

丹参酮 II A对低氧培养下人胃癌SGC7901细胞增殖、凋亡及HIF-1 α 表达的影响

宗绪山, 冯玉光, 王鑫, 邢国辉, 吴美英, 朱芸

■背景资料

肿瘤微环境低氧是多种肿瘤的特点, 是导致肿瘤发生发展的重要原因。寻找低氧下对肿瘤有抑制作用的小分子化合物是目前国际肿瘤界热点。中医学理论认为, “瘀血在经络脏腑之间, 结为症瘕(肿瘤)”, 并以此为依据采用活血化瘀抗肿瘤的治疗。本课题组推测中医所指的“瘀血”在分子细胞水平很可能就是肿瘤的缺氧现象。

宗绪山, 王鑫, 邢国辉, 吴美英, 朱芸, 潍坊医学院 山东省潍坊市 261042

冯玉光, 潍坊医学院附属医院消化内科 山东省潍坊市 261042

宗绪山, 2006级潍坊医学院研究生, 主要从事消化系统肿瘤的研究。山东省中医管理局中医药科技发展计划基金资助项目, No. 2007-156

作者贡献分布: 此课题由冯玉光与宗绪山设计; 研究过程由宗绪山, 王鑫, 邢国辉, 吴美英及朱芸共同完成; 研究用新试剂及分析工具由冯玉光提供; 数据分析由宗绪山完成; 本论文写作由宗绪山与冯玉光完成。

通讯作者: 冯玉光, 副教授, 261042, 山东省潍坊市胜利东街288号, 潍坊医学院附属医院消化内科。f-yg2008@163.com
电话: 0536-8068885

收稿日期: 2008-12-22 修回日期: 2009-02-12

接受日期: 2009-02-16 在线出版日期: 2009-03-08

Effects of Tan II A on the proliferation, apoptosis and expression of HIF-1 α of human gastric cancer cell line SGC7901 under hypoxia

Xu-Shan Zong, Yu-Guang Feng, Xin Wang, Guo-Hui Xing, Mei-Ying Wu, Yun Zhu

Xu-Shan Zong, Xin Wang, Guo-Hui Xing, Mei-Ying Wu, Yun Zhu, Weifang Medical College, Weifang 261042, Shandong Province, China

Yu-Guang Feng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang 261042, Shandong Province, China

Supported by: the Foundation from Administration Bureau of Chinese Medicine of Shandong Province, No. 2007-156

Correspondence to: Yu-Guang Feng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang 261042, Shandong Province, China. f-yg2008@163.com

Received: 2008-12-22 Revised: 2009-02-12

Accepted: 2009-02-16 Published online: 2009-03-08

Abstract

AIM: To study the effects of Tan II A on the proliferation, apoptosis and expression of HIF-1 α of human gastric cancer cell line SGC7901 under hypoxia.

METHODS: The model of hypoxia was established by CoCl₂. There were four groups: normal control group, hypoxia control group, and hypoxia combined with different concen-

trations of Tan II A group. After Tan II A was added to the media with 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 and 10.0 mg/L, respectively for 24, 48 and 72 h during hypoxia, and the cells' proliferative vitality was detected by MTT. After Tan II A was added to the media with 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 and 10.0 mg/L respectively for 48 and 72 h during hypoxia, the apoptosis of SGC7901 human gastric cancer cells was detected by HOECHST staining. After Tan II A was added to the media with 0.5, 2.0 and 10.0 mg/L respectively for 48 h during hypoxia, the expression of HIF-1 α protein was detected by immunocytochemical staining.

RESULTS: MTT confirmed that the proliferation of SGC7901 cancer cells was obviously inhibited by Tan II A ($P < 0.01$) in a dose- and time-dependent manner under hypoxia, and the inhibition rate reached 71.2% after treatment with 10 mg/L Tan II A for 72 h. HOECHST staining found Tan II A induced apoptosis of gastric cancer cells in a dose- and time-dependent manner after treatment with 0.5-10.0 mg/L Tan II A for 48 h and 72 h respectively under hypoxia ($F = 60354.00, 187922.10$, both $P < 0.05$), and the apoptosis rate reached 40.70% \pm 1.55% after treatment with 10.0 mg/L Tan II A for 72 h. Immunocytochemical staining revealed that the expression of HIF-1 α protein was inhibited by Tan II A in a dose-dependent manner under hypoxia ($F = 712.326, P < 0.01$).

