

网络出版时间: 2017-1-20 11:13 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170120.1113.005.html>

ESM-1 在低氧环境下胃腺癌细胞中的表达及意义

陈绍龙 魏翔 王怡 周青 张素梅 汪渊

摘要 目的 研究用二氯化钴(CoCl_2)模拟胃癌细胞缺氧微环境的合适浓度,探讨内皮细胞特异性分子-1(ESM-1)在胃癌 SGC-7901/BGC-823 细胞缺氧环境中的表达情况。方法 以两种人胃腺癌细胞(SGC-7901/BGC-823)为研究对象,分别用不同浓度二氯化钴(CoCl_2)处理人胃腺癌细胞后,用四唑化合物(MTS)法检测 CoCl_2 对 SGC-7901 和 BGC-823 细胞增殖的影响;Western blot 分析不同浓度 CoCl_2 处理的人胃腺癌 SGC-7901 和 BGC-823 细胞中低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)和 ESM-1 表达的变化。结果 ≤ 0.6 mmol/L 浓度的 CoCl_2 对胃癌 SGC-7901 和 BGC-823 细胞的增殖和细胞活力没有明显影响。在 0.5、0.6 mmol/L CoCl_2 浓度时,HIF-1 α 蛋白表达明显增加,但 ESM-1 表达明显下降。结论 0.5、0.6 mmol/L CoCl_2 可以模拟 SGC-7901/BGC-823 细胞的缺氧环境,在 CoCl_2 0.5、0.6 mmol/L 模拟细胞缺氧环境中,ESM-1 的表达量与 HIF-1 α 呈负相关。

关键词 胃癌;缺氧;内皮细胞特异性分子-1;低氧诱导因子中图分类号 R 735.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)01-0023-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.01.005

胃癌在中国是一种高发病率、高死亡率的恶性肿瘤之一,具有早期难诊断、晚期难治疗的特点。肿瘤的最大特点是恶性增殖,其将导致实体瘤的缺氧,以至于引起肿瘤细胞的遗传不稳定性及恶性程度的改变^[1]。内皮细胞特异性分子-1(endothelial cell specific molecule-1, ESM-1)与胃癌的分化程度密切相关^[2],但是低氧微环境是否通过调节胃癌细胞 ESM-1 表达而影响细胞的恶性程度,目前仍然不是很清楚。低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)的稳定高表达反映了细胞处于低氧的

微环境,调控众多与肿瘤进展相关的基因表达^[3]。该研究用不同浓度三氯化钴(CoCl_2)处理 SGC-7901 细胞和 BGC-823 细胞后,检测 HIF-1 α 蛋白的表达以验证是否成功模拟胃癌在体内的缺氧环境,并检测 HIF-1 α 和 ESM-1 蛋白的表达及其相关性,以探讨 ESM-1 蛋白在胃癌细胞缺氧微环境中的表达及意义。

1 材料与方法

1.1 材料 胎牛血清购于杭州四季青生物工程材料有限公司;DMEM 购于美国 Gibco 公司;四唑化合物(MTS)购于美国 Promega 公司;二甲基亚砜(DMSO)购于美国 Sigma 公司;羊抗人 ESM-1 多克隆抗体、小鼠抗人单克隆抗体 HIF-1 α 及 β -actin 均购于美国 Santa Cruz 公司;ECL 发光显色试剂盒、BCA 蛋白质定量试剂盒均购于美国 Pierce 公司; CoCl_2 购于美国 Sigma 公司;二抗:辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠、羊抗兔抗体均购于北京中杉金桥生物技术有限公司;人胃腺癌 SGC-7901 和 BGC-823 细胞均购于美国 ATCC 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞株以及细胞培养 人胃腺癌 SGC-7901 和 BGC-823 细胞按常规置于 37 °C、5% CO_2 的细胞培养箱下,用含 1% 的双抗、10% 的胎牛血清的 DMEM 高糖培养基进行培养,取对数生长期的细胞进行传代培养。

