

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.06.017

· 临床研究 ·

p-mTOR 与 HIF-1 α 在结直肠癌组织中的表达及其临床意义

王茜¹, 时延龙¹, 毕经旺^{1,2} (1. 中国人民解放军济南军区总医院 肿瘤科, 山东 济南 250031; 2. 辽宁医学院 研究生部, 辽宁 锦州 121000)

[摘要] **目的:** 研究磷酸化雷帕霉素靶蛋白(phosphorylated mammalian target of rapamycin, p-mTOR)、缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)-1 α 在结直肠癌组织中的表达, 探讨其与结直肠癌临床病理特征及预后的关系。**方法:** 收集 2007 年 6 月至 2013 年 12 月在济南军区总医院普外科行手术切除并经病理证实的结直肠癌组织及癌旁正常黏膜组织标本, 免疫组织化学方法检测 p-mTOR、HIF-1 α 在 63 例结直肠癌组织、27 例转移淋巴结组织、12 例转移癌组织中的表达, 以癌旁正常黏膜组织作对照, χ^2 检验分析 p-mTOR、HIF-1 α 的表达与临床病理特征的关系。p-mTOR 和 HIF-1 α 表达的相关性采用 Spearman 相关分析, Kaplan-Meier 检验进行 p-mTOR、HIF-1 α 的生存期分析。**结果:** 在结直肠癌组织中, p-mTOR(50.80% vs 6.35%, $\chi^2 = 30.489, P < 0.01$)、HIF-1 α (65.08% vs 9.52%, $\chi^2 = 47.323, P < 0.01$) 的阳性率均显著高于正常结直肠组织; p-mTOR、HIF-1 α 表达与肿瘤的分期及远处转移及淋巴结转移相关, 而且 p-mTOR 表达与 HIF-1 α 表达呈正相关($r = 0.345, P < 0.01$); p-mTOR 阳性患者的无疾病进展生存期及总生存期均显著短于 p-mTOR 阴性患者(χ^2 分别为 4.584、4.557, 均 $P < 0.05$)。**结论:** p-mTOR 及 HIF-1 α 在结直肠癌组织及转移癌组织中表达升高, 其表达可以作为结直肠癌临床病理分期及预后的重要指标。

[关键词] 结直肠癌; 磷酸化雷帕霉素靶蛋白; 缺氧诱导因子-1 α ; 免疫组化技术

[中图分类号] R735.3; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)06-0779-06

The expression of p-mTOR and HIF-1 α in colorectal cancer tissues and its clinical implication

Wang Qian¹, Shi Yanlong¹, Bi Jingwang^{1,2} (1. Department of Oncology, General Hospital, Ji'nan Military Area Command of PLA, Ji'nan 250031, Shandong, China; 2. Department of Graduate, Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning, China)

[Abstract] **Objective:** To examine the expression of phosphorylated mammalian target of rapamycin (p-mTOR) and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in colorectal cancers and investigate its association with pathological features and prognosis. **Methods:** Surgical resected colorectal carcinoma and adjacent normal tissues were collected from patients with colorectal cancer enrolled into Jinan Military General Hospital from June, 2007 to December, 2013. Immunohistochemistry was performed to detect the expression of p-mTOR and HIF-1 α in 63 cases of colorectal carcinoma tissues, 27 cases of metastatic lymph node tissues, and 12 cases of metastasized carcinoma tissues, with adjacent normal tissues as controls. χ^2 test was used to analyze the relationship between p-mTOR and HIF-1 α expression and clinical pathological features. Spearman correlation analysis was performed to analyze the association between p-mTOR and HIF-1 α expression; Kaplan-Meier test was used for survival analysis related to p-mTOR and HIF-1 α expression. **Results:** In colorectal carcinoma tissues, the positive rate of p-mTOR (50.80% vs 6.35%, $P < 0.01$) and HIF-1 α (65.08% vs 9.52%, $P < 0.01$) was significantly higher than that of normal colorectal tissues. The expression of HIF-1 α was correlated with distant metastasis, TNM stage and lymph node metastasis ($P < 0.05$), and there was a positive correlation between p-mTOR and HIF-1 α expression ($r = 0.345, P < 0.01$). Furthermore, the disease-free survival time and overall survival time of p-mTOR positive patients were significantly shorter than that of p-mTOR negative patients ($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of p-mTOR and HIF-1 α are increased in colorectal cancer tissues, which are informative markers for clinical pathological staging and are useful prognosis factors.

