

丹参酮 II A磺酸钠对MKN-45胃癌裸鼠移植瘤增殖及血管生成的影响

陈坚, 钟良, 钱立平, 蒋蔚茹, 黄剑平, 邱冬妮

陈坚, 钟良, 钱立平, 蒋蔚茹, 黄剑平, 邱冬妮, 复旦大学附属华山医院消化科 上海市 200040

作者贡献分布: 此课题由陈坚设计; 研究过程由陈坚、钟良、钱立平、蒋蔚茹、黄剑平、邱冬妮共同完成; 研究所用新试剂及分析工具由钟良提供; 数据分析由邱冬妮完成; 本论文写作由陈坚完成。

通讯作者: 钟良, 200040, 上海市乌鲁木齐中路12号, 复旦大学附属华山医院消化科. zhongniping@163.com

电话: 021-62489999-6662 传真: 021-62485501

收稿日期: 2008-02-01 修回日期: 2008-07-17

接受日期: 2008-07-25 在线出版日期: 2008-08-08

Anticancer effects and mechanisms of Tanshinone II A sulfonic acid in nude mouse xenograft model bearing MKN-45 gastric cancer cells

Jian Chen, Liang Zhong, Li-Ping Qian, Wei-Ru Jiang, Jian-Ping Huang, Dong-Ni Qiu

Jian Chen, Liang Zhong, Li-Ping Qian, Wei-Ru Jiang, Jian-Ping Huang, Dong-Ni Qiu, Department of Gastroenterology, Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China

Correspondence to: Liang Zhong, Department of Gastroenterology, Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China. zhongniping@163.com

Received: 2008-02-01 Revised: 2008-07-17

Accepted: 2008-07-25 Published online: 2008-08-08

Abstract

AIM: To identify the anticancer effects of Tanshinone II A sulfonic acid (TASA) *in vivo* by the model of nude mice with MKN-45 gastric cancer cells transplanted subcutaneously.

METHODS: MKN-45 human gastric cancer cells were grown as xenografts in 24 immunodeficient mice, which were randomly divided into 4 groups. The mice in observation groups were injected intraperitoneally with TASA at 1 mg/kg (low dosage), 5 mg/kg (median dosage) or 10 mg/kg (large dosage) once per day respectively for 2 wk while the mice in the fourth group were injected with sodium chloride as controls. All the nude mice were sacrificed 2 wk later and growth inhibition rates of transplanted

tumors were measured by weighing the masses. Apoptosis index was tested by TUNEL assay. Microvascular density (MVD) was marked by CD34 staining. The protein expression levels of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF1 α), vascular endothelial growth factor (VEGF) and cyclooxygenase-2 (COX-2) were measured by immunohistochemistry.

RESULTS: Compared with that in the control group, the apoptosis index was significantly increased in the three observation groups ($36.02\% \pm 3.41\%$, $34.78\% \pm 3.41\%$, $30.05\% \pm 3.41\%$ vs $10.83\% \pm 0.92\%$, all $P < 0.05$). Low-dose TASA suppressed MKN-45 cell proliferation, and the growth inhibition rate was $20.69\% \pm 1.79\%$. On the contrary, median- and large-dose TASA promoted the growth of MKN-45 cells, and the growth inhibition rate in large-dose group was $-(21.4\% \pm 2.38\%)$. Compared with that in the control group, MVD and VEGF expression were up-regulated in the observed groups, especially in the median- and large-dose group (8.11 ± 1.011 , 10.01 ± 0.89 vs 6.56 ± 0.42 ; 63628 ± 611 , 70957 ± 684 vs 51056 ± 410 ; all $P < 0.05$). COX-2 expression had no significant difference between the four groups. HIF1 α expression was slightly down-regulated in low-dose TASA group, not significantly; however, it was significantly up-regulated in the median- and large-dose groups as compared with that in the control group (29468 ± 204 , 42227 ± 214 vs 15691 ± 106 , $P < 0.01$ or 0.05).

