

· 论 著 ·

HSP60 和 NRF2 在透明细胞性肾细胞癌中的表达及临床价值*

鲍晨¹, 董学敏¹, 杨静茹¹, 胡倩倩¹, 柳俊^{1△}, 米琳², 王勇³

1. 安康市中心医院病理科, 陕西安康 725000; 2. 安康市中心医院肾内科, 陕西安康 725000;

3. 陕西省人民医院肾内科, 陕西西安 710068

摘要:目的 研究透明细胞性肾细胞癌(ccRCC)中热休克蛋白 60(HSP60)及核因子 E2 相关因子 2(NRF2)的表达及临床意义。方法 选取 2017 年 3 月至 2019 年 3 月在安康市中心医院诊治的 89 例 ccRCC 患者为研究对象,应用荧光定量聚合酶链反应(qPCR)及免疫组织化学检测癌组织及癌旁组织中 HSP60、NRF2 的表达。统计分析 ccRCC 中 HSP60、NRF2 的表达与临床病理特征关系。采用 Spearman 秩相关分析 HSP60 与 NRF2 mRNA 表达的相关性, Kaplan-Meier 生存分析(Log-Rank 检验)ccRCC 中 HSP60、NRF2 的表达与患者生存预后的关系,单因素和多因素 COX 比例风险模型分析影响 ccRCC 患者生存预后的危险因素。结果 ccRCC 癌组织 HSP60 的相对表达量(0.483 ± 0.112)明显低于癌旁组织(1.227 ± 0.265),差异有统计学意义($t=24.397, P<0.001$),而 NRF2 mRNA 的相对表达量(1.725 ± 0.285)明显高于癌旁组织(0.551 ± 0.101),差异有统计学意义($t=36.629, P<0.001$)。ccRCC 癌组织中 HSP60 与 NRF2 的表达呈明显负相关($r=-0.520, P<0.001$)。ccRCC 癌组织中 HSP60、NRF2 的表达与肿瘤分期、远处转移及淋巴结转移有关($\chi^2=11.749, 24.815, 45.762, 17.225, 21.913, 7.061$, 均 $P<0.05$)。HSP60 低表达组 3 年生存率为 41.5%(17/41),明显高于 HSP60 高表达组的 3 年生存率 93.2%(41/44),差异有统计学意义($\chi^2=30.79, P<0.001$); HSP60 低表达组平均生存时间为(23.5 ± 6.1)个月,明显高于 HSP60 高表达组的平均生存时间(28.2 ± 6.4)个月,差异有统计学意义($t=3.460, P<0.001$)。NRF2 低表达组 3 年生存率为 95.2%(40/42),明显高于 NRF2 高表达组的 3 年生存率 41.9%(18/43),差异有统计学意义($\chi^2=30.79, P<0.001$),HSP60 低表达组平均生存时间为(29.1 ± 6.2)个月,明显高于 HSP60 高表达组的平均生存时间(22.4 ± 6.3)个月,差异有统计学意义($\chi^2=4.941, P<0.001$)。多因素 Cox 回归分析结果显示, ccRCC 组织中 HSP60 低表达、NRF2 高表达、肿瘤分期 III~IV 期是影响 ccRCC 患者不良预后的独立危险因素。结论 ccRCC 中 HSP60 表达降低,而 NRF2 表达升高,二者表达与肿瘤分期、淋巴结转移及远处转移有关,有望成为提示 ccRCC 预后的肿瘤标志物。

关键词:透明细胞性肾细胞癌; 热休克蛋白 60; 核因子 E2 相关因子 2; 临床意义

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.05.013 中图法分类号:R737.11

文章编号:1673-4130(2022)05-0574-06 文献标志码:A

Expression and clinical value of HSP60 and NRF2 in clear cell renal cell carcinoma*

BAO Chen¹, DONG Xuemin¹, YANG Jingru¹, HU Qianqian¹, LIU Jun^{1△}, MI Lin², WANG Yong³

1. Department of Pathology, Ankang Central Hospital, Ankang, Shaanxi 725000, China;

2. Department of Nephrology, Ankang Central Hospital, Ankang, Shaanxi 725000, China; 3. Department of Nephrology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710068, China

