

低氧条件下 HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 在结肠癌组织及多种细胞系中的表达杨光磊<sup>1</sup>, 胡岩芳<sup>2</sup>, 赵 珊<sup>3</sup>, 葛国庆<sup>1</sup>, 胡延伟<sup>1</sup>, 霍彩娟<sup>1</sup>, 彭林涛<sup>1</sup>

(1. 邢台市人民医院普外科, 河北邢台 054031; 2. 邢台市人民医院神经内科, 河北邢台 054031;

3. 河北医科大学第二医院肿瘤内科, 石家庄 050000)

**[摘要]** **目的** 探讨肿瘤低氧环境对低氧诱导因子 1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )及 P-糖蛋白(P-gp)表达的影响及二者的相关性。**方法** 选取 2013 年 6 月至 2015 年 6 月邢台市人民医院 58 例结肠癌患者手术切除后标本,采用免疫组织化学法检测 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌组织中的表达情况,分析其与患者临床病理特征的关系;采用细胞爬片法检测常氧与低氧条件下 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌细胞株中的表达情况,并分析 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 表达的相关性。**结果** 58 例患者结肠癌组织标本 HIF-1 $\alpha$  蛋白阳性表达率为 58.62%,P-gp 阳性表达率为 46.55%;HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 阳性表达率在 Dukes 分期 C+D 期者均明显高于 A+B 期者,且有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 的表达呈正相关( $r=0.574, P<0.01$ )。同一细胞株中,低氧下 HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 表达水平均高于常氧,差异均有统计学意义( $P<0.01$ );而相同氧环境下不同结肠癌细胞株间 HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 表达水平比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌组织中存在过表达和共表达现象,在不同 Dukes 分期和是否伴随淋巴结转移等因素中二者阳性表达率存在明显差异,且 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 表达呈明显正相关;低氧可诱导结肠癌细胞中 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 蛋白表达水平的升高。

**[关键词]** 低氧诱导因子 1 $\alpha$ ;P 糖蛋白;结肠肿瘤**[中图法分类号]** R735.4**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)19-2659-03**Expressions of HIF-1 $\alpha$  and P-gp in colon carcinoma tissues and cell lines under hypoxic conditions**Yang Guanglei<sup>1</sup>, Hu Yanfang<sup>2</sup>, Zhao Shan<sup>3</sup>, Ge Guoqing<sup>1</sup>, Hu Yanwei<sup>1</sup>, Huo Caijuan<sup>1</sup>, Peng Lintao<sup>1</sup>

(1. Department of General Surgery, Xingtai People's Hospital, Xingtai, Hebei 054031, China;

2. Department of Neurology, Xingtai People's Hospital, Xingtai, Hebei 054031; 3. Department of Oncology,

the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of hypoxic conditions on expressions of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and P-glycoprotein (P-gp), and the relationship between HIF-1 $\alpha$  and P-gp. **Methods** Tumor tissues from 54 cases of patients with colonic neoplasm in Xingtai People's Hospital were selected after operation from June 2013 to June 2015. The expressions of HIF-1 $\alpha$  and P-gp in colonic tumor tissues were detected by using immunohistochemistry, and their correlations to clinical and pathologic features were analysed. The expressions of HIF-1 $\alpha$  and P-gp in colonic tumor cell lines under normoxia and hypoxia conditions were detected by using cell smear method, and correlation between HIF-1 $\alpha$  expression and P-gp expression was analysed. **Results** Among tumor tissues from 58 cases of patients with colonic neoplasm, the positive rate of HIF-1 $\alpha$  expression was 58.62%, and that of P-gp expression was 46.55%. The positive rates of HIF-1 $\alpha$  and P-gp expressions of patients on the Dukes stage C+D were significantly higher than those of patients on A+B phase ( $P<0.05$ ). Additionally, the positive rates of HIF-1 $\alpha$  and P-gp expressions of patients with lymphatic metastasis were significantly higher than those of patients without lymphatic metastasis ( $P<0.05$ ). The HIF-1 $\alpha$  expression was positively correlated with the P-gp expression ( $r=0.574, P<0.01$ ). For the same cell lines, the expression levels of HIF-1 $\alpha$  and P-gp under hypoxia condition were significantly higher than those under normoxia condition, there were statistically significant differences ( $P<0.01$ ). While, under the same oxygen conditions, no statistically significant difference was found in expression levels of HIF-1 and P-gp among different colonic tumor cell lines ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Overexpression and coexpression of HIF-1 $\alpha$  and P-gp exist in colon cancer. The expression levels of HIF-1 $\alpha$  and P-gp in patients with different Dukes stages and patients with or without lymph node metastasis are significantly different, and positive correlation is observed between the expression of HIF-1 $\alpha$  and P-gp. Hypoxia condition can induce an increase in expressions of HIF-1 $\alpha$  and P-gp in colonic tumor cells.