[Key words] colorectal cancer; phosphorylated mammalian target of rapamycin (p-mTOR); hypoxia-inducible factor-1 α

[作者简介] 王茜(1988-),女,山东省潍坊市人,硕士生,主要从事恶性肿瘤的基础与临床研究,E-mail:qianzi555-@163.com

[通信作者] 毕经旺(Bi Jingwang, corresponding author),E-mail:jingwangbi@live.cn

(HIF-1 α); immunohistochemical method

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(6): 779-784]

磷酸化雷帕霉素靶蛋白(phosphorylated mammalian target of rapamycin, p-mTOR)相关信号通路的异常与肿瘤的发生密切相关,其最主要的生物学功能是调控蛋白质合成及血管内皮细胞增殖。早在 1998 年, Ryan 等^[1]首次证明, 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)缺失能够抑制肿瘤的生长, 降低肿瘤细胞侵袭和转移的能力。本研究用免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)方法检测 p-mTOR 和 HIF-1 α 在 63 例结直肠癌组织、27 例转移淋巴结组织、12 例转移癌组织中的表达, 以 63 例结直肠癌患者的正常结直肠组织作对照, 并分析 p-mTOR 和 HIF-1 α 表达与结直肠癌发生、发展及预后的关系, 探讨 p-mTOR 和 HIF-1 α 能否作为结直肠癌治疗预后的指标, 并为结直肠癌靶向治疗提供依据, 使结直肠癌患者能够从中获益。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集 2007 年 6 月至 2013 年 12 月在济南军区总医院普外科行手术切除并经病理证实的结直肠癌组织及正常黏膜组织石蜡包埋标本 63 例(已与患者签订知情同意书并经医院伦理委员会批准)。年龄 31 ~ 81 岁, 中位年龄 56 岁, 其中男 37 例、女 26 例; 有淋巴结转移的 27 例, 无淋巴结转移的 36 例。根据 2014 结直肠癌 NCCN 指南 TNM 分期: I 期 12 例、II 期 19 例、III 期 20 例、IV 期 12 例; 高分化 12 例、中分化 40 例、低分化 11 例。患者手术前均未接受任何抗肿瘤治疗, 癌旁组织距癌组织 5 cm 以上。

1.2 主要试剂

IHC 法所用一抗兔抗人 p-mTOR 单抗(Ser 2448; sc-101738)、鼠抗人 HIF-1 α 单抗(alpha67; sc-53546)均购自美国 Santa Cruz 公司; 二抗生物素标记的山羊抗兔多抗购自北京中杉金桥公司。DAB 显色剂试剂盒购自北京中杉金桥公司。

1.3 IHC 法检测 p-mTOR、HIF-1 α 在结直肠癌组织、转移组织及淋巴结组织中的表达

将所有石蜡标本 4 μ m 连续切片, 逐级脱蜡至水, 3% H₂O₂ 封闭内源性过氧化物酶 10 min, 高温高压热修复, 2% 牛血清封闭 20 min, 滴加一抗(p-mTOR、HIF-1 α 单抗的稀释浓度分别为 1: 100, 1: 50), 湿盒内 4 $^{\circ}$ C 冰箱孵育过夜后滴加生物素标记, 室温 20 min, 滴加辣根酶标记的链霉亲和素, DAB

显色, 脱水, 透明, 封片。

1.4 结果判定

p-mTOR、HIF-1 α 蛋白均在细胞质中表达, 呈黄色颗粒沉着者为阳性染色。光镜下随机观察 5 个高倍视野($\times 400$), 计算阳性细胞占总细胞数的百分率并进行积分: 阳性细胞百分率 < 5%, 0 分; 5% ~ 25%, 1 分; 26% ~ 50%, 2 分; 51% ~ 75%, 3 分; > 76%, 4 分。同时依据阳性染色强度分为: 无着色, 0 分; 淡黄色, 1 分; 黄色, 2 分; 棕黄色, 3 分。最后, 根据阳性细胞数和染色强度两者之和分为: 0 分为阴性(-); 1 ~ 2 分为弱阳性(+); 3 ~ 5 分为阳性(++); 6 ~ 7 分为强阳性(+++)。

