

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.04.004

神经胶质瘤细胞与人脑微血管内皮细胞之间 STAT3 信号的交互作用

刘雅琦, 顾金海, 孟锐, 安芳玲(宁夏医科大学 宁夏颅脑疾病重点实验室, 宁夏 银川 750004)

[摘要] **目的:** 探讨神经胶质瘤细胞(A172/U251)与人血管内皮细胞(human brain microvascular endothelial cell, HBMEC)之间 STAT3 信号通路的交互作用。**方法:** 建立 A172、U251 细胞与 HBMEC 的 Transwell 共培养体系, ELISA 检测 A172、U251 细胞及其分泌因子 VEGF 对 HBMEC 分泌 IL-6 的影响, Western blotting 检测 HBMEC 与 A172/U251 细胞共培养 30 min 时 HBMEC 及其分泌因子 IL-6 对 A172/U251 细胞 STAT3 蛋白及其磷酸化状态 p-STAT3 的影响, CCK-8、Transwell 侵袭实验分别检测 HBMEC 及其分泌因子 IL-6 对 A172/U251 细胞增殖和侵袭的影响。**结果:** VEGF(50 ng/ml)组和共培养组(HBMEC 分别和 A172、U251 细胞共培养)HBMEC 的 IL-6 的表达量明显高于对照组($P < 0.01$)。共培养 30 min 时, A172/U251 细胞的 IL-6(50 ng/ml)组、共培养组及(共培养 + AZD1480)组的 STAT3/p-STAT3 蛋白的表达明显高于对照组($P < 0.01$), (共培养 + AZD1480)组的胶质瘤细胞 STAT3/p-STAT3 蛋白的表达能力显著低于共培养组($P < 0.01$)。IL-6(50 ng/ml)组、共培养组及(共培养 + AZD1480)组的 A172/U251 细胞增殖及侵袭能力明显高于对照组($P < 0.01$), (共培养 + AZD1480)组的细胞增殖及侵袭能力显著低于共培养组($P < 0.01$)。**结论:** 神经胶质瘤细胞与人脑微血管内皮细胞之间存在信号交互作用, 且与 JAK2/STAT3 信号通路密切相关。

[关键词] 神经胶质瘤细胞; 人脑微血管内皮细胞; STAT3/p-STAT3; 增殖; 侵袭

[中图分类号] R730.264; Q71; R730.59 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2015)04-0432-06

STAT3 activation is involved in the interaction of glioma and human brain microvascular endothelial cells

Liu Yaqi, Gu Jinhai, Meng Rui, An Fangling (Ningxia Key Laboratory of Cerebrocranial Diseases, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the role of STAT3 signaling pathway in the interaction of glioma cells and human brain microvascular endothelial cells (HBMEC). **Methods:** The secretion of IL-6 from HBMEC co-cultured with VEGF, A172, or U251 cells by Elisa. Immunoblotting was performed to examine STAT3 and its phosphorylation status in glioma cells after exposed to IL-6 (50 ng/ml), co-cultured with the endothelial cells, or HBMEC + AZD1480. CCK-8 and Transwell assays were used to measure the effect of IL-6 (50 ng/ml), HBMEC, and HBMEC + AZD1480 on the proliferation and invasion of glioma cells A172 and U251. **Results:** Glioma cells and VEGF promoted the secretion of the IL-6 by the endothelial cells ($P < 0.01$). The level of pSTAT3 in A172 and U251 was significantly increased after exposed to IL-6, HBMEC, or HBMEC + AZD1480 ($P < 0.01$). Moreover, AZD1480 reduced STAT3 phosphorylation in A172 and U251 co-cultured with HBMEC ($P < 0.01$). IL-6 (50 ng/ml) and co-culturing with the endothelial cells enhanced the growth and invasion of the glioma cells ($P < 0.01$), where as AZD1480 suppressed the growth and invasion of the A172 and U251 cells ($P < 0.01$). **Conclusion:** STAT3 activation is involved in the interaction between glioma cells and the human brain microvascular endothelial cells.