**[Key words]** hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ ; P-glycoprotein; colonic neoplasms

结肠癌是常见的临床恶性肿瘤之一,主要治疗手段有手术治疗、化学治疗及放射治疗等<sup>[1]</sup>。P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)是发现最早、研究最多的药物流出蛋白,其在癌细胞中的作用类似于排出泵,通过把癌细胞中化学治疗药物外排而降低药效<sup>[2-3]</sup>。P-gp 对不同大小多种分子产生作用,其大多为疏水分子,部分存在于细胞膜上。在传统的恶性肿瘤治疗中,P-gp 既能和药物结合,又能和腺苷三磷酸(ATP)相结合,过表达的 P-

gp 蛋白会使肿瘤细胞产生对多种化学治疗药物的耐药现象,导致药物的效应减弱甚至消失。有资料报道,复发和难治的白血病 P-gp 会增加。结肠癌中肿瘤细胞的缺氧现象非常常见,在肿瘤细胞缺氧的条件下,体内氧调节的关键基因低氧诱导因子 1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)起重要作用。HIF-1 在人和哺乳动物细胞内普遍存在,在常养下也会有表达,但合成的 HIF-1 蛋白很快就会被降解,只有在缺氧条件下 HIF-1 才

能够稳定表达。HIF-1 $\alpha$  与肿瘤的生长、浸润、转移等关系密切,且缺氧还可导致肿瘤细胞化疗疗效减低<sup>[4-5]</sup>。HIF-1 $\alpha$  亚基在翻译后就会被降解,因此,在正常氧饱和下不能检测到亚基的表达,但在缺氧情况下,亚基的降解会被抑制。目前,关于 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 相互作用参与结肠癌发生及治疗过程的研究较少。故本研究通过免疫组织化学技术观察结肠癌组织标本中 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 的表达和分布情况,研究 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌组织及细胞系中的表达及相关性,进而探讨肿瘤低氧环境对 HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 表达的影响及二者表达的变化关系,以期发现其在结肠癌发生中的作用。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2013 年 6 月至 2015 年 6 月邢台市人民医院 58 例结肠癌患者手术切除后标本,其中男 30 例,女 28 例;年龄 25~80 岁,平均(54.23 $\pm$ 1.27)岁;左半结肠 30 例,右半结肠 28 例;Dukes 分期:A 期 12 例,B 期 19 例,C 期 18 例,D 期 9 例;分化程度:高分化 9 例,中分化 26 例,低分化 23 例;其中 19 例伴随淋巴结转移。所有患者均确诊为结肠癌,术前均未接受放疗化疗等治疗。HCT-116、HT-29、LoVo、SW480 均为本室保存人结肠癌传代细胞系。本研究通过该院伦理委员会审批。

## 1.2 方法

**1.2.1 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌组织中的表达检测** 免疫组织化学法<sup>[6-7]</sup>:组织标本滴加 3% 过氧化氢,在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 15 min,滴加 1:100 比例稀释的一抗,4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜;然后滴加二氨基联苯胺(DAB)显色液,以阳性显色充分而背景无杂色干扰为标准,显微镜下观察显色。结果判定:每张切片在高倍镜( $\times$ 400)下随机选 5 个观测点,每个观测点计数 200 个细胞,计算显色棕黄色颗粒的阳性细胞百分率,阳性细胞百分率大于或等于 1% 判为阳性片,阳性细胞数百分率小于 1% 判为阴性片。

**1.2.2 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌细胞株中的表达检测** 细胞爬片法<sup>[8-9]</sup>:取生长状态良好的细胞,进行常规培养,1 d 后对照组继续在常氧下培养,实验组更换新鲜培养基后进行低氧处理;滴加 3% 过氧化氢,在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 15 min,滴加 1:100 比例稀释的一抗,4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜;然后滴加 DAB 显色液。结果经图像分析软件 Image-Pro Plus 鉴定,得到蛋白阳性信号平均吸光度(A)值用来比较表达差异。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS20.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,比较采用 *t* 检验;计数资料以例数或百分率表示,比较采用  $\chi^2$  检验;用 Spearman 等级相关进行相关性分析;以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

