

# 联合阻断 Stat3 和 HIF-1 $\alpha$ 对低氧条件下喉癌细胞放化疗的增敏作用

孙亚敬<sup>1</sup> 路秀英<sup>1</sup> 李晓明<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:研究信号转导子和转录激活子 3(Stat3)和低氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )对低氧条件下喉癌 Hep-2 细胞放疗及化疗抵抗作用的影响。方法:应用 Western blot 技术检测低氧条件下喉癌 Hep-2 细胞中 p-Stat3 和 HIF-1 $\alpha$  蛋白的表达。MTT 比色法分别检测单独和联合抑制 Stat3 和 HIF-1 $\alpha$  喉癌 Hep-2 细胞放疗及化疗后细胞的增殖情况。结果:①AG490 在体外低氧条件下能够有效抑制 Hep-2 细胞及稳定转染 HIF-1 $\alpha$ shRNA 的 Hep-2(Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>)细胞的生长( $P < 0.05$ );②抑制 Stat3 表达后 HIF-1 $\alpha$  的表达下调( $P < 0.05$ );③联合阻断 HIF-1 $\alpha$  和 Stat3 信号通路后能增强喉癌 Hep-2 细胞对放化疗的敏感性。结论:联合阻断 HIF-1 $\alpha$  和 STAT3 信号通路较单独阻断 HIF-1 $\alpha$  或 STAT3 信号通路能进一步增强喉癌 Hep-2 细胞对放化疗的敏感性。在有效阻断 HIF-1 $\alpha$  直接信号通路的同时封闭 STAT3 旁侧调节通路,有助于进一步提高头颈鳞状细胞癌肿瘤细胞对放化疗的敏感性,并为减少治疗抵抗提供一个新的思路和方法。

**[关键词]** Stat3;低氧诱导因子-1 $\alpha$ ;喉肿瘤;顺铂;放疗

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2015.04.015

**[中图分类号]** R739.65 **[文献标志码]** A

## Combined inhibition of Stat3 and HIF-1 $\alpha$ for enhancement of radio-and chemo-sensitivity in laryngeal squamous cell carcinoma

SUN Yajing LU Xiuying LI Xiaoming

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang, 050082, China)

Corresponding author: LI Xiaoming, E-mail:xmlmo@126.com

**Abstract Objective:** To investigate the influence of signal transducer and activator of transcription 3(Stat3) and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) on the resistance effect of laryngeal squamous cell carcinoma to radiation therapy and chemotherapy under the hypoxia circumstances. **Method:** Western blot was used to test the expression of p-Stat3 and HIF-1 $\alpha$  in the Hep-2 cells under the hypoxia conditions. MTT assay was used to test the proliferation of Hep-2 cells after radiation therapy and chemotherapy; the Hep-2 cells were suppressed expression of Stat3 and/or HIF-1 $\alpha$ . **Result:** ①AG490 induced significant proliferation inhibition on Hep-2 cells and Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup> cells in vitro under the hypoxia environments( $P < 0.05$ ); ② Suppressing expression of Stat3 reduced the expression of HIF-1 $\alpha$  protein( $P < 0.05$ ); ③Combined inhibition of Stat3 and HIF-1 $\alpha$  enhanced radio-and chemo-sensitivity in laryngeal squamous carcinoma cells under hypoxia. **Conclusion:** Combined inhibition of Stat3 and HIF-1 $\alpha$  can further enhance radio-and chemo-sensitivity in laryngeal squamous carcinoma cells under hypoxia compare than inhibiting Stat3 or HIF-1 $\alpha$  alone. Effectively blocking of HIF-1 $\alpha$  pathway and suppressing the expression of Stat3, would be an effective method to enhance radio-and chemo-sensitivity in laryngeal squamous carcinoma cells, which provides a new thought to reduce the resistance to treatment.