CONCLUSION: Tan II A inhibits the proliferation of SGC7901 human gastric cancer cells and induces the apoptosis of them under hypoxia, which may be related to the down regulation of HIF-1 α protein expression by Tan II A.

Key Words: Tan II A; Hypoxia; Gastric cancer cell; Apoptosis; Hypoxia inducible factor-1 alpha

Zong XS, Feng YG, Wang X, Xing GH, Wu MY, Zhu Y. Effects of Tan II A on the proliferation, apoptosis and expression of HIF-1 α of human gastric cancer cell line SGC7901 under hypoxia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(7): 642-646

■同行评议者

唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

摘要

目的: 观察丹参酮 II A(Tan II A)对低氧培养下人胃癌SGC7901细胞增殖、凋亡及HIF-1 α 表达的影响。

方法: 用氯化钴(CoCl_2)创建低氧模型, 设常氧对照组、低氧对照组和低氧加不同浓度Tan II A组。分别取0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L的Tan II A干预低氧胃癌SGC7901细胞24、48、72 h后, MTT法检测细胞活力; 用上述同样浓度的Tan II A干预低氧胃癌细胞48 h和72 h后, HOECHST染色法检测细胞凋亡。Tan II A(0.5、2.0、10.0 mg/L)干预低氧胃癌细胞48 h后, 免疫细胞化学二步法检测HIF-1 α 蛋白表达的变化。

结果: MTT法证实, 低氧条件下, Tan II A呈时间、剂量依赖性地抑制胃癌SGC-7901细胞增殖($P < 0.01$), 10.0 mg/L Tan II A作用细胞72 h后, 其抑制率达71.2%。HOECHST染色法发现, 低氧条件下, 分别用0.5-10.0 mg/L浓度的Tan II A作用胃癌细胞48、72 h, Tan II A可呈时间、剂量依赖性地诱导胃癌SGC-7901细胞凋亡($F = 60354.00, 187922.10$, 均 $P < 0.05$), 10.0 mg/L Tan II A作用细胞72 h后, 凋亡率达 $40.70\% \pm 1.55\%$ 。免疫细胞化学法显示, Tan II A呈剂量依赖性地抑制低氧诱导的HIF-1 α 蛋白表达($F = 712.326, P < 0.01$)。

结论: 低氧条件下, Tan II A抑制胃癌细胞增殖并诱导其凋亡, 这种作用可能与其抑制HIF-1 α 蛋白表达有关。

关键词: 丹参酮 II A; 低氧; 胃癌细胞; 凋亡; 低氧诱导因子-1 α

宗绪山, 冯玉光, 王鑫, 邢国辉, 吴美英, 朱芸. 丹参酮 II A对低氧培养下人胃癌SGC7901细胞增殖、凋亡及HIF-1 α 表达的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(7): 642-646
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/642.asp>

0 引言

肿瘤低氧是多种实体瘤包括胃癌的特点, 而低氧环境下低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF-1 α)的表达是肿瘤发生发展、血管生成、放疗抵抗、恶性演进、侵袭与转移的关键环节之一^[1-4, 10-11]。特别是低氧导致克隆选择, 使恶性程度高、凋亡机制缺陷的肿瘤细胞群得以在低氧环境下逆境生存增殖并对各种化疗药物耐药, 使肿瘤不断演进^[5-9]。因此, 寻找低氧下对肿瘤有抑制作用或抑制HIF-

