

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.29.002
文章编号: 1005-8982 (2017) 29-0006-05

辣椒素抑制 Lewis 肺癌小鼠血管生成的实验研究

李华洋, 许婧, 任公平, 姜爱英

(牡丹江医学院红旗医院, 黑龙江 牡丹江 157011)

摘要: **目的** 观察辣椒素对 Lewis 肺癌小鼠血管生成的影响, 并探讨其可能的机制。**方法** 复制 Lewis 肺癌小鼠模型, 随机分为模型组, 辣椒素低、中、高剂量组, 以及阳性对照组 5 组, 每组 9 只。各组连续用药 20 d, 于末次给药后处死全部小鼠, 比较各组小鼠瘤体积、瘤重、抑瘤率及微血管密度 (MVD)。采用免疫组织化学法检测 CD34 阳性细胞率; 采用 Western blot 和实时荧光定量聚合酶链反应检测缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)、血管内皮生长因子 (VEGF) 蛋白和 mRNA 表达的变化。**结果** 与模型组比较, 辣椒素抑制 Lewis 肺癌小鼠瘤体积、瘤重、MVD 和 CD34 阳性细胞率 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 辣椒素抑制 Lewis 肺癌小鼠 HIF-1 α 、VEGF 蛋白和 mRNA 的表达 ($P < 0.05$)。**结论** 辣椒素抑制 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长和血管生成, 其机制可能与抑制 HIF-1 α 和 VEGF 的表达有关。

关键词: 辣椒素; 肺癌; 血管生成; 缺氧诱导因子 1 α ; 血管内皮生长因子

中图分类号: R734.2

文献标识码: A

Inhibitory effect of capsaicin on angiogenesis in Lewis lung cancer of mice

Hua-yang Li, Jing Xu, Gong-ping Ren, Ai-ying Jiang

(Hongqi Hospital, Mudanjiang Medical University, Mudanjiang, Heilongjiang 157011, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of capsaicin on angiogenesis in Lewis lung cancer of mice, and to discuss its possible mechanism. **Methods** The mice with transplanted Lewis lung cancer were randomly divided into 5 groups (9 in each): model group, low-dosage capsaicin group, medium-dosage capsaicin group, high-dosage capsaicin group, and positive control group. After continuous medication for 20 days, the mice were sacrificed. The tumor volume, tumor weight, tumor inhibitory rate and microvessel density (MVD) were compared among the 5 groups. The rate of CD34⁺ cells was detected by immunohistochemical analysis. The mRNA and protein expressions of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were detected by qRT-PCR and Western blot respectively. **Results** Capsaicin significantly inhibited the tumor volume and weight, MVD and the rate of CD34⁺ cells compared with the model group ($P < 0.05$). Capsaicin also significantly inhibited the mRNA and protein expressions of HIF-1 α and VEGF in the Lewis lung cancer of mice compared with the model group ($P < 0.05$). **Conclusions** Capsaicin can inhibit tumor growth and angiogenesis in Lewis lung cancer of mice which might be related to the down-regulation of HIF-1 α and VEGF.

Keywords: capsaicin; lung cancer; angiogenesis; hypoxia-inducible factor-1 α ; vascular endothelial growth factor

肺癌病因复杂, 治疗困难, 死亡率居所有恶性肿瘤的第 1 位。辣椒素是红辣椒中的一种活性成分, 近

年来, 国内外可见诸多关于辣椒素抗肿瘤作用的报道, 如抗前列腺癌、胰腺癌, 神经胶质瘤等^[1-3]。本课题组

收稿日期: 2016-10-01

[通信作者] 姜爱英, E-mail: aiyingjiang@126.com; Tel: 0453-6586515

前期研究表明, 辣椒素可抑制肺癌 NCI-H460 细胞增殖, 诱导其凋亡, 且减轻炎症反应^[4-7]。本研究旨在前期研究的基础上, 观察辣椒素对 Lewis 肺癌小鼠血管生成的影响, 并探讨其可能的机制。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 细胞株 Lewis 肺癌细胞株购自中国科学院上海细胞研究所细胞库。复苏 Lewis 细胞在 DMEM 营养培养基 (含 10 ml/L 灭活胎牛血清, 100 μ g/ml 硫酸链霉素, 100 u/ml 青霉素钠) 中培养, 于 37 $^{\circ}$ C、5% 二氧化碳 CO₂ 及饱和湿度培养箱中培养。

