

TLR4和MyD88在食管鳞癌组织中的表达及临床意义

梁旭阳^{1,2}, 徐萍², 吕胜祥¹, 张志梅¹, 王璐¹, 张树贤¹, 任玲¹, 马艳芹¹

(1. 南京医科大学连云港临床学院//连云港市第一人民医院消化内科, 江苏连云港 222061; 2. 南京医科大学上海松江临床医学院消化内科, 上海 201600)

摘要:【目的】探讨Toll样受体4(TLR4)和髓样分化因子8(MyD88)在食管鳞状细胞癌(食管鳞癌)组织中的蛋白表达及其与相关病理学因素的关系与临床意义。【方法】选择72例食管鳞癌石蜡标本和癌旁正常组织石蜡标本,采用EnVision免疫组化染色法检测TLR4、MyD88、增殖细胞核抗原(PCNA)和血管内皮生长因子(VEGF)在食管鳞癌组织及癌旁正常组织中的蛋白表达水平,并应用多因素Logistic逐步回归分析对其表达与临床病理因素进行分析。【结果】食管鳞癌组织中TLR4、MyD88、PCNA和VEGF蛋白表达显著高于正常组织($P=0.031$, $P=0.011$, $P=0.012$, $P=0.022$)。多因素Logistic逐步回归分析得出TLR4、MyD88、PCNA和VEGF蛋白表达水平的独立危险因素为TNM分期($P=0.032$, $P=0.005$, $P=0.000$, $P=0.003$),而不是性别、年龄、肿瘤浸润深度、分化程度等。食管鳞癌组织TLR4和MyD88的蛋白表达呈正相关,差异有统计学意义($r=0.618$, $P<0.01$);MyD88和PCNA及MyD88和VEGF的蛋白表达均呈正相关,差异均有统计学意义($r=0.516$, $P<0.01$; $r=0.708$, $P<0.01$)。【结论】TNM分期为TLR4、MyD88、PCNA和VEGF蛋白表达水平高低的独立危险因素,且MyD88与TLR4及PCNA、VEGF的蛋白表达均呈正相关,说明TLR4-MyD88信号通路可以促进食管鳞癌的发生和发展,联合检测TLR4和MyD88可能有助于评估食管鳞癌的恶性程度。因此,TLR-MyD88信号转导通路有可能参与了食管鳞癌的发生发展,成为治疗食管鳞癌的靶基因。

关键词:食管鳞癌;TLR4;MyD88;增殖细胞核抗原;血管内皮生长因子

中图分类号:R73 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2021)03-0475-07

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2021.0120

Expression and Clinical Significance of TLR4 and MyD88 in Esophageal Squamous Cell Carcinoma

LIANG Xu-yang^{1,2}, XU Ping², LV Sheng-xiang¹, ZHANG Zhi-mei¹, WANG Lu¹, ZHANG Shu-xian¹, REN Ling¹, MA Yan-qin¹

(1. Department of Gastroenterology, Lianyungang Clinical College of Nanjing Medical University// The First People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang 222061, China; 2. Department of Gastroenterology, Shanghai Songjiang Clinical Medical College of Nanjing Medical University, Shanghai 201600, China)

Correspondence to: XU Ping, E-mail: sjzxxp@yeah.net

Abstract:【Objectives】To investigate the protein expressions of toll-like receptor 4 (TLR4) and myeloid differentiation factor 8 (MyD88) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and their relationship to the related pathological factors and the clinical significance.【Methods】Totally 72 ESCC specimens and paracancerous normal tissue specimens were selected. EnVision immunohistochemical staining was used to detect the protein expression levels of TLR4, MyD88, proliferating cell nucleus antigen (PCNA) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in ESCC and in paracancerous normal tissue, and Multivariate Logistic stepwise regression analysis was used to analyze their expressions and clinicopath-

