

云芝多糖-B 对人食管癌细胞 Eca109 转移的影响

汪道峰¹, 李小东², 娄宁¹

(华南肿瘤学国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心 1.ICU, 2.胸科, 广东广州 510060)

摘要:【目的】应用新型云芝多糖-B(CVPs-B)作用食管鳞癌 Eca109 细胞,探讨其对 Eca109 细胞转移特性的作用。【方法】Western blot 检测 CVPs-B 作用后,食管鳞癌 Eca109 细胞 CXCL12 蛋白表达的变化,Transwell 侵袭实验评估食管癌细胞侵袭能力的变化,MTT 法观察食管癌细胞与 Matrigel 胶黏附能力的变化,划痕法检测食管癌细胞迁移能力的变化。【结果】实验组 Eca109 细胞 CXCL12 蛋白表达水平较对照组显著降低($P < 0.05$)。CVPs-B 孵育后,食管癌 Eca109 细胞黏附、侵袭及迁移能力下降。【结论】CVPs-B 降低食管癌细胞 CXCL12 蛋白表达,有效抑制食管癌 Eca109 细胞的转移潜能,提示 CVPs-B 可能可以通过 CXCL12/CXCR4 通路抑制食管鳞癌细胞转移特性。

关键词:食管癌;CVPs-B; CXCL12/CXCR4;转移

中图分类号:R734.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2013)03-0339-06

Effects of CVPs-B on Metastatic Characteristics of Human Esophageal Carcinoma Cell Line Eca109

WANG Dao-Feng¹, Xiao-Dong Li², Ning lou¹

(1. Department of ICU; 2. Department of Thoracic Surgery, State Key Laboratory of Oncology in South China// Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou, 510060, China)

Abstract:【Objective】The aim of this study was to explore the effects of Coriolus versicolor polysaccharide-B (CVPs-B) on the metastatic characteristics of human esophageal carcinoma cell line Eca109 in vitro.【Methods】The expression of CXCL12 in the cell line Eca109 was detected by Western blot. The adhesive ability of Eca109 cells to extracellular matrix matrigel was evaluated by MTT assay. The invasive ability of Eca109 cells was measured by Transwell experiment. The locomotion ability of Eca109 cells was measured by scrape assay.【Results】Compared with control group, CXCL12 protein expression in experimental group was down-regulated ($P < 0.05$). Meanwhile, the number of Eca109 cells infiltrated Transwell membrane in experimental group was decreased ($P < 0.05$). The adhesion rate of experimental group cells was significantly reduced ($P < 0.05$). The locomotion ability of experimental group cells was reduced.【Conclusion】CVPs-B can reduced expression of CXCL12 protein in esophageal carcinoma cells. It can inhibit metastatic potential of Eca109 cells. CVPs-B maybe inhibit the transfer characteristics of squamous cell carcinoma of the esophagus through the CXCL12/CXCR4 pathway.

Key words: esophageal carcinoma; CVPs-B; CXCL12/CXCR4 pathway; metastatic potential

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2013, 34(3): 339-344]

食管癌是一种常见的消化道恶性肿瘤,具有发展快、易于转移等特征,食管癌细胞早期即可侵犯黏膜下层及肌层,从而侵犯食管周围组织,造成手术根治困难及术后的复发和转移。可见,由于食管癌发展的特点,导致食管癌细胞容易出现局部

及远处的转移是其治疗失败的重要原因之一。我们既往研究^[1]显示食管癌细胞的生物学行为在某些方面与炎症反应具有相同机制,同样受到 CXCL12/CXCR4 等炎症趋化因子通路的影响。Wasser 的研究^[2]提出云芝多糖可作用于黑色素

收稿日期:2012-10-25

基金项目:广东省自然科学基金(S2011040004502);广东省科技计划项目(2010B030700051)

作者简介:汪道峰,博士,主治医师,13610041409;E-mail:wangdf@sysucc.org.cn; *通信作者:娄宁 E-mail:wdfmch@126.com