CONCLUSION: The anticancer effects of TASA *in vivo* is not so significant as that *in vitro*. The effect of large-dose TASA may be offsetted or even reversed by compensatory up-regulation of HIF expression.

Key Words: Tanshinone II A; Gastric cancer; Nude mouse; Hypoxia-inducible factor 1 α ; TUNEL assay; Immunohistochemistry; Microvascular density; Vascular endothelial growth factor; Cyclooxygenase-2

Chen J, Zhong L, Qian LP, Jiang WR, Huang JP, Qiu DN. Anticancer effects and mechanisms of Tanshinone II A

■背景资料

丹参酮 II A(Tan II A)是从活血化瘀中药丹参中提取的有效成分。体外研究显示, Tan II A对多种肿瘤细胞具有抑增殖、促凋亡的作用。但 Tan II A体内的抗癌效应及机制目前报道不多。

■同行评议者

陈凇, 教授, 中国人民解放军总医院普外科

■研究前沿

将HIF作为肿瘤耐药的重要调控靶点,结合肿瘤耐受缺氧和代谢方式改变的机制研究,将会为肿瘤的治疗提供新的思路。

sulfonic acid in nude mouse xenograft model bearing MKN-45 gastric cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2008; 16(22): 2507-2511

摘要

目的:明确丹参酮ⅡA磺酸钠(TanⅡA)在体内的抗癌作用及其对肿瘤血管生成的影响。

方法:建立MKN-45胃癌裸鼠移植瘤模型,随机分成对照组和低、中、高丹参酮ⅡA磺酸钠干预组,每组6只。干预组分别用TanⅡA磺酸钠1、5、10 mg/kg, ip, 1次/d, 连续14 d。对照组等量生理盐水干预。2 wk后处死裸鼠,分离瘤块,观察抑瘤率;TUNEL法测凋亡指数;CD34标志法观察四组瘤块微血管密度(MVD);免疫组化法观察缺氧诱导因子HIF1 α 、血管内皮生长因子(VEGF)、COX2的蛋白表达。

结果:与对照组相比,3组干预组凋亡指数AI明显上升(36.02% \pm 3.41%, 34.78% \pm 3.41%, 30.05% \pm 3.41% vs 10.83% \pm 0.92%, 均 $P<0.05$)。低剂量组增殖减慢,抑瘤率为20.69% \pm 1.79%;中、高剂量瘤重反而增加,高剂量组抑瘤率为-(21.4% \pm 2.38%)。与对照相比,3组干预组MVD、VEGF表达上调,尤以中高剂量组差异显著(8.11 \pm 1.011, 10.01 \pm 0.89 vs 6.56 \pm 0.42; 63628 \pm 611, 70957 \pm 684 vs 51056 \pm 410, 均 $P<0.05$)。3组干预组COX-2表达与对照无明显差异;HIF1 α 在低剂量组表达略有下调,但未达到统计学差异,中高剂量组表达则有明显上调(29468 \pm 204, 42227 \pm 214 vs 15691 \pm 106, $P<0.01$ 或 0.05)。

结论:丹参酮ⅡA体内的抗肿瘤效果没有体外细胞实验显著,高剂量丹参酮ⅡA的抗癌效应可被HIF的代偿高表达抵消甚至逆转。

关键词:丹参酮ⅡA; 胃癌; 裸鼠; 缺氧诱导因子1 α ; TUNEL法; 免疫组化; 微血管密度; 血管内皮生长因子; 环氧合酶-2

陈坚, 钟良, 钱立平, 蒋蔚茹, 黄剑平, 邱冬妮. 丹参酮ⅡA磺酸钠对MKN-45胃癌裸鼠移植瘤增殖及血管生成的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16(22): 2507-2511
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/2507.asp>

0 引言

丹参酮ⅡA(tanshinone ⅡA, TanⅡA)是从活血化瘀中药丹参中提取的有效成分。研究表明,丹参酮类含有邻醌或对醌结构,在生物体内参与电子传递、具有较强的抗炎、抗氧化活性^[1]。同时