1.5 患者随访

所有结直肠癌患者均有完整随访资料, 术后均能顺利出院。术后 1 年间隔 3 个月随访 1 次, 第 2 年间隔 6 个月随访 1 次。随访内容包括体格检查、血液学检验、CT 及结肠镜检查。总生存期是指从确诊之日起至患者死亡或随访截止之日的日期。本研究的末次随访时间为 2014 年 9 月。

1.6 统计学处理

用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析。p-mTOR、HIF-1 α 的表达情况与临床病理特征的关系用卡方检验进行分析, 其表达的相关性采用 Spearman 相关分析, 对 p-mTOR、HIF-1 α 进行的生存分析用 Kaplan-Meier 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 p-mTOR、HIF-1 α 在结直肠癌组织、转移组织及淋巴结组织中的表达

p-mTOR 和 HIF-1 α 蛋白的表达都主要定位于细胞质, 阳性细胞呈棕黄色或棕褐色颗粒。IHC 法检测结果(表 1, 图 1、2)显示, 在 63 例结直肠癌患者中, 32 例 p-mTOR 表达为阳性, 阳性率为 50.80%, 其相应的正常黏膜组织阳性率为 6.35%。63 例患者中有淋巴结转移的患者 27 例, 其中 23 例 p-mTOR 表达为阳性, 阳性率为 85.19% (23/27); 远处转移患者 12 例中, 8 例表现为阳性, 阳性率为 66.67%。在 63 例结直肠癌患者中, 41 例 HIF-1 α 表达为阳性, 阳性率为 65.08%, 其相应的正常黏膜组织阳性率为 9.52% (6 例)。27 例淋巴结转移患者中, 19 例 HIF-1 α 表达为阳性, 阳性率为 70.37%; 远处转

移患者 12 例中, 11 例表现为阳性, 阳性率为 91.67%。

2.2 结直肠癌原发灶、转移组织及转移淋巴结组织中 p-mTOR 和 HIF-1 α 表达及相关性

p-mTOR 和 HIF-1 α 在 63 例结直肠癌组织中的阳性率分别为 50.80%、65.08%, 远高于正常黏膜 6.35%、9.52% (均 $P < 0.05$), 差异有统计学意义; 在转移癌组织中两者的阳性率分别为 66.67%、91.67%, 与其相应的原发灶组织阳性率 83.33%、83.33% 相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$); p-mTOR 和 HIF-1 α 蛋白在转移淋巴结组织中的阳性率分别为 85.19%、70.37%, 在相应癌组织中阳性率为 74.07%、85.19%, 两者差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 p-mTOR、HIF-1 α 在结直肠癌患者各组织中的表达 [n (%)]

Tab. 1 The expressions of p-mTOR, HIF-1 α in colorectal cancer patients [n (%)]

Pathological feature	N	mTOR	HIF-1 α
Cancer tissue	63	32(50.80)*	41(65.08)*
Para-carcinoma	63	4(6.35)	6(9.52)
Lymph node tissue	27	23(85.19)	19(70.37)
Metastatic carcinoma tissue	12	8(66.67)	11(91.67)

* $P < 0.05$ vs para-carcinoma group

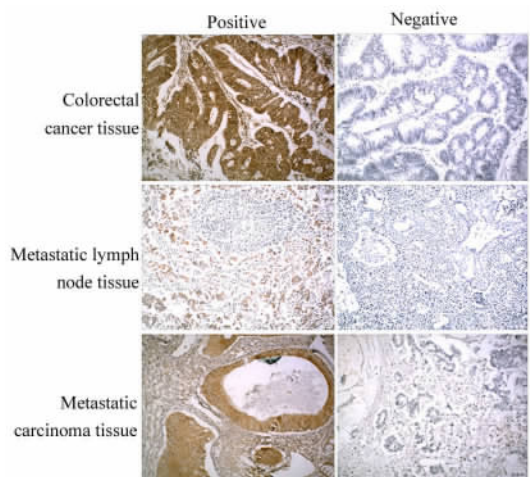


图 1 p-mTOR 在结直肠癌组织、转移组织及淋巴结组织中的表达 (S-P, $\times 200$)

Fig. 1 Expression of p-mTOR in colorectal cancer tissues, metastatic lymph node tissues and metastatic carcinoma tissues (S-P, $\times 200$)

