

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.04.013

早期非小细胞肺癌组织中 TMPRSS4 的表达与肿瘤血管形成的关系

李培超, 田辉, 岳韦名, 李林, 李树海, 高存, 司立博, 亓磊, 鲁铭(山东大学齐鲁医院胸外科, 山东济南 250012)

[摘要] **目的:** 检测穿膜丝氨酸蛋白酶 4 (transmembrane protease serine 4, TMPRSS4) 在早期非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 组织、癌旁组织以及正常肺组织中的表达, 分析其在 NSCLC 肿瘤血管形成中的作用及其临床意义。 **方法:** 选取 2009 年 1 月至 2010 年 1 月在山东大学齐鲁医院胸外科行手术治疗的 NSCLC 患者 87 例, 应用免疫组化方法检测 NSCLC 组织、癌旁组织和正常肺组织中 TMPRSS4 蛋白表达水平, 通过计数 CD34 免疫染色阳性的内皮细胞测定肿瘤组织内微血管密度 (microvessel density, MVD); 另取 2014 年 9 月至 2014 年 10 月在山东大学齐鲁医院胸外科行手术治疗的原发性早期 NSCLC 患者 14 例, 应用 Real-time PCR 检测 TMPRSS4 mRNA 在 NSCLC 组织及邻近正常肺组织内的表达。 **结果:** NSCLC 组织中 TMPRSS4 mRNA 表达水平显著高于邻近正常肺组织 (1.826 ± 0.453 vs 0.829 ± 0.366, $P < 0.05$); NSCLC 组织、癌旁组织中 TMPRSS4 蛋白表达阳性率显著高于正常肺组织 (60.9%、30.0% vs 16.7%, 均 $P < 0.05$)。TMPRSS4 蛋白高表达的癌组织中的 MVD 显著高于 TMPRSS4 蛋白低表达的癌组织 ($P < 0.05$)。T2 癌组织中 TMPRSS4 蛋白表达及 MVD 均显著高于 T1 癌组织 ($P < 0.05$)。 **结论:** 早期 NSCLC 组织中 TMPRSS4 蛋白高表达与高 MVD 显著相关, 并且 TMPRSS4 蛋白高表达、高 MVD 与 NSCLC 浸润深度密切相关, TMPRSS4 可能成为早期 NSCLC 患者抗癌治疗的新靶点。

[关键词] 穿膜丝氨酸蛋白酶 4; 非小细胞肺癌; 肿瘤内微血管密度

[中图分类号] R734.2; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)04-0484-05

The association of TMPRSS4 expression in early-stage non-small cell lung cancer tissues with tumor angiogenesis and its clinical significance

Li Peichao, Tian Hui, Yue Weiming, Li Lin, Li Shuhai, Gao Cun, Si Libo, Qi Lei, Lu Ming (Department of Thoracic Surgery, Qilu Hospital, Shandong University, Ji'nan 250012, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship between TMPRSS4 expression in early-stage non-small cell lung cancer and tumor angiogenesis and assess its clinical significance. **Methods:** Samples were collected from 87 NSCLC patients who had received surgical treatment in the Department of Thoracic Surgery of Qilu Hospital between January 2009 and January 2010. TMPRSS4 expression in cancerous, adjacent and normal tissues was assessed using immunohistochemical staining. Intratumoral microvessel density (MVD) was measured by counting immunostained CD34 positive endothelial cells. For Real-time PCR analysis, 14 matched pairs of tumor tissues and adjacent noncancerous tissues were collected from pulmonary lobectomy specimens of patients with NSCLC immediately after surgery in our department between September and October of 2014. **Results:** The level of TMPRSS4 mRNA in NSCLC tissues was significantly higher than that of the adjacent lung tissues (1.826 ± 0.453 vs 0.829 ± 0.366, $P < 0.05$). The positive rates of TMPRSS4 in NSCLC tissues and adjacent tissues were significantly increased when compared with that in normal lung tissues (60.9%, 30.0% vs 16.7%, $P < 0.05$). NSCLC tissues with high TMPRSS4 expression have significantly higher MVD than that of low TMPRSS4-expressing cancers ($P < 0.05$). TMPRSS4 expression and MVD in cancerous tissues of T2 stage was significantly higher than that of T1 cancers ($P < 0.05$). **Conclusion:** Increased TMPRSS4 expression is associated with high

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 30571844); 山东省科学与技术发展基金资助项目 (No. 2009GG10002007); 山东省自然科学基金资助项目 (No. ZR2009CM090); 吴阶平基金资助项目 (No. 320.6750.12393)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30571844), the Science and Technology Development Foundation of Shandong Province (No. 2009GG10002007), the Natural Science Foundation of Shandong Province (No. ZR2009CM090), and the Wu Jie Ping Foundation (No. 320.6750.12393).

