DOI:10.16016/j.1000-5404.201508064

缺氧诱导因子1α和2型谷氨酰胺酶在结直肠癌中的表达及临床意义

李 妮,谢赣丰,李文花,梁后杰 (400038 重庆,第三军医大学西南医院肿瘤科)

[摘要] **目的** 检测缺氧诱导因子1α(hypoxia-inducible factor 1α,HIF-1α)和2型谷氨酰胺酶(glutaminase 2,GLS2)在结直肠癌中的表达,探讨其临床意义。**方法** 应用免疫组化法检测本院结直肠癌术后108例组织标本(其中23例含癌旁黏膜组织)中HIF-1α和GLS2的表达,分析二者的表达与临床病理参数的相关性;采用Spearman等级相关分析检测HIF-1α和GLS2表达的相关性,Kaplan-Meier法分析结直肠癌中HIF-1α和GLS2的表达与患者预后的关系,Cox回归模型分析结直肠癌患者预后的影响因素。**结果** 结直肠癌组织中HIF-1α和GLS2的表达均高于癌旁黏膜组织,差异有统计学意义($P<0.01$)。HIF-1α的表达与结直肠癌患者年龄、TNM分期、淋巴结转移、术后远处转移密切相关($P<0.05$),而GLS2的表达与结直肠癌患者年龄、浸润深度、术后远处转移密切相关($P<0.05$)。HIF-1α和GLS2的表达显著正相关($r=0.464$,$P<0.01$),且均与结直肠癌的预后有关,Cox回归分析显示TNM分期、术后远处转移及HIF-1α、GLS2的表达均是结直肠癌预后的独立影响因素($P<0.05$)。**结论** 结直肠癌患者中HIF-1α、GLS2高表达预后均较低表达差,提示二者在结直肠癌的发生、发展中可能发挥重要作用。

[关键词] 结直肠癌;缺氧诱导因子1α;2型谷氨酰胺酶
[中图法分类号] R446.6; R730.23; R753.35 [文献标志码] A

Expression and clinical significance of hypoxia-inducible factor 1α and glutaminase 2 in colorectal cancer

Li Ni, Xie Ganfeng, Li Wenhua, Liang Houjie (Department of Oncology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression levels of hypoxia-inducible factor 1α (HIF-1α) and glutaminase 2 (GLS2) in colorectal cancer and explore their clinical significance. **Methods** Immunohistochemical staining was applied for the detection of HIF-1α and GLS2 in 108 samples of colorectal cancer and 23 adjacent mucosa tissues obtained through surgical treatment. The correlation between the expression of HIF-1α and GLS2 and clinicopathological features of patients with colorectal cancer was analyzed. Spearman rank correlation was used to detect the correlation between HIF-1α expression and GLS2 expression, Kaplan-Meier survival analysis was used to evaluate the impact of HIF-1α and GLS2 expression on postoperative survival of the patients with colorectal cancer. Cox univariate and multivariate prognostic analysis was utilized to explore the prognostic factors of the patients with colorectal cancer. **Results** The expression levels of HIF-1α and GLS2 were both significantly higher than in adjacent mucosa tissues ($P<0.01$). HIF-1α expression was closely correlated with age, TNM stage, lymphatic metastasis and postoperative distant metastasis ($P<0.05$), and GLS2 expression was closely correlated with age, invasion depth and postoperative distant metastasis ($P<0.05$). Spearman rank correlation analysis indicated that HIF-1α and GLS2 expression were positively correlated with the prognosis of colorectal cancer ($r=0.464$, $P<0.01$). Multivariate Cox analysis revealed that TNM stage, postoperative distant metastasis, and expression of HIF-1α

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81272364);国家自然科学基金青年科学基金(81301841);2014年重庆市研究生科研创新项目(CYS14198)

[通信作者] 梁后杰,E-mail: lianghoujie@sina.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151229.1537.004.html(2015-12-29)

and GLS2 played significant roles in the prediction of patient's prognosis ($P<0.05$). **Conclusion** High expression of HIF-1α and GLS2 predicts poor prognosis in the patients with colorectal cancer, indicating that they might play important roles in the occurrence and progression of the disease.

