

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.05.010

## shRNA 干扰 *CDX2* 基因表达对裸鼠结直肠癌肝转移瘤的影响

郑见宝<sup>a</sup>, 李孝彬<sup>a</sup>, 孙学军<sup>a</sup>, 王孝琬<sup>a</sup>, 王伟<sup>a</sup>, 魏光兵<sup>a</sup>, 陈南征<sup>b</sup>, 王恺<sup>a</sup>(西安交通大学医学院第一附属医院 a. 普通外科; b. 胸外一科, 陕西 西安 710061)

**[摘要]** **目的:** 建立人结直肠癌裸鼠肝转移瘤模型, 探讨干扰尾型同源盒基因 2 (caudal-related homeobox 2, *CDX2*) 基因表达对结直肠癌肝转移瘤的影响。 **方法:** 通过慢病毒载体将 *CDX2*-shRNA 体外转染人结直肠癌细胞 SW480、HT29, 筛选建立稳定干扰 *CDX2* 基因表达细胞株和阴性病毒细胞株; 将稳定干扰 *CDX2* 基因表达的结直肠癌细胞 (SW480-KD、HT29-KD)、空白对照细胞 (SW480-CON、HT29-CON) 和阴性对照细胞 (SW480-NC、HT29-NC) 接种到裸鼠脾下极包膜内, 建立裸鼠结直肠癌肝转移瘤模型, 每天称量裸鼠体质量并观察其摄食、活动及精神情况; 50 d 后处死裸鼠, 分别从大体水平以及镜下观察肝转移瘤情况。 **结果:** 成功构建裸鼠结直肠癌肝转移模型, H-E 染色确认为结直肠癌肝转移。各细胞干扰组 (SW480-KD、HT29-KD) 裸鼠体质量明显低于相应空白对照组和阴性对照组 [SW480-KD: (15.02 ± 2.00) vs (18.00 ± 2.48)、(18.03 ± 2.05) g;  $F = 3.761, P < 0.05$ ; HT29-KD: (15.39 ± 2.16) vs (17.96 ± 2.48)、(18.30 ± 1.87) g;  $F = 3.721, P < 0.05$ ]。SW480-KD 组肝转移瘤数目明显多于 SW480-CON 组和 SW480-NC 组 [(57.83 ± 22.56) vs (29.50 ± 16.90)、(28.20 ± 15.40) 个;  $F = 4.197, P < 0.05$ ]; HT29-KD 组肝转移瘤数目明显多于 HT29-CON 组和 HT29-NC 组 [(56.83 ± 29.16) vs (26.40 ± 12.76)、(21.00 ± 11.50) 个;  $F = 4.467, P < 0.05$ ]。 **结论:** 脾注射法裸鼠肝转移模型可作为体内研究基因功能的理想模型; 干扰 *CDX2* 基因表达可促进结直肠癌 SW480 和 HT29 细胞在体内的转移。

**[关键词]** 干扰尾型同源盒基因 2; 短发夹 RNA; 结直肠癌; 动物模型

**[中图分类号]** R735.3

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2016)05-0646-06

## Effect of shRNA interfering expression of *CDX2* gene on hepatic metastasis of colorectal cancer in nude mice

ZHENG Jianbao<sup>a</sup>, LI Xiaobin<sup>a</sup>, SUN Xuejun<sup>a</sup>, WANG Xiaolong<sup>a</sup>, WANG Wei<sup>a</sup>, WEI Guangbing<sup>a</sup>, CHEN Nanzheng<sup>b</sup>, WANG Kai<sup>a</sup>(a. Department of General Surgery; b. the First Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shannxi, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a liver metastasis model of human colorectal cancer in nude mice, and to investigate the effect of interfering *CDX2* gene on the metastasis of colorectal cancer *in vivo*. **Methods:** Lentiviral vector particles were used to infect human colorectal cancer HT29 and SW480 cells; *CDX2* gene interfering cell lines (SW480-KD、HT29-KD) and negative shRNA were screened and established; cell lines with *CDX2* gene interfering (SW480-KD、HT29-KD), cell lines with negative shRNA (SW480-NC, HT29-NC) and blank control cells (SW480-CON, HT29-CON) were injected into the spleen of nude mice, respectively; the ingestion, movement and mental status of the mice were observed everyday and the weight of nude mice were measured every days. The nude mice were sacrificed on D50 to observe the liver metastasis by visual and microscopic observation. **Results:** The liver metastasis model of human colorectal cancer in nude mice was successfully constructed and confirmed by H-E staining. The weight of rats in knockdown group (SW480-KD, HT29-KD) was significantly lower than that of the blank control group (SW480-CON, HT29-CON) and negative control group

