

DOI:10.13267/j.cnki.syzlzz.2022.075

· 基础研究 ·

Pokemon 在缺氧微环境中对肝细胞癌血管形成的作用

张玉琴, 陈章兴, 戴益琛, 朱小三, 詹晓娟, 傅育卡, 吴婧

厦门大学附属成功医院消化内科, 福建 厦门 361003

通信作者: 陈章兴, E-mail: chenxz2019@126.com

摘要: **目的** 探讨在缺氧微环境下 Pokemon 对肝细胞癌血管形成的影响。**方法** 选取肝细胞癌细胞株 HepG2 和 Huh7, 采用短发夹 RNA 稳定转染并筛选稳定沉默 Pokemon 基因表达的肝细胞癌细胞株。通过 RT-PCR 验证沉默 Pokemon 之后血管形成相关基因的表达。在缺氧条件下通过 Western blot 法验证 Pokemon 基因沉默后缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 表达的影响。**结果** 成功构建 Pokemon 干扰质粒。HepG2 和 Huh7 细胞在 Pokemon 基因沉默后, 血管形成相关基因促血管生成素 2 (angiopoietin-2, ANG2)、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA) 以及血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2) 的 mRNA 表达均受到抑制 (均 $P<0.05$)。在缺氧条件下, HepG2 和 Huh7 细胞在 Pokemon 基因沉默后 HIF-1 α 蛋白表达均下调 (均 $P<0.05$)。将 HIF-1 α 质粒瞬转至 HeLa 细胞 36 h 后, 通过 Western blot 检测发现 HIF-1 α 的表达增加 ($P<0.05$), 而 Pokemon 的表达变化差异没有统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** 在缺氧微环境下 Pokemon 上调 HIF-1 α 表达促进肝细胞癌血管形成, 促进肝细胞癌的发生及发展。

关键词: 肝细胞癌; Pokemon; 血管形成; 缺氧

Effect of Pokemon on angiogenesis of hepatocellular carcinoma under hypoxia microenvironment

Zhang Yuqin, Chen Zhangxing, Dai Yichen, Zhu Xiaosan, Zhan Xiaojuan, Fu Yuka, Wu Jing

Department of Gastroenterology, Chenggong Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, China

Corresponding to: Chen Zhangxing, E-mail: chenxz2019@126.com

Abstract: Objective To investigate the effect of Pokemon on the angiogenesis of hepatocellular carcinoma cells under hypoxia micro-environment. **Methods** Hepatocellular carcinoma HepG2 and Huh7 cell lines were stably transfected with short hairpin RNA to establish Pokemon-silenced hepatocellular carcinoma cell lines. The expressions of angiogenesis-related genes were confirmed by RT-PCR after Pokemon silencing. The effect of Pokemon silencing on hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) expression was tested by Western blot under hypoxia condition. **Results** A plasmid encoding a short interfering RNA (siRNA) targeting Pokemon was constructed. Silencing of Pokemon inhibited angiogenesis related mRNA expressions in HepG2 and Huh7 cell lines, including mRNA of angiopoietin-2 (ANG2), vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2; all $P<0.05$). Under hypoxia condition, the HIF-1 α expression was down-regulated in HepG2 and Huh7 cells after Pokemon silencing (both $P<0.05$). When a plasmid encoding siRNA targeting HIF-1 α was transitioned into HeLa cells 36 h later, the expression of HIF-1 α protein was increased ($P<0.05$), but the expression of Pokemon protein was unchanged ($P>0.05$). **Conclusions** The up-regulation of HIF-1 α expression by Pokemon in hypoxic microenvironment promotes the angiogenesis of hepatocellular carcinoma cells and leads to the occurrence and development of hepatocellular carcinoma.

Key words: hepatocellular carcinoma; pokemon; angiogenesis; hypoxia

肝细胞癌是全世界常见的六大恶性肿瘤之一, 病死率排第 4 位^[1]。肝细胞癌发生和发展

与肿瘤细胞增殖和凋亡密切相关。目前已有研究证实, 鼠双微体 2 (murine double minute 2,

基金项目: 厦门市医疗卫生科技计划项目 (3502Z20184067)