体外研究显示, TanⅡA对多种肿瘤细胞具有抑增殖、促凋亡的作用^[2-3]。但TanⅡA体内的抗癌效应及机制目前报道不多,本研究以人胃癌细胞株MKN-45的荷瘤裸鼠为研究对象,观察TanⅡA在体内对胃癌生长的抑制作用及其机制,以探讨中药单体治疗胃癌的可能性。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株MKN-45是低分化腺癌细胞株, MKN-45裸鼠皮下移植瘤瘤苗由上海市肿瘤研究所惠赠并皮下移植成瘤^[4], δ SPF级Balb/c裸鼠24只, 体质量20 g左右, 购于中科院实验动物研究所。TanⅡA磺酸钠注射液购自上海第一生化药业有限公司(国药准字H31022558), 规格为10 mg/2 mL, 用0.9%生理盐水稀释备用。免疫组化试剂一抗(HIF-1 α 、MVD、VEGF、COX2)购自美国Santa Cruz公司; EnVision试剂(HRP/Rabbit)即用型购于丹麦Dako公司; 原位细胞凋亡检测试剂盒购自德国宝灵曼公司; 二氨基联苯胺盐酸盐(DAB)购自Sigma公司; PBS和TBS缓冲液为实验室自行配制使用。切片机德国Leica RM2145型, 展片机德国Leica HI1210型, 烤片机德国Leica, HI1220型, 显微镜为Olympus BH2, 数码相机日本Nikon仪器。IMS细胞图像分析系统购自上海申腾信息技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 荷瘤裸鼠肿瘤抑制实验:将重度联合免疫缺陷(SCID)的Balb/c裸鼠24只及MKN-45荷瘤鼠2只在复旦大学实验动物部饲养观察2 d。然后在无菌条件下处死荷瘤鼠2只, 分离瘤块, 切割成约1 mm \times 1 mm瘤块, 用6号穿刺针接种于裸鼠右侧腋窝皮下, 接种后第8天见有皮下小结节开始生长。随机分成对照组和低、中、高丹参酮ⅡA磺酸钠干预组, 每组6只。干预组分别用TanⅡA磺酸钠1、5、10 mg/kg ip, 1次/d, 连续14 d。对照组则用同等量生理盐水ip干预。观察四组裸鼠裸鼠生存状态。干预2 wk后颈椎脱位法处死裸鼠, 分离肿瘤称质量, 并按下列公式计算抑瘤率: 抑瘤率(%) = (1-用药组平均瘤质量/对照组平均瘤质量) \times 100。将瘤块用40 g/L甲醛固定后石蜡包埋备用。

1.2.2 缺氧诱导因子1 α (HIF1 α)、血管内皮生长因子(VEGF)、环氧合酶2(COX2)蛋白的免疫组化表达:分别取4组瘤块, 用EnVision法进行免疫组化染色。试剂盒提供阳性对照, 以PBS代替一抗作为阴性对照。实验步骤如下: 石蜡切片常规

脱蜡至水, PBS洗3×3 min; 用pH6.0的0.01 mol/L 柠檬酸缓冲液热诱导修复(微波3档20 min), 室温自然冷却, PBS洗3×3 min; 0.3% H₂O₂抑制内源性过氧化物酶20 min, 室温; PBS洗3×3 min; 20%羊血清室温孵育30 min; 滴加一抗37℃孵育2 h; PBS洗3×3 min; EnVision试剂(HRP/R)37℃30 min; PBS洗3×3 min; DAB显色8-12 min; 苏木素衬染; 吹干后, 树脂封片; 镜下观察, 核紫蓝色, 阳性呈棕黄色。细胞染色呈棕黄色为阳性, 随机选取3个视野, 用图像分析软件计算阳性面积, 取均值。

