

siRNA 特异性沉默 HIF-1 α 对缺氧培养的 OCM-1 细胞中 Vimentin 表达的影响

赵娟, 周占宇, 王爽, 苑伏香, 卢发艳

作者单位: (266003) 中国山东省青岛市, 青岛大学附属医院眼科
作者简介: 赵娟, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 玻璃体视网膜膜疾病。

通讯作者: 周占宇, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 玻璃体视网膜膜疾病。zhouzhanyu1125@163.com

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2014-01-26

Effect of specific silencing HIF-1 α on expression of Vimentin in OCM-1 cells under hypoxia

Juan Zhao, Zhan-Yu Zhou, Shuang Wang, Fu-Xiang Yuan, Fa-Yan Lu

Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Zhan-Yu Zhou. Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China. zhouzhanyu1125@163.com

Received: 2013-09-26 Accepted: 2014-01-26

Abstract

• AIM: To investigate the effect of specific silencing hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF-1 α) by small interference RNA (siRNA) on expression of vimentin in human uveal melanoma cell lines (OCM-1) under hypoxia, in order to discuss the role of HIF-1 α on epithelial-mesenchymal transition (EMT) in uveal melanoma.

• METHODS: OCM-1 cells were cultured under normoxia and hypoxia *in vitro*. We added chemical hypoxia inducer cobalt chloride (CoCl₂) into nutrient medium at the concentration of 100 μ mol/L to simulate hypoxia microenvironment inside tumor to culture cells of hypoxic group. And hypoxic group cells were divided into five groups: simple hypoxic group, interference group, positive control group, negative control group and liposome group. SiRNA (including HIF-1 α -siRNA, β -actin-siRNA and negative control) were designed and synthesized *in vitro*. Lipofectamine™ 2000 was taken to transfect siRNA into OCM-1 cells under hypoxia. RT-PCR and Western blot were used to check the expression status of HIF-1 α and vimentin on mRNA and protein levels before and after hypoxia culture and cell transfection.

• RESULTS: Compared with normoxia group, there was no obvious change on the expression level of mRNA of HIF-1 α in simple hypoxia group ($P > 0.05$), while the

expression level of its protein increased obviously ($P < 0.01$); both mRNA and protein levels of vimentin were up-regulated ($P < 0.01$). Compared with other hypoxic groups, the expression level of mRNA of β -actin was down-regulated in positive control group ($P < 0.01$), which indicated that our operation of cell transfection was successful. In interference group, the expression of HIF-1 α and vimentin were down-regulated obviously both on mRNA and protein levels ($P < 0.01$). There was no significant difference in the expression of HIF-1 α and vimentin in negative control group and liposome group ($P > 0.05$).

• CONCLUSION: Hypoxia can up-regulate the expression of HIF-1 α on protein level in OCM-1 cells, and activate the transcription of vimentin as the downstream gene of HIF-1 α , up-regulate the expression of vimentin both on mRNA and protein levels. This hints that HIF-1 α can regulate the EMT in uveal melanoma and plays an important role in the process of tumor invasion and metastasis. We successfully down-regulate the expression of HIF-1 α and vimentin by transfecting OCM-1 with HIF-1 α -siRNA. This suggests that suppression the expression of HIF-1 α at the molecular level maybe can shut down the process of tumor invasion and metastasis and offer new directions for cancer treatment.

• KEYWORDS: uveal melanoma; hypoxia-inducible factor-1 alpha; Vimentin; epithelial-mesenchymal transition; RNA interference

Citation: Zhao J, Zhou ZY, Wang S, *et al.* Effect of specific silencing HIF-1 α on expression of Vimentin in OCM-1 cells under hypoxia. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(3):411-415

摘要

目的: 研究小干扰 RNA (siRNA) 特异性沉默缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 对缺氧状态下人眼葡萄膜黑色素瘤 OCM-1 细胞中波形蛋白 (Vimentin) 表达的影响, 初步探讨 HIF-1 α 对葡萄膜黑色素瘤上皮-间质转化 (EMT) 的调控作用。

