doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.16.003

胃癌血管靶向肽 GX1 修饰的人血清白蛋白用于胃癌近红外活体成像*

李 想!殷继鹏! 聂勇战! 吴开春! 王 钧2△

(1 第四军医大学西京消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032;

2 解放军第 451 医院消化科 陕西 西安 710061)

摘要目的:以肿瘤血管靶向肽 GX1 修饰的人血清白蛋白(HSA)作为吲哚菁绿(ICG)的载体,合成近红外荧光探针 GX1-HSA-ICG, 研究其作为近红外荧光探针在荷人胃癌裸鼠活体中的靶向成像能力。方法:以 HSA 作为 ICG 的载体,通过化学修饰与 GX1 共价 连接,合成 GX1-HSA-ICG 纳米颗粒探针;使用 SDS-PAGE 对探针合成进行鉴定;采用探针与脐静脉内皮细胞 HUVEC 以及与肿 瘤细胞共培养的脐静脉内皮细胞 Co-HUVEC 进行结合和竞争抑制试验,验证探针和 Co-HUVEC 细胞结合的特异性;利用小动物 活体成像系统对皮下荷胃癌小鼠进行近红外荧光活体成像,验证探针在体内的胃癌靶向性。结果:成功合成 GX1-HSA-ICG。细胞 结合与竞争抑制实验显示 GX1-HSA-ICG 可与 Co-HUVEC 细胞特异性结合;荷瘤小鼠活体成像也显示出 GX1-HSA-ICG 较 ICG 有更长体内的循环时间,并且胃癌组织局部较 HSA-ICG 有更强的聚集。结论:本研究成功合成了胃癌血管靶向肽 GX1 修饰的 HSA 为荧光染料载体的胃癌血管靶向探针,成功对荷胃癌裸鼠进行了活体成像。使用 HSA 为载体的探针较单纯使用 ICG 的肿瘤 局部滞留能力显著提高,GX1 增加了探针的胃癌靶向特异性。该探针在胃癌的早期诊断和抗肿瘤血管生成治疗评估中具有潜在 的应用价值。

关键词:GX1;分子影像;胃癌;近红外成像

中图分类号:R735.2;Q95-3 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2015)16-3010-04

Human Serum Albumin Modified by Gastric Cancer Targeted Peptide-GX1 for Gastric Cancer Near-Infrared Fluorescence Imaging in Vivo*

LI Xiang', YIN Ji-peng', NIE Yong-zhan', WU Kai-chun', WANG Jun²

(1 Xijing hospital of digestive diseases, State key laboratory of cancer biology, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 2 Department of Gastroenterology, No.451 Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710061, China)

ABSTRACT Objective: Here we synthesize a near-infrared fluorescence imaging probe GX1-HSA-ICG based on human serum albumin/indocyanine green functionalized with gastric cancer targeted specific peptide GX1 and evaluate its targeted specificity in vitro and in vivo. **Methods:** Indocyanine green (ICG) was conjugated to human serum albumin (HSA) by electrostatic and hydrophobic interactions, then GX1 was covalently bond to the HSA-ICG. GX1-HSA-ICG was characterized by SDS-PAGE and Coomassie brilliant blue staining. To evaluate the cancer target specificity and fluorescence imaging capability, GX1-HSA-ICG was incubated with HUVEC and Co-HUVEC cells in vitro and was injected via tail vein of gastric cancer xenograft mice in vivo. Fluorescence intensity was detected by IVIS system. **Results:** SDS-PAGE and Coomassie brilliant blue staining confirmed the successful synthesis of GX1-HSA-ICG. In vitro assays showed that GX1-HSA-ICG could specifically bind to Co-HUVEC cells and in vivo fluorescence imaging revealed that GX1-HSA-ICG and GX1-HSA-ICG could targeted specifically to Co-HUVEC in vitro. GX1-HSA-ICG showed a gastric tumor-targeting ability in vivo, and could play a potential role in the diagnosis of gastric cancer and evaluation of therapy response.