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (No. 81101874, No. 81172362); 陕西省科学技术研究发展计划项目 (No. 2016SF-015, No. 2016SF-157, No. 2015SF037); 陕西省科技统筹创新工程计划项目 (No. 2013KTCQ03-08)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81101874, No. 81172362), the Science and Technology Project of Shaanxi Province (No. 2016SF-015, No. 2016SF-157, No. 2015SF037), and the Co-ordinative and Innovative Plan Projects of the Science and Technology in Shaanxi Province (No. 2013KTCQ03-08)

**[作者简介]** 郑见宝 (1981 - ), 男, 陕西渭南人, 博士, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究。E-mail: bob.zheng@stu.xjtu.edu.cn

**[通信作者]** 孙学军 (SUN Xuejun, corresponding author), E-mail: sunxy@mail.xjtu.edu.cn

(SW480-NC, HT29-NC) (SW480: [15.02 ± 2.00] g vs [18.00 ± 2.48] g, [18.03 ± 2.05] g,  $F = 3.761$ ,  $P < 0.05$ ; HT29: [15.39 ± 2.16] g vs [17.96 ± 2.48] g, [18.30 ± 1.87] g,  $F = 3.721$ ,  $P < 0.05$ ). The number of liver metastatic tumors in SW480-KD group was significantly more than that of the SW480-CON group and SW480-NC group ([57.83 ± 22.56] vs [29.50 ± 16.90], [28.20 ± 15.40],  $F = 4.197$ ,  $P < 0.05$ ). The number of liver metastatic tumors in HT29-KD group was significantly more than that of the HT29-CON group and HT29-NC group ([56.83 ± 29.16] vs [26.40 ± 12.76], [21.00 ± 11.50],  $F = 4.467$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The liver metastasis model in nude mice established by the spleen injection was an ideal model to study the gene function *in vivo*; the *CDX2* gene interfering could promote the metastasis of CRC SW480 cells and HT29 cells in nude mice.

[ **Key words** ] caudal-related homeobox 2 (*CDX2*) gene; shRNA; colorectal cancer; animal model

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23(5): 646-650. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.05.010 ]

结直肠癌是常见的恶性肿瘤之一,全世界每年约有 140 万结直肠癌新发病例,死亡约 70 万例<sup>[1]</sup>。据国家癌症中心数据资料<sup>[2]</sup>显示,2015 年我国结直肠癌新发病例数已超过 38 万,死亡病例 19 万以上。转移和复发是结直肠癌患者最常见的死因,约 40% 的结直肠癌患者死于肿瘤的转移,而肝是最主要的转移部位<sup>[3]</sup>;15% ~ 25% 的患者在结直肠癌确诊时即有肝转移,并有约 20% 的患者在结直肠癌手术后出现肝转移,如不采取治疗,患者中位生存时间仅为 5 ~ 10 个月<sup>[4]</sup>。尾型同源盒基因 2 (caudal-related homeobox 2, *CDX2*) 属于同源盒基因 (homeobox genes) 家族中的一员<sup>[5]</sup>,在胚胎期肠上皮细胞的增殖和分化过程中发挥着关键作用<sup>[6-7]</sup>,并与细胞的凋亡、黏附、侵袭和迁移有关<sup>[8-9]</sup>。*CDX2* 表达下调可能参与了结直肠癌的发生发展、浸润和转移等过程,*CDX2* 可作为结直肠癌高危因素和预后不良的评估指标之一<sup>[10-11]</sup>。本研究拟通过将构建好的稳定干扰 *CDX2* 基因表达的结直肠癌细胞株注射到裸鼠脾下极包膜内,构建裸鼠结直肠癌细胞肝转移模型,初步探讨 *CDX2* 对结直肠癌转移的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株、病毒、实验动物及主要试剂