方法: 体外常氧培养及缺氧培养 OCM-1 细胞。其中, 缺氧培养是通过在培养基中加入浓度为 100 μ mol/L 的氯化钴 (CoCl₂) 模拟肿瘤内部缺氧微环境, 并将缺氧培养细胞分为单纯缺氧组、HIF-1 α 干扰组、 β -actin 阳性对照组、无义寡核苷酸阴性对照组及空载脂质体对照组。体外设计合成 siRNA (包括 HIF-1 α -siRNA、 β -actin-siRNA 及阴性对照), 以 Lipofectamine™ 2000 为载体介导 siRNA 转染缺氧培养的 OCM-1 细胞, 以 RT-PCR 和 Western blot 检测缺氧培养前后及转染前后 HIF-1 α 、Vimentin 基因和蛋白的表达。

结果:单纯缺氧组与常氧组相比,HIF-1 α mRNA 表达无明显差异($P>0.05$),蛋白表达显著升高($P<0.01$),而 Vimentin mRNA 和蛋白的表达均显著升高($P<0.01$)。缺氧培养的各组之间相比,阳性对照组 β -actin mRNA 表达下降($P<0.01$),证实转染成功;干扰组 HIF-1 α 、Vimentin mRNA 和蛋白表达均明显下降($P<0.01$),阴性对照组、脂质体对照组各检测因素均无明显差别($P>0.05$)。

结论:缺氧可促使 OCM-1 细胞 HIF-1 α 在蛋白水平表达升高,并可通过转录激活下游靶基因 Vimentin,使其在 mRNA 和蛋白水平表达均升高,提示 HIF-1 α 可能参与调控葡萄膜黑色素的 EMT,进而促进肿瘤侵袭、转移;HIF-1 α -siRNA 转染 OCM-1 细胞可成功下调 HIF-1 α 及 Vimentin 的表达,说明从分子水平抑制 HIF-1 α 的表达,可能抑制肿瘤侵袭、转移,从而为肿瘤治疗提供新方向。

关键词:葡萄膜黑色素瘤;缺氧诱导因子-1 α ;波形蛋白;上皮-间质转化;RNA 干扰

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.03.08

引用:赵娟,周占宇,王爽,等. siRNA 特异性沉默 HIF-1 α 对缺氧培养的 OCM-1 细胞中 Vimentin 表达的影响. 国际眼科杂志 2014;14(3):411-415

0 引言

葡萄膜黑色素瘤(uveal melanoma, UMM)是成人眼内最常见的恶性肿瘤,极易发生浸润和转移,致死率极高^[1]。目前,其侵袭性和转移性成为临床治疗的关键因素。同其他恶性肿瘤一样,低氧微环境作为实体肿瘤的重要特征^[2],是其发展过程中必须经历的环境之一。而缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)作为唯一一个特异性低氧状态下发挥活性的转录因子,在肿瘤细胞的侵袭、转移中发挥重要作用^[3]。波形蛋白(Vimentin)作为上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的标记分子,同时也是 HIF-1 α 的下游靶基因,其表达可受 HIF-1 α 的调控^[4]。在本实验中,我们以小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 特异性沉默 HIF-1 α 基因,观察其对缺氧状态下人 UMM 细胞系(OCM-1)中 Vimentin 表达的影响,初步探讨 HIF-1 α 对葡萄膜黑色素瘤 EMT 的调控作用及对其侵袭、转移的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 OCM-1 细胞株(拜力生物公司);DMEM(Gibco 公司);胰蛋白酶、青-链霉素混合液(Solarbio 公司);胎牛血清(Hyclone 公司);CoCl₂(埃彼化学试剂公司);Lipofectamine™2000 Reagent(Invitrogen 公司);Trizol 总 RNA 提取试剂盒(大连宝生物公司);TaKaRa RT-PCR 两步法试剂盒(TaKaRa 公司);兔抗人 HIF-1 α /Vimentin 多克隆抗体、内参 β -actin 抗体及 HRP 标记的鼠抗兔 IgG 二抗(中山金桥公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒、PMSF、RIPA、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(碧云天生物公司);增强型 HRP-DAB 底物显色试剂盒(天根生化公司);超净工作台、CO₂ 培养箱(Thermo Forma 公司);倒置显微镜(Olympus 公司);紫外分光光度计(BECKMAN 公司);凝胶成像仪(VILBER 公司);PCR 扩增仪(PE 公司);电泳仪、转膜仪(Bio-Rad 公司);其他实验室常备器材及试剂均为优质品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及模型构建 常氧培养的 OCM-1 细胞采用 DMEM 高糖完全培养基(含 10% 胎牛血清、1% 青-链霉素混合液)培养;在完全培养基中加入浓度为 100 μ mol/L 化学缺氧诱导剂 CoCl₂ 来模拟肿瘤内部缺氧微环境,构建肿瘤细胞缺氧培养模型。将培养瓶置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养,每 2~3d 传代一次,保证细胞处于对数生长期。