[作者简介] 李培超 (1989 -), 山东省烟台市人, 研究生, 主要从事胸部肿瘤分子生物学机制方面的研究, E-mail: 954881916@qq.com

[通信作者] 田辉 (Tian Hui, corresponding author), E-mail: tianhuiql@126.com

MVD in early-stage NSCLC tissue, and high TMPRSS4 expression and MVD in cancer tissue are closely related to the tumor infiltration depth. Thus, TMPRSS4 is a potential novel target for the treatment of patients with early NSCLC.

[**Key words**] transmembrane protease serine 4 (TMPRSS4) ; non-small cell lung cancer (NSCLC); intratumoral microvessel density(MVD)

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(4): 484-488]

全世界每年都会新增约 135 万肺癌患者^[1],非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)大约占全部肺癌的 75% ~ 80%^[2-3]。目前,世界范围内肺癌发生率的不断升高,且患者的预后差,总体 5 年生存率只有 15%,肺癌已经成为导致恶性肿瘤患者死亡的主要原因^[4-5]。一些前瞻性随机试验数据显示,化疗对 I B 期肺癌患者的生存率没有明显改善,反而会降低 I A 期患者的生存率^[6]。因此,如能找出一个新的肿瘤标志分子来指导早期 NSCLC 患者术后的个体化治疗,有可能促进 NSCLC 的临床治疗。穿膜丝氨酸蛋白酶 4(transmembrane protease serine 4, *TMPRSS4*) 基因是最近发现的 II 型穿膜丝氨酸蛋白酶(type II transmembrane serine proteases, TTSP) 家族中的一位主要成员,其含有一个具有 437 个氨基酸残基的多肽序列,丝氨酸蛋白酶结构特征非常典型并具有胰蛋白酶活性^[7-8]。*TMPRSS4* 是 Wallrapp 等^[7]首先于 2000 年发现的,其在胰腺癌组织内高表达,在正常心、脑、胎盘、肺、肝、骨骼肌、子宫及脂肪组织中均没有检测到 *TMPRSS4* mRNA 的表达,此后在结肠癌、肺癌、卵巢癌及甲状腺癌肿瘤组织中都检测到高表达,被证实是促进肿瘤侵袭转移的重要分子^[7,9]。然而,关于 *TMPRSS4* 基因表达与早期 NSCLC 肿瘤血管形成的研究还未见报道,本研究探讨 *TMPRSS4* 基因表达水平与肿瘤内 MVD 及其 NSCLC 临床病理特点的相关性。

1 材料与方法

1.1 研究对象

研究对象纳入标准:(1)手术方式为胸腔镜下肺叶切除+淋巴结清扫术;(2)术后病理为 NSCLC 且无淋巴结转移,按 TNM 分期标准均为 I 期;(3)术前未进行放疗、化疗;(4)术前肝功、肾功正常,不存在高血压、糖尿病及 COPD。剔除标准:(1)手术过程中中转开胸;(2)术前疑似有颅脑、骨骼、肝脏等远处转移;(3)术后病理示淋巴结转移;(4)术前肝、肾功能异常;(5)术前已确诊有糖尿病、高血压、COPD 中一种或一种以上疾病。严格按照研究对象的纳入及剔除标准选取 2009 年 1 月至 2010 年 1 月在山东大学齐鲁医院胸外科行手术治疗的、有明确