1.2.3 微血管密度(microvascular density, MVD)免疫组化检测: 分别取4组瘤块, 用EnVision法进行肿瘤微血管染色。MVD是用免疫组化的方法, 用CD34抗体, 标志瘤体内微血管, 然后计数其单位面积中的微血管数, 间接判断肿瘤的血管形成能力。

1.2.4 TUNEL检测凋亡指数: 严格按试剂说明书操作, 实验用玻片预先用0.1 g/L多聚赖氨酸或其他防脱片剂处理; 石蜡切片用40 g/L甲醛4℃过夜固定, 较低温度(低于60℃)下浸蜡、包埋、切片, 检测前切片常规脱蜡入水; 冷冻切片及细胞涂片用40 g/L甲醛PBS液室温固定15 min, 用0.01 mol/L PBS(pH7.4)洗片, 5 min/次×3; 样品片放入新鲜配制的3%过氧化氢水溶液中, 室温10 min, PBS洗样品片5 min/次×3; 用0.01 mol/L PBS(7.4)稀释DAN蛋白酶K储备液中20 mg/L, 50 μL/片加至脱蜡入水后的样品片上37℃湿盒中放置10-20 min, 冰冻切入及细胞涂片放入2 g/L TritonX-100 PBS液中, 室温下5 min; 双蒸水洗样品片5 min/次×3; 样品片上加标志缓冲液, 20 μL/片, 室温放置15 min; 将TDT及Biotin-11-dUTP经离心机离心, 再于混匀器上混匀后, 分别取2 μL加入16 μL标志缓冲液中, 再在混匀器上混匀, (加样及混匀时要尽量避免产生泡沫); 甩掉样品片上标志缓冲液(只保证样品片湿润即可, 不应残留较多缓冲液), 然后加上上述已混匀的混合液至样品片上, 20 μL/片, 37℃湿盒中标志60 min; 将20×SSC液稀释10倍, 然后将标志后的样品片浸泡于2×SSC中, 室温放置15 min; PBS洗样品片, 3 min/次×3; 样品片加封闭液50 μL/片, 室温放置30 min, 然后甩掉封闭液, 勿洗; 以封闭液按1:50配制Avidin-HRP为工作液; 50 μL/片加于样品片上, 37℃湿盒反应60 min; PBS洗样品片, 3 min/次×3; DAB显色液显色; 苏木素复染; 常规封片、镜检。镜下凋亡指数(apoptosis index,

AI) = 凋亡细胞/细胞总数×100%。阳性结果为细胞核棕黄色或棕褐色深染, 背景呈紫蓝色。

1.2.5 免疫组化图像定量分析: 图像采集: 通过显微镜、图像采集卡、数码相机采集数字图像, 数字图像为标准的BMP(位图)文件格式。距离测量定标: 距离可以用显微镜专用校正微尺来标定。标定可在x20条件下进行。步骤是先点击图像中微尺上的2个点, 再将他的实际微米数输入计算机, 计算机自动计算得到比例因子后存储备用。消除背景: 本命令能把免疫组化中的紫蓝色背景从图像上去除。选阴性区域: 操作时用鼠标选择阴性区域, 处理后有效阴性区域用蓝色表示。此功能可以和选阳性区域功能交替使用。选阳性区域: 操作时用鼠标选择棕黄色或棕褐色阳性区域, 处理后有效阳性区域用红色表示。此功能可和选阴性区域功能交替使用。测量: 测量方式可选全视场测量。否则, 需选择测量区域(用鼠标选择任意区域或选择矩形区域)。测量结果: 免疫组化图像中阳性区域面积和阳性比率以及吸光度(A)。每张切片至少分析3个视野, 每组数据至少10个。

