

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.22.006

低氧诱导因子基因沉默对胃癌细胞 BGC-823 微血管生成和血管内皮生长因子表达的影响 *

白国栋¹ 全建峰^{2Δ} 魏 辉³ 贾 勇⁴ 江 静³

(1 陕西中医药大学 陕西 咸阳 712000; 2 陕西中医药大学第一附属医院肿瘤二科 陕西 咸阳 712000;

3 陕西中医药大学第一附属医院肿瘤四科 陕西 咸阳 712000; 4 陕西中医药大学第一附属医院肿瘤外科 陕西 咸阳 712000)

摘要 目的:探讨低氧诱导因子基因沉默对胃癌细胞 BGC-823 微血管生成和血管内皮生长因子表达的影响。**方法:**对数生长期的 BGC-823 细胞株分为三组 - 实验组、对照组与空白组, 分别转染 200 ng/mL shRNA-HIF-1 α 、200 ng/mL shRNA-NC 与等体积的磷酸盐缓冲液。采用 CCK 法检测细胞增殖, 流式细胞仪检测细胞凋亡, Transwell 小室实验检测细胞迁移与侵袭, Western blot 检测蛋白表达, qRT-PCR 检测基因表达。**结果:**细胞转染后 24 h 与 48 h, 实验组的 HIF-1 α 相对表达量、细胞增殖指数、细胞迁移与侵袭指数显著低于空白组和对照组($P < 0.05$), 细胞凋亡指数显著高于空白组和对照组($P < 0.05$)。细胞转染后 48 h, 与对照组和空白组相比, 实验组的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) 蛋白相对表达水平显著降低($P < 0.05$)。**结论:**沉默 HIF-1 α 表达能抑制胃癌细胞 BGC-823 微血管生成和 VEGF 表达, 从而抑制胃癌细胞增殖、转移与侵袭, 促进细胞凋亡。

关键词:低氧诱导因子; 胃癌; 微血管生成; 血管内皮生长因子; 基因沉默

中图分类号:R-33; R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)22-4229-05

Effects of Hypoxia-inducible Factor Gene Silencing on Microangiogenesis and Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Gastric Cancer Cell BGC-823*

BAI Guo-dong¹, QUAN Jian-feng^{2Δ}, WEI Hu³, JIA Yong⁴, JIANG Jing³

(1 Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712000, China; 2 Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712000, China; 3 Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712000, China; 4 Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of hypoxia-inducible factor gene silencing on microangiogenesis and expression of vascular endothelial growth factor in gastric cancer cell BGC-823. **Methods:** BGC-823 cell lines in logarithmic growth phase were divided into three groups-experimental group, control group and blank group, respectively transfected with 200 ng/mL shRNA-HIF-1 α , 200 ng/mL shRNA-NC and equal volume phosphate buffer. Cell proliferation were detected by CCK method, cell apoptosis were detected by flow cytometry, cell migration and invasion were detected by Transwell cell experiment, protein expression were detected by Western blot, and gene expression were detected by qRT-PCR. **Results:** 24 h and 48 h after cell transfection, the relative expression level of HIF-1 α , cell proliferation index, cell migration and invasion index in the experimental group were significantly lower than those in the blank group and control group ($P < 0.05$), and the apoptosis index were significantly higher Blank group and control group ($P < 0.05$). At 48 h after cell transfection, compared with the control group and the blank group, the relative expression level of VEGF protein in the experimental group were significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusion:** Silencing the expression of HIF-1 α can inhibit the microangiogenesis and VEGF expression of gastric cancer cell BGC-823, thereby inhibiting the proliferation, metastasis and invasion of gastric cancer cells and promoting apoptosis.

