

血清 miR-25 和 miR-100 作为食管鳞状细胞癌诊断和预后标志物研究*

王 静, 王 成, 张春妮 (南京军区南京总医院检验科, 南京 210002)

摘要:目的 探讨血清 miR-25 和 miR-100 对食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的诊断和预后价值。方法 收集 2011 年 6 月~2014 年 5 月南京军区南京总医院及徐州市肿瘤医院 63 例 ESCC 患者术前、术后及随访血清,并收集 63 例年龄、性别匹配的非癌健康人血清作为对照;实时荧光定量 PCR 法检测血清 miR-25 和 miR-100 含量。用非参数 Mann-Whitney U 检验 ESCC 患者组和对照组血清 miR-25 和 miR-100 表达水平的差异,配对 *t* 检验分析 ESCC 患者术前术后血清中 miR-25 和 miR-100 的表达量变化,受试者工作特征曲线(ROC)评估血清 miR-25 和 miR-100 对 ESCC 的诊断价值,单因素 Kaplan-Meier 法分析对 ESCC 患者生存的影响。结果 与健康对照相比,ESCC 患者血清 miR-25 (0.40 ± 0.20 vs 0.02 ± 0.01)和 miR-100 的相对含量(0.10 ± 0.02 vs 0.04 ± 0.00)显著升高,差异具有统计学意义(*U* 值分别为 885.0 和 1 006.0, *P* 值均 < 0.01);血清 miR-25 和 miR-100 的 ROC 曲线下面积 AUC 均明显大于癌胚抗原;ESCC 患者术后血清 miR-100 含量较术前明显降低(0.07 ± 0.01 vs 0.10 ± 0.02),差异具有统计学意义($t = 2.367$, $P = 0.021$);单因素 Kaplan-Meier 法分析显示血清 miR-25 和 miR-100 表达阴性的 ESCC 患者的生存期明显高于阳性患者($P < 0.05$)。结论 血清 miR-25 和 miR-100 可作为 ESCC 诊断及预后评估的潜在标志物。

关键词:食管鳞状细胞癌;miR-25;miR-100;诊断;预后

中图分类号:R735.1;R730.43 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2015)05-017-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.05.006

Study on Serum miR-25 and miR-100 as Diagnostic and Prognostic Markers for Esophageal Squamous Cell Carcinoma

WANG Jing, WANG Cheng, ZHANG Chun-ni (Department of Clinical Laboratory, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China)

Abstract: **Objective** To investigate the diagnostic and prognostic values of serum miR-25 and miR-100 for esophageal squamous cell carcinoma(ESCC). **Methods** Serum samples were collected from 63 ESCC patients before and after surgery in Nanjing General Hospital and Xuzhou Cancer Hospital between June 2013 and May 2014. In the meanwhile, serum samples were collected from 63 age- and sex-matched individuals as non-cancer controls. Quantitative real-time PCR was used to detect the serum concentrations of miR-25 and miR-100. The nonparametric Mann-Whitney U-test was used to analyze the differences of miR-25 or miR-100 levels between ESCC patients and controls. Paired *t* test was used to analyze the differences of serum miR-25 or miR-100 levels of pre-or postoperative ESCC patients. ROC curve analysis was conducted to evaluate the diagnostic value of serum miR-25 and miR-100 for ESCC. Univariate Kaplan-Meier analysis was applied to assess the prognostic value of serum miR-25 and miR-100 on the survival of patients with ESCC. **Results** Compared with controls, serum levels of miR-25 and miR-100 in ESCC patients were significantly increased (0.40 ± 0.20 vs 0.02 ± 0.01 , $U = 885.0$, $P < 0.01$; 0.10 ± 0.02 vs 0.04 ± 0.00 , $U = 1 006.0$, $P < 0.01$, respectively). ROC curve analysis showed that the areas under the ROC curves of serum miR-25 and miR-100 for ESCC were larger than that of carcinoembryonic antigen. Serum miR-100 was significantly declined in postoperative ESCC patients as compared to preoperative patients (0.07 ± 0.01 vs 0.10 ± 0.02 , $t = 2.367$, $P = 0.021$). Univariate Kaplan-Meier analysis showed that ESCC patients with low levels of miR-25 and miR-100 in their serum exhibited higher survival rates than those with high levels. **Conclusion** Serum miR-25 and miR-100 could be used as potential diagnostic and prognostic markers of ESCC.

