

• 实验研究 Experiment research •

缺氧诱导因子-1 α 在兔 VX2 肝癌模型
TACE 术后的表达及其临床意义

郑延波, 徐 克

【摘要】 目的 探讨缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)在兔 VX2 肝癌模型 TACE 术后的表达及其与肿瘤血管生成的相关性。方法 24 只荷 VX2 瘤兔随机分为 3 组,每组 8 只。对照组:经肝动脉注入生理盐水 2ml; TAE 组:单纯碘油(UFLP)0.5 ~ 0.8 ml 栓塞, TACE 组:碘油抗癌药混悬液(UFLP + THP)栓塞, UFLP 0.5 ~ 0.8 ml, THP 2 mg。于术后 2 周应用免疫组化法分别检测肿瘤组织中 HIF-1 α 、血管内皮生长因子(VEGF)的表达,用 CD34 单克隆抗体标记肿瘤血管内皮细胞,计数肿瘤组织中的微血管密度(MVD)。结果 TAE 组和 TACE 组 HIF-1 α 、VEGF 表达与 MVD 值均明显高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$), HIF-1 α 与 VEGF 的表达及 MVD 的变化呈正相关 ($r_s = 0.537, P < 0.01; r_s = 0.423, P < 0.05$)。结论 TACE 能明显上调 HIF-1 α 的表达, HIF-1 α 通过调控其下级基因 VEGF 的表达而促进肿瘤血管的生成,影响肝癌的预后。

【关键词】 肝肿瘤;缺氧诱导因子-1 α ;新生血管化;免疫组织化学法

中图分类号:R735.7 文献标识码:B 文章编号:1008-794X(2007)-05-0334-05

Expression and clinical significance of hypoxia-inducible factor-1 alpha after TACE on rabbit VX2 liver neoplasms ZHENG Yan-bo, XU Ke. Department of Radiology, First Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China

【Abstract】 Objective To investigate expression and clinical significance of hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 α) after TACE on rabbit VX2 liver neoplasms, and the correlation with tumor angiogenesis. Methods Twenty four rabbits implanted liver VX2 tumors were randomly divided into 3 groups. Control group was administrated with 2 ml saline. TAE group was embolized with 0.5 to 0.8 ml ultra-fluid lipiodol. TACE group was embolized with 0.5 to 0.8 ml ultra-fluid lipiodol mixed with 2 mg Pirarubicin. Two weeks after treatment, HIF-1 α , VEGF expression was detected by immunohistochemistry, and microvessel density (MVD) of the section marked with CD34 antibody was calculated. Results The expressions of HIF-1 α , VEGF and MVD in TAE group and TACE group were stronger than those in control group ($P < 0.05$). HIF-1 α was positively correlated with VEGF and MVD ($r = 0.537, P < 0.01; r = 0.423, P < 0.05$). Conclusion Significant overexpression of HIF-1 α was found after TAE and TACE. HIF-1 α plays an important role in the prognosis of liver neoplasms by up-regulating the expression of VEGF and increasing MVD. (J Intervent Radiol, 2007, 16: 334-388)

【Key words】 Liver neoplasm; Hypoxia-inducible factor-1 α ; Neovascularization; Immunohistochemistry

缺氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1 α) 是缺氧条件下广泛存在于哺乳动物及人体的一种核转录因子。目前研究表明 HIF-1 α 是缺氧适应和病理反应中的一个重要中介因子,可以调节多种缺氧应激蛋白的基因表达,上调多种促血管生

成因子的表达,增强细胞的无氧酵解能力。本研究通过动物实验和分子生物学方法探讨 TACE 术对肝癌 HIF-1 α 表达的影响及其与 TACE 术后肿瘤新生血管生成的相关性,旨在进一步揭示 TACE 术后肿瘤新生血管生成的机制,进而为肿瘤治疗提供新的思路。

作者单位:110001 沈阳 中国医科大学附属第一医院放射科
(郑延波 现在烟台毓璜顶医院介入治疗科工作)