[Key words] glioma cell; human brain microvascular endothelial cell; STAT3/p-STAT3; proliferation; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(4): 432-437]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81160312)。Project supported by the National Natural Science Foundation(No. 81160312)

[作者简介] 刘雅琦(1988-),女,山东省安丘市人,硕士生,主要从事人脑胶质瘤信号通路研究, E-mail: 308711605@qq.com

[通信作者] 顾金海(Gu Jinhai, corresponding author), E-mail: gjinhai@126.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20150728.1333.008.html>

神经胶质瘤是颅内最常见肿瘤之一,其起源于神经上皮,占颅内肿瘤的 50% ~ 60%,成人发病率为 6/10 万,5 年存活率为 20% ~ 30%^[1]。尽管临床上采用手术、放疗、化疗、免疫疗法等综合治疗,患者预后仍欠佳,恶性胶质瘤的中位生存期仅为 12 ~ 18 个月^[2]。神经胶质瘤的发病及增殖侵袭与 Notch3 信号通路^[3]、Wnt 信号通路^[4]及 Shh 信号通路^[5]等密切相关。肿瘤的富血管化和高度的增殖侵袭性离不开肿瘤微环境,其对肿瘤细胞的增殖侵袭起至关重要的作用^[6-7]。但是,大部分研究都停留在肿瘤细胞内部的信号传递及肿瘤微环境营养成分的改变对肿瘤细胞产生的影响,忽视了微环境中的一个重要组成成分即微血管内皮细胞。在肿瘤的增殖侵袭过程中,微血管内皮细胞起了重要的作用^[8],因此,研究微血管内皮细胞和肿瘤细胞之间的交互作用具有重要的理论和现实意义。一条重要的肿瘤细胞信号通路 IL-6/STAT3 很可能在这过程中起了桥梁作用,因此本研究选择该通路来研究神经胶质瘤与人脑微血管内皮细胞之间信号的交互作用。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人脑胶质瘤细胞株 A172、U251 购于上海市吉凯基因化学技术有限公司。于含有 10% 胎牛血清 DMEM 培养基中培养。原代人脑微血管内皮细胞 (human brain microvascular endothelial cell, HBMEC) 购于美国 ScienCell 公司,于含有 10% 胎牛血清 ECM 培养基中培养。人 VEGF₁₆₅ 购自美国 Pepro Tech 公司,人 IL-6 购自美国 Pepro Tech 公司, JAK2 抑制剂 AZD1480 购于美国 Selleckchem 公司,兔抗人 STAT3 和 STAT3 Phospho (pY705) 单克隆抗体购自美国 Cell Signal Technology 公司,兔抗人 GAPDH 多克隆抗体 (AB-P-R 001) 购自杭州贤至生物科技有限公司,HRP 标记山羊抗兔 IgG (H + L) 抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司,Western blotting 相关试剂购自上海双螺旋生物科技有限公司,发光液购自美国 Advansta 公司,全蛋白提取试剂盒和蛋白含量检测试剂盒购于南京凯基科技发展有限公司, CCK-8 试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司, ELISA 试剂盒购自上海巧伊生物科技有限公司, BD 基质胶购于美国 Sigma 公司, Transwell 小室购于美国 Corning 公司,人脑微血管内皮细胞培养基 (ECM) 购于美国 ScienCell 公司,神经胶质瘤细胞 DMEM 培养基购自美国 HyClone 公司。PowerWave XS 全波长酶标仪购自美国 Bio-Tek 公司。