Keywords: esophageal squamous cell carcinoma; miR-25; miR-100; diagnosis; prognosis

食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是我国常见的恶性肿瘤之一,其发病率居我国肿瘤第二位,死亡率居第四位。ESCC 发病机制目前尚不清楚,患者早期临床症状不

明显,而现有的诊断方法难以实现早期诊断,临床治疗效果和中位生存期都不令人满意,预后极差,5 年生存期仅 30%。目前已有一些蛋白指标如癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)和鳞状细胞

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81171661)。

作者简介:王 静(1983-),女,本科,技师,从事临床医学检验工作, E-mail: wjing0605@sina.com。

通讯作者:张春妮(1963-),女,博士,主任技师,博士生导师,主要研究方向:临床检验诊断学, E-mail: zchunni27@hotmail.com。

癌抗原等肿瘤标志物应用于临床,但其对 ESCC 诊断的敏感度和特异度仍不尽如人意^[1]。因此,寻找 ESCC 新的诊断标志物迫在眉睫。

微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类长约 22 个核苷酸的非编码单链小核糖核酸分子,通过与靶 mRNA 3'端非翻译区完全或部分互补结合,导致靶 mRNA 降解或转录后翻译抑制,在转录后水平调控靶基因表达^[2]。miRNA 参与绝大多数生理病理过程,与肿瘤的发生、发展密切相关^[3]。本课题组与其他实验室的前期研究发现^[4],人血清中存在稳定而丰富表达的 miRNA,ESCC 患者血清 miRNA 表达谱与健康人存在显著差异,有望成为新的肿瘤分子标志物。然而,目前关于血清 miRNA 在 ESCC 治疗前后变化及其与患者预后关系研究较少,血清 miRNA 作为 ESCC 患者疗效及预后判断指标的临床价值尚不明确。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2011 年 6 月~2014 年 5 月在南京军区南京总医院及徐州市肿瘤医院初诊的 ESCC 患者 63 例,所有患者均行肿瘤切除术治疗且按 WHO 病理组织学诊断依据确诊,ESCC 患者若并发急性感染或其他类型的肿瘤被排除出本研究。随访至患者死亡或截止 2013 年 7 月 31 日。随访患者中男性 55 例,女性 8 例,平均年龄 62.0 ± 8.3 岁,平均随访时间为 19.1 ± 3.7 月。同时收集在南京军区南京总医院健康体检中心进行体检的年龄、性别与患者基本匹配的健康人 63 例作为对照组,其中男性 55 例,女性 8 例,平均年龄 59.7 ± 6.8 岁。所有参与者签订知情同意书且经各自医院伦理委员会批准。

采集 ESCC 患者术前、术后 7~10 天及健康对照空腹静脉血 3 ml,室温 3 000 r/min 离心 5 min,收集血清,随后 4℃,10 000 r/min 离心 5 min,进一步去除残留的血细胞。血清置-80℃保存。

1.2 试剂和仪器 Trizol(美国 Invitrogen 公司),酸性水饱和酚(南京大治生物公司);氯仿,异丙醇,无水乙醇(上海化学试剂有限公司);DEPC 水(南京凯基生物有限公司);引物,反向互补探针(美国 Applied Biosystem 公司);qRT-PCR 试剂盒(大连 TaKaRa 公司);血清 CEA 测定试剂盒(美国 Beckman Coulter 公司);7300 型荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystem 公司);1612-1 型高速离心机(上海医疗器械集团有限公司);5418 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.3 方法