[**Key words**] colorectal cancer; hypoxia-inducible factor 1α; glutaminase 2

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81272364), the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81301841), and the Scientific Innovation Project for Graduate Students of Chongqing in 2014 (CYS14198). Corresponding author: Liang Houjie, E-mail: lianghoujie@sina.com

结直肠癌(colorectal cancer,CRC)是最常见的恶性肿瘤之一,也是引起全球癌症相关死亡的第四大因素[1-2]。缺氧是实体瘤的重要特征之一,可引起一系列基因转录和蛋白表达的改变,促进肿瘤的侵袭、转移,而缺氧诱导因子 1α(hypoxia-inducible factor 1α,HIF-1α)在其中发挥着重要作用[3-4]。HIF-1α 通过多种机制促进肿瘤糖酵解[4],但其调控谷氨酰胺代谢的机制目前尚不清楚。肿瘤细胞中的谷氨酰胺在 2 型谷氨酰胺酶(glutaminase 2,GLS2)的催化下水解成谷氨酸从而发挥回补作用,维持有效的三羧酸循环[5]。本研究检测 HIF-1α 和 GLS2 在结直肠癌组织中的表达情况,探讨二者可能存在的关系及其临床意义,以期为后续对肿瘤谷氨酰胺代谢的研究奠定基础。

1 资料与方法

1.1 临床病例

收集本院 2002 年 1 月至 2010 年 6 月手术切除结直肠癌标本 108 例,其中 23 例含癌旁黏膜组织(距肿瘤边缘 3 cm 以内),年龄 28~82 岁,平均 57 岁。肿瘤长径 2~15 cm,平均 5.2 cm。按 AJCC/TNM 分期法进行手术病理分期,其中Ⅰ期 9 例,Ⅱ期 64 例,Ⅲ期 32 例,Ⅳ期 3 例。组织学分级按 WHO 标准,其中高分化 22 例,中分化 64 例,低分化 18 例,另有 4 例分化程度不明确。切除标本用 10% 中性福尔马林固定,石蜡包埋,HE 染色后由病理学医师进行病理学诊断,连续切片后进行免疫组化染色。本研究经第三军医大学西南医院伦理委员会批准,患者知情同意。

1.2 试剂和仪器

鼠抗人 HIF-1α 单克隆抗体(NB100-105,Novus),兔抗人 GLS2 多克隆抗体(HPA038608,Sigma-Aldrich),免疫组化试剂盒(SP9001)、DAB 显色试剂盒(ZLI9017)、EDTA(ZLI9069)均为中杉金桥公司产品,中性树胶(G8590,Solarbio 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 免疫组化染色 采用免疫组化 S-P 法。经常规烤片、脱蜡、水化后,3% 过氧化氢室温孵育 10 min,EDTA 缓冲液高温抗原修复 10~15 min;山羊血清室温封闭 20 min 后分别滴加鼠抗人 HIF-1α 一抗(1∶200),兔抗人 GLS2 一抗(1∶750)放入湿盒中,室温下孵育 1 h,4 ℃孵育过夜(总时间 >16 h)。次日室温下复温,二抗室温孵育 20 min,辣根酶标记链霉卵白素室温孵育 20 min;DAB 显色,苏木精复染,60 ℃双蒸水中蓝化后脱水、透明,中性树胶封片。

1.3.2 结果判定 HIF-1α 蛋白阳性表达主要定位于细胞质,少量位于细胞核,GLS2 蛋白阳性表达定位于细胞质,阳性结果为棕黄色或棕褐色。采用半定量法依据各点的染色强度及染色细胞百分比进行判定。染色强度计分:无阳性染色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;阳性染色细胞构成比计分:阳性细胞百分比≤5% 为 0 分,阳性细胞百分比 6%~25% 为 1 分,阳性细胞百分比 26%~50% 为 2 分,阳性细胞百分比 51%~75% 为 3 分,阳性细胞百分比 >75% 为 4 分。最终评分为染色强度计分与阳性细胞百分比计分的乘积,≤2 分为低表达(包含阴性表达),≥3 分为高表达[6-8]。

