

肝素酶和趋化因子受体 7 表达对胃癌侵袭及预后的影响

周 军^{1*}, 华贇鹏², 韩 渊³, 马 博³, 李剑辉³, 郑建忠³, 阿不都斯木·艾沙³

(1.中山大学孙逸仙纪念医院胃肠外科,广东 广州 510120; 2.中山大学附属第一医院肝胆外科,广东 广州 510080; 3.新疆医科大学第二附属医院普外科,新疆 乌鲁木齐 830063)

摘 要:【目的】观察肝素酶、趋化因子受体 7(CCR7)的表达对胃癌侵袭和淋巴结转移潜能的影响以及两者的相关性。【方法】临床收集行胃癌根治性切除(淋巴结清扫)的 56 例胃癌患者的原发癌组织、癌旁组织、淋巴结组织,另选 30 例正常胃黏膜组织石蜡标本作为正常对照组。采用免疫组化 S-P 法及 RT-PCR 法检测上述组织中肝素酶、趋化因子受体 7 蛋白和 mRNA 的表达,应用 χ^2 检验比较肝素酶、CCR7 表达差异,Logistic 多因素回归分析判定胃癌淋巴结转移的独立相关因素,生存率比较应用 Log-rank 检验,相关性用 Spearman 等级相关分析。【结果】胃癌组织肝素酶、CCR7 蛋白表达阳性率分别为 48.2% 和 41.1%,显著高于癌旁组织 8.9% 和 7.1%,正常胃组织 3.6% 和 1.8% ($P = 0.008$);胃癌组织中乙酰肝素酶、CCR7 mRNA 的表达亦高于癌旁和正常组织,差异有统计学意义 ($P = 0.009$ 和 $P = 0.000$),癌旁和正常组织的表达相近 ($P = 0.316$)。肝素酶表达与肿瘤分化程度无关,但与肿瘤直径、脉管侵犯、淋巴结转移、远处转移、浆膜受累和 TNM 分期等密切相关;CCR7 表达与肿瘤的侵袭深度无关,但与淋巴结转移和 N 分期等有关;胃癌组织中 CCR7 (OR = 10.365, $P = 0.000$) 及肝素酶的阳性表达 (OR = 5.604, $P = 0.016$) 是胃癌患者淋巴结转移的独立危险因素,而性别、年龄、肿瘤分化程度以及 T 分期都与胃癌淋巴结转移无明显相关 ($P = 0.319$)。肝素酶、CCR7 阳性共表达组术后生存率明显低于阴性组 (65.23% vs 21.53%, $P = 0.016$)。胃癌组织中两者之间存在相关性 ($r_s = 0.341$, $P = 0.026$)。【结论】肝素酶参与胃癌的直接侵袭过程,CCR7 与淋巴结转移关系密切,两者阳性共表达可成为判定胃癌预后较差的有用指标。

关键词: 胃肿瘤;肝素酶;趋化因子受体;免疫组织化学

中图分类号: R735.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2015)06-0864-06

Significance of Heparanase and Chemokines Receptors 7 in Invasion and Prognosis of Gastric Carcinoma

ZHOU Jun¹, HUA Yun-peng², HAN Yuan³, MA Bo³, LI Jian-hui³, ZHENG Jian-zhong³, ABUDOUSIMU Aisha³

(1. Department of Gastrointestinal Surgery, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China;