病理诊断的原发性早期 NSCLC 患者的癌组织标本 87 例,依据 WHO 标准分型:其中鳞癌 19 例,腺癌 68 例;低分化 27 例,中分化 26 例,高分化 34 例。根据国际肺癌 TNM 分期标准(2009 年第 7 版):T1 共有 35 例,T2 共有 52 例。50 例癌旁组织标本取自距离肿瘤外缘 0.5 cm 左右的肺组织,另取距肿瘤边缘 5 cm 以上的正常肺组织 30 例作为阴性对照。全部标本均在手术中收集,10% 甲醛液对标本进行固定,用石蜡进行包埋,连续切片厚度为 5 μ m,最后进行免疫组化检测。吸烟者的定义是到行手术治疗为止吸烟 \geq 100 支,且过去 1 个月以内有吸烟史者。另选取 2014 年 9 月至 2014 年 10 月在山东大学齐鲁医院胸外科行手术治疗的 NSCLC 患者 14 例,取新鲜癌组织及邻近正常肺组织行 RT-PCR,14 例患者术前均未行放射治疗及化学治疗,术后病理诊断结果均为早期 NSCLC。

1.2 主要试剂与仪器

鼠抗 *TMPRSS4* 单抗、兔抗 CD34 单抗均购自 Santa Cruz 公司,即用型 SP 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,*TMPRSS4* 引物购自 Applied Biosystems 公司,RT-PCR 试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,PTC 2200 PCR 合成仪购自美国 MJ Research 公司,FTC 2000 实时荧光定量 PCR 扩增仪购自加拿大 Funglyn 公司。

1.3 Real-time PCR 检测 NSCLC 及癌旁组织标本中 *TMPRSS4* mRNA 的表达

按 TRIzol 试剂盒说明书操作提取 14 对 NSCLC 及邻近正常肺组织总 RNA,根据 D_{260}/D_{280} 的比值来评估所要提取 RNA 的质量并测定 RNA 的浓度,选取 *GAPDH* 作为内参照,按 RT-PCR 试剂盒说明书操作行逆转录。反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min,94 $^{\circ}$ C 变性 20 s,60 $^{\circ}$ C 退火 20 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,共 40 个循环。Real-time PCR 检测 *TMPRSS4* 表达。*TMPRSS4* 引物序列:正向 5'-GGATAACTGATGGCAGTAAATGTGG-3',反向 5'-TCAACGTCTCTGATCTTTGATTGTG-3'。*GAPDH* 引物序列:正向 5'-ACAGTCAGC-CGCATCTTCTTT-3',反向 5'-CCATCAGCCA-CAGTTTCC-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 *TMPRSS4* mRNA 的相对表达量。

1.4 S-P 染色法检测 NSCLC、癌旁组织中 TMPRSS4 的表达

应用免疫组织化学 S-P 法对 NSCLC 及癌旁组织切片进行染色。首先将切片置于 60 °C 恒温箱中烘烤 60 min,二甲苯溶液脱蜡、100% 到 70% 酒精梯度脱水、微波修复,3% 过氧化氢消除内源性过氧化物酶。山羊血清封闭后加入一抗即鼠抗 TMPRSS4 抗体(1:300), 4 °C 孵育过夜,加入生物素标记的二抗(1:200), 室温孵育 30 min,滴加 HRP 溶液, DAB 显色,自来水冲洗后依次进行苏木精复染、盐酸酒精分化、氨水返蓝、梯度酒精脱水干燥、二甲苯透明,用中性树胶封片后进行镜检。

随机在每张切片上选取 3 个高倍镜视野(40 × 10),计数每个视野内的染色阳性细胞所占比例。TMPRSS4 蛋白是一种穿膜蛋白,因此只计数胞膜阳性染色细胞,依照阳性细胞所占百分比进行判定:阳性细胞数小于 25% 为阴性,25% ~ 50% 为“+”, 51% ~ 75% 为“++”,大于 75% 为“+++”。

1.5 CD34 蛋白免疫组化染色检测 NSCLC、癌旁组织中微血管形成情况

应用免疫组织化学 S-P 法对 NSCLC 组织切片进行染色,一抗用兔抗 CD34 单抗,具体方法同 1.4。CD34 蛋白是血管内皮细胞的一种特异性标记物,阳性染色呈棕色或者棕黄色。参照实体肿瘤血管生成的定量评价方法与标准^[10]对微血管密度(microvessel density, MVD)进行计数,首先在低倍镜下(10 × 10)在每张切片上选取 3 个微血管密度最高的区域,即所谓的“热点”,随后在高倍镜视野下(20 × 10)计数“热点”内的微血管数,与其周围结缔组织、癌组织 毗邻血管不相连的并且呈棕色或棕黄色的内皮细胞或者内皮细胞簇均被计数为一条独立的微血管^[11]。按此方法依次对 3 个“热点”区域内的 MVD 值进行计数,最后取 3 个“热点”计数的平均值作为该切片的 MVD 值。MVD 值的判定标准: MVD 值 ≥ 90/200 倍视野者为高 MVD, MVD 值 < 90/200 倍视野者为低 MVD^[12-13]。