**Key words** Stat3;hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ ;laryngeal neoplasms;cisplatin;radiation therapy

肿瘤的低氧环境常表现为氧含量急性或慢性下降,导致肿瘤的恶性行为,如肿瘤进展、侵袭和放疗或化疗抵抗<sup>[1]</sup>。这是通过激活一系列特定的肿瘤转录促进因子完成的,包括 NF $\kappa$ B、CREB、p53、Egr-1、NF-IL6、转录激活子 3(Stat3)和低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)-1<sup>[2-3]</sup>。其中 Stat3 和 HIF-1 可以通过激活 VEGF 基因来应对

PI3K、AKT 和 mTOR 信号通路<sup>[4]</sup>。HIF 是肿瘤细胞与肿瘤微环境低氧状态相互作用的中心和关键调节因子,是消除或减低头颈鳞状细胞癌治疗抵抗的重要靶点。现已明确,HIF 是肿瘤细胞供氧和供能的中心调控因子,也是肿瘤适应低氧环境和诱导相关基因表达并克服低氧这一不利因素的中间环节<sup>[5-6]</sup>。作为 Stat 家族的重要成员,Stat3 对细胞功能具有多方面的影响和调节作用。在 Stat3 的激活过程中,细胞因子或受体和非受体酪氨酸激酶这两

<sup>1</sup>白求恩国际和平医院耳鼻咽喉头颈外科(石家庄,050082)  
通信作者:李晓明,E-mail:xmlmo@126.com

种途径发挥了重要作用。尽管 Stat3 在头颈鳞状细胞癌治疗抵抗中的作用已得到初步证实,但单独阻断 Stat3 信号通路并不能完全消除肿瘤的治疗抵抗。虽然已经初步发现肿瘤细胞内 HIF-1 $\alpha$  与 Stat3 信号通路存在相互联系和交叉,但有关低氧环境下联合阻断两者的信号通路对头颈鳞状细胞癌治疗抵抗的改善作用至今仍不清楚。本文对此进行了初步的研究和探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人喉鳞状细胞癌细胞株 Hep-2 由美国国家癌症研究所提供,白求恩国际和平医院耳鼻咽喉-头颈外科实验室保存。稳定转染 HIF-1 $\alpha$  shRNA 的 Hep-2(Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>)细胞系来源于白求恩国际和平医院耳鼻喉科实验室,该细胞系已经过鉴定。

### 1.2 主要试剂

HIF-1 $\alpha$  单克隆鼠抗来源于 Abcam 公司;p-Stat3 单克隆兔抗来源于美国 CST 公司;HRP 标记山羊抗鼠二抗、HRP 标记山羊抗兔二抗均来源于北京中杉金桥生物技术有限公司;AG490 来源于赛导通生物科技公司;顺铂来源于山东齐鲁制药厂。

### 1.3 低氧浓度设置

本实验的低氧装置为一个密闭较好的密封盒,分为室和盖两部分,在密封盒的两侧分别有控制气体进出的管道,进气道靠近底部,出气道靠近顶部,本次实验低氧条件为 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>、1% O<sub>2</sub>、94% N<sub>2</sub>。进气流量及容器内所需氧分压达标时间由氧化锆氧分析仪测定。箱内氧浓度变化由氧化锆氧分析仪监测,最终由低气流通气 0.8 L/min,维持低氧箱内氧浓度,以保证低氧箱内氧浓度的稳定。

### 1.4 Western blot

对数生长期 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>细胞分别以  $3.5 \times 10^5$  密度铺于六孔板。提取蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。取蛋白上样量为 40  $\mu$ g,样品经过 10% SDS-PAGE 胶电泳后,湿转法将胶上蛋白印迹转至 PVDF 膜上,5%脱脂奈法溶液室温封闭 1 h 后,与 HIF-1 $\alpha$  单克隆鼠抗、p-Stat3 单克隆兔抗、GAPDH 单克隆兔抗(内参照)分别孵育, TBST 洗膜后分别与 HRP 标记山羊抗鼠及山羊抗兔二抗孵育,经 ECL 化学发光后,软件进行半定量分析。