收稿日期:2020-11-11

基金项目:连云港市科技计划管理项目(SH1532);连云港高新区科技计划项目(ZD201929)。

作者简介:梁旭阳,博士生,主治医师,研究方向:消化道肿瘤筛查及基础研究,E-mail:aaznrtzmbb@163.com;徐萍,通信作者,博士,主任医师,研究方向:消化道早癌筛查及治疗临床研究及胰腺疾病基础研究,E-mail:sjzxxp@yeah.net

ological factors.【Results】The protein expressions of TLR4, MyD88, PCNA and VEGF in ESCC were significantly higher than those in normal tissues ($P=0.031$, $P=0.011$, $P=0.012$, $P=0.022$). Multivariate Logistic stepwise regression analysis showed that the independent risk factors of TLR4, MyD88, PCNA and VEGF protein expression levels were TNM stage ($P=0.032$, $P=0.005$, $P=0.000$, $P=0.003$), rather than the genders, ages, depth of tumor invasion, or degree of differentiation. There was a positive correlation between the protein expressions of TLR4 and MyD88 in ESCC ($r=0.618$, $P<0.01$). The protein expressions of MyD88 and PCNA, MyD88 and VEGF were positively correlated ($r=0.516$, $P<0.01$; $r=0.708$, $P<0.01$).【Conclusions】TNM stage is an independent risk factor of the protein expression levels of TLR4, MyD88, PCNA and VEGF, and the expression of MyD88 protein is positively correlated with expression of TLR4, PCNA and VEGF. It indicates that TLR4-MyD88 signaling pathway can promote the occurrence and development of ESCC. The combined detection of TLR4 and MyD88 may be helpful to evaluate the malignant degree of ESCC. Therefore, TLR-MyD88 signaling pathway may be used as an important biological indicator to reflect the prognosis of ESCC and an important target of anti ESCC.

Key words: esophageal squamous cell carcinoma; TLR4; MyD88; proliferating cell nucleus antigen; vascular endothelial growth factor

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2021, 42(3):475-481; COV3]

作为一种世界上每年新增死亡人数排在第七位的恶性肿瘤^[1],食管癌最常见的病理类型是鳞状细胞癌,且其早期诊断困难,预后较差。目前,国内外对食管癌发生、发展的病理生理机制尚未完全阐明,因此,深入了解食管癌的发生、发展、侵袭和转移的病理生理机制,为食管癌早诊、早治寻找有效措施,对降低食管癌患者的病死率、延长其生存时间及提高其生活质量具有重要临床意义。具有多种调节功能的Toll样受体(TLR)/髓样分化因子88(MyD88)信号传导通路,在免疫反应、炎症反应及肿瘤的发生、发展过程中均发挥了重要作用^[2]。MyD88是TLR信号通路中关键的中转蛋白,通过其承前启后地传导信号作用,刺激了下游促炎症因子和抗凋亡因子的表达,最终激活了免疫系统的先天免疫应答反应,进而影响了肿瘤患者临床发展与预后^[3-5]。感染性疾病、肿瘤、自身免疫性疾病等均与MyD88有较为明确的关系,且MyD88被认为是干预治疗这些疾病的重要靶点。作为DNA多聚酶辅助蛋白的增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclea rantigen, PCNA),存在于细胞核中,在DNA的合成中起重要作用。作为判定细胞增殖活性的内源性标记物,PCNA反映了肿瘤的恶性倾向。有研究显示抑制TLR4的表达,可以抑制癌细胞的PCNA表达,进而抑制肿瘤细胞的增殖^[6]。作为血管内皮细胞增生的刺激因子,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种可以直接激活血管生成,并使血管通透性增加的蛋白

质。有研究发现TLR4可以通过调节VEGF的表达水平而影响肿瘤血管的生成,但是其具体机制尚不清楚^[7]。故本研究应用免疫组化法检测TLR4、MyD88及PCNA与VEGF在食管鳞癌组织中的蛋白表达水平,分析探讨MyD88与TLR4及其PCNA、VEGF的相互关系及与食管鳞癌患者临床生物学特性的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 临床资料 收集我院病理样本库中,2011年01月至2014年09月的食管鳞状细胞癌患者临床数据及所有石蜡标本72例,其中癌组织为A组,对照组B组为正常组织(经病理证实无鳞癌细胞的癌组织缘外6 cm组织)。72例患者在行食管癌根治术前均未行放射和化学治疗,且均由具有高级职称的病理医师确诊为食管鳞癌。所有患者年龄均在43~74岁之间,平均年龄为62岁,其中有62例男性,10例女性;患者鳞癌组织分化情况:14例高分化,48例高中及中分化,10例中低及低分化鳞癌;患者癌组织浸润深度情况:12例局限在黏膜及黏膜下层,14例浸润至固有肌层,46例浸润至外膜及邻近结构;患者淋巴结转移情况:26例伴有淋巴结转移,46例无淋巴结转移。临床分期(以2009年国际抗癌联盟(UICC)和美国癌症联合委员会(AJCC)制订的食管癌TNM分期标准第7版为依