通讯作者:徐 克

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 新西兰大白兔 24 只, 体重 2.1 ~ 3.3 kg, 雌雄不限, 由山东绿叶制药有限公司实验动物中心提供。兔 VX2 瘤株由中国医科大学附属第一医院放射科介入实验室提供。

1.1.2 实验器材与药品

1.1.2.1 实验器材: 恒温水浴锅、自制兔固定台、静脉切开包、18 G 穿刺套管针(Terumo 公司)、4F 血管鞘(Cook 公司)、4F Cobra 导管(Cordis 公司)、3F SP 微导管(Terumo 公司)、GE Light speed 16 层螺旋 CT 扫描仪、GE Innova 3100 血管造影机。

1.1.2.2 实验药品: 超液化碘油(Ultra-fluid Lipiodol, UFLP; 法国 Gaubert 公司)、吡柔比星(Pirarubicin, THP; 深圳万乐公司)、优维显(Ultravist, 300 mgI/ml; 先灵广州药业公司); 兔抗兔 HIF-1 α 、VEGF165 抗体(武汉博士德公司)、兔抗兔 CD34 抗体(北京中山公司)、通用型二步法免疫检测试剂盒(北京中山公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 兔 VX2 肝癌模型的制作 将冷冻的 VX2 瘤株组织块置入 37℃ 恒温水浴复苏后, 置入盛有生理盐水的消毒安瓿内, 用眼科剪剪成 1 mm³ 的小碎块, 用 1 ml 针管抽出 0.5 ml 接种于兔大腿部皮下成瘤并传代, 2 周左右瘤体长至 1 ~ 2 cm³, 即制成荷瘤兔。取荷瘤兔后腿生长活跃的肿瘤组织, 剔除筋膜和坏死组织, 切取靠近瘤体边缘的灰白色鱼肉样组织, 用眼科剪剪成约 1 mm³ 大小瘤块放入 RPMI-1640 营养液中备用。

实验兔采用 1% 戊巴比妥钠(3 ml/kg)耳缘静脉麻醉后固定于兔台, 常规消毒铺巾, 剑突偏左肋缘下作约 2 cm 长纵行切口, 打开腹腔, 暴露肝脏, 用生理盐水纱布配合镊子轻夹将肝左叶拉出体外并固定, 用手术刀片在肝左叶脏面切开 3 ~ 5 mm 小口, 用镊子夹取 2 ~ 3 块瘤组织块植入肝内, 明胶海绵封闭切口, 生理盐水纱布压迫 15 ~ 20 s 后, 确认穿刺点无瘤组织溢出, 将肝脏回纳入腹腔, 逐层缝合切口。术后青霉素 80 万 u 肌注, 连续 3 d。

模型兔笼养 2 周后行螺旋 CT 双期动态肝扫描, 观察肝内肿瘤生长情况, 并测量肿瘤的最长径(a)和与之垂直的短径(b)。

1.2.2 实验动物分组及处理 24 只实验兔随机分为 3 组, 每组 8 只。对照组: 经肝动脉注入生理盐水 2 ml。TAE 组: 单纯碘油(UFLP)栓塞, UFLP 0.5 ~ 0.8 ml。TACE 组: 碘油抗癌药混悬液(UFLP + THP)栓塞, UFLP 0.5 ~ 0.8 ml, THP 2 mg。

