

肺腺癌患者外周血组蛋白去乙酰化酶 1 与血管内皮生长因子表达的变化及临床意义*

朱翠敏, 胡潺潺, 李爱科, 连相尧, 张立广, 林萍萍, 李青山[△]

(承德医学院附属医院肿瘤科, 河北承德 067000)

[摘要] **目的** 探讨肺腺癌患者组蛋白去乙酰化酶 1(HDAC1)与血管内皮生长因子(VEGF)表达的相关性。**方法** 以该院 2014 年 8 月至 2016 年 4 月收治的 80 例肺腺癌患者为研究对象(观察组),另以同期该院健康体检者 80 例为对照组,收集所有研究对象空腹静脉血标本,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 HDAC1、VEGF 表达水平,并比较两组血清 HDAC1、VEGF 表达水平差异;分析不同特征的肺腺癌患者 HDAC1、VEGF 表达水平和肺腺癌患者血清中 HDAC1 和 VEGF 浓度的关系,并分析肺腺癌患者 HDAC1 蛋白表达水平的可能影响因素。**结果** 对照组和观察组 HDAC1 水平分别为(329.56±23.83)、(568.20±35.40)ng/L,比较差异有统计学意义($t=23.576, P=0.000$)。对照组和观察组 VEGF 水平分别为(40.26±9.82)、(296.56±19.80)ng/L,差异有统计学意义($t=31.154, P=0.000$)。不同性别、年龄、临床分期和吸烟史的患者 HDAC1 蛋白水平差异均有统计学意义,男性,年龄大于 60 岁,临床分期Ⅲ、Ⅳ期和有吸烟史的患者 HDAC1 蛋白水平较高($P<0.05$)。Pearson 相关分析结果显示,肺腺癌患者血清中 HDAC1 和 VEGF 蛋白浓度呈正相关($r=0.526, P=0.000$)。Logistic 回归分析显示肺腺癌患者 HDAC1 蛋白表达水平的影响因素为临床分期。**结论** 肺腺癌患者 HDAC1 蛋白的高表达可能同时调节 VEGF 的表达,从而促进肺腺癌的发生、发展。

[关键词] 肺腺癌;组蛋白去乙酰化酶 1;血管内皮生长因子;相关性

[中图分类号] R153.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)17-2359-03

Changes and clinical significance of peripheral blood HDAC1 and VEGF expression in patients with lung adenocarcinoma*

Zhu Cuimin, Hu Chanchan, Li Aike, Lian Xiangyao, Zhang Liguang, Lin Pingping, Li Qingshan[△]

(Department of Oncology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, HeBei 067000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between histone deacetylase 1(HDAC1) and vascular endothelial growth factor(VEGF) in the patients with lung adenocarcinoma. **Methods** Eighty cases of lung adenocarcinoma in our hospital from August 2014 to April 2016 served as the research subjects, and contemporaneous 80 individuals undergoing healthy physical examination were taken as the control group. The fasting venous blood sample was collected in all subjects. Then serum HDAC1 and VEGF levels were detected by ELISA. The differences of serum HDAC1 and VEGF expression levels were compared between the two groups. The HDAC1 and VEGF expression levels in the patients with different characteristics of lung adenocarcinoma and the relation between serum HDAC1 and VEGF concentrations were analyzed. Furthermore the possible influence factors of HDAC1 protein expression level in the patients with lung adenocarcinoma were analyzed. **Results** The HDAC1 levels in the control group and observation group were(329.56±23.83)ng/L and(568.20±35.40)ng/L, the difference was statistically significant($t=23.576, P=0.000$). The VEGF levels in the control group and observation group were(40.26±9.82)ng/L and(296.56±19.80)ng/L respectively, the difference was statistically significant($t=31.154, P=0.000$). The HDAC1 protein level had statistical difference among different genders, ages, clinical stages and smoking history, the HDAC1 protein level in male, age >60 years old, clinical stage Ⅲ, Ⅳ and patients with smoking history were higher($P<0.05$). The Pearson correlation analysis results showed that serum HDAC1 in the patients with lung adenocarcinoma was positively correlated with VEGF protein concentration($r=0.526, P=0.000$). The Logistic regression analysis showed that influence factor of HDAC1 protein expression level in the patients with lung adenocarcinoma was clinical stage. **Conclusion** The high expression of HDAC1 protein in lung adenocarcinoma patients may also simultaneously regulate the VEGF expression, thus promotes the development of lung adenocarcinoma.

