

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.01.022

RegIV 在视网膜母细胞瘤中的表达及其与血管新生的相关性分析

童 萌 原慧萍[△] 张诗琦 赵 洋 谭欣慈

(哈尔滨医科大学附属第二医院眼科 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要 目的:研究 RegIV(再生基因IV)在视网膜母细胞瘤中的表达及其与血管新生的相关性。**方法:**选择 2012 年 6 月-2014 年 6 月在我院行眼球摘除术治疗的视网膜母细胞瘤患儿 16 例为研究对象。采用免疫组化染色法对 16 例视网膜母细胞瘤患者肿瘤组织及 16 例正常视网膜组织标本中的 RegIV、VEGF-A(血管内皮生长因子-A)、VEGF-C(血管内皮生长因子-C)的表达进行检测,并分析 RegIV 的表达与视网膜母细胞瘤患者的临床病理特征及 VEGF-A、VEGF-C 表达的相关性,同时比较 RegIV 阳性表达病例肿瘤组织与正常视网膜组织中微血管密度(MVD)之间的差异。**结果:**视网膜母细胞瘤组织中 RegIV、VEGF-A、VEGF-C 的表达水平均较正常视网膜组织显著上升,差异有统计学意义($P<0.05$)。视网膜母细胞瘤患者瘤组织中 RegIV、VEGF-A、VEGF-C 表达均与其临床分期、病理分型及视神经侵犯与否均显著相关($P<0.05$),与性别、发病部位无关($P>0.05$)。视网膜母细胞瘤组织中 RegIV 的表达与 VEGF-A 表达呈正相关($r=0.696, P<0.05$),与 VEGF-C 表达呈正相关($r=0.728, P<0.05$)。视网膜母细胞瘤组织中 RegIV 阳性表达的病例 MVD 值为(59.67 ± 1.43),明显高于正常视网膜组织中 MVD 值(30.53 ± 2.31)($P<0.05$);视网膜母细胞瘤组织中 RegIV 阴性表达病例 MVD 值为(38.04 ± 2.86),与正常视网膜组织中 MVD 值比较无明显差异($P>0.05$)。**结论:**RegIV 在视网膜母细胞瘤中呈高表达,且与肿瘤的侵袭与转移相关,其可能通过促进 VEGF-A、VEGF-C 表达促进血管新生,进而加速视网膜母细胞瘤的发生和进展。

关键词:Reg IV;视网膜母细胞瘤;VEGF-A;VEGF-C;血管新生

中图分类号:R739.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)01-88-05

Expressions of RegIV in Retinoblastoma and Its Correlation with Angiogenesis

TONG Meng, YUAN Hui-ping[△], ZHANG Shi-qi, ZHAO Yang, TAN Xin-ci

(Department of Ophthalmology, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of regenerating islet-derived family member 4 (RegIV) in retinoblastoma and its correlation with angiogenesis. **Methods:** 16 cases of patients with retinoblastoma who underwent operation in our hospital from June 2012 to June 2014 were selected as the research object. The positive expression rates of RegIV, VEGF-A and VEGF-C between retinoblastoma tissues and normal tissues were compared, the correlation of clinicopathological features with the expressions of RegIV, VEGF-A and VEGF-C were analyzed, and the microvessel density (MVD) between RegIV positive expression tumor tissue and normal tissue were compared. **Results:** Compared with the normal tissues, the Reg IV, VEGF-A and VEGF-C expressions were higher in the retinoblastoma tissues ($P<0.05$). The Reg IV, VEGF-A, VEGF-C expressions were significantly correlated with the clinical stage, pathological type, optic nerve invasion retinoblastoma ($P<0.05$), but had nothing to do with gender, site of onset ($P>0.05$). Pearson correlation analysis showed the expression of Reg IV was positively correlated with VEGF-A($r=0.696, P<0.05$); the expression of Reg IV was positively correlated with VEGF-C($r=0.728, P<0.05$). The MVD value of Reg IV positive expression was (59.67 ± 1.43), which was significantly higher than that of the normal retinal tissues (30.53 ± 2.31) ($P<0.05$); the MVD value of Reg IV negative expression tissues was (38.04 ± 2.86), which had no difference compared with the normal retinal tissues($P>0.05$). **Conclusions:** The positive expression rates of Reg IV was highly expressed in the retinoblastoma tissue and correlated with the invasion and migration, it could accelerate the development of the retina through promoting the angiogenesis mediated by VEGF-A and VEGF-C.

