doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.19.045

肿瘤酸性微环境的研究进展 *

周俊梅[1] 韦 芳[2] 刘苗苗[1] 张必萌[1]

（1 上海交通大学附属第一人民医院针灸科 上海 200080；2 上海交通大学附属第一人民医院中心实验室 上海 200080）

摘要：研究表明，肿瘤转移是恶性肿瘤的临床治疗失败的根本原因。肿瘤转移不仅取决于肿瘤细胞自身的特性，还涉及其与肿瘤酸性微环境之间的相互作用。肿瘤微环境构成非常复杂，可促进肿瘤的增生、转移、侵袭，以及逃避宿主免疫监视和治疗耐药性。肿瘤细胞的生存依赖于在酸性微环境条件下的适应，肿瘤细胞可以通过一些离子交换体维持酸性微环境，缺氧的肿瘤组织酸化可以释放蛋白酶如纤维蛋白酶及 MMPs 降解细胞外基质、上调 VEGF 基因表达促进肿瘤新生血管生成等促进肿瘤侵袭转移。近年来，影响肿瘤微环境的因素已经成为癌症研究领域中的新兴话题。

关键词：酸性微环境；pH；肿瘤转移；综述

中图分类号：R730.231 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2014)19-3775-04

Process in the Research of Acidic Microenvironments and Tumor Metastasis*

ZHOU Jun-mei[1], WEI Fang[2], LIU Miao-miao[1], ZHANG Bi-meng[1]

(1 Department of acupuncture, Shanghai first people's hospital, Shanghai jiaotong University, Shanghai, 200080, China;

2 Experimental Center, Shanghai first people's hospital, Shanghai jiaotong University, Shanghai, 200080, China)

ABSTRACT: The study showed that tumor metastasis is the root cause of failure in the clinical treatment. Nevertheless, Tumor metastasis, not only depends on the characteristics of the tumor cells themselves, but also relates to the interaction between the tumor cells and their acidic microenvironment. The tumor microenvironment (TME) consists of tumor cells that can promote neoplastic transformation, support tumor growth and invasion, protect the tumor from host immunity, foster therapeutic resistance. Tumor cell survival relies upon adaptation to the acidic conditions of the tumor microenvironment. Tumor cells through some ion permutoid such as NHE and VHA maintain acid microenvironment. This effects of hypoxic and acidic exposure through the action of proteinase such as plasmin or MMPs, as well as up-expression of VEGF gene increase the invasive and metastatic efficiency. In recent years, its cellular and molecular components, and how they can affect neoplastic progression, has become an emerging topic in cancer research.

Key words: Acidic Microenvironments; pH; Tumor metastasis; Review

Chinese Library Classification(CLC): R730.231 Document code:A

Article ID:1673-6273(2014)19-3775-04

肿瘤的微环境包括胞外低 pH、低氧浓度、高葡萄糖吸收率等。肿瘤细胞通过异常的能量代谢和对特定蛋白的自身调节，形成和维持一个不适合正常细胞生存的细胞外酸性微环境，以保证其发生、增殖、侵袭与转移。肿瘤转移不仅取决于肿瘤细胞自身的特性，还涉及到肿瘤细胞与肿瘤酸性微环境之间的相互作用。本文根据近年相关文献，对酸性微环境的形成机制与肿瘤转移关系进行阐述。

1 肿瘤酸性微环境产生机制

研究发现肿瘤细胞对葡萄糖的摄取量极高，肿瘤的酸性是由于它们高效率的糖酵解生成的乳酸所致。另一方面，胞内产生的 CO_2 通过弥散作用排到胞外，由于肿瘤组织细胞缺氧，激活缺氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible fac-tor 1，HIF-1) 诱导肿瘤细胞高表达 CA-Ⅸ，催化 CO_2 和 H_2O 反应生成碳酸[1]。因此糖酵解和缺氧是肿瘤细胞酸性微环境的主要途径。

