

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.11.010

微波消融对骨肉瘤肺转移的影响*

林 慧 陈 钱 单秋生 郭净洁 王 崇 李国林[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院口腔颌面外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨微波消融治疗骨肉瘤对其肺转移的影响及可能机制。**方法:**用含有 1×10^7 个大鼠源骨肉瘤 UMR106 细胞的悬液于 SD 大鼠右下肢皮下注射建立骨肉瘤移植模型,将其随机分为对照组和消融组。消融组大鼠肿瘤予以微波消融治疗 10 min, 50 °C,空白对照组大鼠模拟消融 10 min, 0 °C,检测和比较两组大鼠肿瘤直径变化,于治疗 15 天后处死大鼠,取大鼠肿瘤及肺组织,通过 HE 染色以及免疫组化检测基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinase, MMPs)及其拮抗因子(Tissue inhibitors metalloproteinase),即 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-2 的表达。**结果:**消融组大鼠肿瘤直径明显小于对照组大鼠肿瘤直径,消融组大鼠肿瘤组织及肺组织 MMP-2 及 MMP-9 的阳性表达均显著高于对照组($P < 0.05$),而 TIMP-2 的阳性表达则明显低于对照组($P < 0.05$)。**结论:**微波消融技术治疗骨肉瘤可以抑制骨肉瘤细胞的增殖,甚至引起细胞凋亡,并且通过上调 MMP-2、MMP-9 以及下调 TIMP-2 的表达,可能会提高其远处转移发生的风险。

关键词:微波消融;骨肉瘤;肺转移

中图分类号:R-33;R738 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)11-2054-05

Effect of Microwave Ablation on the Lung Metastasis of Osteosarcoma*

LIN Hui, CHEN Qian, SHAN Qiu-sheng, GUO Jing-jie, WANG Chong, LI Guo-lin[△]

(Department of Oral and Maxillofacial Surgery, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: In this study, we discuss the effect of microwave ablation on the lung metastasis of osteosarcoma and its mechanism of action. **Methods:** Animal models of osteosarcoma transplantation were established by subcutaneous injection of 1×10^7 rat derived osteosarcoma UMR106 cells into the right lower limb of SD rats, which was divided them into control group and ablation group randomly. The microwave ablation ablation group rats would be treated by microwave ablation ablation for 10 min, 50 °C, and the control group rats would be simulated ablation 10 min, 0 °C, record the tumor diameter changes, two groups of rats would be executed after 15 days. Lung tissue was taken for HE staining. Detect the relative expression level of MMP-2 and MMP-9 and TIMP-2 in the tumor and lung tissues by immunohistochemistry. **Results:** The tumor diameter of the ablation group was significantly smaller than that of the blank group. The positive expression of MMP-2 and MMP-9 of tumor and lung tissues in the ablation group were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$), while the positive expression of TIMP-2 was significantly lower than that in the control groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** Microwave ablation can inhibit the proliferation of osteosarcoma cells and even cause apoptosis. Because of up-regulation of the expression of MMP-2, MMP-9 and reduce TIMP-2 expression, Microwave ablation may increase the possibility of lung metastasis.

Key words: Microwave ablation; Osteosarcoma; Metastasis; Animal models

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R738 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)11-2054-05

前言

骨肉瘤^[1]是一种常见的原发性的恶性肉瘤,起源于间叶组织,多发于儿童和青年。近年来,随着医疗水平的不断提高,骨肉瘤患者的 5 年生存率可达 68%^[2]。骨肉瘤最常见的远处转移是肺转移,约占总转移的 90%。肺转移仍对骨肉瘤患者的预后有着严重的影响,评估骨肉瘤患者的远处转移风险对改善骨肉瘤患者的预后有着重要意义^[3]。

微波消融(Microwave ablation, MWA)是一种新型的骨肉瘤

保肢治疗方案^[4],研究表明^[5]在早期治疗的过程中,微波消融治疗骨肉瘤患者可以达到消灭肿瘤的目的,但微波治疗对骨肉瘤的远处转移的影响以及其分子机制目前并不完全明确。本研究通过建立 SD 大鼠骨肉瘤移植模型,定期测量肿瘤组织直径大小,采用免疫组化实验检测肿瘤组织及肺组织中基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinase, MMPs)及其拮抗因子(Tissue inhibitors metalloproteinase)即 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-2 的表达情况,旨在明确微波消融治疗骨肉瘤后可能的分子机制,结果报道如下。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81272466);黑龙江省自然科学基金项目(H2018041)

作者简介:林慧(1993-),硕士研究生,主要研究方向:肿瘤学, E-mail: 18246085497@163.com

△ 通讯作者:李国林(1976-),博士生导师,教授,主要研究方向:肿瘤学, E-mail: liguolin@126.com, 电话:0455-5-85555871

(收稿日期:2019-12-23 接受日期:2020-01-18)