1.3.1 血清 RNA 提取: qRT-PCR 所需血清 RNA 提取参照文献^[5]采用苯酚-氯仿抽提法从

100 μ l 血清中提取 RNA。

1.3.2 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR): 基于 TaqMan 水解探针的 qRT-PCR 方法检测血清标本中 miR-25 和 miR-100 水平。qRT-PCR 所用引物及探针由美国 ABI 公司设计并合成。血清 RNA 逆转录反应总体系为 10 μ l,包括 DEPC 处理的重蒸馏水(ddH₂O) 3.5 μ l,5×PCR 缓冲液 2 μ l,10 mmol/L dNTP 1 μ l,上、下游引物 1 μ l,逆转录酶 0.5 μ l,RNA 2 μ l。反应参数:16℃ 30 min,42℃ 30 min,85℃ 5 min,4℃保存。qRT-PCR 总反应体系为 20 μ l,包括 10×PCR 缓冲液 2 μ l,25 mmol/L MgCl₂ 1.2 μ l,10 mmol/L dNTPs 0.4 μ l,Taq 酶 0.3 μ l,探针 0.33 μ l,cDNA 1 μ l 和 DEPC 处理的 ddH₂O 14.77 μ l。循环参数:95℃ 5 min;95℃ 15 s,60℃ 1 min(收集荧光),共 40 个循环。以经过 DEPC 处理的 ddH₂O 作为阴性对照。每个样本检测 3 个复孔。程序运行结束后,设定统一阈值,用仪器自带 SDS 2.0 分析软件对扩增曲线进行分析,获得循环数(Cq 值),计算 miR-25 和 miR-100 相对含量。本研究用三个内源性 miRNA(let-7d: 5'-AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU-3',let-7g: 5'-UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU-3'和 let-7i: 5'-UGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUU-3')的三联体(let-7d/g/i)作为内参基因进行校正后分析^[6],miR-25 和 miR-100 相对含量计算采用 $2^{-\Delta\Delta Cq}$ 法,其中 $\Delta Cq = Cq_{(miR-25 或 miR-100)} - Cq_{(let-7d/g/i)}$, $\Delta\Delta Cq = \Delta Cq_{ESCC} - \Delta Cq_{对照}$ 。

1.3.3 血清 CEA 含量的测定:血清 CEA 含量测定按 Access CEA 试剂盒(美国 Beckman Coulter 公司)说明书操作,用 UniCel™ DxI800 Access® Immunoassay System 放射免疫分析仪(美国 Beckman Coulter 公司)测定。

1.4 统计学分析 用 SPSS 16.0 统计软件进行数据统计分析。对数据进行正态分布检验,miR-25,miR-100 相对含量以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,其他计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用非参数 Mann-Whitney U 检验或 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。建立 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC)的区域评估血清 miR-25 和 miR-100 对 ESCC 的诊断价值。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线评估血清 miR-25 和 miR-100 对 ESCC 预后判断价值。

2 结果

2.1 血清 miR-25 和 miR-100 qRT-PCR 检测结果 与健康对照相比,63 例 ESCC 患者血清 miR-25 相对含量(0.40 ± 0.20 vs 0.02 ± 0.01)和 miR-100 相对含量(0.10 ± 0.02 vs 0.04 ± 0.00)显著升

高, U 值分别为 885.0 和 1 006.0, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 ROC 曲线分析血清 miR-25 和 miR-100 对 ESCC 的诊断价值 运用 ROC 曲线分析血清 miR-25 和 miR-100 对 ESCC 的诊断价值, 结果显示, miR-25 检测 ESCC 的 ROC 曲线下面积 AUC_{ROC} 为 0.777 (95% CI, 0.7~0.86); miR-100 检测 ESCC 的 ROC 曲线下面积 AUC_{ROC} 为 0.747 (95% CI, 0.66~0.83)。当 cut off 值为 0.012 时,

miR-25 诊断 ESCC 的敏感度和特异度分别为 81% 和 68.3%。当 cut off 值为 0.042 时, miR-100 诊断 ESCC 的敏感度和特异度分别为 76.2% 和 65.1%。CEA 的 AUC_{ROC} 仅为 0.60 (95% CI, 0.47~0.72), 当 cut off 值为 $1.85 \mu\text{g/L}$ 时, CEA 诊断 ESCC 的特异度为 96.4%, 而敏感度仅为 46%。上述结果提示血清 miR-25 和 miR-100 对 ESCC 诊断的准确度均大于 CEA, 主要表现在具有较高的敏感度, 结果见图 1。