Key words: Hypoxia-inducible factor; Gastric cancer; Microangiogenesis; Vascular endothelial growth factor; Gene silencing

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)22-4229-05

* 基金项目:陕西省中医管理局中医药科研项目(JCPT011)

作者简介:白国栋(1980-),男,本科,副主任医师,研究方向:肿瘤,电话:18091063832, E-mail: babyblue080@126.com

Δ 通讯作者:全建峰(1970-),男,博士研究生,主任医师,研究方向:恶性肿瘤临床与实验研究,中医病证规范化研究,

电话:18992057958, E-mail: kjkq@163.com

(收稿日期:2020-05-08 接受日期:2020-05-31)

前言

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,是威胁人类生命健康的重大杀手^[1]。在所有预测的恶性肿瘤发病率和死亡率中,胃癌位居第三位,约占 10 %^[2]。胃癌的快速增殖与凋亡失衡是胃癌患者死亡的主要原因,为改善胃癌预后和结局,需要进行早期诊断与根治^[3]。胃癌的确切病因尚未完全阐明,目前认为是幽门螺旋杆菌感染、环境因素和遗传因素协同作用的结果。微血管生成是胃癌发生与发展的必要条件,特别是胃癌的生长和侵袭转移依赖于诱发形成新生血管^[4,5]。不过肿瘤微血管生成是一个复杂的过程,也取决于多种血管性因素得影响,其中一个重要的因素就是 VEGF^[6]。VEGF 在肿瘤微血管生成过程中发挥重要的中介作用,抑制 VEGF 的表达,可能是一个重要的抗肿瘤血管生成治疗策略。肿瘤组织内存在低氧区,肿瘤组织内低氧诱导因子-1 α (Hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)表达升高,并与 VEGF 表达呈正相关^[7,8]。人的 HIF-1 α 基因位于 14 号染色体, cDNA 全长 3720 bp, 编码 826 个氨基酸, 开放阅读框 2478 bp^[9]。HIF-1 α 为一种转录因子,也是一种缺氧依赖性蛋白质,在肿瘤细胞低氧适应中发挥重要的作用,与肿瘤细胞增殖、肿瘤血管形成关系密切,能增强肿瘤细胞在低氧环境下的生存能力^[10,11]。RNA 干扰(RNA interference, RNAi)是一项常见的基因沉默技术,可特异地抑制靶基因表达,从而发挥相应的基因调节作用^[12,13]。本文具体探讨了 HIF-1 α 基因沉默对胃癌细胞 BGC-823 微血管生成和 VEGF 表达的影响, 希望有助于揭示 HIF-1 α 在胃癌中的作用机制, 寻求新的治疗靶点。现总结报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

BGC-823 细胞株购自中国科学院细胞资源库, HIF-1 α 引物、 β -Actin 引物 (上海生工生物工程有限公司), 山羊抗小鼠 β -actin (Santa Cruz 公司), 鼠抗人 VEGF 单克隆抗体 (R&D, US-A), qPCR 检测试剂盒 (Takara 公司), shRNA-NC、shRNA-HIF-1 α 、转染试剂 Lipofectamine 2000 (Sigma 公司), 胎牛血清、RPMI-1640 培养基 (Hyclone 公司)。

1.2 细胞培养与转染

在含 10 %胎牛血清的 RPIM-1640 培养基中培养 BGC-823 细胞, 37℃、5 % CO₂ 培养箱。取对数生长期的细胞按 5×10^5 个/mL 的接种于培养皿中并分为实验组、对照组与空白组, 分别转染 200 ng/mL shRNA-HIF-1 α 、200 ng/mL shRNA-NC 与等体

积的磷酸盐缓冲液, 转染后 6 h 后进行换液培养。

1.3 CCK 法检测细胞增殖

制成单细胞悬液(5×10^5 个/mL), 铺板 96 孔板, 每孔加入 200 μ L, 培养 24 h 后每孔加入 20 μ L 浓度为 5 mg/mL 的 MTT 母液, 孵育 4 h, 加入 200 μ L 二甲亚砷, 充分震荡。在 490 nm 处采用酶标仪中测定吸光值, 计算细胞增殖指数。

1.4 流式细胞仪检测细胞凋亡

调整细胞浓度为 1×10^6 个/mL, 弃上清, 重悬后收集细胞。加入 400 μ L $1 \times$ Binding Buffer+5 μ L AnnexinV-FITC, 重悬混匀, 室温避光孵育 15 min。再加入 10 μ L PI 染色液, 混匀后避光 5 min, 采用流式细胞仪检测计算细胞凋亡指数。

