

NRP2 及 miR-486-5p 在胃癌中的表达及临床意义

连海峰¹, 李明¹, 刘成霞¹, 贾兴芳¹, 李丹², 吴小翎³

(1. 滨州医学院附属医院消化内科, 滨州 256603; 2. 滨州医学院护理学院, 滨州 256603;

3. 重庆医科大学附属第二医院消化内科, 重庆 400010)

【摘要】目的:检测神经纤毛蛋白-2(neuropilin-2, NRP2)和 miR-486-5p 在胃癌组织中的表达,探讨其与胃癌淋巴结转移的关系。**方法:**收集 65 例胃癌组织及其配对癌旁正常粘膜组织,免疫组织化学法检测组织中 NRP2 的表达,real-time PCR 检测 miRNA-486-5p 的表达,免疫组织化学法检测 D2-40 标记的微淋巴管密度(microlymphatic density, MLD),统计分析 NRP2、miR-486-5p 的表达与 MLD 相关性。**结果:**免疫组化提示 NRP2 在肿瘤中表达增高(78.5% vs. 29.2%, $\chi^2=16.046$, $P=0.000$),且与淋巴结转移密切相关($\chi^2=7.222$, $P=0.007$)。real-time PCR 结果显示肿瘤组织 miR-486-5p 表达明显下调(0.39 ± 0.16 vs. 1.00 ± 0.06 , $P=0.000$),NRP2 的表达水平与 MLD 呈正相关($r=0.384$, $P=0.015$),miR-486-5p 的表达水平与 MLD 呈负相关($r=-0.755$, $P=0.000$)。**结论:**NRP2 和 miR-486-5p 与胃癌发生发展密切相关,有望成为胃癌治疗的新靶点。

【关键词】胃癌;NRP2;miR-486-5p;微淋巴管密度**【中图分类号】**R735.2**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2014-01-23

Expression and clinicopathological significance of NRP2 and miR-486-5p in gastric carcinoma

Lian Haifeng, Li Ming, Liu Chengxia, Jia Xingfang, Li Dan, Wu Xiaoling

(1. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou Medical University; 2. Nursing College, Binzhou Medical University; 3. Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the relationship between the expression of neuropilin-2(NRP2) and microRNA-486-5p(miR-486-5p) in gastric carcinoma(GC) and adjacent non-tumorous tissues and lymph node metastasis of GC. **Methods:** Sixty-five gastric carcinoma and adjacent non-tumorous specimens were collected. Immunohistochemistry(IHC) was used to detect NRP2 protein expression in tissues; quantitative real time PCR was used to detect the expression of miR-486-5p in tissues; microlymphatic density(MLD) was evaluated with lymphatic endothelium-specific marker-D2-40. The relationship between NRP2, miR-486-5p and MLD was analyzed. **Results:** Compared with those in normal gastric mucosa tissues, the expression of NRP2 was significantly up-regulated in GC tissues($P=0.000$), while the expression of miR-486-5p was down-regulated significantly($P=0.000$). Statistic analysis revealed the expression of miR-486-5p in GC tissues was negatively correlated with MLD($P<0.001$) and NRP2 was positive correlated with MLD($P=0.015$). **Conclusion:** The expression of NRP2 and miR-486-5p is closely associated with lymph node metastasis of gastric carcinoma, indicating that miR-486-5p and NRP2 might be used as targets for molecular therapy of gastric carcinoma.