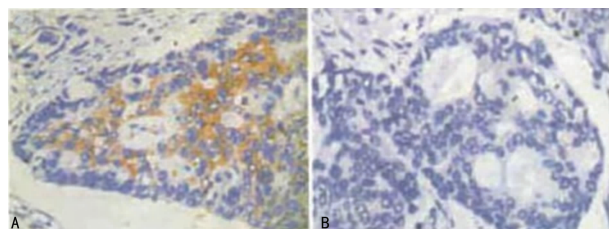
## 2 结果

**2.1 结肠癌组织中 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 表达的免疫组织化学结果** HIF-1 $\alpha$  蛋白主要在结肠癌细胞细胞质及细胞核中表达,见图 1。P-gp 主要在结肠癌细胞细胞质及细胞膜中表达,见图 2。58 份标本中,HIF-1 $\alpha$  蛋白阳性表达率为 58.62%(34/58),P-gp 为 46.55%(27/58),二者阳性表达率在 Dukes 分期 C+D 期者均明显高于 A+B 期者,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );有淋巴结转移者 HIF-1 $\alpha$ 、P-gp 阳性表达率高于无淋巴结转移者,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );二者表达均不受患者年龄、性别、肿瘤分化程度及肿瘤位置的影响( $P > 0.05$ ),见表 1。

**2.3 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌细胞株中表达的免疫细胞化学染色结果** HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌 HCT-116、HT-29、LoVo、SW480 等 4 种细胞株中均有表达。常氧下二者表达都很弱,低氧处理后二者表达明显增强;同一细胞株中,低氧下

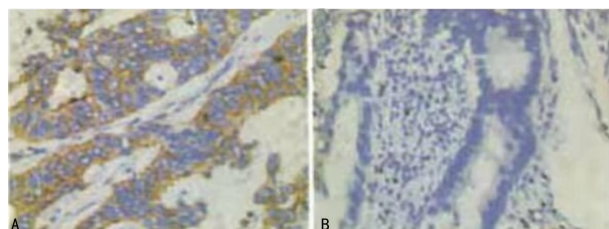
HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 表达水平均高于常氧,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );而相同氧环境下不同结肠癌细胞株间 HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 表达水平比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.2 结肠癌组织中 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 表达的相关性** HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 表达呈正相关( $r = 0.574, P < 0.01$ ),见表 2。



A: 细胞质; B: 细胞核

图 1 HIF-1 $\alpha$  蛋白在结肠癌细胞细胞质及细胞核中的表达



A: 细胞质; B: 细胞膜

图 2 P-gp 在结肠癌细胞细胞质及细胞膜中的表达

表 1 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌组织中的阳性表达及其与临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理特征	n	HIF-1 $\alpha$	P-gp
性别			
男	30	19(63.33)	14(46.67)
女	28	15(53.57)	13(46.43)
年龄(岁)			
<60	25	13(52.00)	10(40.00)
$\geq$ 60	33	21(63.64)	17(51.52)
位置			
左半结肠	30	20(66.67)	14(46.67)
右半结肠	28	14(50.00)	13(46.43)
分化程度			
低分化	23	13(56.52)	10(43.48)
中、高分化	35	21(60.00)	17(48.57)
Dukes 分期			
A+B	31	14(45.16)*	10(32.26)*
C+D	27	20(74.07)	17(62.96)
淋巴结转移			
有	19	15(78.95)#	15(78.95)#
无	39	19(48.72)	12(30.77)

\*:  $P < 0.05$ , 与 Dukes 分期 C+D 期比较; #:  $P < 0.05$ , 与无淋巴结转移比较

表 2 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 表达的相关性分析

HIF-1 $\alpha$	P-gp		合计
	阳性	阴性	
阳性	24	10	34
阴性	3	21	24
合计	27	31	58

表 3 常氧及低氧条件下 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌细胞中的表达 ( $n=58, \bar{x} \pm s$ )

观察指标	不同氧环境	HCT-116	HT-29	LoVo	SW480
HIF-1 $\alpha$	常氧	0.149 8 $\pm$ 0.005 8	0.147 9 $\pm$ 0.003 9	0.153 0 $\pm$ 0.004 8	0.156 8 $\pm$ 0.004 1
	低氧	0.331 9 $\pm$ 0.006 9*	0.331 1 $\pm$ 0.004 8*	0.338 9 $\pm$ 0.010 8*	0.338 1 $\pm$ 0.008 2*
P-gp	常氧	0.122 1 $\pm$ 0.003 9	0.120 3 $\pm$ 0.004 1	0.119 8 $\pm$ 0.002 8	0.124 8 $\pm$ 0.004 8
	低氧	0.286 3 $\pm$ 0.008 1*	0.276 3 $\pm$ 0.006 9*	0.290 6 $\pm$ 0.003 8*	0.290 0 $\pm$ 0.003 5*