实验兔于螺旋 CT 扫描次日, 经耳缘静脉注入 1% 戊巴比妥钠(3 ml/kg)麻醉后仰卧位固定于兔台, 常规右侧腹股沟区脱毛、消毒、铺巾, 轴向切开皮肤, 暴露并游离股动脉, 用 18 G 穿刺套管针穿刺股动脉, 置入 4 F 导管鞘, 引入 4 F Cobra 导管, 头端置 T11 水平腹主动脉处造影(对比剂总量 4 ml, 2 ml/s), 观察腹腔动脉开口及其分支情况后, 引 3 F 微导管头端超选择置入腹腔动脉造影(对比剂总量 2 ml, 0.5 ml/s), 明确肝动脉分支及肿瘤供血动脉, 最后超选择置导管于肿瘤的供血动脉内, 依分组情况, 对照组注入生理盐水 2 ml, TAE 组和 TACE 组分别缓慢注入栓塞剂(LPUF; LPUF + THP 混悬液), 碘油用量为肿瘤最大直径(cm) \times 0.2 ml, 并依据肿瘤血供情况适当增减, 用量 0.5 ~ 0.8 ml。栓塞后拔出导管和导管鞘, 结扎股动脉, 缝合皮肤。术后青霉素 80 万 u 肌注, 连续 3 d。

1.2.3 标本观察与制备 手术后 2 周分别对三组实验兔行肝脏螺旋 CT 扫描, 观察肝脏肿瘤生长和碘油沉积情况, 然后分别处死动物, 剖腹切取肝脏标本, 大体观察后取与躯干纵轴垂直的最大平面切开瘤体, 分别测量肿瘤的最长径(a)和与之垂直的短径(b)。取肿瘤及瘤周肝组织标本置于 4% 甲醛溶液内固定。

肿瘤体积(V) = $0.5ab^2$; 肿瘤增长率 = (治疗后肿瘤体积 - 治疗前肿瘤体积) / 治疗前肿瘤体积 \times 100%。

1.2.4 免疫组化染色及结果判定

1.2.4.1 HIF-1 α 、VEGF 及 CD34 免疫组化染色: 采用通用型二步法, 按试剂盒说明书操作。一抗分别为兔抗兔 HIF-1 α (工作浓度 1:100)、兔抗兔 VEGF165(工作浓度 1:100)及 CD34 单克隆抗体(工作浓度 1:25)。

1.2.4.2 结果判定: ① HIF-1 α 、VEGF 表达测定: HIF-1 α 、VEGF 免疫组化染色阳性细胞为肿瘤细胞胞核或(和)胞质内出现棕色或棕黄色颗粒。HIF-1 α 判定标准参照 Birner 等^[1]的方法, 综合染色强度和阳性细胞占总细胞数的百分比进行半定量处理: 染色弱但明显强于阴性对照者为 1 分, 染色清晰者为 2 分, 染色强者为 3 分; 阳性细胞占总细胞数 10% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 80% 为 3 分, > 80% 为 4 分。上述 2 项评分相加, 不论染色强度, 阳性细胞数 \leq 10% 为阴性(-); 3 分为弱阳性(+); 4 ~ 5 分为阳性(++); 6 ~ 7 分为强阳性(+++)。VEGF 判定标准参照 Park 等^[2]的方法: 先用低倍镜(40 倍)全面观察切

面,选定待测组织内 VEGF 染色最强处,然后在 200 倍镜下计数 100 个细胞,阳性染色细胞 < 5% 为阴性(-);5% ~ 15% 为弱阳性(+);16% ~ 50% 为阳性(++);> 50% 为强阳性(+++).②MVD 计数测定:CD34 阳性染色为肿瘤间质血管内皮细胞胞质内出现棕黄色颗粒。MVD 计数判断标准按 Weidner^[3]方法:先在 40 倍光镜下寻找肿瘤微血管密度(MVD)最高的区域,即“热点”(新生血管最密集区),然后在 200 倍光镜下计数被 CD34 染成棕黄色的微血管数目,任何黄染的细胞或细胞簇即使未显示管状结构只要和邻近的微血管、肿瘤细胞或其他结缔组织分开均计为 1 个微血管。血管腔和腔内的红细胞不作为计数条件。记录 5 个视野,取均数作为 MVD 值。由 2 名病理医师采用盲法分别对同一切片计数,取两者的平均数作为该切片的 MVD 值。