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与细胞株 雌性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠(平均年龄 4 周)购自 SLAC 实验动物。实验过程中尽量减少使用动物的数量并减轻它们的痛苦。采用上海交通大学提供的 UMR106 大鼠成骨肉瘤细胞。细胞系都培养于 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基(美国 Gibco, Billings, MT), 1% 谷酰胺抗生素(青霉素, 链霉素, Gibco)在 37℃、5% CO₂ 孵箱中孵育。

1.1.2 主要仪器 微波消融仪器(南京, 中国); 石蜡切片机(RM2235, Leica, 德国); 电热恒温鼓风干燥箱(QH01-9030A, 精宏实验设备, 上海); 电热恒温培养箱(DH36001B, 天津泰斯特, 天津); 超纯水系统(NW10LVF, Heal Force, 中国); 显微镜型号(BX53, OLUMPUS, 日本); 显微镜拍照系统(DP73, OLUMPUS, 日本)。

1.1.3 主要试剂 MMP2(WL01579a, Wanleibio, 中国); MMP9(WL03096, Wanleibio, 中国); TIMP2(17353-1-AP, Proteintech, 中国); 生物素化山羊抗兔 IgG(A0277, Beyotime, 中国); 辣根酶标记链霉亲和素(A0303, Beyotime, 中国); 山羊血清(SL038, Solarbio, 中国), 其他试剂为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将 UMR106 冻存管放入 37℃ 水浴箱中 1 min 解冻复苏, 在超净台中配制含 15% 胎牛血清(FBS)+DMEM 培养基+1% PS 的培养液, 解冻液置入 10 mL 培养液加入离心管中, 吹打混匀, 密封后置离心机中离心(800 r/min, 5 min), 弃上清, 加入配制好的培养液适当稀释, 移入培养瓶中, 于 37℃ 5% CO₂ 培养箱中常规培养。常规传代, 收集细胞。

1.2.2 动物实验与分组 我们建立了大鼠骨肉瘤移植模型^[6]并对骨肉瘤移植模型进行消融治疗。将 10 只 4 周雌性 SD 大鼠用含有 1×10^7 个大鼠源骨肉瘤 UMR106 细胞的悬液于右下肢皮下注射, 每 5 天用游标卡尺测量肿瘤直径大小, 待肿瘤直径大小约 26.97 ± 4.16 mm 时, 随机分为两组, 每组五只, 进行实验。空白组进行模拟 MWA, 即 MWA 0 min, 实验组消融温度 50℃, 消融时间 10 min。麻醉下, SD 大鼠肿瘤区域用酒精消毒。在严格无菌条件下, 在肿瘤中心皮下插入 MWA 消融针, 边缘插入测温针且监测消融温度为 50℃, 消融时间 10 min。手术结束后, 分别将所有大鼠单独置于各自的鼠笼中。所有的手术都是由同一位外科医生完成的。消融后, 每 5 天用游标卡尺测量肿瘤直径, 半个月后处死两组大鼠, 取肿瘤组织及肺组织。

1.2.3 HE 染色实验 将大鼠处死后, 取其肿瘤组织及肺组织, 切片, 将标本蜡块装在切片机上, 切成 5 μm 的薄片, 然后把切片放在温水中展开。将展开的组织切片移到载玻片上, 放在 60℃ 温箱中 2 h, 烘干。将切片脱蜡至水, 苏木素、蒸馏水、1% 盐酸酒精依次浸泡, 自来水流水冲洗, 伊红染色液染色。伊红染后的切片依次浸入 75%、85%、95% 的乙醇中, 每级停留 2 min。无水乙醇 I 5 min- 无水乙醇 II 5 min- 二甲苯 I 5 min- 二甲苯 II 5 min- 脱水透明, 晾干切片后用中性树胶进行封片。于显微镜下观察染色效果。于 400× 镜下拍照(标尺长度为 50 μm)。

1.2.4 免疫组化实验 将大鼠处死后, 取其肿瘤组织及肺组织, 置于 4% 的多聚甲醛固定液中固定过夜, 将标本蜡块切片

后, 二甲苯脱蜡至水, 抗原修复后, 过氧化氢孵育, 以山羊血清封闭, 一抗孵育, 二抗孵育, 辣根酶标记, DAB 显色后苏木素复染, 乙醇常规脱水、透明、封片, 于显微镜下观察 MMP-2、MMP-9、TIMP-2 的表达情况。

1.3 统计学分析

用 Image-Pro Plus 6.0 软件半定量统计空白组和实验组肿瘤及肺部标本中 MMP-2、MMP-9、TIMP-2 的表达情况。本实验数据应用 Graphpad prism 7.0 进行分析, 数据表示为均值±标准差, 两组比较用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组大鼠肿瘤直径的比较

第 0-15 天, 空白组和消融组肿瘤直径均呈增大趋势, 且无明显差异。第 15 天, 空白组 0℃, 10 min 模拟消融, 消融组 50℃, 10 min 消融处理。第 15-30 天, 空白组的肿瘤直径仍增大, 但消融组的肿瘤直径开始减小($P < 0.0001$), 见图 1。