1 α 表达或活性的小分子化合物是目前国际肿瘤界热点^[12-17]。而中医学理论认为, “瘀血在经络脏腑之间, 结为症瘕(肿瘤)”, 并以此为依据采用活血化瘀抗肿瘤的治则治疗肿瘤, 取得了良好的治疗效果, 但其分子机制尚待深入探索^[18]。我们推测, 肿瘤低氧现象和中医的“瘀血”理论暗合。丹参是著名的活血化瘀中药, 丹参酮 II A(Tan II A)是其重要单体成分之一, 临床和基础研究表明, 丹参及Tan II A具有抗肿瘤活性, 目前已发现其对多种肿瘤细胞具有生长抑制、诱导凋亡和诱导分化作用, 并调节多种肿瘤相关基因的表达^[19]。根据前述理论, 我们推测Tan II A活血化瘀抗肿瘤的分子机制可能是通过抑制低氧微环境下肿瘤细胞HIF-1 α 的表达或活性发挥抗肿瘤作用。Tan II A对低氧肿瘤的影响未见报道。本课题研究了Tan II A对经典低氧模拟剂氯化钴(CoCl_2)^[20]培养的胃癌SGC7901细胞增殖、凋亡和HIF-1 α 表达的影响, 以深化对丹参及其有效成分活血化瘀抗肿瘤作用和机制的认识, 为其抗肿瘤的临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株SGC7901购自山东省医学科学院, 接种于含100 mL/L胎牛血清、青霉素、链霉素各 1×10^5 U/L的RPMI 1640培养液中, 置37 $^{\circ}\text{C}$, 50 mL/L CO_2 培养箱内常规传代培养。丹参酮 II A(Tan II A)为中国药品生物制品检定所的标准品, 用二甲亚砜(DMSO)溶解, 终浓度为0.2 g/L, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏备用。HOECHST32258荧光染色试剂盒及 CoCl_2 购于美国Sigma公司。RPMI 1640培养基、MTT均购自美国Gibco公司。胎牛血清(杭州四季青), HIF-1 α mAb及PV-9000免疫组化试剂盒均为北京中山金桥生物技术有限公司产品。二氧化碳恒温培养箱(HREA Cell Germany); TE300倒置显微镜及BH-2型荧光显微镜(Olympus公司)。

1.2 方法

1.2.1 MTT法测定Tan II A对低氧下培养的胃癌细胞生长的抑制率: 取对数生长期的人胃癌SGC7901细胞, 按照 3×10^7 /L的密度接种于96孔培养板, 每孔体积为100 μL , 设常氧对照组、低氧模拟剂(CoCl_2 , 150 $\mu\text{mol/L}$)对照组及 CoCl_2 加Tan II A组, 待细胞贴壁后分别加入 CoCl_2 及Tan II A(0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L), 每个浓度组设6个复孔, 四周加入不含药物的细胞培养液为空白对照。分别培养至24、48、72 h后, 每孔加入5 g/L的MTT溶液20 μL , 继续培养4 h, 轻轻

■ 研发前沿

依据中医的“瘀血”理论, 从活血化瘀中药中筛选在低氧环境下对肿瘤有抑制作用的小分子化合物具有广阔的前景, 同时有助于揭示活血化瘀药物抗肿瘤的分子机制, 具有重要的理论和临床价值。

■创新盘点

本研究选择典型的活血化癥中药丹参的主要有效单体成分丹参酮II A, 从低氧角度阐明其活血化癥抗肿瘤微观机制, 达到中西医两种理论的内在统一。

表 1 不同浓度Tan II A干预对低氧SGC-7901细胞增殖活性的影响 (mean ± SD, n = 6)

	24 h		48 h		72 h	
	A值	IR(%)	A值	IR(%)	A值	IR(%)
常氧组	0.496 ± 0.042		0.722 ± 0.028		0.834 ± 0.030	
低氧组	0.407 ± 0.014	18.0	0.582 ± 0.035	19.4	0.659 ± 0.035	21.4
低氧加Tan II A组(mg/L)						
0.5	0.395 ± 0.024	22.0	0.516 ± 0.019	27.8	0.602 ± 0.020	28.6
1.0	0.370 ± 0.026	26.0	0.438 ± 0.031	38.9	0.506 ± 0.020	39.3
2.0	0.329 ± 0.017	34.0	0.365 ± 0.048	48.6	0.432 ± 0.037	48.8
5.0	0.294 ± 0.113	40.0	0.295 ± 0.026	59.7	0.331 ± 0.016	60.7
10.0	0.251 ± 0.028	50.0	0.220 ± 0.034	69.4	0.290 ± 0.013	71.2

吸尽上清液, 加入二甲基亚砷150 μL/每孔, 振荡10 min, 在酶标仪上以490 nm波长测每孔的吸光度A值, 并取6孔的平均值, 细胞生长抑制率 = (A常氧对照组 - A低氧对照组或用药组) / A常氧对照组 × 100%。

