

文章编号:1671-7554(2008)03-0288-04

CD147、MMP-9 和 VEGF 在垂体瘤中的表达及其生物学行为的关系

曲鑫,曲元明,张泽香,徐广明,陈刚,任金林,牟成志,王国栋
(山东大学山东省立医院神经外科,济南 250021)

摘要:目的 探讨 CD147、MMP-9 和 VEGF 在垂体腺瘤中的表达及其与垂体腺瘤侵袭性的相关性。方法 应用免疫组化 SP 法对 50 例垂体腺瘤标本的 CD147、MMP-9 及 VEGF 表达进行检测,分析其表达与垂体腺瘤侵袭性的关系及其三者间的相关性。结果 CD147 在侵袭性垂体腺瘤中的强阳性及总阳性表达率分别为 51.7% 和 93.1%,明显高于非侵袭性垂体腺瘤中的 23.8% 和 52.4% ($P < 0.05$); MMP-9 在侵袭性垂体腺瘤中的强阳性及总阳性表达率分别 58.6% 和 86.2%,明显高于非侵袭性垂体腺瘤中的 14.3% 和 42.9% ($P < 0.05$); VEGF 在侵袭性垂体腺瘤中的强阳性及总阳性表达率分别为 62.1% 和 96.6%,明显高于非侵袭性垂体腺瘤 19.1% 和 57.1% ($P < 0.05$); 侵袭性垂体腺瘤组中的 CD147、MMP-9 和 VEGF 表达两两呈正相关 ($P < 0.05$),非侵袭性垂体腺瘤组中 CD147、MMP-9 和 VEGF 表达无明显相关性。结论 CD147、MMP-9 及 VEGF 的高表达与垂体腺瘤的侵袭性密切相关,可作为判断垂体腺瘤侵袭性生长的有效指标;在肿瘤侵袭生长过程中,CD147 与 MMP-9、VEGF 的产生有关,VEGF 与 MMP-9 可能存在协同作用,共同促进垂体腺瘤侵袭性生长。

关键词:白细胞分化抗原 147;基质金属蛋白酶-9;血管内皮生长因子;垂体肿瘤;侵袭
中图分类号:R739.41 文献标志码:A

Expressions of CD147, MMP-9 and VEGF in pituitary adenomas and relationship with biological behavior

QU Xin, QU Yuan-ming, ZHANG Ze-xiang, XU Guang-ming, CHEN Gang,
REN Jin-lin, MU Cheng-zhi, WANG Guo-dong

(Department of Neurosurgery, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China)

Abstract: Objective To explore the protein expressions of CD147, MMP-9 and VEGF in pituitary adenomas and to study the biological relationships between CD147, MMP-9, and VEGF and the invasiveness of pituitary adenomas. **Methods** The expressions of CD147, MMP-9 and VEGF in 50 cases were determined by the immunohistochemical SP method. Correlation among CD147, MMP-9 and VEGF, and correlation between the expressions of CD147, MMP-9 and VEGF and invasiveness of pituitary adenomas were studied. **Results** The intense expression and total expression rates of CD147 of pituitary adenoma patients with invasion were significantly higher than those without invasion (51.7% vs 23.8% and 93.1% vs 52.4%, $P < 0.05$). The intense expression and total expression rates of MMP-9 in pituitary adenoma patients with invasion were significantly higher than those without invasion (58.6% vs 14.3% and 86.2% vs 42.9%, $P < 0.05$). Also the intense expression and total expression rates of VEGF in pituitary adenoma patients were significantly higher than those without invasion (62.1% vs 19.1% and 96.6% vs 57.1%, $P < 0.05$). There were mutually positive correlations among CD147, MMP-9 and VEGF expressions in invasive pituitary adenomas. **Conclusion** The high expression of CD147, MMP-9 and VEGF might relate to the aggressiveness and invasion in pituitary adenomas and may be useful markers for predicting invasiveness. In the process of invasive growth, CD147 has some relation to MMP-9 and VEGF, and MMP-9 and VEGF may act together.