1.1.2 实验动物 健康 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 60 只, 体重 (20 \pm 2) g, 自由摄食及饮水, 12 h 昼/夜循环照明, 室温 (20 \pm 2) $^{\circ}$ C, 湿度 40% ~ 60% 饲养。由哈尔滨医科大学动物实验中心提供, 实验动物合格证号为: P00102008。

1.1.3 实验药品及试剂 辣椒素 (纯度 >98.0%, 美国 Sigma 公司), DMEN 培养液 (美国 Gibco 公司), 顺铂 (山东齐鲁制药厂), 3% 双氧水 H₂O₂ (南京兴蓝箭科技公司), 蛋白酶 XIV (美国 Sigma 公司), Ttazol 试剂 (美国 Invitrogen 公司), 小鼠抗人缺氧诱导因子 1 α (Hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 抗体、兔抗人血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 抗体、CD34 单克隆抗体、过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗、ECL 试剂盒和 BCA 蛋白定量试剂盒购自北京博奥森生物技术有限公司, 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司)。

1.1.4 实验仪器 HERAcell 240i CO₂ 培养箱 (德国 Thermofisher Scientific 公司), PWC-184 分析天平 (英国 ADAM 公司), GS-15R 低温高速离心机 (美国 Beckman 公司), PowerPac HV 电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司), Mastecycle gradient PCR 仪 (德国 Thermofisher Scientific 公司)。

1.2 方 法

1.2.1 Lewis 肺癌小鼠模型的复制和分组 取对数生长期 Lewis 细胞, 0.05% 胰酶消化 4 min, 10 000 r/min 离心 10 min, PBS 冲洗, 以不含血清的 DMEN 培养液制成 1 \times 10⁷ 个/ml 细胞悬液。取 0.2 ml 细胞悬液接种于 C57BL/6 小鼠右腋皮下, 接种 4 d 后随机分为 5 组, 每组 9 只。模型组: 腹腔注射 0.2 ml 丙二

醇 +0.1 ml 生理盐水; 辣椒素低剂量组: 辣椒素 25 mg/kg 溶于 0.2 ml 丙二醇 +0.1 ml 生理盐水腹腔注射; 辣椒素中剂量组: 辣椒素 50 mg/kg 溶于 0.2 ml 丙二醇 +0.1 ml 生理盐水腹腔注射^[8]; 辣椒素高剂量组: 辣椒素 100 mg/kg 溶于 0.2 ml 丙二醇 +0.1 ml 生理盐水腹腔注射; 阳性对照组: 顺铂 1 mg/kg 溶于 0.2 ml 丙二醇 +0.1 ml 生理盐水腹腔注射。各组给药 1 次/d, 共 20 d。

1.2.2 肿瘤体积、瘤重及抑瘤率的测定 给药期间, 每 3 天使用游标卡尺测量皮下瘤结节的最长径 (A) 和最短径 (B), 计算肿瘤体积 ($V/\text{cm}^3 = 0.5 \times A \times B^2$)。末次给药次日, 脱颈处死小鼠, 取瘤体, 分析天平称重, 计算抑瘤率。抑瘤率 (%) = $[1 - \text{给药组平均瘤重} / \text{模型组平均瘤重}] \times 100\%$ 。

1.2.3 微血管密度 (microvessel density, MVD) 测定 称重后, 各组随机选取 3 块瘤体行常规 HE 染色, 采用 Image-proPlus 6.0 软件系统进行微血管计数。微血管采用判断标准: 管腔内见到红细胞。MVD = 血管数 / mm²。每张切片计数 3 个视野, 取平均值。

1.2.4 免疫组织化学法 瘤体称重后, 各组随机选取 3 块瘤体, 10% 中性甲醛固定、石蜡包埋、切片机切片 (厚约 0.4 μ m)、脱蜡、3% H₂O₂- 甲醇溶液消除内源性过氧化物酶 30 min, 0.05% 蛋白酶 XIV 37 $^{\circ}$ C、5 min 修复抗原。切片与 CD34 单克隆抗体 (1 : 40 稀释) 4 $^{\circ}$ C 过夜培养, 与生物素标记的兔抗小鼠二抗室温培养 45 min, 随后与链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物室温培养 45 min, 二氨基联苯胺显色剂显色 10 s, 苏木精复染, 中性树胶盖玻片封片, 显微镜下观察切片, 检测 CD34 细胞。阳性结果判断标准: 细胞呈棕褐色阳性颗粒样物质, 主要位于细胞质, 胞核内可有轻度黄染。采用 Smart scape 图像分析系统对阳性染色细胞区域进行分析。每张切片计数 3 个视野, 取平均值。