1.6 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料的组间比较采用 χ^2 检验,计量资料的组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TMPRSS4 mRNA 与蛋白在 NSCLC、癌旁组织和正常肺组织中的表达

Real-time PCR 检测结果显示, TMPRSS4 mRNA 在 NSCLC 组织中的相对表达量显著高于邻近正常肺组织(1.826 ± 0.453 vs 0.829 ± 0.366 , $P < 0.05$)。S-P 染色结果(图 1)显示, NSCLC 组织、癌旁组织中 TMPRSS4 蛋白表达阳性率显著高于正常肺组织(60.9%、30.0% vs 16.7%, 均 $P < 0.05$)。

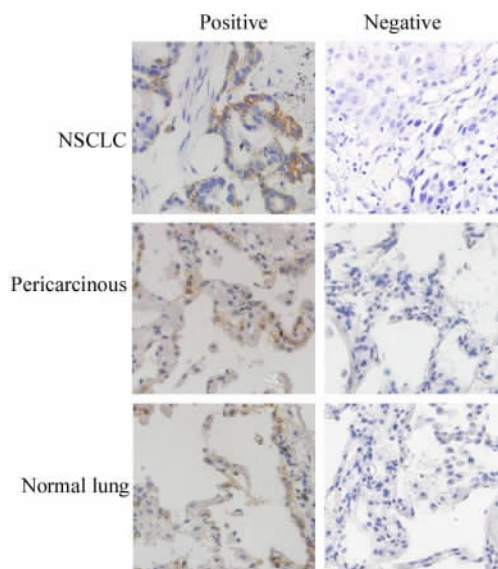


图 1 NSCLC 组织、癌旁组织中 TMPRSS4 蛋白表达高于正常肺组织(×400)

Fig. 1 Expression of TMPRSS4 in NSCLC and pericarcinous tissues were higher than that in normal lung tissues (×400)

2.2 CD34 蛋白免疫组化染色肿瘤内微血管

CD34 蛋白免疫组化染色结果(图 2,表 1)显示, TMPRSS4 蛋白高表达的 NSCLC 组织中的 MVD 显著高于 TMPRSS4 蛋白低表达的 NSCLC 组织($P < 0.05$), NSCLC 癌组织中 TMPRSS4 蛋白高表达与肿瘤内高 MVD 相关。

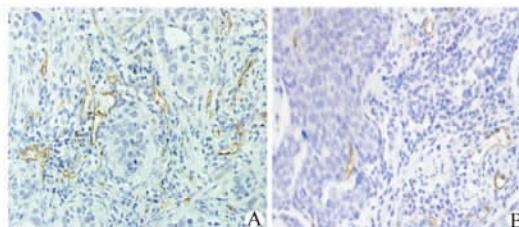


图 2 高表达 TMPRSS4 的 NSCLC 组织中 MVD 高于低表达 TMPRSS4 的 NSCLC 组织(×200)
Fig. 2 MVD of NSCLC tissues with high level TMPRSS4 were higher than that of the NSCLC tissues with low level TMPRSS4(×200)

A: High MVD in NSCLC tissues with high level TMPRSS4;
B: Low MVD in NSCLC tissues with low level TMPRSS4

2.4 NSCLC 组织中 TMPRSS4 蛋白、MVD 与临床病理特征的关系

统计分析结果(表 2、表 3)显示, TMPRSS4 蛋白高表达以及肿瘤内高 MVD 与患者年龄、性别、是否吸烟、肿瘤组织病理类型及其分化程度均不存在相关性($P > 0.05$)。但 T2 癌组织中 TMPRSS4 蛋白表达与 MVD 均显著高于 T1 癌组织($P < 0.05$), 这说明 TMPRSS4 蛋白高表达以及肿瘤内高 MVD 与 NSCLC 浸润深度相关。

表 1 NSCLC 组织中 TMPRSS4 蛋白表达与 MVD 的关系
Tab. 1 Relation between protein expression of TMPRSS4 and intratumoral MVD