2 结果

四组裸鼠均生长良好, 仅高剂量组在实验过程中死亡1只。干预2 wk后处死裸鼠, 剥离移植瘤时见移植瘤呈类圆形或结节状, 表面有假包膜, 与正常组织边界清楚。高剂量组瘤表面毛细血管较丰富, 剖面发现有坏死灶, 部分肿瘤旁有小的卫星灶。滤纸吸干后分别称重移植瘤, 然后送免疫组化检测。与对照相比, 干预组凋亡指数AI明显上升($P<0.05$)。低剂量组增殖减慢, 抑瘤率为20.69%; 中、高剂量组瘤质量反而增加, 高剂量组抑瘤率为-21.4%, 增殖加快(表1)。

与对照相比, 3组干预组MVD、VEGF表达上调, 尤以中高剂量组差异显著($P<0.05$); 三组干预组COX2表达与对照无明显差异; HIF1α在低剂量组表达略有下调, 但未达到统计学差异, 中高剂量组表达则有明显上调($P<0.01$, 表2)。

3 讨论

由于凋亡细胞的内源性核酸内切酶被激活, 细胞自身的染色质或DNA被切割, 并产生与DNA断点数目相同的3'-羟基末端。该生物素可以通过于亲和素的特异结合使亲和素-辣根过氧化物酶(Avidin-HRP)结合在DNA断点部位, 加入HRP显色底物后在原位出现有色沉淀, 从而

■创新盘点

在裸鼠体内高剂量Tan II A的抗癌效应会被HIF1α的代偿高表达抵消甚至逆转。将HIF作为肿瘤生长的重要调控靶点, 结合肿瘤耐受缺氧和代谢方式改变的机制研究, 将会为肿瘤的治疗提供新的思路。

■应用要点

本研究以人胃癌细胞株MKN-45的荷瘤裸鼠为研究对象,观察Tan II A在体内对胃癌生长的抑制作用及其机制,以探讨中药单体治疗胃癌的可能性。

表 1 不同组中肿瘤增殖、凋亡比较

	对照组	低剂量	中剂量	高剂量
凋亡指数(%)	10.83 ± 0.92	36.02 ± 3.41 ^a	34.78 ± 3.41 ^a	30.05 ± 3.41 ^a
瘤重(g)	0.841 ± 0.278	0.667 ± 0.263 ^a	0.891 ± 0.208	1.021 ± 0.293 ^a
抑瘤率(%)		20.69 ± 1.79	-(5.95 ± 2.38)	-(21.4 ± 2.38)

^aP<0.05 vs 对照组。

表 2 不同组中肿瘤血管生成指标比较

阳性面积	对照组	低剂量	中剂量	高剂量
HIF1 α	15 691 ± 106	13 112 ± 111	29 468 ± 204 ^a	42 227 ± 214 ^b
COX2	31 459 ± 211	33 104 ± 114	30 846 ± 291	36 609 ± 334
VEGF	51 056 ± 410	53 680 ± 451	63 628 ± 611 ^a	70 957 ± 684 ^a
MVD(n)	6.56 ± 0.42	7.25 ± 0.53	8.11 ± 1.011 ^a	10.01 ± 0.89 ^a

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 对照组。

可在显微镜下观察到被着色的凋亡细胞。此为TUNEL法测定凋亡指数的原理。本实验显示: Tan II A磺酸钠低剂量在体内有一定抑制胃癌增殖作用, 抑瘤率约为20%, 机制可能与诱导肿瘤凋亡有关, 这也与作者先期所作的体外实验相符^[5]。但体内实验发现Tan II A磺酸钠的抗癌作用并未如体外细胞学实验那样呈现剂量依赖效应, 相反随着干预剂量的加大, 肿瘤生长反而呈现加速趋势, 这与实验设计时的预判大相径庭。

实体肿瘤由于低分化, 恶性程度高, 生长迅速, 常常引起血供不足, 循环和淋巴系统紊乱, 因此肿瘤细胞经常处于缺血缺氧的环境中。尤其是移植瘤没有自身的供血, 更容易缺血坏死^[6-7]。所以在高剂量组的肿瘤解剖中发现了坏死灶的存在, 这也可能是高剂量组瘤体反而加大加重的原因。但是我们同时发现, 高剂量组瘤体表面毛细血管更为丰富, 同时免疫组化亦显示, 肿瘤的HIF、MVD及VEGF表达上调。说明在缺血坏死的同时, 肿瘤组织并没有停止生长, 反而呈现肿瘤血管新生的加速。