Abstract: Objective To study the expression of heat shock protein 60 (HSP60) and nuclear factor E2 related factor 2 (NRF2) in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) and their clinical significance. **Methods** The clinical data of 89 ccRCC patients diagnosed and treated in our hospital from March 2017 to March 2019 were selected. Fluorescence quantitative PCR and immunohistochemistry were used to detect the expression of HSP60 and NRF2 in cancer and adjacent tissues. The relationship between the expression of HSP60, NRF2 and clinicopathological characteristics in ccRCC was statistically analyzed. The correlation between HSP60 and NRF2 mRNA expression levels were analyzed by Spearman rank correlation analysis. The correlation between the expression of HSP60, NRF2 with prognosis of ccRCC patients were analyzed by Kaplan-Meier survival a-

* 基金项目:陕西省科学技术研究发展计划项目(2017K15-02-794)。

作者简介:鲍晨,女,副主任技师,主要从事分子病理学方面的研究。△ 通信作者, E-mail: alex.liujun@foxmail.com。

本文引用格式:鲍晨,董学敏,杨静茹,等. HSP60 和 NRF2 在透明细胞性肾细胞癌中的表达及临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43

analysis (Log-Rank test). Univariate and multivariate COX proportional hazard models were used to analyze the risk factors that affected the survival and prognosis of renal cancer patients. **Results** The relative expression of HSP60 in ccRCC cancer tissue (0.483 ± 0.112) was significantly lower than that of adjacent tissues (1.227 ± 0.265), and the difference was statistically significant ($t = 24.397, P < 0.001$), while the relative expression of NRF2 mRNA (1.725 ± 0.285) in ccRCC cancer tissue was significantly higher than that of adjacent tissues (0.551 ± 0.101), and the difference was statistically significant ($t = 36.629, P < 0.001$). The expression levels of HSP60 and NRF2 in ccRCC cancer tissue were significantly negatively correlated ($r = -0.520, P < 0.001$). The expression levels of HSP60 and NRF2 in ccRCC cancer tissues were related to tumor stage, distant metastasis and lymph node metastasis and the differences were statistically significant ($\chi^2 = 11.749, 24.815, 45.762, 17.225, 21.913, 7.061, \text{all } P < 0.05$). The 3-year survival rate was 41.5% (17/41) in HSP60 low expression group, which was significantly higher than that in high expression group of 93.2% (41/44), and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 30.79, P < 0.001$); The average survival time in HSP60 low expression group was (23.5 ± 6.1) months, which was significantly longer than that in the HSP60 high expression group of (28.2 ± 6.4) months, the difference was statistically significant ($t = 3.460, P < 0.001$). The 3-year survival rate of the NRF2 low expression group was 95.2% (40/42), which was significantly higher than that in the NRF2 high expression group of 41.9% (18/43), and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 30.79, P < 0.001$). The average survival time of the HSP60 low expression group was (29.1 ± 6.2) months, which was significantly longer than that in the HSP60 high expression group of (22.4 ± 6.3) months, and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 4.941, P < 0.001$). Multivariate COX regression analysis showed that low expression of HSP60, high expression of NRF2 and tumor stage III-IV were independent risk factors of poor prognosis of patients with renal cell carcinoma. **Conclusion** The expression of HSP60 is decreased in ccRCC, while the expression of NRF2 is increased. Both of them are related to tumor stage, lymph node metastasis and distant metastasis, and they may become new prognosis markers for ccRCC.