<https://www.academax.com/doi/10.13267/j.cnki.syzlzz.2022.075>

MDM2)-p53 通路及白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、转化生长因子 α (transforming growth factor α , TGF α)、转录因子 NF- κ B 和裂解刺激因子亚单位 2(cleavage stimulation factor subunit 2, CSTF2) 基因均参与肝癌的发生和发展^[2-4]。除此之外, 肿瘤血管形成在肿瘤发生和发展中扮演重要角色。肝癌是血管增生性肿瘤, 其肿瘤血管丰富^[5-6]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是正常血管形成及肿瘤微血管形成的关键基因, 在多种肿瘤中高表达^[7]。而缺氧微环境是实体肿瘤中的常见现象, 其与肿瘤细胞的血管形成密切相关。缺氧环境下, 缺氧诱导因子 1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)表达增加, 可调控 VEGF 表达影响肿瘤血管形成^[8]。前期研究发现, Pokemon 在肝癌组织中高表达, 经丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(protein kinase B, AKT)/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinase, ERK)信号通路促进肝癌细胞增殖并经死亡受体介导的凋亡途径(Fas-FADD-caspase8 途径)和线粒体途径介导的细胞凋亡通路抑制肝癌细胞的凋亡^[9-10]。然而针对 Pokemon 对肝细胞癌血管形成的作用的相关研究甚少。本研究探讨 Pokemon 在缺氧条件下对肝细胞癌血管形成的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂和仪器设备

人肝细胞癌细胞株 HepG2 购自美国 ATCC。人肝细胞癌细胞株 Huh7 及人宫颈癌细胞株 Hela 购自中国科学院上海细胞库。TRIzol 和一步法 RNA 反转录试剂盒购自美国 Invitrogen 公司。脂质体 2000 转染试剂、胎牛血清、100 $\times$ 双抗、DMEM 和 RPMI-1640 培养液均购自美国 Gibco 公司。荧光定量 PCR 仪(ABI prism7500)和 PCR 仪(Gene Amp2700)均购自美国 Applied Biosystems 公司。蛋白电泳仪和蛋白转移装置均购自美国 Biorad 公司。核酸蛋白检测仪购自德国 Eppendorf 公司。Pokemon 抗体和 GAPDH 抗体购自英国 Abcam 公司。HIF1 α 抗体和 VEGFR 抗体购自美国 CST 公司。

1.2 细胞培养

HepG2 细胞采用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液进行培养。Huh7 细胞采用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液。两者均为贴壁生长型的细

胞。将细胞接种于无菌培养皿内, 并放置于 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂、100% 湿度的细胞培养箱中培养。

1.3 构建细胞培养缺氧微环境

缺氧产气袋 AnaeroPack 及配套 2.5 L 密封容器购自日本三菱公司, 其基本原理是将密闭空间中的氧气完全吸收掉, 然后产生二氧化碳, 开发出完全厌氧培养环境(AneroPack-Anaero, 30 min 反应后氧气浓度降为 0)。将培养皿放入装有厌氧产气袋的密闭容器, 构建缺氧的培养环境, 再放入细胞培养箱中培养。

1.4 实时荧光定量 PCR 检测

实验所用引物由北京华大基因有限公司合成(引物序列见表 1)。采用 SYBR Green I 试剂进行检测; 收获 HepG2 和 Huh7 细胞后, 提取细胞总 RNA, 反转录为 cDNA; 循环参数: 95 $^{\circ}$ C 5 min, 94 $^{\circ}$ C 40 s, 60 $^{\circ}$ C 40 s, 72 $^{\circ}$ C 40 s; 共 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 10 min。

表 1 实验所用引物序列

Table 1 Sequences of primers used in the experiment

基因	引物序列
<i>Pokemon</i>	F: 5'-GGGGACACGACGACGAGAG-3' R: 5'-CGTAGTTGTGGGCAAAGG-3'
<i>HIF-1α</i>	F: 5'-TATGAGCCAGAAGAAGCTTTTAGGC-3' R: 5'-CACCTCTTTTGGCAAGCATCCTG-3'
<i>VEGFA</i>	F: 5'-TTGCCTTGCTGCTCTACCTCCA-3' R: 5'-GATGGCAGTAGCTGCGCTGATA-3'
<i>VEGFR2</i>	F: 5'-GGAACCTCACTATCCGCAGAGT-3' R: 5'-CCAAGTTCCGTCTTTCTGGGC-3'
<i>ANG2</i>	F: 5'-TCCTATGGAGGACATTCGACG-3' R: 5'-CTGCAACACCATCAATGGCGGA-3'
<i>GAPDH</i>	F: 5'-CGACAGTCAGCCGCATCTT-3' R: 5'-CCCCATGGTGTCTGAGCG-3'