收稿日期:2007-11-19

作者简介:曲鑫(1974-),男,主治医师,医学硕士在读,研究方向为颅脑肿瘤和脑外伤。E-mail: xinqu0213@126.com

通讯作者:王国栋(1964-),男,副主任医师,医学博士,研究方向为微侵袭神经外科。E-mail: guodong0121@126.com

Key words: Cluster of differentiation147; Matrix metalloproteinase-9; Vascular endothelial growth factor; Pituitary neoplasms; Invasion

垂体腺瘤属于良性肿瘤,一般不发生转移,但约有30%侵入到周围结构。该类肿瘤根治较困难,手术难以全切除,术后复发率高。CD147又称为细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN),是近年发现的细胞表面粘附因子,具有刺激产生金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的作用,影响肿瘤的侵袭和转移^[1]。在MMPs的亚族中,MMP-9与垂体腺瘤侵袭性关系最为密切^[2,3]。肿瘤的血管生成与肿瘤生长和转移密切相关,而血管内皮生长因子(VEGF)是目前所知的作用最强的促血管生成因子之一,在肿瘤的形成中起着重要作用^[4]。本研究应用免疫组化法检测垂体瘤中CD147、MMP-9和VEGF蛋白的表达,探讨其表达与侵袭性垂体腺瘤的关系及其三者之间的联系,进一步明确垂体腺瘤侵袭性的发生机制,为临床上侵袭性垂体腺瘤的诊治提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 临床材料 收集2006年2月至2007年4月期间山东省立医院神经外科的垂体腺瘤手术标本(手术时取所需组织,经10%中性福尔马林固定,石蜡包埋)50例,其中男26例,女24例,18~71岁,平均(38.3±1.3)岁;29例为侵袭性,21例为非侵袭性垂体腺瘤,均经手术治疗和病理检查确诊,分为侵袭组和非侵袭组。

侵袭性垂体腺瘤的判断标准:①结合Wilson改良的Hardy^[5]分类法及Knos^[6]分级、分期标准,判断垂体腺瘤侵袭性。本研究中将Wilson改良的Hardy分类法III-IV级或C, D, E期和/或Knosp2级以上作为垂体腺瘤侵袭性的判断标准;②术前影像学改变,CT及MRI可见海绵窦、鞍旁及下丘脑等邻近结构的破坏;③术中所取鞍底骨质或邻近硬脑膜经病理学证实有肿瘤细胞侵犯;④术中见鞍底骨质及硬脑膜被侵袭破坏,肿瘤突入蝶窦腔或侵入鞍旁的血管神经。符合其中之一者即可确定为侵袭性腺瘤。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法(SP法)步骤 将垂体腺瘤石蜡标本制成4微米厚切片,常规二甲苯脱蜡、酒精水化后,浸入3% H₂O₂溶液中,室温下孵育10 min,蒸馏水冲洗干净后,电炉或者水浴锅加热0.01 mol/L

枸橼酸钠缓冲溶液(pH6.0)至95℃左右,放入切片加热10~15 min,滴加正常山羊血清封闭液,室温20 min,分别滴加鼠抗人VEGF单克隆抗体、鼠抗人MMP-9单克隆抗体、兔抗人CD147多克隆抗体,在37℃恒温箱中孵育2 h。经磷酸盐缓冲液PBS冲洗3次各5 min后,滴加生物素标记的二抗体,DAB显色,苏木精复染,脱水透明封片。以乳腺癌标本染色作为阳性对照,以磷酸盐缓冲液代替一抗染色作为阴性对照(本试验所用试剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.2.2 判断标准 CD147以细胞质或胞膜出现黄色或黄褐色颗粒为阳性,MMP-9以细胞质内出现棕黄色或黄褐色颗粒为阳性,VEGF以细胞质出现棕黄色或黄褐色颗粒为阳性。在高倍视野(×400)下,每张切片随机观察5个视野的肿瘤细胞,计算200个肿瘤细胞免疫反应阳性的细胞百分比,根据半定量免疫组织化学方法,对CD147、MMP-9及VEGF反应阳性细胞显色强度及范围进行评价:①阴性(-):无阳性细胞染色;②弱阳性(+):阳性细胞小于25%或显色浅;③中度阳性(++):阳性细胞在26%~50%或染色略深;④强阳性(+++):阳性细胞大于50%或显色深。

