

趋化因子 IL-8, MCP-1 和 MIP-1 对非小细胞肺癌血管生成的作用和意义

邹文¹, 胡铁辉²

(中南大学湘雅二医院 1. 肿瘤科; 2. 胸心外科, 长沙 410011)

[摘要] 目的: 检测非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)组织中趋化因子白细胞介素-8(IL-8)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和巨噬细胞炎性蛋白-1(MIP-1)mRNA的表达,分析它们与微血管计数(MVC)的相互关系及其对NSCLC临床病理特征的意义。方法:采用原位杂交法检测40例NSCLC和10例正常肺组织石蜡切片标本中IL-8, MCP-1和MIP-1 mRNA的表达情况,采用免疫组织化学法测定上述标本中微血管(MV)计数。结果:40例NSCLC组织中IL-8, MCP-1和MIP-1 mRNA的阳性系数均值明显高于10例肺组织对照组,差异有统计学意义,并且随着NSCLC临床病理的改变而出现相应的变化,表现为T₃组>T₂或T₁组,III期组>II期组>I期组,有淋巴结和远处转移组>无转移组,生存时间≤3年组大于生存时间>3年组。IL-8, MCP-1和MIP-1 mRNA阳性表达相互之间以及与MVC之间均存在着密切的正相关。结论:上述结果提示NSCLC组织中趋化因子IL-8, MCP-1和MIP-1可能相互协同,共同促进肿瘤血管生成,并影响肿瘤的进展、转移和预后。

[关键词] 非小细胞肺癌; 白介素-8; 单核细胞趋化蛋白-1; 巨噬细胞炎性蛋白-1; 血管生成; 微血管计数

[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-7347(2007)04-0665-06

Effect of chemokine interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-1 on the angiogenesis of non-small cell lung cancer

ZOU Wen¹, HU Tie-hui²

(1. Department of Oncology; 2. Department of Cardiothoracic Surgery, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract: **Objective** To detect the expressions of chemokines interleukin-8 (IL-8), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1) mRNA in non-small cell lung cancer (NSCLC) tissues, to analyze their relationship with microvessel counts (MVC), and their significance in clinic pathologic features of NSCLC. **Methods** In situ hybridization was used to measure the expressions of chemokine IL-8, MCP-1, and MIP-1 mRNA in 40 NSCLC tissues and 10 normal pulmonary tissues, and immunohistochemical staining was carried out to measure the MVC in the above tissues. **Results** The positive ratios of IL-8, MCP-1, and MIP-1 mRNA in the 40 NSCLC tissues were apparently higher than those in the 10 normal contrast tissues, and the difference was statistically significant. The numbers varied accordingly with the different clinic pathologic features of NSCLC, showing that Group T₃ > Group T₂ or Group T₁, Group III stage >

①收稿日期(Date of reception) 2006-11-25

作者简介(Biography) 邹文(1967-),女,湖南衡阳人,副主任医师,博士,主要从事肿瘤临床与基础的研究。

通讯作者(Corresponding author) 胡铁辉, E-mail: zouwen29w@126.com

Group II stage > Group I stage, Group lymph node and remote transferred > Group non-transferred, and Group of survival time no more than 3 years > Group of survival time more than 3 years. The positive expressions among *IL-8*, *MCP-1*, and *MIP-1* mRNA and between these and the MVC all had mutually positive correlation. **Conclusion** Chemokine *IL-8*, *MIP-1*, and *MIP-1* in NSCLC tissues might cooperate with one another to promote the tumor angiogenesis, and affect the progression, metastasis and prognosis of the tumor.

Key words: non-small cell lung cancer (NSCLC); interleukin-8 (IL-8); monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1); macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1); angiogenesis; microvessel counts (MVC)

[*J Cent South Univ (Med Sci)*, 2007,32(4):0665-06]