注 HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α); VEGFA: 血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A); VEGFR2: 血管内皮生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor 2); ANG2: 促血管生成素 2(angiotensin-2); GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase); F: 上游引物; R: 下游引物

1.5 Western blot 检测

RIPA 裂解液提取细胞总蛋白, Bradford 法检测蛋白浓度, 采用恒压电泳及恒电流转将蛋白转移至 PVDF 膜上, 用 5% 无脂奶粉封闭 PVDF 膜, 孵育一抗(抗体按 1:1 000 稀释于 BSA 液中, 加入抗体水平摇床 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜), 次日用 TBS

(含 0.1%Tween20) 洗涤 PVDF 膜 3 次 (水平摇床, 每次洗膜 10 min); 孵育二抗 (将膜浸泡于按 1:5 000 稀释的二抗中, 室温下水平摇床缓慢摇动孵育 1 h), 用 TBS 洗涤 PVDF 膜 3 次 (水平摇床, 每次洗膜 10 min), 最后使用 ECL 法显影。

1.6 靶向 *Pokemon* 基因干扰质粒构建及验证

运用 RNA 干扰技术 (RNAi), 成功构建靶向 *Pokemon* 基因的 siRNA 重组质粒 psiRNA。psiRNA 上游引物: 5'-CACCAGTAGAATGTGTACGGGATACGTGTGCTGTCCTATCTCGTCACGTTCTGCTTTT-3', 下游引物: 5'-GCATAAAAAGCAGAACGTGTACGAGATACGGACAGCACACGTATCCCGTACACATTCTACT-3'。将干扰质粒 psiRNA 和 PU6 空载质粒分别稳定转染 HepG2 和 Huh7 细胞, 利用嘌呤霉素筛选出稳转细胞株 HepG2 si-*Pokemon*、HepG2-PU6 (对照)、Huh7 si-*Pokemon* 和 Huh7-PU6 (对照), 并在蛋白水平验证 *Pokemon* 的干扰效果。

1.7 构建过表达 HIF-1 α 的 HeLa 细胞

培养 HeLa 细胞密度约占培养板的 80%, 进行转染, 转染前 1 d 细胞换新的培养液; 用 250 μ L 无血清培养液稀释 HIF-1 α 质粒 (0、5、10 和 15 μ g), 轻轻混匀; 用无血清培养液稀释 Lipofectamine[®] 2000 (0、12.5、25 和 37.5 μ L) 至 250 μ L, 轻轻混匀, 室温孵育 5 min; 将质粒稀释液和转染试剂稀释液混匀, 室温孵育 20 min; 将复合物加入培养板中, 放入 37 $^{\circ}$ C CO₂ 培养箱孵育 36 h, 最后用 Western blot 验证。

1.8 统计学分析

采用 Graphpad Prism 软件进行数据分析。组间比较采用 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肝细胞癌细胞 *Pokemon* 的表达及沉默效果验证

HepG2 和 Huh7 细胞中 *Pokemon* 均高表达 (图 1)。采用 RNA 沉默技术构建稳定沉默 *Pokemon* 基因的稳转细胞株 (HepG2 si-*Pokemon* 和 Huh7 si-*Pokemon*)。Western-blot 法显示, HepG2 si-*Pokemon* 和 Huh7 si-*Pokemon* 细胞株中 *Pokemon* 表达受到抑制 (均 $P < 0.05$, 图 1)。

2.2 *Pokemon* 基因沉默抑制肝细胞癌细胞血管形成相关基因的表达

RT-PCR 检测显示, 与 HepG2-PU6 细胞比较, HepG2 si-*Pokemon* 细胞中血管形成相关基因

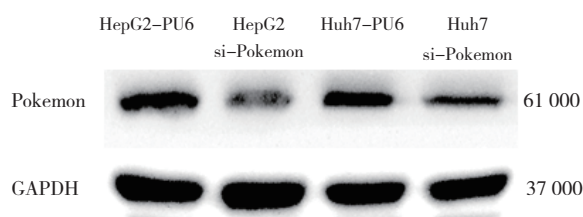


图 1 Western blot 验证稳转肝细胞癌细胞株中 *Pokemon* 的干扰效率

Fig.1 Western blot analysis confirmed siRNA-mediated *Pokemon* silencing in hepatocellular carcinoma cells