2. Department of Hepatobiliary Surgery, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China;

3. Department of General Surgery, The Second Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830063, China)

Corresponding to: ZHOU Jun, E-mail: junzhougp@126.com

Abstract: 【Objective】 To investigate the potential affect and correlation of heparanase and chemokines receptors 7 to invasion and lymph node metastasis of human gastric carcinoma. 【Methods】 The expression of heparanase and chemokines receptors 7 in 56 cases of gastric cancer, adjacent tissues, lymph node tissue were studied by immunohistochemistry and RT-PCR. Another 30 cases of normal gastric mucosa as normal control group. χ^2 test was used to compare heparanase, CCR7 expression differences, Logistic regression analysis independent factors determine lymph node metastasis, Log-rank test to compare survival rate, Spearman rank correlation analysis determine correlation. 【Results】 The rate of heparanase and chemokines receptors 7 and their mRNA in tumor tissues (48.2% and 41.1%) were significantly higher than those in adjacent tissues of cancer (8.9% and 7.1%) and normal tissues (3.6% and 1.8%) ($P = 0.008$). The mRNA of adjacent tissues of cancer and normal tissues) showed no significant difference ($P = 0.316$). Analysis of the clinicopathologic features showed stronger heparanase expression in the cases of huge growing tumors, venous invasion and regional lymph node metastasis, distant metastases, serosal infiltration, and TNM stage III-IV, but the expression of heparanase protein was not related with the histological grade of the tumor. The positive expression of CCR7 in the tumor tissues was

收稿日期: 2015-05-28

基金项目: 广东省中医药管理局课题(20151175)

作者简介: 周军, * 通信作者, 博士, 副教授, E-mail: junzhougp@126.com

significantly related with lymph node metastasis and N stage. The positive expression of CCR7 (OR=10.365, $P=0.000$) and heparanase (OR = 5.604, $P=0.016$) in gastric carcinoma were independent risk factors in patients with lymph node metastasis, but the sex, age, tumor differentiation and T stage had no significant positive correlation with the lymph node metastasis ($P=0.319$). The survival rate of heparanase and CCR7 positive co-expression group was significantly lower than negative group (65.23% vs 21.53%, $P=0.016$). There was a significant correlation between expression of heparanase and CCR7 ($r_s=0.341$, $P=0.026$). 【Conclusion】 The heparanase involve in the direct invasion of gastric cancer, CCR7 and lymph node metastasis are closely related, both positive co-expression can be determined to be useful indicators of poor prognosis of gastric cancer.

Key words: gastric tumor; heparanase; chemokines receptors; immunohistochemistry

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2015, 36(6):864-869]

肝素酶(heparanase, HPSE)是一种能裂解硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (heparan sulfate proteoglycan, HSPG)的内源性糖苷内切酶,可降解细胞外基质及基底膜,并参与肿瘤侵袭、转移和新生血管形成^[1]。研究结果显示,肝素酶在几乎所有中晚期恶性肿瘤中均高表达,已成为抗肿瘤侵袭转移研究的新靶点^[2]。趋化因子作为细胞因子超家族中的一种,对白细胞具有趋化作用。趋化因子受体7属G蛋白偶联的跨膜型受体超家族,与其受体结合后在淋巴器官的形成、淋巴循环、Th1/Th2细胞的分化中发挥作用^[3]。但肝素酶和趋化因子受体7对肿瘤细胞的趋化迁移及淋巴管生成与肿瘤淋巴结转移等生物学特征的意义仍不甚明了^[4-5]。本研究拟应用免疫组织化学染色方法及RT-PCR检测56例胃癌组织中肝素酶和趋化因子受体7蛋白和mRNA的表达情况,进一步了解两者在胃癌侵袭、血行、淋巴结转移等临床病理特征的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收集中山大学孙逸仙纪念医院及新疆医科大学第二附属医院普外科2010年1月至2013年3月间行根治性手术切除的56例胃窦腺癌原发灶组织和距离肿瘤病灶5cm以上的癌旁组织石蜡标本、阳性转移淋巴结,其中男性32例,女性24例,年龄为32~75(56±14)岁,肿瘤大小、分化类型、局部浸润深度、淋巴结转移、血管浸润以及远处转移、TNM分期情况等详见表1。另选同时期在上述单位体检中心进行健康体检的30例健康人正常胃窦黏膜组织、良性溃疡胃周淋巴结石蜡标本作为正常对照组,其中男性17例,女性13例,年龄为30~73(53±11)岁。对照组的年龄、性别构成与研究组无差异。研究组全部病例均经手术和