瘤、乳腺癌结肠癌等多种肿瘤并提高组织细胞的免疫力。新近从野生云芝中提取的水溶性云芝多糖 B(CVPs-B)作为一种生物免疫调节剂,不但可以调节机体免疫及细胞氧化反应,而且还具有较强细胞炎症调节功能,可调节炎症趋化因子通路^[3]。基于上述的观点,我们设想是否可以通过 CVPs-B 作用于炎症趋化因子通路 CXCL12/CXCR4,从而调节食管癌细胞的转移特性,改善此类患者的预后。本研究通过应用 CVPs-B 作用于食管鳞癌细胞 Eca109,并观察 CVPs-B 对食管鳞癌细胞转移特性的影响。

1 材料与方 法

1.1 主要设备、细胞株与试剂

二氧化碳培养箱(SHELD-M2300,美国)、倒置显微镜(Olympus 日本)、DMSO(Sigma 美国)、96 孔培养板(Corning 美国)、6 孔培养板(Corning 美国)、FBS(杭州四季清公司 中国)、DMEM(Gibco 美国)、Transwell 细胞培养小室(Corning 美国)、Matrigel 胶(BD 美国)、CXCL12 一抗(R&D 美国)。人食管鳞癌细胞株 Eca109 由中山大学肿瘤防治中心实验室提供。

1.2 CVPs-B 制备

CVPs-B 制备方法参考文献[4]CVPs-B 经高效液相层析纯化,为单一组分,单糖成分为:Glc:Fuc:Ara:Man:Gal=13.65:5.88:4.45:2.43:1.00。CVPs-B 主要结构为 β -(1-3)-D-葡聚糖。

1.3 细胞培养与准备

Eca109 细胞在含 DMEM 的培养液(100 mL/L 胎牛血清)中,37℃、体积分数 5%CO₂、饱和湿度的条件下孵育箱中培养,待细胞培养至 85%融合使用。

1.4 Western blot 法检测 CXCL12 蛋白表达的变化

实验分为实验组及对照组,实验组细胞培养加入含 100 μ g/mL CVPs-B 培养液 100 μ L,对照组细胞培养加入培养液 100 μ L,以相应培养液调节细胞悬液浓度,将调好细胞悬液以 100 μ L/孔接种于 96 孔板,置于 37℃、体积分数 5%CO₂ 饱和湿度条件下培养 72 h,使细胞充分贴壁生长。收集两组细胞进行总蛋白提取,分光光度计测蛋白浓度、定量,样品蛋白 SDS-PAGE 电泳分离,电转至

PVDF膜上,Blocking Buffer 中孵育,加入 CXCL12 羊抗人多克隆一抗(1:1 000),4℃孵育过夜,含 Tween20 的 Tris 盐溶液室温下洗 2 次,每次 10 min,加入兔抗羊二抗(1:2 000),室温下摇床孵育 1 h,放入含 Tween20 的 Tris 盐溶液室温下洗 4 次,每次 10 min。暗室曝光, β -actin 为内参,X 线片进行灰度扫描,计算 CXCL12 的相对表达量,CXCL12 相对表达量=CXCL12 灰度值/ β -actin 灰度值。

1.5 食管鳞癌 Eca109 细胞体外侵袭能力测定

实验分对照组及不同浓度实验组,不同浓度实验组细胞分别加入含 50 μ g/mL、100 μ g/mL 及 200 μ g/mL CVPs-B 培养液 100 μ L,对照组细胞培养加入培养液 100 μ L,以相应培养液调节细胞悬液浓度培养 72 h。在带有微孔的聚碳酸酯膜的 Transwell 小室上铺 25 μ g Matrigel 胶,取培养后 72 h 的各组细胞消化,用培养液调成密度为 5×10^4 /mL 的细胞悬液,每孔各取 200 μ L 加入上室,下室加入含 DMEM(10%胎牛血清)细胞培养液在 37℃、体积分数 5% CO₂ 和饱和湿度下共同孵育 24 h,每组设 3 个平行样本,取出滤膜,用生理盐水清洗,擦净上室面细胞,40 g/L 多聚甲醛溶液固定 30 min,吹干,0.1%结晶紫中染色 30 min,PBS 液洗两遍,镜下观察。400 倍光镜下随机选取 10 个视野,计数滤过膜下室面细胞数。每孔设 3 个复孔,实验重复 3 次。