1.2.5 Western blot 检测 瘤体称重后, 各组随机选取 3 块瘤体, 冰上研磨, 加入 RIPA 裂解液和 PMSF 蛋白酶抑制剂, 4 $^{\circ}$ C、10 000 r/min 离心 10 min, 取上清。BCA 法测定总蛋白浓度。取 30 μ g 蛋白上样后进行凝胶电泳。当电泳完成后, 电转至 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂奶粉 PBST 4 $^{\circ}$ C 封闭 1 h。加入小鼠抗人 HIF-1 α (1 : 500 稀释)、兔抗人 VEGF 抗体 (1 : 1 000 稀释) 37 $^{\circ}$ C 培养 2 h。PBST 洗涤后, 加入过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗室温孵育 2 h。PBST 洗涤, ECL 化学发

光试剂显色。 β -actin 作为内参。Bio-Rad 凝胶成像系统对各组条带进行灰度值的统计分析。每份样品检测 3 次,取平均值。

1.2.6 qRT-PCR 瘤体称重后,各组随机选取 3 块瘤体,冰上研磨,加入 RIPA 裂解液和 PMSF 蛋白酶抑制剂 4℃、10 000 r/min 离心 10 min,取上清。Trizol 试剂提取细胞总 RNA,检测 RNA 纯度,取 0.3 μ g 总 RNA 为模板,逆转录成 cDNA。反应体系为 qRT-PCR 酶混合物 2.0 μ l。反应条件:94℃预变性 5 min,94℃变性 30 s,53℃退火 30 s,72℃延伸 45 s,共 30 个循环。1.5% 琼脂糖凝胶电泳 120 V、45 min 溴化乙啶染色。采用 ZF 型紫外透射反射分析仪摄像,Image J2x 软件分析各条带灰度值。利用 Pubmed 查找相关基因序列,并利用引物合成软件 Primer Premier 5.0 设计引物。HIF-1 α 引物扩增的片段长度为 295 bp,正向引物:5'-TCCAAGAAGCCCTAACGTGT-3',反向引物:5'-TTGTCTTTTGGCTCCATTCCA-3'; VEGF 引物扩增的片段长度为 390 bp,正向引物:5'-CGAAGTGAA GTTCATGGATG-3',反向引物:5'-TGTATCAGCTCTT CCTGGT-3'; β -actin 引物扩增的片段长度为 250 bp,正向引物:5'-CATGTACGTTGCTATCCAGGC-3',反向引物:5'-CTCCTTAATGTCACGCACGAT-3'。每份样品检测 3 次,取平均值。

1.3 统计学方法

数据分析采用 Graphpad prism 5.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组比较用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 辣椒素对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长的影响

各组小鼠的瘤体积和瘤重比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),辣椒素中、高剂量组和阳性对照组的瘤体积和瘤重低于模型组 ($P < 0.05$)。辣椒素低剂量组的瘤体积和瘤重与模型组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 辣椒素对 Lewis 肺癌小鼠 MVD 的影响

模型组、辣椒素低、中、高剂量组,以及阳性对照组的小鼠的 MVD 分别为 (21.76 ± 4.04)、(18.42 ± 3.63)、(12.32 ± 1.30)、(10.88 ± 0.99) 和 (9.57 ± 1.17) 血管数/mm²。各组小鼠的 MVD 比

表 1 各组小鼠的瘤体积、瘤重及抑瘤率比较

($n = 9, \bar{x} \pm s$)

组别	瘤体积/cm ³	瘤重/g	抑瘤率/%
模型组	6.63 \pm 1.09	2.63 \pm 0.47	-
辣椒素低剂量组	5.45 \pm 0.81	2.24 \pm 0.47	14.83 \pm 3.62
辣椒素中剂量组	4.07 \pm 0.50 [†]	1.58 \pm 0.17 [†]	39.92 \pm 8.39
辣椒素高剂量组	3.54 \pm 0.28 [†]	1.18 \pm 0.14 [†]	55.13 \pm 9.11
阳性对照组	2.60 \pm 0.34 [†]	1.07 \pm 0.08 [†]	59.31 \pm 10.75
F 值	7.734	7.079	-
P 值	0.000	0.000	-