肺癌是恶性程度较高的一类肿瘤,其中80%属于非小细胞肺癌(NSCLC),具有进展快、预后差的特点,这可能与其具有较高血管生成能力有关。近年来国内外学者发现,血管生成伴随着肿瘤发生发展的整个演变过程,是肿瘤由小的细胞突变群转化为恶性增长并具有浸润扩散和转移能力的关键环节^[1]。目前肿瘤的血管生成研究已成为一大热点,新近国内外研究表明^[2],某些细胞因子尤其是一些炎性趋化因子与肿瘤血管生成密切相关,其中研究较多的趋化因子白细胞介素-8(IL-8),认为其有很强的促血管生成活性。而单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和巨噬细胞炎性蛋白-1(MIP-1)对NSCLC的血管生成作用,国内外报道甚少。大量的研究已经证实^[3],肿瘤组织微血管的密度(microvessel density, MVD)或微血管的计数(microvessel count, MVC)能够代表肿瘤血管生成的活跃程度,且与肿瘤的发展、转移、复发以及预后有着不同程度的相关性。本实验采用原位杂交方法和免疫组织化学(ABC)方法分别测定NSCLC组织中*IL-8*,*MCP-1*和*MIP-1* mRNA的表达水平和MVC,探讨*IL-8*,*MCP-1*和*MIP-1*与MVC之间的关系以及对NSCLC的临床意义。

1 材料与方法

1.1 标本来源和临床资料 NSCLC标本40例取自中南大学湘雅二医院胸外科自2000年1月至2001年11月手术切除肿瘤并经病理切片证实的存档蜡块,正常对照标本10例来自患者肺叶切除的正常肺组织;所有样本人群均排除免疫性疾病及长期使用糖皮质激素等免疫抑制剂史和术前化、放疗史。

40例NSCLC患者中男性28例,女性12例,年

龄37~74岁,中位年龄55.5岁;临床分期按1997年WHO标准:I期13例,II期10例,III期17例;依据组织学类型,腺癌18例,鳞癌19例,其他(腺鳞癌)3例;34例患者术后做过化疗和/或放疗;随访从术后开始,随访率100%,随访期限至2004年12月。

1.2 主要试剂 人*IL-8*,*MCP-1*,*MIP-1 α* 原位杂交检测试剂盒,原位杂交专用盖玻片,兔抗人第VIII因子抗原多克隆抗体,生物素标记羊抗兔IgG,ABC试剂以及DAB-Hcl显色试剂购自武汉博士德公司。

针对人*IL-8*靶基因的mRNA序列为:5'-TTC-CAAGCTGGCGGTGGCTCTCTTGGCAGC-3', 5'-AAG-GAACCATGGGTGCAGAGGGTTGTGGAG-3';针对人*MCP-1*靶基因的mRNA序列为:5'-TGAGTGGGGC-GTTGATTCATCTGGCTGAG-3', 5'-AGCTTCTTTGG-GACACTTGCTGCTGGTGAT-3';针对人*MIP-1 α* 靶基因的mRNA序列为:5'-TGCCCTTGCTGTTCTTCTCTG-CACCATGGC-3', 5'-GGCAAATCCACGAAAATTCAT-TGCTGACT-3'。

1.3 染色方法 严格按照博士德公司试剂说明书进行。*IL-8*,*MCP-1*,*MIP-1 α* 原位杂交法:切片脱蜡水化,胃蛋白酶消化,暴露mRNA核酸片段,1%多聚甲醛后固定,20 μ L预杂交液预杂交3 h后,20 μ L含探针杂交液杂交24 h,洗涤、封闭,滴加生物素鼠抗地高辛抗体,滴加SABC复合剂,DAB显色后封片镜检。MV免疫组织化学法:切片脱蜡水化,正常羊血清封闭20 min,滴加一抗,4 $^{\circ}$ C过夜,滴加生物素羊抗兔IgG或羊抗鼠IgG 30 $^{\circ}$ C 20 min,SABC复合剂30 $^{\circ}$ C 30 min,DAB显色后封片镜检。

1.4 结果判断 采用2名病理科医师盲法阅片的方式。原位杂交结果判断标准^[4]:细胞浆中

着色呈棕色颗粒者为阳性表现(图1~3), *IL-8*, *MCP-1*, *MIP-1* mRNA 的表达以阳性系数评分表示(即染色强度和阳性细胞数的得分之和)。a. 染色强度:0 = 无, 1 = 弱, 2 = 中, 3 = 强; b. 阳性细胞数:0 = 无阳性细胞, 1 = 阳性细胞数 < 25%, 2 = 阳性细胞数 25% ~ 50%, 3 = 阳性细胞数 > 50%; a + b = 0 ~ 1 (则阳性系数值为 0, 阴性), a + b = 2 (则阳性系数值为 1, 可疑阳性), a + b = 3 (则阳性系数值为 2, 弱阳性), a + b = 4 ~ 5 (则阳性系数值为 3, 中度阳性), a + b = 6 (则阳性系数值为 4, 强阳性)。每张切片高倍镜下随机选择 5 个癌组织视野观察, 求其平均值为该样本的阳性系数, 阳性系数 = 2, 3, 4 判断为表达阳性。