1.6 食管鳞癌 Eca109 细胞体外黏附能力测定

实验分对照组及不同浓度实验组,不同浓度实验组细胞分别加入含 50 μ g/mL、100 μ g/mL 及 200 μ g/mL CVPs-B 培养液 100 μ L,对照组细胞培养加入培养液 100 μ L,以相应培养液调节细胞悬液浓度培养 72 h。无血清培养液稀释 Matrigel 胶至 0.04 mg/mL,96 孔板至于冰上并每孔加入 8 μ g 已稀释的 Matrigel 胶,冷冻干燥,置 37℃、体积分数 5% CO₂ 孵育 1 h,加入 10%胎牛血清 200 μ L,包被备用。取各组细胞消化后,用细胞培养液调整各组细胞浓度为 5×10^5 /mL,每孔加入培养液 200 μ L,摇床轻摇 5 min,置于 37℃、体积分数 5% CO₂ 孵育 2 h,弃细胞培养液,PBS 液轻洗 3 次,每次轻摇 3 min,洗去各孔中未黏附的细胞;每孔加入 0.4 g/L MTT 100 μ L,轻摇 5 min,细胞培养箱培养 4 h,吸去 MTT 液,加入二甲亚砜 200 μ L,轻摇 10 min,酶标仪检测(490 nm)。每组设 3 个复孔,实验重复 3

次。黏附率=黏附细胞酶标仪检测值(490nm)/总细胞酶标仪检测值(490nm)。

1.7 食管鳞癌 Eca109 细胞体外迁移能力测定

实验分为实验组及对照组,不同浓度实验组细胞分别加入含 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CVPs-B 培养液 100 μL ,对照组细胞培养加入培养液 100 μL ,以相应培养液调节细胞悬液浓度,将调好细胞悬液以 100 μL /孔接种于六板孔中。37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2 及饱和湿度下的条件培养,细胞长至 90%时,弃原培养基,以 100 μL 枪头划痕。PBS 液清洗,去 PBS 液后即时快速拍照。两组以相应培养液培养,每日拍摄照片。拍摄照片前吸出培养基,生理盐水清洗后拍摄,拍摄结束后将培养基移入 6 孔板。放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2 及饱和湿度下继续培养,观察不同组食管鳞癌细胞迁移爬满六孔板的时间。

1.8 统计学方法

Western blot 所得相应的条带,采用图像分析软件进行扫描。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS10.0 软件处理,独立样本均数间的比较采用 T 检验。

2 结果

2.1 CVPs-B 对 CXCL12 蛋白的抑制

Western blot 法检测 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CVPs-B 作用 72 h 两组细胞 CXCL12 蛋白表达情况。实验组 CXCL12 蛋白相对值为 (42.6 \pm 2.4)%, 对照组为

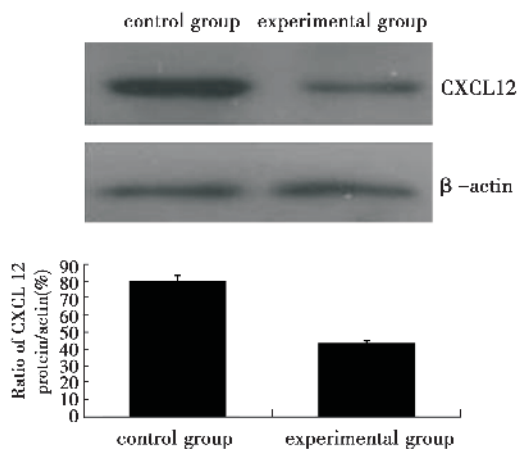


图1 Western blot 检测两组细胞 CXCL12 蛋白表达
Fig.1 Western blot analysis of CXCL12 protein levels in two group cells