Key words: GX1 peptide; Molecular imaging; Gastric cancer; Near-Infrared fluorescence imaging Chinese Library Classification (CLC): R735.2; Q95-3 Document Code: A Article ID: 1673-6273(2015)16-3010-04

前言

胃癌患者的五年生存率与诊断时分期密切相关,在胃癌早

期做出明确诊断并进行手术切除的患者五年生存率可达到 96%^[1]。由于胃癌发病隐匿,早期患者往往无典型临床症状,多

^{*}基金项目:国家自然科学基金重大项目(81090270;81090273);国家 973 项目(2010CB529302) 作者简介:李想(1982-),男,硕士研究生,住院医师,主要研究方向:胃癌血管靶向分子影像,

电话:18607891315,E-mail:lixiang4cruyff@qq.com

[△]通讯作者:王钧,副教授,硕士生导师,E-mail: wangjundoctor@aliyun.com

⁽收稿日期:2015-01-10 接受日期:2015-01-30)

数患者在确诊时已经处于胃癌中晚期²¹。胃癌的确诊主要是通 过胃镜下活检结合组织学检查,但是胃镜检查的准确性往往依 赖于医生的专业水平以及取材部位的选择。另外,早期胃癌病 灶小而不明显,特别是平坦型胃癌,如果活检样本取材不当可 造成漏诊,给早期诊断带来一定的难度3。分子影像学是通过应 用影像学方法在细胞或分子水平对生理或病理过程中的关键 分子进行可视化的非侵入性活体成像方法¹⁴,应用于肿瘤的诊 断,可提高诊断的敏感性和特异性。近红外荧光光学分子成像, 具有成本低、良好的分辨率、较好的组织穿透性、易于操作、无 电离和辐射损害等优点¹³,在早期癌症诊断和治疗反应判断中 具有其独特的优势169,在胃肠道肿瘤的诊断中,发挥分子影像 技术与内镜技术相结合的优势达到更早期和准确的诊断目的 100。研究人员已经开发出多种近红外荧光分子探针,并且在荷 瘤裸鼠模型中成功的实施了针对肿瘤的在体活体成像,但是由 于毒性或者靶向性不强等原因,这些分子探针很少能被应用于 临床。因此,本研究使用我科前期研究所筛选出的具有人胃癌 血管内皮细胞靶向特异性的短肽 GX1 为基础,以 FDA 所批准 用于临床的两种试剂,人血清白蛋白 (human serum albumin, HSA)和近红外荧光染料吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)为原 料,设计并合成近红外荧光成像探针 GX1-HSA-ICG,通过体外 细胞实验以及荷胃癌裸鼠体内实验,观察探针的胃癌靶向特异 性。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要试剂与仪器 GX1 由上海吉尔公司合成;ICG、 EDC (N- (3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride)、sulfo-NHS (N-hydroxisulfosuccinimide) 购自美国 Sigma 公司;还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)购自国药公司; SDS-PAGE 凝胶试剂盒购自碧云天公司;凝胶电泳装置, Bio-Rad 公司,美国;体外和体内成像实验使用 IVIS 小动物活 体成像系统, Caliper Life Sciences 公司,美国。

1.1.2 **实验动物** 雌性 BALB/c 裸鼠 21 只, 体重 20-25 g,4-6 周龄,购自第四军医大学实验动物中心,于 SPF 清洁级环境使 用颗粒饲料喂养,符合动物实验质量标准。

1.1.3 细胞培养及试剂 人正常胃黏膜永生化细胞 GES 细胞、胃癌 SGC7901 细胞、人类脐静脉内皮细胞 HUVEC 细胞为本实验室保存; DMEM 培养基、1640RPMI 培养基:美国 Gibco 公司;胎牛血清购自四季青公司;链霉素 - 氯霉素溶液购自美国 Sigma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 GES、SGC7901 细胞使用含 10%胎牛血清 和1%链霉素 - 氯霉素的 RPMI1640 培养液培养;人类脐静脉 内皮细胞 HUVEC 使用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养液培 养,共培养的人类脐静脉内皮细胞(Co-HUVEC)使用 SGC7901 细胞培养后的上清液与 DMEM 培养液按照 1:4 的体积混合培 养。细胞均置于恒温细胞培养箱中在 37℃、5% CO₂ 环境下培 养,光学显微镜下密切观察细胞生长状态,当细胞生长至培养 瓶底面积约 80%时,使用 0.25%胰蛋白酶消化和传代。本实验 所使用细胞均为对数生长期细胞。 1.2.2 GX1-HSA-ICG 的化学合成 5 mg ICG 溶于 1 mL 去离 子水。71 mg HSA 溶于 4 mL 50 mmol·L⁻¹ pH=6 的 MES 缓冲 液,加入过量的 GSH(50 mmol·L⁻¹),室温下反应 30 min 后,加 入 ICG 水溶液,反应 4 h,室温,避光,600 r·min⁻¹ 振荡。将反应 溶液加入 10 kD COMW 透析膜中,使用 1 L 50 mmol·L⁻¹ pH=8 MES 缓冲液作为透析液,放于 4 ℃ 冰箱中,在磁力搅拌器上透 析 24 h,去除未与 HSA 结合的 ICG 以及 GSH,合成 HSA-ICG。 GX1 1 mg 溶于 5 mL 50 mmol·L⁻¹ pH=6 MES 缓冲液中,加入 1 mg EDC 和 1 mg sulfo-NHS,600 r·min⁻¹ 振荡,室温下避光反应 15 min。将混合溶液缓慢加入 HSA-ICG 溶液中,600 r·min⁻¹,室 温下避光反应 2 h。然后将混合溶液使用 10 kDa COMW 透析 膜进行透析,1 L pH=7.4 PBS 为透析液,避光,置于 4 ℃ 冰箱, 磁力搅拌器 150 r·min⁻¹搅拌 24 h。合成 GX1-HSA-ICG 溶液, -20 ℃冰箱保存。