### 1.5 MTT 比色法

用胰酶消化细胞吹打制成单细胞悬液,以合适密度接种于 96 孔板,每组设 5 个复孔,细胞贴壁后给予相应浓度的顺铂处理或相应剂量的放射线照射,低氧培养 24 h,每孔内加入 20  $\mu$ l MTT,4 h 后取出吸净孔内液体,每孔加入 150  $\mu$ l 二甲基亚砷,摇床震荡 10 min,酶标测试仪检测。重复试验 3 次。

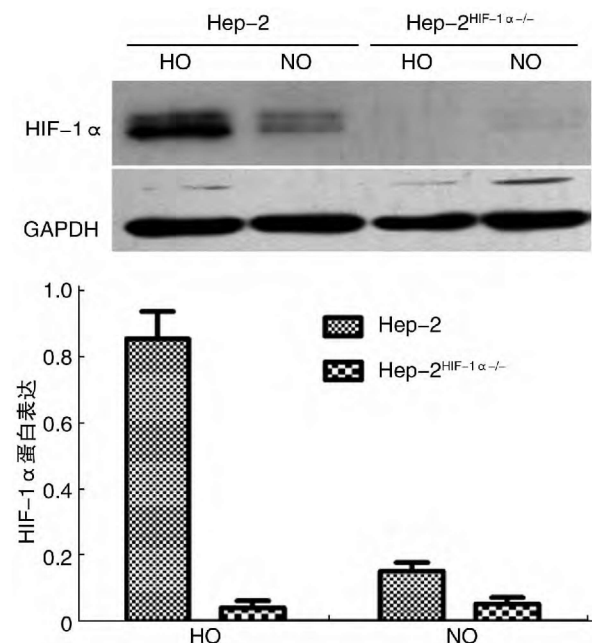
## 1.6 统计学处理

实验所得数据均经 Excel 整理,SPSS 16.0 统计软件分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,统计方法用两均数样本比较的 *t* 检验和随机区组设计资料的方差分析。以上实验均在同等条件下重复 3 次,最终结果取平均值,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>细胞的鉴定

分别于常氧及低氧条件下培养 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>细胞,Western blot 检测 HIF-1 $\alpha$  的表达情况。HIF-1 $\alpha$  在正常的喉癌 Hep-2 细胞中,常氧条件下较弱表达,低氧 24 h 条件下表达较强,而在 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>细胞中低氧与常氧条件下均表达较弱,且与正常喉癌 Hep-2 细胞中的表达水平相比均有统计学意义(图 1)。



HO:低氧培养组,NO:常氧培养组。

图1 Western blot 鉴定 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>细胞

### 2.2 AG490 对 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>细胞的影响

**2.2.1 AG490 对 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>细胞增殖情况的影响** 低氧条件下不同浓度的 AG490 (0  $\mu$ g/ml、30  $\mu$ g/ml、50  $\mu$ g/ml、100  $\mu$ g/ml) 作用 24 h 后 MTT 法检测细胞增殖情况,发现随药物浓度的增加,AG490 对正常喉癌 Hep-2 及 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>细胞的增殖抑制作用越明显,有明显的浓度依赖关系 ( $P < 0.05$ ); Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup>细胞组间的细胞存活率的差异也具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结果见图 2 和表 1。