Key words: Reg IV; Retinoblastoma; VEGF-A; VEGF-C; Angiogenesis

Chinese Library Classification(CLC): R739.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)01-88-05

前言

作者简介:童萌(1989-),医师,从事眼科方面的研究,

电话:13212939119, E-mail: 516912184@qq.com

[△] 通讯作者:原慧萍,博士,博导,教授,从事眼科方面的研究,

电话:18604507533, E-mail: yuanhp2013@126.com

(收稿日期:2016-04-07 接受日期:2016-04-26)

视网膜母细胞瘤是威胁婴幼儿健康的一种比较常见的眼内恶性肿瘤^[1]。浸润和转移是致使视网膜母细胞瘤患儿发生死亡的主要病因,同时也是临床治疗视网膜母细胞瘤的难点。研究表明^[2-3]血管新生在肿瘤的浸润与转移中具有十分重要的作用,是肿瘤增殖的必要条件,也为肿瘤的转移提供血行通道。VEGF-A、VEGF-C 则是血管内皮生长因子家族 (Vascular endothelial growth factor, VEGFs)重要调控因子,可增加血管通透

性,为肿瘤浸润与转移给予有利的条件。再生基因IV(Reg IV)属于近年新发现的一种癌基因,在卵巢粘液性肿瘤及胃癌等肿瘤组织中的表达情况目前已有相关报道,但是其在视网膜母细胞瘤中的表达研究尚少,同时其与视网膜母细胞瘤血管新生的关系尚不清楚。本研究旨在探讨 RegIV 在视网膜母细胞瘤中的表达及其与血管新生的相关性,以期对视网膜母细胞瘤发病机制提供有价值的参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2012 年 6 月 -2014 年 6 月在我院行眼球摘除术治疗的视网膜母细胞瘤患儿 16 例为研究对象。全部患者均取手术切除的视网膜母细胞瘤组织及其对应的病变区远处的正常视网膜组织进行病理研究。纳入标准:(1)全部患者均经病理学检查确诊为视网膜母细胞瘤;(2)术前没有实施化疗或者放疗等干预治疗;(3)年龄介于 0.5 岁 --7 岁。排除标准:(1)存在其他原发性恶性肿瘤者;(2)存在心、肝与肾等重要器官疾病者。16 例视网膜母细胞瘤患儿中,男 9 例,女 7 例。年龄 0.5--7 岁,平均年龄 (3.1 ± 0.2) 岁。发病部位:左眼 7 例,右眼 9 例,无双眼发病病例。临床分期:I + II 期 9 例,III 期 7 例。病理分型:分化型 7 例,非分化型 9 例。视神经侵犯:未侵犯 8 例,已侵犯 8 例。生存时间:随访术后 2 年内复发扩散死亡 7 例,2 年后仍生存者 9 例。本研究经患儿家属知情同意,并且经医院伦理委员会会议审批通过。

1.2 研究方法

1.2.1 主要试剂 (1)RegIV 多克隆抗体(购自上海英基生物科技有限公司);(2)兔抗人 VEGF-A 多克隆抗体(购自北京义翘神州生物技术有限公司);(3)兔抗人 VEGF-C 多克隆抗体(购自北京义翘神州生物技术有限公司);(4)DAB 显色剂与相关免疫组化试剂盒 (购自上海圻明生物科技有限公司);(5)FVIII 多克隆抗体(购自上海钰博生物科技有限公司)。

1.2.2 检测方法 RegIV 检测:采用链霉素生物素(S-P)的免疫组化方法对 RegIV 蛋白表达水平实施测定,石蜡包埋组织后行切片处理,按照试剂盒说明书进行操作。将已知阳性的切片当作阳性对照,将 PBS 代替一抗则作为阴性对照。VEGF-A、VEGF-C、FVIII 检测:均采用链霉素生物素(S-P)的免疫组化方法分别测定 VEGF-A、VEGF-C、FVIII 在正常视网膜、视网膜母细胞瘤组织中的表达情况,并计数 FVIII 阳性的微血管密度(MVD)。染色步骤分别按 VEGF-A、VEGF-C、FVIII 试剂盒说明严格进行,观察染片结果。

