

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.04.015

· 临床研究 ·

HIF-1 α 和 GLUT-1 在鼻咽癌组织中的表达及其临床意义

尹中普¹, 孙晓² (1. 南阳市中心医院耳鼻-喉头颈外科, 河南 南阳 473003, 2. 南阳市中心医院消化内科, 河南 南阳 473003)

[摘要] **目的:** 探究缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 和葡萄糖转运蛋白-1 (glucose transporter-1, GLUT-1) 在鼻咽癌组织中的表达及其临床意义。 **方法:** 选取 2010-09 至 2013-10 间经南阳市中心医院确诊为鼻咽癌的 79 例患者的病理标本及 45 例慢性鼻咽炎症患者的组织标本, 通过免疫组化 S-P 法测定 HIF-1 α 及 GLUT-1 蛋白的分布和表达情况; 并用 CD34 进行免疫组化染色定位, 计数 MVD 值; 综合分析三者表达的临床意义。通过缺氧诱导剂 CoCl₂ 体外模拟缺氧微环境, 初步探讨乏氧条件下 HIF-1 α 对鼻咽癌血管新生的调控机制。 **结果:** 免疫组化结果显示 HIF-1 α 蛋白在鼻咽慢性炎症组织中无表达, 在鼻咽癌组织细胞核中强阳性表达 (阳性率为 63.40%), 且表达水平和肿块大小、淋巴结转移、T 分期和临床分期有关 ($P < 0.05$); 鼻咽癌组织 MVD 值明显高于鼻咽慢性炎症组织, 且鼻咽癌组织中 HIF-1 α 蛋白的表达与微血管密度呈正相关。GLUT-1 在鼻咽慢性炎症组织中呈弱阳性表达 (阳性率 6.67%), 在鼻咽癌组织细胞质 (膜) 中强阳性表达 (阳性率为 53.16%), 且表达水平和淋巴结转移、临床分期有关 ($P < 0.05$); 同时鼻咽癌组织中 GLUT-1 蛋白的表达与 MVD 呈正相关。另外 HIF-1 α 蛋白与 GLUT-1 蛋白的表达呈正相关。乏氧条件下鼻咽癌 CNE1 细胞中 HIF-1 α 、GLUT-1 及 VEGF 蛋白表达均明显升高。 **结论:** HIF-1 α 和 GLUT-1 在鼻咽癌组织中高表达, 并与鼻咽癌的病理特征和肿瘤血管生成密切相关, 其调控血管新生可能是通过激活 VEGF 来实现的; HIF-1 α 和 GLUT-1 似可作为今后诊治鼻咽癌的新靶点。

[关键词] HIF-1 α ; GLUT-1; 鼻咽癌; MVD

[中图分类号] R739.63; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)04-0495-05

Expression and clinical significance of HIF-1 α and GLUT-1 in human nasopharyngeal carcinoma

Yin Zhongpu¹, Sun Xiao² (1. Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Nanyang Centre Hospital, Nanyang 473003, Henan, China; 2. Department of Gastroenterology, Nanyang Centre Hospital, Nanyang 473003, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To study the expression and clinical significance of HIF-1 α and GLUT-1 in human nasopharyngeal carcinoma (NPC). **Methods:** The expression of HIF-1 α and GLUT-1 were examined in tumor tissues collected from 79 patients with NPC enrolled into our hospital from September 2010 to October 2013 and in nasopharyngitis tissues from 45 patients by using immunohistochemical staining SP method. MVD was counted by immunostaining with anti-CD34 antibody. The expression of HIF-1 α , GLUT-1, and VEGF were also determined in CNE1 cells cultured under hypoxia condition. **Results:** Immunohistochemical staining showed that HIF-1 α was highly expressed in nuclei of NPC (positive rate 63.40%) but not in nasopharyngitis tissues. The level of HIF-1 α expression was associated with tumor size, lymph metastasis, T stage and clinic stage ($P < 0.05$). HIF-1 α expression was also positively correlated with MVD, which was significant higher in NPC. GLUT-1 was weakly expressed in nasopharyngitis tissues (positive rate 6.67%) but strongly expressed in NPC tissues (positive rate 53.16%). The expression of GLUT-1 in NPC was associated with MVD, lymph metastasis and clinic stage ($P < 0.05$). Additionally, hypoxia increased the levels of HIF-1 α , GLUT-1 and VEGF in CNE1

