

# EPAS-1 在透明细胞性肾细胞癌中的表达及意义\*

陈海滨<sup>1</sup> 王立姣<sup>2</sup> 赵鹏<sup>3</sup> 赵建军<sup>1</sup> 谭超<sup>1</sup>

(河北工程大学附属医院 1. 泌尿外二科; 2. 呼吸内二科; 3. 胸外科, 河北 邯郸 056004)

**【摘要】** 目的 探讨内皮 PAS 结构域包含蛋白-1(EPAS-1)在透明细胞性肾细胞癌中的表达特征, 分析其与细胞增殖的关系及其临床意义。方法 收集在我院确诊为透明细胞性肾细胞癌的患者共 78 例, 留取术后肿瘤组织作为观察组, 留取距肿瘤标本肉眼可见的边缘 > 3 cm 的正常肾组织作为对照组, 应用免疫组化法检测两组中 EPAS-1 及观察组中增殖细胞核抗原(PCNA)的表达, 分析其临床意义; 选择人肾透明细胞癌 786-0 细胞系和人肾皮质近曲小管上皮 HK-2 细胞系, 应用 Western Blot 方法检测 EPAS-1 蛋白的表达, 实时荧光定量 PCR 法(RT-PCR)检测 EPAS-1 mRNA 的表达。选择人肾透明细胞癌 786-0 细胞系, 建立小干扰 RNA EPAS-1(siRNA EPAS-1 组), 并设立 786-0 细胞系的空白对照组(NC 组), Western Blot 检测 PCNA 蛋白, 应用 RT-PCR 法检测 PCNA mRNA。结果 观察组中 EPAS-1 表达的阳性率明显高于对照组( $P < 0.05$ ), EPAS-1 的阳性率在不同 Fuhrman 分级、肿瘤最大径及 PCNA 增殖指数的表达中差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 而在有无肾窦累犯、不同性别及年龄分组的表达中差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。EPAS-1 的表达与生存时间有关( $P < 0.05$ )。人肾透明细胞癌 786-0 细胞系中 EPAS-1 蛋白和 mRNA 的表达明显高于人肾皮质近曲小管上皮 HK-2 细胞系( $P < 0.05$ )。siRNA EPAS-1 组中 PCNA 蛋白和 mRNA 的表达明显低于 NC 组( $P < 0.05$ )。结论 EPAS-1 在透明细胞性肾细胞癌中表达明显升高, 在不同临床病理特征中的表达有差异。EPAS-1 可能对促进肿瘤细胞增殖有一定作用。检测 EPAS-1 的表达可能与肿瘤的预后有关。

**【关键词】** 透明细胞性肾细胞癌; 内皮 PAS 结构域包含蛋白-1; 增殖; 预后

**【中图分类号】** R737.11 **【文献标志码】** A **DOI:** 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 02. 016

## Expression and significance of EPAS-1 in clear cell renal cell carcinoma

CHEN Haibin<sup>1</sup>, WANG Lijiao<sup>2</sup>, ZHAO Peng<sup>3</sup>, ZHAO Jianjun<sup>1</sup>, TAN Chao<sup>1</sup>

(1. Department of Urology, The Affiliated Hospital of Hebei Engineering University, Handan 056004, Hebei, China;

2. Department of Respiratory Medicine, The Affiliated Hospital of Hebei Engineering University, Handan 056004, Hebei, China;

3. Department of Thoracic Surgery, The Affiliated Hospital of Hebei Engineering University, Handan 056004, Hebei, China)

**【Abstract】** **Objective** To observe the expression of EPAS-1 in clear cell renal cell carcinoma, analyze its relationship with cell proliferation, investigate clinical significance. **Methods** 78 patients with clear cell renal cell carcinoma were collected. The tumor tissue was taken as the observation group, and the normal renal tissue (> 3cm from the tumor margin) was taken as the control group. The expression of EPAS-1 of two groups and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) of observation group were detected by immunohistochemistry method. Human renal clear cell carcinoma 786-0 cell line and human renal cortex proximal convoluted tubule epithelial HK-2 cell line were selected. The expression of EPAS-1 protein was detected by Western blot, the expression of EPAS-1 mRNA was detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). Human renal clear cell carcinoma 786-0 cell line was selected to establish small interfering RNA EPAS-1(siRNA EPAS-1 group) and a blank control group (NC group). PCNA protein was detected by Western blot and PCNA mRNA was detected by RT-PCR. **Results** Positive rate of EPAS-1 was significantly higher in clear cell renal cell carcinoma than that in the control group. The positive rate of EPAS-1 was significantly different in Fuhrman grade, diameter and PCNA proliferation index, but was not significantly different in renal sinus involvement, gender and