【Key words】 gastric carcinoma; neuropilin-2; miR-486-5p; microlymphatic density

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,我国胃癌的发病率和死亡率在恶性肿瘤中均居第二位^[1]。

作者介绍:连海峰 lianhaifeng01@163.com,

研究方向:胃癌淋巴结转移的作用机制。

通信作者:刘成霞, Email: phdlcx@163.com。

基金项目:山东省高校科技计划资助项目(编号:J11LF75);滨州医学院科研启动基金资助项目(编号:BY2010KYQD02)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150403.0935.021.html>
(2015-04-03)

转移是恶性肿瘤的基本特征,也是导致患者死亡的主要原因,而淋巴结转移是胃癌的主要转移途径,因此阐明胃癌淋巴结转移中的相关分子调控机制,对于胃癌的诊断和治疗具有重要的临床意义^[2]。神经纤毛蛋白-2(neuropilin-2, NRP2)可与血管内皮生长因子受体-3(vascular epithelial growth factor receptor-3, VEGFR-3)形成受体复合物,增加 VEGF-C 介导的淋巴管生成作用。近期研究表明 NRP2 在多种肿瘤中表达上调,但其在胃癌中表达生物学意

义尚不清楚^[3]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类内源性、非编码 RNA, 在转录后水平负性调控靶基因的表达。大量研究表明 miRNA 与肿瘤发生发展关系密切, 可在肿瘤中发挥抑癌作用或促癌作用。miR-486-5p 是新近发现的一种肿瘤相关的 miRNA, 目前关于其在胃癌中的表达研究较少^[4]。D2-40 是一种膜蛋白, 特异性表达于淋巴管内皮细胞, 其伴随的小血管并不表达, 故其是一种理想的淋巴管内皮细胞标记物, 本研究应用 D2-40 标记淋巴管^[5]。生物信息学软件分析显示 miR-486-5p 与 NRP2 之间存在调控关系, 本研究重点探讨 NRP2 和 miR-486-5p 在胃癌组织中的表达情况及其与胃癌淋巴管生成的关系。

1 材料与方法

1.1 胃癌标本及临床资料

65 例胃癌组织及其周围非癌组织 (距癌灶 5 cm 以上) 均取自滨州医学院附属医院 2011 年至 2012 年间外科治疗的手术标本。所有胃癌患者术前均未接受放疗或化疗, 术后病理证实原发灶均为癌组织, 癌旁组织证实为正常上皮组织。采集前均通过滨州医学院附属医院医学伦理委员会批准及患者知情同意。术中取材, 遵循无菌原则, 收集大小约 0.8 cm × 0.5 cm × 0.3 cm 的手术标本 3~5 块, 其中 1 块放入福尔马林液中固定, 石蜡包埋, 其余立即放入液氮中冰冻, 次日转入 -80 °C 冰箱中冷冻保存。

1.2 主要试剂

兔抗人 NRP2 多克隆抗体 (英国 Abcam 公司), 鼠抗人 D2-40 单克隆抗体, HRP 标记羊抗兔、DAB 显色试剂盒 (北京中杉金桥), 总 RNA 提取试剂、逆转录试剂盒、real-time PCR 试剂盒 (大连宝生物公司), real-time PCR 引物由广州锐博有限公司设计合成。

1.3 免疫组织化学方法检测 NRP2 和 D2-40 的定位表达

石蜡切片常规脱蜡、水化, 0.01 M 枸橼酸缓冲液于微波炉上抗原修复, 3% H₂O₂ 阻断灭活内源性过氧化物酶, 滴加一抗 (抗 NRP2 和抗 D2-40 抗体浓度均为 1:100), 4 °C 过夜; 二抗采用兔二部法检测试剂盒, 37 °C 30 min; DAB 显色, 苏

木精复染, 1% 盐酸酒精分化, 镜下观察, 脱水、透明、封片。用 PBS 代替一抗作阴性对照, D2-40 阳性的扁桃体组织切片作阳性对照。

1.4 结果判定

①染色强度: 无色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分; 阳性细胞 <10% 为 0 分, 阳性细胞占 10%~24% 为 1 分, 阳性细胞占 25%~49% 为 2 分, 阳性细胞 50%~74% 为 3 分, 阳性细胞 ≥75% 为 4 分; 两项评分结果之和为免疫组化阳性分度: 0~3 为阴性 (-), 4~5 为阳性 (+), ≥6 为强阳性 (++)。②D2-40 标记阳性的淋巴管为棕黄色管腔样结构, 选择淋巴管密集区域在高倍镜下 (200 ×) 计数 3 个视野淋巴管数, 计算其均值作为该淋巴样本的管密度。

