

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.11.007

胃炎及胃癌患者血清 HIF-1 α 和 ROS 表达水平与 Hp 感染的关系及临床意义*

李文茜¹, 王学红^{2 Δ} , 朱思雨¹, 刘 曙¹

1. 青海大学研究生院, 青海西宁 810016; 2. 青海大学附属医院消化内科, 青海西宁 810000

摘 要:目的 分析胃炎和胃癌患者幽门螺杆菌(Hp)感染与血清缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)和活性氧(ROS)表达水平的关系,探讨 Hp 感染是否通过影响 HIF-1 α 和 ROS 的表达促进胃癌的发生、发展。**方法** 选择 2021 年 12 月至 2022 年 8 月青海大学附属医院内镜中心经胃镜检查及胃黏膜活检确诊的慢性萎缩性胃炎患者 54 例(慢性萎缩性胃炎组)、慢性非萎缩性胃炎患者 30 例(慢性非萎缩性胃炎组)、胃癌患者 35 例(胃癌组)作为研究对象。采用酶联免疫吸附试验测定血清 HIF-1 α 和 ROS 表达水平,用¹³C-尿素呼气试验测定 Hp 感染情况,并分析胃炎和胃癌患者 Hp 感染情况与 HIF-1 α 和 ROS 表达水平的关系。**结果** 慢性萎缩性胃炎组、胃癌组患者血清 HIF-1 α 、ROS 表达水平均高于慢性非萎缩性胃炎组,且胃癌组患者血清 HIF-1 α 、ROS 表达水平均高于慢性萎缩性胃炎组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。慢性萎缩性胃炎组、胃癌组 Hp 阳性患者 HIF-1 α 、ROS 表达水平均高于 Hp 阴性患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。慢性萎缩性胃炎和胃癌患者血清 ROS 表达水平与 HIF-1 α 表达水平呈正相关($r=0.713, P<0.001$)。**结论** Hp 感染通过影响 HIF-1 α 和 ROS 表达水平促进胃癌的发生、发展, HIF-1 α 与 ROS 存在明显的相关性。

关键词: 胃癌; 幽门螺杆菌; 缺氧诱导因子-1 α ; 活性氧

中图分类号: R573

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2023)11-1532-04

Relationship between the expression levels of serum HIF-1 α and ROS and Hp infection in patients with gastritis and gastric cancer and their clinical significance*
LI Wenqian¹, WANG Xuehong^{2 Δ} , ZHU Siyu¹, LIU Shu¹

1. Graduate School of Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China; 2. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining, Qinghai 810000, China

Abstract: Objective To analyze the correlation between Helicobacter pylori (Hp) infection and the expression levels of serum hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and reactive oxygen species (ROS) in patients with gastritis and gastric cancer, and to explore whether Hp infection promotes the occurrence and development of gastric cancer by affecting the expression of HIF-1 α and ROS. **Methods** A total of 54 patients with chronic atrophic gastritis (chronic atrophic gastritis group), 30 patients with chronic non-atrophic gastritis (chronic non-atrophic gastritis group), and 35 patients with gastric cancer (gastric cancer group) diagnosed by gastroscopy and gastric mucosal biopsy in Endoscopy Center of Affiliated Hospital of Qinghai University from December 2021 to August 2022 were selected as the research objects. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the expression levels of serum HIF-1 α and ROS, ¹³C breath test was used to detect the Hp infection. The relationship between Hp infection and the expression levels of serum HIF-1 α and ROS in patients with gastritis and gastric cancer was analyzed. **Results** The expression levels of serum HIF-1 α and ROS in the chronic atrophic gastritis group and gastric cancer group were higher than those in the chronic non-atrophic gastritis group, and the expression levels of serum HIF-1 α and ROS in the gastritis cancer group were higher than those in the chronic atrophic gastritis group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of serum HIF-1 α and ROS in Hp positive patients with chronic atrophic gastritis and gastric cancer were higher than those in Hp negative patients, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The chronic atrophic gastritis and gastric cancer patients HIF-1 α serum expression levels were positively correlated with ROS serum expression levels ($r=0.713, P<0.001$). **Conclusion** Hp infection can promote the occurrence and development of gastric cancer by affecting the expression levels of serum HIF-

* 基金项目: 青海省消化系统疾病临床医学研究中心项目(2019-SF-L3); 青海大学附属医院重点专科项目(2019-233, 2019-195)。
作者简介: 李文茜, 女, 在读硕士研究生, 主要从事胃癌方面的研究。 Δ 通信作者, E-mail: Lindawang0710@hotmail.com。

1α and ROS, and there is a significant correlation between HIF-1α and ROS.