病理证实,术前未接受化疗和放疗。56例患者随访2~5年,平均3.6年,除死亡及个别失访病例,51例术后获随访,随访率为91.1%。

1.2 实验方法

1.2.1 免疫组化 由本院病理科人员参与完成,标本切片厚度为5 μm,4℃固定10 min,空气中风干10 min,储存于-20℃冰箱内备用。免疫组化染色:采用链酶素-生物素(S-P)免疫组化技术,一抗肝素酶兔抗人多克隆抗体购于武汉博士德生物工程有限公司, Anti-human CCR7 mAb 购自 R&D 公司。S-P 免疫组化试剂盒为福建迈新生物技术有限公司,肝素酶一抗工作浓度为1:60, CCR7 mAb 工作浓度为1:100。已知胃癌阳性切片作阳性对照, PBS液代替一抗作阴性对照,同一条件下行S-P法免疫组化染色染色。

①RNA提取:胃癌、癌旁和相对正常胃组织各120 mg,在液氮下研磨成粉末,加入0.8 mL Trizol 溶液(Gibco公司)匀浆,按说明书提取RNA。所得RNA溶于焦碳酸二乙酯(DEPC)水中,紫外分光光度仪定性及定量,所得RNA的吸光度(A_{260}/A_{280})均在1.8~2.0范围内。②cDNA合成:取RNA 2 μg,寡脱氧胸苷酸15 0.5 μg, 10 nmol/L dNTP 混合液1 μL, 65℃加热5 min后,加入0.1 mol/L DTT 2 μL, Rnasin 40 μL, Super Script II 1 μL (Gibco公司), 42℃孵育50 min, 70℃加热15 min, 终止反应。所得cDNA用于PCR扩增。以无菌双蒸水为阴性对照,以GAPDH为内对照,以试剂盒提供的对照RNA样品及其特异性引物的扩增产物为阳性对照。③PCR扩增条件确定和序列测定:以Primer Express™110软件设计引物和探针。RT-PCR最佳扩增条件为:94℃变性5 min, 94℃30 s, 62℃30 s, 72℃15 s, 30个循环,最后72℃延伸5 min。④FQ-PCR:使用Tag PCR多聚酶(Gibco公司),在FQ-PCR仪(Perkin Elmer公司生产)上以最

佳 PCR 条件扩增 40 个循环。FQ-PCR 仪自动采集信号,并转换为目的基因的扩增起始拷贝数及荧光信号达到设定域值时所经历的循环次数(CT 值)。

1.3 结果判定

细胞胞质或胞膜染为淡黄色至棕褐色为阳性细胞标志。根据免疫组织化学染色阳性肿瘤细胞的比例和染色强度进行评分^[6]。随机选取肿瘤细胞分布密集区域的 10 个高倍视野进行计数,至少计数 600 个肿瘤细胞,观察其阳性表达,以阳性细胞占肿瘤细胞的百分率来表示(%)。根据癌细胞免疫组化染色着色深浅打分:无显色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。按阳性细胞率打分:阴性为 0 分,阳性细胞率 $\leq 10\%$ 为 1 分,11%~50%为 2 分, $\geq 51\%$ 为 3 分。染色强度与阳性细胞率的乘积:0~2 分为(-),3~4 分为(+),5~7 分为(++),8~9 分为(+++)。

乙酰肝素酶、CCR7 mRNA 精确含量=目的片段 CT 值/内参照 GAPDH CT 值。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 11.5 统计软件分析。肝素酶、CCR7 表达与各临床病理指标之间的关系用计数资料 χ^2 检验。Logistic 多因素回归分析判定胃癌淋巴结转移的独立相关因素。生存率比较应用 Log-rank 检验。相关性用 Spearman 等级相关分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 肝素酶、CCR7 蛋白在各组织标本中的表达