1.2.2 HOECHST染色法检测Tan II A对低氧下培养的胃癌细胞凋亡的影响: 取对数生长期的SGC7901制成 2×10^8 /L的细胞悬液, 每孔0.5 mL, 加入放有盖玻片的24孔板内, 设常氧对照组、低氧模拟剂CoCl₂(150 μmol/L)对照组及CoCl₂加不同浓度Tan II A组, 待细胞贴壁后分别加入CoCl₂及Tan II A(0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L)作用48 h和72 h后分别取出细胞爬片, 甲醇/冰醋酸固定液固定5 min后, 加入荧光染液HOECHST33258重悬细胞, 室温避光1 h, PBS冲洗, 用抗荧光液封片。判定标准: 正常细胞核为蓝色, 凋亡的细胞核为白色。每片连续观察10个细胞分布均匀的200倍镜视野, 每视野计数50个细胞, 共500个细胞, 计算其阳性率百分数, 并取其均值。凋亡率 = 凋亡细胞数 / (正常细胞数 + 凋亡细胞数)。

1.2.3 免疫细胞化学二步法观察Tan II A对低氧下培养的胃癌细胞HIF-1α表达的影响: 取对数生长期的SGC7901制成 2×10^8 /L的细胞悬液, 每孔0.5 mL, 加入放有盖玻片的24孔板内, 设常氧对照组、低氧模拟剂CoCl₂(150 μmol/L)对照组及CoCl₂加不同浓度Tan II A组, 待细胞贴壁后分别加入CoCl₂及不同浓度的Tan II A(0.5、2.0、10.0 mg/L), 48 h后取出细胞爬片, 冷丙酮固定5 min, PBS冲洗, 按PV-9000试剂盒步骤检测HIF-1α, DAB显色, 脱水, 透明, 中性树胶封片。用已知阳性的乳腺癌切片作为阳性对照, 以PBS代替一抗作为阴性对照。结果判定: HIF-1α阳性结果为细胞质或胞核内有棕黄色颗粒出现。采用HPAIS-1000彩色病理图文分析系统, 检测HIF-

表 2 不同浓度Tan II A干预对低氧SGC-7901细胞凋亡率的影响 (mean ± SD, n = 6, %)

	48 h	72 h
常氧组	1.07 ± 0.13	2.32 ± 0.16
低氧组	3.01 ± 0.35	5.07 ± 0.32
低氧加Tan II A组(mg/L)		
0.5	4.23 ± 0.39	6.74 ± 0.34
1.0	6.73 ± 0.58	10.05 ± 0.48
2.0	11.06 ± 1.30	18.87 ± 1.24
5.0	20.58 ± 1.46	26.97 ± 1.77
10.0	31.03 ± 1.47	40.70 ± 1.55

1α阳性细胞的平均A值, 以间接反映HIF-1α蛋白的表达量, 并取其均值。

统计学处理 数据用mean ± SD表示, 组间比较用t检验和方差分析, 用SPSS13.0统计软件分析。

2 结果

2.1 Tan II A对低氧下培养的胃癌细胞生长的抑制作用 低氧下胃癌细胞的增殖受抑制, 并呈时间依赖性; 而Tan II A则可呈剂量和时间依赖性进一步抑制低氧胃癌细胞的生长(24 h F值63.804, P < 0.05; 48 h F值166.895, P < 0.01; 72 h F值405.185, P < 0.01), 10.0 mg/L Tan II A作用细胞72 h后, 其抑制率达71.2%(表1)。

2.2 Tan II A对低氧下培养的胃癌细胞凋亡的影响 常氧组细胞培养48、72 h, 只有少数细胞发生凋亡; 单纯低氧培养48、72 h, 细胞凋亡率分别为3.01 ± 0.35、5.07 ± 0.32, 提示低氧可诱导胃癌细胞凋亡(单纯低氧组与常氧对照组比较P = 0.001)。而0.5-10.0 mg/L浓度的Tan II A低氧下作用胃癌细胞48、72 h, 凋亡率呈浓度和时间依赖性进一步升高(24 h F值60354.00, P < 0.05; 48 h F值187922.10, P < 0.01, 表2)。10.0 mg/L Tan II A