1.3 统计学分析

采用 SPSS11.5 统计软件包对数据进行分析处理,实验数据以均数 ± 标准差表示,定量资料多组间比较采用单因素方差分析(SNK-q 检验),半定量等级资料比较采用秩和检验,用 Spearman 等级相关检验分析组间相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前后肿瘤的影像学表现与生长情况

实验兔肝脏 CT 平扫肿瘤呈低密度圆形或椭圆形,浸润或膨胀性生长,与周围正常肝实质分界欠清;增强扫描动脉期肿瘤呈不均匀性或边缘环状明显强化,坏死组织无强化,肿瘤与周围肝实质分界清楚;门脉期肿瘤呈不均匀低密度,而周围正常肝实质明显强化。DSA 肝动脉造影显示供血动脉明显增粗、紊乱,肿瘤多呈边缘性环状或不均匀染色,部分可见血管移位及肿瘤包绕征,动静脉瘘多不明显。术后 2 周末 CT 平扫显示对照组肿瘤体积明显增大,中心部坏死面积增大;而 TAE 和 TACE 组肝肿瘤病灶内碘油沉积,中心部坏死区无碘油沉积,正常肝组织内亦有不均匀碘油沉积(图 1~5)。

治疗前各组肿瘤体积差别无统计学意义($P > 0.05$);治疗后虽然实验组与对照组肿瘤体积均增大,但是 TAE 组和 TACE 组肿瘤体积均小于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),TAE 组和 TACE 组比较,TACE 组体积增长最小,但两组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 1)。

表 1 各组治疗前后兔肝肿瘤体积变化

组别	动物数	治疗前(cm^3)	治疗后2周(cm^3)	增长率(%)
对照组	8	1.48 ± 0.26	13.92 ± 2.03	848.65 ± 106.09
TAE组	8	1.49 ± 0.22	10.04 ± 1.23	575.17 ± 54.53
TACE组	8	1.50 ± 0.22	9.60 ± 1.63	543.80 ± 73.50

2.2 HIF-1 α 、VEGF、CD34 免疫组化结果

HIF-1 α 在肿瘤组织中普遍表达,主要位于肿瘤细胞核中,胞质中也有表达,而在正常肝组织中基本不表达。在肿瘤组织中 HIF-1 α 的表达不均匀,中心坏死组织不表达,瘤旁组织的表达均强于肿瘤中心组织,在栓塞后残瘤组织周围、肿瘤坏死组织周围及有纤维结缔组织包绕的残瘤细胞条索中 HIF-1 α 表达最强。三组中 HIF-1 α 表达的强阳性率对照组、TAE 组和 TACE 组分别为 12.5%、62.5%、50%,TAE 组和 TACE 组 HIF-1 α 表达均明显高于对照组,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 6。

VEGF 阳性染色主要集中在肿瘤细胞膜和细胞质中。在瘤周、瘤内坏死区周围及栓塞后残存癌组织中可见呈弥漫性或灶状分布的 VEGF 强阳性染色细胞,与新生血管的分布有较好的一致性;而在瘤周正常肝细胞中无染色或有极弱染色。三组间 VEGF 表达的强阳性率分别为 25%、50%、50%,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

CD34 阳性染色为血管内皮细胞胞质内出现棕黄色颗粒。肿瘤微血管分布不均,表现出明显的异质性,在栓塞后坏死区域周边残存癌组织、新生癌巢周边及纤维包膜中 CD34 呈强阳性染色,微血管分布密集。本实验中对照组、TAE 组和 TACE 组的 MVD 值分别为 51.63 ± 4.90 、 67.08 ± 4.57 、 63.50 ± 4.93 ,TAE 组、TACE 组 MVD 较对照组高,差异有统计学意义($P < 0.05$),TAE 组较 TACE 组高,但两者