1.1 糖酵解与乳酸

实体肿瘤的生长需要大量的营养物质，但实体肿瘤内的营养物质供给是非常有限的，主要是因为肿瘤新生血管的紊乱和毛细血管的无功能。大量实验证据表明，肿瘤细胞即使在有氧的情况下，仍主要通过糖酵解利用葡萄糖产生大量的乳酸。活跃的糖酵解产生出大量的酸性产物，形成一个对毗邻正常细胞毒性更强的酸性微环境，有利于肿瘤组织侵犯相邻正常组织，因此它是肿瘤转移过程中一个必不可少的环节[2]。研究表明[3]糖酵解的乳酸可通过单羧酸转运泵(MCT)转运至肿瘤微环境中。现发现的 MCT 至少有 14 种，其中 MCT1-MCT4 有转运乳酸的能力，而 MCT2 和 MCT4 与乳酸亲和力最高，并且在恶性肿瘤中过量表达。乳酸可以通过 MCT1 进入内皮细胞，引起 Ⅰκ Bα 的降解和磷酸化，刺激自分泌核转录因子 κB / 白介素 8 通路引起细胞的迁移和血管的形成[4]。

* 基金项目：上海市科委实验动物专项（11140900902）

作者简介：周俊梅（1988-），女，硕士研究生，主要研究方向：艾灸对肿瘤的免疫调节研究，E-mail：light19882008@163.com

△通讯作者：张必萌，男，副主任医师，主要研究方向：艾灸对肿瘤的免疫调节研究，E-mail:pjzhtiger08@yahoo.com

（收稿日期：2013-11-28 接受日期：2013-12-23）

1.2 缺氧

肿瘤细胞由于其高的无限增值能力必然导致肿瘤组织缺氧,实体瘤中出现乏氧细胞是常见现象,而相对缺氧的肿瘤细胞便以无氧糖酵解作为主要代谢途径以获取能量[5]。无氧代谢是肿瘤常见的生物学特征,而其中伴随的多种缺氧反应基因的表达,尤其是 HIF 及其相关靶基因表达也提高了肿瘤组织的转移潜能。HIF 是以异源二聚体的形式存在,由 120× 103 的 α 亚单位(HIF-1α)和(91-94)× 103 的 β 亚单位(HIF-1β)组成。肿瘤细胞在低氧条件下,HIF 的表达显著升高, 继而使得糖酵解和能量代谢有关的靶基因都在 HIF 的介导下表达升高。同时一些基因如 PI3Kα 或 AKT1 的活化突变所导致的 mTOR(mammaliantarget of rapamycin)通路的活化,可以促进 HIF1-α 的转录和翻译[6],但是 ras 基因的活化却可提高细胞内 ROS 的含量,并因此抑制 HIF1-α 的羟基化[7]。此外,在缺氧条件下,HIF-1α 的表达可使血管形成相关因子 ---- 血管内皮生成因子(VEGF)基因表达增强[8],并且增强 VEGF 的转录和 VEGFmRNA 的稳定性。研究证据说明[9],无氧环境可促使肿瘤细胞在 HIF 的诱导作用下升高 MMPs 的表达,这也是肿瘤细胞无氧糖酵解过程中伴随侵袭转移能力的重要机制之一。

1.3 核转录因子

转录因子是广泛存在于机体各种组织细胞中并能够结合在某种基因上游特异核苷酸序列上的蛋白质,这些蛋白质通常能调控特定基因的转录。如上文提到的转录因子 HIF-1α 可促进糖酵解[10]。信号转导与转录激活因子 3(stat3)可通过介导炎性肿瘤微环境的形成促进肿瘤生成及发展,Messina 等[11]在人皮肤黑色素瘤组织中观察到了 stat3 的持续激活和磷酸化的 stat3 表达明显增加。另外,与炎症反应、自身免疫性疾病相关的转录因子 NF-κB,近年研究表明,其不仅可活化 Akt 信号通路,增加 GLUT1 的膜移位而增加葡萄糖的摄取, 还能促进细胞对谷氨酰胺的利用,为生物合成提供充足的碳源[12]。在肿瘤细胞中,c-Myc 能上调 LDHA 导致乳酸生成增加[13]。另外,c-Myc 还促进 GLUT1、HK2、磷酸果糖激酶的转录,增加细胞对葡萄糖的摄取和丙酮酸的生成; 并与 HIF-1α 协同促进 PDK-1 的转录,下调 PDH 而抑制丙酮酸的有氧氧化[14]。由此可见不同转录因子之间存在相互作用而构成了一个复杂的信号网络,这也增加了肿瘤治疗的难度。