胃癌组织中肝素酶蛋白的表达阳性率为 48.2%(27/56,图 1),癌旁组织和正常胃黏膜组织中肝素酶蛋白的表达多为阴性至弱阳性,阳性表达率分别为 8.9%(5/56)和 3.6%(2/56)。CCR7 蛋白主要表达在肿瘤细胞的胞膜和/或胞质(图 2),CCR7 在胃癌原发灶的阳性表达率为 41.1%(23/56)。CCR7 在原发灶和淋巴结转移灶(图 3)中的表达无差异($P = 0.213$),而 CCR7 在癌旁组织和正常胃黏膜中很少有表达(4/56,7.1%;1/56,1.8%)。肝素酶和 CCR7 蛋白在胃癌组织中的表达阳性率均显著高于癌旁组织和正常胃黏膜组织($P = 0.008$)。

2.2 乙酰肝素酶、CCR7 mRNA 在胃癌、癌旁和正常组织中的表达

56 例胃癌组织中乙酰肝素酶 mRNA 表达明

显高于配对的癌旁和正常组织,其表达量分别为 0.868 ± 0.096 , 0.704 ± 0.078 和 0.604 ± 0.084 。胃癌组织中乙酰肝素酶 mRNA 的表达高于癌旁和正常组织,差异有统计学意义($t = 2.654$, $P = 0.009$; $t = 3.783$, $P = 0.000$)。癌旁和正常组织的表达相近($t = 0.938$, $P = 0.316$)。CCR7 mRNA 检测的统计学结果与之相似。

2.3 肝素酶、CCR7 蛋白在胃癌组织中表达的相关性及其与临床病理特征的关系

肿瘤直径 > 3 cm、有淋巴结转移、脉管侵犯、远处转移和 TNM 临床分期在 III、IV 期的患者中肝素酶、CCR7 的表达率明显增高($P = 0.003$,表 1)。

肝素酶、CCR7 表达分别与胃癌淋巴结转移状态(N 分期)明显相关($\chi^2 = 12.12$, $P = 0.006$; $\chi^2 = 4.36$, $P = 0.035$),47 例阳性转移的淋巴结中,有 41 例(87.2%)存在 CCR7 表达阳性,有 38 例(80.9%)肝素酶表达阳性,均明显高于无转移的淋巴结(19.1%、12.8%, $P = 0.048$)。

CCR7 表达与胃癌 T 分期无明显相关($\chi^2 = 3.56$, $P = 0.214$),但肝素酶表达与胃癌 T 分期明显相关($\chi^2 = 4.75$, $P = 0.036$);而两者与患者性别、年龄及肿瘤分化程度均无明显相关($P = 0.076$)。

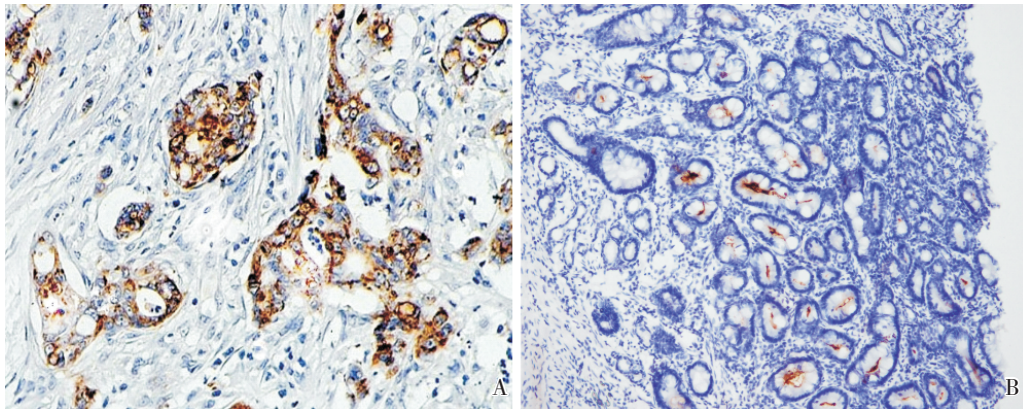
胃癌组织中 CCR7 的阳性表达($OR = 10.365$, $P = 0.000$)及肝素酶的阳性表达($OR = 5.604$, $P = 0.016$)是胃癌患者淋巴结转移的独立危险因素,而性别、年龄、肿瘤分化程度以及 T 分期都与胃癌淋巴结转移无明显相关($P = 0.319$,表 2)。