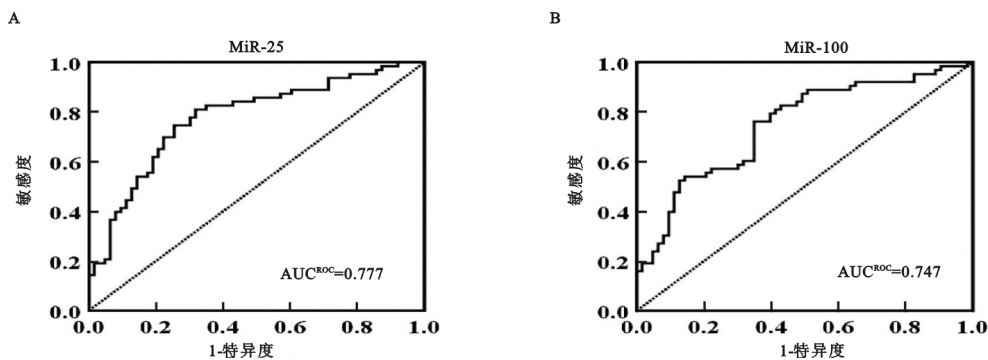


图1 血清 miR-25 和 miR-100 诊断 ESCC 的 ROC 曲线分析

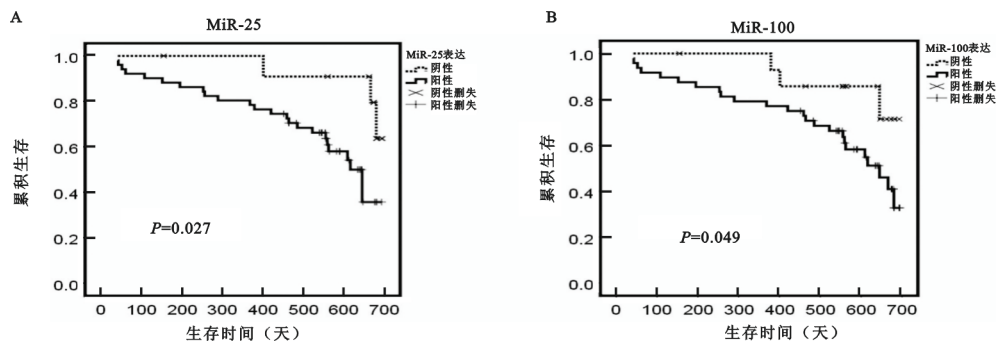
2.3 手术前后患者血清 miR-25 和 miR-100 含量的变化 比较 63 例患者术前的与术后血清标本中的 miR-100 相对含量, 结果显示, ESCC 患者术后 miR-100 含量为 0.07 ± 0.01 , 较术前 (0.10 ± 0.02) 明显降低, 差异有统计学意义 ($t = 2.367, P = 0.021$); ESCC 患者术后 miR-25 (0.08 ± 0.02) 较术前 (0.40 ± 0.20) 也呈下降趋势, 但差异无统计学意义 ($P = 0.072$), 结果见表 1。

2.4 血清 miR-25 和 miR-100 表达水平与 ESCC 患者预后的关系 为进一步评估血清 miR-25 和 miR-100 对 ESCC 患者预后判断价值, 以 ESCC 患者血清 miR-25 相对含量的 cut off 值 0.012 为界值, 将 63 例 ESCC 患者分为两组: miR-25 阴性组 (相对含量 0.006 ± 0.001) 12 例, miR-25 阳性组 (相对含量 0.488 ± 0.237) 51 例; 以 ESCC 患者血清 miR-100 相对含量的 cut off 值 0.042 为界值,