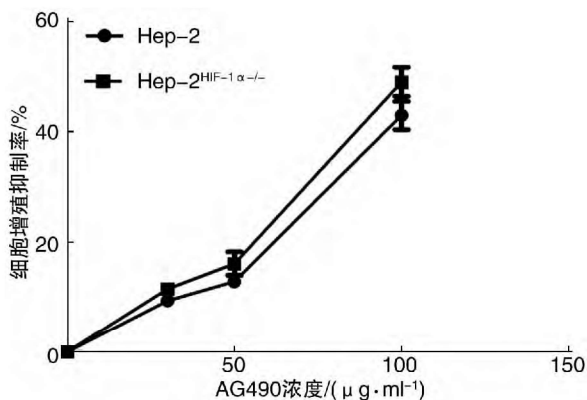


图 2 AG490 对 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞增殖情况的影响

**2.2.2 AG490 对 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞中 HIF-1α 及 p-Stat3 表达的影响** 低氧条件下一定浓度的 AG490 (50 μg/ml) 分别处理 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞, 24 h 后进行 Western blot 检测, 根据实验结果进行两样本均数比较的 *t* 检验, 分析显示无论是在 Hep-2 细胞, 还是在 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞, AG490 在浓度为 50 μg/ml 时均能明显抑制 p-Stat3 的表达, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 在未经 AG490 处理的条件下, 沉默 HIF-1α 对 p-Stat3 表达的影响不大, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。然而 AG490 抑制 p-Stat3 后 HIF-1α 的表达受到影响, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结果如图 3 所示。

**2.3 AG490 联合不同剂量电子线照射对 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞增殖情况的影响**

分别给予 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞不同剂量的电子线照射联合 AG490 (50 μg/ml), 24 h 后进行 MTT 检测, 结果显示, 单独不同剂量的电子线照射均抑制细胞生长, 且随着照射剂量的增加, 对细胞的抑制作用增强。各组每个放射剂量对细胞的抑制作用与对照组比较均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。AG490 + Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 组与其他三组比较对喉癌细胞的抑制作用均增强, 对电子线照射的敏感性明显高于单独放射线照射组、单独 AG490 (50 μg/ml) 处理组及 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞组, 结果详见图 4 和表 2。

**2.4 AG490 与不同剂量顺铂联合作用对 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞增殖情况的影响**

低氧条件下不同浓度的顺铂 (0 μg/ml、0.5 μg/ml、1.0 μg/ml、2.0 μg/ml、5.0 μg/ml) 作用 24 h 后 MTT 法检测细胞增殖状态, 结果发现, 随着浓度的增加, 顺铂对喉癌细胞的增殖抑制作用增强, 说明顺铂在体外低氧条件下能够有效抑制 Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞的生长, 且具有浓度依赖性。随机区组设计资料的方差分析显示: 各

浓度处理组细胞抑制率的总体均数间差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); Hep-2 细胞及 Hep-2<sup>HIF-1α</sup>-/- 细胞组间的细胞抑制率的差异也具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。联合抑制 Stat3 和 HIF-1α 实验组对细胞增殖抑制作用最强 (图 5, 表 3)。

**3 讨论**

近年的研究表明, 作为头颈鳞状细胞癌细胞中的两个重要细胞调节因子, HIF-1α 和 Stat3 细胞内信号通路存在一定的联系和交叉。Stat3 已被证实是 HIF-1α 表达所必须的<sup>[4]</sup>。此外, 有研究表明, 低氧除了诱发 HIF-1α 蛋白表达上调外, 还同