根据以上数据分析(表 2)显示, p-mTOR 蛋白的表达与结直肠癌的 TNM 分期、淋巴结转移和远处转移明显相关, 其间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而与年龄、性别及分化程度无关 ($P > 0.05$)。HIF-1 α 的表达与 TNM 分期、远处转移、淋巴结转移及分化程度相关 ($P < 0.05$), 与年龄、性别无关 ($P > 0.05$)。

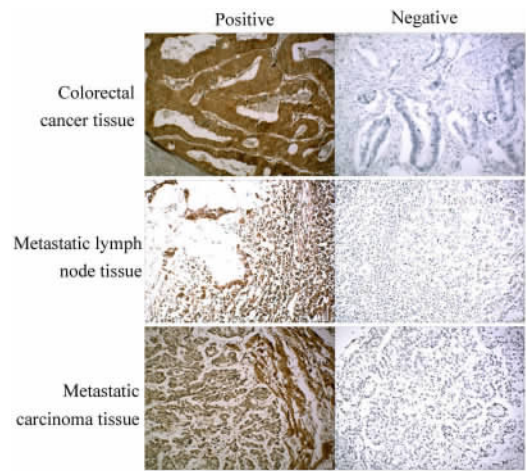


图 2 HIF-1 α 在结直肠癌组织、转移组织及淋巴结组织中的表达 (S-P, $\times 200$)

Fig. 2 Expression of HIF-1 α in colorectal cancer tissue, metastatic lymph node tissues and metastatic carcinoma tissues (S-P, $\times 200$)

2.3 结直肠癌组织中 p-mTOR 和 HIF-1 α 表达与预后关系

Kaplan-Meier 生存分析结果(图 3、4)显示, p-mTOR 和 HIF-1 α 蛋白表达与结直肠癌患者的预后具有相关性, 两者表达阳性的结直肠癌患者比表达阴性的患者预后差, 其间差异具有统计学意义。阳性和阴性 p-mTOR 中位生存时间分别是 33.13 (95% CI: 27.475 ~ 38.785) 个月和 38.53 (95% CI: 0.386 ~ 46.674) 个月, 其阳性和阴性的中位无疾病进展生存时间分别是 21.80 (95% CI: 15.979 ~ 27.621) 个月和 28.17 (95% CI: 22.673 ~ 33.667) 个月, 两者无疾病进展生存期及总生存期差异有显著统计学意义 (χ^2 分别为 4.584、4.557, P 均 < 0.05)。阳性和阴性 HIF-1 α 中位生存时间分别是 33.13 (95% CI: 29.115 ~ 37.145) 个月和 45.13 (95% CI: 39.099 ~ 51.161) 个月, 两者之间的总生存期有统计学差异 ($\chi^2 = 4.817, P < 0.05$)。其阳性和阴性的中位无疾病进展生存时间分别是 22.83 (95% CI: 17.937 ~ 27.723) 个月和 26.53 (95% CI: 24.351 ~

28.709),但两者之间无统计学意义。

3 讨论

PI3K/Akt/mTOR 信号通路活化与多种恶性肿瘤发生密切相关,它能够加速细胞周期、减少细胞凋亡、并促进肿瘤细胞的迁移,这在脑胶质瘤、乳腺癌、卵巢癌研究中早已有报道^[24]。在体内,生长因子等物质能通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路使 mTOR 的 Ser2448 位点磷酸化,进而激活 mTOR。p-

mTOR 可通过改变 4E-BP1 和 S6k1 的磷酸化状态启动翻译过程^[5],进而启动 HIF-1 的翻译,增加 HIF-1 的表达。另外,由于 HIF-1 的结构中还存在氧依赖性降解结构域(oxygen-dependent degradation domain, ODDD),这使得 HIF-1 的表达也受到微环境中含氧量的影响。被活化的 p-mTOR 和高表达的 HIF-1 α 通过抑制肿瘤细胞凋亡^[6]、促进血管生成^[7]、促进肿瘤的浸润和转移^[8-10]、促进药物抵抗^[11]等方面来促进肿瘤的进展。

表 2 p-mTOR、HIF-1 α 表达与结直肠癌患者临床病理特征的关系 [n(%)]
Tab.2 Correlation of expression of p-mTOR, HIF-1 α with the clinicopathologic characteristics of colorectal cancer patients [n(%)]

