

# 大肠腺瘤及癌组织 HIF-1 $\alpha$ 的表达与凋亡增生的关系

程胜平, 刘南植, 钱 颀

程胜平, 刘南植, 钱颀, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

程胜平, 男, 1972-04-12 生, 湖北省武汉市人, 汉族, 2002 级华中科技大学同济医学院硕士生, 主要从事消化道肿瘤的基础及临床研究。

项目负责人: 程胜平, 430030, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科。sheng\_ping2004@sina.com

电话: 027-83663208

收稿日期: 2004-10-18 接受日期: 2004-11-27

## Expression of HIF-1 $\alpha$ and its relations with apoptosis and proliferation in colorectal neoplasm

Sheng-Ping Cheng, Nan-Zhi Liu, Jie Qian

Sheng-Ping Cheng, Nan-Zhi Liu, Jie Qian, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Sheng-Ping Cheng, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China.

Received: 2004-10-18 Accepted: 2004-11-27

### Abstract

AIM: To study the expression of HIF-1 $\alpha$  and its relationship with apoptosis and proliferation in human colorectal neoplasm

METHODS: Expression of HIF-1 $\alpha$ , Bcl-2, Bax and PCNA was detected in normal colorectal tissue ( $n = 13$ ), colorectal adenoma ( $n = 26$ ) and adenocarcinoma ( $n = 50$ ) by the immunohistochemical method respectively.

RESULTS: HIF-1 $\alpha$  was negatively expressed in normal colorectal mucosa tissues. The positive rate of HIF-1 $\alpha$  expression was significantly higher in adenoma tissues than that in adenocarcinoma ones (30.8% vs 64.0%,  $\chi^2 = 8.546$ ,  $P < 0.05$ ). The expression of HIF-1 $\alpha$  in colorectal carcinoma significantly related to the depth of invasion, lymph node metastasis, and Dukes' staging ( $\chi^2 = 6.339$ ,  $P < 0.05$ ;  $\chi^2 = 9.091$ ,  $P < 0.01$ ;  $\chi^2 = 10.72$ ,  $P < 0.05$ ). No significant correlation was found between the positive rate of HIF-1 $\alpha$  and tumor's size and differentiation ( $P > 0.05$ ). The positive rate of Bcl-2 expression in three groups was 15.4%, 50.0% and 76.0% respectively, and there were significant differences among them ( $P < 0.05$ ). The positive rate of Bax expression was 76.9%, 65.4% and 58.0% in three groups respectively. There were no significant differences among them. The proliferation level of carcinoma is higher than that of adenoma ( $\chi^2 = 5.073$ ,  $P < 0.05$ ) and it was related to the depth of invasion and Dukes staging ( $\chi^2 = 6.336$ ,  $P < 0.05$ ;  $\chi^2 = 11.219$ ,  $P < 0.01$ ). HIF-1 $\alpha$  expression was positively associated with Bcl-2 and PCNA levels in adenoma and carcinoma ( $r = 0.5$ ,  $r = 0.535$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.457$ ,  $r = 0.426$ ,  $P < 0.01$ ).

CONCLUSION: Over-expression of HIF-1 $\alpha$  is associated with apoptosis inhibition, proliferation, invasion and metastasis of colorectal neoplasm, and it may play an important role in the carcinogenesis and development of colorectal carcinoma.

Cheng SP, Liu NZ, Qian J. Expression of HIF-1 $\alpha$  and its relations with apoptosis and proliferation in colorectal neoplasm. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(12):2792-2796

### 摘要

目的: 研究缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )在大肠肿瘤中的表达及其与凋亡、增生的关系, 探讨 HIF-1 $\alpha$  在大肠癌发生发展中的作用。

方法: 运用免疫组化的方法检测 HIF-1 $\alpha$ , Bcl-2, Bax, PCNA 在正常大肠组织 13 例, 大肠腺瘤 26 例, 大肠癌 50 例中的表达。