基金项目: 河北省 2020 年度医学科学研究课题(20200591); 邯郸市科学技术研究与发展计划项目(19422083011-2)

通信作者: 赵建军, E-mail: fsyy2199857@163.com

引用本文: 陈海滨, 王立姣, 赵鹏, 等. EPAS-1 在透明细胞性肾细胞癌中的表达及意义[J]. 西部医学, 2022, 34(2): 235-239, 244. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 02. 016

age. The expression of EPAS-1 was related to survival time. The expression of EPAS-1 protein and mRNA was significantly higher in 786-0 cell line than that in HK-2 cell line. The expression of PCNA protein and mRNA was significantly lower in siRNA EPAS-1 group than that in NC group. **Conclusion** Expression of EPAS-1 is significantly increased in clear cell renal cell carcinoma. Expression of EPAS-1 is different in different clinicopathological features. EPAS-1 may play a role in promoting cell proliferation. The expression of EPAS-1 may be related to the prognosis of tumor.

**【Key words】** Clear cell renal cell carcinoma; EPAS-1; Proliferation; Prognosis

透明细胞性肾细胞癌临床常见<sup>[1-2]</sup>, 尽管治疗手段取得了重要的进步, 但其 5 年生存率仍然较低<sup>[3-4]</sup>。基因的异常表达是肾肿瘤发生和进展的重要分子遗传因素<sup>[5-6]</sup>。近年学者发现内皮 PAS 结构域包含蛋白-1 (EPAS-1) 与肿瘤的形成有关。EPAS-1 又称低氧诱导因子 2 $\alpha$  (HIF-2 $\alpha$ ), 是 1997 年克隆出的含有 HLH-PAS 的蛋白, 是缺氧的主要转录因子, 在低氧时引起酶或基因变化发挥促进肿瘤进展的作用<sup>[7]</sup>。EPAS-1 主要在低氧区域诱导癌基因表达、调节细胞异型增生促进血管新生, 主要是为适应细胞微环境中的低氧状态<sup>[8]</sup>。目前 EPAS-1 在透明细胞性肾细胞癌中的研究鲜少, 其与细胞增殖的关系尚需要阐明。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 1 月~2017 年 7 月在我院确诊为透明细胞性肾细胞癌并行手术治疗的患者 78 例。其中男 40 例, 女 38 例, 年龄 43~85 岁, 中位年龄 60 岁。肿瘤最大径(0.6~9.5)cm, 平均(4.3 $\pm$ 1.1)cm; 分级(Fuhrman): I 级 9 例, II 级 34 例, III 级 29 例, IV 级 6 例; 其中 30 例伴有肾窦累犯, 48 例无肾窦累犯。均留取术后新鲜的肿瘤组织作为观察组, 留取距肿瘤标本肉眼可见的边缘>3 cm 的正常肾组织作为对照组, 样本均于-80 $^{\circ}$ C 冰箱中冻存。纳入标准: ①首次发病并手术治疗, 术后病理为透明细胞性肾细胞癌, 并符合 WHO 中的标准及分型。②临床及随访资料完整。排除标准: ①诊断不明确或病理形态中伴有异源性上皮或间叶分化的肿瘤。②术前行放、化疗。③伴有其它器官严重的内科系统疾病。患者或家属签定知情同意书, 研究符合《赫尔辛基宣言》中的相关要求, 并经医院伦理委员会批准。

1.2 实验材料 选择人肾透明细胞癌 786-0 细胞系和人肾皮质近曲小管上皮 HK-2 细胞系, 购自中国科学院上海细胞库。培养基 PRMI1640 及胎牛血清购自 Gibco 公司; ECL 显色液购自 Thermo 公司; EPAS-1、GAPDH、PCNA、二抗和 DAB 购自苏州睿赢生物技术公司; CCK-8 试剂盒购自上海碧云天生物公司; RIPA 裂解液、胰酶消化液、质粒提取试剂盒、二抗及 DAB 购自武汉三鹰生物公司; 载体和引物均由苏州吉玛基因生物公司合成, 酶标仪为 Thermo 公司生产的

MK3, PCR 仪为美国 Bio Rad IQ5。

## 1.3 方法

1.3.1 细胞的构建和培养 液氮中取出人肾透明细胞癌 786-0 细胞系和人肾皮质近曲小管上皮 HK-2 细胞系, 冰上复苏, 应用 10% 胎牛血清 RPMI 1640 培养基, 在 37 $^{\circ}$ C、5% 的 CO<sub>2</sub> 浓度的孵育箱中进行培养。当细胞生长融合度至 80% 左右时, 进行细胞传代, 调整细胞浓度为 5 $\times$ 10<sup>5</sup> 个/mL 接种于 12 孔板中, 每孔 1 mL。选择人肾透明细胞癌 786-0 细胞系, 设计小干扰 RNA EPAS-1 质粒并构建质脂载体转染建立小干扰 RNA EPAS-1 组 (siRNA EPAS-1 组), 并设立 786-0 细胞系的空白对照组 (NC 组)。