Key words: gastric cancer; Helicobacter pylori; hypoxia-inducible factor-1α; reactive oxygen species

胃癌是一种起源于胃黏膜上皮细胞的恶性肿瘤，其恶性程度高，异质性强，患者预后较差^[1]，发病率和病死率在恶性肿瘤中均位于前列^[2]。由于肿瘤的快速和不受控制的增殖限制了氧气的供应，血液供应不足或缺氧是几乎所有实体瘤的典型微环境特征^[3]。有研究证明了缺氧在癌症治疗中的意义^[4]。缺氧改变了肿瘤内的氧含量梯度，使肿瘤的可塑性和异质性增强，并使其更具侵袭性和转移性^[5]，在缺氧过程中，缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)表达增加是一个关键的步骤，HIF-1α在因缺氧而触发的细胞机制中发挥着核心作用，是目前发现的唯一在缺氧状态下可以发挥活性的核转录因子，是专一调节氧稳态的关键性介质^[6]。幽门螺杆菌(Hp)是一种革兰阴性微需氧细菌，其感染会引起一系列胃黏膜改变，从浅表性胃炎开始，可发展为慢性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、不典型增生，最后发展为胃癌^[7]，Hp也被世界卫生组织列为胃癌的最高警示级别的Ⅰ类致癌物。

机体内由氧组成、含氧并且性质活泼的物质被统称为活性氧(ROS)，而缺氧伴随着 ROS 的产生增加^[8]。有研究表明，Hp 感染可促进胃上皮细胞内 ROS 产生，通过 Hp 本身或还原性辅酶Ⅱ(NADPH)产生过多的 ROS^[9]，并上调人胃上皮 AGS 和 GES-1 细胞 HIF-1α 的表达^[10]，尤其是胃上皮的 Hp 感染和 ROS 介导的 HIF-1α 稳定被认为可诱导增殖、抑制细胞死亡并最终有利于胃上皮的癌变。本研究探讨了胃炎及胃癌患者血清 HIF-1α 和 ROS 表达水平的相关性，以及二者与 Hp 感染的相互作用，以期对胃癌的进一步研究提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2021 年 12 月至 2022 年 8 月青海大学附属医院内镜中心经胃镜检查及胃黏膜活检确诊的慢性胃炎及胃癌患者 119 例作为研究对象，其中男 70 例，女 49 例；年龄≥60 岁 38 例，<60 岁 81 例；慢性萎缩性胃炎 54 例(慢性萎缩性胃炎组)，慢性非萎缩性胃炎 30 例(慢性非萎缩性胃炎组)，胃癌 35 例(胃癌组)。纳入标准：(1)年龄 18~80 岁，男女不

限；(2)胃镜及病理活检确诊为慢性胃炎和早期胃癌；(3)检查前未经任何根除 Hp 治疗及口服非甾体类抗炎药物等治疗。排除标准：(1)患有肝、胆、胰、脾、肺，以及心、脑血管等疾病，中、重度贫血，重度营养不良等；(2)非首次根除 Hp；(3)长期居住在海拔高于 3 500 m 或低于 1 700 m 者；(4)临床资料不完整。所有患者均知情同意并签署知情同意书。本研究经青海大学附属医院伦理委员会审批。

1.2 仪器与试剂 冻存管、离心管、HIF-1α 和 ROS 的酶联免疫吸附试验试剂盒均购自青海赛斯克生物科技有限公司，台式高速冷冻型微量离心机购自 Dragonlab 公司，超净工作台购自苏净安泰公司，标准试剂型纯水仪购自青岛富勒姆科技有限公司。