结果: 正常大肠组织 HIF-1 $\alpha$  均为阴性表达, 腺瘤及癌组织中 HIF-1 $\alpha$  阳性表达率为 30.8% 和 64%, 大肠癌 HIF-1 $\alpha$  表达率显著高于腺瘤( $\chi^2 = 8.546$ ,  $P < 0.01$ )。大肠癌 HIF-1 $\alpha$  表达与浸润, 淋巴结转移, Dukes 分期相关( $\chi^2 = 6.339$ ,  $P < 0.05$ ;  $\chi^2 = 9.091$ ,  $P < 0.01$ ;  $\chi^2 = 10.72$ ,  $P < 0.05$ )。HIF-1 $\alpha$  表达与肿瘤大小、分化程度无关( $P > 0.05$ )。Bcl-2 在 3 组中阳性表达率为 15.4%, 50.0% 和 76.0%, 三者间表达率差别有显著意义( $P < 0.05$ )。Bax 在 3 组中阳性表达率为 76.9%, 65.4% 和 58.0%, 三者间表达率无显著性差异( $P > 0.05$ )。Bcl-2, Bax 表达与肿瘤大小, 分化, Dukes 分期无关( $P > 0.05$ )。正常大肠组织 PCNA 表达均为低增生活性, 腺瘤及癌中 PCNA 高增生活性者 26.9% 和 56.0%, 癌组织 PCNA 高增生活性表达显著高于腺瘤( $\chi^2 = 5.073$ ,  $P < 0.05$ )。大肠癌增生程度与浸润及 Dukes 分期相关( $\chi^2 = 6.336$ ,  $P < 0.05$ ;  $\chi^2 = 11.219$ ,  $P < 0.01$ )。腺瘤及大肠癌 HIF-1 $\alpha$  表达与 Bcl-2, PCNA 增生程度呈正相关( $r = 0.5$ ,  $r = 0.535$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.457$ ,  $r = 0.426$ ,  $P < 0.01$ ), 与 Bax 表达无关。

结论: HIF-1 $\alpha$  抑制大肠肿瘤凋亡, 促进增生, 与肿瘤浸润转移密切相关, 在大肠癌发生发展中发挥重要作用。

程胜平, 刘南植, 钱颀. 大肠腺瘤及癌组织 HIF-1 $\alpha$  的表达与凋亡增生的关系. 世界华人消化杂志 2004;12(12):2792-2796  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2792.asp>

### 0 引言

缺氧诱导因子-1(HIF-1)是迄今为止发现惟一的低氧状

态下发挥活性的转录因子. HIF-1 是由 HIF-1 $\alpha$  及 HIF-1 $\beta$  组成的异二聚体, 其中  $\alpha$  亚单位被认为是特异性氧调节亚单位, 决定了 HIF-1 的活性. 人类实体肿瘤中常存在缺氧环境, 已在多种恶性肿瘤甚至癌前病变中检测到 HIF-1 $\alpha$  过表达<sup>[1-7]</sup>. HIF-1 $\alpha$  参加了肿瘤对低氧的适应过程, 从而增强了肿瘤细胞对缺氧的抵抗能力, 促进肿瘤细胞的生长及恶性转化<sup>[8-12]</sup>. 研究表明, HIF-1 $\alpha$  在缺氧介导的凋亡及增生中起重要作用, 但目前关于 HIF-1 $\alpha$  与凋亡、增生的关系报道不一<sup>[13-15]</sup>. 大肠癌是常见的恶性肿瘤, 研究认为凋亡及增生的失衡在大肠黏膜癌变中起着重要作用. 关于 HIF-1 $\alpha$  与大肠肿瘤凋亡及增生的研究较少. 我们通过免疫组化的方法检测 HIF-1 $\alpha$ , Bcl-2, Bax, PCNA 在正常大肠黏膜, 腺瘤及腺癌中的表达, 探讨大肠肿瘤临床病理及 HIF-1 $\alpha$  与凋亡及增生的关系.

## 1 材料和方法

1.1 材料 2000/2003 年大肠腺瘤 50 例, 男 28 例, 女 22 例, 年龄 34-67(52.9  $\pm$  10.6 岁). 高分化 17 例, 中分化 24 例, 低分化 9 例. Dukes A 11 例, B 11 例, C 18 例, D 10 例. 大肠腺瘤 26 例, 管状腺瘤 10 例, 绒毛状腺瘤 9 例, 管状-绒毛状腺瘤 7 例. 另 13 例正常大肠组织作对照. 石蜡切片厚 5  $\mu$ m. 兔抗人 HIF-1 $\alpha$  多抗(1:80)及 SABC 试剂盒(购自武汉博士德生物工程有限公司), 鼠抗人 Bcl-2, Bax, PCNA 单抗(1:100, 北京中山试剂公司).