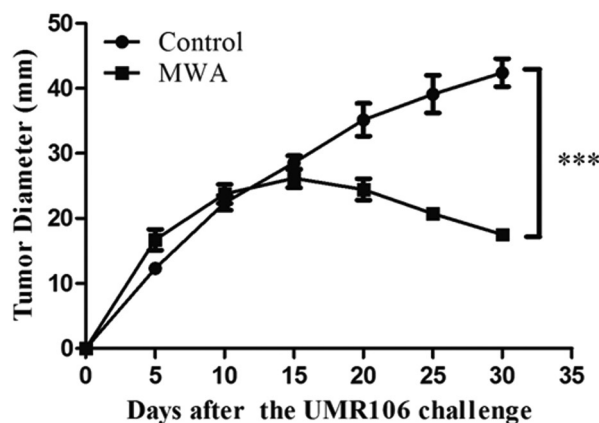


图 1 两组大鼠肿瘤组织直径变化

Fig.1 The changes of diameters of tumor tissue in the two groups

2.2 两组大鼠肿瘤组织 MMP-2 表达的比较

2A 图示空白组肿瘤组织中 MMP-2 阳性表达情况, 2B 图示消融组肿瘤组织中 MMP-2 阳性表达情况。MMP-2 阳性表达主要定位于细胞胞浆, 呈棕黄色。如图 2C 所示, 空白组 MMP-2 的 IOD 值是 0.0626 ± 0.003 , 消融组的 MMP-2 的 IOD 值是 0.1107 ± 0.005 , 显著高于空白组($n=5, P < 0.01$)。

2.3 两组大鼠肺组织内 MMP-2 表达的比较

3A 图示空白组肺组织 MMP-2 的阳性表达情况, 3B 图示消融组肺组织 MMP-2 的阳性表达情况。MMP-2 主要阳性表达定位于细胞胞浆, 呈棕黄色。如图 3C 所示, 空白组肺组织 MMP-2 的 IOD 值是 0.1227 ± 0.002 , 消融组的 IOD 值是 0.1443 ± 0.007 , 显著高于空白组($n=5, P < 0.05$)。

2.4 两组大鼠肿瘤组织内 MMP-9 表达的比较

4A 图示空白组肿瘤组织的 MMP-9 阳性表达情况; 4B 图示消融组中 MMP-9 的阳性表达情况。如图 4C 所示, 空白组肿瘤组织中 MMP-9 的 IOD 值是 0.0646 ± 0.002 , 消融组肿瘤组织 IOD 值是 0.1490 ± 0.011 , 显著高于空白组($n=5, P < 0.01$)。

2.5 两组大鼠肺组织内 MMP-9 表达的比较

5A 图示空白组肺组织的 MMP-9 阳性表达; 5B 图示消融组肺组织 MMP-9 阳性表达情况。如图 5C 所示, 空白组肺组织

MMP-9 的阳性表达 IOD 值是 0.1193 ± 0.008 , 消融组肺组织 ($n=5, P<0.01$)。

MMP-9 的阳性表达 IOD 值是 0.1947 ± 0.017 , 显著高于空白组

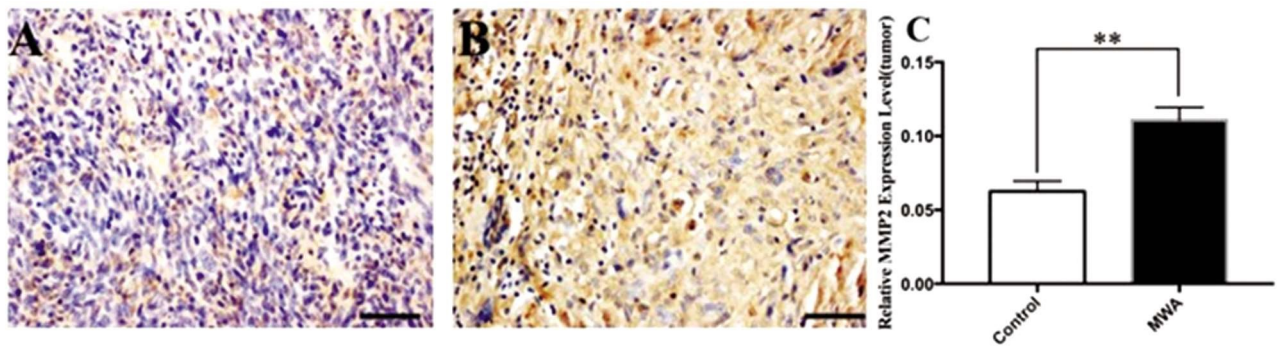


图 2 两组大鼠肿瘤组织内 MMP-2 表达情况的比较($\times 400$ 倍)

Fig.2 Comparison of the expression of MMP-2 in the tumor tissue between the two groups($\times 400$)