1.2.2 细胞增殖实验 采用 MTS 法,待培养瓶中的 SGC-7901 和 BGC-823 细胞长到 80%~90% 密度时(即取对数生长期细胞),倾去培养液,用无 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的 PBS 洗 3 遍,用 0.25% 胰酶(含 0.53 mmol/L EDTA)1 ml 消化细胞,显微镜下观察待到大部分细胞质回缩变圆,细胞间隙变大后立即加入 DMEM 完全培养基终止消化,用枪吹打下贴壁的细胞后再反复吹打成单个细胞悬液。然后进行细胞计数,加入完全培养基来调整种板的细胞密度,最后均匀种于 96 孔细胞培养板中,每孔加入 200 μl 细胞液,显微镜下观察是否均匀,待贴壁后弃去原液,加入含有 CoCl_2 的培养液,按其浓度分为: CoCl_2 (0.1、0.2、

2016-08-26 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81201907);高校省级优秀青年人才基金项目(编号:2012SQRL067);安徽医科大学博士研究生科研基金(编号:XJ201229)

作者单位:安徽医科大学分子生物学实验室、生物化学与分子生物学教研室、安徽省省部共建教育部重要遗传病基因资源利用重点实验室,合肥 230032

作者简介:陈绍龙,男,硕士研究生;

张素梅,女,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:379236778@qq.com

0.3、0.5、0.6 mmol/L) 组、细胞对照组,每个浓度设置4个复孔,孵育24 h后每孔加入20 μl MTS(5 g/L),37 °C温育4 h后,振荡30 min,于490 nm测定吸光度(optical density,OD)值。根据各组中各孔OD的平均值,按照如下公式计算细胞生长的抑制率:抑制率(%)=(对照组 OD₄₉₀ - 实验组 OD₄₉₀)/对照组 OD₄₉₀ × 100%,分析量效关系。通过软件计算药物的半数抑制浓度(half inhibitory concentration, IC₅₀)值。

1.2.3 Western blot 检测蛋白表达 不同浓度的CoCl₂处理24 h的细胞,分0.1、0.2、0.3、0.5、0.6 mmol/L CoCl₂处理组及细胞对照组,共6组,用PBS洗涤3次,加入蛋白提取缓冲液(Tris-HCl, pH 7.14; 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, 1% Triton, 0.1% SDS, 1 mmol/L PMSF, 5 mg/L Leupeptin) 200 μl/瓶,冰上放置30 min,在冰上用细胞刮刮下细胞,移入1.5 ml EP管,在-80 °C和4 °C冰箱中来回反复冻融3次后,待完全融化用高速冷冻离心机离心30 min(4 °C, 14 000 r/min),离心后取上清液,用BCA蛋白定量试剂盒对不同的细胞裂解产物进行定量,计算出每个样本的总蛋白浓度,调整定量后加入4 × 蛋白上样缓冲液,充分混匀后置于沸水中,煮5 min,冷却至室温后分装。取约25 μg定量后的蛋白进行SDS-PAGE电泳,然后将电泳后的蛋白转移至PVDF膜上。用5%脱脂奶粉/TBST室温封闭2 h,含0.05% Tween-20的TBS洗膜3次(每次10 min)后加用一抗稀释液稀释的一抗,4 °C摇床过夜,然后再用含0.05% Tween-20的TBS洗膜3次(每次10 min)后加入辣根过氧化物酶标记的二抗,用ECL化学发光试剂盒检测,用Image Pro 4.5分析软件测定各条带的灰度值,以β-actin作为内参照,分别以HIF-1α、ESM-1和β-actin进行灰度比值计算作半定量分析。实验重复3次。

1.3 统计学处理 采用SPSS 18.0统计软件进行分析,结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。MTS实验各组均数资料比较采用单因素方差分析,Western blot结果经过Image Pro 4.5分析软件测定各个条带的灰度值,与β-actin灰度值的比值作为各蛋白的相对含量,蛋白相对含量的比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度的CoCl₂对SGC-7901/BGC-823细胞增殖的影响 MTS结果表明,随着CoCl₂浓度的

