

MKN-45 人胃癌实体瘤的荷瘤裸鼠原位移植肿瘤组织和癌旁远近端组织肿瘤相关因子基因蛋白表达的实验研究

孙大志 张璇 徐晶钰 陆烨 巨大维 何金 叶敏 矫健鹏 魏品康

【摘要】 目的 胃癌的手术等治疗方法将肿瘤切除后仍易复发转移,检测肿瘤组织及癌旁远近端组织中肿瘤相关因子表达,明确改善残胃或机体的肿瘤易发微环境的重要性。**方法** 裸鼠原位移植后,取 MKN-45 胃癌组织、癌旁远近端组织,免疫组化 MaxVision 二步法检测血管内皮生长因子(VEGF)、激酶功能区受体(KDR)、E-钙黏素(E-Cad)、环氧合酶-2(COX-2)、端粒酶、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)基因蛋白表达。**结果** 肿瘤组织与肿瘤近端、远端 VEGF、KDR、E-Cad、COX-2、ICAM-1、端粒酶的表达差异均有统计学意义($P < 0.01$),肿瘤近端与肿瘤远端组织比较 VEGF、KDR 表达差异有统计学意义($P < 0.01$),E-Cad、端粒酶表达差异有统计学意义($P < 0.05$),COX-2、ICAM-1 在肿瘤近端与肿瘤远端组织的表达差异无统计学意义。**结论** 肿瘤组织与肿瘤近端、肿瘤远端之间密切相关,肿瘤组织即使被切除,但在肿瘤近端、远端组织中仍然存在促进肿瘤复发转移的物质基础,肿瘤术后防复发转移关键在于改善术后机体的微环境。

【关键词】 胃肿瘤; 肿瘤相关因子; 基因表达

Experimental study on factor of tumor-related gene expression in tumor tissue, adjacent proximal and distal of MKN-45 human gastric cancer orthotopic transplantation SUN Da-zhi, ZHANG Xuan, XU Jing-yu, LU Ye, JU Da-wei, HE Jin, YE Min, JIAO Jian-peng, WEI Pin-kang. Institute of Traditional Chinese Medicine Research, CPLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: WEI Pin-kang, Email: czzyk@smmu.edu.cn

【Abstract】 Objective After treatment of gastric cancer such as surgery, tumor is easy to recurrence or metastasis, detect tumor-associated factor expression in tumor tissue, proximal tissue away from tumors and distal tissue away from tumors to clear the importance of improving the residual stomach or body microenvironment of the tumor-prone. **Methods** After orthotopic, take MKN-45 gastric cancer tissues, proximal tissue away from tumors and distal tissue away from tumors. MaxVision two-step immunohistochemical detection VEGF, KDR, E-Cad, COX-2, telomerase, ICAM-1 gene protein expression. **Results** The tumor tissue and proximal tissue away from tumors and distal tissue away from tumors VEGF, KDR, E-Cad, COX-2, ICAM-1, telomerase gene protein expression differences were statistically significant ($P < 0.01$), proximal tissue away from tumors and distal tissue away from tumors VEGF, KDR gene protein expression were significantly different ($P < 0.01$), E-Cad, telomerase expression were significantly different ($P < 0.05$), COX-2, ICAM-1 in distal tissue away from tumors were no statistically significant. **Conclusions** There was close relationship among the tumor tissue and proximal tissue away from tumors, distal tissue away from tumors. In the proximal and distal tissues away from tumors, there are still the material basis of promoting tumor recurrence even if the tumor was removed. The key to prevent tumor recurrence and metastasis is to improve the microenvironment of the body after surgery.

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2011.09.004

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划项目(90709044)

作者单位: 100853 北京,解放军总医院中医研究所(孙大志);解放军第二军医大学长征医院中医科(孙大志、张璇、徐晶钰、陆烨、巨大维、叶敏、矫健鹏、魏品康),病理科(何金)