Group	N	MVD		χ^2	P
		High	Low		
TMPRSS4 high expression	53	36	17	6.063	0.014
TMPRSS4 low expression	34	14	20		

表 2 NSCLC 组织内 TMPRSS4 表达与临床病理特征的关系

Tab. 2 Correlation of clinicopathologic variables of NSCLC with TMPRSS4 expression

Feature	N	TMPRSS4 high expression		χ^2	P
		No	Yes		
Age(t/a)				0.173	0.678
≤65	36	15	21		
>65	51	19	32		
Gender				0.486	0.486
Male	42	18	24		
Female	45	16	29		
Smoking				0.336	0.562
No	53	22	31		
Yes	34	12	22		
Histology				0.051	0.821
Adeno	68	27	41		
Squamous	19	7	12		
Differentiation				2.934	0.231
Well	34	17	17		
Moderate	26	9	17		
Poor	27	8	19		
Invasion depth				8.025	0.005
T1	35	20	15		
T2	52	14	38		

表 3 NSCLC 组织内 MVD 与临床病理特征的关系(n)

Tab. 3 Correlation of clinicopathologic variables of NSCLC with MVD (n)

Feature	N	MVD		χ^2	P
		Low	High		
Age(t/a)				0.333	0.564
≤65	36	14	22		
>65	51	23	28		
Gender				0.140	0.708
Male	42	17	25		
Female	45	20	25		
Smoking				0.469	0.494
No	53	21	32		
Yes	34	16	18		
Histology				1.015	0.314
Adeno	68	27	41		
Squamous	19	10	9		
Differentiation				0.497	0.780
Well	34	16	18		
Moderate	26	10	16		
Poor	27	11	16		
Invasion depth				7.313	0.007
T1	35	21	14		
T2	52	16	36		

3 讨论

上皮间质转化(epithelial mesenchymal transitions, EMT)与 NSCLC 癌细胞恶性特征的获得密切相关^[14-16]。细胞发生 EMT 后, 其上皮极性会消失, 而间质细胞的标志则会过度表达, 迁移和运动能力增强, 这就是肿瘤局部浸润以及远处转移的主要方式^[17]。已知的 EMT 重要标志物有 E-钙黏素(E-cadherin)、N-钙黏素(N-cadherin)和波形蛋白(vimentin)等^[18]。其中, E-钙黏素是一类存在于上皮组织中依赖钙离子的细胞间穿膜糖蛋白, 主要参与细胞间连接的构成, 是影响肿瘤侵袭转移较为重要的一种 EMT 关键分子。蛋白酶降解细胞基底膜及细胞外基质是肿瘤转移与侵袭过程中必不可少的环节, 丝氨酸蛋白酶家族就在这一过程中发挥重要作用。最近研究^[19-20]证实, 在多种上皮来源的肿瘤中 TMPRSS4 的高表达可引起 E-钙黏素表达的降低或

缺失,对 *TMPRSS4* 表达的干扰可以降低肿瘤侵袭的发生以及细胞-基质的黏附,而且细胞在转染 *TM-PRSS4* 基因后,E-钙黏素在 mRNA 和蛋白水平的表达均受到明显抑制。

TMPRSS4 表达在某些器官和肿瘤组织的细胞表面,具有可以降解细胞膜及其细胞外基质的潜在功能,因此可以促进肿瘤的扩散和转移。Electron 等^[9] 研究显示,*TMPRSS4* 基因在 NSCLC 癌组织中表达量明显上调,这表明 *TMPRSS4* 基因的异常高表达与 NSCLC 的发生及发展有着密切的相关性。本研究也发现,NSCLC 组织中 *TMPRSS4* mRNA 及蛋白水平的表达均上调,并且与肿瘤内高 MVD 显著相关,说明 *TMPRSS4* 基因的高表达可能促进了早期 NSCLC 肿瘤血管形成。进一步研究发现,*TMPRSS4* 基因的高表达及高 MVD 与早期 NSCLC 肿瘤的浸润深度密切相关。

本研究探究了 NSCLC 肿瘤组织内 *TMPRSS4* 基因的表达与 MVD 之间的关系,为进一步研究 NSCLC 的发生、发展机制提供了新的思路,提示 *TMPRSS4* 可能成为 NSCLC 治疗的一个新靶点,有助于筛选出有高复发及转移倾向的患者,从而提供更合理的个体化综合治疗。