免疫组织化学结果判断:微血管(MV)阳性颗粒呈黄棕色至深黄棕色, 在癌和间质组织内均有分布(图4), MV 计数标准参照 Weidner 法^[5], 高倍镜($\times 200$)下计数 5 个癌组织视野内 MV 数, 求其平均值为该病例 MV 计数。

1.5 统计学处理 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 10.0 软件包进行统计学分析。对 *IL-8*, *MCP-1*, *MIP-1* mRNA 表达和临床病理特征的关系以及 NSCLC 组与正常组的关系进行秩和检验, 对它们本身之间的相互关系进行 Spearman 相关分析, 对它们与 MV 计数的相互作用关系进行单因素方差分析, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 正常肺组织对照组和 NSCLC 组中 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 的表达 10 例对照组中 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 表达阳性者分别为 3 例、2 例和 1 例, 阳性系数均值分别为 0.40 ± 0.70 , 0.30 ± 0.67 和 0.20 ± 0.63 ; NSCLC 组中 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 表达阳性者分别为 31 例、34 例和 25 例, 阳性系数均值分别为 1.68 ± 1.16 , 1.90 ± 1.15 和 1.40 ± 1.24 。两组间比较, NSCLC 组 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 阳性系数均值均高于正常对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 NSCLC 组中 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 表达与 NSCLC 临床病理特征关系 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 阳性系数均值在男性与女性、年龄 ≤ 50 岁与 > 50 岁之间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。在 T 分期各组, *IL-8* 和 *MCP-1*

mRNA 阳性系数均值均为 T₃ 组 $>$ T₂ ($P < 0.01$) 或 T₁ 组 ($P < 0.05$), 而 *MIP-1* mRNA 阳性系数均值仅 T₃ 组 $>$ T₂ 组 ($P < 0.01$)。在临床分期各组, *IL-8* mRNA 阳性系数均值为 III 期组 $>$ II 期组 $>$ I 期组 ($P < 0.01$), 而 *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 阳性系数均值为 III 期组 $>$ II 期组或 I 期组 ($P < 0.01$)。在有淋巴结转移和远处转移各组, *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 阳性系数均值均为有淋巴结转移组 $>$ 无淋巴结转移组 ($P < 0.01$), 有远处转移组 $>$ 无远处转移组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。在生存时间各组, *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 阳性系数均值均为生存 ≤ 3 年组大于生存 > 3 年组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$) (表 1)。

表 1 NSCLC 组 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 表达与临床病理特征的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Relationship of *IL-8*, *MCP-1*, and *MIP-1* mRNA expressions with clinic pathologic features of NSCLC ($\bar{x} \pm s$)