1.2.3 十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳考马斯亮蓝染色 判断 GX1 与 HSA-ICG 的连接 使用 BCA 法测定 HSA-ICG 和 GX1-HSA-ICG 溶液中的蛋白质浓度,取等浓度的 样品与 5× loading buffer 以 4:1 的比例混合后,100 ℃沸水中加 热 5 min 变性后,用 10%SDS-PAGE 进行凝胶电泳,凝胶使用 考马斯亮蓝染色液染色 4 h,考马斯亮蓝脱色液脱色至背景透 明后,使用扫描仪扫描并保存图像。

1.2.4 体外竞争抑制实验 HUVEC 细胞和 Co-HUVEC 细胞 (5000 个 / 孔)铺种于 96 孔板,培养 24 h 后,弃去培养液,分别 加入 50 μ L 无血清 DMEM 培养液以及 50 μ L0.5 mg·mL⁻¹(分别 以 ICG 浓度计算)GX1-HSA-ICG 以及对照探针 ICG、 HSA-ICG,封闭组为同时加入GX1-HSA-ICG 和 1 mg GX1,每 组复孔数 n=4。共孵育 30 min 后弃去培养液,PBS 分别洗 3 遍, IVIS 成像系统成像 (成像参数设置为:excitation filter,745 nm; emission filter,ICG;exposure time,auto;binding,8;field of view,12.5; f/stop,2)。保存图像并使用 Living Image 软件提取 每个孔的 ROI 值进行统计学分析。

1.2.5 荷瘤裸鼠模型的建立和近红外荧光活体成像 取对数 生长期 SGC7901 细胞,使用 0.25%胰酶消化,离心后使用无菌 PBS 重悬,细胞计数后调整细胞浓度,使用1mL 注射器于裸鼠 (雌性 BALB/c 裸鼠),后肢背部进行皮下注射,每只裸鼠 5× 10⁶ 个细胞,体积为 200 µL。肿瘤生长 10 天后,直径约 0.8-1.0 cm 大小。分别通过尾静脉注射 100 µL GX1-HSA-ICG 探针和对照 探针 HSA-ICG, 竞争抑制组为在 GX1-HSA-ICG 中加入 1 mg 未标记的 GX1 和 GX1-HSA-ICG (ICG、HSA-ICG、 GX1-HSA-ICG 均按照 ICG 为 0.5 mg·mL⁻¹浓度计算)。于尾静 脉注射后第1、2、4、8、24、48小时,使用异氟烷对裸鼠进行气体 麻醉后,使用 IVIS 系统进行活体成像,成像系统参数设置为: excitation filter, 745 nm; emission filter, ICG; exposure time, auto; binding, 8; field of view, 12.5; f/stop, 2), 保存图像并使用 Living Image 软件提取肿瘤和肿瘤对侧同一部位 ROI 值进行统计 学分析。

1.3 统计学处理

各组所得计量资料结果使用均数±标准差(X±S)表示,采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,以 P<0.05 为差异有统计学

・3012・ 现代生物医学进展 www.shengwuyixue.com Progress in Modern Biomedicine Vol.15 NO.16 JUN.2015