(80.2 \pm 3.2)%, 差异明显 ($P < 0.05$), 见图 2。

2.2 食管癌细胞侵袭能力的改变

各组细胞培养 72 h 后,通过显微镜观察各组食管癌细胞穿过仿人基底膜的细胞数。400 倍下 10 个视野,CVPs-B 浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 实验组穿膜细胞数分别为 45.89 \pm 8.56、35.90 \pm 7.87 及 20.74 \pm 4.76, 对照组为 83.77 \pm 11.52。实验组侵袭能力较控制组减弱 ($P < 0.01$), 并随着培养液 CVPs-B 浓度上升,穿膜细胞数减少(图 3)。

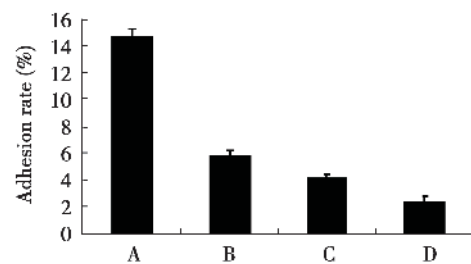


图3 黏附试验检测细胞黏附能力
Fig.3 Cell adhesion potential detected with adhesion assay

A: control; B: CVPs-B (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$); C: CVPs-B (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$); D: CVPs-B (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

2.3 鳞癌细胞黏附能力的改变

对照组及培养液 CVPs-B 浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 各组细胞黏附率分别为 (14.6 \pm 0.6) %、(5.8 \pm 0.4) %、(4.1 \pm 0.3) % 及 (2.3 \pm 0.5) %, 实验组黏附能力较控制组减弱 ($P < 0.01$), 并随培养液 CVPs-B 浓度上升而下降。

2.4 鳞癌细胞迁移能力的改变

对照组及培养液 CVPs-B 浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 各组细胞迁移爬满六孔板的时间分别为 5、6、7 和 8 d, 实验组迁移能力较控制组弱, 并随培养液 CVPs-B 浓度上升而下降(图 4)。

3 讨论

食管鳞癌具有高侵袭及高转移的特性,肿瘤细胞早期即易于发生黏膜下侵犯,并通过食管黏膜及黏膜下广泛的淋巴管网、血管网发生浸润、外侵及远处转移。相关的研究^[5-6]显示:食管鳞癌发