Pathological feature	N	mTOR	P	HIF-1 α	P
Age(t/a)			>0.05		>0.05
\leq 60	39	18(46.15)		23(58.94%)	
> 60	24	14(58.33)		18(75.00%)	
Gender			>0.05		>0.05
Male	37	21(56.76)		22(59.46)	
Female	26	11(42.31)		19(73.08)	
Differentiation			>0.05		<0.05
Well	12	5(41.67)		5(41.67)	
Moderate	40	21(52.50)		26(65.00)	
Poor	11	6(54.55)		10(90.91)	
TNM stage			<0.05		<0.05
I	12	3(25.00)		4(33.33)	
II	19	8(42.11)		10(52.63)	
III	20	11(55.00)		16(80.00)	
IV	12	10(83.33)		11(91.67)	
Lymphatic metastasis			<0.05		<0.05
Yes	27	20(74.07)		23(85.19)	
No	36	12(33.33)		18(50.00)	
Distant metastasis			<0.05		<0.05
Yes	12	10(83.33)		10(83.33)	
No	51	22(43.14)		31(60.78)	
Metastatic carcinoma tissue	12	8(66.67)	>0.05	11(91.67)	>0.05
Cancer tissue	12	10(83.33)		10(83.33)	
Metastatic lymph node tissue	27	23(85.19)	>0.05	19(70.37)	>0.05
Cancer tissue	27	20(74.07)		23(85.19)	

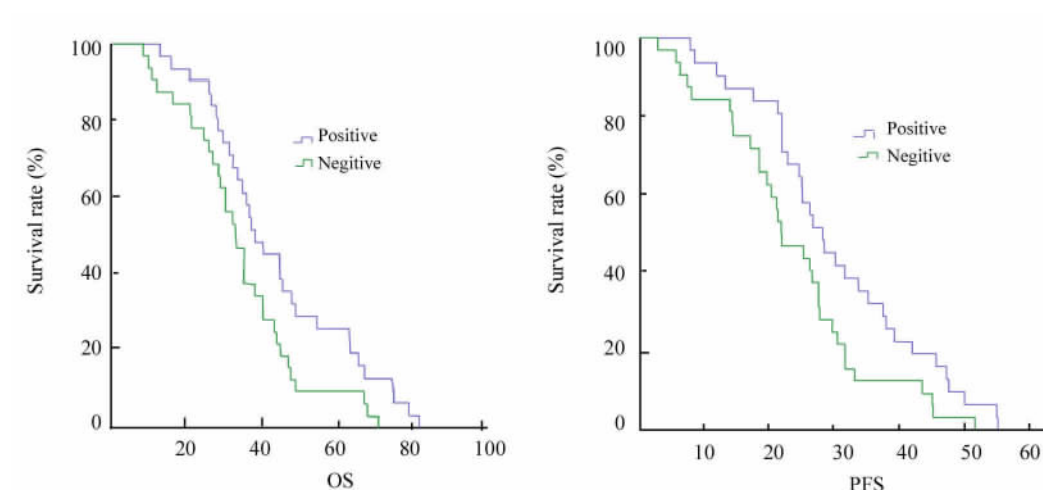
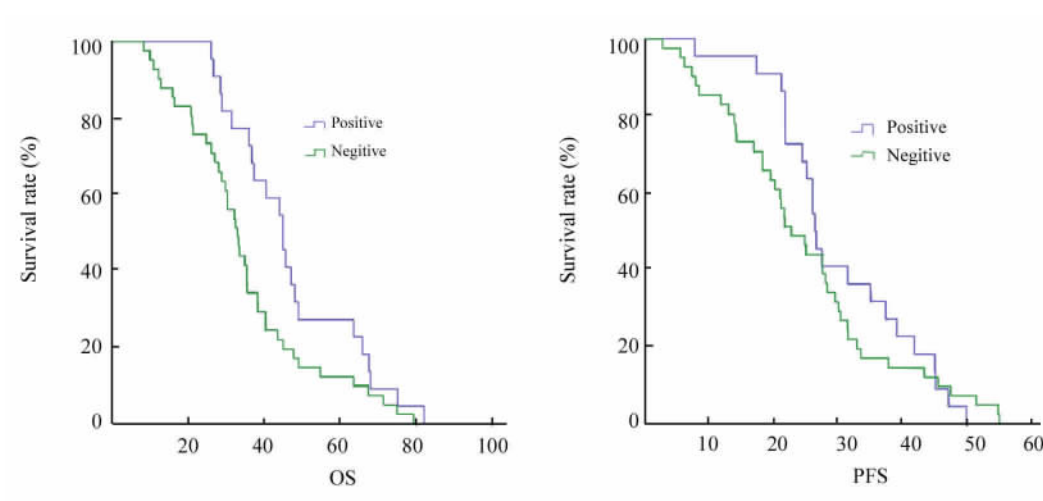