注:†与模型组比较 $P < 0.05$

较,经方差分析,差异有统计学意义 ($F = 6.565, P = 0.000$)。辣椒素中、高剂量组和阳性对照组的 MVD 低于模型组 ($P < 0.05$)。辣椒素低剂量组的 MVD 与模型组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 辣椒素对 Lewis 肺癌小鼠 CD34 表达的影响

模型组可见致密的新生血管,血管管腔增大,内皮细胞部分呈团块状增生,胞质内分布大量浓密的棕褐色阳性颗粒,CD34 阳性细胞呈高表达。辣椒素中、高剂量组和阳性对照组可见胞质内棕褐色阳性颗粒减少,新生血管明显减少,周围结缔组织明显增多。见图 1。

模型组,辣椒素低、中、高剂量组,以及阳性对照组的小鼠的 CD34 阳性细胞率分别为 (67.48 ± 10.45)%、(55.24 ± 8.66)%、(33.54 ± 5.86)%、(23.17 ± 2.8)% 和 (17.21 ± 2.89)%。各组小鼠的 CD34 阳性细胞率比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($F = 19.510, P = 0.000$)。辣椒素中、高剂量组和阳性对照组的 CD34 阳性细胞率低于模型组 ($P < 0.05$)。辣椒素低剂量组的 CD34 阳性细胞率与模型组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 辣椒素对 Lewis 肺癌小鼠 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达的影响

各组小鼠 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。辣椒素中、高剂量组和阳性对照组的 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达低于模型组 ($P < 0.05$)。辣椒素低剂量组 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达与模型组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2 和图 2。

2.5 辣椒素对 Lewis 肺癌小鼠 HIF-1 α 和 VEGF mRNA 表达的影响

各组小鼠 HIF-1 α 和 VEGF mRNA 表达比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。辣椒素中、

高剂量组和阳性对照组 HIF-1 α 和 VEGF mRNA 表达低于模型组 ($P < 0.05$)。辣椒素低剂量组 HIF-1 α 和 VEGF mRNA 表达与模型组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

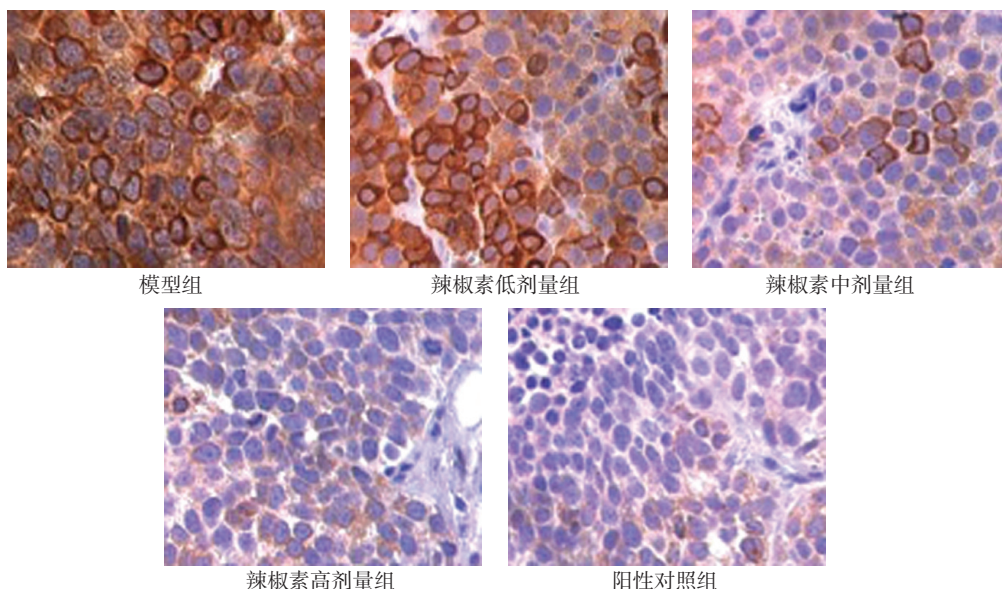


图 1 CD34 细胞阳性表达 (免疫组织化学法 $\times 400$)

表 2 各组小鼠 HIF-1 α 和 VEGF 蛋白表达的比较
($n = 9, \bar{x} \pm s$)