通讯作者: 魏品康, Email: czzyk@smmu.edu.cn

【Key words】 Stomach neoplasms; Tumor-associated factor; Gene expression

胃癌在全世界癌症发病率中排名第四,高发区包括中国,死亡率居癌症死亡率的第二位^[1],胃癌的治疗包括化疗、生物制剂、介入、靶向治疗、基因治疗等,然而就目前来看,对胃癌的治疗并未达到人类预期的效果。手术治疗虽然是目前主要根治胃癌的方法之一,但其仍面临着术后高度复发的危险性。胃癌肿瘤已得到根治性切除,但术后仍易复发转移,这说明残胃或体内仍存在产生胃癌肿瘤的物质基础,而不是肿瘤的摘除就是肿瘤的根治。本研究就是针对此开展的实验研究,取 MKN-45 胃癌,并取肿瘤近端、肿瘤远端组织,检测肿瘤组织中胃癌相关基因蛋白表达情况。

材料与方法

1. 材料:显微镜(日本,Olympus 型号:CK2),裸鼠 10 只[上海斯莱克实验动物有限公司,生产许可证:SCXK(沪)2007-0005,使用许可证号:SYXK(沪)2007-0006]。离心机为 Anke TDL80-2B 上海安亭科技仪器厂制造。石蜡切片机:LEICA 2135(德国)。全自动组织处理机:SHANDON(英国)。天平:MP-110-I 型电子天平上海第二天平仪器厂(上海)。生物摄影显微镜:Olympus,型号 CX41(日本)。冷冻台:ZH-3 型石蜡切片冷冻台,沈阳纵横高技术公司生产。恒温培养箱:隔水式电热恒温培养箱,60℃,型号:PYX-DHS-40×50,上海市跃进医疗一厂生产。洗片振荡器:75-2A 微量振荡器,上海医用分析仪器厂。干燥箱:上海新力仪器制造厂,型号 402。E-钙黏素(E-Cad):鼠抗人 E-Cad 蛋白一抗,编号:MAB-0589;克隆号:A42C7,购自福州迈新生物技术开发公司。细胞间黏附分子 1(ICAM-1):鼠抗人 ICAM-1 蛋白一抗,浓缩型抗体,编号:M-0145;克隆号:23G12,购自上海长岛生物技术有限公司。环氧合酶-2(COX-2):兔抗人蛋白一抗,编号:RMA-0549;克隆号:SP21,购自福州迈新生物技术开发公司。血管内皮生长因子(VEGF):鼠抗人蛋白一抗,编号:MAB-0243;克隆号:VG1,购自福州迈新生物技术开发公司。激酶功能区受体(KDR):兔抗人蛋白一抗,编号:RAB-0522,购自福州迈新生物技术开发公司。端粒酶(Telomerase):鼠抗人蛋白一抗,编号:R-0615;克隆号:IT44,购自长岛生物技术有限公司。二抗试剂:即用型快速免疫组化 MaxVision 试剂盒,编号:Mouse/Rabbit Kit 5030;EDTA 缓冲液:编号:MVS-0098,免疫组化 MaxVision 试剂盒,苏木素复染试剂,DAB 显色试剂盒均购自福州迈新生物技术开发公司;10%中性甲醛固定液;二甲苯;3%过氧化氢甲醇溶液。

2. 裸鼠荷瘤鼠的制备:7 周龄裸小鼠,取传 3 代 MKN-45 人胃癌实体瘤进行裸鼠原位移植。在操作台上,从腋皮下剥取肿瘤组织,剪成 1 mm×1 mm×1 mm 的瘤块备用。实验动物禁食 12 h,用 10%的水合氯醛麻醉按照裸鼠体重 0.03 ml/10 g 腹腔注射麻醉后,常规手术,在胃大弯近胃窦处用 1 ml 无菌空针头划破胃壁浆膜层,用无齿镊将破损处向内推压,使局部胃壁形成凹窝,植入一块瘤组织于凹内,并在瘤块表面滴 OB 胶 1 滴,40 s 凝固后将胃壁回纳入腹腔,0 号丝线缝合腹膜及皮肤,关腹。复苏。10 只荷瘤鼠均复制成功。养至 6 周。脱颈处死裸鼠荷瘤小鼠,分别取每只小鼠的胃肿瘤组织、肿瘤近端胃组织(癌旁 3 mm 内)、肿瘤远端胃组织(癌旁 3 mm 外)。编号,分别留取标本以备免疫组化检测。