1.5 细胞迁移与侵袭

调整细胞浓度为 2×10^5 个/mL, 在下室加入 800 μ L 含 10 % FBS 培养基, 上室加入 20 μ L 细胞悬液, 继续培养 24 h; 取出上室, 采用多聚甲醛室温固定 30 min, 然后采用 0.4 % 结晶紫室温染色 15~30 min, 中性树胶封片, 镜下观察并计算细胞迁移指数。在检测细胞侵袭中, 以 2×10^5 细胞密度接种于 24 孔板的 Transwell 小室中, 向 Transwell 小室下加入 500 μ L 的培养液, 培养 24 h 后取出 Transwell 小室, 固定后也进行结晶紫室温染色 15~30 min, 中性树胶封片, 镜下观察并计算细胞侵袭指数。

1.6 Western blot 检测蛋白表达

提取细胞蛋白, 定量蛋白浓度, 按照常规步骤进行 Western blot 检测, 检测抗体为抗 β -Actin 抗体、抗 VEGF 抗体, 曝光后进行灰度扫描, 记录目的蛋白的相对表达量。

1.7 qRT-PCR 检测基因表达

细胞转染后 24 h 与 48 h, 收集细胞并提取核酸, 进行 qRT-PCR 分析。HIF-1 α 上游引物: 5'-GCCAACTCGAAA-GAGTAGGCAGA-3', 下游引物: 5'-GCCAACCAATTGGCA-CAAGAAAC-3'。

上述实验均重复 3 次, 计算其平均值。

1.8 统计方法

应用 SPSS 22.00 分析, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示计量数据, 两组间采用 t 检验, 多组间采用单因素方差分析, 以 $\alpha=0.05$ 作为检验水准。

2 结果

2.1 HIF-1 α 表达对比

细胞转染后 24 h 与 48 h, 实验组的 HIF-1 α 相对表达量显著低于对照组和空白组, 两两对比均有统计学意义 ($P<0.05$), 而对照组与空白组细胞转染后 24 h 与 48 h, HIF-1 α 相对表达量对比无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 1。

表 1 三组 HIF-1 α 相对表达量对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of relative expression levels of three groups of HIF-1 α ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	24 h	48 h
Experimental group	3	0.15 $\pm$ 0.02*#	0.14 $\pm$ 0.01*#
Control group	3	2.03 $\pm$ 0.09	2.11 $\pm$ 0.12
Blank group	3	2.00 $\pm$ 0.04	2.02 $\pm$ 0.03
F		72.034	78.204
P		0.000	0.000

Note: Compared with the control group, * $P<0.05$; compared with the blank group, # $P<0.05$, same below.

2.2 细胞增殖指数对比

细胞转染后 24 h 与 48 h, 与对照组和空白组相比, 实验组的细胞增殖指数显著降低, 组间对比有统计学意义($P < 0.05$),

而对照组与空白组细胞转染后 24 h 与 48 h, 细胞增殖指数对比无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 三组细胞增殖指数对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of cell proliferation index of the three groups ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	24 h	48 h
Experimental group	3	0.42 $\pm$ 0.03**	0.53 $\pm$ 0.03**
Control group	3	1.07 $\pm$ 0.21	1.12 $\pm$ 0.12
Blank group	3	1.11 $\pm$ 0.18	1.17 $\pm$ 0.14
F		14.092	12.045
P		0.000	0.000

2.3 细胞凋亡情况对比

细胞转染后 24 h 与 48 h, 与对照组和空白组相比, 实验组的细胞凋亡指数显著增加, 组间对比有统计学意义($P < 0.05$),

而对照组与空白组细胞转染后 24 h 与 48 h, 细胞凋亡指数对比无统计学意义($P > 0.05$), 见表 3。

表 3 三组细胞凋亡指数对比(% , $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of apoptosis index of the three groups (% , $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	24 h	48 h
Experimental group	3	42.58 $\pm$ 1.49**	48.29 $\pm$ 1.48**
Control group	3	13.21 $\pm$ 1.22	15.32 $\pm$ 1.77
Blank group	3	11.60 $\pm$ 2.14	17.45 $\pm$ 2.44
F		14.583	12.013
P		0.000	0.000