[Key words] lung adenocarcinoma; histone deacetylase 1; vascular endothelial growth factor; Correlation

组蛋白去乙酰化酶 1(HDAC1)是具有可通过组蛋白转录后修饰调节基因转录或调节其他转录因子的酶。HDAC1 可结合于特定的启动子区从而抑制基因转录,肿瘤细胞可因此而

存活^[1]。HDAC1 在肿瘤细胞中的高表达可显著增加肿瘤细胞的增殖,且可影响细胞外基质促进肿瘤细胞移行与侵袭力的加强^[2]。而血管内皮生长因子(VEGF)是重要的正性血管生成

* 基金项目:河北省卫生计生厅医学科学研究重点课题(20120613);河北省承德市科学技术研究与发展计划项目(201422027);承德医学院附属医院科研青年基金项目(201403)。 作者简介:朱翠敏(1981—),硕士,主治医师,主要从事肺癌的基础与临床方面研究。 △ 通信作者, E-mail:libing200865@126.com。

表 1 不同特征的肺腺癌患者 HDAC1、VEGF 水平比较($\bar{x}\pm s$)

指标	<i>n</i>	HDAC1(ng/L)	<i>t</i>	<i>P</i>	VEGF(ng/L)	<i>t</i>	<i>P</i>
性别							
男	46	580.40±38.13	2.270	0.031	300.23±21.34	1.893	0.117
女	34	551.69±33.50			291.59±18.75		
年龄(岁)							
≤60	48	552.09±31.20	3.426	0.018	297.26±20.60	0.393	0.699
>60	32	592.36±37.42			295.51±19.84		
临床分期							
I、II期	31	539.13±31.01	7.014	0.000	289.27±17.64	2.013	0.067
III、IV期	49	614.15±40.19			301.80±23.52		
吸烟史							
有	52	590.23±36.45	3.442	0.002	298.48±19.89	0.429	0.673
无	28	527.28±32.18			292.99±19.02		

调节因子之一,可促进细胞分裂、增殖和迁移,VEGF 在肿瘤细胞的发生、发展和侵袭过程中发挥着重要的作用^[3]。本文对肺腺癌患者 HDAC1 与 VEGF 表达的相关性进行研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2014 年 8 月至 2016 年 4 月本院收治的 80 例肺腺癌患者为研究对象(观察组),所有患者均经影像学及病理学活检确诊,另以同期本院健康体检者 80 例为对照组。观察组中男 46 例,女 34 例,平均年龄(57.60±8.90)岁;对照组中男 45 例,女 35 例,平均年龄(56.90±8.92)岁。两组性别和年龄比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。观察组依据临床 TNM 分期(肺癌国际分期 2009 修订版^[4]):I 期 15 例,II 期 16 例,III 期 27 例,IV 期 22 例。有吸烟史者 52 例,不吸烟者 28 例。本研究经医院伦理委员会批准,所有受试者均签署知情同意书。

1.2 方法 所有研究对象均于清晨空腹抽取静脉血约 5 mL,离心于-80℃冰箱冻存待检。血清 HDAC1、VEGF 均采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,严格按试剂盒说明书操作(试剂盒购自美国贝克曼公司),用酶标仪测定吸光度值,依据标准曲线计算 HDAC1、VEGF 水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计处理,计量以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较如符合正态分布采用 *t* 或 *F* 检验,如不符合正态分布或方差不齐采用非参数检验,取双侧检验。相关性分析采用 Pearson 分析。影响因素采用 Logistic 回归分析。计数资料采取 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组和观察组 HDAC1、VEGF 水平比较 对照组和观察组 HDAC1 水平分别为(329.56±23.83)、(568.20±35.40)ng/L,比较差异有统计学意义($t=23.576, P=0.000$)。对照组和观察组 VEGF 水平分别为(40.26±9.82)、(296.56±19.80)ng/L,比较差异有统计学意义($t=31.154, P=0.000$)。

2.2 不同特征的肺腺癌患者 HDAC1、VEGF 水平比较 不同性别、年龄、临床分期和吸烟史的患者 HDAC1 蛋白水平差异均有统计学意义($P<0.05$)。男性,年龄大于 60 岁,临床分期 III、IV 期和有吸烟史的患者 HDAC1 蛋白水平较高($P<$