3. 免疫组化方法:MaxVision 二步法检测 VEGF、KDR、E-Cad、COX-2、端粒酶、ICAM-1 的方法:将固定在 10%中性甲醛的人胃癌肿瘤标本经各级乙醇脱水,二甲苯透明,浸蜡,石蜡包埋,石蜡切片机上切成 4 μm 厚的连续切片,将切片置于 60℃恒温箱内烘片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,蒸馏水冲洗,3%过氧化氢甲醇溶液浸泡以封闭内源性过氧化物酶,孵育 15 min,蒸馏水洗 3 次,每次 2 min,配制 pH 9.0 的 EDTA 0.01 mol, 2000 ml,取缓冲液 200 ml,洗 1 次,2 min,将剩余 1800 ml 缓冲液放入高压锅中煮沸,水开后将处理过的标本连同 200 ml 缓冲液共放入高压锅中进行抗原修复。将高压锅密封加压,水开后继续煮 2 min;冷却后蒸馏水洗 3 次,每次 2 min;PBS 液(0.01 mol, pH 7.4)洗 3 次,每次 2 min;每一张切片中加入非免疫性小牛血清,37℃烤箱放置,孵育 20 min;甩去血清,每张切片中分别加入第一抗体 E-Cad、ICAM-1、COX-2、端粒酶 50 μl,浓缩型抗体 ICAM-1 稀释 50 倍后第一抗体 50 μl,放入冰箱 4℃孵育,过夜;PBS 液冲洗 3 次,每次 2 min;每张切片中加入二抗 MaxVision 试剂 50 μl,放入恒温箱中 37℃,孵育 20~30 min;PBS 液冲洗 3 次,每次 2 min;每张切片加 50 μl DAB 显色液,显微镜下观察 3~10 min;苏木素复染 2 min;自来水冲洗;1%盐酸乙醇分化、

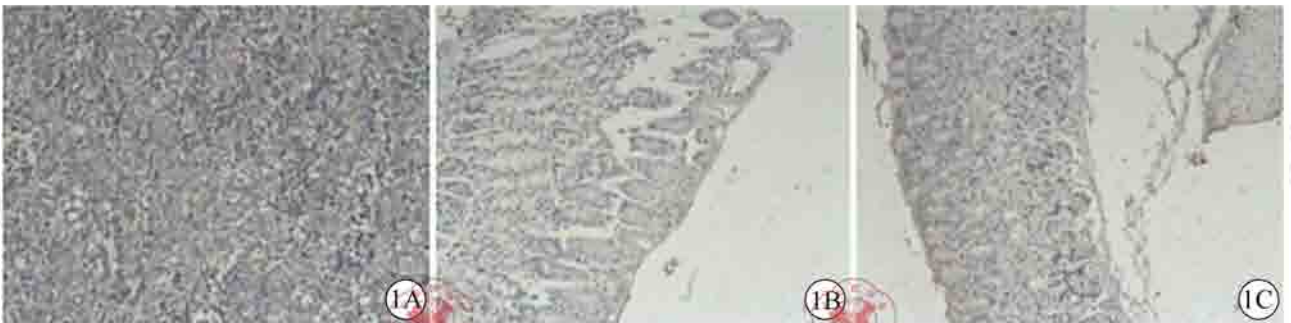
温水中浸洗返蓝、乙醇脱水;逐级乙醇脱水;二甲苯透明、中性树胶封片、读结果。

4. 免疫组化结果评分标准:以任意 5 个高倍镜视野中阳性显色作为评定依据,按表达强弱分为阴性(-),浅棕色(+),棕黄色(++),深棕色(+++)分别赋予分值 0、1、2、3 分;细胞表达数 0,1%~25%, 25%~50%, 50%~75%, 75%~100%, 分别给予分值为 0、1、2、3、4 分;免疫组化评分方法:视其着色反应的强弱与细胞表达数共同判断数值。将每一标本的两个分值相乘,作为结果。