1.2 ELISA 法检测 VEGF、A172、U251 细胞对 HBMEC IL-6 分泌的影响

将对数生长期的 HBMEC 接种于 ECM 培养基中,作为对照组; VEGF 组采用含 VEGF₁₆₅ 50 ng/ml 的 ECM 培养基。将 A172、U251 细胞在六孔板中培养至 70% ~ 80% 汇合时,分别向共培养 (A172) 组、共培养 (U251) 组的 Transwell 上室加入 2 ml 1×10^6 个 A172、U251 细胞。各组于 37 °C 5% CO₂ 培养箱中培养, 24、48、72 h 时收集 HBMEC 培养上清液,按 ELISA 检测试剂盒说明书操作,检测 IL-6 含量。取不同浓度标准品和稀释好的样品加入 ELISA 板孔中,室温 (25 ~ 28 °C) 孵育 2 h,洗板 5 次,加入兔抗人 IL-6 生物素化抗体工作液 (100 μl/孔),室温孵育 1 h,洗板 5 次,加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 工作液 (100 μl/孔) 孵育 20 min,加入终止液 50 μl/孔,酶标仪检测 450 nm 波长处的光密度 (D) 值。绘制浓度值标准曲线,根据标准曲线计算对照组及实验组相应的浓度值。

1.3 Western blotting 检测 Transwell 共培养、HBMEC 共培养对 A172 和 U251 细胞内 STAT3 及 p-STAT3 表达的影响

A172 细胞在六孔板中培养至细胞 70% ~ 80% 汇合时,分为 5 组:对照组, IL-6 组 (培养基中加入 IL-6 至 50 ng/ml)、A172 + HBMEC 共培养组 (Transwell 上室接种 2 ml 100×10^4 个 HBMEC)、共培养 + AZD1480 组 (Transwell 上室接种 2 ml 100×10^4 个 HBMEC,下室更换含 AZD1480 1 μmol/L 的 DMEM 培养基。U251 细胞分组、处理方法同 A172 细胞。

30 min 后将收集下室肿瘤细胞,用冷 PBS 洗两次,再加入适量新配蛋白裂解液 (冰上操作),置于 4 °C 摇床充分裂解 15 min,用细胞刮子刮取细胞,吸入 EP 管中, $17446 \times g$ 、4 °C 离心 15 min,取上清液采用 BCA 法测定蛋白浓度。取蛋白样品行 SDS-PAGE 后,转膜 (将蛋白转至硝酸纤维素膜上) 90 min,用 PBST 配置的 5% 的牛奶封闭 1 h,加入一抗 (STAT3, p-STAT3 和 GAPDH 抗体稀释度分别为 1:500、1:500、1:1000), 4 °C 孵育过夜。用 PBST 洗膜后辣根酶标记山羊抗兔 IgG 孵育二抗室温下孵育 1 h, PBST 洗膜后于暗室内加入发光液显色曝光。图像用扫描仪扫描记录,用 Gelpro32 软件扫描其灰度值并计算蛋白相对表达量。

1.4 CCK-8 实验检测 IL-6、HBMEC 对 A172、U251 细胞增殖的影响

在 24 孔板中接种 5×10^4 个 A172 细胞,细胞悬液体积为 1 ml,对照组不作处理; IL-6 组向培养基中

加入 IL-6 至 50 ng/ml,共培养组向 Transwell 上室接种 2 ml 1×10^6 个 HBMEC;共培养 + AZD1480 组上室接种 2 ml 100×10^4 个内皮细胞并且下室更换含 AZD1480 $1 \mu\text{mol/L}$ 的 DMEM 培养基。各组在 37°C $5\% \text{CO}_2$ 培养箱中培养 24、48、72h 后,每孔加入 100 μl CCK-8 液,继续在培养箱中孵育 1 h,酶标仪测定 450 nm 波长处 D 值,用 D 值代表细胞增殖水平。U251 细胞按同样方法检测。

1.5 Transwell 侵袭实验检测 IL-6、HBMEC 对 A172、U251 细胞侵袭能力的影响

将 BD 基质胶用无血清培养基稀释至 10 mg/ml,取 100 μl 铺在孔径为 8 μm 的聚碳酸酯滤膜的 Transwell 小室内,避免产生气泡。置于 37°C 聚合 2 h,将处于对数生长期的 A172 及 U251 细胞用 PBS 洗 3 遍,胰酶消化,无血清培养基重悬,分别取 200 μl 悬液(含 1×10^5 个细胞)接种于上室。对照组下室加入 800 ml DMEM 培养基;实验组下室加入 800 ml 含 IL-6 50 ng/ml 的 DMEM;Transwell 共培养体系下室接种 2 ml 100×10^4 个内皮细胞;共培养体系下