1.3 观察指标

对比 RegIV、VEGF-A、VEGF-C 在视网膜母细胞瘤组织及病变区远处的正常视网膜组织中的阳性表达情况,分析患者的病理特征与 RegIV、VEGF-A、VEGF-C 阳性表达的相关性及 RegIV 与 VEGF-A、VEGF-C 表达的相关性。

1.4 效果评价

(1) 采用半定量记分法结合 Berry 的分级法:Reg IV、VEGF-A 与 VEGF-C 的阳性表达均属于胞浆着色,按照阳性细胞率及阳性细胞的着色强度给予分别记分,然后根据染色程度计分以确定表达水平:若染色和阴性对照一样者则计为 0 分,若染色呈淡黄者则计为 1 分,若染色呈棕黄色者则计为 2 分,若染色呈棕褐色者则计为 3 分。按照阳性细胞在所观察的细胞当中之比例分为:若阳性细胞数 $\leq 10\%$ 则计为 1 分,若阳性细胞数为 11%-50%则计为 2 分,若阳性细胞数为 51%-75%则计为 3 分,若阳性细胞数 $>75\%$ 则计为 4 分。若上述两项分数的乘积为 0-3 分则判定是(-),若两项分数的乘积为 4-5 分则判定是(+),若两项分数的乘积为 6-7 分则判定是(++),若两项分数的乘积为 8 分以上则判定为 (+++), ≤ 3 分则判为阴性, >3 分则判为阳性^[4]。

(2)MVD 计数则参照 Weidner 等方法:阳性标准为 FVIII 标记血管内皮细胞呈棕黄色染色,并以阳性内皮细胞簇形成的管腔或者血管塑型当作一个单一的微血管数;对管腔面积 >8 个红细胞直径,或者存在比较厚的肌层血管,或者单个阳性细胞则不给予计数。选 3 个微血管分布最高的密度区,将其在高倍视野($400\times$)下进行 MVD 计数,其平均值则当作该例的 MVD 值^[5]。

1.5 统计学方法

数据采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。各组间阳性率的比较采用 χ^2 检验,计量资料组间比较用 t 检验,相关性分析采用 Pearson 相关,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RegIV、VEGF-A、VEGF-C 在视网膜母细胞瘤组织及正常视网膜组织中的表达

RegIV、VEGF-A、VEGF-C 阳性表达产物均呈棕黄色颗粒,见图 1-3。视网膜母细胞瘤患者的瘤组织中的 RegIV 表达阳性率为 56.25%,明显高于正常视网膜组织中的 RegIV 表达阳性率 6.25% ($P<0.05$),见表 1。视网膜母细胞瘤患者的瘤组织中的 VEGF-A 表达阳性率为 62.5%,明显高于正常视网膜组织中的 VEGF-A 表达阳性率 5% ($P<0.05$),见表 2。视网膜母细胞瘤患者的瘤组织中的 VEGF-C 表达阳性率为 68.75%,明显高于正常视网膜组织中的 VEGF-C 表达阳性率 5% ($P<0.05$),见表 3。

表 1 RegIV 在视网膜母细胞瘤组织及正常视网膜组织中的表达(例)

Table 1 Comparison of the positive expression rates of RegIV between retinoblastoma tissues and normal retina tissues (n)

组名 Groups	n	+	++	+++	阳性率 Positive rate(%)	-
视网膜母细胞瘤组织 Retinoblastoma tissues	16	2	3	4	56.25	7
正常视网膜组织 Normal retina tissues	16	1	0	0	6.25	15
P						<0.05

表 2 VEGF-A 在视网膜母细胞瘤组织及正常视网膜组织中的表达(例)

Table 2 Comparison of the positive expression rates of VEGF-A between retinoblastoma tissues and normal retina tissues (n)

组名 Groups	n	+	++	+++	阳性率 positive rate(%)	-
视网膜母细胞瘤组织 Retinoblastoma tissues	16	3	4	3	62.5	6
正常视网膜组织 Normal retina tissues	16	1	0	0	6.25	15
P						<0.05

表 3 VEGF-C 在视网膜母细胞瘤组织及正常视网膜组织中的表达 (例)