意义。

2 结果

2.1 GX1-HSA-ICG 的合成鉴定

通过 SDS-PAGE 凝胶电泳和考马斯亮蓝染色可见 HSA-ICG和GX1-HSA-ICG分别为分子量在70左右的两个不 同条带,提示成功合成GX1-HSA-ICG。

2.2 体外细胞实验验证探针的靶向特异性

为了验证 GX1-HSA-ICG 在体外与 Co-HUVEC 细胞结合 的特异性和成像能力,将 HUVEC 和 Co-HUVEC 细胞分别与



Fig.1 Identification of the synthesis of GX1-HSA-ICG

2.3 荷胃癌裸鼠近红外活体成像

为验证 GX1-HSA-ICG 在胃癌荷瘤裸鼠活体中的成像能力,使用小动物活体系统进行近红外荧光成像。在第 24 小时开始,GX1-HSA-ICG 组肿瘤局部荧光信号较对照组明显增强(图 3A)。为排除正常组织中非特异性 GX1-HSA-ICG 荧光信号的影响,通过计算肿瘤(T,右后肢外侧)和正常组织(N,左后肢外侧,对应的 ROI 值)之比制作时间依赖的对比增强图(T/N)。可见 GX1-HSA-ICG 组肿瘤局部信号在 8 小时开始较 HSA-ICG、竞争抑制组有明显的差异,在 24 小时和 48 小时明显高于其他组,HSA-ICG 组与竞争抑制组无明显差异(图 3B)。

3 讨论

在肿瘤的发生发展的过程中,往往伴随着肿瘤血管内皮细胞膜受体的异常表达,而这些受体分子也成为了分子影像探针靶向肿瘤的位点。GX1 是本实验室前期使用随机噬菌体肽库体内筛选法,在活体内筛选出能与人胃癌血管内皮细胞特异性结合的环形九肽,氨基酸序列为 CGNSNPKSC,两个半胱氨酸(C1,C9)之间通过二硫键相连接,结构上形成环状。通过构建放射性核素 99TcmO4-标记的 GX1,尾静脉注射后,进行荷瘤裸

ICG、GX1-HSA-ICG、HSA-ICG 共孵育 30 分钟,封闭组为加入 未使用荧光染料标记的 GX1 和 GX1-HSA-ICG,ICG 组为阴性 对照(图 2A)。PBS 洗后使用 IVIS 成像系统进行成像,计算机对 感兴趣区域(ROI)进行荧光信号采集,提示:在 GX1-HSA-ICG 组 Co-HUVEC 细胞的平均辐射效率较 HUVEC 细胞显著增强 (8.83± 0.83 vs 1.51± 0.01, P<0.01),而在 ICG 组、HSA-ICG 组、 封闭组,Co-HUVEC 细胞的平均辐射效率与 HUVEC 组相比 (分别为:3.09± 1.09 vs 3.76± 1.21,1.54± 0.21 vs 1.78± 0.09,1.93± 0.27 vs 2.31± 0.36)均无统计学差异(图 2B)。



图 2 细胞实验验证 GX1-HSA-ICG 对共培养的人类脐静脉内皮细胞 靶向特异性

Fig.2 In vitro validation of GX1-HSA-ICG target specific for Co-HUVEC

鼠 ECT 显像,结果显示 99Tcm-GX1 具有良好的活体胃癌靶向 性,证实了 GX1 与胃癌组织特异性结合能力^[11]。免疫组织化学 染色结果证明呈现 GX1 短肽的噬菌体能与人胃癌血管特异性 结合;ELISA 结果显示呈现 GX1 短肽的噬菌体能特异性的与 人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 结合,而与 Hep-G2、LoVo、Eca109 及 SGC7901 等肿瘤细胞无特异结合。使用小分子的有机 近红外荧光染料 Cy5.5 以及新型对称性花菁染料 CyIC 对 GX1 进行标记,在荷脑胶质瘤裸鼠模型中分别成功进行了靶向肿瘤 的近红外荧光活体成像^[1213]。因此,GX1 可以作为分子影像探针 的靶向结构,携带荧光染料针对胃癌血管进行活体成像。