1.3 统计学处理 应用SPSS软件(11.5版本)进行统计学分析。对侵袭性与非侵袭性组间数据进行 χ^2 检验分析,CD147、MMP-9与VEGF表达之间的关系采用Pearson相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组化显色结果 见图1和表1。由图1可见,CD147主要在垂体腺瘤细胞质中表达,为黄褐色颗粒,MMP-9主要在腺瘤细胞质和细胞核中表达,为棕黄色颗粒,VEGF主要在细胞质中表达,为黄褐色颗粒。由表1可见,在侵袭性和非侵袭性垂体腺瘤组织中CD147的强阳性表达率和总阳性表达率差异均具有统计学意义(分别为 $\chi^2 = 3.95, P < 0.05$ 和 $\chi^2 = 11.07, P < 0.05$);MMP-9的强阳性表达率和总阳性表达率差异均具有统计学意义(分别为 $\chi^2 = 9.98, P < 0.05$ 和 $\chi^2 = 10.52, P < 0.05$);VEGF的强阳性表达率和总阳性表达率差异均有统计学意义(分别为 $\chi^2 = 9.15, P < 0.05$ 和 $\chi^2 = 11.82, P < 0.05$)。

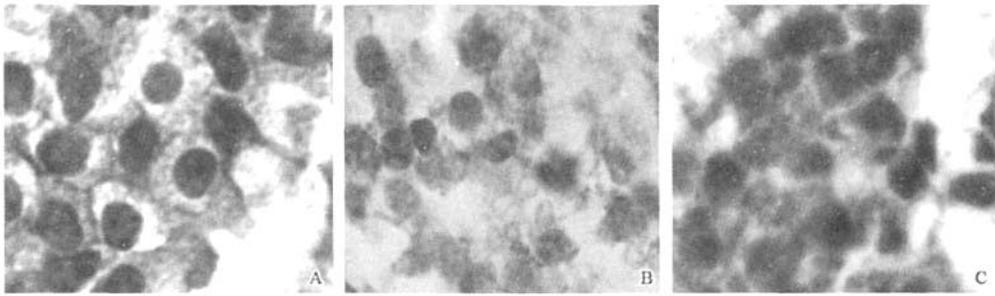


图1 CD147、MMP-9、VEGF在侵袭性垂体腺瘤中的阳性表达($\times 400$)

A: CD147; B: MMP-9; C: VEGF

Fig.1 Positive expressions of CD147, MMP-9 and VEGF in invasive pituitary adenomas($\times 400$)

A: CD147; B: MMP-9; C: VEGF

表1 CD147、MMP-9、VEGF在侵袭性和非侵袭性垂体腺瘤中的表达

| 项目 | 组别 | n | 表达率(%) | | | | 表达率(%) | |
|-------|------|----|---------|----------|------------|------------|--------|-------|
| | | | 阴性 - | 弱阳性 + | 中度阳性 ++ | 强阳性 +++ | 强阳性 | 总阳性 |
| CD147 | 侵袭组 | 29 | 2 | 2 | 10 | 15 | 51.7* | 93.1* |
| | 非侵袭组 | 21 | 10 | 3 | 3 | 5 | 23.8 | 52.4 |
| MMP-9 | 侵袭组 | 29 | 4 | 2 | 6 | 17 | 58.6* | 86.2* |
| | 非侵袭组 | 21 | 12 | 4 | 2 | 3 | 14.3 | 42.9 |
| VEGF | 侵袭组 | 29 | 1 | 3 | 7 | 18 | 62.1* | 96.6* |
| | 非侵袭组 | 21 | 9 | 3 | 5 | 4 | 19.1 | 57.1 |

* $P < 0.05$ vs 非侵袭组

2.2 相关分析 Pearson 相关分析显示,侵袭性垂体腺瘤中 CD147 与 MMP-9 存在正相关($r = 0.373$, $P < 0.05$); VEGF 和 MMP-9 存在正相关($r = 0.781$, $P < 0.01$); CD147 与 VEGF 亦存在正相关($r = 0.509$, $P < 0.01$),而非侵袭性垂体腺瘤组中 CD147、MMP-9 与 VEGF 的蛋白质表达无相关性($P > 0.05$)。