Key words: clear cell renal cell carcinoma; heat shock protein 60; nuclear factor E2 related factor 2; clinical significance

透明细胞性肾细胞癌(ccRCC)是起源于肾小管上皮的恶性肿瘤,是ccRCC最常见的病理类型,每年发病率为4.99/10万^[1]。早期ccRCC的治疗以根治性手术为主,对于晚期转移性ccRCC以内科综合治疗如靶向治疗、免疫治疗等为主^[2]。约31%的ccRCC患者术后出现复发转移的现象,最终导致患者不良生存预后的发生^[3]。深入研究ccRCC机制,对ccRCC的诊治具有重要的临床价值。热休克蛋白60(HSP60)是线粒体中主要的ATP依赖分子伴侣,在维持线粒体蛋白稳态中起至关重要的作用。有文献表明,HSP60参与包括病毒性感染、炎症性肠病等多种炎症性疾病等许多复杂的生理病理过程^[4-5]。有研究发现,HSP60在人类多种肿瘤中存在异常表达升高或降低的现象,HSP60能够促进肿瘤细胞存活、抑制凋亡和促进肿瘤血管生成,是一种新的肿瘤标志物,有利于判断肿瘤患者的预后^[6]。核因子E2相关因子2(NRF2)基因位于2q31.2,该基因编码蛋白是一种重要的转录因子,能够结合下游靶基因启动子中的ARE反应元件,参与正常细胞的发育和分化的调节过程。NRF2与肿瘤的发生、发展关系密切。研究表明,在非小细胞肺癌等恶性肿瘤中NRF2表达上调,NRF2能够

激活磷脂酰肌醇3激酶信号通路,导致下游AKT/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的过度激活,促进肿瘤的恶性增殖,是肿瘤患者不良预后的重要标志物^[7]。目前HSP60、NRF2在ccRCC中的表达及相互作用关系尚不清楚。本研究通过检测ccRCC中HSP60、NRF2的表达,初步探讨其临床意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2017年3月至2019年3月在安康市中心医院(下称本院)行ccRCC根治术或保留肾单位手术的89例ccRCC患者为研究对象,其中男52例,女37例;年龄37~74岁、平均(49.1 ± 6.3)岁;病理Furhman分级:1+2级33例,3+4级56例;肿瘤分期:I~II期65例,III~IV期24例;伴远处转移19例,无远处转移70例;伴淋巴结转移12例,无淋巴结转移76例。纳入标准:(1)首次发现,无放化疗及免疫治疗史。(2)病理组织学检查明确为ccRCC。(3)一般状况良好,能够耐受手术。排除标准:(1)合并精神障碍性疾病,不能配合治疗。(2)合并慢性肾病、肾功能衰竭。(3)合并其他恶性肿瘤。患者和家属均知情同意并签字,本研究经本院伦理委员会审核批准。

1.2 荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测 HSP60、NRF2 mRNA 表达 将约 50 mg 的癌组织及癌旁组织冰上剪碎,液氮中研磨,Trizol 法提取组织中总 RNA,将总 RNA 反转录为 cDNA,−20 °C 冰箱保存待测。HSP60 正向引物序列 5′-ATG CTT CGG TTA CCC ACA GTC-3′,反向引物序列:5′-AGC CCG AGT GAG ATG AGG AG-3′,NRF2 正向引物序列 5′-TCA GCG ACG GAA AGA GTA TGA-3′,反向引物序列 5′-CCA CTG GTT TCT GAC TGG ATG T-3′,以 GAPDH 为内参,正向引物序列 5′-GTG TAG ACC TTT TAG CCG ATG C-3′,反向引物序列:5′-GTG CCA GTA CAG TAG CAG TGG-3′。qPCR 总反应体系 20 μL,包括 SYBR Green Master Mix 10 μL,正、反向引物各 1 μL,cDNA 2 μL,ddH₂O 6 μL。qPCR 反应条件为:95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 30 s,60 °C 退火 30 s,70 °C 延伸 30 s,变性、退火、延伸共 45 个循环。HSP60、NRF2 mRNA 的相对表达量以 2^{-ΔΔCt} 值法表示。