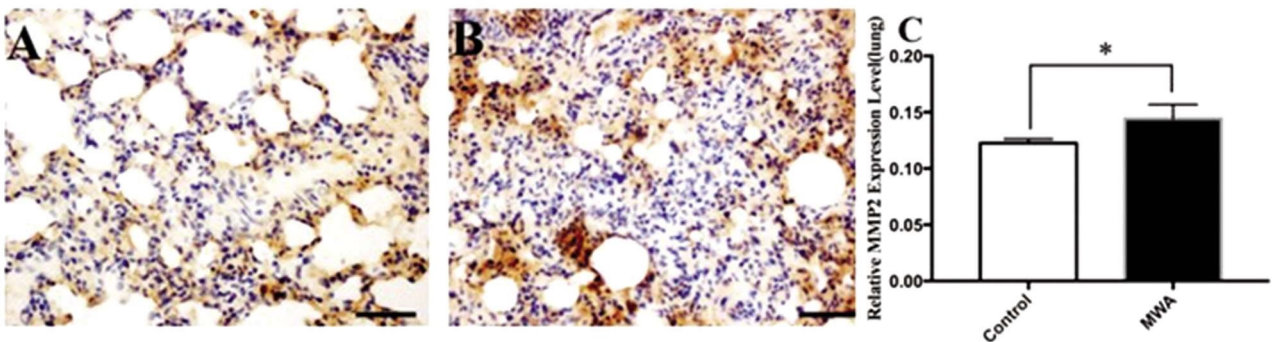


图 3 两组大鼠肺组织内 MMP-2 表达的比较($\times 400$ 倍)

Fig.3 Comparison of the MMP-2 expression in the lung tissue between the two groups($\times 400$)

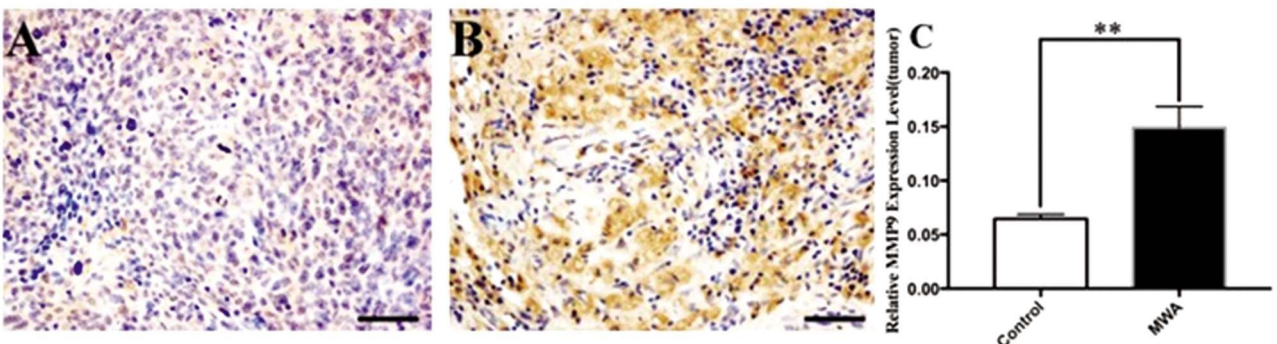


图 4 两组大鼠肿瘤组织内 MMP-9 表达的比较($\times 400$ 倍)

Fig.4 Comparison of the MMP-9 expression in the tumor tissue between two groups($\times 400$)

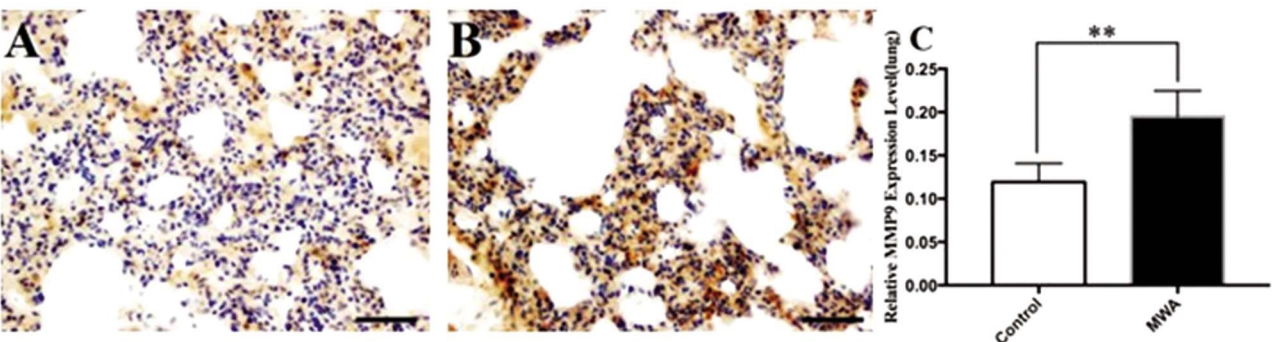


图 5 两组大鼠肺组织内 MMP-9 表达的比较($\times 400$ 倍)

Fig.5 Comparison of the MMP expression in the lung tissue between the two groups($\times 400$)