2.4 肝素酶、CCR7 蛋白表达与胃癌预后的关系

肝素酶阳性和阴性表达患者术后 1、3、5 年生存率分别为 58.60%、35.83%、33.44% 和 88.80%、67.57%、59.82%,前者显著低于后者($P = 0.029$)。CCR7 阳性和阴性表达患者术后 1、3、5 年生存率分别为 52.74%、36.73%、34.43% 和 87.77%、68.54%、60.21%,前者显著低于后者($P = 0.018$)。截止统计时间 2015 年 3 月,肝素酶和 CCR7 蛋白均阴性表达的 20 例患者的平均生存时间为 58 个月,是两者阳性共表达组的 2.5 倍(23 个月),5 年生存率也显著高于阳性共表达组(65.23% vs 21.53%, $P = 0.016$),生存率 Log-rank 检验 $\chi^2 = 3.56$, $P = 0.001$ 。肝素酶、CCR7 蛋白阳性共表达提示预后不良。

2.5 肝素酶、CCR7 蛋白表达的相关性

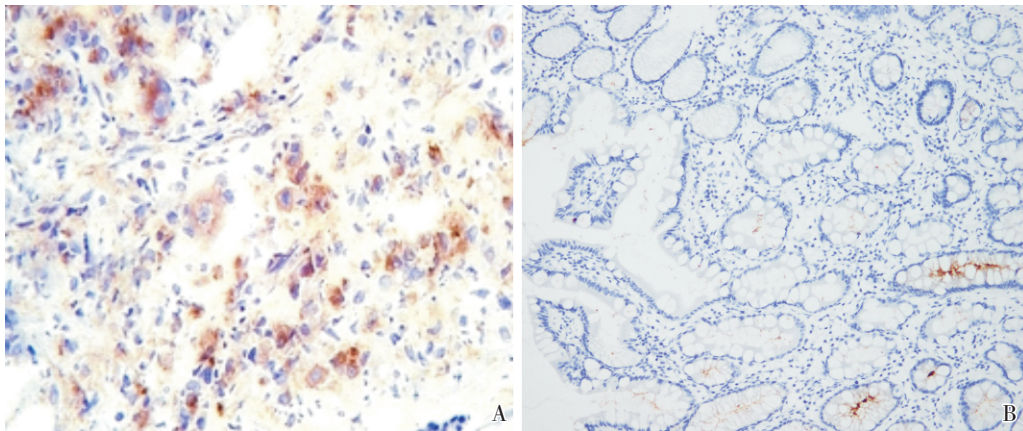
经 Spearman 等级相关分析表明在胃癌组织中两者之间存在显著相关性($r_s = 0.341$, $P = 0.026$)。



A: gastric moderate differentiated adenocarcinoma cell (+++); B: gastric adjacent tissue(+); 100 ×