1.2 免疫组织化学(IHC)检测 HSP60、NRF2 蛋白表达 将组织用 10.0% 组织固定液固定过夜,石蜡包埋后进行切片,切片厚度 5 μm,60 °C 烤片 1 h;切片入二甲苯两次,每次 10 min;乙醇水化;微波炉抗原热修复;3.0% H₂O₂ 阻断 30 min;5.0% 羊血清封闭 30 min;一抗 37 °C 2 h(HSP60、NRF2 单抗购自 Abcam 公司,货号 ab190828、ab76026);二抗 37 °C 孵育 2 h;DAB 显色 1 min;苏木素染细胞核 30 s;梯度乙醇脱水,封片镜检。免疫组织化学评分根据阳性染色强度及染色面积评估。不着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,深褐色为 3 分;染色面积 <25.0% 为 1 分,25.0%~50.0% 为 2 分,>50.0% 为 3 分。染色强度评分乘以染色面积评分的为免疫组织化学评分。0~2 分为阴性,3~9 分为阳性。根据免疫组织化学评分,将 89 例患者分为低表达组(<4 分)和高表达组(≥4 分)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS24.0 软件统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料用百分率表示,两组间比较采用 χ^2 检验。HSP60 与 NRF2 表达的相关性采用 Spearman 秩相关分析。Kaplan-Meier 生存分析(Log-Rank 检验)HSP60 与 NRF2 表达对 ccRCC 患者生存预后的差异。单因素和多因素 COX 比例风险模型分析影响 ccRCC 患者生存预后的危险因素。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ccRCC 癌及癌旁组织中 HSP60、NRF2 mRNA 表达比较 ccRCC 癌组织中 HSP60、NRF2 mRNA 的相对表达量分别为 0.483 ± 0.112、1.725 ± 0.285,癌旁组织分别为 1.227 ± 0.265、0.551 ± 0.101,癌组

织 HSP60 的相对表达量明显低于癌旁组织,差异有统计学意义(*t* = 24.397, *P* < 0.001),而 NRF2 mRNA 的相对表达量明显高于癌旁组织,差异有统计学意义(*t* = 36.629, *P* < 0.001)。见图 1。

2.2 ccRCC 癌及癌旁组织中 HSP60、NRF2 蛋白表达 癌组织中 HSP60、NRF2 蛋白主要表达于细胞质和细胞膜。ccRCC 癌及癌旁组织中 HSP60 蛋白阳性表达率分别为 84.3% (75/89)、100.0% (89/89); NRF2 蛋白表达阳性表达率分别为 47.2% (42/89)、13.5% (12/89)。癌组织中 HSP60 蛋白阳性表达率明显低于癌旁组织,差异有统计学意义(χ^2 = 15.195, *P* < 0.001);癌组织中 NRF2 蛋白阳性表达率明显高于癌旁组织,差异有统计学意义(χ^2 = 23.925, *P* < 0.001)。见图 2。

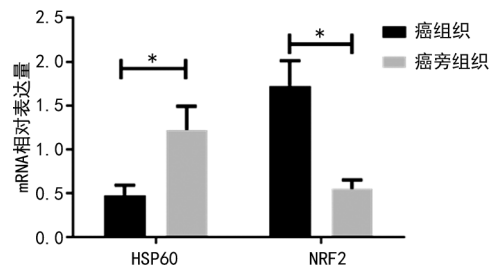


图 1 癌组织与癌旁组织中 HSP60、NRF2 mRNA 表达量比较

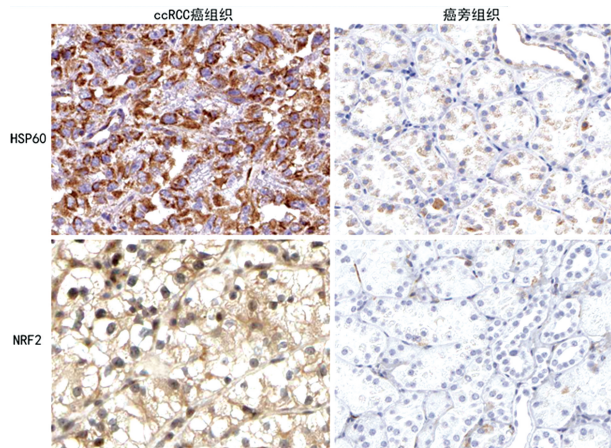


图 2 癌及癌旁组织中 HSP60、NRF2 蛋白表达(×200)