1.3.2 实时荧光定量 PCR 实验 应用实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 法检测 EPAS-1 mRNA 的表达。Trizol 提取总 RNA 后应用 Nanodrop2000 微量紫外分光光度计测量提取的总 RNA 浓度和纯度。引物序列: 上游: TACGTGTGCCCGTTACGTCGACCG, 下游: TCGGGTTAAAGGCCAGATAGTAGAG。以 RNU6B 为内参基因, 引物序列: 上游: TCGTGATAGTGATGATCCAGCCA, 下游: CGTAGTAGTACAGATAGTAGATGA。逆转录合成 cDNA, 反应条件: 16 $^{\circ}$ C 30 min; 42 $^{\circ}$ C 30 min, 85 $^{\circ}$ C 5 min 后, 4 $^{\circ}$ C 恒温。实时荧光定量 PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 10 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1min, 30 个循环后进行延伸。读取 Ct 值, 以 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法表示结果, 以 RQ 进行定量分析。

1.3.3 免疫组化实验 应用免疫组化 SP 法检测组织中 EPAS-1 和 PCNA 蛋白的表达。切取 4  $\mu$ m 切片, 严格按实验步骤加入一抗和二抗后行 DAB 显色。操作由同一主管技师完成, 做好质控工作, 减少人为误差。EPAS-1 的显色部位是细胞质和(或)细胞膜, 以黄色-棕褐色为阳性。以二维评分法进行定量(着色强度和阳性率)。着色强度: 无着色为 0 分, 弱为 1 分, 中为 2 分, 强为 3 分。阳性率: 选择 5 个高倍(400 倍)视野进行观察, 取平均值, 阳性率<5% 为 0 分, 5%~10% 为 1 分, 以 11%~25% 为 2 分, 以 26%~50% 为 3 分, 以 >50% 为 4 分<sup>[9-10]</sup>。二者相乘为最终评分, 总分范围 0~12 分。以  $\leq$ 3 分为阴性, 以 >3 分为阳性。计算阳性率。PCNA 的表达部位是细胞核, 以黄色-

棕褐色为阳性,选择热点区进行观察,共选择 5 个高倍(400 倍)视野计算阳性率,取平均值,其阳性率即为增殖指数。

1.3.4 Western Blot 实验 应用 Western Blot 法检测 EPAS-1 和 PCNA 的表达。以 GAPDH 为对照,基于新鲜组织,提取总蛋白,BAC 法行蛋白浓度测定,SDS-PAGE 凝胶配置后上样、电泳、转膜、封闭,严格按照说明书进行操作。利用 Odessey 红外荧光成像仪扫描 PVDF 膜,以 GAPDH 为对照,分析灰度值,进行结果分析。

1.4 术后随访 患者均进行术后 3 年生存时间的随访,截止时间点为 2020 年 7 月 31 日。

1.5 统计学分析 应用 SAS 6.12 进行统计学分析,定量资料应用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,数据行方差

齐性检验,组间比较行两样本均数的  $t$  检验、配对  $t$  检验或方差分析,率的比较应用卡方检验,相关分析应用 Spearman 相关分析,生存分析应用 K-M 生存分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组中 EPAS-1 表达阳性率的比较 观察组中 EPAS-1 的阳性率高于对照组( $P < 0.05$ ),见表 1、图 1。

表 1 两组中 EPAS-1 表达阳性率的比较 [ $n(\times 10^{-2})$ ]

Table 1 Comparison of EPAS-1 between the two groups

组别	n	EPAS-1		$\chi^2$	P
		阳性	阴性		
观察组	78	43 (55.13)	35 (44.87)	38.1464	<0.0001
对照组	78	7 (8.97)	71 (91.03)		

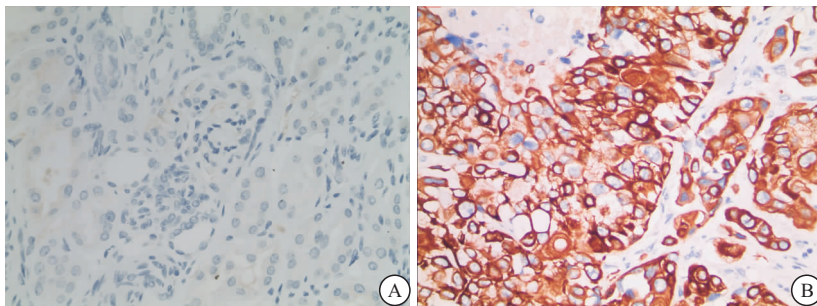


图 1 EPAS-1 的表达 (IHC SP 法)