2 肿瘤细胞适应酸性微环境机制

2.1 细胞自噬

自噬是广泛存在于真核细胞内多步骤的细胞自我吞噬过程,这一过程包括启动、自噬体形成、成熟及降解等步骤,并受一系列自噬相关基因(Autophagy-related gene, Atg)调节[15]。自噬与肿瘤的关系也是十分复杂,肿瘤发生发展的不同阶段,自噬起到了促进和抑制的双重作用。例如 Beclin-1 基因功能缺失同多种实体瘤包括:乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌等发生密切相关[16-18];Beclin-1 杂合性缺失的大鼠自发性肿瘤的发生率增加[19];相反,恢复 Beclin-1 功能,会导致基因功能缺失的乳腺癌细胞接种裸鼠后增殖和形成肿瘤的能力降低[20]。在肿瘤坏死区域内的炎性浸润细胞可以促进肿瘤的生长, 作为对代谢应激的反应,自噬可以预防细胞的坏死,从而抑制了炎性浸润细胞对肿瘤的促生长作用[21]。但是,过度上调的自噬作用也可以引起细胞死亡,即 " 自噬性细胞死亡 "。有学者[22]通过研究人类乳腺癌细胞在酸中毒(pH 为 6.7)的情况下生存机制,发现急性低 pH 值可降低增殖率,诱导 G1 期细胞周期阻滞,并增加胞浆空泡化。基因表达分析发现酸性条件下的细胞内 ATG5 和 BNIP3 水平升高,提示细胞暴露在低 pH 可能利用自噬作为一种生存机制。

2.2 上调转运系统

现有证据表明细胞在酸性微环境中更具侵袭力,这种酸性微环境的维系主要是癌细胞具有高效的膜离子转运系统,将糖酵解最终产物乳酸转运至肿瘤微环境中。因此肿瘤微环境 PH 较低,从而不利于正常组织生长,有利于肿瘤扩散。在肿瘤细胞中,由于高代谢使胞内产生大量的 H^+,肿瘤细胞则通过多种信号通路上调 NHE,将胞内 H^+ 泵出胞外,同时泵进 Na^+ 以避免胞内酸中毒,而胞外低 pH 还可能通过蛋白水解酶的激活促进 ECM 的降解和重构,从而促进肿瘤的侵袭和转移[23]这也是肿瘤由原位癌进展为侵袭性癌过程的主要事件[24]。肿瘤细胞的异常 pH 梯度的改变和维持受到质子转运体像 Na^+ / H^+ 交换体、V-ATPases 的调节。在高转移的乳腺癌细胞株的细胞膜上 VHA 显色明显,而在低转移株中显色很弱,提示了 VHA 可能与肿瘤细胞的浸润转移有关[25]。

肿瘤组织的血管结构缺乏完整性, 主要是一些血管盲端、动静脉间短路及局部膨出的血管,这便使得实体肿瘤与血管之间的物质交换极其不完善,因此实体肿瘤内的葡萄糖平均浓度极低,如[26]大肠癌和胃癌的未坏死区的葡萄糖含量分别只有 123± 43 nmol/g 和 424± 131 nmol/g。大量实验证明,葡萄糖饥饿或缺乏会导致肿瘤细胞快速死亡,但是实体肿瘤却能在葡萄糖缺乏的环境下进行性生长。这或许与肿瘤细胞的葡萄糖代谢有关。另外恶性肿瘤细胞膜上葡萄糖转运体结构有利于糖酵解的发生。许多研究[27]报道恶性肿瘤细胞葡萄糖转运体(GLUT)表达水平较正常细胞增加 10 倍。GLUT 至少有 14 种, 其中 GLUT1、GLUT3、GLUT4 与葡萄糖亲和力较高, 具有转运葡萄糖的活性,且在大量恶性肿瘤 GLUT3、GLUT4 过量表达。如在腺癌中高表达 GLUT1 可提示低生存率 [28], 肝胰管壶腹癌中 GLUT1 阳性率 57.7%,胰腺癌中为 51.8%,胆囊癌中为 46.5%,其表达与肿瘤的组织学分级有关[29]。