(*ANG2*、*VEGFA* 和 *VEGFR2*) 的表达受到抑制, 差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。与 Huh7-PU6 细胞比较, Huh7 si-*Pokemon* 细胞中 *ANG2*、*VEGFA* 和 *VEGFR2* 基因的表达也受到抑制 (均 $P < 0.05$, 图 2)。

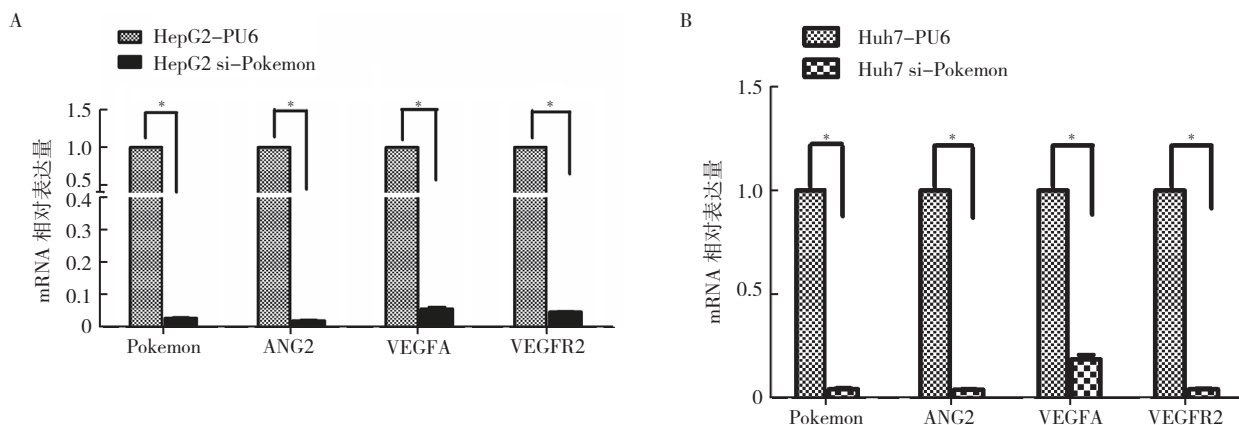
2.3 缺氧条件下肝细胞癌细胞 *Pokemon* 基因沉默抑制 HIF-1 α 表达

Western blot 法检测显示, 缺氧条件下, HepG2 si-*Pokemon* 细胞培养 2、4 和 6 h 后, HIF-1 α 的表达均较 HepG2-PU6 细胞减少 ($P < 0.05$, 图 3)。缺氧条件下, Huh7 si-*Pokemon* 细胞培养 6 h 后, HIF-1 α 的表达较 Huh7-PU6 细胞减少 ($P < 0.05$)。

而在 HeLa 细胞中采用 0、5、10 和 15 μ g HIF-1 α 质粒瞬转 36 h 后, Western blot 检测发现, 随着 HIF-1 α 的表达增加, *Pokemon* 蛋白的表达变化差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 4)。缺氧条件下, 沉默 *Pokemon* 基因可抑制 HIF-1 α 的表达, 而过表达 HIF-1 α 并不能调控 *Pokemon* 的表达。