| 项目 | n | 阳性系数均值 | | |
|----------------|----|--|---|--|
| | | IL-8 | MCP-1 | MIP-1 |
| 性别 | | | | |
| 男性 | 28 | 1.86 \pm 1.11 | 1.96 \pm 1.14 | 1.64 \pm 1.28 |
| 女性 | 12 | 1.25 \pm 1.22 | 1.75 \pm 1.22 | 0.83 \pm 0.94 |
| 年龄 | | | | |
| ≤ 50 岁 | 13 | 1.31 \pm 1.11 | 1.54 \pm 1.27 | 1.15 \pm 1.28 |
| > 50 岁 | 27 | 1.85 \pm 1.17 | 2.07 \pm 1.07 | 1.52 \pm 1.22 |
| T 分期 | | | | |
| T ₁ | 4 | 1.25 \pm 0.96 | 1.25 \pm 1.50 | 0.75 \pm 1.50 |
| T ₂ | 25 | 1.36 \pm 1.22 | 1.60 \pm 1.08 | 1.12 \pm 1.17 |
| T ₃ | 11 | 2.55 \pm 0.52 ^{**Δ} | 2.82 \pm 0.60 ^{**Δ} | 2.27 \pm 0.90 ^{**} |
| 临床分期 | | | | |
| I 期 | 13 | 0.54 \pm 0.66 | 0.92 \pm 0.86 | 0.46 \pm 0.97 |
| II 期 | 10 | 1.40 \pm 0.97 ^{Δ} | 1.60 \pm 1.08 | 1.00 \pm 1.05 |
| III 期 | 17 | 2.71 \pm 0.47 ^{###} | 2.82 \pm 0.53 ^{###\blacktriangle} | 2.35 \pm 0.79 ^{**Δ} |
| 淋巴结转移 | | | | |
| 无 | 14 | 0.64 \pm 0.74 | 1.07 \pm 1.00 | 0.57 \pm 1.02 |
| 有 | 26 | 2.23 \pm 0.95 ^{§§} | 2.35 \pm 0.98 ^{§§} | 1.85 \pm 1.12 ^{§§} |
| 远处转移 | | | | |
| 无 | 17 | 1.00 \pm 1.12 | 1.18 \pm 1.13 | 0.94 \pm 1.25 |
| 有 | 23 | 2.17 \pm 0.94 ^{§§} | 2.43 \pm 0.84 ^{§§} | 1.74 \pm 1.14 [§] |
| 生存时间 | | | | |
| ≤ 3 年 | 18 | 2.33 \pm 0.84 | 2.61 \pm 0.70 | 1.89 \pm 1.18 |
| > 3 年 | 22 | 1.14 \pm 1.13 ^{††} | 1.32 \pm 1.13 ^{††} | 1.00 \pm 1.15 [†] |

与 T₂ 组比较, ** $P < 0.01$; 与 T₁ 组比较, Δ $P < 0.05$; 与 II 期组比较, ### $P < 0.01$; 与 I 期组比较, \blacktriangle $P < 0.01$; 与无淋巴结转移组比较, § § $P < 0.01$; 与无远处转移组比较, § $P < 0.05$, § § $P < 0.01$; 与生存时间 ≤ 3 年组比较, † $P < 0.05$, †† $P < 0.01$

2.3 NSCLC 组织 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 表达之间的相互关系 对 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 的阳性系数均值进行 Spearman 相关分析表明, *IL-8* 与 *MCP-1*, *MCP-1* 与 *MIP-1*, *MIP-1* 与 *IL-8*

mRNA 的阳性表达之间存在着密切的正相关(r 分别为 0.851, 0.743, 0.792, $P < 0.01$)。

2.4 NSCLC 组织中 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 的阳性表达与 MVC 之间的关系 将与 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 的阳性表达, 阴性表达相应的 MV 计数值进行单因素方差分析, 发现 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 阳性表达的 NSCLC 组织中 MV 计数明显高于阴性表达者 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 表明 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 阳性表达与 MVC 存在着相互联系(表 2)。

表 2 *IL-8*, *MCP-1* 和 *MIP-1* mRNA 阳性表达与 MV 计数的关系($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Relationship among *IL-8*, *MCP-1*, and *MIP-1* mRNA positive expressions and microvessel counts ($\bar{x} \pm s$)

| 指标 | | <i>n</i> | MV | <i>t</i> | <i>P</i> |
|-------|----|----------|---------------|----------|----------|
| IL-8 | 阴性 | 9 | 21.73 ± 7.01 | 4.537 | < 0.01 |
| | 阳性 | 31 | 37.43 ± 14.21 | | |
| MCP-1 | 阴性 | 62 | 0.77 ± 8.91 | 2.58 | < 0.05 |
| | 阳性 | 34 | 36.22 ± 14.09 | | |
| MIP-1 | 阴性 | 15 | 24.51 ± 12.87 | 3.646 | < 0.01 |
| | 阳性 | 25 | 39.54 ± 12.47 | | |