1.3.3 随访 108 例患者全部获得随访。采用电话或门诊随访的方式,术后第 1、2 年每 3 个月随访 1 次,第 3 年开始每 6 个月随访 1 次直至患者死亡或 2015 年 6 月 30 日。总生存时间定义为自手术之日起至出现与结直肠癌相关的死亡的时间。死于其他原因或在随访期内生存的病例则作为截尾事件处理。全部患者随访 6~60 个月,中位随访时间 60 个月。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计软件,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,分别行 χ^2 检验、Spearman 等级相关、生存分析、Cox 回归分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结直肠癌组织与癌旁黏膜组织中 HIF-1α 和 GLS2 的表达及其相关性

经免疫组化染色显色,HIF-1α 的阳性表达主要位于细胞质,呈灶状和弥漫分布,少量位于细胞核;GLS2 的阳性表达位于细胞质,呈灶状和弥漫分布(图 1)。在 108 例结直肠癌组织标本中,HIF-1α 高表达 51 例(47.2%),GLS2 高表达 70 例(64.8%);23 例癌旁黏膜组织中 HIF-1α 和 GLS2 均低表达,其中 HIF-1α 全

为阴性表达,而 GLS2 阴性表达 19 例。结直肠癌组织中 HIF-1α 和 GLS2 表达均高于癌旁黏膜组织,差异有统计学意义($\chi^2=17.785$,$P<0.01$;$\chi^2=32.014$,$P<0.01$)。HIF-1α 和 GLS2 表达呈显著正相关($r=0.464$,$P<0.01$;表 1、图 1)。

表 1　结直肠癌中 HIF-1α 和 GLS2 表达的相关性

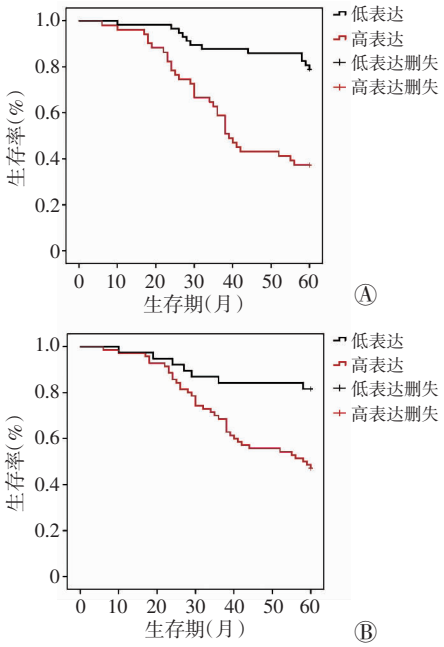
HIF-1α 表达	n	GLS2 表达[例(%)]		P
		低表达	高表达	
低表达	57	32(56.1)	25(43.9)	<0.01
高表达	51	6(11.8)	45(88.2)	

2.2　结直肠癌中 HIF-1α 和 GLS2 表达与临床病理参数的关系

结直肠癌组织中 HIF-1α 表达与年龄($P<0.05$)、TNM 分期($P<0.05$)、淋巴结转移($P<0.05$)及术后远处转移($P<0.01$)有关,即其表达愈强,患者年龄越大,临床分期越晚,越易发生淋巴结转移和术后远处转移,但与患者性别、肿瘤长径、肿瘤分化程度、浸润深度、诊断时远处转移、术后复发无明显相关性($P>0.05$)。而结直肠癌组织中 GLS2 表达与年龄($P<0.01$)、浸润深度($P<0.05$)及术后远处转移($P<0.01$)有关,即其表达愈强,患者年龄越大,越易发生局部浸润和术后远处转移,但与患者性别、肿瘤长径、TNM 分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移、诊断时远处转移、术后复发无明显相关性($P>0.05$,表 2)。