据)情况:其中有8例患者属于临床分期I期,21例属于临床IIa期,24例属于临床IIb期,11例属于IIIa期,3例属于IIIb期,4例属于IIIc期,只有1例属于IV期。本研究为回顾性研究,研究开始前已通过伦理委员会审批。

1.1.2 主要试剂 我们的MyD88多克隆抗体、PCNA单克隆抗体、VEGF单克隆抗体均属于兔抗人抗体,且均购于美国Abcam公司;EnVision免疫组化试剂盒购于北京中杉生物技术有限公司。

1.2 方法

文章采用免疫组化EnVision二步法。首先制作连续石蜡切片,其厚度为4 μm ;在温度设置为70 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温烤箱中加热3 min;在二甲苯和梯度酒精中进行脱蜡与水化,然后在高压锅中应用柠檬酸缓冲修复液进行抗原热修复(修复液浓度0.01 mol/L、pH6.0),冷却至室温;应用浓度为3%的 H_2O_2 孵育,10 min后应用PBS洗涤,再滴加一抗(一抗稀释比:TLR4为1:200、MyD88为1:300、PCNA为1:200、VEGF为1:200);在4 $^{\circ}\text{C}$ 恒温环境下过夜后,再滴加二抗;室温孵育15 min后,滴加DAB溶液进行显色,用苏木素进行复染;最后进行分化,脱水,透明,中性树胶封片等操作。阳性对照为已知阳性癌组织切片,阴性对照中用PBS溶液代替一抗即可。

1.3 结果判定

所有染色后的组织切片,在双盲条件下,由我院两位病理科医生进行判读。根据食管鳞状细胞,在高倍显微镜下随机选择不少于1000个定位明确(TLR4蛋白定位于细胞膜和细胞质、MyD88定位于细胞浆、PCNA定位于细胞核、VEGF定位于细胞浆)出现淡黄色至棕褐色颗粒的鳞癌细胞,按照染色强度及阳性细胞所占百分比进行评分。具体评分标准为:无色计为0分,淡黄色计为1分,棕黄色计为2分,棕褐色计为3分;阳性细胞百分比 $\leq 10.0\%$ 计为0分,11.0%~25.0%计为1分,26.0%~50.0%计为2分,51.0%~75.0%计为3分, $\geq 76.0\%$ 计为4分。总积分为上述两项评分的和,阳性表达定义为总积分 ≥ 5 分。

1.4 统计学分析

统计学分析软件为SPSS 19.0版本,采用百分比表示计数资料,应用卡方检验或Fisher's确切概率法来进行组间比较;TLR4、MyD88、PCNA、VEGF在食管鳞癌组织中的蛋白表达情况与临床病理参数关系的分析,采用逐步Logistic回归分析,相关性

采用Spearman等级相关分析。以 $\alpha=0.05$ 作为检验水准。

2 结果

2.1 食管鳞癌组织中TLR4、MyD88、PCNA及VEGF的蛋白表达情况

我们的之前研究^[8]显示TLR4蛋白表达主要定位在食管鳞癌细胞浆和(或)细胞膜中,而细胞核中几乎不表达,阳性细胞主要呈棕黄色至棕褐色,癌旁正常组织中较少见染色阳性细胞,提示在食管鳞状细胞癌组织中TLR4蛋白呈高平表达(图1A-B)。统计分析显示在食管鳞癌和癌旁正常组织中,TLR4蛋白的阳性表达率分别为66.7% vs 29.17%,差异有统计学意义($P=0.031$)。