将 63 例 ESCC 患者分为两组: miR-100 阴性组 (相对含量 0.031 ± 0.003) 15 例, miR-100 阳性组 (相对含量 0.126 ± 0.021) 48 例。进一步运用单因素 Kaplan-Meier 法分析血清 miR-25 和 miR-100 含量对 ESCC 患者生存的影响。结果显示, miR-25 阴性组平均生存期为 601.7 ± 163.8 天, miR-25 阳性组平均生存期为 483.1 ± 188.4 天。miR-100 阴性组平均生存期为 551.8 ± 148.1 天, miR-100 阳性组平均生存期为 491.3 ± 198.8 天。血清 miR-25 和 miR-100 表达阴性的 ESCC 患者的生存期明显高于阳性患者 ($P < 0.05$), 结果见图 2。

表1 食管鳞癌患者术前和术后 miR-25 和 miR-100 含量变化 ($\bar{x} \pm s$)

| miRNA | ESCC | | t 值 | P 值 |
|---------|-----------------|-----------------|-------|-------|
| | 术前 | 术后 | | |
| miR-25 | 0.40 ± 0.19 | 0.08 ± 0.02 | 1.829 | 0.072 |
| miR-100 | 0.10 ± 0.02 | 0.07 ± 0.01 | 2.367 | 0.021 |



注: 删失即失访, 受试者自身原因导致的随访中止

图2 ESCC 血清 miR-25 和 miR-100 表达水平与 ESCC 患者预后的关系

3 讨论 食管鳞状细胞癌(ESCC)由食管上皮的渐进性间变发展而来,是抑癌基因失活、癌基因激活、基因组不稳定等共同作用的结果,其发病率和死亡率居于我国常见肿瘤前列,预后较差,目前临床尚缺乏有效的 ESCC 诊断和预后非侵入性生物标志物。miRNA 存在于各种真核生物中,其主要通过促进靶 mRNA 的降解或翻译抑制过程而发挥调控作用,广泛参与细胞增殖、凋亡、代谢及分化等过程。随着对 miRNA 研究的不断深入,近年来发现 miRNA 作为一种基因表达调控因子,其异常表达与肿瘤的发生、发展有着极为密切的关系^[7]。miRNA 与食管癌(包括鳞癌和腺癌)的发生和发展也关系密切,食管癌组织 miRNA 表达谱与癌旁正常组织有明显差异。通过研究这些表达差异的 miRNA 有助于进一步阐明食管癌的发病机制并有助于食管癌的检测、诊断、治疗和预后判断^[8]。血清中存在稳定而丰富的 miRNA,并且检测血清中 miRNA 的含量对于患者无创性,更利于临床的广泛应用。我们前期已经报道了 7 种 miRNA(包括 miR-100)在 ESCC 患者血清中显著上调,是 ESCC 潜在的生物标志物。我们最新研究发现,miR-25 在 ESCC 患者血清中也显著上调,进一步的生存分析显示,miR-25 和 miR-100 在术后 ESCC 患者血清中明显降低,且与 ESCC 患者预后密切相关。结合前期研究基础,我们认为 miR-25 和 miR-100 可作为 ESCC 患者诊断、手术疗效和预后判断新指标。

血清 miRNA 的准确定量对于血清 miRNA 的临床价值研究至关重要,而一个好的内参的选择是准确定量法计算的关键,但目前对于选择何种内源性参照基因来定量血清 miRNA 尚无定论。本研究等体积混合三个内源性 miRNAs(let-7d, let-7g 和 let-7i),即得到 let-7d/g/i,作为内参基因来测定 ESCC 血清 miRNA 水平。大量研究发现,不同病人血清中 let-7d/g/i 表达水平与正常人相比高度一致,且显著优于常用的内参基因 U6, RNU44, RNU48 和 miR-16^[6]。该内参的使用大大提高了血清 miRNAs 结果的重复性和可靠性,保证了实验数据的准确度。