1.2 方法 采用免疫组化方法检测. HIF-1 $\alpha$  免疫组化染色采用 SABC 法, Bcl-2, Bax, PCNA 采用 SP 法. 染色步骤按试剂盒说明进行, 染色前用柠檬酸抗原修复液热水浴或微波抗原修复 10 min. 用 PBS 代替一抗作阴性对照, 已知阳性切片作阳性对照. HIF-1 $\alpha$  蛋白以胞质或胞核内有棕黄色颗粒为阳性, 高倍镜下( $\times$ 400)对每张切片随机选择 5 个视野, 计数 200 个细胞/视野, 共计 1 000 个, 阳性细胞数 < 1% 为阴性(-), 阳性细胞数 1-10% 为弱阳性(+), 11-50% 为中度阳性(++), > 51% 为强阳性(+++)<sup>[13]</sup>. Bcl-2 和 Bax 蛋白均以胞质内有棕黄色颗粒为阳性. 判定标准: 无阳性反应为阴性(-), 阳性细胞数 < 5% 为弱阳性(+), 6-50% 为中度阳性(++), > 51% 为强阳性(+++). PCNA 以胞核内有棕黄色颗粒为阳性, < 5% 为阴性, 6-25% 为(+), 26-50% 为(++), 51-75% 为(+++), > 76% 为(++++) , 以 +++, +++++ 级为高

增生活性, 以此作为大肠肿瘤的增生程度指标.

**统计学处理** 根据数据性质, 采用  $\chi^2$  检验, Fishers 精确概率法, 及 Spearman 等级相关分析, 所有数据在 spss12.0 软件进行, 显著水平取  $\alpha = 0.05$

## 2 结果

2.1 HIF-1 $\alpha$ , Bcl-2, Bax, PCNA 的表达 HIF-1 $\alpha$  蛋白主要表达于胞质, 也有部分胞核表达. 正常大肠组织 HIF-1 $\alpha$  均为阴性表达, 腺瘤中阳性表达率为 30.8% (8/26), 癌组织中阳性表达率为 64.0% (32/50). 腺瘤中 HIF-1 $\alpha$  阳性表达率高于正常组织 ( $\chi^2 = 7.483$ ,  $P < 0.05$ ), 腺癌 HIF-1 $\alpha$  阳性表达率显著高于腺瘤 ( $\chi^2 = 8.546$ ,  $P < 0.01$ ). Bcl-2 及 Bax 表达于胞质. Bcl-2 在正常组织, 腺瘤, 癌组织中阳性表达率为 15.4%, 50.0%, 76.0%, Bcl-2 的阳性表达率正常组织 < 腺瘤 < 癌组织, 三者之间表达率差别有显著意义 ( $P < 0.05$ ). Bax 在三者中阳性表达率为 76.9%, 65.4%, 58.0%, 呈逐渐下降趋势, 但经统计分析, 三者间表达率无显著性差异 ( $P > 0.05$ ). PCNA 表达于细胞核. 正常大肠组织 PCNA 表达均为低增生活性, 腺瘤中 PCNA 高增生活性者 26.9% (7/26), 癌组织中高增生活性 56.0% (28/50). 腺瘤中高增生活性表达率虽高于正常组织, 但其差异无显著性 ( $P = 0.07$ , Fishers 精确概率), 癌组织中 PCNA 高增生活性表达显著高于腺瘤 ( $\chi^2 = 5.073$ ,  $P < 0.05$ , 表 1, 图 1A-F)

2.2 HIF-1 $\alpha$ , Bcl-2, Bax, PCNA 表达与大肠癌临床病理特征联系 HIF-1 $\alpha$  阳性表达率与大肠癌的大小, 分化程度无关 ( $P > 0.05$ ). 浸润浆膜及有淋巴结转移者 HIF-1 $\alpha$  阳性表达率高于未浸润浆膜 ( $\chi^2 = 6.339$ ,  $P < 0.05$ ) 及无淋巴结转移者 ( $\chi^2 = 9.091$ ,  $P < 0.01$ ), 随着 Dukes 分期进展, HIF-1 $\alpha$  表达增高, 各期 HIF-1 $\alpha$  表达率有显著性差异 ( $\chi^2 = 10.72$ ,  $P < 0.05$ ). PCNA 增生程度与肿瘤的大小及分化程度无关 ( $P > 0.05$ ), 浸润浆膜者增生程度高于未浸润浆膜者 ( $\chi^2 = 6.336$ ,  $P < 0.05$ ), 有淋巴结转移者增生活性高于无淋巴结转移者, 其差异处于统计学临界范围 ( $\chi^2 = 3.63$ ,  $P = 0.057$ ). 随着 Dukes 分期进展, PCNA 增生程度增高, 各期 PCNA 增生程度差异具显著性 ( $\chi^2 = 11.219$ ,  $P < 0.01$ ). Bcl-2, Bax 在大肠癌中的表达与肿瘤的大小、分化及 Dukes 分期无明显相关 ( $P > 0.05$ , 表 2).