1.3 方法 (1)3 组患者均通过¹³C-尿素呼气试验检测 Hp，按照检测后的结果再各自分为 Hp 阳性组和 Hp 阴性组，¹³C-尿素呼气试验参考值为 0~4 dpm，>4 dpm 即为阳性。(2)血清 HIF-1α 和 ROS 蛋白水平检测。采集各组患者晨起空腹状态下肘静脉血 5 mL 于促凝管中，3 000 r/min 离心 10 min，离心半径 16 cm，留取 1 mL 上清液置于-80 ℃冰箱中保存。采用酶联免疫吸附试验检测血清 HIF-1α 和 ROS 蛋白水平，具体操作参照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件进行数据分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，非正态分布计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示，配对样本采用 Wilcoxon 符号秩和检验，两独立样本采用 Mann-Whitney U 检验，多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验；相关性分析采用 Spearman 秩相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者血清 HIF-1α、ROS 表达水平比较 慢性萎缩性胃炎组、胃癌组患者血清 HIF-1α、ROS 表达水平均高于慢性非萎缩性胃炎组，且胃癌组患者血清 HIF-1α、ROS 表达水平均高于慢性萎缩性胃炎组，差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组患者血清 HIF-1α、ROS 表达水平比较[M(P ₂₅ , P ₇₅), μmol/L]			
组别	n	HIF-1α	ROS
慢性萎缩性胃炎组	54	231.46(202.80, 243.25) ^a	3 079.77(2 749.30, 3 373.53) ^a
慢性非萎缩性胃炎组	30	180.46(155.19, 212.30) ^{ab}	2 599.08(1 881.08, 2 944.25) ^{ab}
胃癌组	35	248.05(217.31, 563.92)	3 361.51(3 102.47, 6 931.97)
H		34.986	36.624
P		0.001	0.001

注：与胃癌组比较，^a $P < 0.05$ ；与慢性萎缩性胃炎组比较，^b $P < 0.05$ 。

2.2 不同临床特征胃炎及胃癌患者血清 HIF-1 α 表达水平比较 不同性别、年龄患者血清 HIF-1 α 表达水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);慢性萎缩性胃炎、胃癌 Hp 阳性及阴性患者 HIF-1 α 表达水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);慢性非萎缩性胃炎 Hp 阳性及阴性患者 HIF-1 α 表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 不同临床特征胃炎及胃癌患者血清 HIF-1 α 表达水平比较[$M(P_{25},P_{75}),\mu\text{mol/L}$]

项目	<i>n</i>	HIF-1 α	<i>Z/t</i>	<i>P</i>
性别			3.311	0.069
男	70	233.56(199.49,253.54)		
女	49	217.68(173.03,241.97)		
年龄(岁)			1.787	0.181
<60	81	227.12(185.41,246.11)		
≥ 60	38	231.93(203.15,257.04)		
慢性萎缩性胃炎			2.722	0.009
Hp 阳性	26	234.50(220.71,263.23)		
Hp 阴性	28	220.71(191.62,237.77)		
慢性非萎缩性胃炎			-1.240	0.223
Hp 阳性	25	175.02(136.84,213.47)		
Hp 阴性	5	192.07(174.22,239.45)		
胃癌			-4.217	<0.001
Hp 阳性	20	314.57(245.12,606.67)		
Hp 阴性	15	211.70(211.70,241.97)		

2.3 不同临床特征胃炎及胃癌患者血清 ROS 表达水平比较 不同性别、年龄患者血清 ROS 表达水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);慢性萎缩性胃炎、胃癌 Hp 阳性及阴性患者 ROS 表达水平,差异均有统计学意义($P<0.05$);慢性非萎缩性胃炎 Hp 阳性及阴性患者 ROS 表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 不同临床特征胃炎及胃癌患者血清 ROS 表达水平比较[$M(P_{25},P_{75}),\mu\text{mol/L}$]

项目	<i>n</i>	ROS	<i>Z/t</i>	<i>P</i>
性别			1.918	0.166
男	70	3 115.82(2 774.00,3 473.67)		
女	49	2 984.97(2 563.03,3 316.11)		
年龄(岁)			1.616	0.204
<60	81	3 094.46(2 588.40,3 392.22)		
≥ 60	38	3 078.44(2 924.88,3 441.63)		
慢性萎缩性胃炎			3.430	<0.001
Hp 阳性	26	3 244.01(3 030.36,3 431.28)		
Hp 阴性	28	2 888.83(2 508.28,3 157.22)		