2.3 ccRCC 癌组织中 HSP60、NRF2 表达的相关性 Spearman 秩相关分析结果,ccRCC 癌组织中 HSP60 与 NRF2 表达呈明显负相关(*r* = −0.520, *P* < 0.001)。配对 χ^2 检验结果:两个指标的关联性检验 χ^2 = 8.144, *P* = 0.004,提示两个指标有密切关联;差异性检验 χ^2 = 19.105, *P* < 0.001,提示两个指标水平相对变化很大,与其呈负相关关系有关。一致性系数 Kappa 为负值(Kappa = −0.233),也与差异性明显及负呈相关关系互为佐证。

2.4 ccRCC 癌组织中 HSP60、NRF2 蛋白表达量与临床病理特征的关系 ccRCC 癌组织中 HSP60、NRF2 的表达与肿瘤分期、远处转移及淋巴结转移有

关(均 $P < 0.05$),与患者性别、年龄、肿瘤直径、病理 Furrhman 分级无关(均 $P > 0.05$)。肿瘤分期 III ~ IV 期、伴远处转移及伴淋巴转移的 ccRCC 癌组织中 HSP60 表达明显较低, NRF2 表达明显较高 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.5 ccRCC 癌组织中 HSP60、NRF2 蛋白表达与患者预后的关系 89 例 ccRCC 患者随访 3 年,随访过程中 4 例失访,死亡 27 例,病死率为 31.8%。HSP60 低表达组 3 年生存率为 41.5% (17/41),明显高于 HSP60 高表达组的 3 年生存率 93.2% (41/44),差异

有统计学意义 ($\chi^2 = 30.79, P < 0.001$); HSP60 低表达组平均生存时间为 (23.5 ± 6.1) 个月,明显高于 HSP60 高表达组的平均生存时间 (28.2 ± 6.4) 个月,差异有统计学意义 ($t = 3.460, P < 0.001$)。NRF2 低表达组 3 年生存率为 95.2% (40/42),明显高于 NRF2 高表达组的 3 年生存率 41.9% (18/43),差异有统计学意义 ($\chi^2 = 30.79, P < 0.001$), HSP60 低表达组平均生存时间为 (29.1 ± 6.2) 个月,明显高于 HSP60 高表达组的平均生存时间 (22.4 ± 6.3) 个月,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.941, P < 0.001$)。

表 1 ccRCC 癌组织中 HSP60、NRF2 蛋白表达与临床病理参数的关系

参数	n	HSP60			NRF2		
		n (%)	χ^2	P	n (%)	χ^2	P
年龄(岁)			0.629	0.428		0.351	0.554
<60	36	29(80.6)			15(41.7)		
≥60	53	46(86.8)			27(50.9)		
性别			0.235	0.628		0.815	0.367
男	52	43(82.7)			26(50.0)		
女	37	32(86.5)			16(43.2)		
肿瘤分期			11.749	<0.001		17.225	<0.001
I ~ II 期	65	60(92.3)			22(33.8)		
III ~ IV 期	24	15(62.5)			20(83.3)		
Furrhman 分级			1.744	0.187		2.467	0.116
1+2 级	33	30(90.9)			12(36.3)		
3+4 级	56	45(80.4)			30(53.6)		
远处转移			24.815	<0.001		21.913	<0.001
有	19	9(47.4)			18(94.7)		
无	70	66(92.3)			24(34.3)		
淋巴结转移			45.762	<0.001		7.061	0.008
有	12	2(16.7)			10(7.7)		
无	76	73(96.1)			32(42.9)		

2.6 单因素和多因素 COX 比例风险模型分析影响 ccRCC 患者生存预后的危险因素 以 ccRCC 透明细胞癌患者随访过程中的生存状态为因变量(1=死亡, 0=存活, t =生存时间),纳入年龄(赋值:1=≥60 岁, 0=<60 岁)、性别(赋值:1=男性, 0=女性)、Furrhman 分级(赋值:1=3+4 级, 0=1+2 级)、肿瘤分期(赋值:赋值 1=III ~ IV 期, 0=I ~ II 期)、淋巴结转移(赋值:1=有, 0=无)、远处转移(赋值:1=有, 0=