Table 3 Comparison of the positive expression rates of VEGF-C between retinoblastoma tissues and normal retina tissues (n)

组名 Groups	n	+	++	+++	阳性率 positive rate(%)	-
视网膜母细胞瘤组织 Retinoblastoma tissues	16	4	4	3	68.75	5
正常视网膜组织 Normal retina tissues	16	1	0	0	6.25	15
P						<0.05

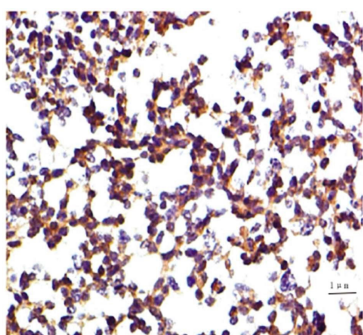


图 1 RegIV 在视网膜母细胞瘤组织中的阳性表达(SP,× 400)

Fig.1 Positive expression of RegIV in the retinoblastoma tissue(SP,× 400)

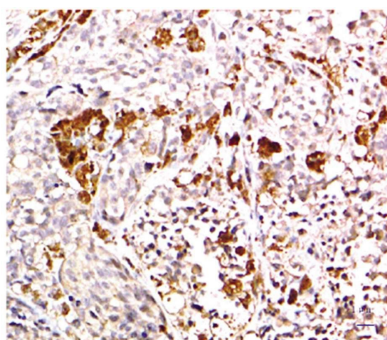


图 2 VEGF-A 在视网膜母细胞瘤组织中的阳性表达(SP,× 400)

Fig. 2 Positive expression of VEGF-A in retinoblastoma tissue(SP,× 400)

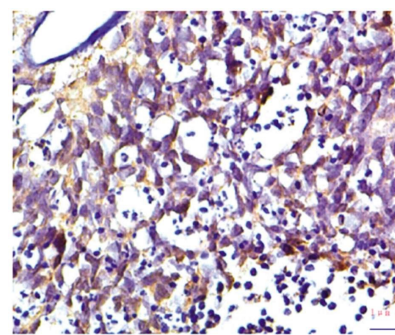


图 3 VEGF-C 在视网膜母细胞瘤组织中的阳性表达(SP,× 400)

Fig.3 Positive expression of VEGF-C in retinoblastoma tissues(SP,× 400)

2.2 RegIV、VEGF-A、VEGF-C 的阳性表达与视网膜母细胞瘤患者临床病理特征的相关性

视网膜母细胞瘤患者瘤组织中 RegIV、VEGF-A、VEGF-C

表达均与临床分期、病理分型与视神经侵犯相关($P < 0.05$),与性别、发病部位无关($P > 0.05$),见表 4。

表 4 RegIV、VEGF-A、VEGF-C 的阳性表达与视网膜母细胞瘤患者临床病理特征的相关性

Table 4 Correlation of the positive expression of RegIV, VEGF-A and VEGF-C with the clinicopathological characteristics of patients with retinoblastoma

参数 Pathological parameters	n	RegIV(+)	$\chi^2(P)$	VEGF-A(+)	$\chi^2(P)$	VEGF-C(+)	$\chi^2(P)$
性别 Gender							
男 Male	9	5	0.436(>0.05)	5	0.545(>0.05)	6	0.584(>0.05)
女 Female	7	4		5		5	
发病部位 Areas of involvement							
左眼 Left eye	7	4	0.652(>0.05)	4	0.596(>0.05)	5	0.603(>0.05)
右眼 Right eye	9	5		6		6	
临床分期 Clinical stage							
I + II	9	3	9.768(<0.05)	3	9.247(<0.05)	4	8.793(<0.05)
III	7	6		7		7	
病理分型 Pathologic types							
分化型 Differentiated	7	6	9.768(<0.05)	7	8.956(<0.05)	7	8.736(<0.05)

非分化型 Undifferentiated	9	3		3		4	
视神经侵犯 Optic nerve invasion							
否 No	8	1	10.721(<0.05)	2	8.642(<0.05)	3	8.851(<0.05)
是 Yes	8	8		8		8	