[基金项目] 南阳市科技成果转化计划项目 (No. 2013021-18W2); 南阳市科技攻关计划项目 (No. 2010014-18WG)。Project supported by the Transformation of Scientific Achievements Project of Nanyang City (No. 2013021-18W2), and the Science and Technology Research Project of Nanyang City (No. 2010014-18WG)

[作者简介] 尹中普 (1981 -), 男, 河南南阳人, 医学硕士, 副主任医师, 主要从事耳鼻咽喉-头颈肿瘤的基础和临床的研究, E-mail: yinzhongpu1974@126.com

[通信作者] 尹中普 (Yin Zhongpu, corresponding author), E-mail: yinzhongpu1974@126.com

cells. **Conclusion:** The expression of HIF-1 α and GLUT-1 are elevated in NPC, which are associated with pathological features and increased MVD. The in vitro study supported the notion that HIF-1 α promotes the growth of nasopharyngeal cancer blood vessels through activating VEGF production. These results also suggest that HIF-1 α and GLUT-1 are potential targets for the diagnosis and treatment of NPC.

[**Key words**] HIF-1 α ; GLUT-1; nasopharyngeal carcinoma; MVD

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(4): 495-499]

恶性肿瘤的重要生物学特征之一即为肿瘤细胞快速生长增殖。随着瘤体的增大,血管网减少,造成肿瘤组织细胞处于一种缺氧状态,这时肿瘤细胞可迅速启动一系列的适应性应激反应,以增加氧供^[1]。缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)是 Semenza 等^[2]在研究促红细胞生成素表达时发现的介导细胞低氧反应的核转录因子,由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 两个亚单位构成,其中 α 亚基为氧调蛋白,是目前发现的唯一一个在乏氧状态发挥活性的转录因子。在人类大多数恶性肿瘤中均能检测到 HIF-1 α 的高表达,如食管癌、乳腺癌、胶质细胞瘤等^[3-5]。且研究^[6]证明,HIF-1 α 参与肿瘤细胞增殖、转移、能量代谢及血管生成等过程。葡萄糖转运蛋白-1(glucose transporter-1, GLUT-1)是 HIF-1 α 下游的重要靶基因之一,在细胞膜两侧葡萄糖的转运过程中发挥着不可或缺的作用,参与调节细胞的糖代谢,进而影响肿瘤细胞的能量代谢^[7-9]。本研究检测了鼻咽癌组织中 HIF-1 α 、GLUT-1 和微血管密度(micro-vessel density, MVD),以探讨鼻咽癌中 HIF-1 α 和 GLUT-1 的表达情况及其与血管生成、肿瘤生物学行为之间的关系。

1 材料与方法

1.1 临床组织标本

选取 2010-09 至 2013-10 间经我院确诊为鼻咽癌的患者 79 例。所有入选患者之前未经过放、化疗或手术治疗,男 47 例、女 32 例,年龄 24 ~ 60 岁,中位年龄 51 岁;病程 2 ~ 4 年,平均病程 2.6 年;TNM 分期:T1 ~ T2 期 32 例,T3 ~ T4 期 47 例。在我院行鼻咽镜检验或者手术治疗后保存各患者相应的癌组织切片,同时详细录入其临床病理资料,以备后续分析。另收集鼻咽慢性炎症患者 45 例行鼻咽镜检验并保存各患者相应的组织切片,作为对照研究。所有入选患者均签署知情通知书,并报送医院伦理委员会备案。

1.2 主要试剂与仪器

S-P 通用型免疫组化试剂盒及浓缩型 DAB 试剂盒购自基因科技上海有限公司,HIF-1 α 、GLUT-1、

VEGF 多克隆抗体均购自美国 Bioworld Technology 公司, β -actin 及二抗购自博士德公司,CoCl₂ 购自上海恒源公司,

1.3 免疫组织化学 S-P 法检测组织标本中 HIF-1 α 、GLUT-1 和 CD34 的表达

将纳入患者的癌组织及对照组织标本用 10% 甲醛浸泡固定后,常规方法行石蜡包埋切片后,参照 S-P 试剂盒说明进行组化染色。步骤如下:常规二甲苯脱蜡,梯度酒精脱水后,浸入 3% H₂O₂ 中 37 °C 孵育 10 min,而后 PBS 冲洗 3 次,每次 3 min。将切片置 0.01 mol/L 枸橼酸缓冲液(pH 6.0)中煮沸(95 °C,15 ~ 20 min),再冷却至室温。封闭后滴加一抗 37 °C 孵育 2 h,PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;加二抗孵育 30 min 后,同样 PBS 冲洗,DAB 染色,苏木精复染 1 min,乙醇梯度脱水,二甲苯中性胶封片。PBS 代替一抗作为阴性对照。