3 讨论

肿瘤的侵袭转移是一个多步骤的复杂过程,涉及肿瘤细胞与宿主之间复杂的相互作用,多种基因及其产物参与这一过程的调控。CD147 是一种高度糖基化的、广泛表达于造血及非造血细胞系,分子量为 50~60 kD 的跨膜糖蛋白,属免疫球蛋白超家庭(immunoglobulin superfamily, IGSF)成员。CD147 在体内分布非常广泛,使之能参与体内多种生理过程并具有多种不同的生理功能。CD147 在肿瘤细胞扩散转移中的作用可概括为以下几点:① 参与细胞与细胞的粘附,通过肿瘤微环境中 MMPs 含量及活性的改变,破坏天然组织机械屏障,利于癌细胞浸润、转移和肿瘤新生血管生成;② 参与细胞与基质的粘附,通过与 $\alpha_3\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 形成复合体,和基质蛋白相互作用,降解基质成份,促进癌细胞的扩散转移;

③ 通过 CD147 胞内羧基端结构的改变,影响细胞内骨架蛋白 Catenin、F-actin 的聚集和解聚,参与细胞的运动和伪足的形成。其发挥作用的主要途径是通过刺激肿瘤细胞和基质细胞分泌和活化 MMPs^[7]。CD147 在多种肿瘤细胞中表达增强^[8],在部分肿瘤中随着肿瘤恶性程度的增高,CD147 表达也随之增多,且与肿瘤的浸润和转移相关。本研究采用免疫组织化学方法对 CD147 的表达进行了分析,结果显示,侵袭性垂体腺瘤组中 CD147 的表达明显高于非侵袭性组,说明其高表达与肿瘤的侵袭性关系密切,可以作为肿瘤侵袭性的一项指标。而且 CD147 与 MMP-9 过表达多同时出现,两者之间呈正相关,说明 CD147 与 MMP-9 的产生可能密切相关,在促进肿瘤的侵袭转移过程中发挥重要作用。

肿瘤细胞从原位增殖到浸润、转移,其中包括基底膜降解、基质渗透以及肿瘤细胞进出血管和对靶组织的侵袭。所有这些都要求由蛋白水解酶介导的基底膜组成成分和细胞外基质大分子的重塑^[9]。而在这些水解酶中, MMPs 尤为重要。MMPs 是一组结构和功能相关的锌离子依赖性内肽酶,具有降解各种细胞外基质成分的作用。目前已经明确的人类 MMPs 已有 20 多种,根据其作用底物和自身结构的不同可以分为 6 类。MMP-9 归属于胶原酶 IV,是金属蛋白酶家族中分子量最大的酶,是由多种细胞分

泌的。MMP-9 有广泛的底物,包括 I、Ⅲ、Ⅳ、V 型胶原、明胶和弹性蛋白等,主要底物是Ⅳ、V 型胶原和明胶。Ⅳ型胶原是硬脑膜的关键成分,起硬脑膜屏障作用,能抵抗炎症或肿瘤造成的吸收和破坏。垂体腺瘤向周围正常组织侵袭性生长必须首先破坏硬脑膜。Kawamoto 等^[10]研究发现,侵袭性垂体腺瘤中 MMP-9 的表达显著高于非侵袭性垂体腺瘤,而且Ⅳ型胶原在侵袭性垂体腺瘤中明显减少。有研究表明^[23],在 MMPs 的亚类中,MMP-9 与垂体腺瘤的侵袭性关系最为密切。本研究从蛋白水平对 MMP-9 在垂体腺瘤中的表达进行研究,结果显示,侵袭性垂体腺瘤中 MMP-9 的表达水平明显高于非侵袭性垂体腺瘤组,更说明了 MMP-9 在肿瘤侵袭转移过程中的重要作用,因此认为,MMP-9 可作为肿瘤侵袭性的一项指标。Turner 等^[11]发现,MMP-9 表达阳性的垂体腺瘤的血管密度明显高于表达阴性的腺瘤,认为垂体腺瘤中血管生成与 MMP-9 表达有关。本结果显示,MMP-9 与 VEGF 过表达多同时出现,相关分析亦表明两者之间呈正相关($r = 0.781, P < 0.01$),说明 MMP-9 与 VEGF 的产生密切相关,在促进肿瘤的侵袭转移过程中可能发挥了协同作用。两者的共同表达可作为血管发生的标志^[12-13]。