\*:  $P < 0.01$ , 与常氧下相同结肠癌细胞比较

### 3 讨 论

结肠癌的发病主要和高脂肪、低膳食纤维饮食相关,其慢性炎症会使肠癌的发生率比一般人群高。而缺氧的结肠癌,会使肿瘤细胞发生改变,不仅自身存活率增加,还会对其他药物产生耐药性,影响结肠癌的治疗效果。HIF-1 在 1992 年被发现广泛存在于哺乳动物和人体细胞中,由 HIF-1 $\alpha$  和 HIF-1 $\beta$  两个亚单元构成<sup>[10]</sup>。HIF-1 $\beta$  主要存在于细胞核和细胞质中,而 HIF-1 $\alpha$  仅在缺氧条件下出现在细胞核中,常氧下则迅速降解,因此 HIF-1 $\alpha$  成为细胞缺氧情况下调控基因表达的主要转录因子之一<sup>[11-12]</sup>。目前来看,相当多的 HIF-1 $\alpha$  抑制药物效果比较弱,只能抑制肿瘤暂时的生长。据报道,用一种小分子抑制剂把前列腺癌细胞中的 HIF-1 $\alpha$  表达阻止后,它对细胞毒性药物的化疗效果提高<sup>[13]</sup>。因此,研究 HIF-1 $\alpha$  对肿瘤细胞的生长、浸润、转移和治疗的意义重大。P-gp 蛋白是一个比较常见的保护细胞免受外来有害分子入侵的分子泵,是一种跨膜糖蛋白,具有能量依赖性“药泵”功能,又能和其他药物有效结合,通过把癌细胞中化学治疗药物外排而降低药效<sup>[13-14]</sup>。本课题通过研究 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌组织及细胞系中的表达及相关性,探讨肿瘤低氧环境对 HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 表达的影响及二者表达的变化关系,以期发现其在结肠癌发生中的作用。

本研究结果显示,HIF-1 $\alpha$  蛋白主要在结肠癌细胞细胞质及细胞核中表达,P-gp 亦主要在结肠癌细胞细胞质及细胞膜中表达。在 58 例患者结肠癌组织标本中,HIF-1 $\alpha$  蛋白阳性表达率为 58.62%,P-gp 为 46.55%,二者阳性表达率在 Dukes 分期 C+D 期者均明显高于 A+B 期者 ( $P < 0.05$ );有淋巴结转移者 HIF-1 $\alpha$ 、P-gp 阳性表达率高于无淋巴结转移者 ( $P < 0.05$ )。表明可能由于 P-gp 的高表达,引起肿瘤化学治疗疗效降低,可导致肿瘤具有较强的浸润与转移能力<sup>[15]</sup>。因此,在临床监测结肠癌进展及转移时,可以把 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 的表达情况作为一个重要指标<sup>[16]</sup>。

为进一步明确 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌中所起到的作用,本研究通过免疫细胞化学染色在常氧及低氧培养条件下检测 4 种结肠癌细胞株中 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 的表达情况,探讨肿瘤低氧环境对 HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 表达的影响及二者表达的变化关系。结果显示:HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌 HCT-116、HT-29、LoVo、SW480 细胞株中均有表达。常氧下二者表达都很弱,低氧处理后二者表达均明显增强。同一细胞株中,低氧下 HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 表达水平均高于常氧 ( $P < 0.01$ );而相同氧环境下,不同结肠癌细胞株间 HIF-1 $\alpha$  及 P-gp 表达水平无明显差异 ( $P > 0.05$ )。说明低氧可以诱导结肠癌细胞株 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 的表达水平上升<sup>[17]</sup>。相关性分析结果显示,HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 表达呈正相关 ( $r=0.574, P < 0.01$ ),说明 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 共同参与了结肠癌的生长、转移,可能存在一定的相互作用关系<sup>[18]</sup>。

综上所述,HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 在结肠癌组织中存在过表达和共表达现象,在不同 Dukes 分期和是否伴随淋巴结转移等因

素中二者阳性表达率有明显差异,且二者表达呈明显正相关;低氧可以诱导结肠癌细胞中 HIF-1 $\alpha$  与 P-gp 蛋白水平表达升高,HIF-1 $\alpha$  可能通过与 P-gp 直接或间接地相互作用而参与结肠癌的发生。