1.5 Real-time PCR

按照 Trizol 试剂说明提取总 RNA, 1% 的琼脂糖变性凝胶电泳检测 RNA 的完整性, 紫外可见分光光度计检测 RNA 的纯度和浓度; 逆转录得到 cDNA; PCR 反应: 反应参数设置: 95 °C 20 s; 95 °C 5 s, 60 °C 20 s, 72 °C 5 s, 40 个循环, 每个样品做 3 个平行管, 每次实验至少重复 3 次。数据分析 miRNA-486-5p 相对表达水平用 2^{-ΔΔCT} 方法计算 (CT 值是目标扩增产物打到设定阈值所经历的循环数), 内参为 U6 基因。

1.6 统计分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析。定量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 统计描述, 组间比较采用 *t* 检验; 定性资料组间比较采用卡方检验; 相关性分析采用 Spearman 秩相关假设; 多因素分析采用多重线性回归及 logistic 回归分析。检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 免疫组化结果

NRP2 的表达: 胃癌组织中 NRP2 的阳性表达率为 78.5%, 明显高于正常组织 (29.2%), 具有统计学意义 ($\chi^2=16.046$, $P=0.000$); NRP2 在胃癌淋巴转移组织中的表达率为 86.7%, 高于无淋巴转移组 (60%) 的表达, 两者比较有统计学差异 ($\chi^2=7.222$, $P=0.007$) (图 1)。NRP2 的表达与肿瘤大小 ($P=0.011$)、TNM 分期 ($P=0.000$)、浸润深度 ($P=0.001$) 密切相关, 而与性别 ($P=0.619$)、年龄 ($P=0.801$)、组织学分型 ($P=0.388$) 及远处转移 ($P=0.160$) 无明显关系 (表 1)。

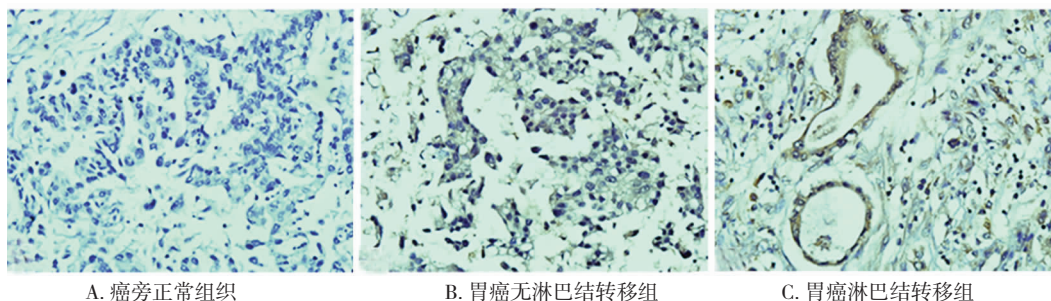


图 1 NRP2 在组织中的表达 (200 ×)

Fig.1 Expression of NRP2 in tissues (200 ×)

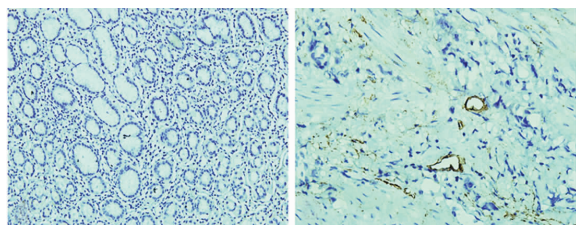
表 1 胃癌组织中 miR-486-5p、NRP2 与临床病理参数的关系

Tab.1 Expression of miR-486-5p and NRP2 and their correlations with clinicopathological feature