肿瘤的生长、侵袭与转移需要足够的营养支持,血管的生长在这一过程中起到十分重要的作用。肿瘤的生长依赖于血管的生成,新生血管形成是肿瘤生长、侵袭与转移的必要条件之一。VEGF 又名血管通透因子(Vascular Permeability factor, VPF),是一种具有高度特异性的血管内皮细胞有丝分裂原,是分子量为 34 ~ 46 kD 的二聚体糖蛋白。VEGF 通过与细胞膜上特异性受体结合而发挥多种生物学效应。此外,VEGF 可改变内皮细胞的活化形式,上调尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase type plasminogen activator, uPA)等的表达,刺激血管内皮的增生,这不仅可促进内皮细胞移动,促进新生血管的生成,而且还有利于肿瘤细胞脱落,并向血管或周围扩散,为肿瘤侵袭转移创造条件。这可能也是本实验结果显示的 VEGF 表达与垂体腺瘤侵袭性有关的最重要的理论基础,当然也不排除其它因素共同作用的结果。本实验结果显示,VEGF 在侵袭性垂体瘤中的蛋白表达明显高于非侵袭组,表明垂体腺瘤的侵袭性在发生机制上与血管生成存在密切关系,VEGF 也是垂体腺瘤侵袭性的分子生物学参考指标之一。本研究对侵袭性垂体腺瘤中的 CD147 及 VEGF 在蛋白表达水平进行相关分析,结果显示二者呈显著正相关($r = 0.509, P < 0.01$),这可能是 CD147 促进

MMP-9 的产生和分泌,MMP-9 又促进 VEGF 产生的结果,或者 CD147 直接促进 VEGF 的产生,这种结果目前未见报道。对于 MMP-9 和 VEGF 之间的正相关,有作者认为^[14-15],VEGF 能上调内皮细胞 uPA 的表达,uPA 能激活纤溶酶并进而激活 MMPs,此外,VEGF 也能直接诱导 MMPs 的基因转录。这种正相作用在本实验结果中得到体现。

总之,本实验研究结果提示,CD147、MMP-9 及 VEGF 的高表达与垂体腺瘤的侵袭性密切相关,三者可作为垂体腺瘤侵袭性的有效指标,并且共同促进垂体腺瘤侵袭性生长。上述指标不仅有助于指导侵袭性垂体腺瘤的临床诊断和治疗,也为侵袭性垂体腺瘤的分子生物学治疗提供了一定的理论基础。

参考文献:

- [1] Sun J, Hemler M E. Regulation of MMP-1 and MMP-2 production through CD147/extracellular matrix metalloproteinase inducer interaction[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(1):2276-2281
- [2] Turner H E, Nagy Z, Esiri M M, et al. Role of matrix metalloproteinase -9 in pituitary tumor behavior[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(8):2931-2935.
- [3] 王翦,刘运生. MMP 及 TIMP 在垂体腺瘤中的表达及与侵袭性关系[J]. *湖南医科大学学报*, 2004, 29(6):647-650.
- [4] Veikkola T, Alitalo K. VEGF receptors and angiogenesis[J]. *Semin Cancer Biol*, 1999, 9(9):211-220.
- [5] Wilson C B. A decade of pituitary microsurgery: The Herbert Olivercrona lecture[J]. *J Neurosurgery*, 1984, 61(5):814-833.
- [6] Knosp E, Steiner E, Kitz K, et al. Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings[J]. *Neurosurgery*, 1993, 33(4):610-618.
- [7] Guo H, Zucker M K, et al. Stimulation of matrix metalloproteinase production by recombinant extracellular matrix metalloproteinase inducer from transfected chinese hamster ovary cells [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(1):24.
- [8] Renno T, Wilson A, Dunkel C, et al. A role for CD147 in thymic development[J]. *J Immunol*, 2002, 168(10):4946.
- [9] 李存孝,范清宇. CD147 结构和功能及其与肿瘤关系的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2005, 13(3):422-424.
- [10] Kawamoto H, Uozumi T, Kamamoto K, et al. Type IV collagenase activity and cavernous sinus invasion in human pituitary adenomas[J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 1996, 138(4):390-395.
- [11] Turner E, Kachra Z, Mousseau N, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in human pituitary tumors[J]. *Neurosurgery*, 1999, 45(6):1432-1440.

