

# HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌中的表达及临床意义

魏房, 孙威, 王强, 刘丽, 任庆华

## ■背景资料

由近期的研究指出转录因子HIF-1通过与靶基因上的缺氧反应元件(HRE)结合,可诱导下游靶基因(VEGF)的转录,从而产生一系列代偿反应,此外,他还可以上调多种基因的表达,如一氧化氮合酶(iNOS),最终影响肿瘤细胞的生长,VEGF和iNOS都是促进血管生成的重要因素,而HIF-1 $\alpha$ 是缺氧状态下血管生成的核心调控因子.诱导型iNOS、环氧化酶2(COX-2)为两种可诱导型酶,报道显示二者皆具有促进VEGF表达、诱导肿瘤血管生成作用.

魏房, 孙威, 王强, 任庆华, 中国医科大学附属盛京医院胃肠外科 辽宁省沈阳市 110003  
刘丽, 中国医科大学附属盛京医院手术室 辽宁省沈阳市 110003  
辽宁省自然科学基金资助项目, No. 20072109  
沈阳市自然科学基金资助项目, No. 1071200-1-00  
作者贡献分布: 魏房与孙威对此文所作贡献均等; 此课题由魏房, 孙威, 王强及刘丽设计; 研究过程由魏房与任庆华操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由孙威提供; 数据分析由刘丽完成; 本论文写作由魏房完成.  
通讯作者: 孙威, 110003, 辽宁省沈阳市和平区三号街36号, 中国医科大学附属盛京医院胃肠外科. sunw@cmu2h.com  
电话: 024-83955063 传真: 024-83955092  
收稿日期: 2008-10-13 修回日期: 2008-12-03  
接受日期: 2008-12-04 在线出版日期: 2008-12-08

## Expression of HIF-1 $\alpha$ , iNOS and COX-2 and its significance in gastric cancer

Fang Wei, Wei Sun, Qiang Wang, Li Liu, Qing-Hua Ren

Fang Wei, Wei Sun, Qiang Wang, Qing-Hua Ren, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110003, Liaoning Province, China  
Li Liu, Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110003, Liaoning Province, China  
Supported by: Natural Science Foundation of Liaoning Province, No. 20072109; and Natural Science Foundation of Shenyang, No. 1071200-1-00  
Correspondence to: Dr. Wei Sun, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110003, Liaoning Province, China. sunw@cmu2h.com  
Received: 2008-10-13 Revised: 2008-12-03  
Accepted: 2008-12-04 Published online: 2008-12-08

## Abstract

**AIM:** To examine association of HIF-1 $\alpha$  with iNOS, COX-2 in gastric cancer and their relationship with tumor angiogenesis, clinicopathological feature and prognosis.

**METHODS:** Immunohistochemical technique was used to detect expressions of HIF-1 $\alpha$  and iNOS, COX-2 in 54 cases with gastric cancer. The association between HIF-1 $\alpha$  expression with iNOS, COX-2 in tumor angiogenesis was analyzed, and clinicopathological features and prognosis of patients were investigated.

**RESULTS:** The percentage of HIF-1 $\alpha$ , iNOS and COX-2 protein positive expression was 74.07%, 66.67% and 62.9% in gastric cancer, respectively.

The expressions of HIF-1 $\alpha$ , iNOS and COX-2 were significantly higher in gastric cancer than in normal gastric tissue ( $P < 0.05$ ). The expressions of HIF-1 $\alpha$ , iNOS and COX-2 in gastric cancer were significantly associated with TNM stage, invasive depth and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ) except for tumor grading. There were positive correlation among HIF-1 $\alpha$  expression with iNOS, COX-2 ( $r = 0.596$ ,  $r = 0.875$ ,  $r = 0.502$ ; all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** HIF-1 $\alpha$  and iNOS, COX-2 play very important roles in the development of gastric cancer. The over expression of HIF-1 $\alpha$  induces tumor angiogenesis and invasion by activating the transcription of iNOS gene and COX-2 gene, thus joint detection is recommended for diagnosis of gastric cancer and estimation of prognosis.