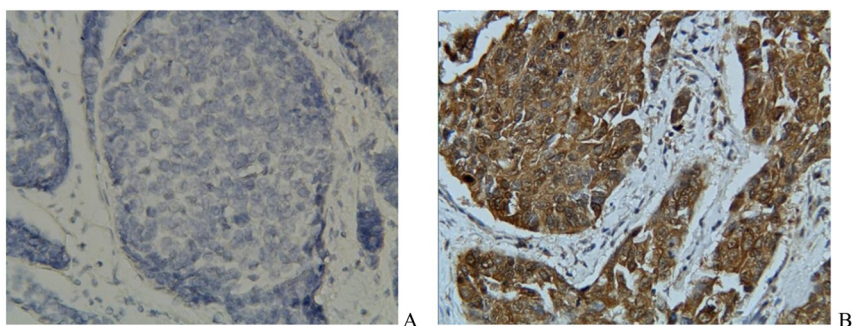
MyD88蛋白表达主要定位于食管鳞癌细胞的胞浆中,阳性细胞呈淡黄色至棕黄色,癌旁正常组织中较少见染色阳性细胞,说明食管鳞癌细胞中MyD88蛋白呈过度表达(图2A-B)。统计分析显示,MyD88蛋白表达在食管鳞癌和癌旁正常组织中的阳性表达率分别为69.44% vs 22.22%,差异有统计学意义($P=0.011$)。

PCNA蛋白表达定位于食管鳞癌细胞核中,阳性细胞呈棕黄色至棕褐色,较少阳性染色细胞出现在癌旁正常组织中,说明食管鳞癌细胞中PCNA蛋白呈高表达(图3A、B)。本研究显示食管鳞癌和癌旁正常组织中,PCNA蛋白表达的阳性率分别为43.06% vs 6.94%,且差异有统计学意义($P=0.012$)。

VEGF蛋白表达定位于食管鳞癌细胞浆中,阳性细胞呈现棕黄色至棕褐色,较少阳性染色细胞出现于癌旁正常组织,说明食管鳞癌细胞中VEGF蛋白亦有过度表达(图4A、B)。本研究显示在食管鳞癌和癌旁正常组织中,PCNA蛋白表达的阳性表达率分别为61.11% vs 16.67%,差异有统计学意义($P=0.022$)。

2.2 食管鳞癌TLR4、MyD88、PCNA、VEGF蛋白表达水平和临床病理因素的关系

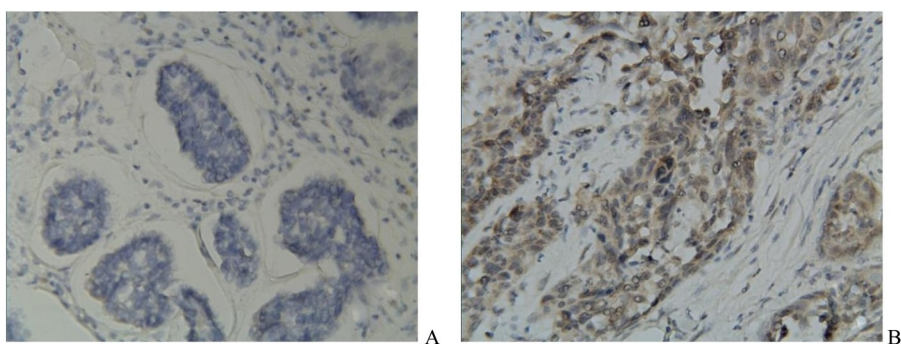
我们应用逐步Logistic回归分析方法分析该72例食管鳞癌组织中TLR4、MyD88、PCNA、VEGF的蛋白表达水平与临床生物学因素的关系,得出:食管鳞癌组织中TLR4的蛋白表达与淋巴结转移和临床分期呈正相关($P=0.005$; $P=0.032$),差异有统计学意义,与年龄、性别、癌组织分化程度及浸润深



A: paracancerous tissues; B: Cancer tissue; IHC×400.