2.3 RegⅣ的表达与 VEGF-A、VEGF-C 表达的关系

经 Pearson 相关性分析,视网膜母细胞瘤组织中 RegⅣ的表达与 VEGF-A 表达呈正相关($r=0.696$, $P<0.05$),见图 4;视网膜母细胞瘤组织中 RegⅣ的表达与 VEGF-C 表达呈正相关($r=0.728$, $P<0.05$),见图 5。

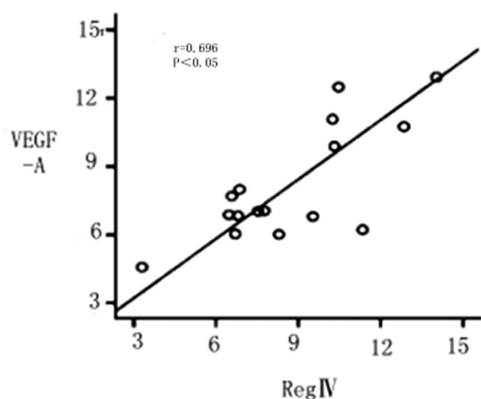


图 4 Reg Ⅳ 和 VEGF-A 表达的相关性分析

Fig.4 The correlation of Reg Ⅳ expression with VEGF-A expression

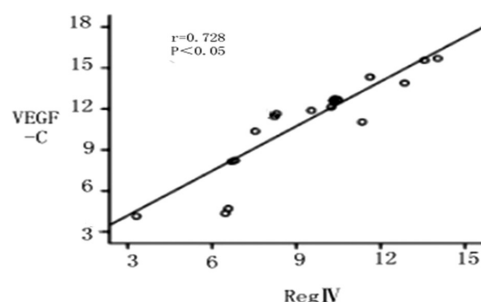


图 5 Reg Ⅳ 和 VEGF-C 表达的相关性分析

Fig.5 The correlation of Reg Ⅳ expression and VEGF-C expression

2.4 RegⅣ阳性、阴性表达病例瘤组织 MVD 与正常视网膜组织中 MVD 的比较

视网膜母细胞瘤组织中 RegⅣ阳性表达病例 MVD 值为 (59.67 ± 1.43) , 明显高于正常视网膜组织中 MVD 值 (30.53 ± 2.31) ($P<0.05$); 视网膜母细胞瘤组织中 RegⅣ阴性表达病例 MVD 值为 (38.04 ± 2.86) , 与正常视网膜组织中 MVD 值比较无明显差异 ($P>0.05$), 见图 6。

3 讨论

视网膜母细胞瘤的发生与遗传因素及环境因素等密切相关,在临床上表现为多个基因、多个步骤与多个过程之协同累积的作用^[13]。迅速增殖与早期发生局部转移或者远处转移是临床上治疗恶性肿瘤不成功关键因素。血管新生属于实体瘤发生、发展、复发、侵袭及转移过程中很重要的一个步骤^[14]。VEGF-A、VEGF-C 是血管内皮生长因子家族(VEGFs)中重要的血管新生调控因子,其在胃癌、结肠癌等肿瘤中研究较多^[15-18],

但是在视网膜母细胞瘤中研究较少。微血管密度(MVD)直接反应肿瘤新生血管的数目,其与 VEGF-A、VEGF-C 可从不同的角度反应出血管新生的活跃程度^[19,20]。

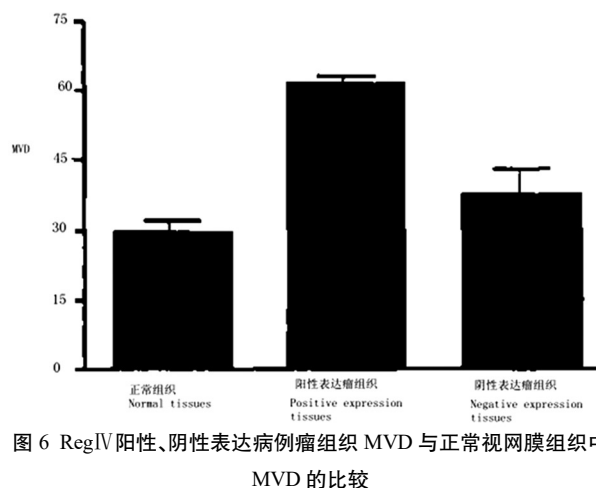


图 6 RegⅣ阳性、阴性表达病例瘤组织 MVD 与正常视网膜组织中 MVD 的比较

Fig.6 Comparison of of the MVD between retinoblastoma tissues with the positive and negative expression of RegⅣ and normal tissues