**Key Words:** Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ ; Inducible nitric oxide synthase; Cyclooxygenase 2; Gastric cancer; Immunohistochemistry

Wei F, Sun W, Wang Q, Liu L, Ren QH. Expression of HIF-1 $\alpha$ , iNOS and COX-2 and its significance in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(34): 3900-3903

## 摘要

**目的:** 研究HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌中的表达、相互关系及他们在胃癌发生发展、浸润和转移中的作用.

**方法:** 应用免疫组化SP法检测54例胃癌中HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2的表达,分析HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2的表达关系及临床意义.

**结果:** 54例胃癌组织中HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2的阳性表达率分别是74.07%、66.67%和62.9%, HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌组织中的表达水平明显高于正常胃组织中的表达水平( $P < 0.05$ ). HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2的表达与胃癌的临床TNM分期、浸润程度和淋巴结转移有关( $P < 0.05$ ); 与组织学分级无关. HIF-1 $\alpha$ 、iNOS和COX-2间存在显著相关性( $r = 0.596$ ,  $0.875$ ,  $0.502$ , 均 $P < 0.05$ ).

## ■同行评议者

刘冰塔, 教授, 黑龙江省哈尔滨医科大学附属第二临床医院消化内科; 樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科

**结论:** HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌的发生发展中起重要作用, HIF-1 $\alpha$ 可能通过上调iNOS和COX-2的表达促进肿瘤血管生成而促进胃癌的转移, 联合检测可作为判断胃癌恶性程度和预后的指标。

**关键词:** 缺氧诱导因子1 $\alpha$ ; 诱导型一氧化氮合酶; 环氧合酶-2; 胃癌; 免疫组织化学

魏房, 孙威, 王强, 刘丽, 任庆华. HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2008; 16(34): 3900-3903

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3900.asp>

## 0 引言

胃癌是消化系发病率很高的恶性肿瘤之一, 胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 虽然综合治疗使得胃癌的5年生存率有所改善, 但其预后仍不理想, 5年生存率总体来说仍徘徊在20%-30%之间, 肿瘤侵袭转移是肿瘤治疗失败的主要原因<sup>[1]</sup>. 由近期的研究指出转录因子HIF-1通过与靶基因上的缺氧反应元件(hypoxia resp-onde element, HRE)结合, 可诱导下游靶基因(VEGF)的转录, 从而产生一系列代偿反应, 此外, 他还可以上调多种基因的表达, 如iNOS, 最终影响肿瘤细胞的生长, VEGF和iNOS都是促进血管生成的重要因子, 而HIF-1 $\alpha$ 是缺氧状态下血管生成的核心调控因子<sup>[1]</sup>. 诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)为两种可诱导型酶, 报道显示二者皆具有促进VEGF表达、诱导肿瘤血管生成作用<sup>[2]</sup>. 本研究采用免疫组织化学法, 检测HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌中的表达, 探讨他们与胃癌肿瘤生物学行为的关系及HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2之间的相关性, 为临床上进一步了解胃癌的生物学行为、判断预后提供帮助。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2001-01/2002-03手术切除, 病理证实为腺癌, 临床病理及随访资料齐全的胃癌蜡块标本54例, 术前均未行化疗或放疗. 其中男37例, 女17例; 年龄38-78岁; 肿瘤的原发灶大小、深度(T)、淋巴结转移(N)由病理确定, 远处转移(M)由病理学和临床确定. 其中肿瘤直径<5 cm 37例,  $\geq$ 5 cm 17例; 浆膜下者15例, 浸透浆膜者39例; 高分化19例, 中分化17例, 低分化18例; 无转移29例, 有转移25例; 远隔无转移42例, 有转移12例. 根据1997年国际抗癌联盟(IUCC)制定的TNM分期标准进行临床分期, I期12例, II期14例, III期16例, IV

12例. 另取自胃溃疡或十二指肠溃疡手术标本中正常的且排除重度不典型增生的胃组织15例作对照, 其中男10例, 女5例, 年龄44-77岁。

## 1.2 方法

**1.2.1 操作步骤:** 常规HE染色, 确定标本的组织分化程度. 采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶连接(SP)免疫组织化学方法检测HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌及正常胃组织中的表达.

具体操作步骤按常规进行, 其一抗工作稀释度分别为1:75、1:50、1:50. 用已知阳性的乳腺癌切片作为阳性对照, PBS缓冲液代替一抗作阴性对照.