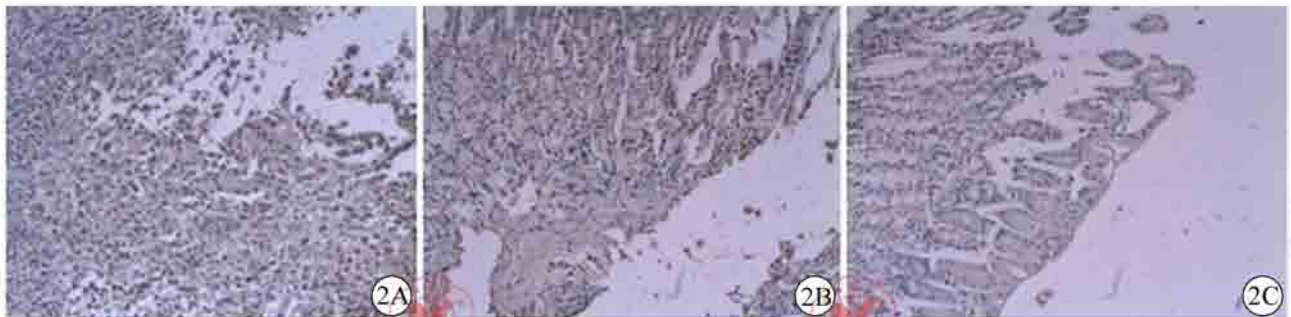
5. 统计学分析:各组间比较采用 SPSS 13.0 统计软件包,非正态分布资料用中位数表示,统计用完全随机化设计资料的非参数 Kruskal-Wallis *H* 检验进行数据处理和分析,组间两两比较采用 Nemenyi 检验。

结 果

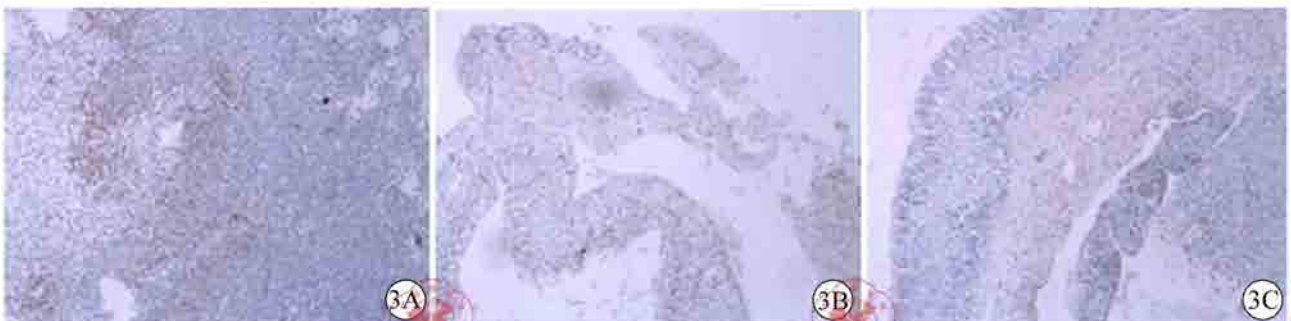
肿瘤组织与肿瘤近端、远端 VEGF、KDR、E-Cad、COX-2、ICAM-1、端粒酶的表达差异均有统计学意义($P < 0.01$),肿瘤近端与肿瘤远端组织比较 VEGF、KDR 表达差异有统计学意义($P < 0.01$),E-Cad、端粒酶表达差异有统计学意义($P < 0.05$),COX-2、ICAM-1 在肿瘤近端与肿瘤远端组织的表达差异无统计学意义(表 1, 图 1~6)。



1A: MKN-45 实体肿瘤细胞 VEGF(+++); 1B: 肿瘤近端组织胃黏膜 VEGF(+); 1C: 肿瘤远端组织胃黏膜 VEGF(+)
图1 MKN-45 肿瘤组织、肿瘤近端胃黏膜、肿瘤远端胃黏膜 VEGF 免疫组化表达 (MaxVision × 100)



2A: 肿瘤组织 MKN-45 实体肿瘤细胞 KDR(+++); 2B: 肿瘤近端胃黏膜 KDR(++); 2C: 肿瘤远端组织胃黏膜 KDR(+)
图2 MKN-45 肿瘤组织、肿瘤近端胃黏膜、肿瘤远端胃黏膜 KDR 免疫组化表达 (MaxVision × 100)