Figure 1 Expression of EPAS-1 (IHC, SP method)

注: A. EPAS-1 在正常肾组织阴性表达(200 $\times$ ); B. EPAS-1 在肿瘤中阳性表达(400 $\times$ )

2.2 EPAS-1 在观察组不同临床病理特征中表达阳性率的比较 EPAS-1 的阳性率在不同 Fuhrman 分级、肿瘤最大径及 PCNA 增殖指数的表达中差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而在有无肾窦累犯、不同性别及年龄分组的表达中差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2、图 2。

2.3 观察组中 EPAS-1 的表达与生存时间的相关性 随访截止发现存活 49 例,死亡 28 例(其中 1 例因脑出血死亡,1 例为意外死亡,均计为删失值),失访 1 例。应用 K-M 生存分析显示 EPAS-1 的表达与生存时间有关( $\chi^2 = 4.0213, P = 0.0210$ )。见图 3。

2.4 人肾透明细胞癌 786-0 细胞系和人肾皮质近曲小管上皮 HK-2 细胞系中 EPAS-1 蛋白和 mRNA 的表达比较 Western Blot 结果显示人肾透明细胞癌 786-0 细胞系中 EPAS-1 蛋白的表达明显高于人肾皮质近曲小管上皮 HK-2 细胞系( $P < 0.05$ );RT-PCR 结果显示人肾透明细胞癌 786-0 细胞系中 EPAS-1 mRNA 的表达明显高于人肾皮质近曲小管上皮 HK-2 细胞系( $P < 0.05$ )。见表 3、图 4、图 5。

表 2 EPAS-1 在观察组不同临床病理特征中表达阳性率的比较 [ $n(\times 10^{-2})$ ]

Table 2 Comparison of EPAS-1 on different clinicopathological features of observation group

临床特征	n	EPAS-1		$\chi^2$	P
		阳性	阴性		
性别				0.1867	0.6657
男	40	23 (57.50)	17 (42.50)		
女	38	20 (52.63)	18 (47.37)		
年龄(岁)				3.5923	0.0578
<60	36	24 (66.67)	12 (33.33)		
$\geq 60$	42	19 (45.24)	23 (54.76)		
Fuhrman 分级(级)				12.4386	0.0004
I~II	43	16 (37.21)	27 (62.79)		
III~IV	35	27 (77.14)	8 (22.86)		
PCNA 增殖指数				6.9728	0.0083
<25%	50	22 (44.00)	28 (56.00)		
$\geq 25%$	28	21 (75.00)	7 (25.00)		
最大径(cm)				10.6727	0.0011
<4	42	16 (38.10)	26 (61.90)		
$\geq 4$	36	27 (75.00)	9 (25.00)		
肾窦累犯				0.0466	0.8290
无	48	26 (54.17)	22 (45.83)		
有	30	17 (56.67)	13 (43.33)		

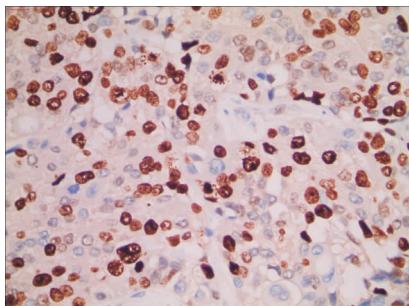


图 2 肿瘤中 PCNA 的表达(400×)

Figure 2 Expression of PCNA in neoplasm

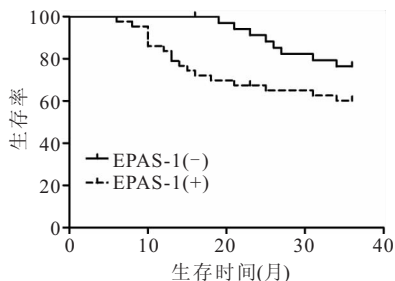


图 3 EPAS-1 表达的生存分析

Figure 3 Survival analyze of EPAS-1

表 3 两组细胞系中 EPAS-1 蛋白和 mRNA 表达的比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of EPAS-1 protein and mRNA in two cell lines

组别	EPAS-1 蛋白	<i>t</i>	<i>P</i>	EPAS-1mRNA	<i>t</i>	<i>P</i>
786-0	2.24±0.35	4.6512	0.0192	5.43±1.02	7.6411	0.0001
HK-2	1.14±0.29			1.93±0.19		