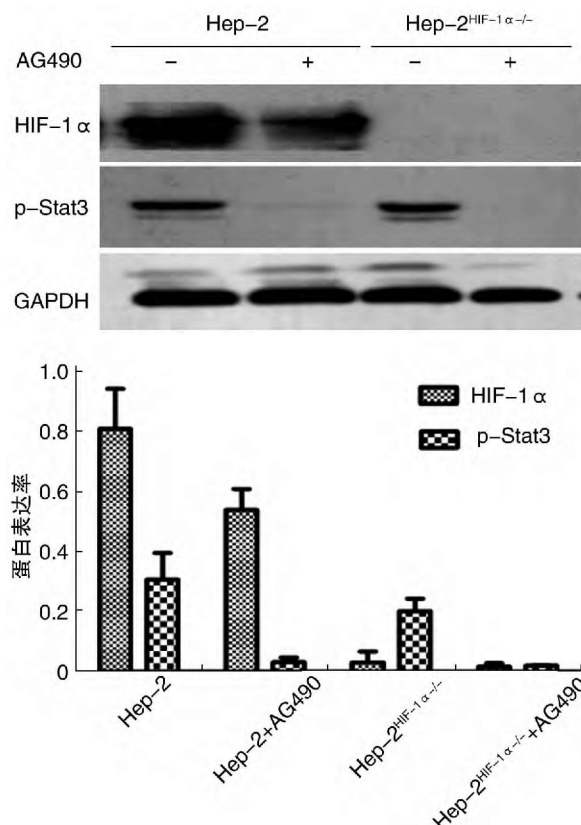


图 3 Western blot 检测 HIF-1α 与 p-Stat3 的表达

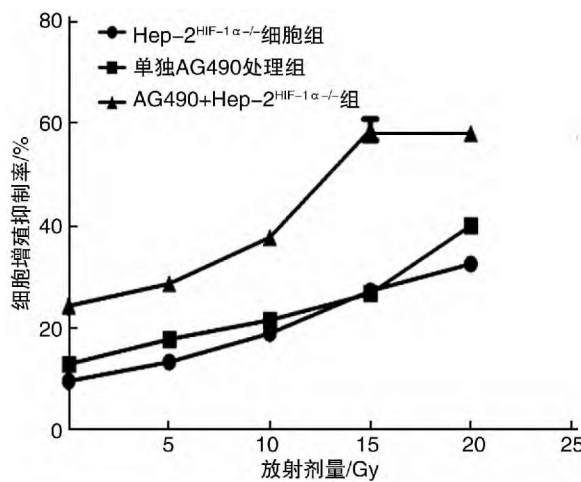


图 4 电子线照射对细胞的生长增殖抑制作用

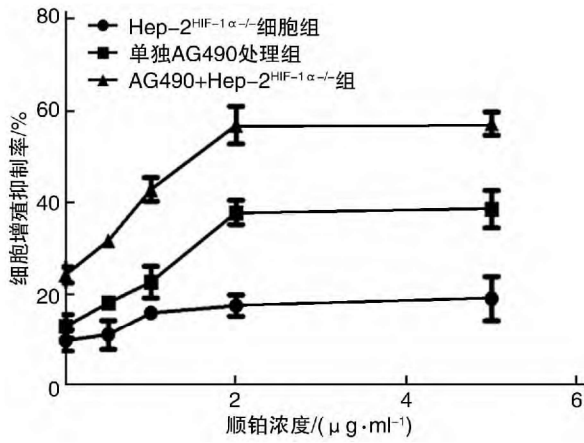


图 5 不同浓度顺铂对细胞的生长增殖抑制作用

时伴有 Stat3 的激活<sup>[3]</sup>。体外实验还证实,低氧时存在头颈鳞状细胞癌细胞 Stat3 通路的激活,其时间早于 HIF-1 $\alpha$  表达增高,通过反义寡核苷酸阻断 Stat3 可以明显下调 HIF-1 $\alpha$  的表达水平并对细胞增殖与凋亡产生影响,说明这一作用可能是通过 Stat3 阻断 HIF-1 $\alpha$  蛋白降解或提高 HIF-1 $\alpha$  的合成来实现的<sup>[7]</sup>。

最新的研究表明,活化的 Stat3 可以与 HIF-1 $\alpha$  蛋白 C 末端的一段结构域相互作用,通过抑制 pVHL 与 HIF-1 $\alpha$  结合,降低了 HIF-1 $\alpha$  泛素化降解,从而稳定和提高了 HIF-1 $\alpha$  的蛋白表达水平<sup>[8]</sup>。另外,Stat3 在受到细胞因子活化后还可以通过 JAK-pStat3 途径直接促进 HIF-1 $\alpha$  的表达<sup>[9]</sup>,使 HIF-1 $\alpha$  的生物学作用进一步增强。说明在低