0.05)。不同性别、年龄、临床分期和吸烟史的患者 VEGF 水平差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.3 Pearson 相关分析 Pearson 相关分析结果显示,肺腺癌患者血清中 HDAC1 和 VEGF 水平呈正相关($r=0.526, P=0.000$)。血清 HDAC1 与肺腺癌临床分期呈正相关($r=0.401, P=0.003$),与性别、年龄和吸烟史均无相关性($r=0.196, 0.364, 0.527, P>0.05$)。

2.4 Logistic 回归分析结果 以 HDAC1 水平为因变量,性别、年龄、临床分期和吸烟史为自变量,Logistic 回归分析显示肺腺癌患者 HDAC1 水平的影响因素为临床分期,见表 2。

表 2 影响肺腺癌患者 HDAC1 蛋白水平的 Logistic 回归分析

项目	<i>B</i>	<i>SE</i>	β	<i>P</i>	95%CI
性别	0.009	0.014	0.297	0.333	0.991~1.026
年龄	0.003	0.005	-0.166	0.961	0.799~1.009
临床分期	2.112	0.836	-1.332	0.000	1.018~5.467
吸烟史	0.004	0.146	-0.248	0.169	0.990~1.003

3 讨论

研究表明,染色体上组蛋白乙酰化/去乙酰化过程参与基因转录的调节,和肿瘤的发生、发展相关^[5]。HDAC1 是于 1996 年发现的第 1 个和哺乳动物相关的组蛋白去乙酰化酶,其蛋白质包含 482 氨基酸。HDAC1 能介导和位点特异性 DNA 结合的转录抑制子有关的转录抑制功能^[6]。HDAC1 除可抑制基因转录外,还在细胞周期进展中亦发挥着重要作用^[6-7]。

研究表明,酒精酵母中组蛋白若不能乙酰化,则使酵母细胞生长减慢,如去乙酰化过程失败,则使细胞 G₂/M 期延长,提示组蛋白乙酰化/去乙酰化过程对于细胞周期的重要性^[8]。研究认为,组蛋白去乙酰化后,可使某些细胞周期相关的特异性调节蛋白(如周期蛋白依赖性激酶抑制剂)的转录上调^[7,9]。HDAC1 可在多种肺癌细胞系中表达,其抑制剂可抑制肺癌细胞生长,使肿瘤细胞周期停滞在 G₂/M 与 G₁ 期。HDAC1 抑制剂不仅调控周期蛋白依赖性激酶和其抑制剂的表达,还可干

扰肺癌细胞相关信号传导,如下调信号相关蛋白 ErbB2 的水平,降低胞外信号调节激酶 1 的活性,下调端粒酶催化亚基使 RNA 表达,降低端粒酶活性等^[8,10]。

研究发现,HDAC1 在非小细胞肺癌临床分期 I、II 期的高表达率较高^[9,11];肺癌患者 I、II 期血清中平均 HDAC1 蛋白水平亦高于 III、IV 期^[10,12],而文献^[11,13]研究表明,肺癌患者 III、IV 期 HDAC1 蛋白表达水平高于 I、II 期。本研究亦发现,肺腺癌患者 III、IV 期 HDAC1 蛋白表达水平高于 I、II 期,且血清 HDAC1 与肺腺癌临床分期呈正相关,考虑 HDAC1 蛋白的表达与肺癌的进展有关,但 HDAC1 蛋白在肺癌中不同分期的表达水平可能还需多中心大样本的研究以进一步证实。文献^[12-14]研究表明,非小细胞肺癌患者血清 HDAC1 蛋白水平与患者性别、年龄、吸烟史和临床分期有显著相关性。本研究亦发现,不同性别、年龄、临床分期和吸烟史的患者 HDAC1 蛋白水平差异均有统计学意义($P < 0.05$),男性,年龄大于 60 岁,临床分期 III、IV 期和有吸烟史的患者 HDAC1 蛋白水平较高,而进一步行 Logistic 回归分析显示,临床分期是肺腺癌患者血清 HDAC1 蛋白表达水平的影响因素,但血清 HDAC1 与性别、年龄和吸烟史均无相关性,提示肺腺癌临床分期与 HDAC1 蛋白水平密切相关,性别、年龄和吸烟等因素对 HDAC1 蛋白水平的影响还需进一步研究。

VEGF 促进肿瘤生长主要通过促进血管新生来实现。VEGF 可影响肿瘤血管内皮细胞的增殖与迁移。研究表明,VEGF 在肺癌组织和血清中的表达明显高于肺炎性瘤样病变者,且 VEGF 表达量和许多疾病发病相关因素有关,如 VEGF 在肺癌早期诊断、判断预后与临床治疗中有重要的意义^[13,15]。本研究中,肺腺癌患者血清 VEGF 水平显著高于对照组,而不同性别、年龄、临床分期和吸烟史的患者 VEGF 水平差异均无统计学意义($P > 0.05$),考虑 VEGF 的表达水平与肺癌患者性别、年龄、吸烟史和临床分期均无明显相关性。