3 讨论

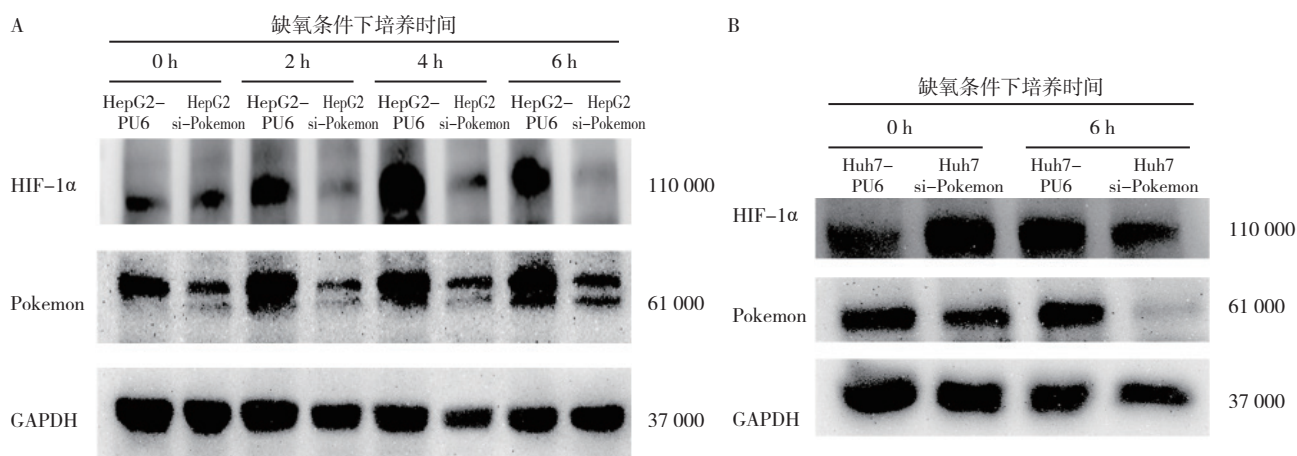
Pokemon 是具有原癌基因活性的转录抑制因子, 是 POZ and Kruppel (POK) 家族中的成员之一, 其包括 C 末端的 Kruppel 型结构域和 N 末端的 POZ/BTB 结构域。N 末端结构域可为蛋白招募联合抑制因子, 从而起到转录抑制作用。*Pokemon* 基因与多种肿瘤如结肠癌、乳腺癌、前列腺癌和甲状腺肿瘤的发生和发展密切相关^[11-14]。研究发现, *Pokemon* 通过多种分子机制促进肿瘤发生和发展: (1) *Pokemon* 可抑制 ARF 的转录活性, 从而激活 MDM2, 进一步抑制下游靶基因 *p53* 的表达, 导致肿瘤发生^[15]; (2) *Pokemon* 可抑制阻滞细胞周期的关键因子 *p21*, 调控细胞周期, 促进肿瘤的发生和发展^[16]; (3) *Pokemon* 促进 NF- κ B 入核及定位,



注 A : HepG2 细胞 *Pokemon* 沉默后血管形成相关基因表达变化 ; B : Huh7 细胞 *Pokemon* 沉默后血管形成相关基因表达变化 ; ANG2 : 促血管生成素 2 (angiopoietin-2) ; VEGFA : 血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A) ; VEGFR2 : 血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2) ; * $P < 0.05$

图 2 RT-PCR 检测沉默 *Pokemon* 的肝细胞癌细胞株 HepG2 和 Huh7 中血管形成相关基因表达的变化

Fig 2 Expressions of angiogenesis related genes in hepatocellular carcinoma HepG2 and Huh7 cells with *Pokemon* silenced detected by RT-PCR



注 A : HepG2-PU6 和 HepG2 si-Pokemon 细胞中 HIF-1 α 和 Pokemon 的蛋白表达 ; B : Huh7-PU6 和 Huh7 si-Pokemon 细胞中 HIF-1 α 和 Pokemon 的蛋白表达 ; HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α) ; GAPDH : 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)

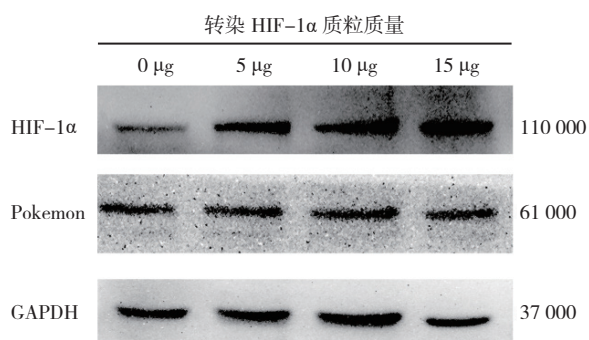
图 3 Western blot 法检测缺氧条件下肝细胞癌细胞 HepG2 si-Pokemon、HepG2-PU6、Huh7 si-Pokemon 和 Huh7-PU6 中 HIF-1 α 和 Pokemon 的蛋白表达

Fig.3 Expression of HIF-1 α and Pokemon in hepatocellular carcinoma cells HepG2 si-Pokemon, HepG2-PU6, Huh7 si-Pokemon, and Huh7-PU6 detected by Western blot under hypoxia condition

并促进 NF- κ B 应答基因 *E-selectin* 的转录活性, 从而导致肿瘤的发生^[17]。而在肝细胞癌中, 目前已有研究证实, 原癌基因 *Pokemon* 可通过促进肝癌细胞的增殖及抑制其凋亡参与肿瘤发生和发展^[9-10]。但是 *Pokemon* 对肿瘤细胞血管形成相关方面的机制研究较少, 而本实验结果显示, *Pokemon* 在肝细胞癌血管形成中起着关键性作用。