2.4 细胞迁移与侵袭指数对比

细胞转染后 24 h 与 48 h, 与对照组和空白组相比, 实验组的细胞迁移与侵袭指数显著降低, 组间对比有统计学意义($P <$

0.05), 而对照组与空白组细胞转染后 24 h 与 48 h, 细胞迁移与侵袭指数对比无统计学意义($P > 0.05$), 见表 4。

表 4 三组细胞迁移与侵袭指数对比(% , $\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of cell migration and invasion index of the three groups (% , $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Cell migration index		Cell invasion index	
		24 h	48 h	24 h	48 h
Experimental group	3	6.77 $\pm$ 1.30**	8.92 $\pm$ 1.22**	4.99 $\pm$ 1.03**	9.02 $\pm$ 1.44**
Control group	3	24.20 $\pm$ 2.48	29.72 $\pm$ 3.15	21.38 $\pm$ 3.14	22.48 $\pm$ 2.57
Blank group	3	24.98 $\pm$ 3.18	28.99 $\pm$ 2.57	22.01 $\pm$ 2.57	23.00 $\pm$ 3.15
F		9.483	8.474	12.030	10.001
P		0.002	0.008	0.000	0.001

2.5 VEGF 蛋白表达对比

细胞转染后 48 h, 实验组的 VEGF 蛋白相对表达水平显著低于其他两组, 组间对比有统计学意义($P < 0.05$), 而对照组与空白组细胞转染后 24 h 与 48 h, VEGF 蛋白相对表达水平对比无统计学意义($P > 0.05$), 见表 5 与图 1。

存率在 90 % 以上, 而晚期胃癌的生存率低于 10 %^[14]。现代研究表明肿瘤增殖和凋亡是一个复杂的发展过程, 对其进行早期干预能显著性地提高患者生存率^[15]。

肿瘤细胞快速增殖、肿瘤组织血管生长异常等过程都需要消耗大量氧气, 导致组织缺氧。而肿瘤细胞激活上调缺氧诱导因子 HIF-1 α 的表达, 促进肿瘤无氧糖酵解^[16,17]。HIF-1 α 基因首先被发现于低氧反应元件上, 可以特异性识别靶基因中包含 5'-RCGTG-3' 核心序列的 DNA 结合位点, 激活靶基因转录, 从

3 讨论

胃癌是威胁人类生命健康的重大杀手。早期胃癌的 5 年生

而参与调控机体的细胞能量代谢、血管发生、离子代谢等^[18]。HIF-1 α 在正常氧分压时可被泛素依赖的蛋白水解酶水解,缺氧时在细胞内可大量聚集,从而调控下游一系列基因表达^[19]。而当肿瘤处在低氧环境时,HIF-1 α 活性显著增高,促进促红细胞生成素、葡萄糖转运蛋白、诱导型一氧化氮合酶、血红素氧化酶 1 的表达,从而促进肿瘤血管的再生,导致肿瘤细胞的生物学特性发生改变^[20,21]。本研究显示细胞转染后 24 h 与 48 h,实验组的 HIF-1 α 相对表达量、细胞增殖指数显著降低,细胞凋亡

指数显著升高,与王森等^[22]学者的研究也发现,采用 RNA 干扰技术抑制胃癌 BGC-823 细胞中 HIF-1 α 基因的表达,结果显示沉默 HIF-1 α 基因可下调靶基因的表达,抑制胃癌 BGC-823 细胞增殖,促进细胞凋亡,表明沉默 HIF-1 α 的表达能抑制细胞增殖与促进细胞凋亡。分析其机制为沉默 HIF-1 α 基因,主要是利用了该基因由线粒体释放进入胞浆,通过内源性凋亡途径诱导胃癌 BGC-823 细胞凋亡。