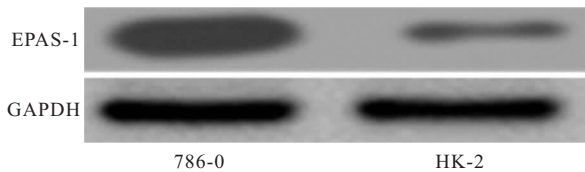


图 4 EPAS-1 蛋白的表达

Figure 4 Expression of EPAS-1 protein

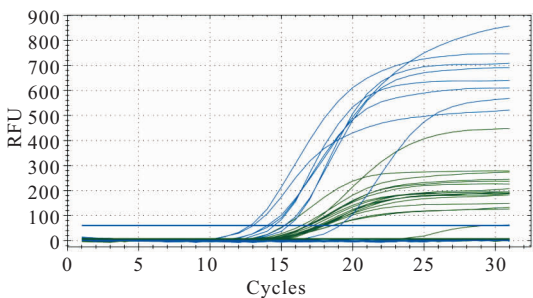


图 5 EPAS-1 mRNA 的表达

Figure 5 Expression of EPAS-1 mRNA

2.5 人肾透明细胞癌 786-0 细胞系的 siRNA EPAS-1 组和 NC 组中 PCNA 蛋白和 mRNA 的表达比较  
Western Blot 结果显示, siRNA EPAS-1 组中 PCNA 蛋白的表达明显低于 NC 组 ( $P < 0.05$ ); RT-PCR 结

果显示 siRNA EPAS-1 组中 PCNA mRNA 的表达明显低于 NC 组 ( $P < 0.05$ )。见表 4、图 6、图 7。

表 4 siRNA EPAS-1 组和 NC 组中 PCNA 蛋白和 mRNA 的表达比较

Table 4 Comparison of PCNA protein and mRNA in siRNA EPAS-1 group and NC group

组别	PCNA 蛋白	<i>t</i>	<i>P</i>	PCNA mRNA	<i>t</i>	<i>P</i>
siRNA EPAS-1 组	0.78±0.10	4.79	0.0212	1.79±0.34	5.44	0.0117
NC 组	1.44±0.19			3.32±0.25		

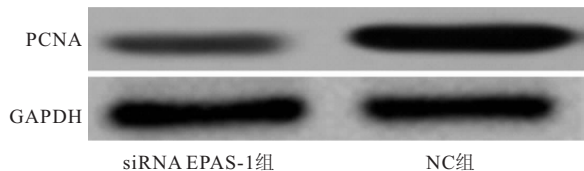


图 6 siRNA EPAS-1 组和 NC 组中 PCNA 蛋白的表达

Figure 6 Expression of PCNA protein in siRNA EPAS-1 group and NC group

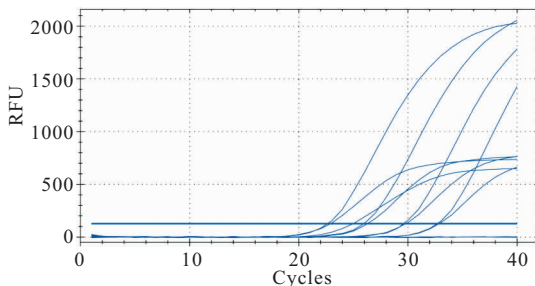


图 7 PCNA mRNA 的表达

Figure 7 Expression of PCNA mRNA

### 3 讨论

透明细胞性肾细胞癌病变形与基因和遗传因素有关<sup>[11]</sup>。EPAS-1 是从小鼠下丘脑细胞和 HeLa 细胞中克隆出的全长 cDNA 序列<sup>[12]</sup>, 其开放阅读框 2607bp, 编码 869 个氨基酸, 分子量为 96.5kDa<sup>[13-14]</sup>。EPAS-1 的基因定位于染色体的 2p16-21, 共有 15 个外显子、14 个内含子<sup>[15]</sup>, 5'-端与 AHR 基因的内含子具有高度保守性, 3'-端只有 1 个内含子<sup>[16]</sup>。EPAS-1 与家族的另一成员 HIF-1 $\alpha$  具有相似的生化 and 转录活性。研究显示在缺氧条件下, 两种蛋白质均能快速增多, 而氧恢复后均快速下降<sup>[17]</sup>。同时抗氧化剂 (NMPG)、蛋白酶抑制剂等的处理也能引起细胞内两种蛋白的增加, 而 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 能引起两者表达的下降<sup>[18-19]</sup>。EPAS-1 与 HIF-1 $\alpha$  的不同点表现为两种蛋白质含量不一样, 一般来说, 肿瘤细胞内 EPAS-1 含量较高, 而 HIF-1 $\alpha$  主要表达在间质细胞和组织细胞内。EPAS-1 和 HIF-1 $\alpha$  调控下游因子可能不同, EPAS-1 主要是调控 PCNA 介导的细胞增殖, 表现为肿瘤细胞增殖的特性, 而 HIF-1 $\alpha$  主要是调控 VEGF 介导的血