**1.2.2 结果判断:** 以细胞质内出现明显棕黄色颗粒为阳性细胞. 先于低倍镜下观察, 排除肿瘤坏死出血区及边缘反应区, 于肿瘤内染色相对密集区选取5个视野分别进行细胞记数, 高倍镜下进行观察, 以阳性细胞数占同类记数细胞的百分比为阳性细胞率. (1)HIF-1 $\alpha$ 阴性(-): 阳性细胞率<5%; 弱阳性(+): 阳性细胞率为5%-25%; 阳性(++): 阳性细胞率为25%-50%; 强阳性(+++): 阳性细胞率>50%. (2)iNOS阳性细胞率<10%为阴性(-), 阳性细胞率 $\geq$ 10%为阳性(+). (3)COX-2阴性(-): 阳性细胞率<5%; 阳性(+): 阳性细胞率 $\geq$ 5%.

**统计学处理** 采用SPSS12.0软件包进行统计分析. HIF-1 $\alpha$ 及iNOS、COX-2各指标间的相关性研究采用相关分析. 各检验方法皆以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌中的表达与胃癌临床病理参数的关系** 在不同年龄、性别、肿瘤大小、组织学分级组别中, 三者蛋白表达水平均无显著差别. 三者在胃癌不同的TNM分期、不同的浸润深度和有无淋巴结转移组的表达差异具有显著性( $P<0.05$ , 表1).

**2.2 HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2表达之间的相互关系** 统计资料分析表明HIF-1 $\alpha$ 、iNOS与COX-2表达均呈正相关( $r_1 = 0.596, r_2 = 0.875, r_3 = 0.502; P<0.05$ ).

## 3 讨论

胃癌的早期诊断率低、总体预后差, 长期以来严重地威胁着人民的生命健康. 多年来许多学者在胃癌的预后方面进行了多项研究, 如ECG、HER-2、IL-8、VEGF、P27、MMP-1、CDH17等<sup>[3]</sup>的联合检查可能对预测胃癌患者预后及进行个体化治疗具有意义, 但是就单个因素来说, 几乎没有哪个因素能很好地预测患者的预后. 因此非常有必要进一步寻找能有效预

## ■应用要点

通过本研究发现HIF-1 $\alpha$ 、iNOS与COX-2在胃癌的发生发展中起重要作用, 联合检测可作为判断胃癌恶性程度和预后的指标。

### 同行评价

该文章就HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌中的表达及意义进行研究,具有一定的学术价值,为进一步研究提供一定的实践经验。

表 1 HIF-1 $\alpha$ 及iNOS、COX-2在胃癌中的表达与临床病理因素的关系  $n(\%)$

| 临床病理因素   | <i>n</i> | HIF-1 $\alpha$        | iNOS                  | COX-2                 |
|----------|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 年龄(岁)    |          |                       |                       |                       |
| ≤60      | 41       | 31(75.6)              | 28(68.3)              | 26(63.4)              |
| >60      | 13       | 9(69.2)               | 8(61.5)               | 8(63.4)               |
| 性别       |          |                       |                       |                       |
| 男        | 37       | 28(75.7)              | 26(64.9)              | 23(62.1)              |
| 女        | 17       | 12(70.6)              | 10(58.8)              | 11(64.7)              |
| 肿瘤大小(cm) |          |                       |                       |                       |
| ≤5       | 37       | 27(73.0)              | 24(64.9)              | 24(64.9)              |
| >5       | 17       | 13(76.5)              | 12(70.6)              | 10(58.8)              |
| 组织学分型    |          |                       |                       |                       |
| 高分化      | 19       | 12(63.2)              | 14(73.7)              | 10(52.6)              |
| 中分化      | 17       | 13(76.5)              | 10(58.8)              | 11(64.7)              |
| 低分化      | 18       | 13(72.2)              | 12(66.7)              | 13(72.2)              |
| 浸润深度     |          |                       |                       |                       |
| 浆膜下      | 15       | 7(46.7)               | 5(33.3)               | 6(40.0)               |
| 浆膜外      | 39       | 33(84.6) <sup>a</sup> | 31(79.5) <sup>a</sup> | 28(71.8) <sup>b</sup> |
| 淋巴结转移    |          |                       |                       |                       |
| 无        | 29       | 17(58.6)              | 15(51.7)              | 11(27.9)              |
| 有        | 25       | 23(92.0) <sup>b</sup> | 21(84.0) <sup>b</sup> | 23(92.0) <sup>a</sup> |
| 远隔转移     |          |                       |                       |                       |
| 无        | 42       | 30(71.4)              | 32(76.2)              | 24(57.1)              |
| 有        | 12       | 10(83.3)              | 4(33.3)               | 10(83.3)              |
| TNM分期    |          |                       |                       |                       |
| I、II期    | 26       | 16(61.5)              | 12(46.2)              | 8(30.7)               |
| III、IV期  | 28       | 24(85.7) <sup>a</sup> | 24(85.7) <sup>a</sup> | 26(92.9) <sup>a</sup> |