2.3 其他

肿瘤细胞适应酸性微环境还有其他机制,如上调 VEGF 等基因表达,促进肿瘤新生血管生成[8];释放组织蛋白酶 B 和其他蛋白水解酶,导致细胞外基质降解[30],导致免疫功能异常,逃避宿主免疫应答以及免疫治疗[31];促使肿瘤细胞对放疗不敏感[1],使肿瘤细胞产生耐药性,逃避化疗药物损伤[32]。这些研究成果证明了肿瘤生长转移的复杂性,同时也为靶向治疗肿瘤提供了新思路。

3 靶向肿瘤酸性微环境的治疗策略

肿瘤酸性环境与肿瘤的侵袭转移密切相关。改变癌细胞与周围细胞(肿瘤微环境)的相互作用,可以提高抗该药物的功能[33]。De Milito 等[34]研究发现 PPI 抑制肿瘤细胞的能力与培养基酸度水平直接相关;PPI 能诱导 B 细胞肿瘤的选择性细胞毒

性,它是通过激活大量的活性氧分子(reactive oxygen species, ROS),并破坏溶酶体膜的结构,引起依赖 caspase 的细胞凋亡。应用 PPI 还可以提高化疗药物的敏感性,抑制动物模型上人类移植瘤的生长 [35], 且 PPI 不会引起系统性全身反应 [36]。下调 NHE1 还可显著抑制脑胶质瘤细胞的侵袭和转移[37]。这些都提示了靶向干预 NHE1 表达可以调节肿瘤细胞内外 pH, 改变肿瘤细胞生物学活性,从而干预肿瘤的生长转移。

4 小结与展望

肿瘤组织的构成非常的复杂,包括肿瘤细胞、多种非肿瘤细胞(炎症细胞、纤维母细胞、髓系细胞等)、细胞外基质、脉管系统、各种细胞因子等。近几年对肿瘤酸性微环境的研究取得了一定研究成果,将其运用到临床肿瘤治疗时,主要是通过靶向抑制肿瘤的糖酵解,从而抑制肿瘤的增殖、转移。具体的方法包括抑制葡萄糖转运、直接抑制糖酵解、抑制 HIF 作用、抑制 mTOR 通路等多种途径来治疗肿瘤,但是大量的临床试验最终证明,靶向抑制剂只是阻断其中一个方面,很难得到理想效果。这些经验也启发我们,需要从整体上考虑调节整个体质微环境的 pH 改变,以观察对肿瘤的生长转移的作用,从而达到内环境稳态。

参 考 文 献(References)

[1] Winum JY, Rami M, Scozzafava A, et al. Carbonic anhydrase IX: a new druggable target for the design of antitumor agents[J]. Medicinal research reviews, 2008, 28(3): 445-463

[2] Gillies RJ, Robey I, Gatenby RA. Causes and consequences of increased glucose metabolism of cancers [J]. Journal of Nuclear Medicine, 2008, 49(Suppl 2): 24-42

[3] Mathupala SP, Colen CB, Parajuli P, et al. Lactate and malignant tumors: a therapeutic target at the end stage of glycolysis [J]. Journal of bioenergetics and biomembranes, 2007, 39(1): 73-77

[4] Vé gran F, Boidot R, Michiels C, et al. Lactate influx through the endothelial cell monocarboxylate transporter MCT1 supports an NF-κ B/IL-8 pathway that drives tumor angiogenesis [J]. Cancer research, 2011, 71(7): 2550-2560

[5] Vaupel P, Kallinowski F, Okunieff P. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review [J]. Cancer research, 1989, 49(23): 6449-6465

[6] Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream[J]. Cell, 2007, 129(7): 1261

[7] Yun J, Rago C, Cheong I, et al. Glucose deprivation contributes to the development of KRAS pathway mutations in tumor cells [J]. Science Signaling, 2009, 325(5947): 1555

[8] Favaro E, Nardo G, Persano L, et al. Hypoxia inducible factor-1α inactivation unveils a link between tumor cell metabolism and hypoxia-induced cell death [J]. The American journal of pathology, 2008, 173(4): 1186-1201

[9] Xu J, Xie R, Liu X, et al. Expression and functional role of vacuolar H+-ATPase in human hepatocellular carcinoma [J]. Carcinogenesis, 2012, 33(12): 2432-2440