氧微环境下,Stat3 除了自身的生物作用外,还是 HIF-1 $\alpha$  的重要调节基因,两者的交互和协同作用可能使肿瘤细胞对治疗的抵抗作用进一步增强。本实验数据也表明,AG490 可以明显抑制 p-Stat3 的表达,Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$</sup> -/- 细胞 p-Stat3 的表达与未转染的 Hep-2 细胞中的表达并无明显差异,而 AG490 处理后的 Hep-2 细胞中 HIF-1 $\alpha$  的表达与对照 Hep-2 细胞中的表达有差异。所以,低氧微环境对肿瘤细胞的调控和影响是多层次和多方面的,HIF-1 $\alpha$  和 Stat3 的交互与协同作用使得单独阻断其中的任何一条信号转导通路都不可能完全和十分有效地消除低氧微环境诱发的头颈鳞状细胞癌对放化疗的抵抗作用,通过有效手段如活体转基因或者蛋白特异性抑制剂阻断或封闭 HIF-1 $\alpha$  和 Stat3 的信号通路可以达到对放化疗的增敏作用。

我们在以往的研究中发现<sup>[10-11]</sup>,HIF-1 $\alpha$  在人喉鳞状细胞癌组织细胞中的表达明显升高,并与肿瘤的血管生成、颈淋巴结转移和预后有明显关系;体外实验研究发现,低氧可以明显增加头颈鳞状细胞癌 Hep-2 细胞 HIF-1 $\alpha$  蛋白的表达,而不影响其 mRNA 的表达水平,证明低氧对 Hep-2 细胞 HIF-1 $\alpha$  的调节是在转录后翻译水平发生的;而 HIF-1 $\alpha$  和 Stat3 的复杂的相互关系还需要进一步的研究与探讨。低氧造成的 HIF-1 $\alpha$  过度表达可以使肿瘤细胞发生 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期阻滞,从而对化疗药物产生抵抗;低氧引起的 HIF-1 $\alpha$  表达上调可以使肿瘤细胞内 VEGF 和 p53 蛋白水平升高,通过调节肿瘤微血管形成和细胞凋亡导致肿瘤对放疗产

表 1 不同浓度 AG490 对细胞的生长抑制作用

OD 值,  $\bar{x} \pm s$

组别	0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	30 $\mu\text{g}/\text{ml}$	50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	100 $\mu\text{g}/\text{ml}$
Hep-2	0.898 $\pm$ 0.035	0.814 $\pm$ 0.029	0.783 $\pm$ 0.022	0.501 $\pm$ 0.019
Hep-2 <sup>HIF-1<math>\alpha</math></sup> -/-	0.812 $\pm$ 0.027	0.718 $\pm$ 0.031	0.681 $\pm$ 0.025	0.413 $\pm$ 0.014

表 2 不同剂量电子线照射对细胞的生长抑制作用

OD 值,  $\bar{x} \pm s$

组别	0 Gy	5 Gy	10 Gy	15 Gy	20 Gy
单独放射线照射组	0.834 $\pm$ 0.053	0.723 $\pm$ 0.022	0.665 $\pm$ 0.040	0.621 $\pm$ 0.034	0.418 $\pm$ 0.025
Hep-2 <sup>HIF-1<math>\alpha</math></sup> -/- 细胞组	0.754 $\pm$ 0.040	0.627 $\pm$ 0.039	0.539 $\pm$ 0.022	0.452 $\pm$ 0.013	0.282 $\pm$ 0.035
单独 AG490 处理组	0.726 $\pm$ 0.051	0.594 $\pm$ 0.008	0.522 $\pm$ 0.016	0.455 $\pm$ 0.034	0.251 $\pm$ 0.028
AG490+Hep-2 <sup>HIF-1<math>\alpha</math></sup> -/- 组	0.631 $\pm$ 0.021	0.516 $\pm$ 0.035	0.414 $\pm$ 0.024	0.256 $\pm$ 0.023	0.175 $\pm$ 0.016