2.6 两组大鼠肿瘤组织内 TIMP-2 表达情况比较

示消融组肿瘤组织的 TIMP-2 阳性表达。如图 6C 所示,空白组

6A 图示 TIMP-2 在空白组肿瘤组织中的阳性表达;6B 图

肿瘤组织 TIMP-2 的 IOD 值是 0.0890 ± 0.003 , 消融组肿瘤组织

TIMP-2 的 IOD 值是 0.0730 ± 0.004 , 显著低于空白组 ($n=5, P<0.05$)。

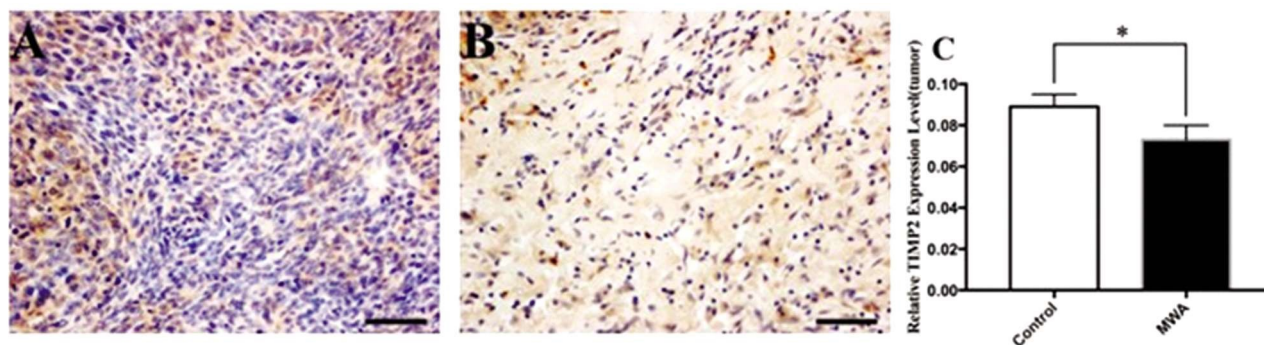


图 6 两组大鼠肿瘤组织内 TIMP-2 表达情况的比较($\times 400$ 倍)

Fig.6 Comparison of TIMP-2 expression in the tumor tissue between the two groups($\times 400$)

2.7 两组大鼠肺组织内 TIMP-2 表达情况比较

7A 图示 TIMP-2 在空白组肺组织中的阳性表达;7B 图示消融组肺组织的 TIMP-2 阳性表达情况。如图 7C 所示,空白组

肺组织 TIMP-2 的阳性表达 IOD 值是 0.1598 ± 0.016 , 消融组肺组织 TIMP-2 的 IOD 值是 0.1218 ± 0.006 , 显著低于空白组 ($n=5, P<0.05$)。

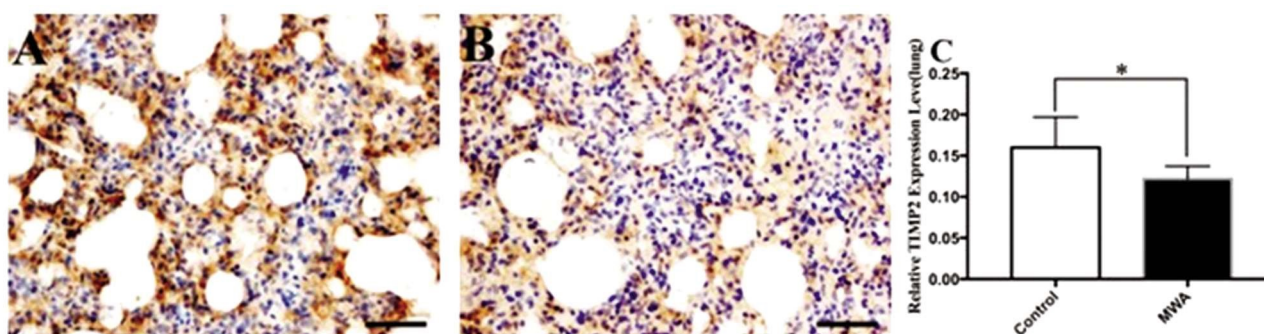


图 7 两组大鼠肺组织 TIMP-2 表达的比较($\times 400$ 倍)

Fig.7 Comparison of the TIMP-2 expression in the lung tissue between the two groups($\times 400$)