### 参考文献

- [1] Lu Y, Yu LQ, Zhu L, et al. Expression of HIF-1 and P-gp in non-small cell lung cancer and the relationship with HPV infection[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(2): 1455-1459.
- [2] 郭靖, 尚杨杨, 汪荣泉. 结直肠癌及缺氧的结直肠癌细胞中 HIF-1 $\alpha$  与 miRNA-200b 表达的相关性[J]. *第三军医大学学报*, 2016, 13(6): 545-549.
- [3] Goossens-Beumer IJ, Derr RS, Buermans HP, et al. MicroRNA classifier and nomogram for metastasis prediction in colon cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2015, 24(1): 187-197.
- [4] Ohlsson L, Hammarström ML, Lindmark G, et al. Ectopic expression of the chemokine CXCL17 in colon cancer cells [J]. *Br J Cancer*, 2016, 114(6): 697-703.
- [5] Fan R, Hou WJ, Zhao YJ, et al. Overexpression of HPV16 E6/E7 mediated HIF-1 $\alpha$  upregulation of GLUT1 expression in lung cancer cells [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(4): 4655-4663.
- [6] 张宁. AEG-1、 $\beta$ -catenin 和 LEF-1 在人结肠癌组织中的表达及其临床意义[D]. 郑州: 郑州大学, 2015.
- [7] Chen EC, Karl TA, Kalisky T, et al. KIT signaling promotes growth of colon xenograft tumors in mice and is up-regulated in a subset of human colon cancers [J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(3): 705-717.
- [8] 秦珍珠, 王丹, 张玉文. 结肠癌组织中环氧合酶-2 和低氧诱导因子-1 $\alpha$  的表达及其临床意义 [J]. *社区医学杂志*, 2016, 29(10): 731-738.
- [9] Poulin P, Chen YH, Ding X, et al. Prediction of drug distribution in subcutaneous xenografts of human tumor cell lines and healthy tissues in mouse: application of the tissue composition-based model to antineoplastic drugs [J]. *J Pharm Sci*, 2015, 104(4): 1508-1521.
- [10] Ricciardelli C, Lokman NA, Cheruvu S, et al. Transketolase is upregulated in metastatic peritoneal implants and promotes ovarian cancer cell proliferation [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2015, 32(5): 441-455.
- [11] Séhédic D, Cikankowitz A, Hindré F, et al. Nanomedicine to overcome radioresistance in glioblastoma stem-like cells and surviving clones [J]. *Trends* (下转第 2664 页)

挑战<sup>[11]</sup>, 疝囊可能会增加术后血清肿, 完整剥离疝囊技术难度较大而且增加副损伤的概率。另有研究认为, 患者体质量指数(BMI)  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$  增加了学习曲线内 TEP 手术的难度<sup>[13]</sup>; 也有研究显示, 相对于男性而言, 女性行腹腔镜腹股沟疝修补术后有更强的疼痛与不适感<sup>[14]</sup>。本研究未将 BMI 与性别作为研究终点, 但是肥胖及子宫圆韧带的处理可能也是学习曲线内腹腔镜腹股沟疝 TEP 手术的难点。本研究属于回顾性分析, 难免存在术前评估、病例的筛选等选择性偏倚, 正是这种选择性偏倚的存在, 可能从侧面进一步证实严格的手术前评估对学习曲线内规避手术风险的重要性。

综上所述, 腹股沟疝腹腔镜下 TEP 的学习曲线约为 150 例腹腔镜疝修补术经验(包含 16 例 TEP)。TEP 手术随着手术病例数的增多, 可以有效地缩短手术时间, 减少术中出血、降低中转率。经过术前评估与合适的病例筛选, 学习曲线内的 TEP 手术亦可以安全进行。