室接种 2 ml 100×10^4 个内皮细胞 + 上室更换含 AZD1480 $1 \mu\text{mol/L}$ 的 DMEM 培养基。各组培养 72 h,取出小室,棉签擦净上室细胞 PBS 洗 3 遍,90% 乙醇固定 30 min,0.1% 结晶紫染色 30 min,PBS 清洗 3 遍;显微镜下随机取 8 个随机视野($\times 200$)拍照,计数穿膜细胞。

1.6 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间数据的比较采用方差分析,以 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 A172、U251 细胞及其分泌因子 VEGF 促进 HBMEC 分泌 IL-6

ELISA 检测结果(表 1,图 1)显示,培养 24 h 时,VEGF 组的 IL-6 的表达量即明显高于对照组($P < 0.01$),共培养组的 IL-6 的表达量也明显高于对照组($P < 0.01$),但是低于 VEGF($50 \mu\text{g/L}$)组($P < 0.05$)。并且随着时间延长,IL-6 的表达量逐渐增高。

表 1 VEGF 及 A172、U251 细胞共培养促进 HBMEC 分泌 IL-6 [$\rho_{\text{B}} / (\text{ng} \cdot \text{L}^{-1})$]

Tab. 1 IL - 6 secretion in HBMECs was increased by treated with VEGF and co-cultured with A172 or U251 cells

Group	Time (t/h)			F	P
	24	48	72		
Control	790.76 ± 356.16	2 764.19 ± 324.03	4 711.49 ± 1 370.94		
VEGF(50 ng/ml)	6 007.45 ± 664.35**	11 722.01 ± 515.28**	16 427.42 ± 3 321.70**		
Co-culture with A172	4 318.51 ± 808.60**	8 588.02 ± 262.63**	12 924.43 ± 522.00**	106.847	0.000
Co-culture with U251	3 787.53 ± 1 306.20**	6 693.26 ± 1 232.96**	11 201.98 ± 2 179.64**	76.842	0.000

** $P < 0.01$ vs control group.

2.2 HBMEC 对 A172 和 U251 细胞 STAT3 及 p-STAT3 表达的影响

Western blotting 检测结果(图 2)显示,A172 和 U251 细胞的 IL-6 组、共培养组和共培养 + AZD1480 组的 STAT3 表达水平与对照组均无显著差异(均 $P > 0.05$);IL-6 组、共培养组的 p-STAT3 表达水平均显著高于对照组(均 $P < 0.01$),而共培养 + AZD1480 组的 p-STAT3 蛋白的表达水平较共培养组显著降低($P < 0.01$)。

2.3 HBMEC 及 IL-6 促进 A172 和 U251 细胞的增殖

MTT 检测结果(图 3)显示,HBMEC 及其分泌

因子 IL-6 显著促进了 A172,U251 两种神经胶质瘤细胞的增殖,A172 和 U251 细胞的 IL-6 组、共培养组和共培养 + AZD1480 组的细胞增殖水平显著高于对照组($P < 0.01$),而共培养 + AZD1480 组的细胞增殖情况明显低于共培养组($P < 0.01$)。

2.4 内皮细胞及其分泌因子对胶质瘤细胞侵袭影响

实验结果显示,内皮细胞及其分泌因子显著促进了 A172,U251 两种神经胶质瘤细胞的侵袭能力,IL-6 组和共培养组的穿膜细胞数较对照组显著升高($P < 0.01$)。共培养 + AZD1480 组的细胞穿膜情况明显低于共培养组($P < 0.01$) (图 3)。