项目	例数 (n)	2 ^{-ΔΔCT}			阳性	χ ² 值	P 值
		$\bar{x} \pm s$	t 值	P 值			
性别	男	34	0.40 ± 0.19	0.487	0.628	0.247	0.619
	女	31	0.38 ± 0.12				
年龄	< 65 岁	27	0.38 ± 0.10	-0.675	0.502	0.063	0.801
	≥ 65 岁	38	0.40 ± 0.19				
肿瘤大小	< 5 cm	40	0.43 ± 0.18	2.234	0.029	6.500	0.011
	≥ 5 cm	25	0.34 ± 0.11				
TNM 分期	I, II	24	0.46 ± 0.19	2.851	0.006	15.870	0.000
	III, IV	41	0.35 ± 0.12				
组织学分型	肠型	49	0.41 ± 0.17	1.351	0.181	0.746	0.388
	弥漫型	16	0.35 ± 0.90				
浸润深度	T ₁ , T ₂	31	0.44 ± 0.18	2.413	0.019	12.966	0.001
	T ₃ , T ₄	34	0.35 ± 0.13				
淋巴结转移	无	20	0.46 ± 0.20	2.482	0.016	7.222	0.007
	有	45	0.36 ± 0.13				
远处转移	无	54	0.42 ± 0.15	4.090	0.000	1.977	0.160
	有	11	0.23 ± 0.09				

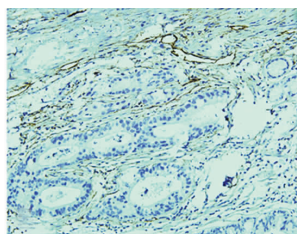
注: 2^{-ΔΔCT} 代表 miRNA 的相对表达量

D2-40 的表达: 在癌组织和癌旁组织中均可见 D2-40 阳性染色淋巴管, 癌组织中阳性淋巴管主要分布于癌周区, 以扩张的淋巴管为主, 癌周 LVD 平均密度 (14.33 ± 4.80) 明显高于正常组织 (7.41 ± 2.12), 有统计学差异 ($t=-5.632, P=0.000$)。肿瘤淋巴结转移组织的淋巴管密度 (16.42 ± 4.73) 明显高于无淋巴结转移组 (12.86 ± 4.21), 有统计学差异 ($t=-2.895, P=0.005$) (图 2)。



A. 癌旁正常组织

B. 胃癌无淋巴结转移组



C. 胃癌淋巴结转移组

图 2 D2-40 在组织中的表达 (200 ×)

Fig.2 Expression of D2-40 in tissues (200 ×)

胃癌组织中 NRP2 与 LVD 的相关性: NRP2 阳性组 (16.08 ± 4.93) 癌周 LVD 明显高于阴性组 (12.59 ± 3.41), 有统计学差异 ($t=0.382, P=0.004$)。Spearman 秩和相关分析显示

胃癌组织中 NRP2 的表达与 LVD 呈正相关性, 差异有统计学意义 ($r_s=0.384, P=0.015$)。

2.2 miRNA-486-5p 的表达及其临床意义

和癌旁正常组织 (1.06 ± 0.14) 相比, 胃癌组织中 miRNA-486-5p 的相对表达量为 (0.39 ± 0.16), 有统计学差异 ($t=-4.365, P=0.000$)。临床病理参数分析显示 miR-486-5p 的表达与淋巴结转移 ($t=2.482, P=0.016$)、肿瘤大小 ($t=2.234, P=0.029$)、TNM 分期 ($t=2.851, P=0.006$)、浸润深度 ($t=2.413, P=0.019$) 及远处转移 ($t=4.090, P=0.000$) 密切相关, 而与性别 ($t=0.487, P=0.628$)、年龄 ($t=-0.675, P=0.502$)、组织学分型 ($t=1.351, P=0.181$) 无明显关系 (表 1)。Spearman 秩相关分析显示胃癌组织中 miR486-5p 的表达与 LVD 呈负相关性 ($r_s=-0.755, P=0.000$)。