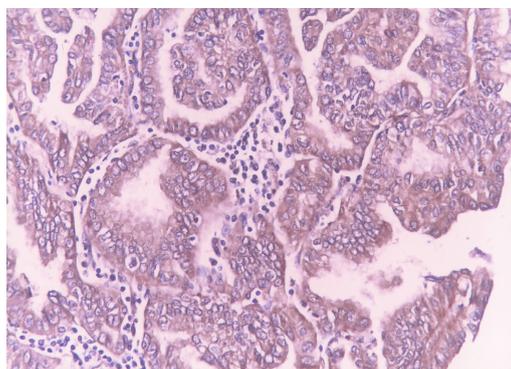


图 1 *IL-8* mRNA 阳性表达, 评分 5 分, 肺腺癌 II 级(原位杂交染色, ×200)

Fig. 1 *IL-8* mRNA positive expression of lung adenocarcinoma grade II, mark 5 (in situ hybridization staining, ×200)

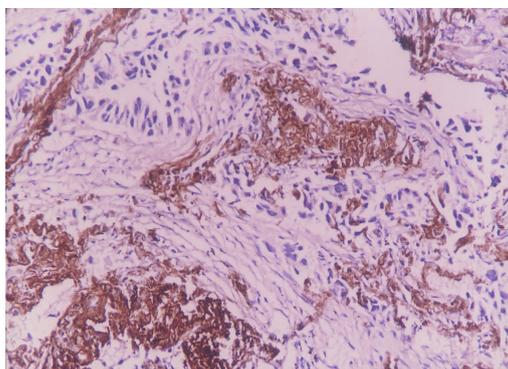


图 2 *MCP-1* mRNA 阳性表达, 评分 6 分, 肺鳞癌 II 级(原位杂交染色, ×200)

Fig. 2 *MCP-1* mRNA positive expression of lung squamous carcinoma grade II, mark 6 (in situ hybridization staining, ×200)

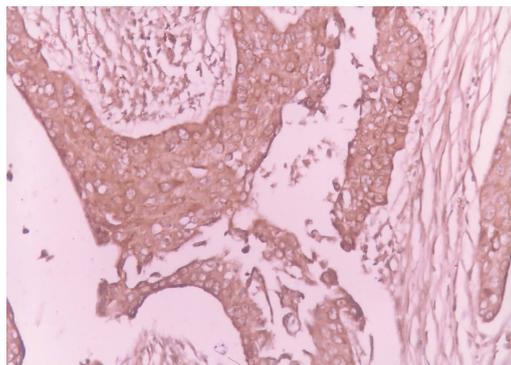


图 3 *MIP-1* mRNA 阳性表达, 评分 4 分, 肺鳞癌 I 级(原位杂交染色, ×200)

Fig. 3 *MIP-1* mRNA positive expression of lung squamous carcinoma grade I, mark 4 (in situ hybridization staining, ×200)

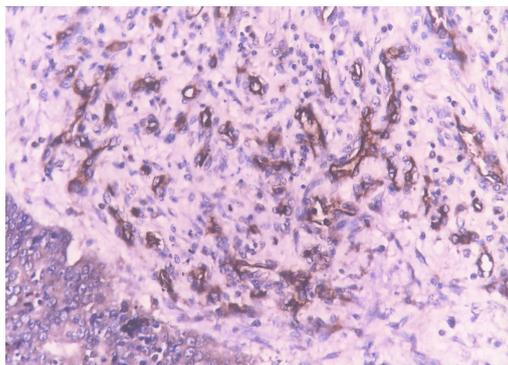


图 4 MV 计数为 80 个/高倍镜视野, 肺鳞癌 II 级(SABC 免疫组织化学染色, ×200)

Fig. 4 Microvessel counts of lung squamous carcinoma grade II were 80 per high power field (immunohistochemistry staining, ×200)