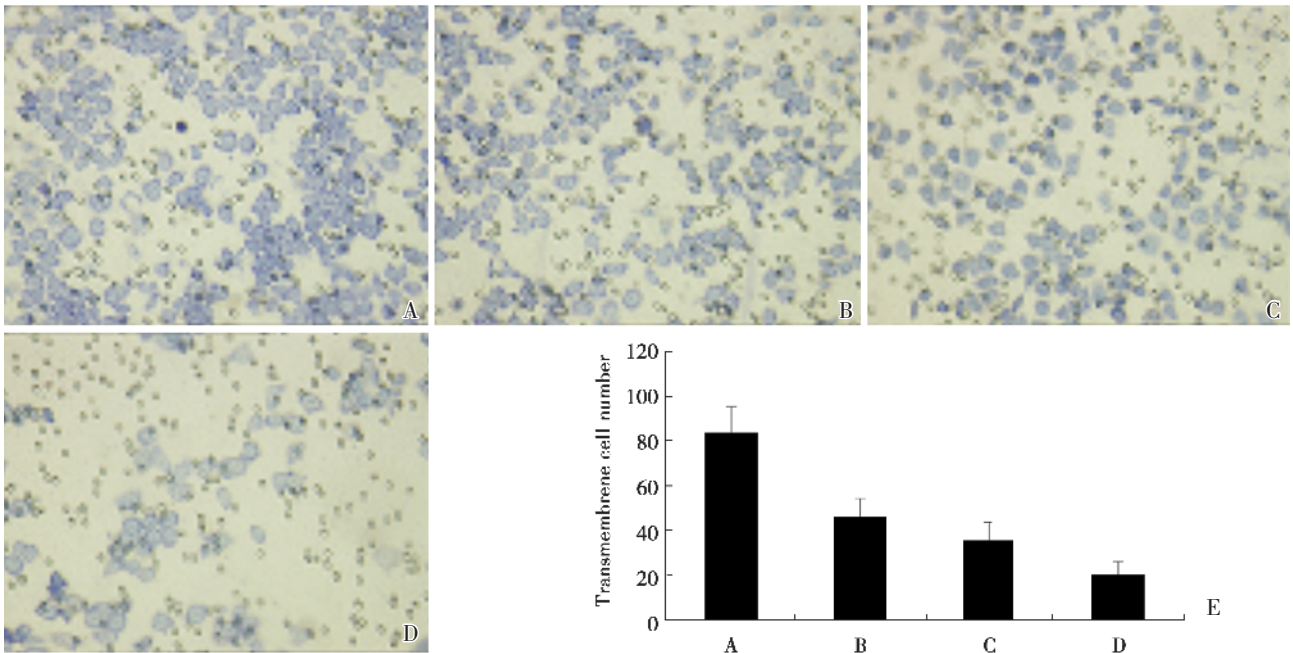


图 2 Transwell 小室检测细胞侵袭能力(× 200)

Fig.2 Cell invasion detected with transwell chambers (× 200)

A: control group; B: CVPs-B (50 μg/mL); C: CVPs-B (100 μg/mL); D: CVPs-B (200 μg/mL)

