患者胃黏膜疣状隆起部位 HIF-1 α 、VEGF 表达的变化:本组资料疣状胃炎患者中伴 Hp 感染者有 35 人,阳性率为 37.23%。疣状胃炎伴 Hp 感染阳性组胃黏膜疣状隆起部位 HIF-1 α 的表达与疣状胃炎 Hp 感染阴性组差异无显著性($P > 0.05$);疣状胃炎伴 Hp 感染阳性组 VEGF 的表达较疣状胃炎 Hp 感染阴性组增高,差异有非常显著性($P < 0.01$)(表 3)。

表 3 Hp 感染阳性和阴性患者疣状隆起部位 HIF-1 α 、VEGF 表达的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HIF-1 α	VEGF
Hp 阳性	35	2.31 $\pm$ 1.02	4.00 $\pm$ 1.28 *
Hp 阴性	59	2.12 $\pm$ 1.23	3.36 $\pm$ 1.01

与 Hp 阴性组比较, * $P < 0.01$

4. HIF- α 与 VEGF 表达的相关性分析:经过相关性分析表明:疣状胃炎患者胃黏膜疣状隆起部位组织 HIF- α 与 VEGF 的表达水平呈明显的正相关($r = 0.729$, $P < 0.01$)。

讨 论

HIF-1 是 1992 年由 Semenza 等^[4]发现的一种氧依赖转录激活因子,通过与低氧反应元件(HRE)结合,引发下游基因的转录。HIF-1 主要以异源二聚体的形式存在,由 α 亚基 β 亚基组成,HIF-1 α 是由低氧诱导的,而 HIF-1 β 是构件性表达,为非低氧诱导。缺氧时,HIF-1 α 表达上调,由此启动 60 余种下游基因的转录以使细胞逐渐适应有氧到缺氧的转变,这些基因包括血管内皮生长因子(VEGF)、诱导型一氧化氮合酶、环氧合酶(cyclooxygenase, COX)基因等,它们涉及血管发生、红细胞生成、能量代谢、细胞凋亡和增殖等多方面,在肿瘤的形成中至关重要。

已有研究表明 HIF-1 α 及其诱导的下游因子在

促进肿瘤的血管生成、影响肿瘤代谢和促进肿瘤转移密切相关^[5-7]。本研究结果显示:疣状胃炎患者疣状隆起部位胃黏膜 HIF-1 α 的表达较疣状旁 5cm 平坦处胃黏膜以及对照组胃黏膜均明显增高($P < 0.01$),我们推测,各种急慢性刺激导致局部胃黏膜上皮细胞缺氧,使 HIF-1 α 的表达上调,并诱导了其下游基因的相继表达,使得这局部胃黏膜上皮细胞反复损伤-修复-增生并形成隆起性改变,提示缺氧导致 HIF-1 α 的表达上调可能是疣状胃炎产生的始动因子或关键步骤,在疣状胃炎的发生、发展中可能具有重要作用。

VEGF 是目前发现的最重要的血管生长调节因子,它可促进细胞生长、增殖,同时促内皮细胞产生、调节纤维蛋白酶原的激活因子和抑制因子,增加血管通透性,血浆蛋白外渗,形成血管生成的临时基质,有利于血管生成^[8]。VEGF 基因也是低氧敏感型基因,低氧是调节其表达的主要因素。已有研究表明 VEGF 在肿瘤细胞中过度表达,肿瘤适应缺氧的重要途径之一是新生血管的形成,而肿瘤新生血管形成与实体瘤的发生、侵袭和转移密切相关,并影响大部分恶性肿瘤的预后,VEGF 是诱导肿瘤产生新生血管最主要的细胞因子,它通过内皮细胞的特异性受体刺激血管内皮细胞增殖和毛细血管形成,并增加微血管通透性,促使肿瘤浸润、转移,可以作为反映胃癌预后的一项独立指标^[9]。

本研究结果显示疣状病灶部位胃黏膜 VEGF 的表达较疣状旁 5cm 平坦处胃黏膜以及对照组胃黏膜明显增高($P < 0.01$, $P < 0.05$);经过相关性分析疣状病灶部位胃黏膜组织 VEGF 表达与 HIF-1 α 的表达呈明显的正相关($r = 0.729$, $P < 0.01$)。提示 VEGF 与疣状病灶的形成有关,推测缺氧导致 HIF-1 α 的表达上调,并诱导了下游因子 VEGF 的表达,VEGF 适度的表达将有助于病灶血管的重新生成、分布以及上皮的修复,而过度的表达将促使病灶组织分裂和增殖,形成隆起病灶,甚至可能会使病灶从有序走向无序。

有研究表明,Hp 感染可增加胃癌组织中 VEGF

和 COX-2 的表达。Caputo 等^[10]研究认为,VagA⁺ Hp 菌株可促进 MKN28 胃癌细胞 COX-2 过表达,上调 VEGF 的 mRNA 及其蛋白表达,COX-2 抑制剂可阻断 Hp 上调 VEGF;表明 Hp 感染上调 COX-2、VEGF 表达可促进胃癌新生血管生成,从而加速肿瘤细胞生长,并易侵入血管而发生转移。本研究结果显示疣状胃炎 Hp 感染阳性组 VEGF 的表达比 Hp 感染阴性组的表达明显增高($P < 0.01$);提示 Hp 感染可上调疣状胃炎病灶中 VEGF 的表达,这可能是加速疣状胃炎癌变的一个机制。

参考文献

- 1 胡品津. 悉尼系统:新的胃炎分类法[J]. 国外医学内科学分册, 1991;18(7):289-292
- 2 中华医学会消化病学分会. 全国慢性胃炎研讨会共识意见[J]. 中华消化杂志, 2000,2(3):199-201
- 3 Kawai K, Shimamoto K, Misaki F, *et al.* Erosion of gastric mucosa - pathogenesis, incidence and classification of the erosive gastritis[J]. Endoscopy, 1970,3:168-174
- 4 Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via De Novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation[J]. Mol Cell Biol, 1992,12(12):5447-5454
- 5 Hickey MM, Simon MC. Regulation of angiogenesis by hypoxia and hypoxia-inducible factors[J]. Curr Top Dev Biol, 2006,76:217-257
- 6 Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) [J]. Mol Pharmacol, 2006,70(5):1469-1480
- 7 Rankin EB, Giaccia AJ. The role of hypoxia-inducible factors in tumorigenesis[J]. Cell Death Differ, 2008,15(4):678-685
- 8 Cheung N, Wong MP, Yuen ST, *et al.* Tissue-specific expression pattern of vascular endothelial growth factor isoforms in the malignant transformation of lung and colon[J]. Hum pathol, 1998,29(9):910-919
- 9 Kakeji Y, Koga T, Sumiyoshi Y, *et al.* Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer[J]. Exp Clin Cancer Res, 2002,21(3):125-129
- 10 Caputo R, Tuccillo C, Manzo BA, *et al.* Helicobacter pylori VacA toxin up-regulates vascular endothelial growth factor expression in MKN 28 gastric cells through an epidermal growth factor receptor, cyclooxygenase-2-dependent mechanism[J]. Clin Cancer Res, 2003,9(6):2015-2021

(收稿:2010-11-25)

(修回:2010-12-06)