管生成,表现为间质的支持作用。EPAS-1 对肿瘤相关巨噬细胞介导的作用不如 HIF-1 $\alpha$  的作用强<sup>[20]</sup>。

本研究结果显示,透明细胞性肾细胞癌中 EPAS-1 的表达明显高于正常肾组织,人肾透明细胞癌 786-0 细胞系中 EPAS-1 蛋白和 mRNA 的表达明显高于人肾皮质近曲小管上皮 HK-2 细胞系,提示 EPAS-1 高表达是肿瘤形成的重要促进因素,即 EPAS-1 具有癌基因样的作用。且 EPAS-1 表达的阳性率在不同肿瘤最大径及 PCNA 增殖指数的表达中差异有统计学意义,siRNA EPAS-1 组中 PCNA 蛋白和 mRNA 的表达明显低于人肾透明细胞癌 786-0 细胞系,提示 EPAS-1 高表达是肿瘤细胞增殖的重要促进因子,抑制 EPAS-1 的表达能减弱肿瘤细胞的增殖,提示 EPAS-1 参与肿瘤细胞的分裂增生及肿瘤生长。结果显示 EPAS-1 的表达与肿瘤的 Fuhrman 分级相关,由于 Fuhrman 分级与肿瘤进展及预后相关,因此 EPAS-1 表达升高是肿瘤进展及不良预后的重要指标,实验观察到 EPAS-1 的表达与生存时间有关,也进一步明确了 EPAS-1 与预后的关系。但是 EPAS-1 对预后的具体判断价值尚需要进行多中心、多因素及大样本分析后进一步明确。EPAS-1 的异常表达对 mRNA 转录、翻译均有重要的调节作用,并能调控核质的运输,引起细胞增殖及肿瘤细胞的转化<sup>[21]</sup>。EPAS-1 在发挥功能时也常受很多因素的影响,如应激反应、细胞微环境的改变等。也有研究认为 EPAS-1 是诱导癌基因形成的因子之一,对细胞的浸润性生长有重要促进作用<sup>[22]</sup>。EPAS-1 能与 AHR 相互作用,与缺氧反应元件(5'-TACGTGCG-3')结合,上调缺氧因子的表达。蛋白酶体的抑制剂能引起细胞内 EPAS-1 的活性改变,可以消除细胞内活性氧改变,使 EPAS-1 的表达升高<sup>[23-24]</sup>。EPAS-1 也具有肿瘤血管生成的促进作用,肿瘤进展过程中的缺氧环境能使 EPAS-1 的转录活性增强,促进肿瘤的侵袭和转移<sup>[25]</sup>。EPAS-1 可提高其下游糖酵解酶基因的表达,影响肿瘤的失控性增殖和能量代谢<sup>[26]</sup>。

#### 4 结论

EPAS-1 在肾透明细胞癌中表达升高,在不同临床病理特征中的表达有差别。EPAS-1 可能对肿瘤细胞增殖有一定促进作用。检测 EPAS-1 的表达可能与肿瘤的预后有关。

#### 【参考文献】

[1] TAO M, ZHOU Y, JIN Y, *et al.* Blocking lncRNA MIR155HG/miR-155-5p/-3p inhibits proliferation, invasion and migration of clear cell renal cell carcinoma[J]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216(2): 152803.

[2] 王天浩, 闫飞, 袁建林, 等. 线粒体 DNA D-loop 基因多态性与肾透明细胞癌发病的相关性分析[J]. *西部医学*, 2018, 30(6): 823-826.

[3] ZHONG B, QIN Z, ZHOU H, *et al.* microRNA-505 negatively regulates HMGB1 to suppress cell proliferation in renal cell carcinoma[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(9): 15025-15034.

[4] JIN Q, DAI Y, WANG Y, *et al.* High kinesin family member 11 expression predicts poor prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. *J Clin Pathol*, 2019, 72(5): 354-362.

[5] ZHAO Y, YE D, LUO Q, *et al.* Pterostilbene Inhibits Human Renal Cell Carcinoma Cells Growth and Induces DNA Damage[J]. *Biol Pharm Bull*, 2020, 43(2): 258-265.

[6] SHENG I Y, RINI B I. Immunotherapy for renal cell carcinoma[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2019, 19(9): 897-905.

[7] VAN PATOT MC, GASSMANN M. Hypoxia: adapting to high altitude by mutating EPAS-1, the gene encoding HIF-2 $\alpha$ [J]. *High Alt Med Biol*, 2011, 12(2): 157-167.