是脑梗死发生的危险因素。

以往通过再转染的中国大鼠卵巢细胞研究表明, Kozak 序列-5 位点的 T/C 置换虽不能改变蛋白质的结构,但可改变 GPIIb α 在血小板表面的表达密度,其中-5C 等位基因表达水平较高^[6]。Hsieh 等^[7]通过多中心病例对照研究分析后发现,CC 基因纯合子携带者发生缺血性脑卒中的风险是 TT 或 TC 基因携带者的 3.5 倍。Baker 等^[8]研究表明,在缺血性脑卒中患者中 GPIIb α 基因 Kozak 序列多态性是独立的危险因素。刘爱华等^[9]近期也通过研究得出了一致的结果。但也有相反的研究结果^[10]。造成这种现象的原因可能与入种、地域以及病例选择的差异有关。就 HPA-2 而言,2b 等位基因携带者在高加索白人中的频率为 19%~23%,而在亚洲人中的频率仅为 0~6%^[11]。本实验通过大样本的病例对照研究,发现中国济南地区的 HPA-2b 等位基因的携带率约为 6%,Kozak 序列 C 等位基因的携带率约为 39%。

综上所述, GPIIa 基因 Kozak 序列多态性可能与济南地区汉族人群的脑梗死发病易感性有关。由于目前本研究尚处于初步阶段,病例数较少,因此本文得出的结论还需要进行更大规模的前瞻性、基因学和流行病学的研究来证实。

参考文献:

[1] Corral J, Gonzalez-Conejero R, Lozano ML, et al. New alleles of the platelet glycoprotein IIb alpha gene[J]. *Br Haematol*, 1998, 103(4):997-1003.
 [2] 宋玉强,邹宏丽,张晨.血小板糖蛋白 GPIIb Kozak 基因多态性与短暂性脑缺血发作的相关性研究[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2006, 23(5):561-564.

[3] 全国第四届脑血管病学术会议标准(1995)[J]. *中华神经科杂志*, 1996, 29(6):376-381.
 [4] 张涌,王荫华.血小板糖蛋白 HPA-1 和 HPA-2 基因多态性与脑梗死形成的相关性研究[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2006, 13(3):140-143.
 [5] 叶辉,严江涛,邵娇梅,等.血小板膜糖蛋白 I b 基因多态性与脑卒中关系的研究[J]. *临床内科杂志*, 2006, 23(1):21-23.
 [6] Afshar-Kharghan V, Li C Q, Khoshnevis-Asl M, et al. Kozak sequence polymorphism of the glycoprotein (GP)IIb alpha genes a major determinant of the plasma membrane levels of the platelet GP IIb-IX-V complex[J]. *Blood*, 1999, 94(1):186-191.
 [7] Hsieh K, Funk M, Schillinger M, et al. Vienna Stroke Registry. Impact of the platelet glycoprotein IIb alpha Kozak polymorphism on the risk of ischemic cerebrovascular events; a case control study[J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2004, 15(6):469-473.
 [8] Baker R I, Eikelboom J, Lofthouse E, et al. Platelet glycoprotein IIbKozak polymorphisms is associated with an increased risk of ischemic stroke[J]. *Blood*, 2001, 98(1):36-40.
 [9] 刘爱华,贾建平.血小板膜糖蛋白受体 I b Kozak 序列基因多态性与缺血性脑血管病相关性的研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2006, 32(6):527-531.
 [10] Frank M B, Reiner A P, Schwartz S M, et al. The Kozak sequence polymorphism of platelet glycoprotein IIb alpha and risk of nonfatal myocardial infarction and nonfatal stroke in young women[J]. *Blood*, 2001, 97(4):875-879.
 [11] Chen C H, Lo Y K, Ke D, et al. Platelet glycoprotein IIaC807T, IIb C3550T, and III a PIA2/A3 polymorphisms and ischemic stroke in young Taiwanese[J]. *J Neurol Sci*, 2004, 227(1):1-5.

(编辑:刘霞)

(上接第 291 页)

[12] Riedel F, Gotte K, Schwalb J, et al. Expression of 92-kDa type IV collagenase correlates with angiogenic markers and poor survival in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2000, 17(6):1099-1105.
 [13] Iedel F, Gotte K, Bergler W, et al. Inverse correlation of apoptotic and angiogenic markers in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Oncol Rep*, 2001, 8(3):471-476.
 [14] Kim I, Kim H G, Moon S O, et al. Angiopoietin-1 induces

endothelial cells prouting through the activation of focal adhesion kinase and plasminogen activator[J]. *Circ Res*, 2000, 86(9):952-959.
 [15] Fang J, Shing Y, Wiederschain D, et al. Matrix metalloproteinase-2 is required for the switch to the angiogenic phenotype tumor model[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(8):3884-3889.

(编辑:孙玉芝)