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 同组。

测患者预后的指标。缺氧是实体肿瘤生长微环境的一个共同特征<sup>[4]</sup>, HIF-1则处于肿瘤缺氧的中枢位置。他是由HIF-1 $\alpha$ 及HIF-1 $\beta$ 组成的异源性二聚体, HIF-1 $\alpha$ 是其活性调节亚单位; HIF-1 $\beta$ 在常氧和缺氧条件下均可表达, 而HIF-1 $\alpha$ 在氧浓度正常时, 其表达量维持在较低水平, 当氧浓度降低时, HIF-1 $\alpha$ 的转录、翻译水平则呈指数增加。HIF-1作为转录因子, 可调控40余种基因的表达<sup>[5]</sup>, 如VEGF、EPO、糖酵解酶类及MDR等, 而这些基因的激活解决了缺氧条件下肿瘤组织的血供、氧供及能量代谢, 并且使得肿瘤细胞产生抗药性。

本组实验中, 采用免疫组化的方法对HIF-1 $\alpha$ 进行标记, 结果证实HIF-1 $\alpha$ 主要表达于胞核, 胞质也有表达, 肿瘤坏死明显的区域和肿瘤浸润的边缘HIF-1 $\alpha$ 表达明显增多, 周围正常组织及肿瘤间质无HIF-1 $\alpha$ 的表达。HIF-1 $\alpha$ 是近年来发现的与机体细胞适应低氧关系密切的一种重要的转录因子, 他受细胞内氧分压的精细调节, 对于低氧环境中机体的生存和肿瘤组织的生长

具有重要意义。肿瘤细胞存在对缺血缺氧的自身调节和适应, 其主要机制为: (1)葡萄糖转运; (2)糖酵解; (3)肿瘤新生血管生成。HIF-1 $\alpha$ 在以上环节中起到重要作用。目前已知HIF-1 $\alpha$ 的靶基因包括: (1)葡萄糖转运蛋白1(GLUT-1)编码基因; (2)糖酵解酶编码基因; (3)VEGF编码基因等。HIF-1 $\alpha$ 可能通过诱导上述因子和酶的表达, 增加肿瘤组织的供血、供氧, 改善肿瘤组织的能量代谢, 促进肿瘤生长<sup>[6]</sup>。

NO是由NOS催化L-精氨酸生成的, NOS是体内产生NO的限速酶。NO与肿瘤发生、发展关系较为复杂, 具体机制目前还不清楚。Moochhala *et al*<sup>[7]</sup>认为NO可在肿瘤早期通过介导DNA损伤参与复杂的肿瘤形成过程, 还可通过刺激肿瘤细胞, 诱导血管生成和调节免疫系统来促进肿瘤的生长、侵袭和转移。Thomsen *et al*<sup>[8]</sup>在研究iNOS表达与人乳腺癌、胃癌标本关系时指出, iNOS催化生成的肿瘤微环境中持续低水平的NO(比引起瘤细胞凋亡的浓度低1-2数量级)有利于肿瘤的发展。肿瘤诱导血管形成是其生长的基础, 足够的肿瘤血流是维持供氧和营养, 维持适度pH值所需要的。大量研究显示, NO在促进肿瘤新生血管的形成中也起到重要作用。Jenkins *et al*将iNOS基因转染的人结肠腺癌细胞株移植到裸鼠体内, 与未转染iNOS基因的亲代野生型瘤株进行比较, 前者肿瘤的生长速度较快且出现较多新生血管, 肿瘤的侵袭性也更强, 易侵入邻近组织。NO促进血管形成的机制目前还不清楚, 一般认为NO是通过参与血管内皮细胞生长因子(VEGF)的生血管机制实现对肿瘤血管的调节。本实验结果显示: iNOS在胃癌中亦呈高表达状态, 与正常胃黏膜组织相比, 差异有显著性( $P < 0.05$ ), 且其表达与胃癌组织学分型无关( $P > 0.05$ ), 而与胃癌浸润深度、淋巴结转移及临床分期有关( $P < 0.05$ )。结果提示, iNOS可能参与了胃黏膜癌变形成的整个过程, 是胃癌发生发展转移中的危险因素之一。