人结直肠癌细胞株 SW480 和 HT29 为本课题组保存,培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,取对数生长期细胞进行实验。慢病毒载体 GV248-*CDX2* (*CDX2*-shRNA)、阴性病毒载体 (NT-shRNA) 均由上海吉凯基因技术有限公司合成并鉴定。39 只 4 周龄、体质量为 13 ~ 15 g 的雌性 BALB/c 裸鼠为北京维通利华实验动物有限责任公司培育 [动物合格证号:SCXK(京)2012-0001],在西安交通大学动物实验中心 SPF 条件下适应性饲养一周后用于本实验研究。实验用胎牛血清为美国 ExCell 公司产品,

RPMI-1640 培养基购买自美国 HyClone 公司。*CDX2* 兔抗人一抗 (D11D10) 为美国 CST 公司产品。

### 1.2 干扰 *CDX2* 表达结直肠癌细胞株的建立

24 孔培养板中接种处于对数生长期的 SW480、HT29 细胞 (5 × 10<sup>4</sup>/孔),置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,待细胞密度达 70% ~ 80% 时按转染复数 (MOI) = 10 进行转染,分为 3 组:只加转染试剂组 (blank control group, CON)、转染 GV248-*CDX2* 组 (*CDX2* shRNA, knockdown group, KD)、转染阴性对照组 (NT shRNA, negative control group, NC)。12 h 后用含 10% 胎牛血清的新鲜培养基替换含有病毒的培养基继续培养,72 h 后用嘌呤霉素筛选稳定转染慢病毒载体的细胞株。48 h 后即可置于荧光显微镜下观察各转染组细胞 GFP 的表达情况。提取各组细胞蛋白,BCA 法蛋白定量。取 40 μg 蛋白行 10% SDS-PAGE,转移至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶 37 °C 封闭 1 h,*CDX2* 抗体 (1:1 000) 于 4 °C 孵育过夜,二抗常温孵育 1 h,凝胶成像系统曝光,以 β-actin 为内参照。

### 1.3 结直肠癌细胞单细胞悬液的制备

依据文献 [12] 的方法,取各组对数生长期的结直肠癌细胞株,用含 EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶液 37 °C 消化 2 min;用含血清培养基终止消化,180 × g 离心 5 min;弃上清,用无血清培养液洗涤细胞 3 次;用 PBS 溶液定容制成单细胞悬液,锥虫蓝染色、计数活细胞,制成终密度为 10<sup>7</sup>/ml 的单细胞悬液。

### 1.4 裸鼠结直肠癌肝转移模型的建立

HT29 组,每组 7 只,分别建立 HT29-CON、HT29-NC、HT29-KD 裸鼠肝转移模型。SW480 组,每组 6 只,分别建立 SW480-CON、SW480-NC、SW480-KD 裸鼠肝转移模型。裸鼠麻醉后,左侧腋后线肋缘下纵行切口开腹,将结直肠癌细胞悬液缓慢注入脾脏下极包膜下,注射过程至少持续 3 min,后将脾复位,逐层缝合切口,一周后拆线。每天称质

量并观察裸鼠摄食、活动。

### 1.5 裸鼠结直肠癌肝转移瘤结节的观察

按照文献[13]的方法,将自然衰竭死亡裸鼠以及术后第50天处死裸鼠的肝、脾、肺、肾等取出。首先计数肝表面肉眼可见的转移结节,后用4%甲醛溶液固定肝、脾、肺、肾等,常规石蜡包埋。其中肝切取6个肝冠状切面,每个切面相距0.2cm,切片厚度4μm。H-E染色后光镜下观察、计数,以肝最大冠状切面为中心进行观察,若同一结节出现在不同切面上则计数为1个结节。将肉眼计数和显微镜计数之和作为最终的肝转移结节数目。

### 1.6 统计学处理

采用SPSS18.0统计软件,组间比较用ANOVA方差分析,率的比较采用Fisher确切概率法。以P

<0.05或P<0.01表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 慢病毒载体转染后结直肠癌细胞中CDX2表达下调