早在70年前, 就有学者指出: 肿瘤组织的糖酵解能力显著高于正常组织, 甚至在有氧情况下肿瘤组织也以糖酵解作为主要产能方式, 这种现象称为“warburg效应”^[8-9]。Warburg效应对于肿瘤细胞是一种普遍现象, 只是到了近年, 人们才着眼于其分子机制。大量研究表明: 缺氧诱导因子HIF-1的高表达是肿瘤耐受缺氧, 恶性演进并远处转移的关键事件^[10-13]。据

文献报道, 肿瘤组织可通过上调HIF-1的表达, 改变糖代谢途径中关键酶的表达水平和活性, 如促进丙酮酸激酶(pyruvate-kinase, PK)、己糖激酶(hexokinase, HK)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)等代谢酶的表达^[14-15], 使肿瘤组织能以无氧酵解作为主要的能量供应方式, 使其在缺氧条件下得以存活。另一方面, HIF转录因子家族还可以促进下游基因如VEGF的表达, 代偿性地提高了肿瘤血管的生成, 促进了营养物质的供应^[16-17], 这两方面的因素都有利于细胞的存活。本研究的结果正是该理论的良好佐证。

此外, HIF对肿瘤血管生成的影响还存在不依赖VEGF的途径^[18]。如体外细胞实验已证实HIF1可诱导人内皮细胞环氧化酶COX2的表达, 而COX2及其合成产物前列腺素等, 均可通过除VEGF以外的生长因子家族(bFGF、PDGF、EGF、IGF、TGF)等多种途径调节血管生成。但本研究并未发现四组裸鼠移植瘤中COX2的表达存在显著差异, 提示体外的实验结果有时会与体内实验存在诸多差异, 原因有待进一步深入探讨。

虽然本研究结果与课题设计时的初衷大相径庭, Tan II A的抗肿瘤效果没有体外细胞实验那样显著。高剂量Tan II A的抗癌效应会被HIF的代偿高表达抵消甚至逆转。缺氧既是肿瘤发展的结果(高剂量组瘤块见缺血坏死灶), 又可以促进肿瘤的生长、转移(高剂量组瘤块见卫星转移灶)。缺氧诱导了血管生成、凋亡信号级联、

糖酵解途径和多种细胞周期调控蛋白等关键组分的表达. 在细胞水平, 缺氧介导了无血管肿瘤区域的肿瘤血管新生, 从而促进肿瘤的恶性演进. 因此, 将 HIF 作为肿瘤生长的重要调控靶点, 结合肿瘤耐受缺氧和代谢方式改变的机制研究, 将会为肿瘤的治疗提供新的思路^[19].