增高,抑制率有逐渐上升的趋势。0.1、0.2、0.3和0.5 mmol/L的CoCl₂对SGC-7901细胞增殖的抑制率均小于15% ($F = 5.255, P < 0.05$),0.6 mmol/L CoCl₂对SGC-7901细胞增殖的抑制率仅有17.3%;在0.1、0.2、0.3 mmol/L CoCl₂对BGC-823细胞增殖的抑制率都小于15% ($F = 3.767, P < 0.05$),0.5、0.6 mmol/L CoCl₂对BGC-823细胞增殖的抑制率小于31%。见表1、2。

表1 不同浓度的CoCl₂对SGC-7901细胞的抑制率的影响($n = 5, \bar{x} \pm s$)

组别	OD ₄₉₀	抑制率(%)
对照组	2.37 ± 0.18	-
CoCl ₂ (mmol/L)		
0.1	2.32 ± 0.12	1.9
0.2	2.32 ± 0.09	2.2
0.3	2.23 ± 0.20	5.6
0.5	2.14 ± 0.15	9.8
0.6	1.96 ± 0.09*	17.3

与细胞对照组比较: * $P < 0.05$

表2 不同浓度的CoCl₂对BGC-823细胞的抑制率的影响($n = 5, \bar{x} \pm s$)

组别	OD ₄₉₀	抑制率(%)
细胞对照	1.61 ± 0.17	-
CoCl ₂ (mmol/L)		
0.1	1.55 ± 0.11	3.6
0.2	1.36 ± 0.08	15.3
0.3	1.38 ± 0.10	14.2
0.5	1.14 ± 0.17*	29.2
0.6	1.11 ± 0.16*	30.5

与细胞对照组比较: * $P < 0.05$

2.2 不同浓度的CoCl₂对SGC-7901细胞内蛋白HIF-1α、ESM-1表达的影响 在0.1、0.2、0.3 mmol/L浓度下细胞内HIF-1α蛋白随着CoCl₂浓度增加而逐渐增加,但与细胞对照组相比有明显减少,而在0.5、0.6 mmol/L CoCl₂浓度时HIF-1α与细胞对照组相比有明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);而在0.1、0.2、0.3 mmol/L浓度下细胞内ESM-1蛋白的表达则呈上升趋势,但与细胞对照组相比有明显增多,在0.5、0.6 mmol/L CoCl₂浓度时与细胞对照组相比有明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。并且在0.5、0.6 mmol/L CoCl₂浓度时HIF-1α与ESM-1呈明显的负相关。见图1。

2.3 不同浓度的CoCl₂对BGC-823细胞内蛋白HIF-1α、ESM-1表达的影响 在0.1、0.2、0.3 mmol/L浓度下细胞内HIF-1α蛋白随着CoCl₂浓度

增加而逐渐增加,但与细胞对照组相比有明显减少,而在 0.5、0.6 mmol/L CoCl_2 浓度时 HIF-1 α 与细胞对照组相比有明显增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);而在 0.1、0.2、0.3 mmol/L 浓度下细胞内 ESM-1 蛋白的表达随着 CoCl_2 浓度增加而逐渐减少,在 0.5、0.6 mmol/L CoCl_2 浓度时与细胞对照组相比有明显减少,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。并且在 0.5、0.6 mmol/L CoCl_2 浓度时 HIF-1 α 与 ESM-1 呈明显的负相关。见图 2。