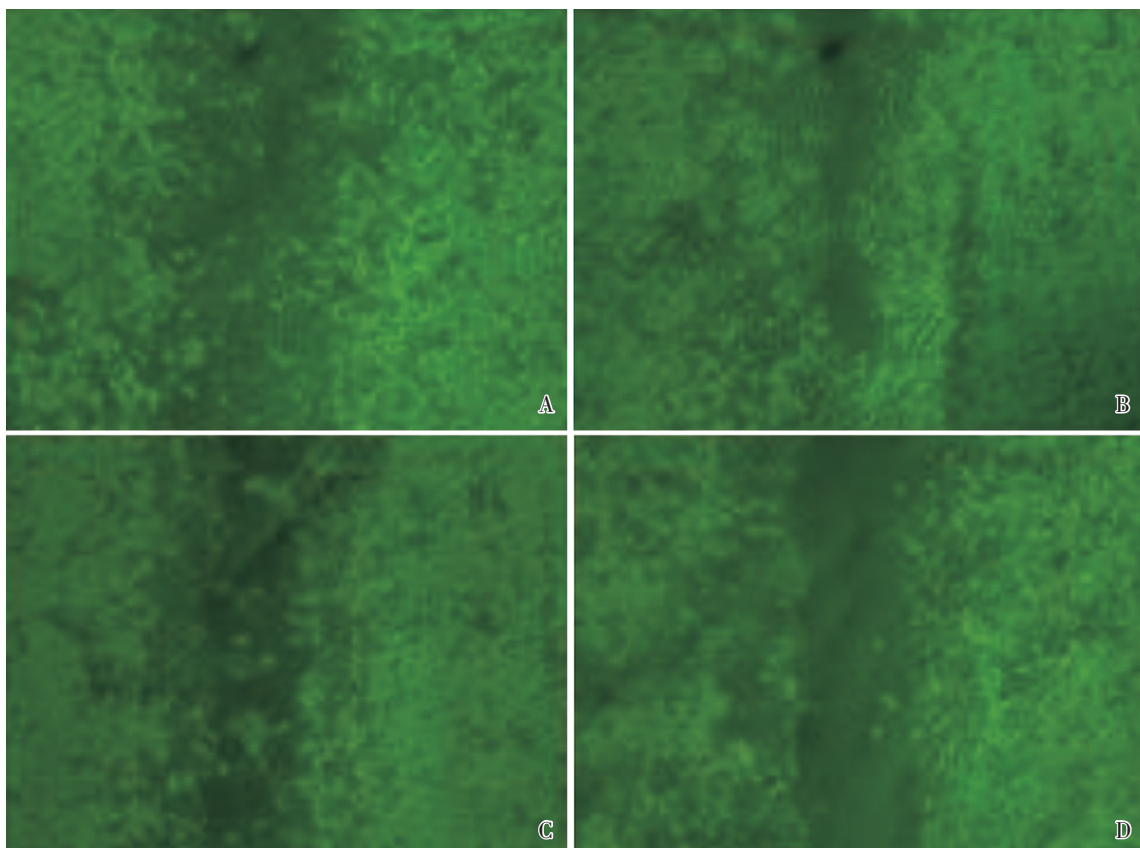


图 4 划痕试验检测细胞迁移能力(×200)

Fig.4 Cell locomotion detected with scrape assay (×200)

A: control; B: CVPs-B (50 μg/mL); C: CVPs-B (100 μg/mL); D: CVPs-B (200 μg/mL).

展及转移等生物学行为与炎症趋化因子通路密切相关,其他肿瘤亦有相关研究报道^[7-8]。既往研究提示^[6]从香菇类提取多糖类物质可有效抑制癌细胞的发展及转移,CVPs-B 属于此类蛋白结合多糖,亦是一种类肝素物质,通过高效液相层析从野生云芝中提取纯化。有研究^[10-11]显示 CVPs-B 可导致巨噬细胞表面的糖胺聚糖(glycosaminoglycans, GAGs)表达下调,从而可以影响炎症趋化因子的表达。CVPs-B 能否通过作用于炎症趋化因子从而影响食管鳞癌细胞转移特性,现仍处于实验研究阶段。本研究通过 CVPs-B 作用于食管鳞癌细胞,观察其对食管鳞癌细胞转移特性的影响。

癌细胞的转移过程是多步骤多因素参与的过程,本研究从转移的三个重要步骤:侵袭、黏附及迁移来探讨 CVPs-B 通过 CXCL12/CXCR4 通路对食管鳞癌细胞转移特性的影响。侵袭是肿瘤发展及转移过程中重要的阶段,有研究^[12]显示:在肝癌细胞,CXCL12 可通过重排细胞骨架继而诱导粘着斑激酶酪氨酸磷酸化,并激活 MMP-9,从而达到增强肝癌细胞的迁移及侵袭能力。Tamamura 等^[13]发现 CXCL12 抑制剂 T140 类似物在体外实验中可有效抑制 CXCL12 诱导的人乳腺癌细胞的侵袭能力,并降低乳腺癌细胞在联合免疫缺陷小鼠接种成瘤后肺转移的发生。本研究中,使用 CVPs-B 培养液孵育食管癌细胞后,实验组穿过仿人基底膜的食管癌细胞数显著少于对照组,并且随着培养液 CVPs-B 浓度上升,其穿膜细胞数呈现下降趋势,显示 CVPs-B 可抑制食管癌细胞侵袭能力。在肿瘤转移过程中,肿瘤细胞与基底膜黏附作用可协助肿瘤细胞完成从原发灶脱离并侵入及破坏基底膜的过程,CXCL12/CXCR4 通路作用可增加肿瘤细胞与细胞外基质的黏附作用^[14-15]。Sun^[16]等的研究显示 CXCL12 可使转移性前列腺癌细胞株细胞上调 $\beta 3$ mRNA 的表达,激活 $\alpha 5\beta 3$ 受体,增强细胞间的黏附力。本实验显示 CVPs-B 培养液孵育食管癌细胞后,实验组食管肿瘤细胞黏附能力明显较对照组低,并与培养液中 CVPs-B 浓度成反比关系,此结果提示 CVPs-B 可降低食管癌细胞黏附能力。肿瘤细胞的运动主要表现为伪足样的伸展、膜流动性等形式,Gao 等^[17]人的研究认为 CXCL12 重组体可激活下游区信号,活化黏着斑激酶和衔接蛋白,使基质细胞丝状肌动蛋白丝重组,从而趋化肿瘤细胞的迁移。本实验显示,在相同的