表 2 治疗后 2 周兔各组免疫组化检测结果

组别	动物数	HIF-1 α				强阳性率(%) [*]	VEGF				强阳性率(%)	MVD
		-	+	++	+++		-	+	++	+++		
对照组	8	2	2	3	1	12.5	1	2	3	2	25	51.63 ± 4.90
TAE组	8	0	1	2	5	62.5	0	1	3	4	50	67.08 ± 4.57
TACE组	8	1	0	3	4	50.0	1	1	2	4	50	63.50 ± 4.93

* 强阳性率是指表达强度为+++者占总例数的百分比

之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 2)。

2.3 HIF-1 α 表达与 VEGF 及 MVD 的关系

应用 Spearman 等级相关分析,模型兔各组 HIF-1 α 与 VEGF 的表达呈显著正相关($r_s=0.537, P <$

0.01);VEGF 的表达与 MVD 值呈正相关($r_s = 0.486, P < 0.05$);HIF-1 α 的表达与 MVD 值之间呈正相关($r_s = 0.423, P < 0.05$)。

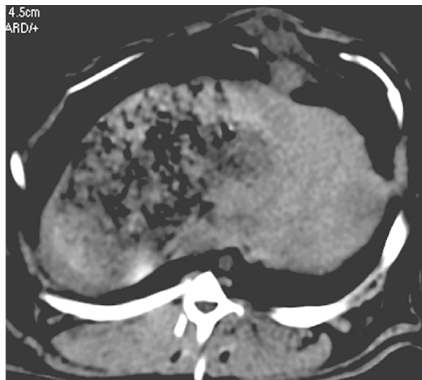


图 1 兔 VX2 肝癌模型 CT 平扫图像 肝左叶肿瘤病灶,与正常肝实质分界不清



图 2 实验兔增强 CT 门脉期图像,肿瘤呈低密度,与正常肝实质分界清楚

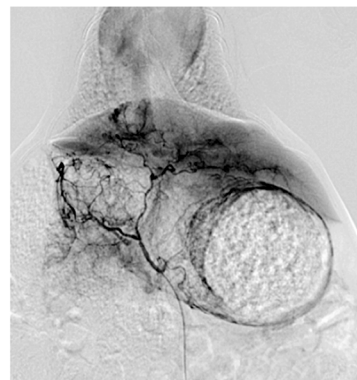


图 3 实验兔 DSA 图像 肝动脉造影显示肿瘤供血动脉增粗、扭曲,可见肿瘤染色

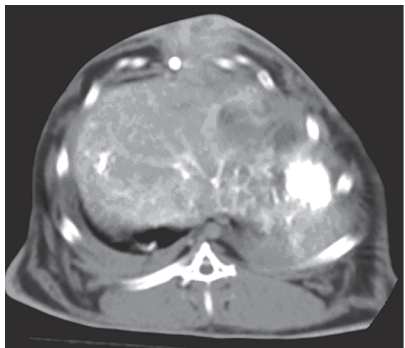


图 4 TACE 术后 2 周 CT 图像 肝左叶病灶碘油沉积良好,正常肝组织内亦有不均匀碘油沉积

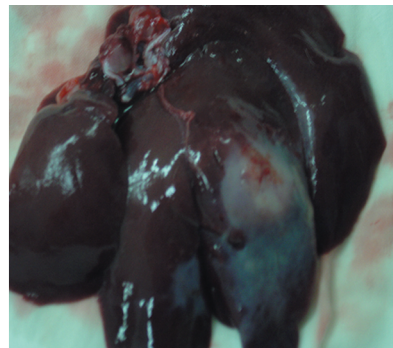


图 5 TACE 术后大体标本 栓塞后肝左叶病灶及其周边斑片状肝变性区

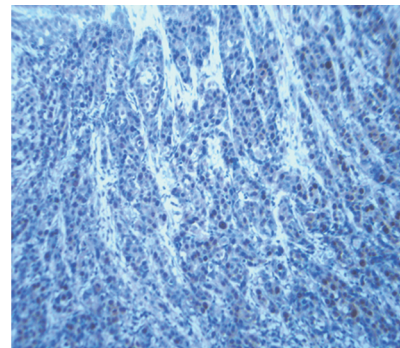


图 6 免疫组化染色肿瘤细胞 HIF-1 α 阳性表达($\times 100$)