图 1 胃中分化腺癌细胞和胃癌旁组织肝素酶染色

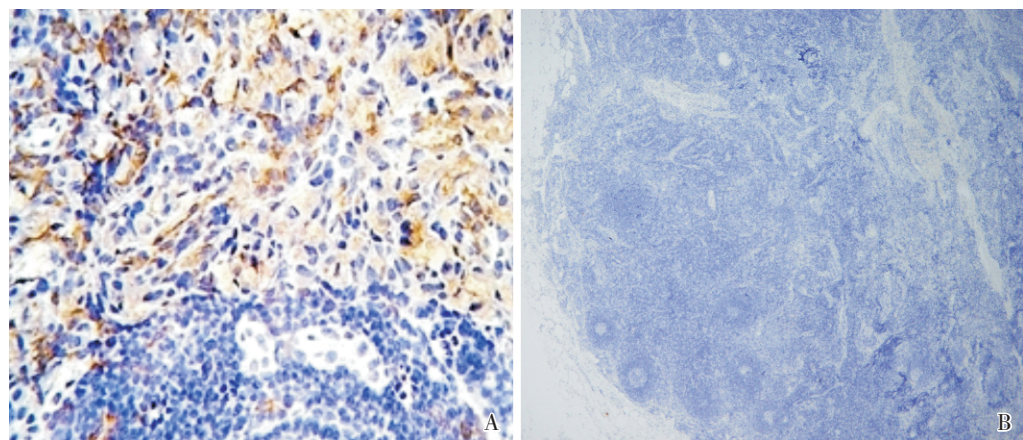
Fig.1 Heparanase staining of gastric moderate differentiated adenocarcinoma cell and gastric adjacent tissue



A: CCR7 expression of primary gastric cancer(+++); B: CCR7 expression of normal gastric mucosal(-); 100 ×

图 2 胃癌原发灶和正常胃黏膜中 CCR7 的表达

Fig. 2 CCR7 expression of primary gastric cancer and normal gastric mucosal



A: The CCR7 expression of lymph node metastases(+++); B: The CCR7 expression of normal lymph node(-); 100 ×

图 3 胃癌淋巴结转移灶和正常胃周淋巴结中 CCR7 的表达

Fig.3 CCR7 expression of lymph node metastases and normal lymph node

表 1 56 例胃癌原发灶肝素酶和 CCR7 表达与临床病理因素的关系

Table 1 Relation of heparanase and CCR7 expression and clinicopathological factors in 56 primary gastric cancer

Items	Cases	Heparanase expression				Positive rate/%	CCR7 expression				Positive rate/%	
		-	+	++	+++		-	+	++	+++		
Sex	Male	32	18	4	9	5	43.8	20	3	3	6	37.5
	Female	24	11	3	6	4	54.2	13	4	3	4	45.8
Tumor diameter	≤3 cm	36	16	3	8	9	55.6	17	2	5	12	52.8
	>3 cm	20	3	4	5	8	85.0 ²⁾	4	4	6	6	80.0 ¹⁾
Differentiation	High / moderate	44	17	4	9	14	61.4	15	4	10	15	65.9
	Low / Undifferentiated	12	5	2	2	3	58.3	5	2	2	3	58.3
Depth of invasion	Less than serosa	41	24	7	5	5	41.5	23	5	4	9	43.9
	Reach or exceed serosa	15	3	3	3	6	80.0 ²⁾	6	2	3	4	60.0
Lymph node metastasis ³⁾	PN0	9	5	1	1	2	44.4	4	1	3	1	55.6
	PN1	16	3	2	4	7	81.3 ²⁾	2	3	3	8	87.5 ¹⁾
	PN2	23	4	4	6	9	82.6 ²⁾	3	5	6	9	86.9 ¹⁾
	PN3	8	2	1	2	3	75.0	1	1	3	3	87.5 ¹⁾
Vascular invasion	-	46	21	6	12	7	54.3	30	3	8	5	34.8
	+	10	1	2	3	4	90.0 ²⁾	2	2	3	3	70.0 ¹⁾
Distant metastasis	-	45	23	5	6	11	48.9	22	5	8	10	51.1
	+	11	1	2	3	5	90.9 ²⁾	2	3	3	3	81.8 ¹⁾
TNM stage ³⁾	I、II	27	15	5	3	7	44.4	17	2	3	5	37.0
	III、IV	29	4	5	8	12	86.2 ²⁾	5	4	5	15	82.8 ¹⁾

1)CCR7 expression comparison with the control group in gastric cancer, $P < 0.01$. 2)Heparanase. 3)adopt new UICC 2009 TNM staging system