表 3 不同浓度顺铂对细胞的生长抑制作用

OD 值,  $\bar{x} \pm s$

组别	0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$
单独放射线照射组	0.948 $\pm$ 0.105	0.712 $\pm$ 0.043	0.647 $\pm$ 0.052	0.528 $\pm$ 0.023	0.371 $\pm$ 0.025
Hep-2 <sup>HIF-1<math>\alpha</math></sup> -/- 细胞组	0.856 $\pm$ 0.046	0.634 $\pm$ 0.087	0.544 $\pm$ 0.025	0.435 $\pm$ 0.031	0.301 $\pm$ 0.051
单独 AG490 处理组	0.826 $\pm$ 0.039	0.583 $\pm$ 0.052	0.501 $\pm$ 0.029	0.339 $\pm$ 0.026	0.228 $\pm$ 0.019
AG490+Hep-2 <sup>HIF-1<math>\alpha</math></sup> -/- 组	0.719 $\pm$ 0.030	0.487 $\pm$ 0.034	0.335 $\pm$ 0.057	0.228 $\pm$ 0.041	0.159 $\pm$ 0.011

生抵抗<sup>[12]</sup>；通过 HIF-1 $\alpha$  反义寡核苷酸转染可以明显抑制低氧引起的 HIF-1 $\alpha$  表达增高，明显减少 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 细胞阻滞，改变其下游调节蛋白的表达水平，对细胞增殖和凋亡产生明显影响，使得肿瘤细胞对放化疗的敏感性明显增加。这些结果表明，肿瘤微环境低氧是导致头颈鳞状细胞癌治疗抵抗的重要原因。本实验应用稳定转染 HIF-1 $\alpha$  shRNA 来阻断 Hep-2 细胞的 HIF-1 $\alpha$  通路。实验发现，阻断 HIF-1 $\alpha$  表达可以在一定程度上改善头颈鳞状细胞癌对放化疗的敏感性，但单纯阻断 HIF-1 $\alpha$  自身的激活通路并不能完全消除肿瘤的治疗抵抗。分析其最可能的原因是，在肿瘤微环境低氧状态下，除了低氧因素本身的直接作用外，HIF-1 $\alpha$  的表达和作用可能还受肿瘤细胞内同时激活的其他信号通路的调节和影响<sup>[13]</sup>。在与 HIF-1 $\alpha$  信号通路相关联的细胞因子中，最为重要和值得深入研究的就是 Stat3 信号途径。

作为 Stat 家族的重要成员，Stat3 对细胞功能具有多方面的影响和调节作用。在 Stat3 的激活过程中，细胞因子或受体和非受体酪氨酸激酶这两种途径发挥了重要作用<sup>[14]</sup>。Stat3 最初作为细胞表面受体向核内转换信号而发现，在 705 位点被酪氨酸磷酸化而激活导致二聚体形成，核内移位，DNA 绑定，并激活基因转录。在正常的生理条件下，Stat3 的激活被严密调控<sup>[15]</sup>。然而，证据表明，Stat3 在肿瘤的生长、转移中发挥着重要作用，它调控着细胞的增生、侵袭、转移和血管生成，这些都对肿瘤的放化疗抵抗有重要影响。

本实验通过 Jak 激酶抑制剂 AG490 来抑制头颈鳞状细胞癌细胞中 Stat3 的表达，可以改善喉癌 Hep-2 细胞的放疗与化疗敏感性。用 AG490 处理 Hep-2<sup>HIF-1 $\alpha$ -/-</sup> 细胞后即同时阻断喉癌 Hep-2 细胞中的 Stat3 和 HIF-1 $\alpha$  信号通路，实验结果显示：联合阻断 Stat3 和 HIF-1 $\alpha$  信号通路相对于单独阻断 Stat3 或 HIF-1 $\alpha$  通路，均增加了 Hep-2 细胞的放疗敏感性及化疗敏感性。而单独阻断 Stat3 与单独阻断 HIF-1 $\alpha$  通路对 Hep-2 细胞的放化疗的抵抗，两组之间没有明显差异。