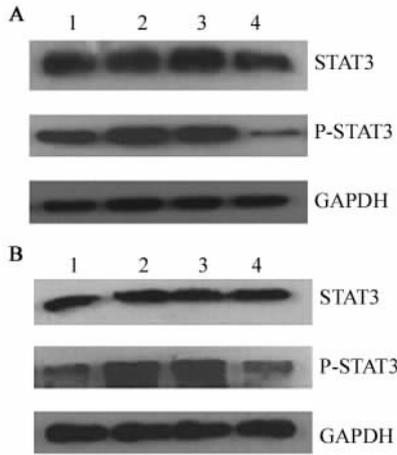


图1 HBMCE,IL-6对A172细胞(A)和U251细胞(B)STAT3、p-STAT3表达的影响

Fig. 1 Effects of HBMCEs and IL-6 on the STAT3, p-STAT3 expression of A172 cells (A) and U251 cells (B)

1: Control; 2: IL-6; 3: Co-culture; 4: co-culture + AZD

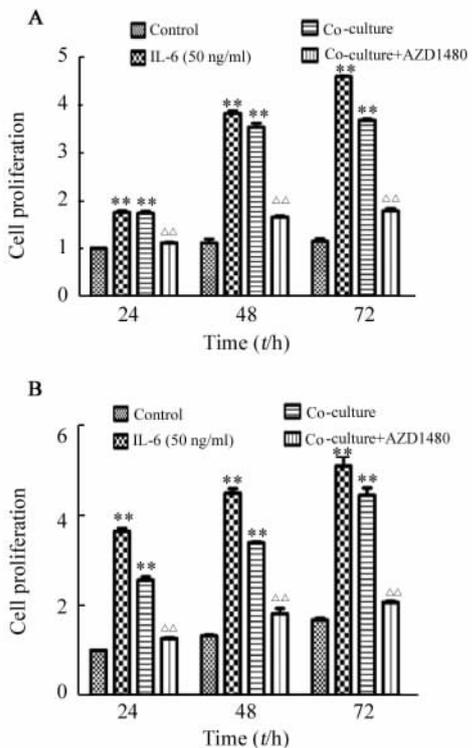


图2 HBMCE及其分泌因子IL-6对胶质瘤细胞U251(A)和A172(B)增殖的影响

Fig. 3 Effects of HBMCEs and its secretion factor IL-6 on the proliferation of glioma cells U251 (A) and A172 (B)

** $P < 0.01$ vs control group,

$\Delta\Delta P < 0.01$ vs co-culture group

3 讨论

恶性神经胶质瘤是很强的血管依赖性肿瘤,在体内,促进肿瘤血管生成的因子主要来源于肿瘤细胞。神经胶质瘤可以分泌许多因子,如 VEGF、PD-ECGF、血管生成素、EGF 及 TNF- α 等^[9],这些细胞因子均可刺激肿瘤周围血管内皮细胞的生长。其中,VEGF 通过一系列病理生理过程促进了血管内皮细胞的增殖迁移^[10]。IL-6 是一个具有多种功能的细胞因子,在促炎与抗炎中起了重要的作用^[11-12]。研究^[11]表明,IL-6 能够促进膀胱癌等的形成和侵袭过程。因此本研究首先探讨 VEGF 能否促进微血管内皮分泌 IL-6。采用细胞因子 VEGF165 作为 VEGF 过量表达组,结果表明,神经胶质瘤细胞及 VEGF165 促进了血管内皮细胞分泌 IL-6,其中 VEGF 发挥了显著作用。并且研究发现,IL-6 能够明显促进神经胶质瘤细胞的增殖和侵袭。