2.3 多元线性回归及 logistic 回归分析

结果表明: miRNA-486-5p 及 NRP2 的表达与肿瘤大小、TNM 分期、浸润深度、淋巴结转移无明显关系, 无明显统计学意义 ($P>0.05$)。miRNA-486-5p 的表达与肿瘤的远处转移相关 ($P=0.010$)。见表 2~5。

表 2 多重线性回归变量赋值说明

Tab.2 Assignment instructions of multiple linear regression analysis

因素	赋值说明
Y miRNA 表达量	
X ₁ 肿瘤大小	< 5 cm = 0, ≥ 5 cm = 1
X ₂ TNM 分期	I, II = 0, III, IV = 1
X ₃ 浸润深度	T ₁ , T ₂ = 0, T ₃ , T ₄ = 1
X ₄ 淋巴结转移	无 = 0, 有 = 1
X ₅ 远处转移	无 = 0, 有 = 1

表 3 多重线性回归分析结果

Tab.3 Analytic results of multiple linear regression analysis

因素	β	SE	t	P
常数	0.473	0.035	13.327	0.000
X ₁ 肿瘤大小	0.001	0.044	0.020	0.984
X ₂ TNM 分期	-0.040	0.063	-0.645	0.522
X ₃ 浸润深度	-0.017	0.044	-0.385	0.702
X ₄ 淋巴结转移	-0.029	0.059	-0.501	0.618
X ₅ 远处转移	-0.155	0.059	-2.656	0.010

表 4 logistic 回归变量赋值说明

Tab.4 Assignment instructions of logistic regression analysis

因素	赋值说明
Y NRP2 免疫组化结果	阴性 =0, 阳性 =1
X ₁ 肿瘤大小	< 5 cm =0, ≥5 cm =1
X ₂ TNM 分期	I, II =0, III, IV =1
X ₃ 浸润深度	T ₁ , T ₂ =0, T ₃ , T ₄ =1
X ₄ 淋巴结转移	无 =0, 有 =1

表 5 logistic 回归分析结果

Tab.5 Analytic results of logistic regression analysis

因素	ν	β	SE	Wald χ^2	P	OR	OR	95%CI
常数	1	-0.464	0.578	0.645	0.422	0.629	-	-
X ₁ 肿瘤大小	1	1.364	1.209	1.273	0.259	3.912	0.366	41.806
X ₂ TNM 分期	1	1.508	1.145	1.732	0.188	4.515	0.478	42.633
X ₃ 浸润深度	1	2.284	1.170	3.813	0.051	9.815	0.991	97.171
X ₄ 淋巴结转移	1	0.418	0.979	0.182	0.669	1.519	0.223	10.359

3 讨 论

NRP2 是一种单链跨膜糖蛋白,通过与 VEGFR-3 形成受体复合物,参与淋巴管的生成。研究发现,敲除 NRP2 的转基因小鼠,主要表现为小淋巴管和毛细淋巴管缺乏或数量减少,而血管系统和大集合淋巴管发育正常,提示 NRP2 对胚胎淋巴管发育具有一种选择性的需要,进一步研究发现 NRP2 主要参与成熟组织的毛细淋巴管形成^[6-7]。新近研究表明 NRP2 在肿瘤的淋巴结转移中起着重要的作用,Gray 等^[8]研究发现 NRP2 在结直肠癌组织高表达,使用 RNA 干扰技术抑制结肠癌细胞株 HCT116 细胞的 NRP2 后,导致细胞的增殖、迁移能力降低,凋亡增加;周琪等^[9]发现结直肠组织中 NRP2 高表达,并与肿瘤的淋巴结转移及肿瘤微淋巴管密度(micro-lymphatic density,MLD)呈正相关。目前关于 NRP2 在胃癌中的研究较少,本研究结果表明,和癌旁正常黏膜组织相比,NRP2 在胃癌组织中表达明显增高,进一步研究发现,胃癌淋巴结转移组中 NRP2 表达较强无淋巴结转移组织表达升高。D2-40 是淋巴管内皮细胞的特异性标记物,本实验中应用 D2-40 标记淋巴管,肿瘤组织及正常组织均存在淋巴管,但两者之间的数量及形态存在统计学差异。统计学分析提示癌组织 LVD 明显高于正常组织的淋巴管密度,淋巴结转移癌组织 LVD 明显高于无淋巴结转移组。Spearman 相关性分析发现胃癌中 NRP2 的表达与 LVD 有正相关性,提示 NRP2 可能促进胃癌中淋