图1 TLR4在食管鳞癌组织和癌旁组织中的蛋白表达

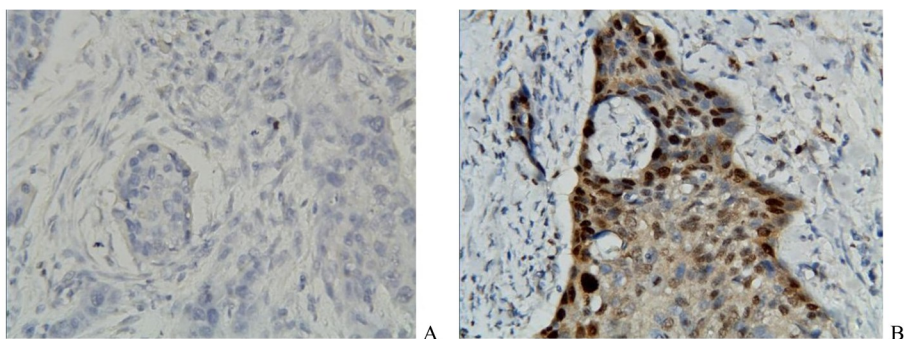
Fig. 1 Protein expression of TLR4 in esophageal squamous cell carcinoma and paracancerous normal tissues



A: paracancerous tissues; B: Cancer tissue; IHC×400.

图2 MyD88在食管鳞癌组织和癌旁组织中的表达

Fig. 2 Protein expression of MyD88 in esophageal squamous cell carcinoma and paracancerous normal tissues



A: paracancerous tissues; B: Cancer tissue; IHC×400.

图3 PCNA在食管鳞癌组织和癌旁组织中的表达

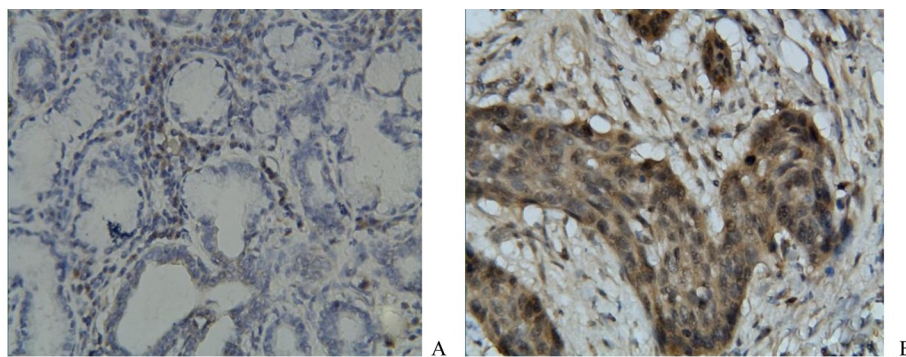
Fig. 3 Protein expression of PCNA in esophageal squamous cell carcinoma and paracancerous normal tissues

度不相关;MyD88蛋白表达水平随着临床TNM分期的增加而逐渐升高,差异有统计学意义($P = 0.005$),亦与年龄、性别、癌组织分化程度及浸润深度不相关($P > 0.05$)。同样可见,PCNA的蛋白在食管鳞癌组织中的表达与临床TNM分期呈正相关($P = 0.000$),与患者年龄、性别、癌组织分化程度及浸润深度无关($P > 0.05$)。食管鳞癌组织中VEGF

的蛋白表达与年龄、性别、分化程度及浸润深度亦无关($P > 0.05$),但随着临床TNM分期的增加而逐渐升高($P = 0.003$;表1)。

2.3 食管鳞癌组织中MyD88与TLR4及PCNA、VEGF阳性表达的相关性分析

我们的研究表明TLR4在食管鳞癌组织中呈高表达^[8]。本次研究在食管鳞癌中将TLR4和MyD88



A: paracancerous tissues; B: Cancer tissue; IHC×400.

图4 VEGF在食管鳞癌组织和癌旁组织中的表达

Fig. 4 Protein expression of VEGF in esophageal squamous cell carcinoma and paracancerous normal tissues

的表达情况共同分析得出:72例食管鳞癌组织中,TLR4的蛋白表达阳性率为66.67%(48/72),MyD88为69.44%(50/72),两者蛋白表达同时表达阳性与阴性的比率分别为59.72%和23.61%。经过统计学分析发现,食管鳞癌组织中TLR4和MyD88的蛋白表达呈正相关,且其相关性有显著统计学意义($r=0.618, P<0.01$)。