2.3 HIF-1 $\alpha$  表达与大肠肿瘤凋亡及增生的关系 在大肠腺瘤中, HIF-1 $\alpha$  表达与 Bcl-2, PCNA 增生程度呈

表 1 HIF-1 $\alpha$ , Bcl-2, Bax, PCNA 的表达(n, %)

分组	n	HIF-1 $\alpha$		Bcl-2		Bax		PCNA	
		-	+	-	+	-	+	低	高
正常	13	13	0	11	2 (15.4)	3	10 (76.9)	13	0
腺瘤	26	18	8 (30.8)	13	13 (50.0)	9	17 (65.4)	19	7 (26.9)
癌组织	50	18	32 (64.0)	12	38 (76.0)	21	29 (58.0)	22	28 (56.0)

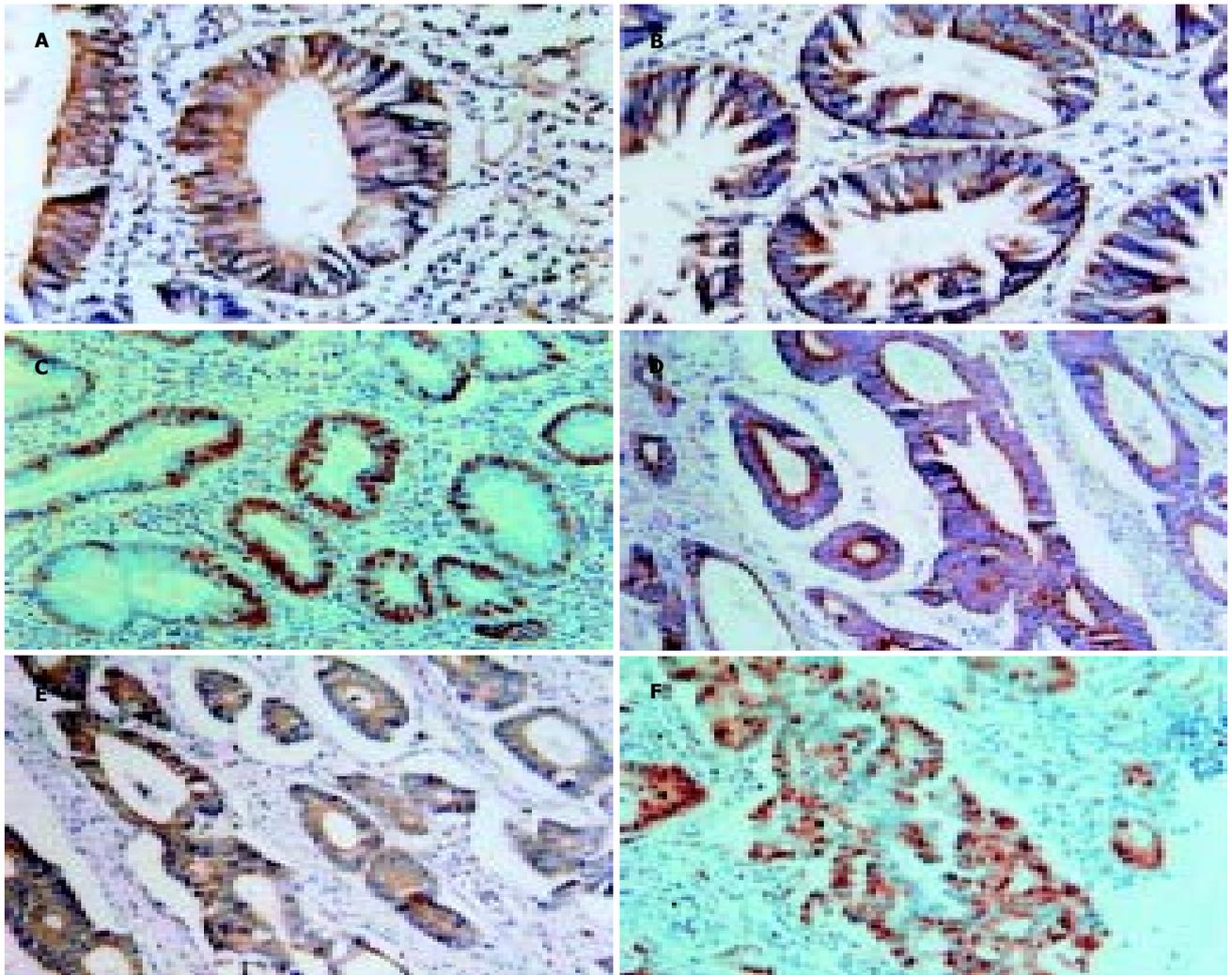


图1 大肠腺瘤及腺癌组织 HIF-1 $\alpha$ , Bcl-2, PCNA 免疫组化表达. A: 腺瘤 HIF-1 $\alpha$  阳性  $\times 400$ ; B: 腺瘤 Bcl-2 阳性  $\times 400$ ; C: 腺瘤 PCNA 阳性  $\times 200$ ; D: 中分化腺癌 HIF-1 $\alpha$  阳性  $\times 200$ ; E: 中分化腺癌 Bcl-2 阳性  $\times 200$ ; F: 中分化腺癌 PCNA 阳性  $\times 200$ .

表2 HIF-1 $\alpha$ , Bcl-2, Bax, PCNA 表达与大肠癌临床病理特征联系

临床病理特征	n	HIF-1 $\alpha$		Bcl-2		Bax		PCNA	
		-	+	-	+	-	+	低	高
肿瘤大小: <3 cm	16	6	10	3	13	6	10	7	9
3-5 cm	20	7	13	5	15	8	12	10	10
>5 cm	14	5	9	4	10	7	7	5	9
分化程度: 高	17	6	11	6	11	4	13	8	9
中	24	8	16	4	20	12	12	11	13
低	9	4	5	2	7	5	4	3	6
浸润浆膜: (-)	11	8	3	3	8	5	6	9	2
(+)	39	10	29 <sup>a</sup>	9	30	16	23	13	26 <sup>a</sup>
淋巴结转移: (-)	22	13	9	5	17	6	16	13	9
(+)	28	5	23 <sup>b</sup>	7	21	15	13	9	19
Dukes 分期: A	11	8	3	3	8	5	6	9	2
B	11	5	6	2	9	2	9	5	6
C	18	4	14	5	13	9	9	7	11