无)、HSP60(赋值 1=低表达, 0=高表达)、NRF2(赋值 1=高表达, 0=低表达)为自变量。单因素 COX 分析结果表明, HSP60 低表达、NRF2 高表达、肿瘤分期 III ~ IV 期的 ccRCC 患者生存预后差,多因素 Cox 回归分析结果 ccRCC 组织中 HSP60 低表达、NRF2 高表达、肿瘤分期 III ~ IV 期是影响 ccRCC 患者不良预后的独立危险因素。见表 2、3。

表 2 影响 ccRCC 患者生存预后的单因素 Cox 分析

因素	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
年龄	-0.161	0.145	1.081	0.639	0.855	0.604~0.934
性别	0.179	0.168	1.145	0.537	1.212	0.911~1.276

续表 2 影响 ccRCC 患者生存预后的单因素 Cox 分析

因素	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
Fuhrman 分级	0.254	0.191	1.785	0.403	1.310	0.910~1.335
远处转移	0.250	0.211	1.804	0.313	1.325	0.911~1.478
淋巴结转移	0.364	0.190	2.290	0.113	1.232	0.904~1.842
肿瘤分期	0.570	0.194	9.270	0.002	1.741	1.354~2.119
HSP60	0.642	0.180	10.664	<0.001	2.031	1.824~2.470
NRF2	0.720	0.212	11.684	<0.001	2.061	1.930~2.359

表 3 影响 ccRCC 患者生存预后的多因素 Cox 分析

因素	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
肿瘤分期	0.478	0.241	4.368	0.031	1.624	1.028~2.425
HSP60	0.912	0.283	9.652	0.002	2.536	1.407~3.162
NRF2	0.589	0.212	6.680	0.003	1.608	1.135~2.947

3 讨 论

肾癌是常见的泌尿生殖系统恶性肿瘤。ccRCC 是最常见的病理类型, 约占所有类型的 90.0%。ccRCC 的治疗包括手术治疗、靶向治疗及免疫治疗等。早期 ccRCC 根治性手术患者就能获得满意的生存预后, 但对于晚期 ccRCC, 患者预后较差。近年来新的药物如酪氨酸激酶抑制剂、mTOR 抑制剂及免疫检查点抑制剂等的临床应用, 改善了转移性 ccRCC 患者的总体生存时间和无进展生存时间^[8]。但在临床治疗过程中发现, 部分 ccRCC 患者对药物治疗不敏感或治疗后发生耐药的现象, 导致肿瘤进展^[9]。深入研究 ccRCC 的疾病发生的机制, 对于 ccRCC 临床诊断和治疗有重要意义。

热休克蛋白家族是细胞应激过程中产生的应激蛋白。生理条件下, 该家族成员帮助蛋白质或多肽的正确折叠、降解和运输, 其作为分子伴侣, 发挥维持内环境稳定, 协助细胞存活和抑制细胞凋亡等作用。HSP60 是热休克蛋白家族成员之一, 相对分子质量为 60×10^3 , 作为一种线粒体伴侣蛋白, 存在于细胞质或细胞表面。近年来发现, HSP60 与肿瘤发生、发展关系密切, 不同肿瘤中 HSP60 发挥不同的生物学功能。MARINO 等^[10]报道, 肿瘤中 HSP60 作为一种促癌基因, 抑制抑癌基因 p53 和 caspase 依赖的细胞凋亡, 并通过与其他细胞内蛋白的相互作用激活核因子 κ B 途径, 促进细胞增殖。但有文献报道, HSP60 在膀胱癌中发挥抑癌基因的作用, 其能够通过增强肿瘤细胞的免疫原性, 增强机体的抗肿瘤免疫杀伤功能, 抑制肿瘤细胞的恶性进展^[11]。目前, 关于 ccRCC 组织中 HSP60 的表达研究报道较少。本研究中, ccRCC 中 HSP60 表达明显降低, 目前其机制尚不清楚, 可能与非编码 RNA 对 HSP60 的表达调控有关。有文献报道, 肿瘤细胞中 miR-17 能够直接结合 HSP60 mRNA