3 讨论

肝癌是我国常见的高度恶性富血管肿瘤,发病率和死亡率均较高。TACE 是目前治疗肝细胞癌的主要方法之一,但其远期疗效仍不理想^[4]。主要原因为 TACE 治疗是通过阻断肝癌组织的血液供应使癌细胞发生缺血缺氧坏死而发挥作用,但化疗栓塞很难彻底消除肿瘤血供,TACE 术后仍有部分癌组织残存,残癌组织可通过肿瘤新生血管生成等因素重新形成丰富的血供,导致肿瘤复发和转移。

兔 VX2 肝肿瘤模型因其肿瘤血供丰富,主要由肝动脉供血,类似人类肝细胞肝癌,肿瘤为巨块型实体瘤,呈浸润或膨胀性生长,且以中型动物兔为载体,模型制作简单,实验周期短,是适合需进行动脉穿刺插管等介入治疗的理想实验动物模型^[5]。本实验通过建立兔 VX2 肝癌模型并应用免疫组化等方法检测 TACE 术后 HIF-1 α 、VEGF 的表达,研究 TACE 对 HIF-1 α 、VEGF 表达的影响并评价两者的

相关性及其与肿瘤血管生成的关系,进一步揭示了肝癌 TACE 术后肿瘤新生血管生成的调控机制。

肿瘤的新生血管生成是由肿瘤细胞或间质细胞产生的促血管生成因子及抑制因子调节,其中 VEGF 是肿瘤新生血管生成最主要的调节因子之一,已有研究结果显示 TACE 可以影响 VEGF 的表达,Suzuki 等^[6]对 38 例行 TACE 治疗的肝癌患者进行 VEGF 检测,发现 TACE 术后 7 d 血浆 VEGF 水平明显升高。TACE 术后残癌组织 VEGF 表达明显升高,且 VEGF 阳性细胞与新生血管的分布存在较好的相关性,揭示 TACE 术后残存癌细胞能大量分泌 VEGF,VEGF 在 TACE 术后残癌组织血供重建中发挥了重要作用,但 TACE 后 VEGF 高表达的调控机制仍不十分清楚。

近年研究发现,HIF-1 α 是低氧条件下具有转录活性的一类核转录因子,对缺氧反应基因的转录和激活发挥关键作用,进而对缺氧状态下血管生成起

核心调控作用, HIF-1 α 的靶基因主要包括 VEGF 以及糖代谢相关蛋白的编码基因, 它们参与肿瘤血管生成以及细胞能量代谢。Zhong 等^[7]用免疫组化方法分析手术切除的 19 种恶性肿瘤 179 例肿瘤标本时, 发现有 13 种肿瘤 HIF-1 α 呈不同程度的高表达, 而在相应的正常组织中无表达, 认为在肿瘤的进展和转移中 HIF-1 α 的表达发挥重要作用。目前研究证实 HIF-1 α 是 VEGF 基因上游的重要表达调控因子, HIF-1 α 能通过增加 VEGF 的转录活性和增加 VEGF mRNA 的稳定性而与肿瘤的新生血管生成密切相关。Carmeliet 等^[8]的实验表明, 在有 HIF-1 α 缺陷的肿瘤中, VEGF 的表达显著降低, 肿瘤生长明显减慢。Tsuzuki 等^[9]发现 VEGF mRNA 主要在坏死区周围缺氧的肿瘤细胞内表达, 在 VEGF 的启动子区内发现存在 HRE——HIF-1 靶基因所共有的缺氧反应元件, 并将有 HIF-1 缺陷的肿瘤细胞异种移植, 所生成的肿瘤中 VEGF 表达明显减少, 血管密度也明显降低, 从而进一步说明肿瘤组织缺氧诱生的 VEGF 高表达是通过缺氧特异性转录因子-HIF-1 α 的转录激活所致。