[8] JI P, XUAN J W, ONITA T, *et al.* Correlation study showing no concordance between EPAS-1/HIF-2 $\alpha$  mRNA and protein expression in transitional cellcancer of the bladder[J]. *Urology*, 2003, 61(4): 851-853.

[9] 刘时飞, 刘爱东, 宋旭东, 等. 胃腺癌 eIF2 $\alpha$  的表达及意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2018, 34(6): 668-670.

[10] 刘爱东, 张爽, 庞久玲, 等. 结肠腺癌组织中 DNA 结合/分化抑制蛋白 2 的表达特征及与细胞增殖的关系[J]. *中国综合临床*, 2021, 37(2): 123-128.

[11] LALANI A A, MCGREGOR B A, ALBIGES L, *et al.* Systemic Treatment of Metastatic Clear Cell Renal Cell Carcinoma in 2018: Current Paradigms, Use of Immunotherapy, and Future Directions[J]. *Eur Urol*, 2019, 75(1): 100-110.

[12] 黄美莎, 江丽, 刘京, 等. 藏族高原适应性相关研究及法医学应用展望[J]. *刑事技术*, 2018, 43(6): 481-484.

[13] 李翠莹, 李小微, 刘娟, 等. EPAS1 基因不同单体型与高原低氧适应的相关性研究[J]. *中国输血杂志*, 2017, 30(8): 863-866.

[14] 朱逸之, 周晓莉, 顾文贤, 等. 膀胱副神经节瘤组织中 SDHB、EPAS1 及 Ki-67 表达的研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2020, 40(12): 1774-1778.

[15] SUN R, MENG X, PU Y, *et al.* Overexpression of HIF-1 $\alpha$  could partially protect K562 cells from 1,4-benzoquinone induced toxicity by inhibiting ROS, apoptosis and enhancing glycolysis[J]. *Toxicol In Vitro*, 2019, 55: 18-23.

[16] WANG X, CAO P, LI Z, *et al.* EPAS-1 mediates SP-1-dependent FBI-1 expression and regulates tumor cell survival and proliferation[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(9): 15689-15699.

[17] 韩永建, 常荣. 内皮 PAS 区域蛋白 1 与低氧适应关系的研究进展[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2016, 24(2): 4-6.

[18] DAS N K, SCHWARTZ A J, BARTHEL G, *et al.* Microbial Metabolite Signaling Is Required for Systemic Iron Homeostasis[J]. *Cell Metab*, 2020, 31(1): 115-130.

[19] CHAVEZ JC, BARANOVA O, LIN J, *et al.* The transcriptional activator hypoxia inducible factor 2 (HIF-2/EPAS-1) regulates the oxygen-dependent expression of erythropoietin in cortical astrocytes[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(37): 9471-9481.