1.2.2 siRNA 序列及转染分组 HIF-1 α -siRNA 的正义链:5'CGUUGUGAGUGGUAUUAUUDTdT3',反义链:3'TdTT GCAACACUCACCAUAAUAA5',此序列仅与人 HIF-1 α 序列相配,其 RNAi 的靶序列为 CGTTGTGAGTGGTATTATT;同时设立阴性对照无义寡核苷酸 siRNA,其不与任何人基因序列相配;阳性对照采用 β -actin-siRNA,其可以高效沉默 β -actin 基因,为本实验的系统检测指标(siRNA 均由广州锐博生物公司合成)。选择对数生长期细胞按照 5 \times 10⁴ 个/mL 细胞的浓度种板,培养 24h,待细胞密度达 70%~80% 时,利用阳离子脂质体 Lipofectamine™2000 Reagent 为载体将合成的 siRNA 转入细胞内,具体转染步骤按说明书进行。其中常氧组、单纯缺氧组不做转染;缺氧培养细胞中,干扰组:转染 HIF-1 α -siRNA;阴性对照组:转染无义 siRNA,以排除 siRNA 及转染操作对实验的影响;阳性对照组:转染 β -actin siRNA,以证明转染是否成功;空载脂质体对照组:只转入脂质体 Lipo2000,以排除 siRNA 载体对实验的影响。

1.2.3 RT-PCR 检测 mRNA 的表达 转染后 24h,按 Trizol 总 RNA 提取试剂盒的要求提取各组细胞总 RNA。采用紫外分光光度法测定 RNA 样品的浓度和纯度。参照 TaKaRa RT-PCR 两步法试剂盒要求的条件分别对每组提取的总 RNA 行逆转录反应合成 cDNA,每次取 1 μ L 反转录液配成 10 μ L 的 PCR 反应体系,在 PCR 仪上扩增目的基因,程序如下:预变性 94 $^{\circ}$ C 5min;变性 95 $^{\circ}$ C 45s,退火 55 $^{\circ}$ C 45s,延伸 72 $^{\circ}$ C 45s,共 30 个循环;72 $^{\circ}$ C 最终延伸 10min。产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳分离,再于凝胶成像系统上成像、分析。本实验所需 PCR 引物均由上海生工生物工程公司设计合成,序列见表 1。

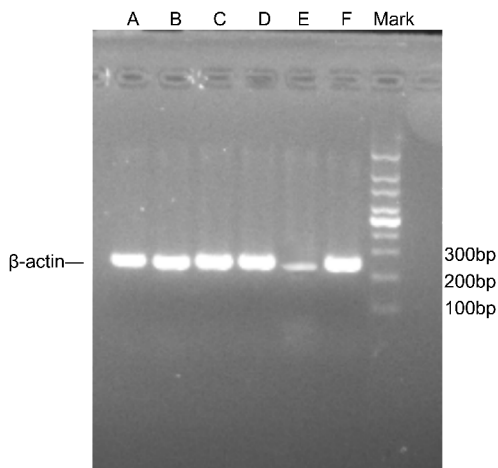
1.2.4 Western-blot 检测蛋白的表达 转染 24h 后,收集各组细胞提取总蛋白,用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度,上样 50 μ g 蛋白行 SDS-PAGE 凝胶电泳,转至 PVDF 膜,PBS 洗膜后用封闭液封闭 1h,然后与一抗(兔抗人 HIF-1 α /Vimentin 多克隆抗体或内参 β -actin 抗体)(1:500)作用,室温孵育 2h,PBS 液洗脱后,与 HRP 标记的鼠抗兔 IgG 二抗(1:1000)结合,室温孵育 2h,洗膜后 ECL 显影、成像。

1.2.5 实验数据获取 应用 Quantity One 图像分析软件对 PCR 及 Western-blot 胶片的各个条带进行光密度分析。重复实验 5 次,取均值后进行统计分析。