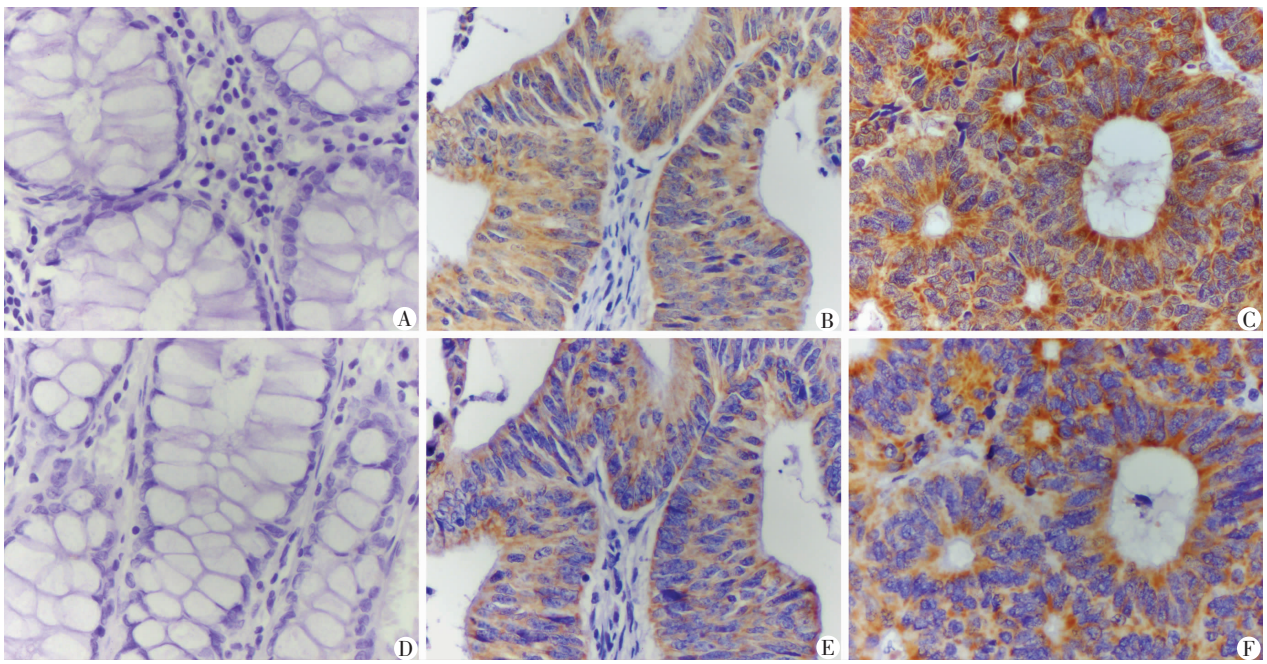
2.3　结直肠癌 HIF-1α 和 GLS2 表达与术后生存的关系

Kaplan-Meier 生存分析显示结直肠癌患者中,HIF-1α 低表达者术后平均生存时间明显长于 HIF-1α 高表达者[(55.351±1.623)个月 *vs*(41.804±2.355)个月],而 GLS2 低表达者术后平均生存时间同样明显长于 GLS2 高表达者[(54.289±2.181)个月 *vs*(46.057±1.979)个月],差异均有统计学意义($P<0.01$,图 2)。



A:HIF-1α 表达与术后生存的关系;B:GLS2 表达与术后生存的关系

图 2　结直肠癌患者生存曲线



A:癌旁黏膜组织中 HIF-1α 阴性表达;B:结直肠癌组织中 HIF-1α 低表达;C:结直肠癌组织中 HIF-1α 高表达;D:癌旁黏膜组织中 GLS2 阴性表达;E:结直肠癌组织中 GLS2 低表达;F:结直肠癌组织中 GLS2 高表达

图 1　HIF-1α 和 GLS2 在结直肠癌组织与癌旁黏膜组织中的表达　(S-P ×400)

表 2 结直肠癌中 HIF-1α 和 GLS2 表达与临床病理参数的关系[例(%)]