#### 参考文献

- [1] Bittner R, Montgomery MA, Arregui E, et al. Update of guidelines on laparoscopic(TAPP) and endoscopic(TEP) treatment of inguinal hernia(International Endohernia Society)[J]. *Surg Endosc*, 2015, 29(6):289-321.
- [2] 费显达, 曾玉剑, 孙亮, 等. 全腹膜外与经腹膜腹腔镜腹股沟疝修补术治疗网塞型补片修补术后复发的体会[J]. *重庆医学*, 2016, 45(2):255-256, 264.
- [3] 李健文, 王明刚, 唐健雄, 等. 腹股沟疝腹腔镜手术规范化操作指南[J]. *中国实用外科杂志*, 2013, 33(7):566-570.
- [4] Wei FX, Zhang YC, Han W, et al. Transabdominal preperitoneal(TAPP) versus totally extraperitoneal(TEP) for laparoscopic hernia repair:a meta-analysis[J]. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 2015, 25(5):375-383.
- [5] Gass M, Banz VM, Rosella L, et al. TAPP or TEP? Population-based analysis of prospective data on 4,552 patients undergoing endoscopic inguinal hernia repair[J]. *World J Surg*, 2012, 36(12):2782-2786.
- [6] Schouten N, Simmermacher RK, Van Dalen T, et al. Is

there an end of the "learning curve" of endoscopic totally extraperitoneal (TEP) hernia repair? [J]. *Surg Endosc*, 2013, 27(3):789-794.

- [7] Köckerling F, Bittner R, Kraft B, et al. Does surgeon volume matter in the outcome of endoscopic inguinal hernia repair? [J]. *Surg Endosc*, 2017, 31(2):578-585.
- [8] Aikoye A, Harilingam M, Khushal A. The impact of high surgical volume on outcomes from laparoscopic (totally extra peritoneal) inguinal hernia repair[J]. *J Clin Diagn Res*, 2015, 9(6):PC15-16.
- [9] Bansal VK, Krishna A, Misra MC, et al. Learning curve in laparoscopic inguinal hernia repair: experience at a tertiary care centre[J]. *Indian J Surg*, 2016, 78(3):197-202.
- [10] Böckeler U, Schwarz J, Bittner R, et al. Teaching and training in laparoscopic inguinal hernia repair (TAPP): impact of the learning curve on patient outcome[J]. *Surg Endosc*, 2013, 27(8):2886-2893.
- [11] Schouten N, Elshof JW, Simmermacher RK, et al. Selecting patients during the "learning curve" of endoscopic Totally Extraperitoneal (TEP) hernia repair[J]. *Hernia*, 2013, 17(6):737-743.
- [12] Feng B, He ZR, Li JW, et al. Feasibility of incremental laparoscopic inguinal hernia repair development in China: an 11-year experience[J]. *J Am Coll Surg*, 2013, 216(2):258-265.
- [13] Park BS, Ryu DY, Son GM, et al. Factors influencing on difficulty with laparoscopic total extraperitoneal repair according to learning period[J]. *Ann Surg Treat Res*, 2014, 87(4):203-208.
- [14] Tolver MA, Strandfelt P, Rosenberg J, et al. Female gender is a risk factor for pain, discomfort, and fatigue after laparoscopic groin hernia repair[J]. *Hernia*, 2013, 17(3):321-327.

(收稿日期:2017-02-23 修回日期:2017-04-28)

(上接第 2661 页)

- Pharmacol Sci, 2015, 36(4):236-252.
- [12] Koo GB, Morgan MJ, Lee DG, et al. Methylation-dependent loss of RIP3 expression in cancer represses programmed necrosis in response to chemotherapeutics[J]. *Cell Res*, 2015, 25(6):707-725.
- [13] 毛允义, 江先汉, 杨盛帮, 等. PEDF 下调 HIF-1 $\alpha$  抑制前列腺癌细胞侵袭转移的机制[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(16):2605-2607.
- [14] Zhang W, Shi X, Peng Y, et al. HIF-1 promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis through direct regulation of ZEB1 in colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6):e0129603.
- [15] Kim W, Youn HS, Seong KM, et al. PIM1-activated PRAS40 regulates radioresistance in non-small cell lung cancer cells through interplay with FOXO3a, 14-3-3 and protein phosphatases[J]. *Radiat Res*, 2016, 176(5):539-

552.

- [16] Yeh CC, Hsu CH, Shao YY, et al. Integrated stable isotope labeling by amino acids in cell culture (SILAC) and isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ) quantitative proteomic analysis identifies galectin-1 as a potential biomarker for predicting sorafenib resistance in liver cancer[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14(6):1527-1545.
- [17] Liao MY, Kuo MY, Lu TY, et al. Generation of an anti-EpCAM antibody and epigenetic regulation of EpCAM in colorectal cancer[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(4):1788-1800.
- [18] 石晓明, 吴胜春, 唐雷, 等. 水通道蛋白-5 与多药耐药因子在结肠癌组织中的表达及其关系[J]. *重庆医学*, 2015, 44(5):644-646.

(收稿日期:2017-02-19 修回日期:2017-04-24)