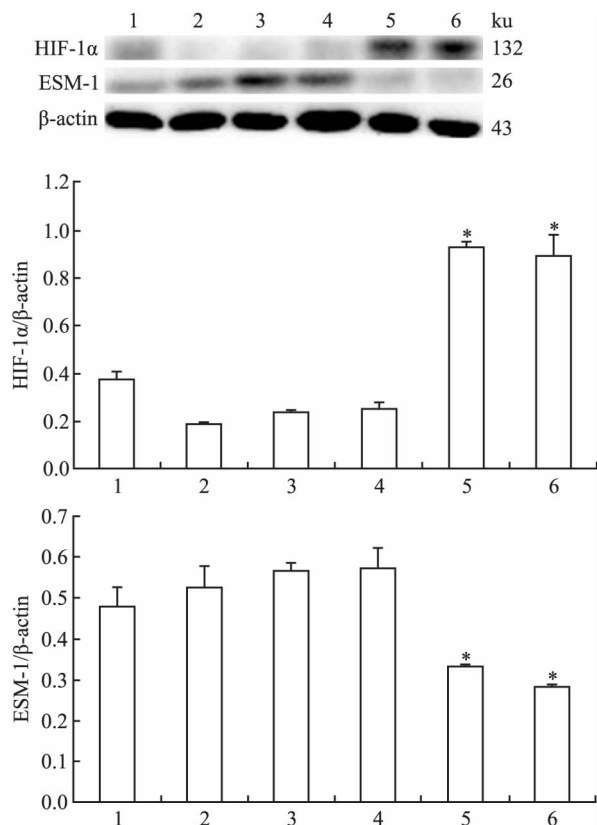


图1 不同浓度的 CoCl_2 对 SGC-7901 细胞内 HIF-1 α 、ESM-1 表达的影响

1:细胞对照组;2: CoCl_2 0.1 mmol/L 组;3: CoCl_2 0.2 mmol/L 组;4: CoCl_2 0.3 mmol/L 组;5: CoCl_2 0.5 mmol/L 组;6: CoCl_2 0.6 mmol/L 组;与细胞对照组比较:* $P < 0.05$

3 讨论

胃癌是一种严重危害人类生命和健康的疾病,也是最常见的恶性肿瘤之一。缺氧是大多数实体肿瘤的固有特征之一,在肿瘤的发生、发展的过程中起着十分重要的作用^[1]。肿瘤的各种生物学性状会因为肿瘤长期处于缺氧的微环境而发生一系列改变。其主要的机制是因为肿瘤血管组织分布紊乱和肿瘤细胞的恶性增殖所导致的结构异常^[4]。为了

更好的模拟胃癌在人体内的真实环境,本研究利用 CoCl_2 作为缺氧模拟剂诱导模拟胃癌细胞系 SGC-7901、BGC-823 缺氧的微环境。在常氧的环境下,细胞内虽然也有 HIF-1 α 的表达,但是脯氨酰羟化酶 (PHD) 会立即被激活,以氧气为底物,羟化 HIF-1 α 的脯氨酸残基,并提供了识别位点以结合肿瘤抑制因子 (the Von Hippel-Lindau tumor suppressor, pVHL) 后泛素化,进一步导致 HIF-1 α 降解。而在缺氧环境下,底物氧气的浓度不足,其抑制了脯氨酰羟化酶对低氧诱导因子 (HIF) 的羟化,使得 HIF-1 α 降解受阻,在胞内不断累计,并由胞质转运至胞核,在胞核内与 HIF-1 β 形成二聚体^[5-6]。因此在 CoCl_2 模拟细胞缺氧环境的实验中^[5],其二价钴离子可通过置换 PHD 的辅助因子 (Fe^{2+}) 从而阻止 HIF-1 α 被羟化,同时又能影响 pVHL 结合 HIF-1 α 氧依赖降解区域 (ODD),可诱导细胞中低氧诱导因子 (hypoxia induced factor, HIF) 及其调控基因的表达,从而达到模拟出缺氧条件下类似的结果。