统计学分析:采用 SPSS 17.0 统计学软件包对数据进行统计分析,实验数据均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,常氧组与单纯缺氧组比较采用两独立样本 t 检验,缺氧培养的不同处理组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验。 $P<0.05$ 差异有统计学意义, $P<0.01$ 差异有显著统计学意义。

表1 PCR引物

扩增产物	引物序列(5'-3')	产物大小(bp)
HIF-1 α	上游: TGCTGATTTGTGAACCCATT	142
	下游: AGGTGGACCAGCTAACCAAC	
Vimentin	上游: AGCATCTCCTCCTGCAATTT	103
	下游: TGCATTACATTTGTTGTGC	
β -actin	上游: TCCATCATGAAGTGTGACGT	245
	下游: TACTCCTGCTTGCTGATCCAC	

图1 各组 β -actin mRNA的表达量 A:常氧组;B:单纯缺氧组;C:干扰组;D:阴性对照组;E:阳性对照组;F:脂质体对照组。

2 结果

2.1 siRNA 转染 OCM-1 细胞 细胞转染 24h 后,提取各组总 RNA,RT-PCR 检测 β -actin mRNA 的表达(图 1)。转染后各组 β -actin mRNA 均有表达,但阳性对照组较其他缺氧培养组明显减少,差异有明显统计学意义($P < 0.01$)。单纯缺氧组、干扰组、阴性对照组、脂质体对照组组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 2)。说明合成的 β -actin-siRNA 成功转入 OCM-1 细胞中,并抑制了 β -actin 基因的转录;细胞转染及 RT-PCR 操作过程可靠。

2.2 RT-PCR 检测 HIF-1 α 和 Vimentin mRNA 的表达

RT-PCR 检测 HIF-1 α 和 Vimentin mRNA 的表达见图 2,3。与常氧组相比,单纯缺氧组 HIF-1 α mRNA 相对表达量差异无统计学意义($P > 0.05$),Vimentin mRNA 表达上调,差异有显著统计学意义($P < 0.01$,表 3)。干扰组 HIF-1 α 和 Vimentin mRNA 表达量较其他缺氧培养组明显减少,差异均有高度统计学意义($P < 0.01$),单纯缺氧组、阴性对照组、脂质体对照组组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 4)。

2.3 Western-blot 检测 HIF-1 α 和 Vimentin 蛋白的表达

Western-blot 检测 HIF-1 α 和 Vimentin 蛋白的表达见图 4。与常氧组相比,单纯缺氧组 HIF-1 α 和 Vimentin 蛋白相对表达量上调,差异有高度统计学意义($P < 0.01$,表 5)。干扰组 HIF-1 α 和 Vimentin 蛋白表达量较其他缺氧培养组明显减少,差异有显著统计学意义($P < 0.01$),单纯缺氧组、阴性对照组、脂质体对照组组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 6)。

3 讨论

葡萄膜黑色素瘤来源于葡萄膜黑色素细胞,是成人眼内最常见的恶性肿瘤,其发展迅速,转移早而广泛,预后较差^[1]。据统计,原发肿瘤诊断后,10a 内约 40% 患者会发

表2 缺氧培养的各组间 β -actin mRNA 表达量结果比较

组别	均值差	P
B 与 C	16.079	0.911
B 与 D	163.790	0.262
B 与 E	5317.364 *	0.000
B 与 F	2.860	0.984
C 与 D	147.711	0.310
C 与 E	5301.285 *	0.000
C 与 F	-13.218	0.927
D 与 E	5153.574 *	0.000
D 与 F	-160.930	0.270
E 与 F	-5314.503 *	0.000