本次研究显示,在食管鳞癌组织中PCNA蛋白表达的阳性率是43.06%(31/72),MyD88和PCNA同时表达阳性和阴性的比率分别为41.67%和29.17%。统计学分析显示,食管鳞癌组织中MyD88和PCNA的蛋白表达亦呈正相关,且相关性有统计学意义($r=0.516, P<0.01$)。在食管鳞癌组织中VEGF蛋白表达的阳性率为61.11%(44/72),MyD88和VEGF蛋白同时表达阳性和阴性的比率分别为58.33%和27.78%。通过分析发现,食管鳞

癌组织中MyD88和VEGF蛋白表达有正相关性,且其相关性有统计学意义($r=0.708, P<0.01$)。

3 讨论

近年的许多研究资料表明,恶性肿瘤的发生、发展与慢性炎症之间存在密不可分的关系。在持续反复的慢性炎症刺激下,恶性肿瘤的发生率可增加,同时炎症相关的调节因子与恶性肿瘤的转移密切相关^[9]。

Toll样受体是1型跨膜蛋白,主要存在于免疫细胞中,包括树突状细胞和巨噬细胞,可检测侵袭性致病微生物^[10]。通过激活免疫细胞,TLR能够产生内源性或外源性免疫反应。TLR4是TLR的一个子类型,先前的研究显示TLR4在各种恶性肿瘤中

表1 TLR4、MyD88、PCNA、VEGF蛋白表达与食管鳞癌临床病理因素的Logistic回归分析

Table 1 Logistic regression analysis of TLR4, MyD88, PCNA, VEGF protein expression and clinicopathological factors of ESCC

Signal Factor	Variate	B	SE	Wald χ^2	P	OR	95% CI
TLR4	Constant	0.218	0.153	1.427	0.158	—	—
	lymphatic metastasis	0.320	0.111	2.877	0.005 ¹⁾	0.326	(0.099, 0.541)
	TNM stage	0.264	0.121	2.186	0.032 ¹⁾	0.247	(0.023, 0.505)
MyD88	Constant	0.260	0.158	1.648	0.011	—	—
	TNM stage	0.344	0.118	2.912	0.005 ¹⁾	0.329	(0.1.8, 0.579)
PCNA	Constant	-0.186	0.162	-1.147	0.255	—	—
	TNM stage	0.488	0.121	4.031	0.000 ¹⁾	0.434	(0.246, 0.729)
VEGF	Constant	0.124	0.166	0.748	0.457	—	—
	TNM stage	0.385	0.124	3.109	0.003 ¹⁾	0.348	(0.138, 0.632)

TLR4: Toll-like receptor 4; MyD88: myeloid differentiation factor 88; PCNA: proliferating cell nucleus antigen; VEGF: vascular endothelial growth factor; ESCC: esophageal squamous cell carcinoma; OR: odds ratio; CI: confidence interval. ¹⁾ $P < 0.05$

均有表达,包括胃癌、肝细胞癌、前列腺癌和淋巴瘤,特别是 *TLR4* 的 *Asp299Gly* 基因多态性与肿瘤的发生和发展密切相关^[11]。我们之前的研究发现,高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、*TLR4* 在食管癌组织中高表达,并在其发生发展中发挥重要作用^[8]。作为 *TLRs* 信号途径中普遍存在的接头分子 MyD88,是一种胞浆内蛋白质,一旦接收到肿瘤抗原信息,MyD88 可被 *TLR4* 激活,引起 NF- κ B 核转位,最终激活基因转录^[12]。越来越多的证据表明,MyD88 也是免疫抑制和肿瘤发生过程中的关键分子,在多种恶性肿瘤的发生、发展和侵袭、转移中发挥重要作用^[13-15]。本研究提示:在食管鳞癌组织中 *TLR4* 和 MyD88 蛋白均呈高水平表达,且表达与患者性别、年龄、癌组织浸润深度及分化程度无关,但随着 TNM 分期的增加而逐渐升高 ($P=0.032$, $P=0.005$; 表 1)。