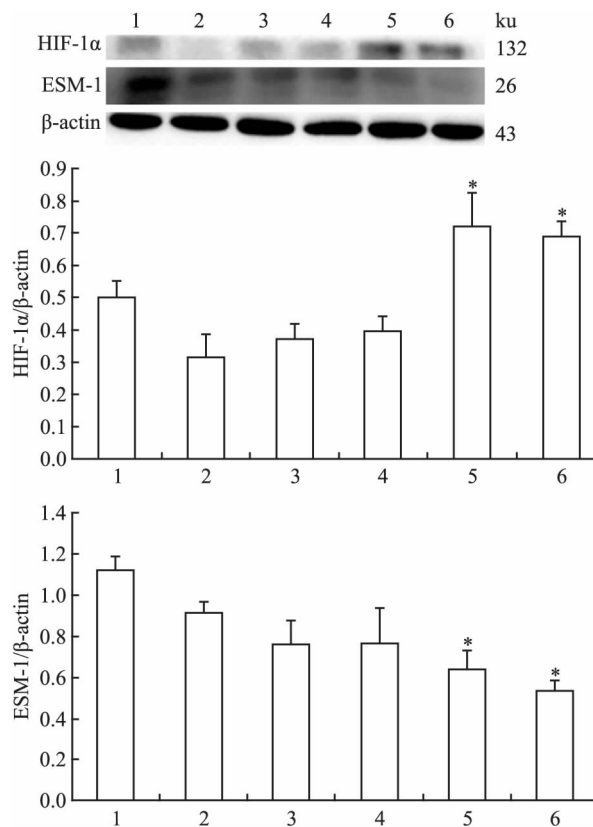


图2 不同浓度的 CoCl_2 对 BGC-823 细胞内 HIF-1 α 、ESM-1 表达的影响

1:细胞对照组;2: CoCl_2 0.1 mmol/L 组;3: CoCl_2 0.2 mmol/L 组;4: CoCl_2 0.3 mmol/L 组;5: CoCl_2 0.5 mmol/L 组;6: CoCl_2 0.6 mmol/L 组;与细胞对照组比较:* $P < 0.05$

HIF-1 是广泛存在于哺乳动物和人类细胞的一种氧敏感的核转录因子,在哺乳动物和人类的生长发育、生理及其病理反应过程中具有十分重要的作用^[3]。HIF-1 是目前研究发现在缺氧微环境下还能发挥活性的核转录因子,是维持细胞内氧稳态的关键因子,肿瘤细胞生长、发展以及对缺氧环境的耐受与 HIF-1 密切相关。HIF-1 主要由 120 ku 的 HIF-1 α 和 91 ~ 94 ku 的 HIF-1 β 两个亚基组成的一种异源二聚体。其中 HIF-1 α 由 826 个氨基酸组成,包含了一段氧依赖降解区域,受缺氧信号的调控,其决定了 HIF-1 的活性^[7]。同时 HIF-1 α 是缺氧的标志物。HIF-1 α 蛋白的明显增加表明较好地模拟了胃腺癌细胞的低氧微环境。经过试验后发现不同浓度的 CoCl₂ 对 SGC-7901/BGC-823 细胞的影响,随着 CoCl₂ 浓度的增高,抑制率有逐渐上升的趋势,但总体抑制率不高,表明低浓度的 CoCl₂ 对细胞的毒性并不大,并且能较好地模拟胃腺癌在体内真实的缺氧环境。研究^[3]证实 HIF-1 α 在人体许多肿瘤中的大量表达与肿瘤生长、转移和侵袭及血管新生都密切相关,HIF-1 α 在胃癌患者疾病复发或进展是一个不良的预后因子,同时 HIF-1 α 蛋白在胃癌组织中的阳性表达率呈正相关。本研究得出在 0.5、0.6 mmol/L CoCl₂ 浓度时,HIF-1 α 蛋白表达与细胞对照组相比显著增加,表明较好地模拟了细胞低氧的微环境。同时 HIF-1 α 蛋白在细胞中表达增加可表明其细胞的侵袭和转移能力的增加^[8-10]。而在临床上,判断肿瘤恶性程度高低的一个很重要的标准就是肿瘤侵袭和转移的潜能,并且肿瘤转移也是绝大多数肿瘤患者的致死因素,即表明在 0.5、0.6 mmol/L CoCl₂ 浓度时胃腺癌细胞的恶性程度明显增加。