[参考文献]

- [1] Rooney C, Sethi T. The epithelial cell and lung cancer: The link between chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer [J]. *Respiration*, 2011, 81(2): 89-104.
- [2] Soldà F, Lodge M, Ashley S, et al. Stereotactic radiotherapy (SABR) for the treatment of primary non-small cell lung cancer; Systematic review and comparison with a surgical cohort [J]. *Radiother Oncol*, 2013, 109(1): 1-7.
- [3] Camidge DR, Kono SA, Lu X, et al. Anaplastic lymphoma kinase gene rearrangements in non-small cell lung cancer are associated with prolonged progression-free survival on pemetrexed [J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(4): 774-780.
- [4] Gao W, Liu L, Lu X, et al. Circulating microRNAs: Possible prediction biomarkers for personalized therapy of non-small-cell lung carcinoma [J]. *Clin Lung Cancer*, 2011, 12(1): 14-17.
- [5] Travis WD. Pathology of lung cancer [J]. *Clin Chest Med*, 2011, 32(4): 669-692.
- [6] Crino L, Weder W, Van Meerbeeck J, et al. Early stage and locally advanced (non-metastatic) non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(Suppl 5): 103-115.
- [7] Wallrapp C, Hähnel S, Müller-Pillasch F, et al. A novel transmembrane serine protease (*TMPRSS3*) overexpressed in pancreatic cancer1, 2 [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(10): 2602-2606.
- [8] Fasquelle L, Scott HS, Lenoir M, et al. *TMPRSS3*, a transmembrane serine protease deficient in human DFNB8/10 deafness, is critical for cochlear hair cell survival at the onset of hearing [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(19): 17383-17397.
- [9] Huang A, Zhou H, Zhao H, et al. High expression level of *TMPRSS4* predicts adverse outcomes of colorectal cancer patients [J]. *Med Oncol*, 2013, 30(4): 1-7.
- [10] Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, et al. Second international consensus on the methodology and criteria of evaluation of angiogenesis quantification in solid human tumours [J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38(12): 1564-1579.
- [11] Yuan A, Yu CJ, Shun CT, et al. Total cyclooxygenase-2 mRNA levels correlate with vascular endothelial growth factor mRNA levels, tumor angiogenesis and prognosis in non-small cell lung cancer patients [J]. *Int J Cancer*, 2005, 115(4): 545-555.
- [12] Huang C, Liu D, Masuya D, et al. Clinical application of biological markers for treatments of resectable non-small-cell lung cancers [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(7): 1231-1239.
- [13] Kadota K, Huang C, Liu D, et al. The clinical significance of lymphangiogenesis and angiogenesis in non-small cell lung cancer patients [J]. *Eur J Cancer*, 2008, 44(7): 1057-1067.
- [14] Sun Q, Yao X, Ning Y, et al. Overexpression of response gene to complement 32 (*RGC32*) promotes cell invasion and induces epithelial-mesenchymal transition in lung cancer cells via the NF- κ B signaling pathway [J]. *Tumor Biology*, 2013, 34(5): 2995-3002.
- [15] Wang Z, Fan Z, Jiang H, et al. Selective Cox-2 inhibitor celecoxib induces epithelial-mesenchymal transition in human lung cancer cells via activating MEK-ERK signaling [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(3): 638-646.
- [16] Soltermann A. Epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer [J]. *Pathologe*, 2012, 33(Suppl 2): 311-317.
- [17] Lin S, Kono E, Yamashiro J, et al. Roles of EMT on stem cell properties of prostate stem and cancer cells during castration-resistant prostate cancer progression [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(19 Suppl): 3021.
- [18] Chen L, Muñoz-Antonia T, Cress WD. TRIM28 contributes to EMT via regulation of E-cadherin and N-cadherin in lung cancer cell lines [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(7): e101040.
- [19] 李东哲, 赵梅芬, 宋少伟, 等. II型跨膜丝氨酸蛋白酶4在胰腺导管腺癌中的表达及其与E-cadherin的相关性研究 [J]. *中国医科大学学报*, 2011, 40(6): 562-564.
- [20] 曲思凤. *TMPRSS4* 在肝细胞复发转移中的作用研究 [D]. 山东大学, 2011.

[收稿日期] 2015-01-04

[修回日期] 2015-05-28

[本文编辑] 黄静怡