慢病毒载体转染人SW480、HT29细胞,2周后GFP,95%以上的细胞中均表达绿色荧光蛋白(图1)。Western blotting检测结果(图2)显示,干扰组(SW480和HT29细胞)CDX2表达明显低于空白对照组和阴性对照组[(0.27±0.03)vs(0.99±0.16)、(0.94±0.15),F=29.76,P<0.01;(0.27±0.07)vs(1.16±0.20)、(1.09±0.13),F=35.67,P<0.01],干扰效率70%以上。

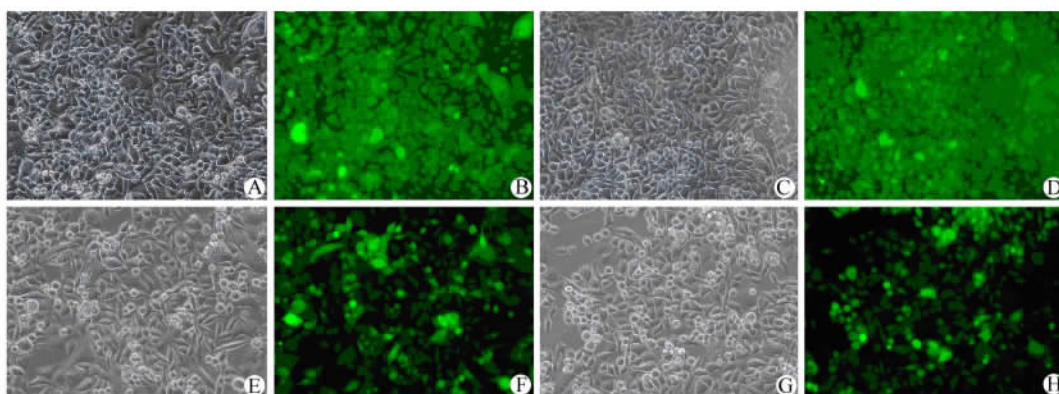


图1 慢病毒转染SW480和HT29细胞(荧光素染色法,×200)

Fig. 1 Microscopic findings of SW480 and HT29 cells transfected by lentivirus( Fluorescein vital staining, ×200 )

A, B and E, F: Negative control group; C, D and G, H: Knockdown group;

A, C and E, G: Observed under common microscope; B, D and F, H: Observed under fluorescence microscope

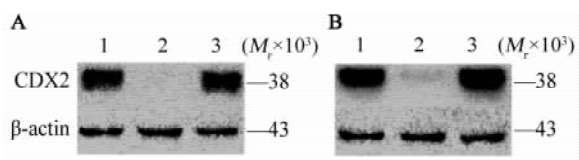


图2 Western blotting分析CDX2表达水平

Fig. 2 Western blotting analysis of CDX2 protein expression levels

A: SW480; B: HT29; 1: Blank control group; 2: Knockdown group; 3: Negative control group;

\* P<0.05 vs blank control group and negative control group

### 2.2 结直肠癌肝转移模型各组裸鼠的生长情况

接种癌细胞后1~20d,各组裸鼠体质量均快速增长。从第30天起,SW480和HT29干扰组开始裸

鼠出现消瘦、活动受限、倦怠乏力等,部分出现精神萎靡、行动迟缓、弓背、明显消瘦等衰竭症状。SW480-KD组在40、44d时各有1只裸鼠死亡,HT29-KD组38、40、48d时各有1只裸鼠死亡。SW480和HT29空白对照组和阴性对照组虽有部分裸鼠出现消瘦、倦怠等症状,但未出现裸鼠死亡,从36d开始才出现体质量缓慢下降。SW480和HT29干扰组裸鼠体质量下降明显快于空白对照组和阴性对照组(P<0.05,图3)。

### 2.3 干扰CDX2基因促进裸鼠结直肠癌肝转移

接种结直肠癌细胞后第50天处死裸鼠,各组裸鼠心、肺、肾等均未肉眼转移结节。肝转移方面,SW480和HT29总体肝转移率超过70%,SW480-KD组有6/6只、SW480-CON组4/6、SW480-NC组5/6肝转移;HT29-KD组6/7、HT29-CON组5/7、HT29-NC组4/7肝

转移, 各组间差异无统计学意义 ( $P < 0.05$ )。HT29-KD 组和 SW480-KD 组肝表面发现广泛转移, 肝表面不平、粗糙、布满灰白色转移结节, 大的转移灶约 3 mm, 多数为针头大小转移灶, 或融合成片; 而相应空白对照组和阴性对照组转移结节数目较干扰组明显减少, 个别肝仅见散在单个转移结节甚至整个肝肉眼未见转移结