注:B:单纯缺氧组;C:干扰组;D:阴性对照组;E:阳性对照组;F:脂质体对照组。*:表示 $P < 0.05$,数据差异具有统计学意义。

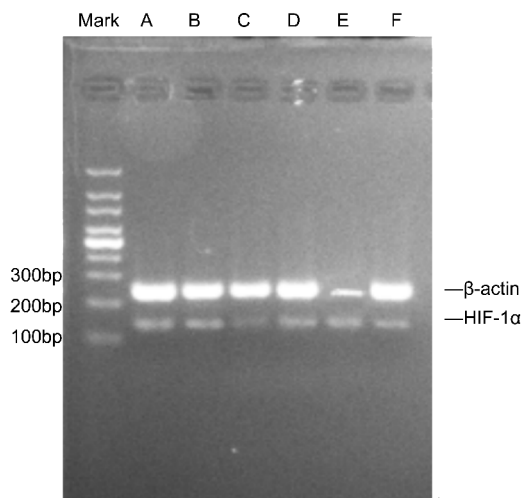
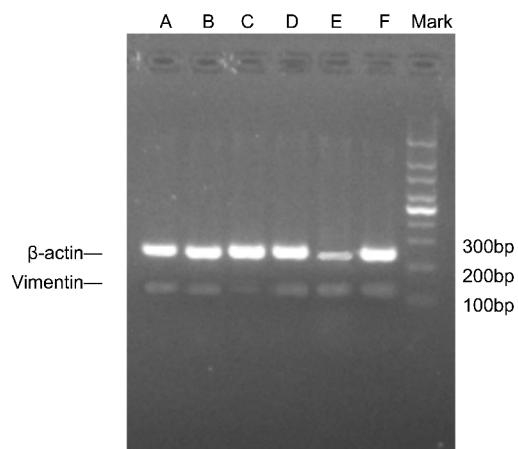
图2 各组 HIF-1 α mRNA 的表达量 A:常氧组;B:单纯缺氧组;C:干扰组;D:阴性对照组;E:阳性对照组;F:脂质体对照组。

图3 各组 Vimentin mRNA 的表达量 A:常氧组;B:单纯缺氧组;C:干扰组;D:阴性对照组;E:阳性对照组;F:脂质体对照组。

表3 常氧组与单纯缺氧组 HIF-1 α 和 Vimentin mRNA 表达量结果比较 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

因子	组别	相对光密度值	t	P
HIF-1 α	A 组	0.697 \pm 0.0048	0.333	>0.05
	B 组	0.696 \pm 0.0045		
Vimentin	A 组	0.654 \pm 0.0022	11.362	<0.01
	B 组	0.676 \pm 0.0035		

注:A:常氧组;B:单纯缺氧组。

表4 缺氧培养的各組间 HIF-1 α 和 Vimentin mRNA 表达量结果比较

组别	HIF-1 α		Vimentin	
	均值差	P	均值差	P
B与C	0.0655*	0.000	0.0309*	0.000
B与D	0.0008	0.819	0.0001	0.941
B与F	-0.0035	0.346	-0.0025	0.138
C与D	-0.0647*	0.000	-0.0308*	0.000
C与F	-0.0690*	0.000	-0.0334*	0.000
D与F	-0.0043	0.245	-0.0026	0.121

注: B:单纯缺氧组; C:干扰组; D:阴性对照组; F:脂质体对照组。
 *:表示 $P < 0.05$, 数据差异具有统计学意义。

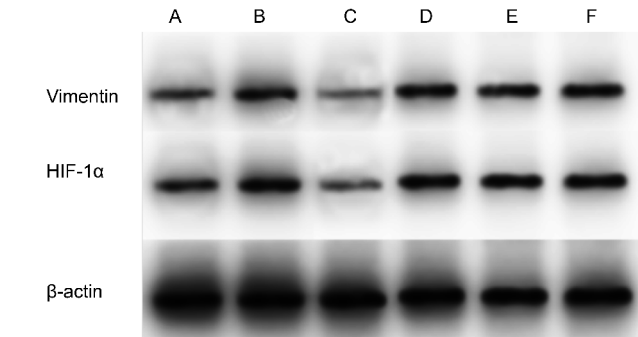


图4 各组目的蛋白 HIF-1 α , Vimentin 和内参蛋白 β -actin 的成像胶片 A:常氧组; B:单纯缺氧组; C:干扰组; D:阴性对照组; E:阳性对照组; F:脂质体对照组。

表5 常氧组与单纯缺氧组 HIF-1 α 和 Vimentin 蛋白表达量结果比较 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

因子	组别	相对光密度值	t	P
HIF-1 α	A组	0.480 \pm 0.0044	46.696	<0.01
	B组	0.630 \pm 0.0057		
Vimentin	A组	0.407 \pm 0.0074	41.178	<0.01
	B组	0.581 \pm 0.0059		

注: A:常氧组; B:单纯缺氧组。

表6 缺氧培养的各組间 HIF-1 α 和 Vimentin 蛋白表达量结果比较

组别	HIF-1 α		Vimentin	
	均值差	P	均值差	P
B与C	0.2914*	0.000	0.2140*	0.000
B与D	-0.0012	0.869	0.0002	0.968
B与F	-0.0060	0.413	0.0012	0.809
C与D	-0.2926*	0.000	-0.2138*	0.000
C与F	0.2974*	0.000	-0.2128*	0.000
D与F	-0.0048	0.511	0.0010	0.840