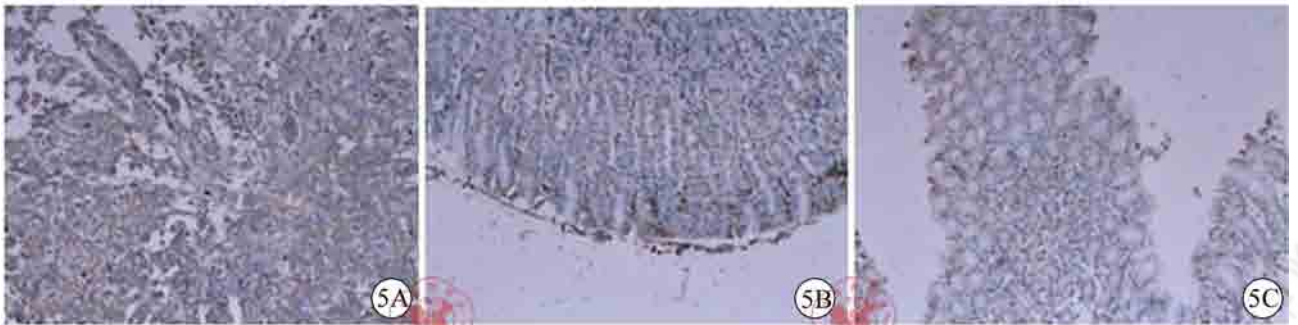
3A: 肿瘤组织 MKN-45 实体肿瘤细胞 COX-2(++) (MaxVision × 100); 3B: 肿瘤近端组织胃黏膜 COX-2(+) (MaxVision × 200); 3C: 肿瘤远端组织胃黏膜 COX-2(+) (MaxVision × 200)

图3 MKN-45 肿瘤组织、肿瘤近端胃黏膜、肿瘤远端胃黏膜 COX-2 免疫组化表达



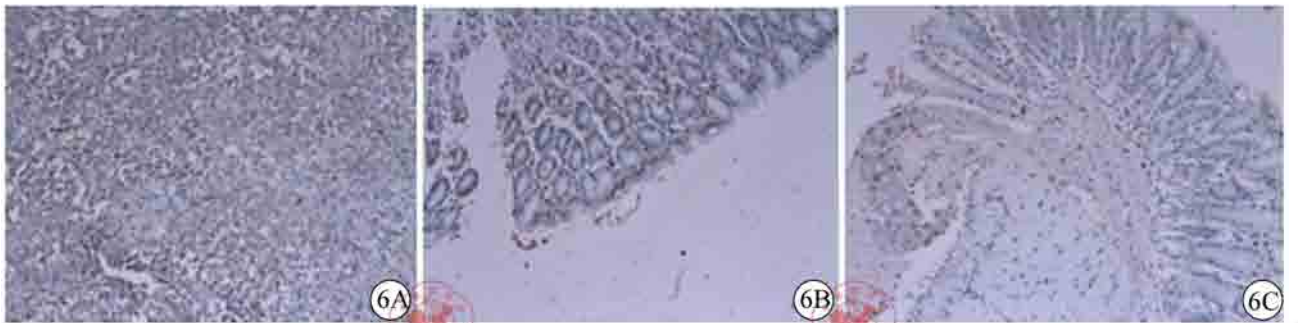
4A: 肿瘤组织MKN-45 实体肿瘤细胞E-Cad (+) (MaxVision ×100); 4B: 肿瘤近端组织胃黏膜E-Cad (++) (MaxVision ×200); 4C: 肿瘤远端组织胃黏膜E-Cad (++) (MaxVision ×200)

图4 MKN-45肿瘤组织、肿瘤近端胃黏膜、肿瘤远端胃黏膜E-Cad免疫组化表达



5A: 肿瘤组织MKN-45 实体肿瘤细胞ICAM-1 (+++); 5B: 肿瘤近端组织胃黏膜ICAM-1 (++) (MaxVision ×200); 5C: 肿瘤远端组织胃黏膜ICAM-1 (++) (MaxVision ×200)

图5 MKN-45肿瘤组织、肿瘤近端胃黏膜、肿瘤远端胃黏膜ICAM-1免疫组化表达 (MaxVision ×200)



6A: 肿瘤组织MKN-45 实体肿瘤细胞端粒酶 (++) ; 6B: 肿瘤近端组织胃黏膜端粒酶 (++) ; 6C: 肿瘤远端组织胃黏膜端粒酶 (+)

图6 MKN-45肿瘤组织、肿瘤近端胃黏膜、肿瘤远端胃黏膜端粒酶免疫组化表达 (MaxVision ×200)