3 讨 论

趋化因子是一类由组织细胞或炎性细胞衍生的,对各种白细胞亚类有趋化活性和激活功能的细胞因子,能选择性地引导白细胞亚类的定向游走和组织内聚集,它们与相应受体结合后主要通过 G 蛋白偶联的磷脂酰肌醇途径而发挥免疫炎症和血管生成等多种生物活性。IL-8 是 Yoshimur 在 1987 年发现的人类第一个趋化因子,其基因定位于人染色体 4q12.21,成熟的 IL-8 包括 77,72,69 个氨基酸 3 种形式,其中 72 个氨基酸是活性形式,属于趋化因子 CXC 家族。目前它被认为是研究最多,促进肿瘤血管生成作用最强的一种趋化因子,有人甚至认为其作用强于血管内皮生长因子(VEGF)。研究证实在许多肿瘤组织中均能检测到 IL-8 的高表达和分泌,而在相应的正常组织中 IL-8 不表达或低表达。Masuya 等^[6]通过研究发现 IL-8 表达阳性的 NSCLC 其 MVD 明显高于 IL-8 表达阴性者;国内吕坤聚等^[7]的研究结果显示,IL-8 的高表达与 NSCLC 的 MVD 正相关,并与 NSCLC 的临床分期密切相关,IIIA 和 IIIB 期患者 IL-8 表达远较 I 和 II 期高,并与肿瘤转移有关;王振元等^[8]的研究则证实 IL-8 表达与肺癌组织学分型,淋巴结转移和病理分期有密切相关,并提示 IL-8 与肺癌预后有关。

MCP-1 是主要的吸引单核/巨噬细胞到炎症、肿瘤部位的趋化因子,成熟的 MCP-1 含有 76 个氨基酸,属于趋化因子 C-C 家族成员,它的功能在于一方面能介导局部的免疫炎症反应,即趋化和激活单核/巨噬细胞,使之产生炎性细胞因子并放大这一过程;另一方面在于能够诱导和刺激病理性血管生成。Groede 等^[9]的试验证实在肿瘤性血管生成中,巨噬细胞的聚集和 MCP-1 的表达是重要的相关事件,而在生理性卵巢血管生成中则鲜有巨噬细胞浸润;在研究兔后肢缺血模型时发现,单独局部注射 MCP-1 有助于侧枝血管的新生和再通;最近 Parekattil 等^[10]在对膀胱癌的研究中,David 等^[11]在对骨癌的研究中,以及 Shibakura 等^[12]在对 NSCLC 的研究中均证实 MCP-1 的表达和分泌与恶性肿瘤 MVD 或粘附分子的表达,以及侵袭和转移的出现密切相关,表明 MCP-1 可能通过血管生成影响肿瘤的进展和预后,国内尚未见有类似的尤其是与 NSCLC 相关的文献报道。

MIP-1 属于趋化因子 C-C 家族,基因定位于人

17 号染色体,其活化形式含有 69 个氨基酸,作用无种属特异性。研究证实,MIP-1 不但对多种炎性细胞如单核/巨噬细胞,肥大细胞具有趋化和活化效应,而且在参与炎症的过程中发挥刺激新血管生成的作用。Wolf 等^[13]和 Saji 等^[14]的研究显示,MIP-1 对乳腺癌血管生成具有重要意义,进而能影响肿瘤的发展和转移,在 Saito 等^[15]和胡雄等^[16]对胃癌的研究中以及 Lentzsch 等^[17]对多发性骨髓瘤的研究中,人们发现 MIP-1 的高表达与肿瘤血管的生成、侵袭及预后不良有关。至于 MIP-1 在 NSCLC 中的作用地位和影响方式,国内外尚未见报道。

本组研究结果显示,与正常肺组织对照组比较,40 例 NSCLC 中 *IL-8*, *MCP-1*, *MIP-1* mRNA 的阳性表达显著升高,虽然正常组织中也有微量表达,但其阳性系数值显示几为阴性和可疑阳性表达,差异有统计学意义。而在 NSCLC 组中以上 3 种趋化因子的阳性表达随着 NSCLC 的 T 分期、临床分期的增高,肿瘤的转移和生存时间的缩短也有增高趋势,差异有统计学意义;此外,采用免疫组织化学测定的微血管计数 MVC,与 3 种趋化因子进行相关分析表明,3 种趋化因子的阳性表达以及与 NSCLC 的 MVC 之间均存在着密切正相关。因此,上述结果提示,趋化因子 IL-8, MCP-1 和 MIP-1 可能相互作用促进 NSCLC 的血管生成,并有可能作为 NSCLC 进展、浸润、转移和预后等生物学行为的参考指标。

参考文献:

- [1] Kato T, Kameoka S, Kimura T, et al. Angiogenesis and blood vessel invasion as prognostic indicators for node-negative breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2001, 65 (3): 203-215.
 - [2] Masuya D, Huang C, Liu D, et al. The intratumoral expression of vascular endothelial growth factor and interleukin-8 associated with angiogenesis in non-small-cell lung carcinoma patients [J]. *Cancer*, 2001, 92 (10): 2628-2638.
 - [3] Chen C N, Chen Y M, Lin M T, et al. Association of color Doppler vascularity index and microvessel density with survival in patients with gastric cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2002, 235 (4): 512-518.
 - [4] 胡淳玲, 喻伦银, 陈德基, 等. 大鼠试验性肺癌癌变各阶段微血管密度及 VEGF、FLK-1 表达的动态变化 [J]. *癌症*, 2001, 20(7): 713-717.
- HU Chun-ling, YU Lun-yin, CHEN De-ji, et al. Changes

- of VEGF, FLK-1 expressions and vasculature during lung carcinogenesis induced by 3-methylcholanthrene and diethylnitrosamine in wistar rats [J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2001, 20(7):713-717.
- [5] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1995, 36(2):169-180.
- [6] Masuya D, Huang C, Liu D, et al. The intratumoral expression of vascular endothelial growth factor and interleukin-8 associated with angiogenesis in non-small-cell lung carcinoma patients [J]. *Cancer*, 2001, 92(10):2628-2638.
- [7] 吕坤聚, 王伟, 陈慧生, 等. 白介素-8 与非小细胞肺癌血管形成及预后关系的研究 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2002, 11(4):447-450.
LÜ Kun-ju, WANG Wei, CHEN Hui-sheng, et al. Relation of interleukin-8 expression with angiogenesis and tumor progression in human non-small cell lung cancer [J]. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2002, 11(4):447-450.
- [8] 王振元, 张林, 何晓明, 等. IL-8 在肺癌中表达的免疫组化研究 [J]. *中国医科大学学报*, 2002, 31(2):118-119.
WANG Zhen-yuan, ZHANG Lin, HE Xiao-ming, et al. Immunohistochemical study of IL-8 expression in lung cancer [J]. *Journal of China Medical University*, 2002, 31(2):118-119.
- [9] Geode V, Brogelli L, Ziche M, et al. Induction of inflammatory angiogenesis by monocyte chemoattractant protein-1 [J]. *Int J Cancer*, 1999, 82(5):765-770.
- [10] Parekattil S T, Fisher H A, Kogan B A, et al. Neural network using combined urine nuclear matrix protein-22, MCP-1 and urinary intercellular adhesion molecular-1 to detect bladder cancer [J]. *J Urol*, 2003, 169(3):917-920.
- [11] David R G. Role of stromal-derived cytokines and growth factor in bone metastasis [J]. *Cancer*, 2003, 97(3 suppl):738.
- [12] Shibakura M, Niiya K, Kiguchi T, et al. Induction of IL-8 and monocyte chemoattractant protein-1 by doxorubicin in human small cell lung carcinoma cells [J]. *Int J Cancer*, 2003, 103(3):380-386.
- [13] Wolf M, Clark-lewis I, Buri C, et al. Specifically cleaves the chemokines macrophage inflammatory protein-1 alpha, macrophage inflammatory protein-1 beta, and SLC that are expressed in human breast cancer [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(4):1183-1190.
- [14] Saji H, Koike M, Yamori T, et al. Significant correlation of monocyte chemoattractant protein-1 expression with neovascularization and progression of breast carcinoma [J]. *Cancer*, 2001, 92(5):1085-1091.
- [15] Saito S, Kitayama J, Jin Z X, et al. Beta-chemokine, macrophage inflammatory protein-1 beta (MIP-1 beta), is highly expressed in diffuse type of human gastric cancers [J]. *J EXP Clin Cancer Res*, 2003, 22(3):453-459.
- [16] 胡雄, 王心见. 巨噬细胞炎症蛋白-1 α 对胃癌血管生成及预后的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(9):703-705.
HU Xiong, WANG Xin-jian. Effect of MIP-1 expression on angiogenesis and prognosis in gastric carcinoma [J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2004, 13(9):703-705.
- [17] Lentzsch S, Gries M, Janz M, et al. Macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1 alpha) triggers migration and signaling cascade mediating survival and proliferation in multiple myeloma (MM) cells [J]. *Blood*, 2003, 101(9):3568-3573.

(本文编辑 郭 征)