2.8 两组大鼠肺组织 HE 染色比较

8A 图示空白组肺组织 HE 染色情况,肺泡结构完整,细胞呈卵圆形,细胞大小相似,核仁明显,胞质清晰,未见明显癌细胞

胞;8B 图示消融组肺组织的 HE 染色情况,图中肺泡结构基本完整,细胞呈卵圆形,核仁明显,胞质清晰,未见明显癌细胞。

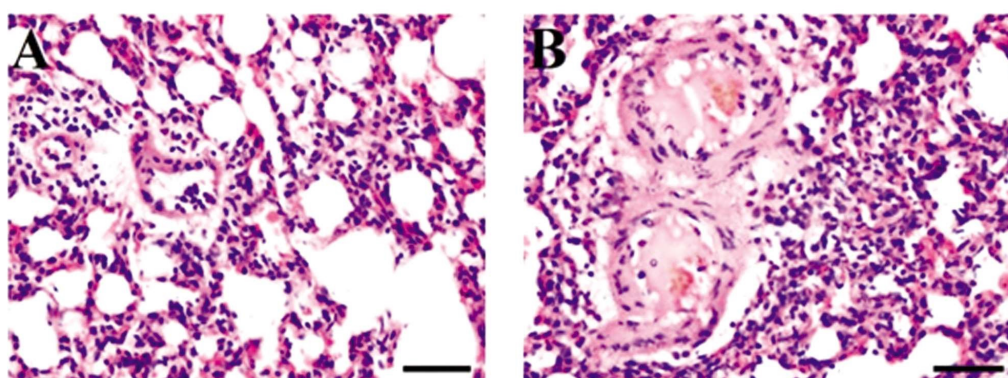


图 8 两组大鼠肺组织 HE 染色情况($\times 400$ 倍)

Fig.8 HE staining of lung tissues in two groups($\times 400$)

3 讨论

骨肉瘤是一种青少年常见的恶性肿瘤^[7],常通过血行转移而发生肺转移,发生肺转移后五年生存率仅能达到 20%^[8]。骨肉瘤的常规手术治疗方法包括截肢治疗和保肢治疗^[9]。手术截肢治疗能充分切除原发病变组织,且具有低复发,低转移率,操作

简单等优点^[10],但是由于肢体残缺所导致的功能障碍,截肢手术会严重影响患者的心理及生理健康,降低患者生存质量^[11]。保肢治疗可以最大程度减少创伤,保存肢体,维护肢体功能,提高患者生活质量^[12]。随着保肢治疗方法的不断进步,有研究表明^[13]骨肉瘤保肢手术术后患者的 5 年总生存率已经能够与截肢手术达到相似的预后水平。因此,保肢手术已经逐渐取代截

肢手术成为骨肉瘤治疗的主要手段^[14]。

微波消融技术现已初步应用于肝癌^[15,16]、肾癌^[17]、肺癌^[18]、乳腺癌^[19]等癌症的治疗。已有研究表明^[20]微波消融技术是利用微波消融针释放微波,使分子高速震动,从而产生热效应,作用于肿瘤组织,以致肿瘤组织凝固、坏死和凋亡。由于微波产生的热效应,消融中心区域的温度可以迅速达到 100 ℃,使消融区域组织坏死达到杀灭肿瘤细胞的效果,但肿瘤边缘的温度为 50℃左右来保证对正常组织创伤较小^[21]。研究表明^[22]轻中度高热能使肿瘤细胞凋亡,肿瘤微环境也随之发生改变。本研究通过建立大鼠骨肉瘤移植模型,监测大鼠肿瘤直径变化,并监测大鼠骨肉瘤的转移情况^[23]。研究结果显示经微波消融技术治疗后,大鼠肿瘤直径逐渐减小,说明微波消融技术可以抑制骨肉瘤细胞的增殖。

目前认为肿瘤细胞发生转移需要三个步骤:粘附、降解、移动。其中对组织屏障—细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)的降解是肿瘤发生转移的关键步骤。ECM 的降解主要依靠 ECM 降解酶,其中以 MMP-2 尤为重要,它能够降解胶原,明胶,层粘连蛋白,纤维粘连蛋白,在肿瘤的血管化、肿瘤细胞的浸润和转移中扮演着重要角色,在多种恶性肿瘤中存在着过度表达。TIMP-2 是 MMP-2 的特异性抑制剂,它可以抑制 MMP-2 活性,发挥抑制肿瘤浸润转移的作用。MMP-2 与 TIMP-2 之间的平衡在恶性肿瘤浸润转移以及肿瘤的血管化过程中有着密切关系^[24]。本研究中,消融组大鼠肿瘤组织中 MMP-2 的表达明显高于空白组大鼠,提示微波消融治疗可能促进肿瘤转移。而消融组大鼠肺组织的 MMP-2 的表达明显高于空白组大鼠肺组织,也验证了以上结论。Kunz 等^[25]发现 MMP-9 是骨肉瘤患者预后的评估因子,在骨肉瘤组织中其阳性表达高与骨肉瘤转移率增高呈相关性。而 TIMP-2 的低表达与肿瘤高浸润及高转移率密切相关^[26],可作为骨肉瘤转移的指标^[27,28]。本研究中,消融组大鼠肿瘤组织和肺组织中 MMP-9 的表达均明显高于空白组大鼠,而 TIMP-2 的表达均显著低于空白组大鼠,也提示微波消融可能会促进骨肉瘤的转移。Kong 等^[29]研究表明在微波消融技术应用于乳腺癌时,虽然能抑制乳腺癌细胞的增殖并促进癌细胞凋亡,但是却可能会增强乳腺癌远处转移的发生。本实验结果与之相似,提示微波消融技术治疗骨肉瘤之后,可能促进肿瘤的远处转移。因此,微波消融技术是否能通用于所有肿瘤尚待进一步研究。