结果判定,HIF-1 α 以细胞核着棕黄色颗粒为阳性^[3],GLUT-1 以细胞膜和(或)胞质着棕黄色颗粒为阳性^[7]。参考 Birner^[10]的半定量评定,根据阳性细胞的数量和染色强度进行计分。①染色强度:不着色记为 0、轻度着色(强于阴性对照)记为 1、中度着色记为 2、重度着色记为 3;②阳性细胞数量:< 10% 记为 1、10% ~ 50% 记为 2、> 50% 记为 3。IHC 总积分 = ① + ②,若总积分 ≤ 2 分则为阴性,3 ~ 6 分则为阳性。

MVD 计数参考 Windner^[11]报道的方法,经 CD34 阳性染色定位后,由两名经验丰富的病理医师随机双盲于低倍镜下观察切片,确定血管密度最高(热点)的区域,然后用高倍镜计数微血管的数目。共计 5 个高倍视野的微血管数,取平均值作为该样本的 MVD 值。

1.4 细胞培养及处理

实验用鼻咽癌细胞株 CNE1 购自中山大学细胞库。置于 RPMI 1640 培养基(含 10% 胎牛血清、100 μ g/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素)37 °C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱内培养。细胞生长达 90% 融合后,胰酶消化并用培养基重悬,按 1:3 传代培养。通过在 RPMI1640 培养基中加入缺氧诱导剂 CoCl₂

来模拟肿瘤内部的缺氧微环境,对鼻咽癌细胞 CNE1 进行乏氧实验。将细胞接种于 6 孔板中,待细胞长至 85% 融合时,加入 CoCl_2 (终浓度为 150 $\mu\text{mol/L}$) 干预 24 h,进行后续实验。

1.5 Western blotting 检测 CNE1 细胞中 HIF-1 α 、GLUT-1 及 VEGF 蛋白的表达

细胞经相关处理后收集蛋白样品,进行蛋白定量后加入上样缓冲液,95 $^{\circ}\text{C}$ 加热变性 5 min,8% SDS-PAGE 约 90 min 后电转移至 PVDF 膜上。5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,加入 HIF-1 α 、GLUT-1、VEGF 多克隆抗体及 β -actin 单克隆抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗涤 3 次(5 min/次)。分别加入 1:1 000 稀释的二级抗体,室温孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次(10 min/次)。然后浸入含化学发光试剂 A、B 的水溶液中激发荧光,在暗室中压 X 线片,然后显影、定影。所有条带使用 ImageJ 软件进行灰度分析。

1.6 统计学分析

将本研究涉及的数据录入 SPSS13.0 进行分析,计量资料行 t 检验,计数资料行 χ^2 检验,相关性分析采用 Spearman 等级相关分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HIF-1 α 蛋白表达

免疫组化 S-P 法检测结果(图 1)发现, HIF-1 α 在鼻咽慢性炎症组织中无表达,而在鼻咽癌组织细胞核中可见棕黄色颗粒,阳性表达率为 63.40%。

鼻咽癌组织中 HIF-1 α 蛋白表达水平与临床病理指标间的关系,经统计学分析(表 1)显示: HIF-1 α 蛋白的表达与患者年龄、性别等无相关($P > 0.05$);而与肿块大小、淋巴结转移、T 分期和临床分期有关($P < 0.05$)。

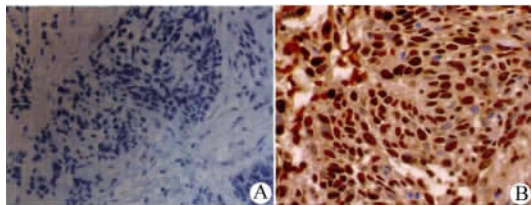


图 1 鼻咽慢性炎症组织(A)和鼻咽癌组织(B)中 HIF-1 α 蛋白的表达($\times 400$)