D	10	1	9 <sup>a</sup>	2	8	5	5	1	9 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ .

表3 腺瘤, 大肠癌 HIF-1 $\alpha$  表达与凋亡及增生关系

HIF-1 $\alpha$	Bcl-2		Bax		PCNA	
	-	+	-	+	低	高
腺瘤 -	12	6	7	11	16	2
腺瘤 +	1	7 <sup>a</sup>	2	6	3	5 <sup>a</sup>
大肠癌 -	9	9	6	12	13	5
大肠癌 +	3	29 <sup>b</sup>	15	17	9	23 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ .

正相关( $r = 0.5$ ,  $r = 0.535$ ,  $P < 0.05$ ), 与 Bax 表达无关( $r = 0.135$ ,  $P > 0.05$ ). 在大肠癌中, HIF-1 $\alpha$  表达与 Bcl-2 表达呈正相关( $r = 0.457$ ,  $\chi^2 = 8.315$ ,  $P < 0.01$ ), 与 PCNA 增生程度呈正相关( $r = 0.426$ ,  $\chi^2 = 9.091$ ,  $P < 0.01$ ), 与 Bax 表达无关( $r = -0.132$ ,  $\chi^2 = 0.867$ ,  $P > 0.05$ , 表3).

### 3 讨论

缺氧是实体肿瘤常见现象, 能诱导一系列与血管新生, 无氧代谢等密切相关的基因, 帮助肿瘤细胞适应缺氧环境. 在此过程中起关键作用的是 HIF-1 $\alpha$ . HIF-1 $\alpha$  过表达与肿瘤的浸润转移、预后、治疗抵抗密切相关<sup>[16-19]</sup>. 本结果显示, HIF-1 $\alpha$  在正常大肠组织中无表达, 在腺瘤中阳性表达率为 30.8%, 在癌组织中表达率为 64.0%, 三者之间表达率差异有显著性. HIF-1 $\alpha$  表达水平在正常组织-腺瘤-腺癌中不断增高, 这与江从庆 *et al*<sup>[20]</sup>, Jiang *et al*<sup>[21]</sup> 结果一致. 这表明细胞缺氧出现在癌变之前并持续到肿瘤发展的全过程, HIF-1 $\alpha$  过表达可能是癌变过程中的早期行为, 提示 HIF-1 $\alpha$  过度表达在促进腺瘤癌变中发挥重要作用. 我们还发现, 浸润浆膜, 有淋巴结转移者 HIF-1 $\alpha$  阳性表达率高于未浸润浆膜及无淋巴结转移者, 且随着 Dukes 分期进展, HIF-1 $\alpha$  表达率逐渐增高, 表明 HIF-1 $\alpha$  在大肠癌的浸润, 转移中起重要作用.