肝癌细胞代谢旺盛, 需要依赖肿瘤新生血管来供给营养, 因此肿瘤血管形成在肝癌细胞中增

殖、侵袭和转移中起着至关重要的作用^[18]。促血管生成因子 VEGF 和 VEGFR 在肝细胞癌血管形成中起着关键性的作用^[6, 19]。肿瘤缺氧微环境是固体肿瘤中常见现象, 也常见于肝细胞癌中^[20]。其可诱导 HIF-1 α 的形成。HIF-1 α 作为低氧适应性介导者, 可活化血管形成信号通路的相关基因包括 *VEGF* 和 *VEGFR*^[21]。在肝癌中血管形成相关基因 *ANG2*、*VEGFA* 和 *VEGFR2* 是高表达的^[22-23], 也有临床研究显示, VEGF 与肝癌进展及临床预后差



注 HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α); GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)

图4 Western blot 检测过表达 HIF-1 α 的 HeLa 细胞中 Pokemon 蛋白表达变化

Fig.4 Expression of Pokemon in Hela cells with HIF-1 α overexpression detected by Western blot

高度相关^[21, 24]。本研究显示, 在抑制 *Pokemon* 基因的表达后, 血管形成相关基因的表达均受到抑制, 说明 *Pokemon* 基因与肝癌细胞血管形成正相关。为了研究其调控的相关分子机制, 本研究模拟了肝癌细胞生存的缺氧微环境, 证实了 *Pokemon* 可调控 HIF-1 α 的表达。在肝癌细胞中, *Pokemon* 可能通过上调 HIF-1 α 的表达而促进肝癌细胞的血管形成。

综上所述, *Pokemon* 不仅参与肝癌细胞增殖和凋亡过程。本研究也证实, *Pokemon* 可参与肝癌细胞血管形成。目前肝癌的治疗主要有手术、射频消融、介入靶向和免疫疗法^[25-26], 结合本研究结果, *Pokemon* 基因有望成为肝细胞癌的生物标志物及治疗的有效靶点, 对肝细胞癌的诊断、疗效预测及预后起关键性作用。

参考文献:

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Cao H, Chen XS, Wang ZJ, et al. The role of MDM2-p53 axis dysfunction in the hepatocellular carcinoma transformation[J]. Cell Death Discov, 2020, 6: 53.
- [3] Alqahtani A, Khan Z, Alloghbi A, et al. Hepatocellular carcinoma: molecular mechanisms and targeted therapies[J]. Medicina (Kaunas), 2019, 55(9): E526.
- [4] 王雪, 郭传影, 王侠, 等. 基于 TCGA 数据集分析 CSTF2 基因在肝细胞癌中的表达和临床意义[J]. 实用肿瘤杂

- 志, 2021, 36(6): 550-555.
- [5] Srivastava A, Shukla V, Tiwari D, et al. Targeted therapy of chronic liver diseases with the inhibitors of angiogenesis[J]. Biomedecine Pharmacother, 2018, 105: 256-266.
- [6] Morse MA, Sun WJ, Kim R, et al. The role of angiogenesis in hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(3): 912-920.
- [7] Ceci C, Atzori MG, Lacal PM, et al. Role of VEGFs/VEGFR-1 signaling and its inhibition in modulating tumor invasion: experimental evidence in different metastatic cancer models[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(4): 1388.
- [8] Weinkopf T, Roys H, Bowlin A, et al. Leishmania infection induces macrophage vascular endothelial growth factor A production in an ARNT/HIF-dependent manner[J]. Infect Immun, 2019, 87(11): e00088-e00019.
- [9] Lin CC, Zhou JP, Liu YP, et al. The silencing of Pokemon attenuates the proliferation of hepatocellular carcinoma cells *in vitro* and *in vivo* by inhibiting the PI3K/Akt pathway[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e51916.
- [10] Zhang YQ, Xiao CX, Lin BY, et al. Silencing of Pokemon enhances caspase-dependent apoptosis via fas- and mitochondria-mediated pathways in hepatocellular carcinoma cells[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e68981.
- [11] Wang L, Zhang MX, Zhang MF, et al. ZBTB7A functioned as an oncogene in colorectal cancer[J]. BMC Gastroenterol, 2020, 20(1): 370.
- [12] Chen L, Zhong J, Liu JH, et al. Pokemon inhibits transforming growth factor β -Smad4-related cell proliferation arrest in breast cancer through specificity protein 1[J]. J Breast Cancer, 2019, 22(1): 15-28.
- [13] Jiang FQ, Zheng QF, Chang LP, et al. Pro-oncogene pokemon promotes prostate cancer progression by inducing STRN4 expression[J]. J Cancer, 2019, 10(8): 1833-1845.
- [14] Chang K, Do SI, Kim K, et al. Proto-oncogene Pokemon in thyroid cancer: a potential promoter of tumorigenesis in papillary thyroid carcinoma[J]. J Pathol Transl Med, 2021, 55(5): 317-323.
- [15] Agrawal A, Yang JH, Murphy RF, et al. Regulation of the p14ARF-Mdm2-p53 pathway: an overview in breast cancer[J]. Exp Mol Pathol, 2006, 81(2): 115-122.
- [16] Zhu XS, Dai YC, Chen ZX, et al. Knockdown of Pokemon protein expression inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation by suppression of AKT activity[J]. Oncol Res, 2013, 20(8): 377-381.
- [17] Choi WI, Jeon BN, Yun CO, et al. Proto-oncogene FBI-1 represses transcription of p21CIP1 by inhibition of transcription activation by p53 and Sp1[J]. J Biol Chem,