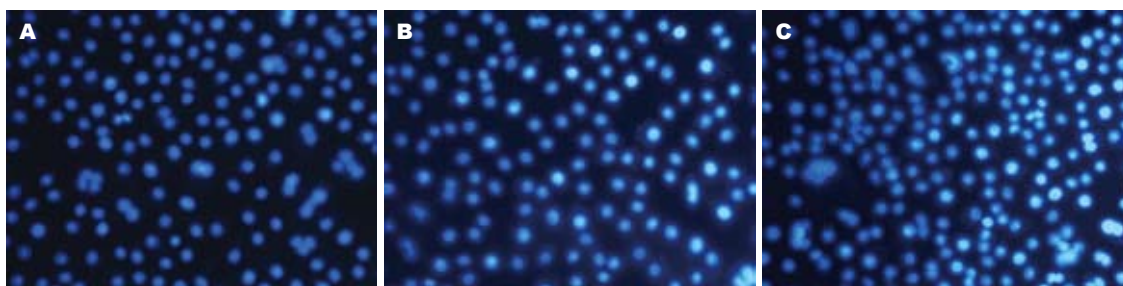


图 1 胃癌细胞株SGC7901细胞的凋亡(HOECHST染色法 $\times 200$). A: 常氧对照组; B: 低氧对照组; C: 低氧加10.0 mg/L Tan II A组.

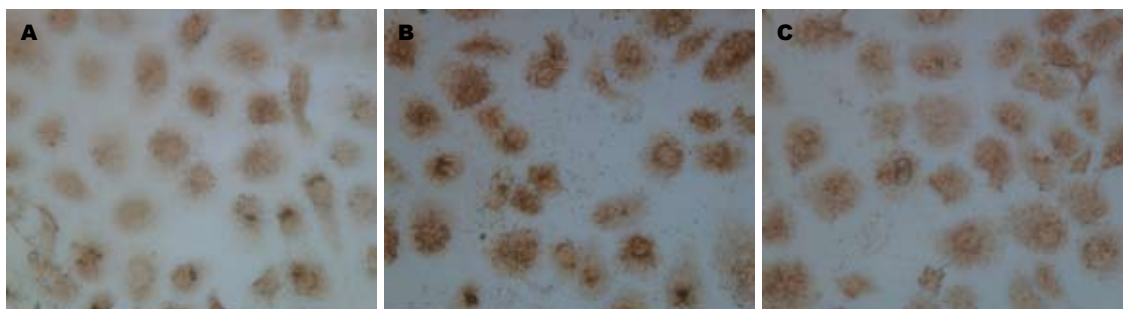


图 2 胃癌细胞株SGC7901 HIF-1 α 蛋白的表达(免疫细胞化学二步法 $\times 400$). A: 常氧对照组; B: 低氧对照组; C: 低氧加10.0 mg/L Tan II A组.

低氧培养72 h后细胞凋亡率达 40.70 ± 1.55 (图1).
2.3 Tan II A对低氧下培养的胃癌细胞HIF-1 α 表达的影响 常氧对照组HIF-1 α 蛋白呈低水平表达, 单纯低氧培养细胞48 h后HIF-1 α 蛋白表达明显增高, 而低氧加Tan II A组HIF-1 α 蛋白表达随Tan II A浓度的增加而逐渐降低. 常氧组、单纯低氧组、低氧加Tan II A 0.5、2.0、10.0 mg/L 各组A值分别为 0.177 ± 0.019 、 0.670 ± 0.044 、 0.552 ± 0.035 、 0.438 ± 0.031 、 0.379 ± 0.034 . 说明Tan II A呈剂量依赖性的抑制低氧诱导的HIF-1 α 的表达($F = 712.326, P < 0.01$, 图2).

3 讨论

肿瘤低氧是多种实体瘤包括胃癌的特点, 其缺氧主要是由于实体瘤低分化, 恶性程度高, 生长迅速, 血管生长的相对滞后, 常常引起血供不足, 循环和淋巴系统紊乱. 而HIF-1 α 的表达, 是肿瘤发生发展、血管生成、放化疗抵抗、恶性演进、侵袭与转移的关键环节之一^[1-11]. 低氧还导致肿瘤基因组和蛋白质组不稳定, 通过克隆选择, 使发生肿瘤相关基因突变的肿瘤细胞亚群在低氧逆境下生存增殖, 耐受放化疗打击, 进而浸润转移^[5-9]. 因此, 探索低氧环境下有效的抗肿瘤药物已经成为国内外学者的共识^[12-17]. 已经发现, 作为丹参的主要有效提取成分, Tan II A在常氧下抑制人肺癌细胞、鼻咽癌细胞、肝癌细