Bcl-2 是公认的抗凋亡基因, Bax 基因通过拮抗 Bcl-2 基因而发挥其促进细胞凋亡的作用, Bcl-2/Bax 比值与细胞凋亡率显著相关. Bedi *et al*<sup>[22]</sup> 研究表明在大肠黏膜癌变过程中细胞凋亡能力逐渐减弱. 於亮亮 *et al*<sup>[23]</sup> 研究, 在结肠癌变过程中, 从腺瘤病变到癌, Bcl-2 表达逐渐增高, 凋亡指数相应降低. 说明 Bcl-2 异常表达是大肠癌变过程细胞凋亡受抑制的潜在机制. 我们也发现, 在正常大肠组织, 腺瘤, 癌组织中 Bcl-2 表达逐渐增高, 三组表达有显著性差异, 而 Bax 表达有逐渐降低趋势, 表明在大肠腺瘤-癌变序列中, 细胞凋亡受抑制. PCNA 是 DNA 聚合酶的辅酶之一, 可作为细胞周期内 S 期的特异性标志和评价细胞增生状态的一个指标<sup>[24]</sup>. 本结果显示, 腺瘤细胞增生活性较正常黏膜增加, 而癌组织又较腺瘤明显增加, 从腺瘤到癌发展过程中, 细胞增

生持续增加.

HIF-1 $\alpha$  在低氧诱导的凋亡与肿瘤增生中起重要作用. 但关于缺氧及 HIF-1 $\alpha$  是促进或抑制凋亡目前报道不一<sup>[25-27]</sup>. 目前关于 HIF-1 $\alpha$  与大肠肿瘤凋亡关系报道较少. 我们观察了 HIF-1 $\alpha$  在大肠腺瘤及癌中的表达及其与 Bcl-2, Bax 表达的关系, 结果显示 HIF-1 $\alpha$ , Bcl-2 表达从腺瘤到癌逐渐增多, 且 HIF-1 $\alpha$  表达在腺瘤及癌中均与 Bcl-2 呈正相关, 与 Bax 表达无关. 这提示 HIF-1 $\alpha$  表达与大肠肿瘤凋亡抑制有关, 在大肠腺瘤-癌演变过程中, HIF-1 $\alpha$  通过抑制细胞凋亡从而促进大肠腺瘤的恶性转化过程. 大肠肿瘤中缺氧及 HIF-1 $\alpha$  调控凋亡机制尚不明确. Kinoshita *et al*<sup>[28]</sup> 在人结肠癌细胞系 HCT116 培养中发现, 缺氧培养 24 h 后, 肿瘤细胞 Bcl-2 表达上调, 持续缺氧培养 48 h 后, Bcl-2 表达较前更加增高, 且同时伴有 PCNA 高表达. 认为缺氧可上调 Bcl-2 表达从而使肿瘤细胞抵御缺氧所致的凋亡而继续生长. Wang *et al*<sup>[29]</sup> 也报道, 缺氧培养的 HTDEC 细胞(human tumor-derived endothelial cells, 分离自结肠癌)Bcl-2 表达上调从而使 HTDEC 细胞抵抗 IFN- $\gamma$  诱导的凋亡, 并认为缺氧上调 Bcl-2 是通过 HIF-1 $\alpha$  介导. 有研究表明, VEGF 表达上调可以促进 Bcl-2 表达从而抵御缺氧所致的凋亡<sup>[30-32]</sup>. VEGF 是 HIF-1 $\alpha$  最重要的调控基因, 研究已表明在大肠肿瘤中 HIF-1 $\alpha$  诱导 VEGF 表达上调. 可见 HIF-1 $\alpha$  可能与其他基因一起参与对凋亡的调控. 樊利芳 *et al*<sup>[13]</sup> 发现在肺癌中 HIF-1 $\alpha$  与 bcl-2 呈负相关, 而与 bax 正相关, 与本研究不一致, 可能与不同的肿瘤组织类型有关.