图3 生存分析(p-mTOR)

Fig. 3 Survival analysis(p-mTOR)

图4 生存分析(HIF-1 α)Fig. 4 Survival analysis(HIF-1 α)

按照“癌症干细胞”假说,肿瘤细胞起始于一小群具有增殖能力的细胞,继而维持不断自我更新及分化而形成的异质细胞群体^[12]。p-mTOR 和 HIF-1 α 有助于维持细胞的未分化状态,在癌症中表现为抑制前体细胞的分化、促进癌症细胞的去分化。另外,Galectin-1 是促进恶性肿瘤形成的凝集素家族成员,在结肠癌中受 HIF-1 α 调控,加速了癌细胞的侵袭和转移^[13]。细胞基质蛋白 CCN1、CCN3 在 HIF-1 α 和 TGF- β 3 转录因子的诱导下表达上调,促进了滋养层恶性细胞的迁移和侵袭^[14]。还有动物实验^[15-16]结果分析显示,HIF-1 α 缺失肿瘤比野生型(HIF-1 α 稳定表达)肿瘤表现出更强的放疗敏感性。

本研究结果显示,p-mTOR 和 HIF-1 α 蛋白在结

直肠癌组织及其相应的转移淋巴结组织、远处转移组织中的阳性表达率无明显差异,另外,p-mTOR、HIF-1 α 表达的高低与结直肠癌的分期和淋巴结及远处转移密切相关,提示或许可以将 p-mTOR 和 HIF-1 α 作为结直肠癌诊断和分期的指标。而 p-mTOR 与结直肠癌的分化程度无关,HIF-1 α 与结直肠癌的分化相关,说明在结直肠癌发展过程中还有除 p-mTOR 以外的调节因素影响 HIF-1 α 的表达,这与 HIF-1 α 受微环境中氧含量的影响相符。

本研究发现,p-mTOR 表达为阳性的结直肠癌患者预后差,其中位 PFS、中位 OS 低于表达阴性的结直肠癌患者;而 HIF-1 表达阳性的患者总生存期较阴性患者明显缩短,但其 PFS 阳性与阴性患者之

间没有明显差异,提示 p-mTOR 和 HIF-1 α 的表达或许可以作为判断预后的指标。Motzer 等^[17]研究证明,酪氨酸激酶抑制(tyrosinekinase inhibitor, TKI)一线治疗失败的肾癌患者,观察组应用 mTOR 抑制剂依维莫司,对照组给予索拉菲尼,其中位无疾病进展生存期(progression-free survival, PFS)分别为 5.4 个月和 3.4 个月;中位总生存期(overall survival, OS)分别为 43.3 个月和 23 个月。这与本研究的总生存分析结果相符。而对于 HIF-1 抑制剂研究较少,但已经筛选出了很多能够有效抑制 HIF-1 的化学物质。这些药物中有一部分已进入临床试验,更多的还处在实验室阶段。他们的作用机制主要包括以下几点:抑制 HIF-1 α 蛋白的合成、降解水平、与 DNA 的结合能力以及转录活性等方面^[18]。另外,有研究^[20]表明 HIF-1 高表达的组织会对 5-氟尿嘧啶引起的细胞毒作用产生明显的抵抗作用^[19]。在缺氧条件下 HIF-1 表达升高会产生对长春新碱的耐药。

综上,p-mTOR 和 HIF-1 α 的表达或许可以作为结直肠癌诊断、分期及预后的指标,推测针对 p-mTOR、HIF-1 α 的靶向治疗也可能在结直肠癌的治疗中发挥重要作用。

[参 考 文 献]