COX-2是炎症过程中一个重要诱导酶, 炎症过程前列腺素的产生主要由他来催化合成, 近几年国外研究表明, COX-2参与了肿瘤的发生。Uefuji *et al*<sup>[9]</sup>用RT-PCR的方法检测37例胃腺癌组织中COX-2 mRNA的表达, 结果表明, 有淋巴结转移胃癌患者肿瘤组织中COX-2 mRNA的表达明显高于无淋巴结转移者, 且COX-2高表达与胃癌病灶直径大小正相关。COX-2可通过促进血管内皮细胞的移动和增强血管生成因子的表达, 而促进血管生成, 且COX-2抑制剂可抑制其这种

作用. Tomazawa *et al*<sup>[10]</sup>认为由COX-2产生的前列腺素、血栓素是新血管形成所必需, 他们可以诱导VEGF的产生, 增加血管通透性, 增加已形成血管的血流量, 抑制内皮细胞凋亡, 直接或间接促进血管生成. COX-2是Bcl-2的上游调节者<sup>[11]</sup>, 通过促进Bcl-2的表达而抑制胃癌细胞凋亡, 促进其发生发展. COX-2调节细胞增殖、凋亡相关基因表达的机制可能通过其下游的各种前列腺素和血栓素结合于相应的膜受体和核受体如PPAR等完成的.

我们发现, COX-2在正常胃组织中的阳性表达率显著低于在胃癌中的阳性表达率. COX-2在胃癌中的表达随淋巴转移的产生、浸润深度的增加、临床分期的提高而明显升高. 与文献报道相符, 提示COX-2表达的升高与胃癌的发生发展密切相关.

关于HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2的相互诱导关系目前研究较少, 具体机制不清. 本试验结果证明了HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2在胃癌中的表达成正相关. 研究表明, 氧诱导的羟化酶的作用是调节HIF-1 $\alpha$ 的最主要途径. 体外试验证明, NO是羟化酶的抑制剂, NO供体对HIF-1 $\alpha$ 的羟化途径能产生抑制作用, 原因是NO与氧竞争性结合PHD上的铁激活位点, 抑制了氧与PHD的结合<sup>[12]</sup>. Metzen *et al*也报道了在常氧条件下NO可使HIF-1 $\alpha$ 增多, 原因是NO抑制了PHD的活性. 在缺氧条件下, HIF-1 $\alpha$ 可诱导iNOS合成, 产生NO, 从而舒张血管, 增加血流量, 增加组织供氧. 此外, HIF-1 $\alpha$ 和iNOS均可通过刺激VEGF来促进肿瘤新生血管的生成, 两者在这一机制中可能也存在协同效应. 我们的试验初步证明HIF-1 $\alpha$ 与iNOS在胃癌中的发生、发展中可能起到重要作用.

HIF-1 $\alpha$ 和COX-2共同的靶基因为VEGF, 两者可能通过这一下游路径促进肿瘤的生长和血管形成. 有研究表明COX-2可通过其催化产物PGE2激活HIF-1 $\alpha$ 活性, 通过COX-2/PGE2/HIF-1 $\alpha$ /VEGF途径以促进肿瘤血管生成<sup>[13]</sup>. Garayoa *et al*<sup>[14]</sup>发现, COX-2选择性抑制剂NS398可以减少HIF-1 $\alpha$  mRNA的表达, 并通过COX-2/PGE2途径减少HIF-1 $\alpha$ 的合成, 从而抑制缺氧诱导的血管生成. 可以认为, 两者可能的联系为缺氧诱导HIF-1 $\alpha$ 的表达, HIF-1 $\alpha$ 通过与COX-2启动子中的缺氧反应元件结合, 激活COX-2的转录, 而COX-2可以通过其代谢产物PGE2等反作用于HIF-1 $\alpha$ , 使HIF-1 $\alpha$ 活性增加, 在核内的积聚增加, 翻译转录加速, 从而形成一个正反馈网络, 共同促进肿瘤的血管形成, 维持肿瘤的生长.