Fig. 1 Expression of HIF-1 α protein in nasopharyngitis tissues and NPC tissues (B) ($\times 400$)

2.2 HIF-1 α 蛋白表达与微血管密度呈正相关性

鼻咽癌组织 MVD 值为(39.23 $\pm$ 4.21),慢性鼻咽炎症组织 MVD 值为(19.37 $\pm$ 3.45),前者显著大于后者。另如表 2 所示, HIF-1 α 蛋白表达阳性组的 MVD 计数为(45.28 $\pm$ 4.32),阴性组的 MVD 计数为(24.35 $\pm$ 3.41);两者差异有统计学意义。经 Spearman 等级相关分析发现 HIF-1 α 蛋白表达与微血管密度之间呈明显正相关($r = 0.421$, $P < 0.05$)。

表 1 HIF-1 α 蛋白表达和鼻咽癌患者临床病理特点的联系(n/N)

Tab. 1 Relationship between clinical pathological features and HIF-1 α protein expression (n/N)

Pathological features	HIF-1 α expression	P
Age(t/a)		
< 50	21/30	0.333
≥ 50	29/49	
Gender		
Male	32/47	0.284
Female	18/32	
Tumor size		
< 5 cm	22/43	0.015
≥ 5 cm	28/36	
Lymph metastasis		
Negative	12/30	0.017
Positive	33/49	
T stage		
T1-T2	14/32	0.003
T3-T4	36/47	
Clinic stage		
I - II	24/27	0.001
III-IV	26/52	

表 2 HIF-1 α 蛋白表达与 MVD 的关系

Tab. 2 Correlation of HIF-1 α expression with MVD

	HIF-1 α		P
	(+)	(-)	
Number(n)	50	29	
MVD	45.28 $\pm$ 4.32	24.35 $\pm$ 3.41	< 0.01

2.3 GLUT-1 蛋白表达

免疫组化 S-P 染色检测结果(图 2)发现, GLUT-1 在鼻咽慢性炎症组织中呈弱阳性表达,阳性表达率为 6.67%。而在鼻咽癌组织细胞质(膜)中可见弥散分布的棕黄色颗粒,阳性表达率为 53.16%,后

者显著大于前者($P < 0.05$)。

GLUT-1 蛋白在鼻咽癌组织中表达水平与临床病理指标间的关系。统计学分析(表 3)显示: GLUT-1 蛋白的表达与年龄、性别、肿块大小和 T 分期等无关($P > 0.05$);而与淋巴结转移和临床分期有关($P < 0.05$)。

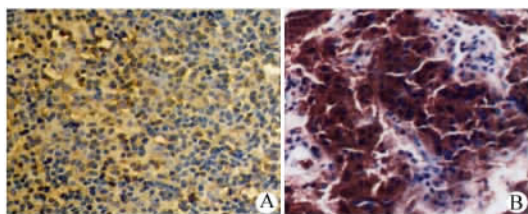


图 2 鼻咽慢性炎症组织(A)和鼻咽癌组织(B)中 GLUT-1 蛋白的表达($\times 400$)

Fig. 2 Expression of GLUT-1 in nasopharyngitis tissues (A) and NPC tissues (B) ($\times 400$)

表 3 GLUT-1 蛋白表达和鼻咽癌患者临床病理特点的联系(n/N)

Tab. 3 Relationship between clinical pathological features and GLUT-1 protein expression (n/N)

Pathological feature	GLUT-1 expression	P
Age(t/a)		
<50	18/30	0.341
≥ 50	24/49	
Gender		
Male	26/47	0.642
Female	16/32	
Tumor size		
<5 cm	25/43	0.333
≥ 5 cm	17/36	
Lymph metastasis		
Negative	10/30	0.006
Positive	32/49	
T stage		
T1-T2	17/32	0.995
T3-T4	25/47	
Clinic stage		
I - II	9/27	0.011
III - IV	33/52	

2.4 GLUT-1 蛋白表达与微血管密度呈正相关

GLUT-1 蛋白表达阳性组的 MVD 计数为(38.41 ± 3.67),阴性组的 MVD 计数为(21.47 ± 3.56);两者差异有统计学意义。经 Spearman 等级