- 2009, 284(19): 12633–12644.
- [18] Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) – key factor in normal and pathological angiogenesis[J]. Rom J Morphol Embryol, 2018, 59(2): 455–467.
- [19] Choi SB, Han HJ, Kim WB, et al. VEGF overexpression predicts poor survival in hepatocellular carcinoma[J]. Open Med (Wars), 2017, 12: 430–439.
- [20] Xiong XX, Qiu XY, Hu DX, et al. Advances in hypoxia-mediated mechanisms in hepatocellular carcinoma[J]. Mol Pharmacol, 2017, 92(3): 246–255.
- [21] Liu F, Luo LM, Wei YG, et al. Association of VEGFA polymorphisms with susceptibility and clinical outcome of hepatocellular carcinoma in a Chinese Han population[J]. Oncotarget, 2017, 8(10): 16488–16497.
- [22] Zhang L, Wang JN, Tang JM, et al. VEGF is essential for the growth and migration of human hepatocellular carcinoma cells[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(5): 5085–5093.
- [23] Bupathi M, Kaseb A, Janku F. Angiopoietin 2 as a therapeutic target in hepatocellular carcinoma treatment: current perspectives[J]. Onco Targets Ther, 2014, 7: 1927–1932.
- [24] Mao CS, Yin H, Ning HB, et al. Levels of HBx, VEGF, and CEACAM1 in HBV-related hepatocellular carcinoma and their correlation with cancer prognosis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(17): 3827–3833.
- [25] 都亚薇, 张宁宁, 陆伟. 肝癌免疫治疗的研究现状及展望[J]. 实用肿瘤杂志, 2021, 36(5): 393–398.
- [26] 孙瑾瑜, 刘亨晶, 汪泳, 等. ABCB1 与肝细胞癌多药耐药的研究进展[J]. 实用肿瘤杂志, 2020, 35(6): 574–578.
- (收稿日期: 2021–10–29)

读者·作者·编者

《中华急诊医学杂志》征订启事

《中华急诊医学杂志》是中华医学会主办、中国科学技术协会主管的,代表国内急诊医学水平的学术期刊,覆盖全国所有省、自治区和直辖市,并与国际急诊医学界进行交流。《中华急诊医学杂志》设有述评、专家论坛、专家共识、基础研究、临床研究、经验交流、院前急救、学科建设、病例报告和综述等栏目,及时报道我国急诊医学最新进展,内容丰富,信息量大,充分反映了我国急诊医学的特色。

《中华急诊医学杂志》是中国科协精品科技期刊工程入选期刊,多次荣获浙江省优秀期刊一等奖和精品科技期刊奖、中国高校百佳科技期刊和中华医学会优秀期刊等称号。

《中华急诊医学杂志》为月刊,大 16 开,2022 年杂志页码为 116 页,全年订价 360.00 元。全国各邮局订购,邮发代号 32–41。编辑部常年办理邮购。

编辑部地址:浙江省杭州市解放路 88 号,邮编:310009,电话:0571–87783951,传真:0571–87783647
<https://www.cem.org.cn>

《中华急诊医学杂志》编辑部