表 2 Logistic 多因素回归分析

Table 2 Logistic regression analysis

Risk factors	P	OR	95%CI
Sex (male: female)	0.218	1.696	0.216-10.051
Age (≤60 years: > 60 years)	0.176	0.935	0.154-4.152
T stage(T1-2; T3-4)	0.135	4.773	0.687-28.523
Differentiation (high/moderate; low)	0.089	3.267	0.432-28.367
CCR7(Negative: positive)	0.000	10.365	2.013-53.016
Heparanase (negative: positive)	0.016	5.604	1.198-23.936

3 讨 论

肿瘤的侵袭和转移过程中细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)和基底膜(Basement, BM)起着重要的屏障作用^[7]。肝素酶(HPSE)可以促进瘤细胞突破 ECM,向邻近周围组织侵犯,发生局部或淋巴结转移;亦可协同生物因子,促进肿瘤细胞分裂、趋化、微血管形成,进入血液而发生血行转移;肝素酶的降解产物还能抑制活化的 T 淋巴细胞功能,引起免疫抑制,使肿瘤更易转移^[8]。由此可见,HPSE 在肿瘤细胞浸润、转移和肿瘤血

管形成过程中发挥着重要作用。CCR7 是 CC 类趋化因子受体的成员之一,肿瘤细胞可以表达趋化因子受体 CCR7,且 CCR7 表达阳性的肿瘤细胞可优先转移至其配体 CCL21 和/或 CCL19 富集的淋巴结内,促进肿瘤细胞优先转移到淋巴结等特定部位,目前已在多种实体肿瘤的淋巴结转移中得到证实^[9]。同时检测上述两者在胃癌及转移淋巴结中的表达并比较分析其与肿瘤生物学特征的关系目前报道尚少。本组资料显示 56 例胃癌中有 27 例肝素酶表达,阳性率为 48.2%,CCR7 在胃癌原发灶的阳性表达率为 41.1%(23/56),CCR7 在原发灶和淋巴结转移灶中的表达无差异,肝素酶和 CCR7 蛋白在胃癌组织中的表达阳性率均显著高于癌旁组织和正常胃黏膜组织。胃癌组织中乙酰肝素酶、CCR7 mRNA 的表达亦高于癌旁和正常组织。癌旁和正常组织的表达相近,证实肝素酶、CCR7 在胃癌组织中均呈高表达,且与其促进肿瘤细胞侵袭和转移的功能相一致。

本研究发现,肿瘤直径>3 cm、有淋巴结转移、脉管侵犯、远处转移和 TNM 临床分期在 III、IV 期的患者中肝素酶、CCR7 的表达率明显增高。

CCR7、肝素酶的阳性表达是胃癌患者淋巴结转移的独立危险因素。肝素酶表达与胃癌 T 分期和 N 分期均明显相关,CCR7 表达仅与反映胃癌淋巴结转移状态的 N 分期相关,与胃癌 T 分期无明显相关。提示肝素酶在促进肿瘤穿透细胞外基质和基底膜结构,实现其直接扩散至邻近脏器和淋巴、血管组织过程中发挥重要作用,该蛋白参与胃癌细胞的直接浸润、淋巴结和血行转移等各种途径。Yan 等^[10]的研究显示趋化因子受体 CCR7 阳性表达与胃癌淋巴结转移密切相关。我们的结果也证实了 CCR7 并不介导胃癌细胞的直接侵袭,肿瘤浸润深度被证明与 CCR7 的表达无关,CCR7 的阳性表达可能更多地提示胃癌淋巴结转移的高风险因素。肝素酶、CCR7 可能共同参与了胃癌的淋巴转移途径,两者之间存在某种协同机理共同促进肿瘤的淋巴转移与播散。