本实验结果显示 PCNA 增生活性在正常黏膜-腺瘤-癌中逐渐增高, 且 PCNA 高增生活性与大肠癌浸润, Dukes 分期有关. 这与陈卫昌 *et al*<sup>[33]</sup> 研究结果一致. 提示 PCNA 可作为判断大肠癌浸润转移的指标. Kinoshita *et al*<sup>[28]</sup> 在大肠癌 HCT116 细胞系缺氧培养发现 PCNA 高表达. 本实验结果也显示 HIF-1 $\alpha$  表达与腺瘤及癌组织 PCNA 增生活性呈正相关, 提示 HIF-1 $\alpha$  过表达可促进肿瘤组织增生. HIF-1 $\alpha$  促进肿瘤细胞增生可能与 HIF-1 $\alpha$  促进 VEGF, IGF-1, IGF-2 等基因表达有关.

总之, 大肠肿瘤组织局部缺氧, HIF-1 $\alpha$  表达上调, 诱导其下游基因表达, 使肿瘤细胞适应缺氧环

境,反过来又抑制缺氧所致的凋亡及促进增生,使凋亡/增生进一步失衡,从而最终导致癌变发生发展。

#### 4 参考文献

- 1 Birner P, Schindl M, Obermair A, Breitenecker G, Oberhuber G. Expression of hypoxia-inducible factor 1alpha in epithelial ovarian tumors: its impact on prognosis and on response to chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2001;7:1661-1668
- 2 张燕敏, 邓长生, 朱尤庆, 毛永荣, 张可, 杨晓平. 胃腺癌中缺氧诱导因子-1 $\alpha$ RNA 表达和血管生成的关系. *世界华人消化杂志* 2002;10:633-637
- 3 Bos R, Zhong H, Hanrahan CF, Mommers EC, Semenza GL, Pinedo HM, Abeloff MD, Simons JW, van Diest PJ, van der Wall E. Levels of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  during breast carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:309-314
- 4 Birner P, Gatterbauer B, Oberhuber G, Schindl M, Rossler K, Prodingner A, Budka H, Hainfellner JA. Expression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in oligodendrogliomas: Its impact on prognosis and on neoangiogenesis. *Cancer* 2001;92:165-171
- 5 Kuwai T, Kitadai Y, Tanaka S, Onogawa S, Matsutani N, Kaio E, Ito M, Chayama K. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha is associated with tumor vascularization in human colorectal carcinoma. *Int J Cancer* 2003;105:176-181
- 6 Shibaji T, Nagao M, Ikeda N, Kanehiro H, Hisanaga M, Ko S, Fukumoto A, Nakajima Y. Prognostic significance of HIF-1 alpha overexpression in human pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2003;23:4721-4727
- 7 Schindl M, Schoppmann SF, Samonigg H, Hausmaninger H, Kwasny W, Gnant M, Jakesz R, Kubista E, Birner P, Oberhuber G. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha is associated with an unfavorable prognosis in lymph node-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:1831-1837
- 8 Semenza GL. HIF-1 and tumor progression: pathophysiology and therapeutics. *Trends Mol Med* 2002;8(4 Suppl):S62-67
- 9 Semenza GL. Involvement of hypoxia-inducible factor 1 in human cancer. *Intern Med* 2002;41:79-83
- 10 Choi KS, Bae MK, Jeong JW, Moon HE, Kim KW. Hypoxia-induced angiogenesis during carcinogenesis. *J Biochem Mol Biol* 2003;36:120-127
- 11 黄耿文, 杨连粤. 缺氧致肿瘤恶性转化的分子机制. *世界华人消化杂志* 2001;9:1300-1304
- 12 Acker T, Plate KH. A role for hypoxia and hypoxia-inducible transcription factors in tumor physiology. *J Mol Med* 2002;80:562-575
- 13 樊利芳, 刁路明, 陈德基, 刘铭球, 朱丽琴, 李红钢, 唐志俊, 夏东, 刘绚, 陈洪雷. 肺癌组织中缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 的表达及其与凋亡和增生的关系. *癌症* 2002;21:254-258
- 14 Erler JT, Cawthorne CJ, Williams KJ, Koritzinsky M, Wouters BG, Wilson C, Miller C, Demonacos C, Stratford IJ, Dive C. Hypoxia-mediated down-regulation of Bid and Bax in tumors occurs via hypoxia-inducible factor 1-dependent and -independent mechanisms and contributes to drug resistance. *Mol Cell Biol* 2004;24:2875-2889
- 15 Goda N, Dozier SJ, Johnson RS. HIF-1 in cell cycle regulation, apoptosis, and tumor progression. *Antioxid Redox Signal* 2003;5:467-473
- 16 Shannon AM, Bouchier-Hayes DJ, Condron CM, Toomey D. Tumour hypoxia, chemotherapeutic resistance and hypoxia-related therapies. *Cancer Treat Rev* 2003;29:297-307