临床参数	n	HIF-1α 表达		P 值[b]	GLS2 表达		P 值[b]
		低表达 (n=57)	高表达 (n=51)		低表达 (n=38)	高表达 (n=70)	
性别				0.147			0.120
男性	62	29(50.9)	33(64.7)		18(47.4)	44(62.9)	
女性	46	28(49.1)	18(35.3)		20(52.6)	26(37.1)	
年龄(岁)				<0.05			<0.01
≤55	46	30(52.6)	16(31.4)		24(63.2)	22(31.4)	
>55	62	27(47.4)	35(68.6)		14(36.8)	48(68.6)	
肿瘤长径(cm)				0.739			0.190
<5	49	25(43.9)	24(47.1)		14(36.8)	35(50.0)	
≥5	59	32(56.1)	27(52.9)		24(63.2)	35(50.0)	
TNM 分期				<0.05			0.319
Ⅰ~Ⅱ	73	44(77.2)	29(56.9)		28(73.7)	45(64.3)	
Ⅲ~Ⅳ	35	13(22.8)	22(43.1)		10(26.3)	25(35.7)	
分化程度				0.214			0.057
其他[a]	4	3(5.2)	1(2.0)		3(7.9)	1(1.4)	
低分化	18	13(22.8)	5(9.8)		10(26.3)	8(11.4)	
中分化	64	30(52.6)	34(66.7)		19(50.0)	45(64.3)	
高分化	22	11(19.3)	11(21.6)		6(15.8)	16(22.9)	
浸润深度				0.246			<0.05
T_1~T_2	15	10(17.5)	5(9.8)		9(23.7)	6(8.6)	
T_3~T_4	93	47(82.5)	46(90.2)		29(76.3)	64(91.4)	
淋巴结转移				<0.05			0.394
N_0	74	44(77.2)	30(58.8)		28(73.7)	46(65.7)	
N_1~N_2	34	13(22.8)	21(41.2)		10(26.3)	24(34.3)	
诊断时远处转移				0.204[b]			0.496[b]
M_0	105	57(100)	48(94.1)		38(100.0)	67(95.7)	
M_1	3	0(0)	3(5.9)		0(0.0)	3(4.3)	
术后远处转移				<0.01			<0.01
是	41	12(21.1)	29(56.9)		8(21.1)	33(47.1)	
否	67	45(78.9)	22(43.1)		30(78.9)	37(52.9)	
术后复发				0.968			0.756
是	21	11(19.3)	10(19.6)		8(21.1)	13(18.6)	
否	87	46(80.7)	41(80.4)		30(78.9)	57(81.4)	

a:分化程度不明确的结直肠癌;b:采用校正 χ^2 检验

2.4 结直肠癌患者预后的影响因素

应用 Cox 比例风险回归模型进行单因素预后分析,结果显示 TNM 分期、淋巴结转移、诊断时远处转移、术后远处转移、HIF-1α 及 GLS2 均是结直肠癌患者预后的影响因素(P<0.01);而患者性别、年龄、肿瘤长径、分化程度、浸润深度及术后复发均不是结直肠癌患者预后的影响因素(P>0.05)。将单因素分析结果中影响患者预后的因素全部纳入 Cox 比例风险回归模型,进行多因素预后分析,结果发现 TNM 分期(P<0.05)、术后远处转移(P<0.01)、HIF-1α(P<0.01)、GLS2(P<0.05)均是结直肠癌患者预后的独立影响因素(表 3)。

表 3 108 例结直肠癌患者预后影响因素的单因素及多因素分析

变量	单因素分析		多因素分析	
	HR(95% CI)	P 值	HR(95% CI)	P 值
性别	1.079(0.591~1.968)	0.805	–	–
年龄(岁)	1.972(1.031~3.771)	0.053	–	–
肿瘤长径(cm)	1.084(0.599~1.962)	0.790	–	–
TNM 分期	2.890(1.596~5.234)	<0.01	2.190(1.105~3.938)	<0.05
分化程度	1.353(0.870~2.102)	0.179	–	–
浸润深度	1.434(0.565~3.638)	0.448	–	–
淋巴结转移	2.639(1.457~4.782)	<0.01	1.918(0.753~4.541)	0.092
诊断时远处转移	6.607(2.015~21.664)	<0.01	3.015(0.781~9.512)	0.051
术后远处转移	4.632(2.494~8.603)	<0.01	3.118(1.294~6.089)	<0.01
术后复发	1.462(0.722~2.962)	0.291	–	–
HIF-1α 表达	4.253(2.180~8.294)	<0.01	2.375(1.108~5.561)	<0.01
GLS2 表达	3.486(1.552~7.831)	<0.01	1.896(0.912~3.579)	<0.05