研究表明,HDAC 抑制剂可通过调节 VEGF 和其受体的表达抑制白血病患者的血管新生,从而抑制白血病的进展^[14,16]。同样,HDAC 抑制剂可下调肺癌 A549 细胞 VEGF 的表达^[15,17]。本研究中,肺腺癌患者血清中 HDAC1 和 VEGF 水平呈正相关,考虑肺腺癌患者 HDAC1 的高表达可能同时调节 VEGF 的表达,从而促进肺腺癌的发生、发展。

综上所述,肺腺癌患者 HDAC1 表达可能调节 VEGF 的表达,在肺腺癌的发生、发展中发挥着重要作用,而影响肺腺癌患者 HDAC1 表达的因素还需多中心大样本的数据以进一步研究证实。

参考文献

[1] Kachhadia V, Rajagopal S, Ponpandian T, et al. Orally available stilbene derivatives as potent HDAC inhibitors with antiproliferative activities and antitumor effects in human tumor xenografts[J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 108(1):274-286.

[2] Jiang Y, Wang L. Role of histone deacetylase 3 in ankylosing spondylitis via negative feedback loop with microRNA-130a and enhancement of tumor necrosis factor-1 α expression in peripheral blood mononuclear cells[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(1):35-40.

[3] Whynott RM, Manahan P, Geisler JP. Vascular endothelial growth factor(VEGF) and cyclooxygenase 2(COX 2) immunostaining in ovarian cancer[J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2016, 37(2):164-166.

[4] Goldstraw P. The 7th edition of TNM in lung cancer: what now? [J]. *J Thorac Oncol*, 2009, 4(6):671-673.

[5] Berghauer Pont LM, Kleijn A, Kloezeman JJ, et al. The HDAC inhibitors scriptaid and LBH589 combined with the oncolytic virus delta24-RGD exert enhanced anti-tumor efficacy in patient-derived glioblastoma cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5):e0127058.

[6] Li X, Xu W. HDAC1/3 dual selective inhibitors-new therapeutic agents for the potential treatment of cancer[J]. *Drug Discov Ther*, 2014, 8(5):225-228.

[7] Wei TT, Lin YC, Lin PH, et al. Induction of c-Cbl contributes to anti-cancer effects of HDAC inhibitor in lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(14):12481-12492.

[8] Cai RL, Yan-Neale Y, Cueto MA, et al. HDAC1, a histone deacetylase, forms a complex with Hus1 and Rad9, two G₂/M checkpoint Rad proteins[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(36):27909-27916.

[9] Daniel KB, Sullivan ED, Chen Y, et al. Dual-mode HDAC prodrug for covalent modification and subsequent inhibitor release[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(11):4812-4821.

[10] Zhu L, Wu K, Ma S, et al. HDAC inhibitors: a new radiosensitizer for non-small-cell lung cancer [J]. *Tumori*, 2015, 101(3):257-262.

[11] 朱晓霞, 杨磊, 王昊飞, 等. HDAC1 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2010, 26(15):2720-2722.

[12] 肖海励, 王静, 魏海霞. 血清 DNMT1, DNMT3a, DNMT3b 和 HDAC1 蛋白在肺癌患者中的表达及意义[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(10):5825-5829.

[13] Sasaki H, Moriyama S, Nakashima Y, et al. Histone deacetylase 1 mRNA expression in lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2004, 46(2):171-178.

[14] 冯悦静, 王静, 吴拥军, 等. 非小细胞肺癌患者血清中 HDAC1 和 DNMT1 蛋白的表达及意义[J]. *中华医学杂志*, 2014, 94(8):596-598.

[15] Chen Y, Hong X. Effects of carvedilol reduce conjunctivitis through changes in inflammation, NGF and VEGF levels in a rat model[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(5):1987-1992.

[16] 朱翠敏, 张志华, 姜风云, 等. 组蛋白脱乙酰化酶抑制剂对 Kasumi-1 细胞血管新生相关因子表达的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2010, 31(7):466-469.

[17] Wang L, Chen G, Chen K, et al. Dual targeting of retinoid X receptor and histone deacetylase with DW22 as a novel antitumor approach[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(12):9740-9755.