的 3' 非编码区, 降低 HSP60 mRNA 的稳定性, 抑制 HSP60 的表达, 进而激活下游肿瘤坏死因子信号通路, 促进肿瘤的发展^[12]。本文进一步研究 ccRCC 中 HSP60 低表达的临床意义, 结果发现, 高肿瘤分期、远处转移及淋巴结转移的癌组织中 HSP60 的表达明显较低, 表明 ccRCC 中 HSP60 的低表达促进肿瘤进展。TENG 等^[13]在体外细胞实验中证实, 沉默 ccRCC 肿瘤细胞中 HSP60 的表达会破坏呼吸链复合体 I 的完整性并触发过多的活性氧 (ROS) 的产生, ROS 激活 AMPK 途径, 促进 ccRCC 肿瘤细胞恶性增殖的同时, 促进肿瘤细胞发生上皮间质转化, 导致肿瘤进展。此外, ccRCC 肿瘤组织中 HSP60 低表达患者远期生存预后较差, 并且 HSP60 低表达是患者不良生存预后的独立危险因素, 提示 HSP60 可作为新的判断 ccRCC 患者预后的肿瘤标志物, 值得临床深入研究。

NRF2 是定位于细胞核内的转录因子, 参与血红素加氧酶-1(HO-1)、NADH 氧化还原酶 1(NQO1) 等氧化应激通路中多种基因的表达^[14-15]。有文献报道, NRF2 在肿瘤的发生发展过程中起重要的调节作用, 其作为一种原癌基因, 参与激活血管内皮生长因子 (VEGF)、血小板源生长因子通路 (PDGF), 促进肿瘤细胞的恶性增殖及转移^[16]。本研究中, ccRCC 癌组织中 NRF2 的表达升高, 与以往研究结果一致^[7]。ccRCC 中 NRF2 表达上调的机制尚不清楚。有学者发现, 正常细胞中 NRF2 受到 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1(KEAP1) 的泛素化调控, 肿瘤中 KEAP1 的表达缺失或降低导致使 NRF2 的泛素化-蛋白酶体途径降解失调, 从而增加了细胞中 NRF2 蛋白的量, NRF2 易位至细胞核, 然后激活其下游癌基因的表达^[17]。本研究中, 高肿瘤分期、远处转移及淋巴结转移癌组织中 NRF2 表达明显较高, 提示 ccRCC 中 NRF2 促进肿瘤的发生、发展。NRF2 的肿瘤促进作用与其对肿

瘤代谢的影响有关。研究表明, NRF2 能够诱导肿瘤细胞发生代谢重编程, NRF2 激活戊糖磷酸途径关键酶基因的表达, 促进肿瘤细胞中由葡萄糖的代谢转变为嘌呤核苷酸合成代谢, 促进谷氨酰胺的生物学合成, 谷氨酰胺作为肿瘤细胞重要的营养能量来源, 维持肿瘤细胞的增殖能力^[18-19]。本研究发现, ccRCC 中 NRF2 高表达患者的生存预后较差, 提示 NRF2 可能是判断 ccRCC 患者生存预后的分子标志物。多因素 COX 回归分析结果发现, NRF2 高表达是 ccRCC 患者不良预后的独立危险因素。因此, 本研究通过检测 ccRCC 癌组织中 NRF2 的表达, 有助于对患者的预后进行初步评估, 指导后续治疗和随访。

本研究通过相关性分析发现, ccRCC 中 HSP60 与 NRF2 的表达呈负相关。蛋白质组学研究表明, 在肾肿瘤细胞中沉默 HSP60 表达能驱动 ccRCC 的代谢重编程, 激活 NRF2 介导的氧化应激反应, 增强线粒体依赖性谷胱甘肽的生物合成, 以促进肿瘤进展^[13]。因此, ccRCC 中 HSP60 可能对 NRF2 的表达存在调控关系, 但二者的具体作用关系值得深入探索。

综上所述, ccRCC 中 HSP60 表达降低, 而 NRF2 表达升高, HSP60 与 NRF2 表达呈负相关。HSP60 及 NRF2 表达与 ccRCC 肿瘤分期、远处转移及淋巴结转移有关, 二者共同参与 ccRCC 的发生、发展, 是新的 ccRCC 预后判断的肿瘤标志物。但 HSP60 与 NRF2 间的机制及其在 ccRCC 中的临床意义有待深入研究。