胞、胃癌细胞等多种实体瘤肿瘤细胞以及人早幼粒白血病细胞及其耐药细胞株的增殖, 诱导肿瘤细胞凋亡及分化^[19], 然而低氧下Tan II A对肿瘤细胞包括胃癌细胞的影响尚未见报道. 本研究通过细胞增殖抑制实验发现, 与常氧组比较, 低氧下胃癌细胞增殖减慢, 而Tan II A对低氧下胃癌细胞的生长增殖具有进一步的抑制作用, 10.0 mg/L浓度时其抑制率达71.2%, 并呈剂量、时间依赖性. 有研究表明, 低氧对肿瘤细胞周期有明显影响, 低氧使肿瘤细胞停止于G₁/S期, 而这种细胞群不易被放化疗手段杀伤, 成为放化疗抵抗的原因之一^[20-22]. 而我们的结果表明, Tan II A对低氧下的胃癌细胞增殖有明显抑制作用, 推测Tan II A可能对处于G₁/S期的低氧细胞群有杀伤或诱导凋亡作用. 我们应用HOECHST染色法进一步观察了Tan II A对低氧下培养的胃癌细胞凋亡的影响. 结果表明, 低氧本身可一定程度的诱导胃癌细胞凋亡, 而Tan II A则可呈剂量和时间依赖性的诱导胃癌细胞进一步凋亡, 结合MTT结果, 我们推测Tan II A可能对处于细胞周期各期特别是G₁/S期的细胞群均有诱导凋亡作用. 研究表明, 低氧环境下, 多种肿瘤细胞包括胃癌细胞存在凋亡异常, 一方面低氧使凋亡敏感细胞群发生凋亡, 另一方面低氧使凋亡耐受细胞群得以克隆增殖进而成为具有放化疗抵抗和高侵袭转移能力的优势细胞群, 这种细

■应用要点

本研究发现, 低氧条件下, 丹参酮 II A可抑制胃癌细胞增殖并诱导其凋亡, 这种作用可能与其抑制HIF-1 α 蛋白表达有关. 该研究结果表明, 丹参酮 II A可能是对低氧肿瘤有效的小分子单体化合物. 通过该研究, 初步揭示了丹参活血化瘀药物抗肿瘤的分子机制, 为其抗肿瘤的临床应用提供了初步理论依据.

■同行评价

本研究结合肿瘤低氧特点探索中药来源的单体成分丹参酮的作用机制,具有一定的新意,如能进一步进行中药或者复方研究,则更有临床应用前景和价值。

胞群的治疗是放化疗的难点^[5-9]。我们的结果提示, Tan II A可能对此类细胞群具有诱导凋亡作用。HIF-1是低氧条件下由HIF-1 α 和HIF-1 β 两个亚单位聚合产生的一种异源二聚体转录因子,是调控多种低氧反应靶基因表达的关键转录因子。其中HIF-1 α 蛋白在低氧下稳定,而常氧下则被泛素-蛋白酶系统迅速降解;而HIF-1 β 则呈组成性表达,不受氧分压的调控^[3]。研究发现HIF-1通过调控多种靶基因的表达以及与肿瘤相关基因的相互作用,对肿瘤的发生发展、血管生成、放化疗抵抗、恶性演进、侵袭与转移、克隆选择与凋亡抵抗等有重要影响^[1-11]。多数研究表明, HIF-1 α 表达升高使肿瘤细胞耐受凋亡,放化疗抵抗,这与肿瘤细胞的癌基因和抑癌基因的具体变化有关^[23-26]。我们应用免疫细胞化学法发现:常氧下胃癌SGC7901细胞HIF-1 α 呈低水平表达,低氧下HIF-1 α 表达明显增高,而Tan II A可呈剂量依赖性地抑制低氧下HIF-1 α 的表达。因此,我们推测Tan II A诱导低氧胃癌细胞凋亡的作用可能与其抑制HIF-1 α 的表达相关。总之,我们的初步研究结果表明, Tan II A在低氧下可抑制胃癌细胞的增殖,并诱导其凋亡;其机制至少部分可能是通过抑制HIF-1 α 的表达来实现的。这一发现有助于揭示Tan II A活血化瘀抗肿瘤的分子机制。低氧下Tan II A对胃癌细胞的上述作用的具体分子机制值得进一步深入探讨。