再生基因 (Reg) 家族是一种小分子及多功能的分泌性蛋白,家族成员在基因结构上比较相似,可分为 4 个亚型 (I、II、III、IV),其功能特性与急性反应蛋白、抗凋亡因子相当,都参与组织损伤、肿瘤与炎症发生及发展的过程^[6]。研究表明^[7-10]Reg 家族可在胃肠道中呈现低水平的表达,然而在组织损伤中则可见到原位抑或异位高水平的表达。再生基因家族成员 4(RegⅣ)是 Reg 家族最新的一位成员^[11],Oue 等^[12]研究发现 RegⅣ在 29.4% 胃癌的病例中为阳性表达,RegⅣ阳性表达跟肿瘤分期与患者预后并无明显的关联性。但 RegⅣ在视网膜母细胞瘤患者中的表达与血管新生的相关性尚不很清楚。

本研究结果显示视网膜母细胞瘤组织中 RegⅣ、VEGF-A、VEGF-C 阳性表达率为分别为 56.25%、62.5%、68.75%,均明显高于正常视网膜组织,提示 RegⅣ、VEGF-A、VEGF-C 可能在视网膜母细胞瘤的发生及发展中起着重要的作用。视网膜母细胞瘤患者瘤组织中 RegⅣ、VEGF-A、VEGF-C 表达均与临床分期、病理分型及视神经侵犯与否显著相关,进一步提示视网膜母细胞瘤中 RegⅣ、VEGF-A、VEGF-C 表达水平与其恶性程度及侵袭能力密切相关。此外,视网膜母细胞瘤组织中 RegⅣ的表达与 VEGF-A、VEGF-C 表达均呈正相关。而视网膜母细胞瘤组织中 RegⅣ阳性表达病例的 MVD 值明显高于正常视网膜组织,说明 RegⅣ是重要的血管生成正性调节剂,可能通过激活 VEGF-A、VEGF-C 及上调 VEGF-A、VEGF-C 的表达,从而促进视网膜母细胞瘤组织当中新生血管的生成。其机理有可能为 RegⅣ可对血管基膜及细胞外基质进行反复降解,促进血管内皮细胞的迁徙,并引发生新血管的形成;而 VEGF-A、VEGF-C

又使内皮细胞之活化形式发生改变,促进肿瘤细胞更容易穿过基质,进而诱发肿瘤浸润及转移的发生。

综上所述,RegIV 在视网膜母细胞瘤中呈高表达,且与肿瘤的侵袭与转移相关,其可能通过促进 VEGF-A、VEGF-C 表达促进血管新生,进而加速视网膜母细胞瘤的发生和进展。因此,我们可以通过减少 RegIV、VEGF-A、VEGF-C 的表达,抑制血管新生,进而阻止视网膜母细胞瘤的浸润与转移。

参考文献(References)