节。SW480-KD 组肝转移瘤数目明显多于 SW480-CON 组和 SW480-NC 组 [ $(57.83 \pm 22.56)$  个 *vs*  $(29.50 \pm 16.90)$  个、 $(28.20 \pm 15.40)$  个;  $F = 4.197$ , 均  $P < 0.05$ ]; HT29-KD 组转移瘤数目明显多于 HT29-CON 组和 HT29-NC 组 [ $(56.83 \pm 29.16)$  个 *vs*  $(26.40 \pm 12.76)$  个、 $(21.00 \pm 11.50)$  个;  $F = 4.467$ , 均  $P < 0.05$ ]。

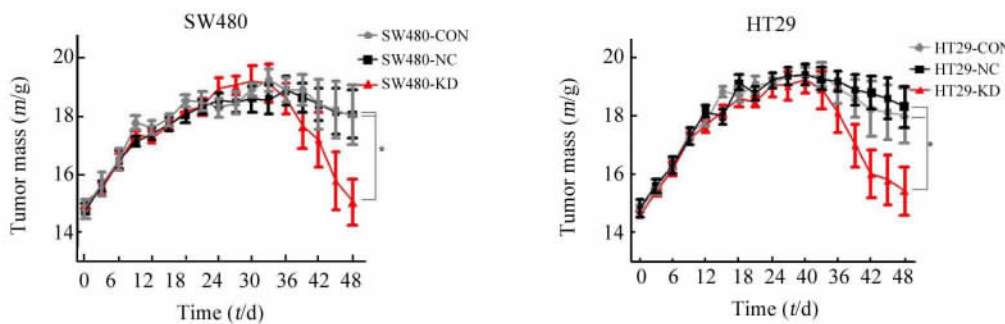


图 3 结直肠癌肝转移动物模型各组裸鼠生长情况

Fig. 3 The growth state of nude mice in each liver metastasis model group

\*  $P < 0.05$  *vs* blank control group and negative control group

#### 2.4 结直肠癌肝转移瘤的组织学变化

光镜下观察结果(图 4)显示, 裸鼠结直肠癌肝转移的肝内有大量肿瘤细胞生长, 多呈不规则岛状分布在血管周围, 肿瘤细胞周围可见正常肝组织萎缩、肝细胞变性坏死和肥大代偿增生的肝细胞等。干扰组可见转移灶密集分布, 并相互连接成片状, 周围肝组织小叶结构紊乱。

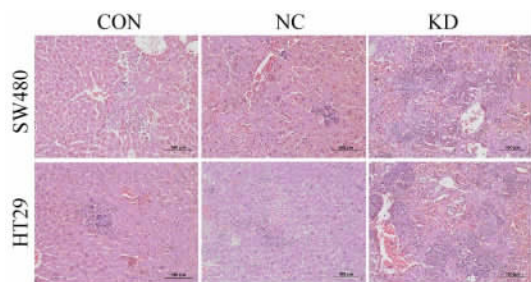


图 4 SW480 和 HT29 细胞各不同处理组结直肠癌肝转移瘤组织学变化(H-E 染色,  $\times 200$ )

Fig. 4 Histological changes of liver metastasis of colon cancer in different treatment groups(H-E staining,  $\times 200$ )

### 3 讨论

上皮来源的肿瘤形成转移瘤需要一系列的过程: 原发肿瘤侵犯邻近组织, 形成循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)进入血管或淋巴管道, CTC

能在脉管系统内生存, 也能游走出脉管系统并生长定居在次级转移灶。在整个转移级联过程中, 上皮源性肿瘤细胞只有随时随地的发生表型改变, 少部分细胞才能连续克服障碍而发生明显的转移。在这些表型变化中, 上皮细胞间质细胞化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)能减少上皮细胞特性, 增加间质细胞特性, 在转移级联特定阶段发挥重要作用<sup>[14-15]</sup>。研究<sup>[16]</sup>发现, 过表达 Zeb1 蛋白、Snail 蛋白和 Slug 蛋白可明显抑制 *CDX2* 的表达, 对 *CDX2* 进行干扰后发现 LI-cadherin 蛋白和 Muc2 蛋白的表达明显降低, 而 MMP2 蛋白和 MMP7 蛋白表达升高。Zhang 等<sup>[17]</sup>研究发现, *CDX2* 过表达可显著增加 E-cadherin 的表达并且减少了 Vimentin 的表达, 这都提示 *CDX2* 可能促进结直肠癌细胞发生 EMT。