巴管的生成。

miR-486-5p 与 2005 年首次被发现,近期研究表明 miR-486-5p 在多个肿瘤中具有抑癌作用,Wang 等^[10]研究发现 miRNA-486-5p 在肺癌组织中表达下调,体外实验证实 miRNA-486-5p 通过作用于 ARHGAP5 发挥抑癌作用。Navon 等^[11]使用微阵列方法证实 miRNA-486-5p 在胰腺癌、结肠癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌的表达均下调。目前关于 miR-486-5p 在胃癌中的表达及意义研究较少,本研究发现 miRNA-486-5p 在胃癌中表达明显下调,临床病理参数分析显示 miR-486-5p 的表达与淋巴结转移、肿瘤大小、TNM 分期、浸润深度及远处转移密切相关,而与性别、年龄、组织学分型无明显关系。Spearman 秩相关性分析发现胃癌中 miR-486-5p 的表达与 LVD 呈负相关,提示 miR-486-5p 可能抑制胃癌中淋巴管的生成。

综上所述,胃癌组织中 miRNA-486-5p 和 NRP2 的异常表达与胃癌淋巴结转移密切相关,miRNA-486-5p 的表达与胃癌淋巴结转移呈负相关,提示其在胃癌淋巴结转移转移中起抑制作用,而 NRP2 的表达则与胃癌淋巴结转移正相关,提示其可能促进胃癌淋巴结转移,表明二者在胃癌的发生发展起重要作用。生物信息学技术分析表明二者之间存在调控关系,并提出以下设想,某些因素导致胃癌中 miR-486-5p 的表达下调,使得其对 NRP2 转录后翻译抑制作用的减弱,从而引起 NRP2 的表达增高,从而促进了胃癌的淋巴结转移,目前尚未有研究报道二者之间的关系及可能的机制,需进一步研究证实,这