参考文献

- [1] 刘曙正, 郭兰伟, 曹小琴, 等. 中国 2014 年肾癌发病与死亡分析[J]. 中华流行病学杂志, 2018, 39(10): 1346-1350.
- [2] GRAY RE, HARRIS GT. Renal cell carcinoma: diagnosis and management[J]. Am Fam Physician, 2019, 99(3): 179-184.
- [3] SPEED J M, TRINH Q D, CHOUEIRI T K, et al. Recurrence in localized renal cell carcinoma: a systematic review of contemporary data[J]. Curr Urol Rep, 2017, 18(2): 15-23.
- [4] CAPPELLO F, MAZZOLA M, JURJUS A, et al. Hsp60 as a novel target in IBD management: a prospect[J]. Front Pharmacol, 2019, 10(5): 26-32.
- [5] WYZEWSKI Z, GREGORCZYK K P, SZCZEPANOWSKA J, et al. Functional role of Hsp60 as a positive regulator of human viral infection progression[J]. Acta Virol, 2018, 62(1): 33-40.
- [6] WU J, LIU T, RIOS Z, et al. Heat shock proteins and cancer[J]. Trends Pharmacol Sci, 2017, 38(3): 226-256.
- [7] WANG Q, XU L, WANG G, et al. Prognostic and clinicopathological significance of NRF2 expression in non-small cell lung cancer: a meta-analysis[J]. PLoS One, 2020, 15(11): 2412-2421.
- [8] 洪鹏, 刘苗, 刘承, 等. 转移性肾癌的治疗[J]. 中华泌尿外科杂志, 2020, 41(6): 474-476.
- [9] 杨韬越, 胡敬, 王尚乾, 等. 晚期肾癌分子靶向治疗耐药机制分析[J]. 国际泌尿系统杂志, 2019, 39(6): 1130-1132.
- [10] MARINO GAMMAZZA A, CAMPANELLA C, BARONE R, et al. Doxorubicin anti-tumor mechanisms include Hsp60 post-translational modifications leading to the Hsp60/p53 complex dissociation and instauration of replicative senescence[J]. Cancer Lett, 2017, 385(4): 75-86.
- [11] LEBRET T, WATSON RW, MOLINIÉ V, et al. Heat shock proteins HSP27, HSP60, HSP70, and HSP90: expression in bladder carcinoma[J]. Cancer, 2003, 98(5): 970-977.
- [12] WANG L L, DONG J J, AN B Z, et al. Has-mir-17 increases the malignancy of gastric lymphoma by HSP60/TNFR2 pathway[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2020, 34(4): 1317-1324.
- [13] TENG R, LIU Z, TANG H, et al. HSP60 silencing promotes Warburg-like phenotypes and switches the mitochondrial function from ATP production to biosynthesis in ccRCC cells[J]. Redox Biol, 2019, 24(6): 1012-1018.
- [14] LOBODA A, DAMULEWICZ M, PYZA E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism[J]. Cell Mol Life Sci, 2016, 73(17): 3221-3247.
- [15] CUI W, ZHANG Z, ZHANG P, et al. Nrf2 attenuates inflammatory response in COPD/emphysema: crosstalk with Wnt3a/ β -catenin and AMPK pathways[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(7): 3514-3525.
- [16] ROJO DE LA VEGA M, CHAPMAN E, ZHANG D D. NRF2 and the hallmarks of cancer[J]. Cancer Cell, 2018, 34(1): 21-43.
- [17] BAIRD L, YAMAMOTO M. The molecular mechanisms regulating the KEAP1-NRF2 pathway[J]. Mol Cell Biol, 2020, 40(13): 20-26.
- [18] KITAMURA H, MOTOHASHI H. NRF2 addiction in cancer cells[J]. Cancer Sci, 2018, 109(4): 900-911.
- [19] GUO J, LI X, ZHANG W, et al. HSP60-regulated mitochondrial proteostasis and protein translation promote tumor growth of ovarian cancer[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 12628-12635.

(收稿日期: 2021-09-12 修回日期: 2021-12-18)