续表 3 不同临床特征胃炎及胃癌患者血清 ROS 表达水平比较[$M(P_{25},P_{75}),\mu\text{mol/L}$]

项目	<i>n</i>	ROS	<i>Z/t</i>	<i>P</i>
慢性非萎缩性胃炎			-1.113	0.275
Hp 阳性	25	2 587.07(1 816.01,2 918.21)		
Hp 阴性	5	2 883.49(2 524.31,2 983.64)		
胃癌			-3.817	<0.001
Hp 阳性	20	5 241.54(3 261.37,7 544.85)		
Hp 阴性	15	3 102.47(2 896.85,3 252.02)		

2.4 慢性萎缩性胃炎及胃癌患者血清 ROS 表达水平与 HIF-1 α 表达水平的相关性 慢性萎缩性胃炎及胃癌患者血清 ROS 表达水平与 HIF-1 α 表达水平呈正相关($r=0.713,P<0.001$)。

3 讨论

胃癌虽是由多因素引起的,但 Hp 感染为主要因素,使其成为靶向疗法的靶点,有研究证实了 Hp 治疗对蒙古沙鼠胃癌的预防作用,根除 Hp 的沙鼠再患残胃癌的概率大大下降^[11]。卢光荣等^[12]最新研究结果表明,轻、中度胃黏膜肠上皮化生患者根除 Hp 后肠上皮化生程度较未根除 Hp 患者减轻;有研究表明,接受过 Hp 根除的早期胃癌患者异时性胃癌发生率较低,证明如果发现 Hp 感染应及时进行根除^[13]。在胃癌这种缺氧环境下 HIF-1 α 的表达水平增加会调节下游转录因子以及可以作为激活剂促进微小 RNA-421 在胃癌细胞中高表达,从而抑制细胞凋亡模式的开启,促进肿瘤发生、发展^[14]。高国安等^[15]发现,HIF-1 α 蛋白在胃癌组织的阳性率高于癌旁组织,且 HIF-1 α 的表达水平与患者临床病理特征相关,高表达 HIF-1 α 的胃癌患者预后不良。有研究表明,ROS 介导的脯氨酸羟化酶结构域抑制和常氧条件下 HIF-1 α 的稳定,尤其是线粒体复合物Ⅲ产生的 ROS 负责在缺氧期间稳定 HIF-1 α ^[16]。ROS 和 HIF-1 α 之间的信号传导长期以来被认为与许多疾病的病理学过程有关,包括癌症、炎症性疾病和缺血性损伤。

本研究结果显示,随着胃黏膜病变严重程度的加剧,血清 HIF-1 α 、ROS 表达水平不断升高,提示血清 HIF-1 α 、ROS 表达水平与胃黏膜病变严重程度有关。有研究表明,胃癌患者的临床分期不同,HIF-1 α 、ROS 的表达水平有所不同^[17]。而血清 HIF-1 α 、ROS 在 Hp 阳性的慢性萎缩性胃炎和胃癌患者中的表达水平比 Hp 阴性的患者中的表达水平高,大多数人感染 Hp 后均没有明显的临床表现,但细胞均显示慢性炎症反应,通常由于免疫细胞在炎症反应部位浸润过程中对氧气的需求增加,导致发生炎症反应的组织出现局部缺氧^[18],提示 Hp 感染可能通过多种机制过度产生 HIF-1 α 和 ROS。而 LI 等^[19]研究也表明,胃上皮

的 Hp 感染与 ROS 介导的 HIF-1 α 稳定被认为可诱导增殖、抑制细胞死亡并最终有利于其癌变。此外,本研究相关性分析表明,慢性萎缩性胃炎及胃癌患者 HIF-1 α 表达水平与 ROS 表达水平具有明显相关性,与最近相关研究提出的 ROS 通过诱导磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B 和细胞外信号调节激酶磷酸化在缺氧条件下增加 HIF-1 α 的转录相符^[20]。

综上所述,本研究从 Hp 感染与 HIF-1 α 及 ROS 相互影响的角度探讨了胃癌发展的分子机制,其中慢性非萎缩性胃炎组患者 Hp 感染与 HIF-1 α 、ROS 表达水平均无关,其主要局限性在于研究样本量较少。而且本研究胃癌患者均为经胃镜及病理检查诊断为早期胃癌的患者,缺少了与临床较为常见的进展期胃癌患者的 HIF-1 α 和 ROS 对比;其次,患者均长期居住在青藏高原,代表性不强,仍需多地区、大样本的研究进一步证明根除 Hp 的必要性。

参考文献

[1] XIE Y, LIU L. Analysis of correlation between Hp infection and activation of PI3K/Akt pathway in mucosal tissues of gastric cancer and precancerous lesions[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5):5615-5620.