培养条件下(增殖效应相互抵消),实验组较对照组食管癌细胞的迁移速度减慢,并且随着培养液 CVPs-B 浓度上升,细胞迁移速度减慢。可见 CVPs-B 作用下抑制食管癌细胞迁移的活性,导致食管癌细胞迁移能力的下降。

炎症趋化因子可诱导和促进炎症,CXCL12 属 CXC 类趋化因子,CXCR4 是其特异性受体,本研究结果显示,趋化因子 CXCL12 在食管癌组织中有表达,既往研究^[1]表明炎症趋化因子通路 CXCL12/CXCR4 对食管癌的转移起到至关重要的作用,Sasaki 等^[18]研究则认为食管癌原发灶 CXCL12 的表达与肿瘤淋巴结转移、肿瘤分期及预后相关。相关研究^[19]亦显示:CVPs-B 可以抑制骨调素(osteopontin, OPN)基因的表达,并导致细胞表面 GAGs 的表达下调,而在炎症反应过程中趋化因子家族系列成员要实现诱导众多炎症细胞到炎症部位,其中一个重要的前提条件是需要通过趋化因子(SDF-1/CXCL12)与细胞膜上的某种 GAGs 绑定结合^[10-11]。本研究通过 CVPs-B 作用于食管癌 Eca109 细胞,检测发现,CVPs-B 可明显降低 Eca109 细胞中趋化因子 CXCL12 蛋白的表达明显下降,我们分析下调 CXCL12 的表达可能是 CVPs-B 影响食管癌细胞生物学行为的通路之一。

综上所述,CVPs-B 可能可以通过作用于炎症因子通路 CXCL12/CXCR4 从而抑制食管癌细胞的转移特性,运用 CVPs-B 抑制食管癌细胞的发展及转移可能可以为食管癌治疗提供新的方法及切入点。

参考文献:

- [1] 汪道峰, 娄宁, 曾灿光, 等. CXCL12 和 CXCR4 在食管鳞癌组织中的表达及其与预后的关系[J]. 癌症, 2009, 28(2): 187-192.
Wang DF, Lou N, Zeng CG, et al. Expression of CXCL12/CXCR4 and its correlation to prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Chin J Cancer, 2009, 28(2): 187-192.
- [2] Wasser SP. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002, 60(3): 258-274.
- [3] 娄宁, 马刚, 汪道峰, 等. 云芝多糖 B 抑制 ox-LDL 诱导巨噬细胞株单核细胞趋化蛋白-1mRNA 表达的调控机制[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(7): 1436-1438.