[10] Demaria M, Giorgi C, Lebiedzinska M, et al. A STAT3-mediated metabolic switch is involved in tumour transformation and STAT3 addiction[J]. Aging (Albany NY), 2010, 2(11): 823

[11] Messina JL, Yu H, Riker AI, et al. Activated stat-3 in melanoma[J]. Cancer Control, 2008, 15(3): 196

[12] Sommermann TG, O'Neill K, Plas DR, et al. IKKβ and NF-κ B Transcription Govern Lymphoma Cell Survival through AKT-Induced Plasma Membrane Trafficking of GLUT1 [J]. Cancer research, 2011, 71(23): 7291-7300

[13] Jensen KS, Binderup T, Jensen KT, et al. FoxO3A promotes metabolic adaptation to hypoxia by antagonizing Myc function [J]. The EMBO journal, 2011, 30(22): 4554-4570

[14] Domí nguez-Frutos E, Ló pez-Hernández I, Vendrell V, et al. N-myc controls proliferation, morphogenesis, and patterning of the inner ear[J]. The Journal of Neuroscience, 2011, 31(19): 7178-7189

[15] Mizushima N. Autophagy: process and function [J]. Genes & Development, 2007, 21(22): 2861-2873

[16] Duan Z, Peng Z, Wang Z. Expression and involved signal transduction pathway of autophagy gene Beclin 1 in epithelial ovarian cancer [J]. Journal of Sichuan University Medical science edition, 2007, 38(2): 239

[17] Won KY, Kim GY, Kim YW, et al. Clinicopathologic correlation of beclin-1 and bcl-2 expression in human breast cancer [J]. Human pathology, 2010, 41(1): 107-112

[18] Xu, LW, Qian. Expression and Significance of Microsomal Prostaglandin Synthase-1 (mPGES-1) and Beclin-1 in the Development of Prostate Cancer [J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2012, 13: 1639-1644

[19] Guo GF, Jiang WQ, Zhang B, et al. Autophagy-related proteins Beclin-1 and LC3 predict cetuximab efficacy in advanced colorectal cancer[J]. World journal of gastroenterology, 2011, 17(43): 4779

[20] Gong C, Bauvy C, Tonelli G, et al. Beclin 1 and autophagy are required for the tumorigenicity of breast cancer stem-like/progenitor cells[J]. Oncogene, 2012, 32(18): 2261-2272

[21] Garcia-Maurino S, Alcaide A, Dominguez C. Pharmacological Control of Autophagy: Therapeutic Perspectives in Inflammatory Bowel Disease and Colorectal Cancer [J]. Current Pharmaceutical Design, 2012, 18(26): 3853-3873

[22] Wojtkowiak JW, Rothberg JM, Kumar V, et al. Chronic autophagy is a cellular adaptation to tumor acidic pH microenvironments [J]. Cancer research, 2012, 72(16): 3938-3947

[23] Sennoune SR, Luo D, Martí nez-Zaguilá n R. Plasmalemmal vacuolar-type H+-ATPase in cancer biology[J]. Cell biochemistry and biophysics, 2004, 40(2): 185-206

[24] Gatenby R, Smallbone K, Maini P, et al. Cellular adaptations to hypoxia and acidosis during somatic evolution of breast cancer [J]. British journal of cancer, 2007, 97(5): 646-653

[25] Hendrix A, Sormunen R, Westbroek W, et al. Vacuolar H+ ATPase expression and activity is required for Rab27B dependent invasive growth and metastasis of breast cancer [J]. International Journal of Cancer, 2013, 15, 133(4): 843-854

[26] Hirayama A, Kami K, Sugimoto M, et al. Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry [J]. Cancer research, 2009, 69(11): 4918-4920

[27] Yeluri S, Madhok B, Prasad K, et al. Cancer's craving for sugar: an

opportunity for clinical exploitation[J]. Journal of cancer research and clinical oncology, 2009,135(7): 867-877

[28] Meijer TW, Schuurbiers OC, Kaanders JH, et al. Differences in metabolism between adeno- and squamous cell non-small cell lung carcinomas: spatial distribution and prognostic value of GLUT1 and MCT4[J]. Lung Cancer, 2012, 76(3): 316-323