[2] HAYASHI Y, YOKOTA A, HARADA H, et al. Hypoxia/pseudohypoxia-mediated activation of hypoxia-inducible factor-1alpha in cancer[J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(5):1510-1517.

[3] SHAO C, YANG F, MIAO S, et al. Role of hypoxia-induced exosomes in tumor biology[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):120.

[4] SEBESTYÉN A, KOPPER L, DANKÓT, et al. Hypoxia signaling in cancer: from basics to clinical practice[J]. *Pathol Oncol Res*, 2021, 27:1609802.

[5] 余平, 刘晓旺, 钟丽菲, 等. 低氧微环境相关因子 HIF-1 α 与癌症的研究[J]. *湖南生态科学学报*, 2015, 2(2):52-56.

[6] HAN J, HE Y, ZHAO H, et al. Hypoxia inducible factor-1 promotes liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease by activating PTEN/p65 signaling pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9):14735-14744.

[7] CORREA P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process—first American cancer society award lecture on cancer epidemiology and prevention[J]. *Cancer Res*, 1992, 52(24):6735-6740.

[8] LI H S, ZHOU Y N, LI L, et al. HIF-1 α protects against

oxidative stress by directly targeting mitochondria[J]. *Redox Biol*, 2019, 25:101109.

[9] HANDA O, NAITO Y, YOSHIKAWA T. *Helicobacter pylori*: a ROS-inducing bacterial species in the stomach[J]. *Inflamm Res*, 2010, 59(12):997-1003.

[10] ZHANG T, ZHU X, WU H, et al. Targeting the ROS/PI3K/AKT/HIF-1alpha/HK2 axis of breast cancer cells: combined administration of Polydatin and 2-Deoxy-d-glucose[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(5):3711-3723.

[11] SHIMIZU N, IKEHARA Y, INADA K, et al. Eradication diminishes enhancing effects of *Helicobacter pylori* infection on glandular stomach carcinogenesis in Mongolian gerbils[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(6):1512-1514.

[12] 卢光荣, 何柏琪, 林颖, 等. 根除幽门螺旋杆菌感染对不同程度胃黏膜肠上皮化生患者病理学改变的前瞻性研究[J]. *中华全科医学*, 2019, 17(4):571-573.

[13] CHOI I J, KOOK M C, KIM Y I, et al. *Helicobacter pylori* therapy for the prevention of metachronous gastric cancer[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(12):1085-1095.

[14] 金烨, 颜海豪, 代璐, 等. 缺氧诱导因子-1 在胃癌中的研究进展[J]. *中国临床研究*, 2021, 34(3):405-408.

[15] 高国安, 高超. 胃癌组织中 LGR5、HIF-1 α 的表达与临床意义[J]. *肿瘤药*, 2020, 10(4):456-460.

[16] DONG S, LIANG S, CHENG Z, et al. ROS/PI3K/Akt and Wnt/ β -catenin signalings activate HIF-1 α -induced metabolic reprogramming to impart 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1):15.

[17] 阮炼杰. ARID1A 和 HIF-1A 在胃癌中的表达及其相关性研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2019.

[18] 张艳杰, 李彦冬. 胃癌中幽门螺旋杆菌感染与 HIF-1 α 表达情况对比研究[J]. *中国地方病防治杂志*, 2017, 32(11):1239-1240.

[19] LI X, LIU S, LUO J, et al. *Helicobacter pylori* induces IL-1beta and IL-18 production in human monocytic cell line through activation of NLRP3 inflammasome via ROS signaling pathway[J]. *Pathog Dis*, 2015, 73(4):120-127.

[20] SU X, YANG Y, GUO C, et al. NOX4-Derived ROS Mediates TGF-beta1-induced metabolic reprogramming during epithelial-Mesenchymal transition through the PI3K/AKT/HIF-1alpha pathway in glioblastoma[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:5549047.