恶性肿瘤的发生是一种复杂的目前还不完全清楚的变化,其涉及多个基因分子的变化。反映肿瘤细胞的增殖活性的增殖细胞核抗原(PCNA),是一种酸性非组胺核蛋白。其仅在增殖细胞中合成与表达,是 DNA 复制合成修复过程中的必需物质。PCNA 基因表达在肿瘤细胞增殖活跃及 DNA 复制加速时明显增强,与细胞增殖状态明显相关,可作为一项评估细胞增殖状态的指标^[16]。Kii 等^[17]报道 II~III 期食管鳞癌的 PCNA 阳性表达率为 37%,但未提及 PCNA 表达与临床病理因素的相关性。同样,我们的研究显示在食管鳞癌细胞中 PCNA 蛋白呈高水平表达,且该表达与 TNM 分期呈正相关 ($P=0.000$),但与患者年龄、性别、癌组织浸润深度及分化程度均无关(表 1),表明 PCNA 蛋白的高表达可能促进了食管鳞癌的发生和发展。

肿瘤细胞对基底膜、细胞外基质及间质结缔组织的侵袭,产生远处转移灶,新生血管形成等,是恶

性肿瘤对邻近组织发生侵袭和转移的几个主要的环节。血管生成是肿瘤生长、侵袭及扩散的一个重要先决条件。作为促进内皮细胞迁移、增殖和分化最重要的分子之一,VEGF,其在体外具有促细胞分裂的作用,在体内具有促血管生成的作用。通过降低 VEGF 表达,可以抑制肿瘤组织血管生成,诱导肿瘤细胞凋亡,从而起到治疗肿瘤的作用。有报道,VEGF 与骨肉瘤、胃癌、卵巢癌和肺癌等实体瘤细胞的生长、转移、组织学分级和预后密切相关^[18-22]。已被美国批准用于治疗多种恶性肿瘤的人源化抗 VEGF 单克隆抗体(Avastin),能中和 VEGF 的生理作用^[23]。我们的研究发现,在食管鳞癌组织中 VEGF 的蛋白表达水平明显上调,且与患者的临床分期显著相关 ($P=0.003$),但与患者年龄、性别、肿瘤浸润深度及肿瘤分化程度无关,表明 VEGF 的蛋白高表达可能促进了食管鳞癌的进展,其促血管生成的作用可能有助于食管癌细胞侵入淋巴管,在淋巴结形成转移灶。

我们的研究得出,在食管鳞癌组织中 MyD88 和 *TLR4*、PCNA 以及 VEGF 的蛋白表达均呈正相关 ($P<0.01$),产生这种现象的原因可能是 *TLR4*-MyD88 信号通路的激活,激发了 PCNA 和 VEGF 的表达,但具体机制有待于进一步的研究。本结果表明,*TLR4*、MyD88 及 PCNA、VEGF 在食管鳞癌组织中呈显著高表达,并且具有相关性,提示 *TLR4* 和 MyD88 信号传导通路在食管鳞癌发生、发展、浸润及转移等生物学行为中均发挥重要作用。*TLR4*-MyD88 信号通路有可能作为反映食管癌预后的重要生物学指标及抗食管癌的重要靶点,联合检测二者的表达水平,对食管癌的临床诊断及预后具有重要作用,有助于为患者制定个体化临床治疗方案。本研究不足之处在于 *TLR4*-MyD88 信号通路调节 PCNA、VEGF 表达的具体机制有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1):7-30.
- [2] Lupi LA, Cuciello SM, Silveira HP, et al. The role of toll-like receptor 4 signaling pathway in ovarian, cervical, and endometrial cancers [J]. Life Sci, 2020, 247:117435.
- [3] Koliaraki V, Chalkidi N, Henriques A, et al. Innate sensing through mesenchymal *TLR4*/MyD88 signals promotes spontaneous intestinal tumorigenesis [J]. Cell Rep, 2019, 26(3):536-545.