结直肠癌最常见的转移部位是肝<sup>[3,18]</sup>。但肝转移瘤形成的机制仍不清楚, 有报道称发生肝硬化的肝可抑制肿瘤生长, 肝硬化时许多细胞因子如 TGF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、IL-1 和 PDGF 等表达增加, 而肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)和 EGF 等细胞因子减少, 导致肝微环境发生变化, 不利于癌细胞生存<sup>[19]</sup>。国内研究<sup>[19-20]</sup>表明, 肝门静脉压、HGF 和 EGF 表达水平与肝转移瘤密切相关。

目前常用的结直肠癌肝转移模型建模方法有原位种植法、肝门静脉注射法和脾种植法等。经脾注射制造肝转移模型法实验技术相对简单, 具有稳定、

重复性高、转移率高和较少发生其他器官转移等诸多优点<sup>[21-22]</sup>。本研究利用经脾注射法成功构建人结直肠癌裸鼠肝转移动物模型, 总体肝转移率超过70%, 裸鼠内其他脏器均未发现转移灶。

本研究结直肠癌肝转移动物模型中, SW480 和 HT29 各不同处理组在肝转移率上差别没有统计学意义, 这可能与样本量少有关。然而, 各细胞干扰组裸鼠体质量明显低于相应空白对照组和阴性对照组 ( $P < 0.05$ )。CDX2 表达缺失的 HT29 和 SW480 干扰组裸鼠肝表面均发生广泛转移。干扰组肝转移结节数明显多于空白对照组和阴性对照组 ( $P < 0.05$ )。表明干扰 CDX2 基因能促进结直肠癌肝转移的发生, 提示 CDX2 在抑制结直肠癌转移过程中发挥重要作用, 但 CDX2 抑制结直肠癌转移的具体机制仍需进一步探讨。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] ARNOLD M, SIERRA M S, LAVERSANNE M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality [ J ]. Gut, 2016; Epub ahead of print. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310912.
- [ 2 ] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [ J ]. CA Cancer J Clin, 2016, 66( 2 ): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [ 3 ] RYCHAHOU P G, KANG J, GULHATI P, et al. Akt2 overexpression plays a critical role in the establishment of colorectal cancer metastasis [ J ]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105( 51 ): 20315-20320. DOI: 10.1073/pnas.0810715105.
- [ 4 ] ARRUM, ALDRIGHETTI L, CASTOLDI R, et al. Analysis of prognostic factors influencing long-term survival after hepatic resection for metastatic colorectal cancer [ J ]. World J Surg, 2008, 32( 1 ): 93-103. DOI:10.1007/s00268-007-9285-y.
- [ 5 ] MLODZIK M, FJOSE A, GEHRING W J. Isolation of caudal, a Drosophila homeo box-containing gene with maternal expression, whose transcripts form a concentration gradient at the pre-blastoderm stage [ J ]. EMBO J, 1985, 4( 11 ): 2961-2969.
- [ 6 ] BECK F, CHAWENGSAKSOPHAK K, LUCKETT J, et al. A study of regional gut endoderm potency by analysis of Cdx2 null mutant chimaeric mice [ J ]. Dev Biol, 2003, 255( 2 ): 399-406. DOI:10.1016/S0012-1606( 02 )00096-9.
- [ 7 ] BOYD M, HANSEN M, JENSEN T G, et al. Genome-wide analysis of CDX2 binding in intestinal epithelial cells ( Caco-2 ) [ J ]. J Biol Chem, 2010, 285( 33 ): 25115-25125. DOI: 10.1074/jbc.M109.089516.
- [ 8 ] SAAD R S, GHORAB Z, KHALIFA M A, et al. CDX2 as a marker for intestinal differentiation: its utility and limitations [ J ]. World J Gastrointest Surg, 2011, 3( 11 ): 159-166. DOI:10.4240/wjgs.v3.i11.159.
- [ 9 ] SIMMINI S, BIALECKA M, HUCH M, et al. Transformation of intestinal stem cells into gastric stem cells on loss of transcription factor Cdx2 [ J/OL ]. Nat Commun, 2014, 5: 5728[ 2016-07-18 ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4284662/>. DOI:10.1038/ncomms6728.