注: B:单纯缺氧组; C:干扰组; D:阴性对照组; F:脂质体对照组。
 *:表示 $P < 0.05$, 数据差异具有统计学意义。

生肝脏转移,成为脉络膜黑色素瘤患者死亡的最主要原因。

同其他恶性肿瘤一样, UMM 细胞生长迅速使得肿瘤组织需氧量增加、瘤体内部血液供应相对不足形成肿瘤内部缺氧微环境。Mabjeesh 等^[5]研究证实,恶性肿瘤微环境中氧分压显著低于正常组织。本实验中,我们通过在培养基中加入浓度为 100 μ mol/L CoCl₂ 构建肿瘤内部缺氧微环

境模型^[6]。以利用 CoCl₂ 中的钴离子取代氧感受器(血红蛋白卟啉环)中的铁离子,阻断血红蛋白与氧结合,造成细胞用氧障碍模拟低氧。

缺氧作为实体肿瘤的一个重要特征,被认为是肿瘤转移的始动因素,肿瘤细胞对缺氧的适应是肿瘤发展过程中的关键步骤。HIF-1 α 作为介导生理性和病理性低氧反应的关键转录因子,在缺氧环境中可显著表达,与下游百余种靶基因的缺氧反应元件结合,发挥系列细胞适应性调节,促进癌细胞增殖、转移,促进血管新生,使肿瘤细胞耐受放、化疗,抑制凋亡和分化等^[2]。许多学者通过体内、外实验研究证实, HIF-1 α 可在人类多种恶性肿瘤中显著表达^[7],且在肿瘤的发生、发展过程中起到了“中心枢纽”的作用,故以 HIF-1 α 为靶点研究其在肿瘤细胞中的表达及功能,可为肿瘤的早期诊断、治疗及预后提供理论依据。缺氧是 HIF-1 α 的主要调控因素,本实验中,我们发现缺氧培养的 OCM-1 细胞中 HIF-1 α 的蛋白表达量较常氧组显著上调,而 mRNA 的表达无明显差异,提示缺氧诱导 OCM-1 细胞中 HIF-1 α 的表达主要发生在转录后水平。这与李勇坚等^[8]的研究结果一致。

HIF-1 α 高表达于恶性肿瘤及其转移灶,与肿瘤的侵袭、转移密切相关^[3]。Fujiwara 等^[9]用特异性 siRNA 沉默胶质瘤细胞中 HIF-1 α 的表达,发现恶性胶质瘤的增殖、侵袭能力明显被抑制。Victor 等^[10]也报道,特异性沉默 HIF-1 α 可下调其侵袭性相关因子的表达。

诸多研究指出,肿瘤细胞实现其侵袭、转移首先要突破基底膜的限制。而对于上皮源性肿瘤,其上皮表型细胞的刚性骨架蛋白和强大的细胞间作用可抑制肿瘤细胞的侵袭。肿瘤细胞实现其侵袭要求必需完成由上皮表型向间质表型的转变,使具有极性的上皮细胞转化为具有移行能力的间充质细胞。这种生物现象被定义为上皮间质转化,其以上皮标记基因 E-cadherin、keratin 等表达降低同时间质标记基因 Vimentin 表达升高为特点。EMT 参与肿瘤的发展过程^[11],若阻断 Vimentin 的表达可使已产生 EMT 的细胞再次上皮化并减弱肿瘤细胞的侵袭能力。不仅如此,还有研究发现,EMT 能够导致肿瘤细胞凋亡能力减弱、耐放、化疗能力增强,成为肿瘤治疗失败的重要原因^[12]。