- 17 Aebersold DM, Burri P, Beer KT, Laissue J, Djonov V, Greiner RH, Semenza GL. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha: a novel predictive and prognostic parameter in the radiotherapy of oropharyngeal cancer. *Cancer Res* 2001;61:2911-2916
- 18 Birner P, Schindl M, Obermair A, Plank C, Breitenecker G, Oberhuber G. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer. *Cancer Res* 2000;60:4693-4696
- 19 Krishnamachary B, Berg-Dixon S, Kelly B, Agani F, Feldser D, Ferreira G, Iyer N, LaRusch J, Pak B, Taghavi P, Semenza GL. Regulation of colon carcinoma cell invasion by hypoxia-inducible factor 1. *Cancer Res* 2003;63:1138-1143
- 20 江从庆, 刘志芬, 钱群. 大肠腺癌和腺癌组织中缺氧诱导因子-1 $\alpha$  的表达及其与 VEGF、微血管密度的关系. *癌症* 2003;22:1170-1174
- 21 Jiang YA, Fan LF, Jiang CQ, Zhang YY, Luo HS, Tang ZJ, Xia D, Wang M. Expression and significance of PTEN, hypoxia-inducible factor-1 alpha in colorectal adenoma and adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:491-494
- 22 Bedi A, Pasricha PJ, Akhtar AJ, Barber JP, Bedi GC, Giardiello FM, Zehnbauser BA, Hamilton SR, Jones RJ. Inhibition of apoptosis during development of colorectal cancer. *Cancer Res* 1995;55:1811-1816
- 23 於亮亮, 于皆平, 冉宗学, 于红刚. 核因子- $\kappa$ B 与大肠肿瘤细胞凋亡及增生的关系. *世界华人消化杂志* 2002;10:309-312
- 24 Yue SQ, Yang YL, Dou KF, Li KZ. Expression of PCNA and CD44mRNA in colorectal cancer with venous invasion and its relationship to liver metastasis. *World J Gastroenterol* 2003;9:2863-2865
- 25 Piret JP, Mottet D, Raes M, Michiels C. Is HIF-1alpha a pro- or an anti-apoptotic protein? *Biochem Pharmacol* 2002;64:889-892
- 26 Akakura N, Kobayashi M, Horiuchi I, Suzuki A, Wang J, Chen J, Niizeki H, Kawamura Ki, Hosokawa M, Asaka M. Constitutive expression of hypoxia-inducible factor-1alpha renders pancreatic cancer cells resistant to apoptosis induced by hypoxia and nutrient deprivation. *Cancer Res* 2001;61:6548-6554
- 27 Piret JP, Lecocq C, Toffoli S, Ninane N, Raes M, Michiels C. Hypoxia and CoCl<sub>2</sub> protect HepG2 cells against serum deprivation- and t-BHP-induced apoptosis: a possible anti-apoptotic role for HIF-1. *Exp Cell Res* 2004;295:340-349
- 28 Kinoshita M, Johnson DL, Shatney CH, Lee YL, Mochizuki H. Cancer cells surviving hypoxia obtain hypoxia resistance and maintain anti-apoptotic potential under reoxygenation. *Int J Cancer* 2001;91:322-326
- 29 Wang JH, Wu QD, Bouchier-Hayes D, Redmond HP. Hypoxia upregulates Bcl-2 expression and suppresses interferon-gamma induced antiangiogenic activity in human tumor derived endothelial cells. *Cancer* 2002;94:2745-2755
- 30 Iervolino A, Trisciuglio D, Ribatti D, Candiloro A, Biroccio A, Zupi G, Del Bufalo D. Bcl-2 overexpression in human melanoma cells increases angiogenesis through VEGFmRNA stabilization and HIF-1-mediated transcriptional activity. *FASEB J* 2002;16:1453-1455
- 31 Nor JE, Christensen J, Mooney DJ, Polverini PJ. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis is associated with enhanced endothelial cell survival and induction of Bcl-2 expression. *Am J Pathol* 1999;154:375-384
- 32 Baek JH, Jang JE, Kang CM, Chung HY, Kim ND, Kim KW. Hypoxia-induced VEGF enhances tumor survivability via suppression of serum deprivation-induced apoptosis. *Oncogene* 2000;19:4621-4631
- 33 陈卫昌, 刘强, 李锐, 康苏娅. 结直肠癌微血管密度与增生细胞核抗原的关系. *世界华人消化杂志* 2002;10:1222-1224