信号转导和转录活化因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)家族是参与一些细胞因子以及生长因子介导的信号转导的转录因子,在正常细胞内调控生长、增殖、分化以及凋亡等一系列生理活动^[13-14]。STAT3 作为信号转导转录活化因子家族中的一员,在细胞信号转导方面起重要的作用,活化的 STAT3 形成二聚体入核调控下游基因表达一些与细胞增殖侵袭相关的酶和蛋白质,促进细胞的增殖侵袭^[15-16]。已有研究表明该信号通路的异常异常激活与肿瘤恶变有关,前列腺癌细胞中高表达磷酸化 STAT3 蛋白,且与转移呈正相关^[17]。也有人提出血管在肿瘤的增殖侵袭方面起重要作用^[18-19],但却未能提出具体的分子机制。因此,研究选取了 STAT3 信号通路,研究神经胶质瘤细胞与微血管内皮细胞共培养时发生的增殖侵袭是否与该通路有关。研究发现,与内皮细胞共培养的肿瘤细胞及加入了人工合成的 IL-6 (50 ng/ml) 的肿瘤细胞,p-STAT3 蛋白表达增多且胶质瘤细胞的增殖侵袭能力明显增强,共培养并加入了 ATP 竞争性的 JAK2 抑制剂 AZD1480 后细胞 p-STAT3 蛋白及胶质瘤细胞的增殖侵袭能力显著低于共培养组。因此,推断该过程极有可能与激活的 STAT3 信号通路有关。

本实验发现人脑微血管内皮细胞与神经胶质瘤细胞共培养时存在关于 STAT3 的信号通路上的信号交互作用。与胶质瘤细胞共培养、加入 VEGF165 (50 ng/ml) 时,内皮细胞的 IL-6 的表达水平显著增多,这是因为肿瘤细胞分泌的 VEGF 及过量表达组

的 VEGF 作用于内皮细胞致使其分泌 IL-6 的量增多。内皮细胞分泌的 IL-6 又反作用于神经胶质瘤细胞上的 IL-6 受体, 配体受体结合后, JAK2 迅速发生磷酸化, 继而导致 STAT3 的磷酸化, 磷酸化的 STAT3 形成二聚体, 进入细胞核调节与增殖侵袭相关的酶类, 从而神经胶质瘤细胞的增生侵袭能力明显增强。也有学者^[20]指出, STAT3 调控的下游靶基因也能表达 VEGF, 这也是肿瘤会不断恶化的原因

之一。有理由相信神经胶质瘤与微血管内皮细胞之间的信号交互作用机制也不只 STAT3 信号通路这一条, 笔者课题组将会继续研究血管内皮细胞与胶质瘤细胞之间的关于其他信号通路的交互作用。但是, 该条信号通路的信号交互作用机制的阐明势必为临床神经胶质瘤的生物靶向治疗提供了更多的理论依据。