ESM-1 是一种 50 ku 的可溶性蛋白多糖,由一条含有 165 个氨基酸的核心蛋白以及一条硫酸皮肤素单链共价结合而成的粘蛋白,以可溶的形式释放进血液循环^[11]。ESM-1 在正常的组织如肾、肝、肺以及健康人血清中都有一定的表达,但通常其表达水平很低,在多种肿瘤如肝癌、肺癌、肾癌以及肾移植后的急性排斥反应中出现表达升高的现象^[11]。然而 ESM-1 在胃肠肿瘤研究中发现^[12-13],其表达在胃癌和结肠癌中的表达反而降低,并且 ESM-1 表达水平与胃癌和结肠癌的分化程度呈正相关。

本研究中,在 0.5、0.6 mmol/L CoCl₂ 浓度使胃癌细胞系 SGC-7901/BGC-823 处于较好缺氧的微环境中,且随着 HIF-1 α 蛋白表达的明显增加;ESM-1

蛋白的表达则明显下降。表明随着胃癌细胞缺氧环境的形成,ESM-1 蛋白的表达逐渐降低。结果提示,ESM-1 可能作为缺氧细胞中的 HIF-1 α 调控的靶基因之一,可能被 HIF-1 α 抑制而使胃癌细胞恶性程度增加。鉴于 ESM-1 表达量和胃癌恶性程度之间的关系,推测 ESM-1 的表达水平可作为胃癌诊断、临床治疗疗效监测和预后判断的有效指标。然而 ESM-1 在胃癌中是否间接受到 HIF-1 α 的调控以及可能的调控机制需要进一步研究。

参考文献

- [1] Jeong W, Bazer F W, Song G, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 by trophectoderm cells in response to hypoxia and epidermal growth factor[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469(2):176-82.
- [2] Zhao W, Sun M, Li S, et al. Biological and clinical implications of endocan in gastric cancer[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(10):10043-9.
- [3] Balamurugan K. HIF-1 at the crossroads of hypoxia, inflammation, and cancer[J]. *Int J Cancer* 2016, 138(5):1058-66.
- [4] Eales K L, Hollinshead K E, Tennant D A, et al. Hypoxia and metabolic adaptation of cancer cells[J]. *Oncogenesis*, 2016, 5:e190.
- [5] 权晶晶. 二氯化钴在体外细胞缺氧研究中的应用[J]. *国际口腔医学杂志*, 2009, 36(4):455-8.
- [6] 陶蓓蓓, 张彩彩, 刘妹媛, 等. 低氧诱导因子 1 参与常氧条件下硫化氢促血管内皮细胞迁移的作用[J]. *生理学报*, 2012, 64(2):129-34.
- [7] 顾存林, 耿排力, 吕有勇. 二氯化钴对胃癌细胞 SGC-7901 凋亡和增殖的影响[J]. *青海医学院学报*, 2012, 33(2):77-80.
- [8] Zhan H, Liang H, Liu X, et al. Expression of Rac1, HIF-1 α , and VEGF in gastric carcinoma: correlation with angiogenesis and prognosis[J]. *Onkologie*, 2013, 36(3):102-7.
- [9] 刘彦琦, 于红刚. 缺氧诱导因子-1 α 和血管内皮生长因子在胃癌组织中的表达及其与肿瘤细胞增殖的关系[J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(9):2246-8.
- [10] Liu Z J, Semenza G L, Zhang H F. Hypoxia-inducible factor 1 and breastcancer metastasis[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2015, 16(1):32-43.
- [11] 董士民, 杜立建. Endocan 的研究进展[J]. *山东医药*, 2013, 45(53):87-9.
- [12] Zhang S M, Zuo L, Zhou Q, et al. Expression and distribution of endocan in human tissues[J]. *Biotech Histochem*, 2012, 87(3):172-8.
- [13] Zuo L, Zhang S M, Hu R L, et al. Correlation between expression and differentiation of endocan in colorectal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(28):4562-8.