相关分析发现 GLUT-1 蛋白表达与微血管密度之间呈明显正相关($r = 0.367$, $P < 0.05$)。

2.5 HIF-1 α 和 GLUT-1 蛋白表达呈正相关

如表 4 所示, HIF-1 α 和 GLUT-1 两种蛋白的表达呈明显的正相关($r = 0.390$, $P < 0.01$)。

表 4 HIF-1 α 和 GLUT-1 蛋白表达的相关性

Tab. 4 Correlation of HIF-1 α with GLUT-1 in NPC

HIF-1 α	GLUT-1		P
	(+)	(-)	
(+)	34	16	$r = 0.390$
(-)	8	21	$P < 0.001$

2.6 乏氧条件下 HIF-1 α 、GLUT-1 和 VEGF 蛋白的表达情况

Western blotting 方法检测结果显示,与常氧组相比较,乏氧条件下 HIF-1 α 、GLUT-1 和 VEGF 蛋白表达均明显增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$, 图 3)。

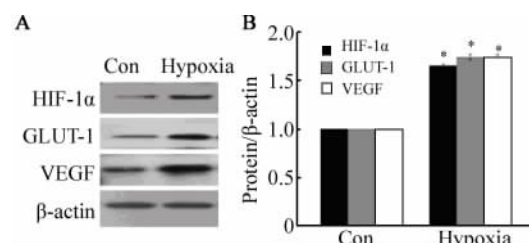


图 3 3 种蛋白在常氧和低氧条件下的表达(A)及其数据统计分析(B)

Fig. 3 Expressions of 3 type protein in normoxia and hypoxia condition (A) and the statistic analysis (B)

* $P < 0.05$ vs con ($n = 6$)

3 讨 论

大部分肿瘤在其发展过程中均会造成局部的乏氧微环境,进而激活 HIF-1,特别是 HIF-1 α 的表达明显增加,以促进肿瘤的迅速生长及侵袭。目前已证实 HIF-1 α 在乳腺癌、卵巢癌、肾癌等多种癌组织中呈现过表达,且其表达情况与肿瘤的病理特征具有一定相关性^[12-15],亦有研究^[16]在鼻咽癌组织中检测到 HIF-1 的高表达。本研究通过对 79 例鼻咽癌患者和 45 例慢性鼻咽炎症患者的对照研究发现, HIF-1 α 在鼻咽癌组织中表达明显高于慢性鼻咽炎症。同时发现, HIF-1 α 的表达与鼻咽癌的肿块大小、淋巴结转移、T 分期和临床分期明显相关。由此可认为, HIF-1 α 的表达对判断鼻咽癌的病理进程和

分期具有重要的参考意义。肿瘤的生长和转移依赖于新血管的生成,本研究对鼻咽癌组织的 MVD 检测结果显示 MVD 计数明显升高,且与 HIF-1 α 的表达呈正相关。这一发现提示,HIF-1 α 可能通过促进微血管的生成来加速肿瘤的生长及转移。

本研究还检测了 HIF-1 α 下游另外一个重要的靶基因 *GLUT-1* 的表达,结果显示,鼻咽癌组织中 GLUT-1 的表达明显增加,且其高表达与鼻咽癌的颈淋巴结转移和临床分期呈现一定的相关性,其原因可能与肿瘤生长过程中组织对能量的需求有关,随着肿瘤的生长转移,组织内耗氧量增加导致局部缺氧,在这种缺氧状态下只能通过激活 HIF-1 α 介导缺氧反应基因调控 GLUT-1 的表达,增加糖酵解来提供肿瘤生长所需的能量^[17-21]。另外, GLUT-1 表达与 MVD 之间的相关性、HIF-1 α 与 GLUT-1 在鼻咽癌组织中表达的相关性也从另一侧面证实了 HIF-1 α 与 GLUT-1 的协同作用。缺氧条件下, HIF-1 α 、GLUT-1 以及 VEGF 表达明显增加,提示 HIF-1 α 对血管生成的调控可能是通过激活 VEGF 来实现的。