但在本实验中两组大鼠的肺组织 HE 染色均未发现有明显的骨肉瘤癌细胞转移灶,可能由于大鼠带瘤时间较短,尚未出现肺转移,这尚待进一步实验以及长时间的观察才能得出结论。

微波消融现在虽然已经开始初步应用于骨肉瘤患者的保肢治疗之中^[30],但是其上调肿瘤组织中 MMP-2、MMP-9 的表达且下调 TIMP-2 表达的具体机制尚待研究。正确地使用微波消融技术治疗骨肉瘤,且减小其对骨肉瘤患者的预后的影响也应进一步考虑。

参考文献 (References)

- [1] Salah S, Toubasi S. Factors predicting survival following complete surgical remission of pulmonary metastasis in osteosarcoma [J]. *Mol Clin Oncol*, 2015, 3: 157-162
- [2] Ottaviani G, Jaffe N. The epidemiology of osteosarcoma [J]. *Cancer Treatment & Research*, 2009, 152: 3
- [3] Rui Li, Yanlong Shi, Shiwei Zhao, et al. NF- κ B signaling and integrin- β 1 inhibition attenuates osteosarcoma metastasis via increased cell apoptosis[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123
- [4] Fan QY, Zhou Y, Zhang M, et al. Microwave ablation of malignant extremity bone tumors[J]. *Springerplus*, 2016, 5(1): 1373
- [5] Agarwal M. CORR Insights® : Is Limb Salvage with Microwave-induced Hyperthermia Better Than Amputation for Osteosarcoma of the Distal Tibia [J]. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2017, 475(6)
- [6] Yu Z, Sun H, Fan Q, et al. Establishment of reproducible osteosarcoma rat model using orthotopic implantation technique [J]. *Oncology Reports*, 2009, 21(5): 1175
- [7] Fujiwara T, Uotani K, Yoshida A, et al. Clinical significance of circulating miR-25-3p as a novel diagnostic and prognostic biomarker in osteosarcoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(20): 33375-33392
- [8] Yang Z, Li X, Yang Y, et al. Long noncoding RNAs in the progression, metastasis, and prognosis of osteosarcoma[J]. *Cell Death and Disease*, 2016, 7(9): e2389
- [9] Misaghi A, Goldin A, Awad M, et al. Osteosarcoma: a comprehensive review[J]. *SICOT-J*, 2018, 4(1): 12
- [10] London C A, Gardner H L, Tamra M, et al. Impact of Toceranib/Piroxicam/Cyclophosphamide Maintenance Therapy on Outcome of Dogs with Appendicular Osteosarcoma following Amputation and Carboplatin Chemotherapy: A Multi-Institutional Study [J]. *PLOS ONE*, 2015, 10(4): e0124889
- [11] Szweczyk M, Lechowski R, Zabielska K. What do we know about canine osteosarcoma treatment? - review[J]. *Veterinary Research Communications*, 2015, 39(1): 61-67
- [12] Melcer T, Walker J, Bhatnagar V, et al. A Comparison of Four-Year Health Outcomes following Combat Amputation and Limb Salvage [J]. *PLoS ONE*, 2017, 12(1): e0170569
- [13] Mavrogenis A F, Abati C N, Romagnoli C, et al. Similar Survival but Better Function for Patients after Limb Salvage versus Amputation for Distal Tibia Osteosarcoma [J]. *Clinical Orthopaedics & Related Research*®, 2012, 470(6): 1735-1748
- [14] Ottaviani G, Robert R S, Huh W W, et al. Sociooccupational and physical outcomes more than 20 years after the diagnosis of osteosarcoma in children and adolescents [J]. *Cancer*, 2013, 119 (20): 3727-3736
- [15] Poggi G, Tosoratti N, Montagna B, et al. Microwave ablation of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(25): 2578-2589
- [16] Primavesi F, Swierczynski S, Klierer E, et al. Thermographic real-time-monitoring of surgical radiofrequency and microwave ablation in a perfused porcine liver model[J]. *Oncology Letters*, 2017
- [17] Healey TT, March BT, Baird G, et al. Microwave ablation for lung neoplasms: a retrospective analysis of long-term results[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2017, 28(2): 206-211
- [18] Han Y, Shao N, Xi X, et al. Use of microwave ablation in the treatment of patients with multiple primary malignant tumors[J]. *Thoracic Cancer*, 2017