本研究结果显示肝素酶、CCR7 单独阳性表达组 1、3、5 年生存率均各自较阴性组明显降低,表明胃癌组织肝素酶、CCR7 过度表达可能使胃癌细胞产生侵袭表型,以利于癌细胞的转移。肝素酶和 CCR7 蛋白均阴性表达的 20 例患者的平均生存时间是两者阳性共表达组的 2.5 倍,5 年生存率也显著高于阳性共表达组,等级相关分析表明在胃癌组织中两者之间存在显著相关性 ($r_s = 0.341, P < 0.05$)。说明肝素酶和 CCR7 阳性共表达的胃癌有着更为恶性的生物学行为和更差的预后,两者在胃癌淋巴转移中发挥的叠加效应以及与 N 分期的密切相关可以较为合理地解释该现象。肝素酶可以协同 CCR7 等生物因子通过诱导淋巴管生成、受体-配体趋化等多条途径促进肿瘤的侵袭、转移,但其中具体的分子机理及表达上调的始动因素、调控因素、与其他细胞因子与信号通路的相互作用等问题仍未完全阐明。随着研究的深入,肝素酶、趋化因子受体 CCR7 可能成为判断胃癌患者特异性转移或者复发的重要指标,这将有助于完善胃癌的分期系统及筛选胃癌治疗研究的新靶点。就临床工作而言,结合电子胃镜的应用,对胃黏膜异型增生且肝素酶、CCR7 阳性共表达的胃癌应密切随访,以便早期发现癌变,及时治疗。胃癌患者术前检测肝素酶、CCR7 蛋白或 mRNA 表达情况,则有利于在术前预测患者是否可能发生淋巴结转移,对指导临床选择手术范围和制定综合治疗方案均具有积极的意义,亦为可能的小干扰

RNA 治疗提供了更为准确的基因靶点。

参考文献

- [1] Goldberg R, Meirovitz A, Hirshoren N, et al. Versatile role of heparanase in inflammation [J]. Matrix Biol, 2013, 32(5): 234-240.
- [2] Nasser NJ, Avivi A, Shafat I, et al. Alternatively spliced Spalax heparanase inhibits extracellular matrix degradation tumor growth and metastasis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(7): 2253-2258.
- [3] Zieker D, Konigsrainer L, Tritschler L, et al. Phosphoglycerate kinase I a promoting enzyme for peritoneal dissemination in gastric cancer [J]. Int J Cancer, 2010, 126(6): 1513-1520.
- [4] Ben-Baruch A. Organ selectivity in metastasis: regulation by chemokines and their receptors [J]. Clin Exp Metastasis, 2008, 25(4): 345-356.
- [5] Achen MG, Stacker SA. Molecular control of lymphatic metastasis [J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 113(1): 225-234.
- [6] 陈刚, 刘相燕, 王洲, 等. CC 趋化因子受体 7、血管内皮生长因子-C 表达对非小细胞肺癌淋巴结转移潜能的影响 [J]. 中华实验外科, 2013, 30(4): 735-737.
Chen G, Liu XY, Wang Z, et al. Effect of CC chemokine receptor 7 and vascular endothelial growth factor -C expression on lymph node metastatic potentiality non-small cell lung cancer [J]. Chin J Exp Surg, 2013, 30(4): 735-737.
- [7] Engbring JA, Kleinman HK. The basement membrane matrix in malignancy [J]. J Pathol, 2003, 200(4): 465-470.
- [8] Zcharia E, Metzger S, Chajek T, et al. Molecular properties and involvement of heparanase in cancer progression and mammary gland morphogenesis [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2001, 6(3): 311-322.
- [9] Cunningham HD, Shannon LA, Calloway PA, et al. Expression of the C-C chemokine receptor 7 mediates metastasis of breast cancer to the lymph nodes in mice [J]. Transl Oncol, 2010, 3(6): 354-361.
- [10] Yan C, Zhu ZG, Yu YY, et al. Expression of vascular endothelial growth factor C and chemokine receptor CCR7 in gastric carcinoma and their values in predicting lymph node metastasis [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(6): 783-790.

(编辑 刘清海)