1. VEGF 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端的表达: VEGF 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端表达值分别为 9.0、6.0、2.5, 差异经统计学处理有统计学意义 ($P < 0.001$) (表 1), 肿瘤组织中 VEGF 染色明显强于肿瘤近端、远端胃黏膜组织 (图 1)。

2. KDR 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端的表达: KDR 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端表达值分别为 8.5、6.0、2.5, 差异经统计学处理有统计学意义 ($P < 0.001$) (表 1), 肿瘤组织中 KDR 染色明显强于肿瘤近端、远端胃黏膜组织 (图 2)。

3. COX-2 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端的表达: COX-2 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端表达值分别为 8.5、4.0、2.0, 差异经统计学处理有统计学意义 ($P < 0.001$) (表 1), 肿瘤组织中 COX-2 染色强于肿瘤近端、远端胃黏膜组织 (图 3)。

4. E-Cad 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端的表达: E-Cad 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端表达值分别为 2.5、5.0、8.0, 差异经统计学处理有统计学意义 ($P < 0.001$) (表 1), 肿瘤组织中 E-Cad 染色明显弱于肿瘤近端、远端胃黏膜组织 (图 4), 表明肿瘤组织中 E-Cad 的表达缺失。

5. ICAM-1 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端的表达: ICAM-1 在肿瘤组织与肿瘤近端、远端表达值分别为 8.5、6.0、2.0, 差异经统计学处理有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 1), 肿瘤组织中 ICAM-1 染色强于肿瘤近端、

远端胃黏膜组织(图5)。

6. 端粒酶在肿瘤组织与肿瘤近端、远端的表达:端粒酶在肿瘤组织与肿瘤近端、远端表达值分别为8.0、6.0、2.0,差异经统计学处理有统计学意义($P < 0.05$)(表1),肿瘤组织中端粒酶染色强于肿瘤近端、远端胃黏膜组织(图6)。

表1 不同部位胃癌相关基因蛋白表达(中位数)

部位	VEGF	KDR	E-Cad	COX-2	端粒酶	ICAM-1
肿瘤组织	9.0	8.5	2.5	8.5	8.0	8.5
肿瘤近端	6.0 ^{ab}	6.0 ^{ab}	5.0 ^{ac}	4.0 ^a	6.0 ^{ac}	6.0 ^a
肿瘤远端	2.5 ^a	2.5 ^a	8.0 ^a	2.0 ^a	2.0 ^a	2.0 ^a
H 值	16.661	17.723	12.407	9.767	6.304	6.203
P 值	0.000	0.000	0.002	0.008	0.043	0.045

注:与肿瘤组织比较,^a $P < 0.01$;与肿瘤远端比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$

讨 论

胃癌的治疗经历了漫长时期,其间有较为惊喜的发现,如抗胃癌新药的研制,各种治疗胃癌方法和措施的出现,包括化疗、放疗(主要术中应用)、生物制剂、介入、靶向治疗、基因治疗等均取得一些成果和经验。然而就目前来看,对胃癌的治疗并未达到人类预期的效果。胃癌手术治疗虽然是目前主要根治胃癌的方法之一,但其仍面临着术后高度复发的危险性,约有5%的早期胃癌及50%的进展期胃癌在5年内因胃癌复发而死亡^[2]。胃癌肿瘤已得到根治性切除,但术后仍易复发转移,主要针对肿瘤细胞的治疗方法如化疗等治疗手段并未达到明显延长患者生存期,常导致生存质量下降,这说明残胃或体内仍存在产生胃癌肿瘤的物质基础,而不是肿瘤的摘除就是肿瘤的根治。

基于此,提出在治疗上关键要改善肿瘤的生存微环境是防治肿瘤术后复发转移的关键^[3-8]。因此开展了肿瘤组织及癌旁正常组织的实验研究,对照分析癌旁近端、癌旁远端组织中与肿瘤复发转移密切相关的诸多因子的表达情况。