- [ 10 ] BAE J M, LEE T H, CHO N Y, et al. Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients [ J ]. World J Gastroenterol, 2015, 21( 5 ): 1457-1467. DOI: 10.3748/wjg.v21.i5.1457.
- [ 11 ] ZHENG J, SUN X, WANG W, et al. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  modulates the down-regulation of the homeodomain protein CDX2 in colorectal cancer [ J ]. Oncol Rep, 2010, 24( 1 ): 97-104. DOI:10.3892/or\_00000833.
- [ 12 ] MORIKAWA K, WALKER S M, JESSUP J M, et al. In vivo selection of highly metastatic cells from surgical specimens of different primary human colon carcinomas implanted into nude mice [ J ]. Cancer Res, 1988, 48( 7 ): 1943-1948.
- [ 13 ] 肖志明, 沈守荣, 连平, 等. 裸鼠脾脏移植瘤模型在 NGX6 抗结直肠癌转移作用研究中的应用 [ J ]. 中南大学学报( 医学版 ), 2007, 32( 5 ): 753-757. DOI:10.3321/j.issn:1672-7347.2007.05.006.
- [ 14 ] BONNOMET A, BRYSSSE A, TACHSIDIS A, et al. Epithelial-to-mesenchymal transitions and circulating tumor cells [ J ]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2010, 15( 2 ): 261-273. DOI: 10.1007/s10911-010-9174-0.
- [ 15 ] IWATSUKI M, MIMORI K, YOKOBORI T, et al. Epithelial-mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance [ J ]. Cancer Sci, 2010, 101( 2 ): 293-299. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01419.x.
- [ 16 ] GROSS I, DULUC I, BENAMEUR T, et al. The intestine-specific homeobox gene Cdx2 decreases mobility and antagonizes dissemination of colon cancer cells [ J ]. Oncogene, 2008, 27( 1 ): 107-115. DOI:10.1038/sj.onc.1210601.
- [ 17 ] ZHANG J F, QU L S, QIAN X F, et al. Nuclear transcription factor CDX2 inhibits gastric cancer cell growth and reverses epithelial-to-mesenchymal transition in vitro and in vivo [ J ]. Mol Med Rep, 2015, 12( 4 ): 5231-5238. DOI:10.3892/mmr.2015.4114.
- [ 18 ] HU S, ZOU Z, LI H, et al. The preoperative peripheral blood monocyte count is associated with liver metastasis and overall survival in colorectal cancer patients [ J/OL ]. PLoS One, 2016, 11( 6 ): e0157486[ 2016-07-18 ]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0157486>. DOI: 10.1371/journal.pone.0157486.
- [ 19 ] 蒋春晖, 周全博, 孙隆慈, 等. 结直肠癌肝转移机制的研究 [ J ]. 外科理论与实践, 2015, 20( 3 ): 232-235. DOI:10.16139/j.1007-9610.2015.03.013.
- [ 20 ] HARUN N, NIKFARJAM M, MURALIDHARAN V, et al. Liver regeneration stimulates tumor metastases [ J ]. J Surg Res, 2007, 138( 2 ): 284-290. DOI:10.1016/j.jss.2006.06.024.
- [ 21 ] 李晖, 王道荣, 李清国, 等. 结直肠癌肝转移动物模型研究进展 [ J ]. 中国现代普通外科进展, 2013, 16( 11 ): 875-879. DOI:10.3969/j.issn.1009-9905.2013.11.011.
- [ 22 ] KOZLOWSKI J M, FIDLER I J, CAMPBELL D, et al. Metastatic behavior of human tumor cell lines grown in the nude mouse [ J ]. Cancer Res, 1984, 44( 8 ): 3522-3529.

[ 收稿日期 ] 2016-04-10 [ 修回日期 ] 2016-08-18

[ 本文编辑 ] 党瑞山