总之，低氧微环境可以同时诱发头颈鳞状细胞癌细胞内 HIF-1 $\alpha$  和 Stat3 两种重要细胞内信号通路的激活，两者间存在着一定的交互和协同作用，这一作用可能使头颈鳞状细胞癌对放化疗的抵抗作用进一步增强。目前，有关联合阻断 HIF-1 $\alpha$  和 Stat3 信号通路对头颈鳞状细胞癌放化疗敏感性的机制仍不清楚。可以推测，在有效阻断 HIF-1 $\alpha$  直接信号通路的同时封闭 Stat3 旁侧调节通路，将有助于进一步提高头颈鳞状细胞癌肿瘤细胞对放化疗的敏感性，并为减少治疗抵抗提供一个新思路和方法。

## 参考文献

- [1] IKARAR J, MAITY A. Modulating the tumor microenvironment to increase radiation responsiveness [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8: 1994-2001.
- [2] CUMMINS E P, TAYLOR C T. Hypoxia-responsive transcription factors [J]. *Pflugers Arch*, 2005, 450: 363-371.
- [3] JUNG J E, LEE H G, CHO I H, et al. STAT3 is a potential modulator of HIF-1-mediated VEGF expression in human renal carcinoma cells [J]. *FASEB J*, 2005, 19: 1296-1298.
- [4] XU Q, BRIGGS J, PARK S, et al. Targeting Stat3 blocks both HIF-1 and VEGF expression induced by multiple oncogenic growth signaling pathways [J]. *Oncogene*, 2005, 24: 5552-5560.
- [5] POUYSSÉGUR J, DAYAN F, MAZURE N M. Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression [J]. *Nature*, 2006, 441: 437-443.
- [6] SEMENZA G L. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2010, 20: 51-56.
- [7] 路秀英, 李晓明. 低氧条件下喉癌 Hep-2 细胞 Stat3 和 HIF-1 $\alpha$  表达关系的研究 [J]. *中国癌症防治杂志*, 2012, 3(4): 284-287.
- [8] JUNG J E, KIM H S, LEE C S, et al. STAT 3 inhibits the degradation of HIF-1 $\alpha$  by pVHL-mediated ubiquitination [J]. *Exp Mol Med*, 2008, 40: 479-485.
- [9] LI D, ZHOU L, JIN B, et al. Expression and significance of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and survivin in laryngeal carcinoma tissue and cells [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2013, 148: 75-81.
- [10] 李震, 屈永涛, 李晓明, 等. 缺氧诱导因子 1 $\alpha$  反义寡核苷酸对喉鳞状细胞癌的放疗增效作用 [J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2010, 17(11): 586-589.
- [11] 刘春玲, 李晓明, 路秀英, 等. HIF-1 $\alpha$  反义寡核苷酸对喉鳞状细胞癌 Hep-2 细胞放疗的增效作用 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2007, 21(13): 605-608.
- [12] CORZO C A, CONDAMINE T, LU L, et al. HIF-1 $\alpha$  regulates function and differentiation of myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment [J]. *J Exp Med*, 2010, 207: 2439-2453.
- [13] HARADA H, INOUE M, ITASAKA S, et al. Cancer cells that survive radiation therapy acquire HIF-1 activity and translocate towards tumour blood vessels [J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 783-783.
- [14] RAWLINGS J S, ROSLER K M, HARRISON D A. The JAK/STAT signaling pathway [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117: 1281-1283.
- [15] KAMRAN M Z, PATIL P, GUDE R P. Role of STAT3 in cancer metastasis and translational advances [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 421821.

(收稿日期: 2014-09-11)