然而, Vimentin 作为最常用的间质细胞标记分子,同时是 HIF-1 α 的下游靶基因,其表达受 HIF-1 α 的调控^[4]。Krishnamachary 等^[13]也指出, HIF-1 α 可通过调控 Vimentin 及 keratin 的表达,促进肿瘤细胞表型转换。在本实验中,我们发现常氧培养的 OCM-1 细胞中 HIF-1 α 、Vimentin 的表达均处于低水平; CoCl₂ 缺氧培养后 HIF-1 α 蛋白表达增加,而 Vimentin 在 mRNA 和蛋白表达水平均明显上调,说明缺氧可诱导 OCM-1 细胞中 HIF-1 α 及 Vimentin 的表达,促使肿瘤细胞发生 EMT; siRNA 特异性沉默 HIF-1 α 后, HIF-1 α 及 Vimentin 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著下调,说明 OCM-1 细胞中 Vimentin 的表达及 EMT 的发生受 HIF-1 α 的调控,进一步说明 HIF-1 α 与 UMM 的侵袭、转移相关,可作为临床治疗的一个新靶点。

目前, UMM 的侵袭性和转移性为临床治疗的关键因素, 其治疗方法主要包括眼球摘除、局部肿瘤切除、放射治疗、经瞳孔温热疗法、光动力学疗法、激光光凝等。但无论是手术治疗还是非手术疗法, 其疗效均无法令人满意, 随着生物技术的不断发展, 越来越多的学者致力于研究高效及特异性强的基因靶向治疗。其中, RNAi 技术作为一种可诱使基因零表达的技术得到了飞速发展。我们的研究也证实利用 RNAi 技术诱导 OCM-1 细胞中 HIF-1 α 基因沉默可有效抑制 HIF-1 α 及下游靶基因 Vimentin 的表达, 进而可逆转肿瘤 EMT, 阻断其侵袭、转移, 为使用 RNAi 技术特异性关闭 HIF-1 α 基因表达在临床治疗 UMM 提供理论依据。但我们的研究仅限于体外细胞实验阶段目前还难以应用于临床, 相信随着研究的不断深入, 以 HIF-1 α 为靶点的基因治疗将成为临床治疗 UMM 的重要手段之一。

参考文献

- 1 张敬一, 张学东. 脉络膜黑色素瘤的治疗进展. 国际眼科杂志 2012; 12(7):1292-1294
- 2 Nam SY, Ko YS, Jung J, et al. A hypoxia-dependent upregulation of hypoxia-inducible factor-1 by nuclear factor- κ B promotes gastric tumour growth and angiogenesis. *Br J Cancer* 2011; 104(1):166-174
- 3 Adams JM, Difazio LT, Rolandelli RH, et al. HIF-1: a key mediator in hypoxia. *Acta Physiol Hung* 2009; 96(1):19-28

- 4 Yoo YG, Christensen J, Gu J, et al. HIF-1 α mediates tumor hypoxia to confer a perpetual mesenchymal phenotype for malignant progression. *Sci Signal* 2011; 4(178):pt4
- 5 Mabjeesh NJ, Amir S. Hypoxia-inducible factor (HIF) in human tumorigenesis. *Histol Histopathol* 2007; 22(5):559-572
- 6 Poullos E, Trougakos IP, Gonos ES. Comparative effects of hypoxia on normal and immortalized human diploid fibroblasts. *Anticancer Res* 2006; 26(3A):2165-2168
- 7 Wong C, Wellman TL, Lounsbury KM. VEGF and HIF-1 α expression are increased in advanced stages of epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2003; 91(3):513-517
- 8 李勇坚, 祖旭宇, 张桂英, 等. 缺氧诱导因子-1 α 小干扰 RNA 对 HaCaT 细胞 VEGF 表达的影响. 中华皮肤科杂志 2011; 44(9):654-657
- 9 Fujiwara S, Nakagawa K, Harada H, et al. Silencing hypoxia-inducible factor-1 α inhibits cell migration and invasion under hypoxic environment in malignant gliomas. *Int J Oncol* 2007; 30(4):793-802
- 10 Victor N, Ivy A, Jiang BH, et al. Involvement of HIF-1 in invasion of Mum2B uveal melanoma cells. *Clin Exp Metastasis* 2006; 23(1):87-96
- 11 Thomson S, Petti F, Sujka-Kwok I, et al. A systems view of epithelial-mesenchymal transition signaling states. *Clin Exp Metastasis* 2011; 28(2):137-155
- 12 Raimondi C, Gianni W, Cortesi E, et al. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: revisiting minimal residual disease. *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10(5):496-508
- 13 Krishnamachary B, Berg-Dixon S, Kelly B, et al. Regulation of colon carcinoma cell invasion by hypoxia-inducible factor 1. *Cancer Res* 2003; 63(5):1138-1143