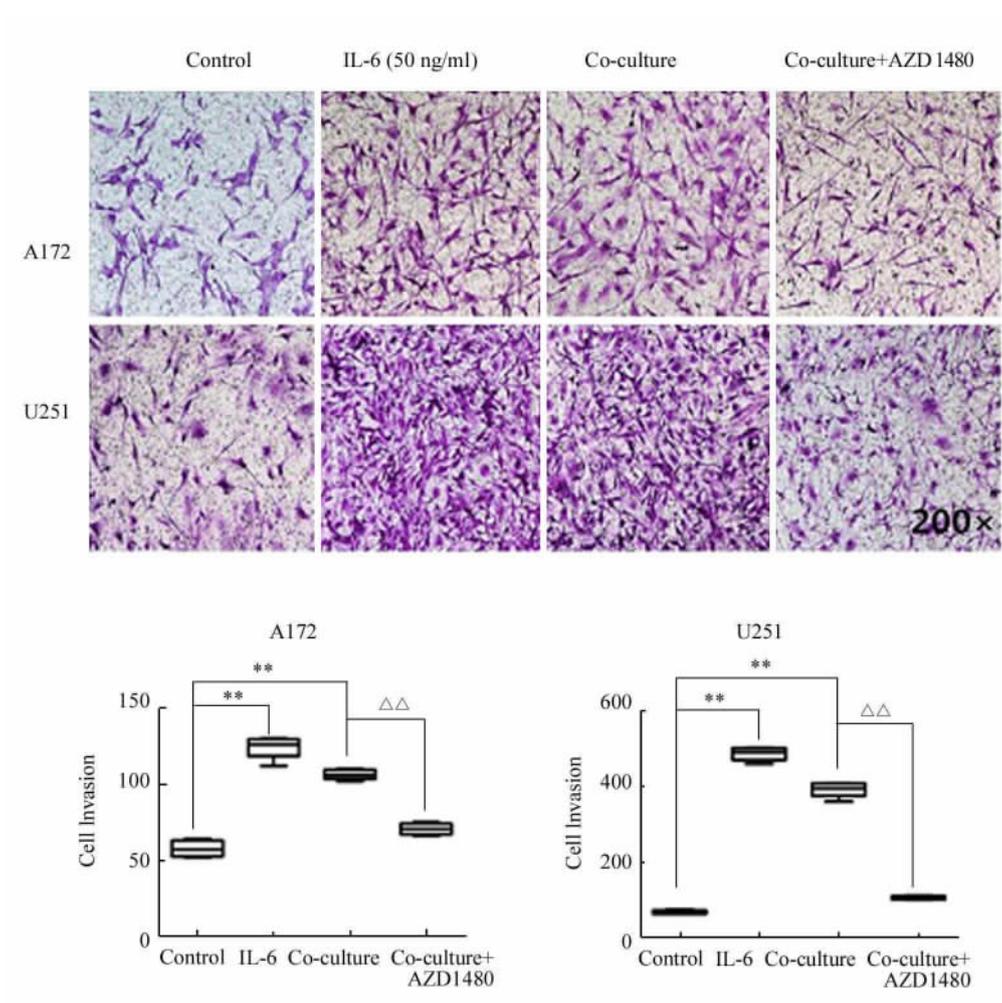


图3 HBMECs 及其分泌因子 IL-6 对胶质瘤细胞 U251 和 A172 侵袭的影响(×200)

Fig.3 Effects of HBMECs and its secretion factor IL-6 on the invasion of glioma U251 and A172 cells(×200)

** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs co-culture group

[参 考 文 献]

[1] Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas [J]. Acta Neuropathol, 2005, 109(1): 93-108.

[2] Kwon D, Shinohara RT, Akbari H, et al. Combining generative models for multifocal glioma segmentation and registration [J]. Med Image Comput Assist Interv, 2014, 17(Pt 1): 763-770.

[3] Alqudah MA, Agarwal S, Al-Keilani MS, et al. NOTCH3 is a prognostic factor that promotes glioma cell proliferation, migration and invasion via activation of CCND1 and EGFR [J]. PLoS ONE, 2013, 8(10):e77299.

[4] Yu CY, Liang GB, Du P, et al. Lgr4 promotes glioma cell proliferation through activation of Wnt signaling [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(8):4907-4911.

[5] Yan GN, Lv YF, Yang L, et al. Glioma stem cells enhance endothelial cell migration and proliferation via the Hedgehog pathway [J]. Oncol Lett, 2013, 6(5):1524-1530.