外周血循环 miRNA 的来源和功能目前尚不清楚。最新研究显示,在肿瘤状态下血循环中的 miRNA 可能主要来自于癌组织细胞的主动分泌,并通过外泌体、微小体等载体进行细胞间的交流:传送到癌细胞微循环中的其他受体细胞中;或通过血循环传送到其他组织细胞,影响这些细胞的功能,促进肿瘤的发展^[3]。由此可见,血循环 miRNA 表达及特征性变化极可能与肿瘤的发生、发展存在

着必然联系。因此,研究血清 miRNA 也将有助于阐明肿瘤发生、发展机制。

miRNAs 在肿瘤组织中的表达方式和功能研究有助于评价其作为血清中生物标记物在患者临床诊断应用的价值。有研究表明,与癌旁正常组织相比,miR-25 在 ESCC 组织中的表达上调且与其淋巴结转移和 TNM 分期密切相关^[9,10]。miR-25 能抑制肿瘤代谢抑制因子 CDH1 的表达从而显著提高 ESCC 细胞转移和侵袭能力^[11]。本实验采用 qRT-PCR 法检测发现 miR-25 和 miR-100 在 ESCC 患者血清中的含量显著升高。进一步 ROC 曲线分析显示,miR-25 和 miR-100 对 ESCC 诊断的曲线下面积,敏感度和特异度明显高于现有临床指标 CEA,提示 miR-25 和 miR-100 可作为 ESCC 新的潜在的诊断标志物。有报道称 miR-25 在未经手术治疗的 ESCC 患者血清中的表达也显著升高,这与本研究的结果一致。分析 ESCC 患者术前、术后 miR-25 含量变化,发现术后明显降低,因此,miR-25 对 ESCC 的手术疗效有指示意义。报道^[11]显示 miR-100 在 ESCC 手术切除样本和细胞系中表达下调,扮演“抑癌 miRNA”的作用,与 ESCC 的代谢和侵袭相关。miR-100 可抑制 ESCC 细胞系中的癌基因哺乳动物雷帕霉素蛋白的表达从而抑制 ESCC 细胞的增殖。在未经手术治疗的 ESCC 患者血清中 miR-100 是上调的,然而 ESCC 患者血清和组织中 miR-100 表达变化不一致原因尚需进一步研究。本实验对 63 例未经手术治疗的 ESCC 患者与其术后和健康对照组比较,前者 miR-100 表达水平显著高于后者,进一步证明 miR-100 可以作为 ESCC 患者血清中的生物标志物来作临床诊断和预后判断。我们前期结果发现,除 miR-25 和 miR-100 外,还有多个 miRNA 在 ESCC 患者血清中表达异常。因此我们将进一步对这些 miRNA 进行验证。把异常变化的多种血清 miRNAs 组合在一起联合检测,将有效提高 ESCC 尤其是早期癌症诊断的准确度。

本研究结果显示,miR-25 和 miR-100 对 ESCC 具有诊断和预后判断的潜能,是该病潜在的无创性分子标志物。但我们研究也存在样本量还不够大,随访时间相对较短等不足,下一步我们将扩大研究的病例数,进行长期随访以全面评估 miR-25 和 miR-100 对 ESCC 患者的临床应用价值,为该病的诊治提供新的手段和思路。

参考文献:

- [1] Ward DG, Suggett N, Cheng Y, et al. Identification of serum biomarkers for colon cancer by proteomic analysis[J]. Br J Cancer, 2006, 94(12): 1898-1905.