3 讨论

代谢重编程是肿瘤细胞的一个重要特征[3]。由于代谢是决定细胞命运的一项基础活动,故在过去的几年中大多致力于肿瘤细胞代谢重编程分子机制的研究,而 HIF-1α 在其中起着重要的作用[9]。例如,HIF-1α 通过诱导葡萄糖转运体(GLUT)、2 型己糖激酶(HK2)、磷酸果糖激酶 1(PFK1)、乳酸脱氢酶 A(LDHA)增强肿瘤细胞糖酵解,而通过上调丙酮酸脱氢酶激酶 1(PDK1)抑制线粒体的有氧呼吸[10]。Soh 等[11]发现在神经胶质瘤细胞中缺氧可以促进谷氨酰胺的转运,Kobayashi 等[12]观察到缺氧条件下小鼠嗜铬细胞瘤细胞中内源性的谷氨酰胺合成增加,Matre 等[13]发现缺氧条件下白血病细胞对谷氨酰胺的利用也增加:说明缺氧可以促进肿瘤细胞对谷氨酰胺的转运、合成以及分解利用。但是作为介导细胞适应缺氧环境的关键因素[8],HIF-1α 调控缺氧条件下谷氨酰胺分解利用的具体分子机制目前尚不明确。本研究统计分析 GLS2 在结直肠癌中的表达,进一步探讨其临床意义及与 HIF-1α 的关系,发现在结直肠癌组织中 HIF-1α 和 GLS2 的表达存在明显正相关(r=0.464,P<0.01)。因此,我们猜测二者之间可能存在着某种未知的调控关系。Hu 等[14]证实 GLS2 是 P53 的靶基因,其通过对能量代谢和抗氧化作用的调控发挥 P53 的肿瘤抑制作用。Lee 等[5]发现在 186 例结肠癌组织中,GLS2 的表达明显升高。本研究显示,GLS2 在结直肠癌组织中的表达也明显高于癌旁组织(χ^2=32.014,P<0.01),提示 GLS2 可能同时受其他因素的影响;同时发现结直肠癌中 GLS2 高表达更容易在肿瘤局部浸润较深以及术后发生远处转移的患者中测得,提示 GLS2 可能有利于加速结直肠癌的恶性进展。这与抑制 GLS2 的表达可以抑制肿瘤细胞的增殖是一致的[5]。

HIF-1α 可以促进血管的形成以及糖酵解[15],在

肿瘤细胞适应缺氧的过程中发挥重要作用[16]。近年越来越多的证据显示,HIF-1α 在肿瘤转移中也扮演着关键的角色[17]。免疫组化分析提示相比于正常组织,HIF-1α 在多种癌症类型如结直肠癌、胃癌、乳腺癌、胰腺癌、卵巢癌中均是过度表达的[18],且与较差的预后相关[8]。本研究显示,HIF-1α 在结直肠癌组织中的表达明显高于癌旁组织($\chi^2 = 17.785$, $P < 0.01$),同时 HIF-1α 的表达与 TNM 分期、淋巴结转移以及术后远处转移均相关($P < 0.05$)。这与 Simiantonaki 等[19]的研究一致。本研究还发现 HIF-1α 高表达时患者预后较 HIF-1α 低表达时差($P < 0.01$),可以作为预后的独立影响因素。这与 Feng 等[17]的研究结果类似。

综上所述,本研究显示 HIF-1α 和 GLS2 的表达存在明显正相关,同时二者高表达时患者预后较差,均可作为结直肠癌预后的独立影响因素。HIF-1α 与肿瘤耐药密切相关,而 GLS2 则可通过促进细胞内的还原型谷胱甘肽(glutathione,GSH)的合成改变细胞的氧化还原状态引起细胞凋亡减少从而导致耐药[14]。因此,我们推测 HIF-1α 可能通过调控 GLS2 的表达改变细胞内 GSH 水平最终引起结直肠癌细胞的化疗耐受,以此探寻结直肠癌临床治疗的潜在靶点,为结直肠癌的临床治疗开辟新的途径。

参考文献:

[1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, *et al*. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. Int J Cancer, 2010, 127(12): 2893 - 2917. DOI: 10.1002/ijc.25516

[2] Jemal A, Bray F, Center M M, *et al*. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69 - 90. DOI: 10.3322/caac.20107