- [6] Eng JW, Kokolus KM, Reed CB, et al. A nervous tumor microenvironment: The impact of adrenergic stress on cancer cells, immunosuppression, and immunotherapeutic response [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(11): 1115-1128.
- [7] 黄波. 肿瘤微环境中免疫与炎症的调节 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2012, 19(2): 111-115.
- [8] Geevarghese A, Herman IM. Pericyte-endothelial crosstalk: Implications and opportunities for advanced cellular therapies [J]. *Transl Res*, 2014, 163(4): 296-306.
- [9] Liu S, Jiang M, Zhao Q, et al. Vascular endothelial growth factor plays a critical role in the formation of the pre-metastatic niche via prostaglandin E2 [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(6): 2477-2484.
- [10] Yamagishi N, Teshima-Kondo S, Masuda K, et al. Chronic inhibition of tumor cell-derived VEGF enhances the malignant phenotype of colorectal cancer cells [J/OL]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 229 [2015-01-10]. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/229>
- [11] Erb HH, Langlechner RV, Moser PL, et al. IL6 sensitizes prostate cancer to the antiproliferative effect of IFN α 2 through IRF9 [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2013, 20(5): 677-689.
- [12] Erta M, Quintana A, Hidalgo J, et al. Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system [J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(9): 1254-1266.
- [13] Carrio R, Torroella-Kouri M, Iragavarapu-Charyulu V, et al. Tumor-induced thymic atrophy: Alteration in interferons and Jak/Stats signaling pathways [J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(2): 547-553.
- [14] Lin W, Zheng L, Zhuang Q, et al. Spica prunellae promotes cancer cell apoptosis, inhibits cell proliferation and tumor angiogenesis in a mouse model of colorectal cancer via suppression of STAT3 pathway [J/OL]. *BMC Complement Altern Med*, 2013, 13(1): 144 [2015-01-10]. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/144>.
- [15] Matthew S, Waitkus, Unni M et al. Signal integration and gene induction by a functionally distinct STAT3 phosphoform [J]. *Mol Cell Bio*, 2014, 34(10): 1800-1811.
- [16] Wu X, Yan Q, Zhang Z, et al. Acrp30 inhibits leptin-induced metastasis by downregulating the JAK/STAT3 pathway via AMPK activation in aggressive SPEC-2 endometrial cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(5): 1488-1496.
- [17] Han G, Yu JY, Chen YD, et al. The usefulness of phosphorylated-signal transduction and activators of transcription 3 in detecting prostate cancer from negative biopsies [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2012, 38(4): 367-373.
- [18] Rolin J, Maghazachi AA. Effects of lysophospholipids on tumor microenvironment [J]. *Cancer Microenviron*, 2011, 4(3): 393-403.
- [19] Vieira T, Antoine M, Ruppert AM, et al. Blood vessel invasion is a major feature and a factor of poor prognosis in sarcomatoid carcinoma of the lung [J]. *Lung Cancer*, 2014, 85(2): 276-281.
- [20] Wang XF, Lin GS, Lin ZX, et al. Association of pSTAT3-VEGF signaling pathway with peritumoral edema in newly diagnosed glioblastoma: An immunohistochemical study [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(9): 6133-6140.

[收稿日期] 2015 - 02 - 10 [修回日期] 2015 - 06 - 05

[本文编辑] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》关于抵制学术不端行为的声明

中国广大科技工作者坚持严谨求实、刻苦钻研、勇于创新的科学精神,取得了举世瞩目的科技成果,代表了中国科技工作者的主流。然而,近年来少数科技人员出现了抄袭剽窃、伪造数据、篡改数据、虚假署名、一稿多投等学术不端行为,影响了科技期刊的正常出版工作,给作者及其所在单位甚至我们国家带来非常负面的影响。《中国肿瘤生物治疗杂志》是中国肿瘤生物治疗领域唯一的高级学术刊物,一贯坚持“学术至上,质量第一”的原则,坚决抵制学术不端行为,努力维护学术纯洁性。为维护学术道德、保证期刊质量和学术声誉,本刊特作以下声明:

1. 作者投稿时须作出稿件无学术不端行为的声明;
2. 稿件审查过程中,本刊编辑部将采用“学术不端文献检测系统”,通过大量国内外学术文献的全文比对,对稿件进行学术不端行为的检查;
3. 本刊已加入“《中国学术文献网络出版总库》删除学术不端文献系统”,该系统协助本刊对已发表论文的学术不端行为进行全面复核;
4. 已发表的论文一经查实有学术不端行为,本刊将立即删除,第一时间刊登撤销声明,终止该论文在各相关数据库、文摘库中的传播,尽快消除不良影响。同时,视情节轻重给该文作者以下处理:书面警告,通知作者所在单位,在本领域相关期刊间通报,2年内本刊不刊登有其署名的稿件,相关学术责任人(通讯作者)署名的其他稿件延缓审稿和刊登等。

(本刊编辑部)