肿瘤的易复发、转移等因素与多种因素相关,包括肿瘤细胞的恶性增殖、肿瘤相关黏附分子的异常、肿瘤新生血管等。端粒酶活性作为胃肿瘤诊断的重要生物标记物,正常组织中测不到端粒酶,这可作为区别正常、良性增生及癌细胞的一个指标^[9]。当体细胞发生癌变时端粒酶再度活化,以逃避正常的细胞衰老过程,获得无限增殖的潜能,因而端粒酶再活化是恶性肿瘤一个显著的生物学特征^[10]。实验中发现端粒酶表达在肿瘤组织中最高、癌旁组织次之、癌旁远端组织表达最低,经统计学分析表明,癌旁近端与癌旁远端表达差异有统计学意义($P < 0.05$),且均低于肿瘤组织($P < 0.01$)。表明不仅胃癌肿瘤组织中有表达,而且均有端粒酶表达(图6),在肿瘤组织、癌旁近端、癌旁远端表达呈递减性。

VEGF是最早被发现的能为缺氧诱生的促血管生成因子。目前已经明确VEGF在几乎所有的肿瘤中普遍高表达。许建民等^[11]对术后胃癌患者VEGF表达检测结果相一致。KDR为一种相对分子质量为230 kD酪氨酸蛋白激酶型受体,在血管内皮和部分肿瘤细胞上特异性表达,对于VEGF的信号转导起主导作用,肿瘤细胞分泌的VEGF是最重要的肿瘤血管形成促进因子,以旁分泌的形式作用于血管内皮上的KDR,促进血管生成,血管生成是肿瘤生长和转移的重要条件,间接促进肿瘤生长和转移;同时以自分泌的方式作用于自身细胞上的KDR,直接促进肿瘤细胞生长,因此KDR在肿瘤发展中起重要的调节作用^[12-16]。本研究结果显示,胃癌组织中VEGF高表达,在肿瘤近、远端组织中表达偏低与肿瘤组织的表达差异有统计学意义($P < 0.01$),同时肿瘤近端端粒酶表达高于胃癌远端($P < 0.01$)(图1);KDR表现出同样的结果(表1,图2)。

恶性肿瘤的浸润转移必须先脱离原发灶,黏附在细胞外基质上,再通过细胞外基质转移。在此过程中,黏附分子起着重要作用。钙黏附素是一组钙依赖跨膜蛋白,以E-Cad最为重要^[17]。研究中发现,E-Cad在

肿瘤远端组织中表达最高,在肿瘤组织中表达最低。国内外文献研究表明肿瘤细胞的侵袭性与 E-Cad 表达情况呈负相关,即其表达越低,侵袭性越强。E-Cad 表达的消失,使肿瘤细胞之间黏附性丧失,肿瘤细胞具有了从原发肿瘤分离及在体内扩散的能力,从而发生侵袭、转移。E-Cad 在胃癌中的表达减弱,与胃癌的侵袭转移密切相关^[18]。本次实验结果表明,胃癌近端与胃癌远端 E-Cad 的表达均高于主污染区($P < 0.01$),胃癌近端组织 E-Cad 表达低于胃癌远端($P < 0.05$)(表 1,图 4)。COX 是合成前列腺素重要的限速酶,COX-2 在一些肿瘤组织中表达升高,被认为与肿瘤生成有关^[19]。COX-2 可通过促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、促进肿瘤血管形成等多种机制,参与调节肿瘤发生和发展过程^[20]。本次实验结果表明,胃癌近端、远端 COX-2 的表达均低于胃癌组织($P < 0.01$),胃癌近端 COX-2 表达值高于胃癌远端,但差异无统计学意义(表 1,图 3)。ICAM-1 属免疫球蛋白超家族成员,是淋巴细胞功能相关抗原(LFA)-1 的配体。ICAM-1 分布广泛,在许多组织和细胞中均有表达,在多种肿瘤组织中表达增加,与肿瘤的某些生物学行为有关^[21-22]。本实验结果表明,胃癌近端、远端 ICAM-1 的表达均低于胃癌组织($P < 0.01$),胃癌近端 ICAM-1 表达值低于胃癌远端但差异无统计学意义(表 1,图 5)。

通过以上说明,肿瘤组织与肿瘤近端、肿瘤远端之间密切相关,肿瘤组织即使被切除,但在肿瘤近端、远端组织中仍然存在促进肿瘤复发转移的物质基础,因此,手术之后对肿瘤预防其复发转移一味的针对肿瘤细胞的治疗措施是不全面的,进一步清化残胃或者机体的易导致肿瘤复发转移的物质基础是防治肿瘤复发转移的关键。