4 参考文献

- Maxwell PH, Dachs GU, Gleadle JM, Nicholls LG, Harris AL, Stratford IJ, Hankinson O, Pugh CW, Ratcliffe PJ. Hypoxia-inducible factor-1 modulates gene expression in solid tumors and influences both angiogenesis and tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 8104-8109
- Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, Lim M, Hilton DA, Zagzag D, Buechler P, Isaacs WB, Semenza GL, Simons JW. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 α in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* 1999; 59: 5830-5835
- Höckel M, Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 266-276
- Stoeltzing O, McCarty MF, Wey JS, Fan F, Liu W, Belcheva A, Bucana CD, Semenza GL, Ellis LM. Role of hypoxia-inducible factor 1 α in gastric cancer cell growth, angiogenesis, and vessel maturation. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 946-956
- Semenza GL. Hypoxia, clonal selection, and the role of HIF-1 in tumor progression. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2000; 35: 71-103
- Bangoura G, Yang LY, Huang GW, Wang W. Expression of HIF-2 α /EPAS1 in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 525-530
- Zhou J, Schmid T, Schnitzer S, Brüne B. Tumor

- hypoxia and cancer progression. *Cancer Lett* 2006; 237: 10-21
- Shannon AM, Bouchier-Hayes DJ, Condron CM, Toomey D. Tumour hypoxia, chemotherapeutic resistance and hypoxia-related therapies. *Cancer Treat Rev* 2003; 29: 297-307
- Graeber TG, Osmanian C, Jacks T, Housman DE, Koch CJ, Lowe SW, Giaccia AJ. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Nature* 1996; 379: 88-91
- 郭花, 朱金水. 低氧微环境与胃癌. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2381-2384
- 周炜, 姜政. 低氧诱导因子-1与消化道肿瘤的研究进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2620-2625
- Melillo G. Inhibiting hypoxia-inducible factor 1 for cancer therapy. *Mol Cancer Res* 2006; 4: 601-605
- Rapisarda A, Uranchimeg B, Scudiero DA, Selby M, Sausville EA, Shoemaker RH, Melillo G. Identification of small molecule inhibitors of hypoxia-inducible factor 1 transcriptional activation pathway. *Cancer Res* 2002; 62: 4316-4324
- Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 721-732
- Melillo G, Semenza GL. Meeting report: exploiting the tumor microenvironment for therapeutics. *Cancer Res* 2006; 66: 4558-4560
- Powis G, Kirkpatrick L. Hypoxia inducible factor-1 α as a cancer drug target. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 647-654
- Wouters A, Pauwels B, Lardon F, Vermorken JB. Review: implications of in vitro research on the effect of radiotherapy and chemotherapy under hypoxic conditions. *Oncologist* 2007; 12: 690-712
- 闫俊杰, 陈信义. 恶性肿瘤与活血化瘀研究进展. *北京中医药大学学报* 2000; 23: 77-79
- 徐俊丽, 和水祥. 丹参酮抗肿瘤作用机制的研究进展. *西北药学杂志* 2006; 21: 188-190
- Yuan Y, Hilliard G, Ferguson T, Millhorn DE. Cobalt inhibits the interaction between hypoxia-inducible factor- α and von Hippel-Lindau protein by direct binding to hypoxia-inducible factor- α . *J Biol Chem* 2003; 278: 15911-15916
- 李建军, 李宏宇, 辛彦, 陈延治, 李光, 刘意, 张素敏, 吴东瑛. 乏氧对胃癌细胞系MGC803细胞周期、乏氧相关基因和蛋白表达的影响. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 2539-2542
- Gardner LB, Li Q, Park MS, Flanagan WM, Semenza GL, Dang CV. Hypoxia inhibits G1/S transition through regulation of p27 expression. *J Biol Chem* 2001; 276: 7919-7926
- Sullivan R, Paré GC, Frederiksen LJ, Semenza GL, Graham CH. Hypoxia-induced resistance to anticancer drugs is associated with decreased senescence and requires hypoxia-inducible factor-1 activity. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 1961-1973
- Liu L, Ning X, Sun L, Zhang H, Shi Y, Guo C, Han S, Liu J, Sun S, Han Z, Wu K, Fan D. Hypoxia-inducible factor-1 α contributes to hypoxia-induced chemoresistance in gastric cancer. *Cancer Sci* 2008; 99: 121-128
- Greijer AE, van der Wall E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis. *J Clin Pathol* 2004; 57: 1009-1014
- Kilic M, Kasperczyk H, Fulda S, Debatin KM. Role of hypoxia inducible factor-1 α in modulation of apoptosis resistance. *Oncogene* 2007; 26: 2027-2038