脂联素、抵抗素和 Apelin 在脂肪变肝细胞中的表达及意义

霍 晴, 古 赛

(重庆医科大学附属第一医院消化内科, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究脂肪细胞因子脂联素、抵抗素和 Apelin 在油酸诱导的肝细胞脂肪变性过程中的作用及意义。**方法:**以常规培养的人正常肝细胞株 L02 做为对照组, 采用油酸诱导 L02 细胞脂肪变性, 建立非酒精性脂肪变性肝细胞模型, 设置油酸诱导 24、48、72 h 各时相点为实验组。用油红 O 染色镜下观察对照组和实验各组肝细胞形态学变化, 用试剂盒检测肝细胞内甘油三酯(triglyceride, TG)水平, 并用实时荧光定量 PCR 与 Western blot 检测脂联素、抵抗素和 Apelin mRNA 和蛋白的表达。**结果:**24 h 肝细胞出现脂肪变性, 72 h 脂肪变性最严重; 各实验组肝细胞内 TG 含量较对照组均升高, 差异有统计学意义(LSD-*t* 值和 *P* 值分别为 8.477、0.000; 17.622、0.000; 39.251、0.000), 72 h 增高最明显; 实验组脂联素 mRNA 和蛋白的表达量均降低, 都于 24 h 开始降低, 72 h 表达最低, 与对照组相比差异有统计学意义(LSD-*t* 值和 *P* 值分别为 8.240、0.000, 16.940、0.000, 18.292、0.000; 13.283、0.000, 21.586、0.000, 27.030、0.000); 实验组抵抗素 mRNA 的表达上调, 于 24 h 开始增强, 72 h 表达最强, 与对照组相比差异有统计学意义(LSD-*t* 值和 *P* 值分别为 2.480、0.038; 12.003、0.000; 24.080、0.000), 而其蛋白质的表达上调, 于 48 h 开始增强, 72 h 表达最高, 与对照组比较差异有统计学意义(LSD-*t* 值和 *P* 值分别为 8.854、0.000; 13.301、0.000); 实验组 Apelin mRNA 和蛋白的表达均上调, 都于 24 h 开始增强, 72 h 表达最高, 与对照组相比差异有统计学意义(LSD-*t* 值和 *P* 值分别为 2.503、0.000, 9.720、0.000, 13.720、0.000; 5.629、0.000, 8.251、0.000, 15.953、0.000)。**结论:**油酸诱导的肝细胞脂肪变性模型中脂肪细胞因子脂联素表达下调、抵抗素和 Apelin 表达上调, 提示脂肪细胞因子脂联素、抵抗素和 Apelin 的表达的调控共同参与了肝细胞非酒精性脂肪变性。

【关键词】非酒精性脂肪肝; 脂联素; 抵抗素; Apelin

【中图分类号】R575.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-08-26

作者介绍: 霍 晴, Email: huoqingchongyi@163.com,

研究方向: 肝代谢障碍。

通信作者: 古 赛, Email: 1601792466@qq.com。

基金项目: 重庆市卫生局医学科研究资助项目(编号: 2011-2-077)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150308.2356.028.html>

(2015-03-08)

是下一步研究的重点。miRNA-486-5p 及 NRP2 的表达量与胃癌发生发展密切相关, 有望成为胃癌治疗的新靶点。

参 考 文 献

- [1] 郑荣寿, 张思维, 吴良有, 等. 中国肿瘤登记地区 2008 年恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(1): 1-12.
- [2] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [3] Bielenberg DR, Pettaway CA, Takashima S, et al. Neuropilins in neoplasms: expression, regulation, and function[J]. Exp Cell Res, 2006, 312(5): 584-593.
- [4] Mees ST, Mardin WA, Sielker S, et al. Involvement of CD40 targeting miR-224 and miR-486 on the progression of pancreatic ductal adenocarcinomas[J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(8): 2339-2350.
- [5] Fukunaga M. Expression of D2-40 in lymphatic endothelium of normal tissues and in vascular tumours[J]. Histopathology, 2005, 46(4):

396-402.

- [6] Yuan L, Moyon D, Pardanaud L, et al. Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice[J]. Development, 2002, 129(20): 4797-4806.
- [7] Karkkainen MJ, Haiko P, Sainio K, et al. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins[J]. Nat Immunol, 2004, 5(1): 74-80.
- [8] Gray MJ, Van Buren G, Dallas NA, et al. Therapeutic targeting of neuropilin-2 on colorectal carcinoma cells implanted in the murine liver[J]. J Natl Cancer Inst, 2008, 100(2): 109-120.
- [9] 周 琪, 梁后杰, 阎晓初, 等. 结肠癌组织 NRP2 的表达与淋巴结转移的关系[J]. 临床肿瘤学杂志, 2009, 14(9): 797-802.
- [10] Wang J, Tian X, Han R, et al. Downregulation of miR-486-5p contributes to tumor progression and metastasis by targeting protumorigenic ARHGAP5 in lung cancer[J]. Oncogene, 2014, 33(9): 1181-1189.
- [11] Navon R, Wang H, Steinfeld I, et al. Novel rank-based statistical methods reveal microRNAs with differential expression in multiple cancer types[J]. PLoS One, 2009, 4(11): e8003.

(责任编辑: 唐宗顺)