[3] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646 - 674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013

[4] Semenza G L. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics[J]. Oncogene, 2010, 29(5): 625 - 634. DOI: 10.1038/onc.2009.441

[5] Lee Y Z, Yang C W, Chang H Y, *et al*. Discovery of selective inhibitors of Glutaminase-2, which inhibit mTORC1, activate autophagy and inhibit proliferation in cancer cells[J]. Oncotarget, 2014, 5(15): 6087 - 6101. DOI: 10.18632/oncotarget.2173

[6] Wang J S, Jing C Q, Shan K S, *et al*. Semaphorin 4D and hypoxia-inducible factor-1α overexpression is related to prognosis in colorectal carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(7): 2191 - 2198. DOI: 10.3748/wjg.v21.i7.2191

[7] Xiang L, Xie G, Liu C, *et al*. Knock-down of glutaminase 2 expression decreases glutathione, NADH, and sensitizes cervical cancer to ionizing radiation[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833(12): 2996 - 3005. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.08.003

[8] Chen Y, Li X, Wu S, *et al*. Expression of HIF-1α and CAIX in nasopharyngeal carcinoma and their correlation with patients' prognosis[J]. Med Oncol, 2014, 31(12): 304. DOI: 10.1007/s12032-014-0304-1

[9] DeBerardinis R, Thompson C B. Cellular metabolism and disease: what do metabolic outliers teach us?[J]. Cell, 2012, 148(6): 1132 - 1144. DOI: 10.1016/j.cell.2012.02.032

[10] Bensaad K, Favaro E, Lewis C A, *et al*. Fatty acid uptake and lipid storage induced by HIF-1α contribute to cell growth and survival after hypoxia-reoxygenation[J]. Cell Rep, 2014, 9(1): 349 - 365. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.08.056

[11] Soh H, Wasa M, Fukuzawa M. Hypoxia upregulates amino acid transport in a human neuroblastoma cell line[J]. J Pediatr Surg, 2007, 42(4): 608 - 612. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2006.12.010

[12] Kobayashi S, Millhorn D E. Hypoxia regulates glutamate metabolism and membrane transport in rat PC12 cells[J]. J Neurochem, 2001, 76(6): 1935 - 1948.

[13] Matre P, Jacamo R O, Wang Y, *et al*. Abstract 1887: Bone marrow-derived stromal cells and hypoxia promote glutamine dependency in leukemias[J]. Cancer Res, 2013, 73(8 Suppl): Abstract nr 1887. DOI: 10.1158/1538-7445.AM2013-1887

[14] Hu W, Zhang C, Wu R, *et al*. Glutaminase 2, a novel p53 target gene regulating energy metabolism and antioxidant function[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(16): 7455 - 7460. DOI: 10.1073/pnas.1001006107

[15] 罗开俭, 陶陶, 邓进, 等. 局灶性脑缺血再灌注后大鼠脑组织 HIF-1α 表达的观察[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(18): 1733 - 1735.

[16] Yeung S J, Pan J, Lee M H. Roles of p53, MYC and HIF-1 in regulating glycolysis - the seventh hallmark of cancer[J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(24): 3981 - 3999. DOI: 10.1007/s00018-008-8224-x

[17] Feng L, Tao L, Dawei H, *et al*. HIF-1α expression correlates with cellular apoptosis, angiogenesis and clinical prognosis in rectal carcinoma[J]. Pathol Oncol Res, 2014, 20(3): 603 - 610. DOI: 10.1007/s12253-013-9738-6

[18] Koh M Y, Spivak-Kroizman T R, Powis G. HIF-1alpha and cancer therapy[J]. Recent Results Cancer Res, 2010, 180: 15 - 34. DOI: 10.1007/978-3-540-78281-0_3

[19] Simiantonaki N, Taxeidis M, Jayasinghe C, *et al*. Hypoxia-inducible factor 1 alpha expression increases during colorectal carcinogenesis and tumor progression[J]. BMC Cancer, 2008, 8: 320. DOI: 10.1186/1471-2407-8-320

(收稿:2015-08-16;修回:2015-11-24)

(编辑 汪勤俭)