- 1998, 13(5): 315-322
- [4] 李龙梅, 毛萌, 邓志云, 等. 大脑中动脉线栓法复制卒中后创伤后应激障碍样大鼠模型的建立[J]. 医药导报, 2019, 38(8): 10-15
- [5] 张涛, 赵玉华, 曲梅, 等. 帕罗西汀联合二十味沉香丸治疗焦虑症的临床疗效及安全[J]. 西藏科技, 2017, (10): 50-52
- [6] 张冬月, 韩薇. 我国脑卒中流行现状及危险因素研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(80): 122-123
- [7] 张青莲, 李东芳, 连霞. 卒中后焦虑抑郁发生的相关因素[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(03): 326-328
- [8] 谢威, 陈德雄, 赵旦, 等. 老年脑卒中后创伤后应激障碍的临床研究 [J]. 广东医学, 2010, 31(22): 2920-2922
- [9] Favrole P, Jehel L, Levy P, et al. Frequency and predictors of post-traumatic stress disorder after stroke: a pilot study [J]. J Neurol Sci, 2013, 327(1-2): 35-40
- [10] Murray V1, Mårtensson B. Emotional reactions common sequelae of stroke[J]. Lakartidningen, 2004, 101(24): 2108-10, 2112-3, 2115
- [11] Merriman C, Norman P, Barton J. Psychological correlates of PTSD symptoms following stroke [J]. Psychol Health Med, 2007, 12(5): 592-602
- [12] Hori Hiroaki, Kim Yoshiharu. Inflammation and posttraumatic stress disorder [J]. Psychiatry and clinical neurosciences, 2019, 73 (4): 143-153
- [13] Israel Liberzon, Chandra Sekhar Sripada. The functional neuroanatomy of PTSD: a critical review [J]. Progress in Brain Research, 2008, 167, 151-169
- [14] Chapman C, Mills K, Slade T, et al. Remission from post-traumatic stress disorder in the general population [J]. Psychological Medicine, 2012, 42(8): 1695-1703
- [15] 许露, 李燕, 张芳, 等. 逍遥散加减对高泌乳素血症模型大鼠中枢多巴胺受体 ERK 信号转导通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 70-76
- [16] 林玲, 刘国良, 孙缙利. 海马 CA1 区 5-HT_{1A}受体调控 PTSD 大鼠空间记忆的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(01): 98-103
- [17] 张黎明, 陈红霞, 张有志, 等. 5-羟色胺与创伤后应激障碍的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(10): 1261-1263
- [18] 徐爱军, 李冉, 王海涛, 等. 创伤后应激障碍大鼠海马组织 5-HT_{1A}受体 mRNA 的表达 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2012, 29(02): 137-139
- [19] 徐爱军, 刘继刚, 刘昊, 等. 氟西汀对创伤后应激障碍大鼠海马组织 5-HT_{1A}受体表达的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2012, 38(04): 674-677
- [20] 袁红, 陈金宏, 刘惠亮, 等. 创伤后应激障碍的治疗策略[J]. 中华灾害救援医学, 2014, 2(01): 53-57

(上接第 2058 页)

- [19] Li L, Wang W, Pan H, et al. Microwave ablation combined with OK-432 induces Th1-type response and specific antitumor immunity in a murine model of breast cancer [J]. Journal of Translational Medicine, 2017, 15(1): 23
- [20] Chu K F, Dupuy D E. Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy [J]. Nature Reviews Cancer, 2014, 14(3): 199-208
- [21] Qi H, Zhang H, Wan C, et al. CT-guided microwave ablation through the lungs for treating liver tumors near the diaphragm[J]. Oncotarget, 2015, 8(45): 79270-79278
- [22] Yona K. Tumor abolition and antitumor immunostimulation by physico-chemical tumor ablation [J]. Frontiers in Bioscience, 2017, 22(2): 310-347
- [23] Walter I, Miller I, Razzazi-Fazeli E, et al. Distribution and activity levels of matrix metalloproteinase 2 and 9 in canine and feline osteosarcoma[J]. Canadian Journal of Veterinary Research, 2016, 80(1)
- [24] Zhu K P, Ma X L, Zhang C L. LncRNA ODRUL contributes to osteosarcoma progression through the miR-3182/MMP2 axis[J]. Molecular Therapy, 2017: S1525001617303118
- [25] Kunz P, S Hr H, Lehner B, et al. Elevated ratio of MMP2/MMP9 activity is associated with poor response to chemotherapy in osteosarcoma[J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 223
- [26] Yi X, Guo J, Guo J, et al. EZH2-mediated epigenetic silencing of TIMP2 promotes ovarian cancer migration and invasion[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 3568
- [27] Wei W, Yifan Z, Mingxing L, et al. TIMP2 is a Poor Prognostic Factor and Predicts Metastatic Biological Behavior in Gastric Cancer[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 9629
- [28] Kai A K, Chan L K, Lo R C, et al. Down-regulation of TIMP2 by HIF-1 β $\pm$ miR-210/HIF-3 β $\pm$ regulatory feedback circuit enhances cancer metastasis in hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2016, 64(2): 473-487
- [29] Kong P, Pan H, Yu M, et al. Insufficient microwave ablation-induced promotion of distant metastasis is suppressed by β -catenin pathway inhibition in breast cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8 (70): 115089-115101
- [30] Li J, Guo Z, Wang Z, et al. Does Microwave Ablation of the Tumor Edge Allow for Joint-sparing Surgery in Patients With Osteosarcoma of the Proximal Tibia? [J]. Clinical Orthopaedics and Related Research, 2015, 473(10): 3204-3211