表 5 三组细胞 VEGF 蛋白相对表达水平对比($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of relative expression levels of VEGF protein in three groups of cells ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	JAK	STAT
Experimental group	3	0.65 $\pm$ 0.11*#	0.48 $\pm$ 0.12*#
Control group	3	2.78 $\pm$ 0.12	3.20 $\pm$ 0.14
Blank group	3	2.91 $\pm$ 0.14	3.00 $\pm$ 0.15
F		7.933	10.943
P		0.011	0.000

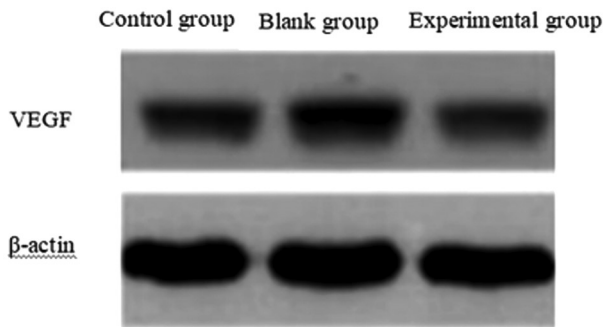


图 1 三组细胞 VEGF 蛋白表达水平

Fig.1 Three groups of cells VEGF protein expression level

胃癌的转移与侵袭是决定患者预后的关键因素,也是一个涉及多基因的多步骤序贯级联发展的工程^[23]。肿瘤形成相关的基因主要包括两大类,即促癌基因与抑癌基因,一旦它们表达失调,则有可能快速地促进肿瘤的形成^[24]。HIF-1 是调节细胞适应低氧反应的转录因子,其中亚单位 HIF-1 α 是调节缺氧水平的主要转录因子^[25]。常氧状态下 HIF-1 α 会迅速降解,在低氧状态下会持续稳定表达。HIF-1 α 高表达不仅是反映恶性肿瘤组织缺氧的重要指标,而且在肿瘤凋亡、增殖、转移等过程中也具有重要作用^[26]。本研究显示细胞转染后 24 h 与 48 h,与对照组和空白组相比,实验组的细胞迁移与侵袭指数显著降低,于鹏杰^[27]等学者的研究与本研究类似,分析体外低氧微环境对胃癌细胞侵袭、迁移的影响,发现随着氧剂量的递增,胃癌 MKN-45 细胞的增殖抑制率递降,细胞转移抑制率递降,细胞迁移、侵袭数量增加,说明低氧微环境能够增加胃癌细胞的增殖,升高其侵袭、迁移能力。分析其原因为沉默 HIF-1 α 的表达,抑制了肿瘤细胞 BGC-823 能量代谢,使胃癌细胞 BGC-823 体外侵袭迁移能力下降,从而抑制胃癌细胞转移与侵袭。

恶性肿瘤多数存在低氧微环境,也是肿瘤容易产生耐药的主要原因之一。恶性肿瘤的生长和发展来说也伴随有微血管的大量生成,特别是在肿瘤发生的各个时期,趋化因子和细胞外

基质能促进 VEGF 的大量表达^[28]。肿瘤新生血管不仅承担向肿瘤组织排泄代谢废物、输送营养物质和作用,同时是肿瘤细胞转移重要环节之一^[29,30]。血管内皮生长因为常见的血管生成刺激物,又是典型 HIF-1 α 的调节基因。肿瘤细胞高表达 HIF-1 α 能诱导释放 VEGF,激活刺激内皮细胞促使形成新的毛细血管^[31-33]。本研究显示细胞转染后 48 h,与对照组和空白组相比,实验组的 VEGF 蛋白相对表达水平显著降低,本研究表明沉默 HIF-1 α 的表达能抑制 VEGF 的表达。与侯立朝^[34]等学者的研究一致,通过探究 HIF-1 α 基因沉默对人肝癌 SMMC-7721 细胞中 VEGF 基因表达的影响,显示低氧培养 6、12 及 24 h 时,沉默组细胞 VEGF 的表达水平均低于对照组和阴性对照组,3 组细胞中 VEGF 的表达水平均呈下降趋势,说明沉默人肝癌 SMMC-7721 细胞中 HIF-1 α 基因的表达后,VEGF 的表达水平均降低,提示沉默 HIF-1 α 基因可抑制原发性肝癌的浸润和转移。不过本研究未在动物水平进一步验证 HIF-1 α 的功能,另外其调节 VEGF 的机制研究方面还有待进一步深入,将在后续的工作中进行完善。