目前关于在胃癌中相互关系的研究报道较

少, 我们发现在胃癌中HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2表达均呈正相关, 并且均与肿瘤的TNM分期、浸润深度和淋巴结转移程度有关. 因此, 我们认为在胃癌发生发展的过程中HIF-1 $\alpha$ 可能通过上调iNOS和COX-2的表达促进肿瘤血管生成而促进胃癌的转移. 总之, HIF-1 $\alpha$ 与iNOS、COX-2均在胃癌的发生发展和浸润转移过程中起重要作用, 其作用途径和形式复杂且相互关联, 需要进一步研究其作用机制, 及其对胃癌的预防、诊断、治疗和预后判断的意义.

#### 4 参考文献

- 1 桑海泉, 王强. 胃癌组织中MTA1, PTEN, E-cadherin的表达及其相互关系. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1096-1102
- 2 刘莹, 朱祖安, 费素娟. COX-2 iNOS及VEGF在胃不典型增生胃癌中的表达及其意义. 中国肿瘤临床 2005; 32: 428-430
- 3 Yasui W, Oue N, Aung PP, Matsumura S, Shutoh M, Nakayama H. Molecular-pathological prognostic factors of gastric cancer: a review. *Gastric Cancer* 2005; 8: 86-94
- 4 Sutherland RM. Tumor hypoxia and gene expression--implications for malignant progression and therapy. *Acta Oncol* 1998; 37: 567-574
- 5 Semenza GL. HIF-1 and tumor progression: pathophysiology and therapeutics. *Trends Mol Med* 2002; 8: S62-S67
- 6 茅文斌, 邵增务. iNOS与HIF-1 $\alpha$ 在骨肉瘤中的表达及其与血管生成的关系. 中国骨肿瘤骨病 2006; 5: 210-213
- 7 Mochhala S, Rajnakova A. Role of nitric oxide in cancer biology. *Free Radic Res* 1999; 31: 671-679
- 8 Thomsen LL, Miles DW. Role of nitric oxide in tumour progression: lessons from human tumours. *Cancer Metastasis Rev* 1998; 17: 107-118
- 9 Uefuji K, Ichikura T, Mochizuki H. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric adenomas and adenocarcinomas. *J Surg Oncol* 2001; 76: 26-30
- 10 Tomozawa S, Tsuno NH, Sunami E, Hatano K, Kitayama J, Osada T, Saito S, Tsuruo T, Shibata Y, Nagawa H. Cyclooxygenase-2 overexpression correlates with tumour recurrence, especially haematogenous metastasis, of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000; 83: 324-328
- 11 Liu XH, Yao S, Kirschenbaum A, Levine AC. NS398, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis and down-regulates bcl-2 expression in LNCaP cells. *Cancer Res* 1998; 58: 4245-4249
- 12 饶娅敏, 陈同钰. HIF-1 $\alpha$ 、COX-2、VEGF与胶质瘤. 中国肿瘤临床 2006; 14: 145-147
- 13 Liu XH, Kirschenbaum A, Lu M, Yao S, Dosoretz A, Holland JF, Levine AC. Prostaglandin E2 induces hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  stabilization and nuclear localization in a human prostate cancer cell line. *J Biol Chem* 2002; 277: 50081-50086
- 14 Garayoa M, Martínez A, Lee S, Pío R, An WG, Neckers L, Trepel J, Montuenga LM, Ryan H, Johnson R, Gassmann M, Cuttitta F. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) up-regulates adrenomedullin expression in human tumor cell lines during oxygen deprivation: a possible promotion mechanism of carcinogenesis. *Mol Endocrinol* 2000; 14: 848-862