- Lou N, Ma G, Wang DF, et al. Effects of Coriolus Versicolor Polysaccharide B inhibited ox-LDL induced macrophage cell line of monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression regulation mechanism [J]. *Chin J Pathophysiology*, 2008, 24(7): 1436-1438.
- [4] 陈海生, 梁荣能, 徐一新. 野生云芝中水溶性多糖的分离鉴定[J]. *解放军药学学报*, 2000, 16(5): 268-270.
- Chen HS, Liang RN, Xu YX. Isolation, purification and structural characterization of an aqueous polysaccharide from natural coriolus versicolor[J]. *Pharm J Chin PLA*, 2000, 16(5): 268-270.
- [5] Sasaki K, Natsugoe S, Ishigami S, et al. Expression of CXCL12 and its receptor CXCR4 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(1): 65-71.
- [6] Jussuf T, Kaifi, Emre F, et al. Tumor-cell homing to lymph nodes and bone marrow and CXCR4 expression in esophageal cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(24): 1840-1847.
- [7] 魏梅, 梁立治, 张昌卿, 等. 宫颈腺癌细胞 CXCR4/CXCL12 过表达与淋巴结转移和慢性炎症的关系[J]. *癌症*, 2007, 26(3): 298-302.
- Wei M, Liang LZ, Zhang CQ, et al. Correlation of CXCR4/CXCL12 Overexpression to Lymph Node Metastasis and Chronic Inflammation in Cervical Adenocarcinoma [J]. *Chin J Cancer*, 2007, 26(3): 298-302.
- [8] Pils D, Pinter A, Reibenwein J, et al. In ovarian cancer the prognostic influence of HER2/neu is not dependent on the CXCR4/SDF-1 signaling pathway [J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(3): 485-491.
- [9] Wasser SP. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 60(3): 258-274.
- [10] 娄宁, 马刚, 汪道峰, 等. 云芝多糖 B 对血管紧张素 II 诱导的巨噬细胞膜糖聚糖和细胞内谷胱甘肽含量变化的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(12): 1824-1826.
- Lou N, Ma G, Wang DF, et al. Effect of Coriolus versicolor polysaccharide B on membrane glycosaminoglycans and cellular glutathione changes in RAW264.7 macrophages exposed to angiotensin II [J]. *J South Med Univ*, 2007, 27(12): 1824-1826.
- [11] McCormack MA, Cassidy CK, LiWang PJ. The binding surface and affinity of monomeric and dimeric chemokine macrophage inflammatory protein 1 beta for various glycosaminoglycan disaccharides [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(3): 1946-1956.
- [12] Sutton A, Friand V, Brulé-Donneger S, et al. Stromal cell-derived factor-1/chemokine (C-X-C motif) ligand 12 stimulates human hepatoma cell growth, migration, and invasion[J]. *Mol Cancer Res*, 2007, 5(1): 21-33.
- [13] Tamamura H, Hori A, Kanzaki N, et al. T140 analogs as CXCR4 antagonists identified as anti-metastatic agents in the treatment of breast cancer[J]. *FEBS Lett*, 2003, 550(1-3): 79-83.
- [14] Zhou J, Hu L, Cui Z, et al. Interaction of SDF-1alpha and CXCR4 plays an important role in pulmonary cellular infiltration in differentiation syndrome[J]. *Int J Hematol*, 2010, 91(2): 293-302.
- [15] Li M, Yu J, Li Y, et al. CXCR4 positive bone mesenchymal stem cells migrate to human endothelial cell stimulated by ox-LDL via SDF-1alpha/CXCR4 signaling axis[J]. *Exp Mol Pathol*, 2010, 88(2): 250-255.
- [16] Sun YX, Fang M, Wang J, et al. Expression and activation of alpha v beta 3 integrins by SDF-1/CXCL12 increases the aggressiveness of prostate cancer cells [J]. *Prostate*, 2007, 67(1): 61-73.
- [17] Gao H, Priebe W, Glod J, et al. Activation of signal transducers and activators of transcription 3 and focal adhesion kinase by stromal cell-derived factor 1 is required for migration of human mesenchymal stem cells in response to tumor cell-conditioned medium[J]. *Stem Cells*, 2009, 27(4): 857-865.
- [18] Sasaki K, Natsugoe S, Ishigami S, et al. Expression of CXCL12 and its receptor CXCR4 correlates with lymph node metastasis in submucosal esophageal cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2008, 97(5): 433-438.
- [19] 娄宁, 马刚, 汪道峰, 等. 云芝多糖 B 抑制血管紧张素 II 诱导的巨噬细胞骨调素基因上调表达[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(10): 1284-1288.
- Lou N, Ma G, Wang DF, et al. Effect of Coriolus versicolor polysaccharides B on osteopontin mRNA expression in macrophages induced by angiotensin II [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2008, 24(10): 1284-1288.