总之,沉默 HIF-1 α 表达能抑制胃癌细胞 BGC-823 微血管生成和 VEGF 表达,从而抑制胃癌细胞增殖、转移与侵袭,促进细胞凋亡。

参考文献(References)

- [1] Weiwei L, Dai T, Zhenran W. Research status and progress in the mechanism of invasion and metastasis of gastric cancer [J]. Contemporary Med, 2018, 24(36): 190-193
- [2] Orlando A, Linsalata M, Bianco G, et al. Lactobacillus rhamnosus GG Protects the Epithelial Barrier of Wistar Rats from the Pepsin-Trypsin-Digested Gliadin (PTG)-Induced Enteropathy[J]. Nutrients, 2018, 10(11): e1698
- [3] Deng X, Li Z, Xiong R, et al. FS-7 inhibits MGC-803 cells growth in vitro and in vivo via down-regulating glycolysis [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109(8): 1659-1669
- [4] Sethy C, Goutam K, Nayak D, et al. Clinical significance of a pvr1 4

- encoded gene Nectin-4 in metastasis and angiogenesis for tumor relapse[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(1): 245-259
- [5] Sorokin M, Poddubskaya E, Baranova M, et al. RNA sequencing profiles and diagnostic signatures linked with response to ramucirumab in gastric cancer [J]. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*, 2020, 6(2) [Epub ahead of print]
- [6] Van Cutsem E, Muro K, Cunningham D, et al. Biomarker analyses of second-line ramucirumab in patients with advanced gastric cancer from RAINBOW, a global, randomized, double-blind, phase 3 study [J]. *Eur J Cancer*, 2020, 127(11): 150-157
- [7] Fu JD, Yao JJ, Wang H, et al. Effects of EGCG on proliferation and apoptosis of gastric cancer SGC7901 cells via down-regulation of HIF-1 α and VEGF under a hypoxic state[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(1): 155-161
- [8] Burlaka AP, Ganusevich, Ii, Vovk AV, et al. Redox state of adipose tissue for patients with gastric cancer and its connection with the body mass index and distance from the tumor [J]. *Obes Res Clin Pract*, 2020, 14(1): 34-38
- [9] Cai T, Zhang C, Zeng X, et al. Protective effects of Weipixiao decoction against MNNG-induced gastric precancerous lesions in rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120(2): 109427
- [10] González MF, Carrasco-Véliz N, Jorquera-Cordero C, et al. FoxM1 is regulated by both HIF-1 α and HIF-2 α and contributes to gastrointestinal stromal tumor progression [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 22(1): 91-103
- [11] Hao LS, Liu Q, Tian C, et al. Correlation and expression analysis of hypoxia-inducible factor 1 α , glucose transporter 1 and lactate dehydrogenase 5 in human gastric cancer [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(2): 1431-1441
- [12] Hong L, Wang J, Wang H, et al. Linc-pint overexpression inhibits the growth of gastric tumors by downregulating HIF-1 α [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(3): 2875-2881
- [13] Huang R, Jin X, Gao Y, et al. DZNep inhibits Hif-1 α and Wnt signalling molecules to attenuate the proliferation and invasion of BGC-823 gastric cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(4): 4308-4316
- [14] Ding X, Huang R, Zhong Y, et al. CTHRC1 promotes gastric cancer metastasis via HIF-1 α /CXCR4 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 123(8): e109742
- [15] Ezzeddini R, Taghikhani M, Somi MH, et al. Clinical importance of FASN in relation to HIF-1 α and SREBP-1c in gastric adenocarcinoma [J]. *Life Sci*, 2019, 224(13): 169-176
- [16] Jiang X, Zhang S, Yin Z, et al. The correlation between NEDD4L and HIF-1 α levels as a gastric cancer prognostic marker[J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16(11): 1517-1524