- [1] Ryan HE, Lo J, Johnson RS. HIF-1 alpha is required for solid tumor formation and embryonic vascularization [J]. *EMBO J*, 1998, 17(11): 3005-3015.
- [2] Wilk A, Urbanska K, Grabacka M, et al. Fenofibrate-induced nuclear translocation of FoxO3A triggers Bim-mediated apoptosis in glioblastoma cells in vitro [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(14): 2660-2671.
- [3] Neve RM, Holbro T, Hynes NE. Distinct roles for phosphoinositide 3-kinase, mitogen-activated protein kinase and p38 MAPK in mediating cell cycle progression of breast cancer cells [J]. *Oncogene*, 2002, 21(29): 4567-4576.
- [4] Jebahi A, Villedieu M, Pétigny-Lechartier C, et al. PI3K/mTOR dual inhibitor NVP-BEZ235 decreases Mcl-1 expression and sensitizes ovarian carcinoma cells to Bel-xL-targeting strategies, provided that Bim expression is induced [J]. *Cancer Lett*, 2014, 348(1/2): 38-49.
- [5] Beigh MA, Showkat M, Bashir B, et al. Growth inhibition by bupivacaine is associated with inactivation of ribosomal protein S6 kinase 1 [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 831845.
- [6] Li N, Zhong M, Song M. Expression of phosphorylated mTOR and its regulatory protein is related to biological behaviors of ameloblastoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2012, 5(7): 660-667.
- [7] Chen J, Zhou SJ, Zhang Y, et al. Clinicopathological and prognostic significance of galectin-1 and vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(13): 2073-2079.
- [8] Jirouskova M, Zbodakova O, Gregor M, et al. Hepatoprotective effect of MMP-19 deficiency in a mouse model of chronic liver fibrosis [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(10): e46271.
- [9] Kato Y, Yashiro M, Noda S, et al. Establishment and characterization of a new hypoxia-resistant cancer cell line, OCUM-12/Hypo, derived from a scirrhous gastric carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(5): 898-907.
- [10] Rohwer N, Lobitz S, Daskalow K, et al. HIF-1 α determines the metastatic potential of gastric cancer cells [J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(5): 772-781.
- [11] Nakamura J, Kitajima Y, Kai K, et al. HIF-1alpha is an unfavorable determinant of relapse in gastric cancer patients who underwent curative surgery followed by adjuvant 5-FU chemotherapy [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(5): 1158-1171.
- [12] Sung WJ, Park KS, Kwak SG, et al. Epithelial-mesenchymal transition in patients of pulmonary adenocarcinoma: correlation with cancer stem cell markers and prognosis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(8): 8997-9009.
- [13] Zhao XY, Chen TT, Xia L, et al. Hypoxia inducible factor-1 mediates expression of galectin-1: the potential role in migration/invasion of colorectal cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(8): 1367-1375.
- [14] Shi X, Liu H, Cao J, et al. Promoter hypomethylation of maspin inhibits migration and invasion of extravillous trophoblast cells during placentation [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(8): e0135359.
- [15] Lee HJ, Yoon C, Park do J, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor A and hypoxia-inducible factor 1 α maximizes the effects of radiation in sarcoma mouse models through destruction of tumor vasculature [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2015, 91(3): 621-630.
- [16] Helbig L, Koi L, Brüchner K, et al. BAY 87-2243, a novel inhibitor of hypoxia-induced gene activation, improves local tumor control after fractionated irradiation in a schedule-dependent manner in head and neck human xenografts [J]. *Radiat Oncol*, 2014, 9:207.
- [17] Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, et al. Phase 3 trial of everolimus for metastatic renal cell carcinoma : final results and analysis of prognostic factors [J]. *Cancer*, 2010, 116(18): 4256-4265.
- [18] Burroughs SK, Kaluz S, Wang D, et al. Hypoxia inducible factor pathway inhibitors as anticancer therapeutics [J]. *Future Med Chem*, 2013, 5(5): 553-572.
- [19] Nakamura J, Kitajima Y, Kai K, et al. HIF-1alpha is an unfavorable determinant of relapse in gastric cancer patients who underwent curative surgery followed by adjuvant 5-FU chemotherapy [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(5): 1158-1171.
- [20] Liu L, Ning X, Sun L, et al. Hypoxia-inducible factor-1 alpha contributes to hypoxia-induced chemoresistance in gastric cancer [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(1): 121-128.

[收稿日期] 2015 -04 -22

[修回日期] 2015 -08 -10

[本文编辑] 黄静怡