综上所述,鼻咽癌组织中 HIF-1 α 与 GLUT-1 的表达均与鼻咽癌的临床病理特征有一定的相关性,且两者可能协同参与调控微血管的生成,进而在鼻咽癌的发生发展中发挥重要的作用。随着研究的深入,这两个蛋白有望成为鼻咽癌诊治的新靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Schofield CJ, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by HIF hydroxylases [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(5): 343-354.
- [2] Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via denovo protein synthesis binds to the human gene enhancer at a site repaired for transcriptional activation[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 12(9):5447-5554.
- [3] Zhong H, Angelo M, Laughner D, et al. Over-expression of hypoxia-inducible factor-1 α in common human cancers and their metastasis[J]. *Cancer Res*, 1999, 8(59):5830-5839.
- [4] Cao D, Hou M, Guan YS, et al. Expression of HIF-1 α and VEGF in colorectal cancer: Association with clinical outcomes and prognostic implications[J]. *BMC Cancer*, 2009, 10(9): 432-09.
- [5] Clarke RH, Moosa S, Anzivino M, et al. Sustained radiosensitization of hypoxic glioma cells after oxygen pretreatment in an animal model of glioblastoma and in vitro models of tumor hypoxia[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(10):e111199.
- [6] Vaupel P, Mayer A. Hypoxia in cancer: Significance and impact on clinical outcome[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2007, 26(2): 225-239.
- [7] Eckert AW, Lautner MH, Schutze A, et al. Coexpression of hypoxia-inducible factor-1 α and glucose transporter-1 is associated with poor prognosis in oral squamous cell carcinoma patients[J]. *Histopathology*, 2011, 58(7):1136-1147.
- [8] Lidgren A, Bergh A, Grankvist K, et al. Glucose transporter-1 expression in renal cell carcinoma and its correlation with hypoxia inducible factor-1 alpha [J]. *BJU Int*, 2008, 101(4):480-484.
- [9] Swartz JE, Pothan AJ, Stegeman I, et al. Clinical implications of hypoxia biomarker expression in head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review[J]. *Cancer Med*, 2015, 4(7): 1101-1116.
- [10] Birner P, Schindl M, Obermair A, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 α is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(17):4693-4696.
- [11] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1995, 36(2):169-180.
- [12] Lee M. Hypoxia targeting gene expression for breast cancer gene therapy [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61(10): 842-849.
- [13] Chen Y, Zhang L, Pan Y, et al. Over-expression of semaphorin4D, hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor is related to poor prognosis in ovarian epithelial cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(10): 13264-13274.
- [14] Lessi F, Mazzanti CM, Tomei S, et al. VHL and HIF-1 α : Gene variations and prognosis in early-stage clear cell renal cell carcinoma [J]. *Med Oncol*, 2014, 31(3): 840.
- [15] Xing Y, Wang R, Chen D, et al. COX2 is involved in hypoxia-induced TNF- α expression in osteoblast [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10020.
- [16] Winter S, Shah C, Han C, et al. The relation between hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and HIF-2 α expression with anemia and outcome in surgically treated head and neck cancer [J]. *Cancer*, 2006, 107(4): 757-766.
- [17] Sivridis E, Giatromanolaki A, Gatter K, et al. Association of hypoxia-inducible factors 1 α and 2 α with activated angiogenic pathways and prognosis in patients with endometrial carcinoma[J]. *Cancer*, 2002, 95(5): 1055-1063.
- [18] Yorulmaz H, Ozkok E, Erguven M, et al. Effect of simvastatin on mitochondrial enzyme activities, ghrelin, hypoxia-inducible factor 1 α in hepatic tissue during early phase of sepsis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(3):3640-3650.
- [19] Generali D, Berruti A, Cappelletti MR, et al. Effect of primary letrozole treatment on tumor expression of mtor and hif-1 α and relation to clinical response[J]. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2015, 2015(51):64-66.
- [20] Wang Y, Lei F, Rong W, et al. Positive feedback between oncogenic KRAS and HIF-1 α confers drug resistance in colorectal cancer[J]. *Onco Targets Ther*, 2015, 8: 1229-1237.
- [21] Zhang TB, Zhao Y, Tong ZX, et al. Inhibition of glucose-transporter 1 (GLUT-1) expression reversed Warburg effect in gastric cancer cell MKN45[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(2): 2423-2428.

[收稿日期] 2015 - 01 - 25

[修回日期] 2015 - 06 - 20

[本文编辑] 黄静怡