- [17] Jiang Z, Yang H, Zhang X, et al. Histone deacetylase-1 as a prognostic factor and mediator of gastric cancer progression by enhancing glycolysis[J]. *Hum Pathol*, 2019, 85(12): 194-201
- [18] Kurokawa H, Ito H, Terasaki M, et al. Nitric oxide regulates the expression of heme carrier protein-1 via hypoxia inducible factor-1 α stabilization[J]. *Clin Transl Oncol*, 2019, 14(9): e0222074
- [19] Li B, Qu G. Inhibition of the hypoxia-induced factor-1 α and vascular endothelial growth factor expression through ginsenoside Rg3 in human gastric cancer cells [J]. *J Cancer Res Ther*, 2019, 15(7): 1642-1646
- [20] Li H, Jia Y, Wang Y. Targeting HIF-1 α signaling pathway for gastric cancer treatment[J]. *Pharmazie*, 2019, 74(1): 3-7
- [21] Li Y, Xu Q, Yang W, et al. Oleonic acid reduces aerobic glycolysis-associated proliferation by inhibiting yes-associated protein in gastric cancer cells[J]. *Gene*, 2019, 712(8): e143956
- [22] 王森, 母润红, 李明成, 等. RNAi 沉默 survivin 和 HIF-1 α 基因对胃癌 BGC-823 细胞体外增殖和凋亡的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2018, 272(4): 67-72+207
- [23] Tang E, Wang Y, Liu T, et al. Gastrin promotes angiogenesis by activating HIF-1 α / β -catenin/VEGF signaling in gastric cancer [J]. *Gene*, 2019, 704(12): 42-48
- [24] Valenzuela-Valderrama M, Cerda-Opazo P, Backert S. The Helicobacter pylori Urease Virulence Factor Is Required for the Induction of Hypoxia-Induced Factor-1 α in Gastric Cells [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(6): e799
- [25] Wang SJ, Zhao JK, Ren S, et al. Wogonin affects proliferation and the energy metabolism of SGC-7901 and A549 cells [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1): 911-918
- [26] Lorenzen S, Stahl M, Hofheinz R D, et al. Influence of Taxanes on Treatment Sequence in Gastric Cancer [J]. *Oncol Res Treat*, 2020, 43(1-2): 42-47
- [27] 于鹏杰, 燕速. 体外模拟低氧微环境对人胃癌细胞侵袭、迁移及 Ras/MAPK/NF- κ B 通路的影响 [J]. *中国临床研究*, 2019, 32(7): 907-910, 914
- [28] Lv WL, Hu YY, Li ZN, et al. PAX3 silencing suppresses gastric cancer proliferation and angiogenesis via MET/PI3K signaling [J]. *Neoplasma*, 2020, 67(2): 304-311
- [29] Mei B, Chen J, Yang N, et al. The regulatory mechanism and biological significance of the Snail-miR590-VEGFR-NRP1 axis in the angiogenesis, growth and metastasis of gastric cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 11(4): e241
- [30] Wu F, Gao H, Liu K, et al. The lncRNA ZEB2-AS1 is upregulated in gastric cancer and affects cell proliferation and invasion via miR-143-5p/HIF-1 α axis[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 657-667
- [31] Xu YD, Shang J, Li M, et al. LncRNA DANCER accelerates the development of multidrug resistance of gastric cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(7): 2794-2802
- [32] Yu M, Chen S, Hong W, et al. Prognostic role of glycolysis for cancer outcome: evidence from 86 studies[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2019, 145(4): 967-999
- [33] Liu R, Deng X, Peng Y, et al. Synthesis and biological evaluation of novel 5,6,7-trimethoxy flavonoid salicylate derivatives as potential anti-tumor agents[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 96(8): e103652
- [34] 侯立朝, 黄亚运, 路越晴, 等. HIF-1 α 基因沉默对人肝癌 SMMC-7721 细胞 VEGF 和 MMP-2 基因表达的影响[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2017, 24(10): 44-50