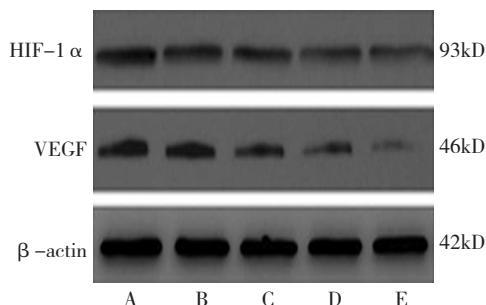
组别	HIF-1 α 蛋白	VEGF 蛋白
模型组	0.356 \pm 0.055	0.266 \pm 0.045
辣椒素低剂量组	0.224 \pm 0.039	0.264 \pm 0.048
辣椒素中剂量组	0.185 \pm 0.024 [†]	0.149 \pm 0.021 [†]
辣椒素高剂量组	0.140 \pm 0.017 [†]	0.101 \pm 0.010 [†]
阳性对照组	0.119 \pm 0.017 [†]	0.061 \pm 0.008 [†]
F 值	9.147	12.690
P 值	0.001	0.000

注: † 与模型组比较 $P < 0.05$

表 3 各组小鼠 HIF-1 α 和 VEGF mRNA 表达的比较
($n = 9, \bar{x} \pm s$)

组别	HIF-1 α mRNA	VEGF mRNA
模型组	0.640 \pm 0.130	0.563 \pm 0.096
辣椒素低剂量组	0.513 \pm 0.118	0.553 \pm 0.054
辣椒素中剂量组	0.427 \pm 0.034 [†]	0.404 \pm 0.027 [†]
辣椒素高剂量组	0.356 \pm 0.034 [†]	0.315 \pm 0.026 [†]
阳性对照组	0.247 \pm 0.028 [†]	0.203 \pm 0.029 [†]
F 值	3.127	6.192
P 值	0.032	0.000

注: † 与模型组比较 $P < 0.05$



A: 模型组; B: 辣椒素低剂量组; C: 辣椒素中剂量组; D: 辣椒素高剂量组; E: 阳性对照组

图 2 Western blot 检测结果

3 讨论

本研究发现, 辣椒素对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长具有明显的抑制作用, 无论是肿瘤体积, 还是瘤重都降低, 抑瘤率升高。以上结果提示, 辣椒素可以抑制肺癌实体瘤的生长。而新生血管的形成是实体肿瘤生长的重要步骤之一, 也是肿瘤局部浸润和远处转移必要的前提。肿瘤新生血管形成的经典理论认为, 在肿瘤形成的初期, 以弥散方式获得的营养和氧气足以维持生长, 但是随着肿瘤体积和重量的增加, 仅以弥散方式已经不能满足生长的需要, 因此肿瘤为获得更多

的营养和氧气而启动新生血管形成机制^[9]。肺癌作为实体瘤,其生长过程也需要新生血管的支持,所以抑制肺癌新生血管的形成已经成为目前治疗肺癌的一个重要方向。本研究也发现,辣椒素可使 Lewis 肺癌小鼠 MVD 降低,血管标志物 CD34 阳性细胞率也降低,说明辣椒素对肺癌新生血管的形成具有抑制作用。

肿瘤的生长必须依赖足够的血供,切断肿瘤的血供则可抑制肿瘤生长,甚至造成肿瘤细胞坏死。因此抗血管生成靶向治疗是近几十年来肿瘤学研究中一个相当热门的领域^[10]。为观察辣椒素抑制 Lewis 肺癌小鼠新生血管的形成的可能机制,本研究从 HIF-1 α 和 VEGF 的角度进行探讨。HIF-1 是异源二聚体转录因子,包括 HIF-1 α 和 HIF-1 β 2 种亚基聚合形成的,其中 HIF-1 α 决定 HIF-1 的活性,是主要的氧调节亚基。如果肿瘤组织迅速增长,势必引起局部组织营养或氧气供应不足,抑癌基因突变或某些炎症因子均可能使肿瘤组织中 HIF-1 α 蛋白的表达增多。HIF-1 α 对维持肿瘤细胞能量代谢,保护缺氧环境中的肿瘤组织,促进肿瘤细胞的生长和肿瘤血管生成具有重要作用,且与肿瘤分期、有无淋巴结转移密切相关^[11]。VEGF 是 HIF-1 α 通路调控的下游基因,也是其靶基因之一^[12]。VEGF 是目前已知重要的血管生成促进因子,可以使血管通透性增加,抑制血管内皮细胞凋亡,特异性地刺激其增殖,从而促使新生血管的形成^[13]。研究证明,敲除 HIF-1 α 基因或阻断 HIF-1 α 转录可使肿瘤细胞不分泌 VEGF,抑制肿瘤新生血管的形成^[14]。另有研究表明,HIF-1 α 和 VEGF 在肺癌组织中呈高表达^[15-16]。本研究发现,辣椒素可抑制 Lewis 肺癌小鼠 HIF-1 α 、VEGF 蛋白和 mRNA 的表达,说明辣椒素抑制 Lewis 肺癌小鼠血管生成的机制可能与其抑制 HIF-1 α 和 VEGF 的表达有关。