(下转封三 to inside back cover)

(上接 480 页 from page 480)

- [4] Block MS, Vierkant RA, Rambau PF, et al. MyD88 and TLR4 expression in epithelial ovarian cancer [J]. *Mayo Clin Proc.* 2018, 93(3):307-320.
- [5] Wu K, Zhang HH, Fu YJ, et al. TLR4/MyD88 signaling determines the metastatic potential of breast cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(3):3411-3420.
- [6] Lee YP, Huang WC, Lin TJ, et al. Toll-like receptor 4 prevents AOM/DSS-induced colitis-associated colorectal cancer in *Bacteroides fragilis* gnotobiotic mice [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2020, 960327120954249.
- [7] 孙运良, 马建霞, 满晓华, 等. p38 MAPK 信号通路在 TLR4 促进胰腺癌血管生成中的作用 [J]. *重庆医学*, 2017, 46(2):161-164.
Sun YL, Ma JX, Man XH, et al. Role of p38 MAPK signal pathway in TLR4 promoted angiogenesis of pancreatic cancer [J]. *Chongqing Medicine*, 2017, 46(2): 161-164.
- [8] 梁旭阳, 李祎, 马艳芹, 等. HMGB1 和 TLR4 在食管鳞癌组织中的表达及临床意义 [J]. *世界华人消化杂志*, 2016, 24(23):3495-3501.
Liang XY, Li Y, Ma YQ, et al. Clinical significance of expression of high mobility group protein B1 and Toll-like receptor 4 in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *WCJD*, 2016, 24(23):3495-3501.
- [9] Shacter E, Weitzman SA. Chronic inflammation and cancer. *Oncology (Williston Park)*, 2002, 16(2): 217-226, 229; discussion 230-232.
- [10] DeCarlo CA, Rosa B, Jackson R, et al. Toll-like receptor transcriptome in the HPV-positive cervical cancer microenvironment [J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 785825.
- [11] Werner J, DeCarlo CA, Escott N, et al. Expression of integrins and toll-like receptors in cervical cancer: Effect of infectious agents [J]. *Innate Immun*, 2012, 18(1): 55-69.
- [12] Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll like receptor [J]. *Annu Rev Immunol*, 2003, 21:335-376.
- [13] Kfoury A, Le Corf K, El Sabeh R, et al. MyD88 in DNA repair and cancer cell resistance to genotoxic drugs [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105(3): 937-946.
- [14] Xiao HC, Shu WL, Kui C. The role of toll-like receptor in inflammation and tumor immunity [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:878.
- [15] Zhu XX, Burfeind KG, Michaelis KA, et al. MyD88 signaling is critical in the development of pancreatic cancer cachexia [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2019, 10(2): 378-390.
- [16] 王春红, 刘丽娜, 吕申. 胃癌组织中转化生长因子、表皮生长因子受体和增殖细胞核抗原的表达 [J]. *世界华人消化杂志*, 2006, 14(31):3206-3209.
Wang CH, Liu LN, Lv S. Expression of transforming growth factor- α , epidermal growth factor receptor and proliferating cell nuclear antigen in human gastric cancer tissues [J]. *WCJD*, 2006, 14(31):3206-3209.
- [17] Kii T, Takiuchi H, Kawabe S, et al. Evaluation of prognostic factors of esophageal squamous cell carcinoma (stage II-III) after concurrent chemoradiotherapy using biopsy specimens [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2007, 37(8): 583-9.
- [18] Rybalov M, Ananias HJ, Hoving HD, et al. PSMA, EpCAM, VEGF and GRPR as imaging targets in Locally Recurrent prostate cancer after radiotherapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(4):6046-6061.
- [19] Shu Q, Li W, Li H, et al. Vasostatin inhibits VEGF-induced endothelial cell proliferation, tube formation and induces cell apoptosis under oxygen deprivation [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(4):6019-6030.
- [20] Chen Y, Zhang L, Liu WX, et al. VEGF and SEMA4D have synergistic effects on the promotion of angiogenesis in epithelial ovarian cancer [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2018, 23:2.
- [21] Liu YC, Zhao J, Hu CE, et al. Comprehensive analysis of vascular endothelial growth factor-C related factors in stomach cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(5):1925-1929.
- [22] Pak KH, Park KC, Cheong JH. VEGF-C induced by TGF- β 1 signaling in gastric cancer enhances tumor-induced lymphangiogenesis [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):799.
- [23] Verzoni E, Grassi P, Testa I, et al. Targeted treatments in advanced renal cell carcinoma: focus on axitinib [J]. *Pharmacogenomics Pers Med*, 2014, 27: 107-116.

(编辑 孙慧兰)