4 参考文献

- 1 Wang X, Morris-Natschke SL, Lee KH. New developments in the chemistry and biology of the bioactive constituents of Tanshen. *Med Res Rev* 2007; 27: 133-148
- 2 陈坚. 丹参酮抗肿瘤的研究进展. 复旦学报(医学版) 2003; 30: 626-628
- 3 董晓荣, 伍钢, 董继华, 张涛, 刘莉, 侯晓华. 丹参酮 II A 对 MKN-45 细胞生长的影响. 肿瘤防治杂志 2005; 12: 1465-1468
- 4 姚明, 闫明霞, 周光兴, 范士明, 孔韩卫, 戚锦芳. BNX 小鼠人胃癌原位移植模型的建立及其生物学特性的观察. 肿瘤 2004; 24: 566-560
- 5 陈坚, 钟良, 钱立平, 华正豪, 林庚金, 刘珊林. 丹参酮 II A 诱导 SGC7901 胃癌细胞凋亡及机制. 复旦学报(医学版) 2007; 34: 57-61
- 6 陈坚, 林庚金, 程建, 唐峰, 朱虹光, 刘珊林. 锰型超氧化物歧化酶基因转染抑制 SGC7901 胃癌细胞增殖的机制. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1386-1389
- 7 Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol* 2002; 29: 15-18
- 8 Lu H, Forbes RA, Verma A. Hypoxia-inducible factor 1 activation by aerobic glycolysis implicates the Warburg effect in carcinogenesis. *J Biol Chem* 2002; 277: 23111-23115
- 9 Racker E, Spector M. Warburg effect revisited: merger of biochemistry and molecular biology. *Science* 1981; 213: 303-307
- 10 Jiang Y, Zhang W, Kondo K, Klco JM, St Martin TB, Dufault MR, Madden SL, Kaelin WG Jr, Nacht M. Gene expression profiling in a renal cell carcinoma cell line: dissecting VHL and hypoxia-dependent pathways. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 453-462
- 11 Liu S, Tan WY, Chen QR, Chen XP, Fu K, Zhao YY, Chen ZW. Daintain/AIF-1 promotes breast cancer proliferation via activation of the NF-kappaB/cyclin D1 pathway and facilitates tumor growth. *Cancer Sci* 2008; 99: 952-957
- 12 Salnikow K, Davidson T, Costa M. The role of hypoxia-inducible signaling pathway in nickel carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 2002; 110 Suppl 5: 831-834
- 13 Höckel M, Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 266-276
- 14 Xu L, Tong R, Cochran DM, Jain RK. Blocking platelet-derived growth factor-D/platelet-derived growth factor receptor beta signaling inhibits human renal cell carcinoma progression in an orthotopic mouse model. *Cancer Res* 2005; 65: 5711-5719
- 15 Stern R, Shuster S, Neudecker BA, Formby B. Lactate stimulates fibroblast expression of hyaluronan and CD44: the Warburg effect revisited. *Exp Cell Res* 2002; 276: 24-31
- 16 Cabuk D, Basaran G, Celikel C, Dane F, Yumuk PF, Iyikesici MS, Ekenel M, Turhal NS. Vascular endothelial growth factor, hypoxia-inducible factor 1 alpha and CD34 expressions in early-stage gastric tumors: relationship with pathological factors and prognostic impact on survival. *Oncology* 2007; 72: 111-117
- 17 Lee BL, Kim WH, Jung J, Cho SJ, Park JW, Kim J, Chung HY, Chang MS, Nam SY. A hypoxia-independent up-regulation of hypoxia-inducible factor-1 by AKT contributes to angiogenesis in human gastric cancer. *Carcinogenesis* 2008; 29: 44-51
- 18 Huang SP, Wu MS, Shun CT, Wang HP, Hsieh CY, Kuo ML, Lin JT. Cyclooxygenase-2 increases hypoxia-inducible factor-1 and vascular endothelial growth factor to promote angiogenesis in gastric carcinoma. *J Biomed Sci* 2005; 12: 229-241
- 19 Yeo EJ, Chun YS, Cho YS, Kim J, Lee JC, Kim MS, Park JW. YC-1: a potential anticancer drug targeting hypoxia-inducible factor 1. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 516-525

■同行评价

本研究有较好的学术创新性, 设计合理, 研究结果给胃癌治疗提供新的思路, 对于研究和临床都有一定的参考价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志作者贡献及同行评议公开政策

本刊讯 本刊实行作者贡献及同行评议公开政策, 具体格式如: (1)作者贡献分布: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川, 庞丽娟, 陈玲, 杨兰, 张金芳, 齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲, 杨兰, 张金芳, 蒋金芳, 杨磊, 李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川, 杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川, 庞丽娟及李洪安完成. (2)同行评议者: 房静远教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所; 韩新巍教授, 郑州大学第一附属医院放射科; 匡安仁教授, 四川大学华西医院核医学科. (常务副总编辑: 张海宁 2008-08-08)