网络出版时间: 2017-1-20 11:13 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170120.1113.006.html>

富白细胞和血小板纤维蛋白凝胶对 BMSCs 在兔股骨头缺血性坏死中成骨作用的影响

方 晟¹, 方家刘², 方 晓¹, 王康康¹, 尹宗生¹

摘要 目的 观察富白细胞和血小板纤维蛋白凝胶(L-PRF)联合骨髓间充质干细胞(BMSCs)在兔股骨头缺血性坏死(ANFH)试验中对成骨作用的影响。方法 48只新西兰白兔随机分为A、B、C、D 4组(各组12只),均造双侧ANFH模型。后给予ANFH修复方法:A组单纯行髓芯减压;B组行髓芯减压联合L-PRF凝胶移植;C组行髓芯减压联合BMSCs移植;D组行髓芯减压联合BMSCs和L-PRF凝胶移植。A、B、C、D组于术后4、8、12周摄X片后,每组随机选取4只行相关组织学检查、新生骨体积分数、新生血管计数、X射线评分。结果 各组股骨头坏死中呈现不同程度的新骨形成。C、D组新骨的体积分数、血管计数及X射线评分较A、B组差异显著,其中D组比其余各组均高,B组强于A组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 L-PRF凝胶在医治兔ANFH模型中对BMSCs成骨有促进作用,并拟使用L-PRF凝胶和BMSCs兼骨髓芯减压治疗ANFH提供理论

指导。

关键词 股骨头缺血性坏死;髓芯减压;骨髓间充质干细胞;富血小板纤维蛋白

中图分类号 R 681.8

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)01-0027-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.01.006

股骨头缺血性坏死(avascular necrosis of femoral head, ANFH)是指因各种病因致股骨头内压力增加,骨内动静脉栓塞,血流缺失,骨组织变性坏死,持续进展,关节面塌陷,股骨头变扁,囊性变,关节严重破坏,腹股沟及髋部疼痛、不适,运动功能障碍等,是临床常见的一种疾病^[1]。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是具有多种分化潜能和自我更新的原始细胞,并能分泌多种成骨活性因子,促进骨质和血管的再生^[2]。富白细胞和血小板纤维蛋白凝胶(leucocyte and platelet-rich fibrin gel, L-PRF)2001年由法国科学家 Choukroun et al^[3]发现,是新一代血液浓缩制品,能分泌多种生长因子,具有抗感染、生理性支架作用,被定义为自体的白细胞和富血小板纤维蛋白生物材料。该研究探讨

2016-09-09 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81171173)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院骨科,合肥 230022

²安徽医科大学第二附属医院骨科,合肥 230022

作者简介:方 晟,男,硕士研究生;

尹宗生,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: yinzongsheng1961@sina.com

Expression and significance of ESM-1 in hypoxia-induced human gastric cancer cells

Chen Shaolong, Wei Xiang, Wang Yi, et al

(Dept of Biochemistry and Laboratory of Molecular Biology, Anhui Medical University;

Dept of Key Laboratory, Gene Resource Utilization for Severe Disease of Anhui Province, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the effect of CoCl₂-induced chemical hypoxia on proliferation of human gastric carcinoma SGC-7901 and BGC-823 cells, and to study the expression of ESM-1 in the different degrees of hypoxia gastric carcinoma cells. **Methods** SGC-7901/BGC-823 cells were treated with 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.6 mmol/L CoCl₂ for 24 hours. The expressions of HIF-1 α and ESM-1 were detected by Western blot. The change of cell proliferation was detected by MTS. **Results** Cobalt dichloride at the concentration lower than 0.6 mmol/L had no significant effect on proliferation of gastric carcinoma cell line SGC-7901 and BGC-823 cells. The Western blot analysis illustrated that the expression of ESM-1 declined obviously as the expression of HIF-1 α increased. **Conclusion** 0.5, 0.6 mmol/L Cobalt dichloride can induce cell hypoxia. ESM-1 is negatively correlated with HIF-1 α .

Key words gastric carcinoma cell; hypoxia; ESM-1; hypoxia inducible factor