- E3 ligase complex during chromosome segregation [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(42): 17178-17189.
- [5] ZHANG X, PAN Y, FU H, *et al.* Nucleolar and Spindle Associated Protein 1 (NUSAP1) Inhibits Cell Proliferation and Enhances Susceptibility to Epirubicin In Invasive Breast Cancer Cells by Regulating Cyclin D Kinase (CDK1) and DLGAP5 Expression [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24(9):8553-8564.
- [6] 王金文, 文秋元, 李弘夏, 等. 核仁纺锤体相关蛋白在恶性肿瘤中作用的研究进展 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2019, 35(12): 1446-1449.
- [7] 于哲, 李晓敏, 槐梅, 等. 核仁纺锤体相关蛋白 1 在非小细胞肺癌中的表达及其与患者预后的关系 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 41(7): 522-526.
- [8] 周红菊, 周敏. NUSAP1 在浆液性卵巢癌中的表达及其临床意义 [J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(16): 2913-2917.
- [9] 阳凯, 董丰铭, 刘屹立. NUSAP1 在膀胱尿路上皮癌中的表达及对预后评估的价值 [J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(13): 2330-2334.
- [10] MA H Q, LIANG X T, ZHAO J J, *et al.* Decreased expression of Neurensin-2 correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(38): 4844-4848.
- [11] 周述银, 周健, 张茂. 长非编码 RNA PCAT7 对肌层浸润性膀胱癌发病的影响 [J]. *南昌大学学报(医学版)*, 2019, 59(5): 21-23, 51.
- [12] 汪勇, 郭驯, 刘林海, 等. 腹腔镜膀胱癌根治术及回肠膀胱术与开放手术的临床对照研究 [J]. *西部医学*, 2016, 28(7): 983-986.
- [13] 郝瀚, 吴鑫, 郑卫, 等. 膀胱尿路上皮癌淋巴结转移特点: 单中心 522 例膀胱根治性切除病例回顾 [J]. *北京大学学报(医学版)*, 2014, 46(4): 524-527.
- [14] CHOU H Y, WANG T H, LEE S C, *et al.* Phosphorylation of NuSAP by Cdk1 regulates its interaction with microtubules in mitosis [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(23): 4083-4089.
- [15] GUO D, NILSSON J, HAAPASALO H, *et al.* Perinuclear leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domain proteins (LRIG1-3) as prognostic indicators in astrocytic tumors [J]. *Acta Neuropathol*, 2006, 111(3): 238-246.
- [16] GORDON C A, GONG X, GANESH D, *et al.* NUSAP1 promotes invasion and metastasis of prostate cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(18): 29935-29950.
- [17] JI Y F, LI T, JIANG F, *et al.* Correlation between S100A11 and the TGF-beta1/SMAD4 pathway and its effects on the proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cell line PANC-1 [J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 450(1-2): 53-64.
- [18] 陈波, 李悦, 位云艳, 等. 非小细胞肺癌中 NUSAP1 的表达及临床意义 [J]. *国际呼吸杂志*, 2017, 37(22): 1681-1684.
- [19] 张顺礼, 王雅琪, 胡继卫, 等. 乳腺癌组织中核仁纺锤体相关蛋白 1 表达与腋窝淋巴结转移的关系 [J]. *肿瘤学杂志*, 2020, 26(11): 957-961.
- [20] 张猛, 杨定华, 刘萧, 等. 肝癌手术切缘 Nusap1 基因蛋白表达与早期复发的关系 [J]. *南方医科大学学报*, 2013, 33(6): 937-938.
- [21] LUGHEZZANI G, SUN M, JELDRES C, *et al.* Adenocarcinoma versus urothelial carcinoma of the urinary bladder: comparison between pathologic stage at radical cystectomy and cancer-specific mortality [J]. *Urology*, 2010, 75(2): 376-381.
- [22] 斯热努尔·艾合买提, 张瑞丽, 魏媛, 等. 肌层浸润性膀胱癌患者根治术后预后相关因素分析 [J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(17): 2995-2999.
- [23] GORDON C A, GULZAR Z G, BROOKS J D. NUSAP1 expression is upregulated by loss of RB1 in prostate cancer cells [J]. *Prostate*, 2015, 75(5): 517-526.
- [24] 何龙, 李建军. 改良腹腔镜下根治性膀胱切除+盆腔淋巴结清扫术治疗女性 T2 期膀胱癌的有效性和随访结果分析 [J]. *中国医学工程*, 2019, 27(10): 71-74.
- [25] 李勇, 石思雅, 朱望舒, 等. 膀胱癌盆腔正常大小的淋巴结转移: CT、MRI 评价的比较 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2017, 38(8): 573-577.

(收稿日期: 2021-02-22; 修回日期: 2021-04-24; 编辑: 王小菊)

(上接第 239 页)

- [20] ZAKHAROVA E T, SOKOLOV A V, PAVLICHENKO N N, *et al.* Erythropoietin and Nrf2: key factors in the neuroprotection provided by apo-lactoferrin [J]. *Biometals*, 2018, 31(3): 425-443.
- [21] SCHELKER R C, HERR W, GRASSINGER J. A new exon 12 mutation in the EPAS1 gene possibly associated with erythrocytosis [J]. *Eur J Haematol*, 2019, 103(1): 64-66.
- [23] 陈丽华, 朱婕曼, 刘玉凤, 等. miR-34、MDM2、EPAS-1 在子宫内膜癌中的表达及与临床特征的相关性分析 [J]. *解放军医药杂志*, 2020, 32(7): 38-40.
- [23] 钟巍, 陈思宇, 王学虎, 等. 过表达 Survivin 通过调控缺氧血管内皮细胞 EPAS1 和 CHOP-10 表达影响细胞增殖、凋亡 [J]. *重庆医科大学学报*, 2018, 43(11): 1437-1439.
- [24] ZHAO J, BAI Z, FENG F, *et al.* Cross-talk between EPAS-1/HIF-2 $\alpha$  and PXR signaling pathway regulates multi-drug resistance of stomach cancer cell [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 72: 73-88.
- [25] 王秋, 林川, 彭生才, 等. 肾癌患者血清 VHL 和 HIF-1 $\alpha$  和 HIF-2 $\alpha$  的表达及其与预后的相关性 [J]. *西部医学*, 2020, 32(7): 1053-1055.
- [26] 王雪艳, 苟潇, 李继中. 内皮 PAS-1 蛋白 (EPAS1) 基因的研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2013, 41(8): 3316-3318.

(收稿日期: 2021-04-02; 修回日期: 2021-10-08; 编辑: 王小菊)