- [1] Bo M, Yisong W, Bin L. Suppression of PAX6 promotes cell proliferation and inhibits apoptosis in human retinoblastoma cells [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2014, 34(2): 399-408
- [2] Wang J, Wang X, Wu G, et al. MiR-365b-3p, down-regulated in retinoblastoma, regulates cell cycle progression and apoptosis of human retinoblastoma cells by targeting PAX6 [J]. Febs Letters, 2013, 587(12): 1779-1786
- [3] Chen YB, Lan YW, Hung TH, et al. Mesenchymal stem cell-based HSP70 promoter-driven VEGFA induction by resveratrol promotes angiogenesis in a mouse model [J]. Cell Stress & Chaperones, 2015, 20(4): 1-10
- [4] Numata M, Oshima T, Yoshihara K, et al. Relationship between RegIV gene expression to outcomes in colorectal cancer[J]. Journal of Surgical Oncology, 2011, 104(2): 205-209
- [5] Hu Y, Pan C, Hu J, et al. The role of Reg IV in colorectal cancer, as a potential therapeutic target [J]. Contemporary Oncology, 2015, 4(4): 261-264
- [6] Sun C, Fukui H, Hara K, et al. Expression of Reg family genes in the gastrointestinal tract of mice treated with indomethacin [J]. American Journal of Physiology Gastrointestinal & Liver Physiology, 2015, 308(9): G736-744
- [7] Huang B, Sun Z, Wang Z, et al. Factors associated with peritoneal metastasis in non-serosa-invasive gastric cancer: a retrospective study of a prospectively-collected database [J]. BMC Cancer, 2013, 13(1): 1-8
- [8] Fushida S, Oyama K, Kinoshita J, et al. Intraperitoneal Chemotherapy as a Multimodal Treatment for Gastric Cancer Patients with Peritoneal Metastasis[J]. Journal of Cancer Therapy, 2013, 4(9): 6-15
- [9] Shu-Wei B, Bin L, Hao Z, et al. Pax6 regulates proliferation and apoptosis of human retinoblastoma cells [J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2011, 52(7): 4560-4570
- [10] Zhen C, Anhuai Y, Chong X, et al. c-Jun N-terminal kinase is involved in the regulation of proliferation and apoptosis by integrin-linked kinase in human retinoblastoma cells [J]. Albrecht Von Graefes Archiv Für Ophthalmologie, 2011, 249(9): 1399-1407
- [11] Hartupce JC, Zhang H, Bonaldo MF, et al. Isolation and characterization of a cDNA encoding a novel member of the human regenerating protein family: Reg IV [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2001, 1518(3): 287-293
- [12] Oue N, Mitani Y, Aung PP, et al. Expression and localization of Reg IV in human neoplastic and non-neoplastic tissues: Reg IV expression is associated with intestinal and neuroendocrine differentiation in gastric adenocarcinoma [J]. Journal of Pathology, 2005, 207(2): 185-198
- [13] Bessho H, Wong B, Huang D, et al. Effect of Ang-2-VEGF-A Bispecific Antibody in Renal Cell Carcinoma [J]. Cancer Investigation, 2015, 33(8): 378-386
- [14] Azeb Tadesse A, Linnea A, Jingya Z, et al. Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease[J]. Journal of Clinical Investigation, 2012, 122(11): 134
- [15] Chapouly C, Tadesse AA, Horng S, et al. Astrocytic TYMP and VEGF-A drive blood-brain barrier opening in inflammatory central nervous system lesions [J]. Brain A Journal of Neurology, 2015, 138(6): 1548-1567
- [16] Yao G, He P, Chen L, et al. MT1-MMP in breast cancer: induction of VEGF-C correlates with metastasis and poor prognosis [J]. Cancer Cell International, 2013, 13(1): 1-9
- [17] Wu QW, She HQ, Liang J, et al. Expression and clinical significance of extracellular matrix protein 1 and vascular endothelial growth factor-C in lymphatic metastasis of human breast cancer[J]. BMC Cancer, 2012, 12(1): 47
- [18] He W, Tang B, Yang D, et al. Double-positive expression of high-mobility group box 1 and vascular endothelial growth factor C indicates a poorer prognosis in gastric cancer patients[J]. World Journal of Surgical Oncology, 2013, 11(1): 1-10
- [19] Yu J, Zhang X, Kuzontkoski PM, et al. Slit2N and Robo4 regulate lymphangiogenesis through the VEGF-C/VEGFR-3 pathway [J]. Cell Communication & Signaling Ccs, 2014, 12(320): 646-657
- [20] Krebs R, Jeltsch M. The lymphangiogenic growth factors VEGF-C and VEGF-D: Part 2: The role of lymphangiogenic growth factors VEGF-C and VEGF-D in lymphatic disorders [J]. Lymphologie in Forschung Und Praxis, 2013, 17(2): 96-104

(上接第 76 页)

- [18] Shao J, Cui Y, Zheng Y, et al. Efficacy and safety of sublingual immunotherapy in children aged 3-13 years with allergic rhinitis [J]. American journal of rhinology & allergy, 2014, 28(2): 131-139
- [19] Suojalehto H, Lindström I, Majuri M L, et al. Altered microRNA expression of nasal mucosa in long-term asthma and allergic rhinitis[J]. International archives of allergy and immunology, 2014, 163 (3): 168-178
- [20] Wu Y C B, James L K, Vander Heiden J A, et al. Influence of seasonal exposure to grass pollen on local and peripheral blood IgE repertoires in patients with allergic rhinitis [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2014, 134(3): 604-612