综上所述,辣椒素可抑制 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长和新生血管的形成,其机制可能与其直接抑制 HIF-1 α 的表达,或者通过抑制 HIF-1 α 的表达从而抑制下游靶基因 VEGF 的表达有关。

参 考 文 献:

- [1] VENIER N A, COLQUHOUN A J, SASAKI H, et al. Capsaicin: a novel radio-sensitizing agent for prostate cancer[J]. Prostate, 2015, 75(2): 113-125.
- [2] 刘南,张兆伟,孙刚. 辣椒素抑制胰腺癌裸鼠皮下移植瘤生长的实验研究[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(6): 2555-2558.
- [3] 谢乐,周慎,伍大华,等. 辣椒素及二氢辣椒素对神经胶质瘤 C6 细胞和骨肉瘤 ROS17/2.8 细胞的抑制作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2014, 34(10): 1-5.
- [4] 任公平,那辉,佟雷,等. 辣椒素通过下调 COX-2 和 mPGES-1 抑制 IL-1 β 诱导的 NCI-H460 细胞 PGE2 浓度的实验研究[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2016, 37(2): 283-288.
- [5] 任公平,刘宏扬,于雪莲,等. 辣椒素对非小细胞肺癌侵袭能力影响及其机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(5): 172-177.
- [6] 任公平,吕正鑫,孙琳林. 辣椒素对人大细胞肺癌 NCI-H460 细胞的影响[J]. 医药导报, 2016, 35(2): 132-136.
- [7] 任公平,吕正鑫,刘宏扬,等. 辣椒素对人大细胞肺癌 NCI-H460 细胞侵袭能力及 E-cadherin、Snail 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(8): 55-58.
- [8] GENG S, ZHENG Y, MENG M, et al. Gingerol reverses the cancer-promoting effect of capsaicin by increased TRPV1 level in a urethane-induced lung carcinogenic model[J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(31): 6203-6211.
- [9] FOLKMAN J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications[J]. N Engl J Med, 1971, 285(21): 1182-1186.
- [10] 蒋晓东,戴鹏,宋大安,等. HIF-1 α 、VEGF、VEGFR2 在非小细胞肺癌组织中的表达及临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(3): 386-388.
- [11] AQUINO-GÁLVEZ A, GONZÁLEZ-ÁVILA G, DELGADO-TELLO J, et al. Effects of 2-methoxyestradiol on apoptosis and HIF-1 α and HIF-2 α expression in lung cancer cells under normoxia and hypoxia[J]. Oncol Rep, 2016, 35(1): 577-583.
- [12] RIGIRACCILO D C, SCARPELLI A, LAPPANO R, et al. Copper activates HIF-1 α / GPER / VEGF signalling in cancer cells[J]. Oncotarget, 2015, 6(33): 34158-34177.
- [13] SAPONARO C, MALFETTONE A, RANIERI G, et al. VEGF, HIF-1 α expression and MVD as an angiogenic network in familial breast cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(1): DOI: org/10.1371/journal.pone.0053070.
- [14] BERK V, DENIZ K, BOZKURT O, et al. Predictive significance of VEGF and HIF-1 α expression in patients with metastatic colorectal cancer receiving chemotherapy combinations with bevacizumab[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(14): 6149-6154.
- [15] TAKASAKI C, KOBAYASHI M, ISHIBASHI H, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 α affects tumor proliferation and antiapoptosis in surgically resected lung cancer[J]. Mol Clin Oncol, 2016, 5(2): 295-300.
- [16] DEACON K, ONION D, KUMARI R, et al. Elevated SP-1 transcription factor expression and activity drives basal and hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in non-small cell lung cancer[J]. J Biol Chem, 2012, 287(47): 39967-39981.

(童颖丹 编辑)