参 考 文 献

- [1] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*, 2005, 55: 74-108.
- [2] Böhner H, Zimmer T, Hopfenmüller W, et al. Detection and prognosis of recurrent gastric cancer-is routine follow-up after gastrectomy worthwhile? *Hepatogastroenterology*, 2000, 47: 1489-1494.
- [3] 魏品康, 孙大志, 许玲, 等. 胃癌与恶痰内涵关系. *中国中医基础医学杂志*, 2009, 15: 104-106.
- [4] Sun DZ, Ju DW, He J, et al. Tumor Interstitial Fluid and Postoperative Recurrence of Tumors: an Experimental Study for Verifying Hypothesis of "Tumor-phlegm Microenvironment". *Chin J Integr Med*, 2010, 16: 435-441.
- [5] Wei P, Xu L, Sun D, et al. Relations between phlegm and generation and development of gastric cancer. *Tradit Chin Med*, 2008, 28: 152-155.
- [6] 魏品康, 孙大志. 胃癌痰发病学说的探讨. *医学与哲学*, 2008, 29: 47-49.
- [7] 魏品康, 孙大志, 许玲, 等. 胃癌从痰论治理论与策略. *中国中医药信息杂志*, 2008, 15: 92.
- [8] 魏品康, 赵颖. 从痰论治胃癌的理论与实践. *中国中西医结合杂志*, 2009, 29: 477-480.
- [9] 徐萍, 唐永明. 端粒酶活性在胃癌组织中表达的临床意义. *东南国防医药*, 2009, 11: 518-519.
- [10] 龙军, 付曲波, 黄才斌, 等. 端粒、端粒酶及其基因转录调控与肿瘤. *赣南医学院学报*, 2008, 28: 467-468.
- [11] 许建民, 田湘萍, 刘秀珍, 等. HIF-1 α 和 VEGF 在胃癌中的表达及意义. *山东医药*, 2010, 50: 76-77.
- [12] 宋微, 叶秀芳, 郝进芳. 胃癌彩色多普勒血流分级与微血管密度、血管内皮生长因子的表达及其相关性研究[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2010, 4: 2381-2386.
- [13] Shinkaruk S, Bayle M, Lähn G, et al. Vascular endothelial cell growth factor (VEGF), an emerging target for cancer chemotherapy. *Curr Med Chem Anticancer Agents*, 2003, 3: 95-117.
- [14] Masood R, Cai J, Zheng T, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an autocrine growth factor for VEGF receptor-positive human tumors. *Blood*, 2001, 98: 1904-1913.
- [15] de Jong JS, van Diest PJ, van der Valk P, et al. Expression of growth factors, growth-inhibiting factors, and their receptors in invasive breast cancer. II: Correlations with proliferation and angiogenesis. *J Pathol*, 1998, 184: 53-57.
- [16] McMahon G. VEGF receptor signaling in tumor angiogenesis. *Oncologist*, 2000, 5: 3-10.
- [17] 刘爱东, 刘士生, 许志萍, 等. E-Cadherin 在胃癌中的表达及意义. *广东医学*, 2007, 28: 1806-1807.
- [18] 张闻辉, 王舒宝. E-Cad 在胃癌中的表达及其临床意义. *癌症进展*, 2005, 6: 602-604.
- [19] 冯天达, 刘云会, 刘硕. 星形细胞肿瘤组织中 Survivin 与 COX-2 基因表达及其相关性研究. *广东医学*, 2007, 28: 225-228.
- [20] Saukkonen K, Rintahaka J, Sivula A, et al. Cyclooxygenase-2 and gastric carcinogenesis. *APMIS*, 2003, 111: 915-925.
- [21] Harning R, Mainolfi E, Bystryn JC, et al. Serum levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 in human malignant melanoma. *Cancer Res*, 1991, 51: 5003-5005.

- [22] Shimizu Y, Minemura M, Tsukishiro T, et al. Serum concentration of intercellular adhesion molecule-1 in patients with hepatocellular carcinoma is a marker of the disease progression and prognosis. *Hepatology*, 1995, 22:525-531.

(收稿日期:2011-03-28)

(本文编辑:巨娟梅)

孙大志,张璇,徐晶钰,等. MKN-45人胃癌实体瘤的荷瘤裸鼠原位移植肿瘤组织和癌旁远近端组织肿瘤相关因子基因蛋白表达的实验研究[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2011, 5(9):2506-2512.