[29] Sung JY, Kim GY, Lim SJ, et al. Expression of the GLUT1 glucose transporter and p53 in carcinomas of the pancreatobiliary tract [J]. Pathol Res Pract, 2010, 206(1): 24-29

[30] Gatenby RA, Gawlinski ET, Gmitro AF, et al. Acid-mediated tumor invasion: a multidisciplinary study[J]. Cancer research, 2006, 66(10): 5216-5223

[31] Fukumura D, Jain RK. Tumor microvasculature and microenvironment: targets for anti-angiogenesis and normalization[J]. Microvascular research, 2007, 74(2): 72-84

[32] You H, Jin J, Shu H, et al. Small interfering RNA targeting the subunit ATP6L of proton pump V-ATPase overcomes chemoresistance of breast cancer cells [J]. Cancer letters, 2009, 280 (1): 110-119

[33] Nakasone ES, Askautrud HA, Kees T, et al. Imaging tumor-stroma interactions during chemotherapy reveals contributions of the microenvironment to resistance[J]. Cancer Cell, 2012, 21(4): 488-503

[34] De Milito A, Iessi E, Logozzi M, et al. Proton pump inhibitors induce apoptosis of human B-cell tumors through a caspase-independent mechanism involving reactive oxygen species [J]. Cancer research, 2007, 67(11): 5408-5417

[35] Thakur S, Tekade RK, Kesharwani P, et al. The effect of polyethylene glycol spacer chain length on the tumor-targeting potential of folate-modified PPI dendrimers[J]. Journal of Nanoparticle Research, 2013, 15(5): 1-16

[36] De Milito A, Canese R, Marino ML, et al. pH dependent antitumor activity of proton pump inhibitors against human melanoma is mediated by inhibition of tumor acidity [J]. International journal of cancer, 2010, 127(1): 207-219

[37] Kislin KL, McDonough WS, Eschbacher JM, et al. NHERF-1: modulator of glioblastoma cell migration and invasion [J]. Neoplasia (New York, NY), 2009, 11(4): 377

(上接第 3705 页)

[13] Nishimura Y, Okamura Y, Uchita S, et al. Abrupt rupture of an aortic arch aneurysm into the pulmonary artery[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2009, 36(1): 212-213

[14] Hoye SL, Gale CP, Tolan DJ, et al. An unusual presentation of pulmonary artery dissection[J]. Thorax, 2009, 64(4): 368

[15] 李奋, 周爱卿, 蒋世良, 等. 动脉导管未闭封堵的临床研究[J]. 临床儿科杂志, 2009, 24(11): 924-926
Li Fen, Zhou Ai-qing, Jiang Shi-liang, et al. Clinical research of patent ductus arteriosus occlusion [J]. J Clin Pediatrics, 2009, 24(11): 924-926

[16] 李斌, 张建华, 高华, 等. 国产封堵器与外科手术治疗动脉导管未闭的比较[J]. 心脏杂志, 2010, 22(3): 425-427
Li Bin, Zhang Jian-hua, Gao Hua, et al. Comparative study of Chinese-made occluders and surgical procedures in closure of patent ductus arteriosus[J]. Chin Heart J, 2010, 22(3): 425-427

[17] 张庆桥, 蒋世良, 黄连军, 等. Amplatzer 封堵器和外科手术治疗动脉导管未闭的对比研究 [J]. 中华心血管病杂志, 2002, 30(7): 387-389
Zhang Qing-qiao, Jiang Shi-liang, Huang Lian-jun, et al. Comparative study on closure of patent ductus arteriosus by surgery and by transcatheter Amplatzer device occlusion[J]. Chin J Cardiol, 2002, 30 (7): 387-389

[18] 冯娟, 王玉林, 朱梅, 等. 经导管 Amplatzer 封堵器和外科手术治疗动脉导管未闭对照试验的 Meta 分析[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(23): 1809-1812
Feng Juan, Wang Yu-lin, Zhu Mei, et al. Meta-Analysis on Controlled Trials of Transcatheter Amplatzer Device Closure and Cardiac Surgery on Patent Ductus Arteriosus[J]. J Appl Clin Pediatrics, 2008, 23(23): 1809-1812