- [2] Graves P, Zeng Y. Biogenesis of mammalian microRNAs: a global view[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2012, 10(5): 239-245.
- [3] Price C, Chen J. MicroRNAs in cancer biology and therapy: current status and perspectives[J]. *Genes Dis*, 2014, 1(1): 53-63.
- [4] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. *Cell Res*, 2008, 18(10): 997-1006.
- [5] Liu R, Zhang C, Hu Z, et al. A five-microRNA signature identifies from genome-wide serum microRNA expression profiling serves as a fingerprint for gastric cancer diagnosis[J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(5): 784-791.
- [6] Chen X, Liang H, Guan D, et al. A combination of let-7d, let-7g and let-7i serves as a stable reference for normalization of serum microRNAs[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79652.
- [7] Heneghan HM, Miller N, Lowery AJ, et al. Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer[J]. *Ann Surg*, 2010, 251(3): 499-505.
- [8] 王成, 张春妮. 微小核糖核酸对食管癌的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2011, 24(6): 646-650.
- Wang C, Zhang CN. Research progress about microRNAs and its potential use for the detection, diagnosis, therapy and prognosis of esophageal cancer[J]. *Journal of Medical Postgraduates*, 2011, 24(6): 646-650.
- [9] Xu X, Chen Z, Zhao X, et al. MicroRNA-25 promotes cell migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 421(4): 640-645.
- [10] Guo Y, Chen Z, Zhang L, et al. Distinctive microRNA profiles relating to patient survival in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(1): 26-33.
- [11] Sun J, Chen Z, Tan X, et al. MicroRNA-99a/100 promotes apoptosis by targeting mTOR in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(1): 411.
- 收稿日期: 2015-05-05
修回日期: 2015-06-02

(上接 16 页)

- Huang K, Huang SL, Pan JX, et al. Protection of hematopoietic stem cells by MIP-1 α and PF4 against the cytotoxicity of chemotherapeutic[J]. *Chin J Hematol*, 2000, 21(7): 355-358.
- [13] Abu El-Asrar AM, Mohammad G, Nawaz MI, et al. The Chemokine platelet factor-4 variant (PF4var)/CXCL4L1 inhibits diabetes-induced blood-retinal barrier breakdown[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(3): 1956-1964.
- [14] Gupta SK, Hassel T, Singh JP. A potent inhibitor of endothelial cell proliferation is generated by proteolytic cleavage of the chemokine platelet factor 4[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(7): 7799-7803.
- [15] Li XK, Jiang LJ, Wang Y, et al. Inhibition of angiogenesis by a novel small peptide consisting of the active fragments of platelet factor-4 and vasostatin[J]. *Cancer Letters*, 2007, 256(1): 29-32.
- [16] Sandset PM. CXCL4-platelet factor 4, heparin-induced thrombocytopenia and cancer[J]. *Thrombosis Research*, 2012, 129(Suppl 1): S97-S100.
- [17] Kowalska MA, Rauova L, Poncz M. Role of the platelet chemokine platelet factor 4 (PF4) in hemostasis and thrombosis[J]. *Thrombosis Research*, 2010, 125(4): 292-296.
- [18] 王红梅, 田晶晶, 段生宝, 等. 肝素诱导血小板减少症抗体的酶联免疫吸附检测方法研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2014, 29(6): 65-68.
- Wang HM, Tian JJ, Duan SB, et al. Application of ELISA in detecting heparin-induced thrombocytopenia antibodies[J]. *J Mod Lab Med*, 2014, 29(6): 65-68.
- [19] Pilatova K, Greplova K, Demlova R, et al. Role of platelet chemokines, PF-4 and CTAP-III, in cancer biology[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2013(6): 42.
- [20] Peterson JE, Zurakowski D, Italiano JE, et al. VEGF, PF4 and PDGF are elevated in platelets of colorectal cancer patients[J]. *Angiogenesis*, 2012, 15(2): 265-273.
- [21] 康虹阳, 邵会媛, 张伶. 血小板第4因子的抗肿瘤发生机制及其生物学检测[J]. *生命的化学*, 2010, 30(2): 318-321.
- Kang HY, Shao HY, Zhang L. The tumor regulating mechanism and the detection of PF4[J]. *Chemistry of Life*, 2010, 30(2): 318-321.
- [22] Maione TE, Gray GS, Petro J, et al. Inhibition of angiogenesis by recombinant human platelet factor-4 and related peptides[J]. *Science*, 1990, 247(4938): 77-79.
- [23] Lippi G, Favaloro EJ. Recombinant platelet factor 4: A therapeutic, anti-neoplastic chimera[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2010, 36(5): 558-569.
- 收稿日期: 2015-05-06
修回日期: 2015-06-27