本实验结果表明, HIF-1 α 在肿瘤组织中普遍表达, 在 TACE 术后残瘤组织周围、肿瘤坏死组织周围及有纤维结缔组织包绕的残瘤细胞条索中 HIF-1 α 表达最强。三组中 TAE 组和 TACE 组 HIF-1 α 表达的强阳性率明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。同时结果表明三组中 TAE 组和 TACE 组的 VEGF 表达及 MVD 均较对照组高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明由于 TACE 难以使肿瘤细胞发生完全性坏死, 栓塞后肿瘤滋养血管的破坏、血流动力学的紊乱、肿瘤的营养缺乏及大量癌细胞坏死后伴发的纤维结缔组织增生等原因使术后残存瘤细胞发生缺血、缺氧, 可诱发并明显上调 HIF-1 α 的表达, 进而调控 VEGF 的表达增加, 促进肿瘤微血管生成和 MVD 增加, 从而使残瘤得以生存并促进了 TACE 术后肿瘤的复发和转移。实验表明, HIF-1 α -VEGF 是肝癌发生发展过程中的一个重要的细胞内通路。本组实验结果经 Spearman 等级相关分析检验, 各实验组 HIF-1 α 与 VEGF 的表达呈显著正相关 ($r_s = 0.537, P < 0.01$); VEGF 的表达与 MVD 值呈正相关 ($r_s = 0.486, P < 0.05$); HIF-1 α 的表达与 MVD 值之间呈正相关 ($r = 0.423, P < 0.05$), 表明 HIF-1 α 在肿瘤的快速生长所需要的血

管新生和介入栓塞所致的残瘤组织的血供重建中均发挥核心调控作用, 而 TACE 作为一种主要是针对肿瘤局部的缺血缺氧干预治疗, 在介入栓塞治疗后, 伴随着肿瘤血管栓塞所导致的强烈的缺血、缺氧环境, 残瘤组织中 HIF-1 α 基因被激活, HIF-1 α 蛋白过度表达并通过密切调控其下级基因 VEGF 的转录而促进肿瘤新生血管及血管体系的形成, 影响肿瘤的生物行为并提高其复发和转移的能力。

相信随着对 HIF-1 α 研究的深入, 会更加详尽的认识 TACE 术后肿瘤血管生成的调控机制, 有助于进一步揭示 TACE 术后肝癌复发转移的分子机制, 进而为临床上以 HIF-1 α 基因为靶点的肿瘤治疗提供重要的理论依据。

[参考文献]

- [1] Birner P, Schindl M, Obermair A, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer[J]. Cancer Res, 2000, 60: 4693 - 4696.
- [2] Park YN, Kim YB, Yang KM, et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the early stage of multistep hepatocarcinogenesis [J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124: 1061 - 1065.
- [3] Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma [J]. N Eng J Med, 1991, 324: 1 - 8.
- [4] 王建华. 肝癌综合介入治疗的现状 [J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13: 721 - 723.
- [5] 周承凯, 梁惠民, 李欣, 等. 实验兔 VX2 肝肿瘤模型制作及动脉插管技术探讨[J]. 介入放射学杂志, 2006, 15: 101 - 104.
- [6] Suzuki H, Mori M, Kawaguchi C, et al. Serum vascular endothelial growth factor in the course of hepatocellular carcinoma [J]. Int J Oncol, 1999, 14: 1087 - 1090.
- [7] Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 α in common human cancers and their metastases[J]. Cancer Res, 1999, 59: 5830 - 5835.
- [8] Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, et al. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis[J]. Nature, 1998, 394: 485 - 490.
- [9] Tsuzuki Y, Fukumura D, Oosthuysen B, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) modulation by targeting hypoxia-inducible factor-1 α —> hypoxia response element—> VEGF cascade differentially regulates vascular response and growth rate in tumors[J]. Cancer Res, 2000, 60: 6248 - 6252.

(收稿日期: 2007-02-09)