人血清白蛋白在体内具有维持人体胶体渗透压,通过包裹 毒性产物,以及以大分子复合物的方式,转运长链脂肪酸、胆红 素和类固醇等分子的功能^[14]。HSA 还可以与药物或者小分子化 合物结合,改变这些分子在体内的生物分布、生物活性和代谢 特性^[15,16]。此外,研究人员还利用 HSA 能携带小分子的特性,以 非共价的方法,通过 HSA 与 ICG 进行连接,用于体内的近红外 光学成像以及作为携带药物的载体^[17]。如在乳腺癌、宫颈癌等 手术中,局部注射 HSA-ICG 作为前哨淋巴结切除的实时导航, 进行更准确的肿瘤引流淋巴结切除^[18,19]。另外,使用靶向部分与



图 3 活体近红外荧光成像和竞争抑制实验 注:(A)尾静脉注射探针 24hr 后,使用 IVIS 成像系统对荷胃癌 SGC7901 细胞裸鼠进行近红外成像;(B)时间依赖的平均光辐射强度 的肿瘤 / 正常组织比值。

Fig.3 In vivo tumor optical imaging and competitive blocking studies Note:(A)NIRF imaging in SGC7901 xenograft mice in vivo after by IVIS system. (B) Average radiant efficiency ratio of tumor to normal tissue.

HSA-ICG 进行共价连接,可实现靶向肿瘤细胞的活体成像²⁰。 近红外荧光(波长 700-900 nm)成像具有活体自发荧光影 响少、组织对光散射较弱以及良好的组织穿透性的优势。因而, 在光学诊断中有着广泛的应用前景,如界定肿瘤的正常组织的 边缘¹⁸。但在目前的多种近红外荧光染料,只有吲哚菁绿(ICG) 被 FDA 所批准用于临床。由于 ICG 分子量小(775 Da),在血液 中很容易被代谢清除,通过静脉注射,血液中的半衰期仅为 150-180 秒^[2]。另外,由于 ICG 化学结构上没有易于被修饰的基 团,如巯基、羧基或者伯氨基,故为了增加其血液循环时间和水 溶性,可将 ICG 与 HSA 以进行非共价方式的连接,合成 HSA-ICG 纳米颗粒并用于各项研究,如在肿瘤局部注射、对前 哨淋巴结进行成像进行手术导航、对患者进行侵袭最小的手术 达到更准确的局限性前哨淋巴结切除[29]。然而,这些均为方法 为非特异性的方法。因此,为了增加探针的胃癌靶向特异性,本 研究通过化学连接的方式合成 GX1-HSA-ICG, 研究其在荷胃 癌裸鼠体内的生物学分布和近红外成像效果。体外细胞实验结 果显示 GX1-HSA-ICG 毒性与 ICG 无明显差异;竞争结合实验 结果显示,GX1-HSA-ICG能特异性与Co-HUVEC细胞结合, 并能够被未被标记的 GX1 所拮抗。体内活体成像结果提示 GX1-HSA-ICG 组的肿瘤组织 / 正常组织平均光辐射效率显著 高于 HSA-ICG 和封闭组;GX1-HSA-ICG 可在胃癌组织局部有 浓度较高的聚集。

综上所述,本研究结果表明使用胃癌血管特异性靶向肽与 载体蛋白结合,可携带近红外荧光染料 ICG,在活体对胃癌组 织进行特异性靶向成像。这种方法可为胃癌的早期诊断、抗血 管治疗疗效评估的临床应用提供新的方法和理论基础。

参考文献(References)

- Soetikno R, Kaltenbach T, Yeh R, et al. Endoscopic mucosal resection for early cancers of the upper gastrointestinal tract [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(20): 4490-4498
- [2] Hartgrink H H, Jansen E P, van Grieken N C, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2009, 374(9688): 477-490
- [3] Van Cutsem E, Dicato M, Geva R, et al. The diagnosis and management of gastric cancer: expert discussion and recommendations from the 12th ESMO/World Congress on Gastrointestinal Cancer, Barcelona, 2010 [J]. Ann Oncol, 2011, 22 (Suppl 5): v1-v9
- [4] Weissleder R, Pittet M J. Imaging in the era of molecular oncology[J]. Nature, 2008, 452(7187): 580-589
- [5] Zhang C, Liu T, Su Y, et al. A near-infrared fluorescent heptamethine indocyanine dye with preferential tumor accumulation for in vivo imaging[J]. Biomaterials, 2010, 31(25): 6612-6617
- [6] Luo S, Zhang E, Su Y, et al. A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging[J]. Biomaterials, 2011, 32(29): 7127-7138
- [7] Kosaka N, Ogawa M, Choyke P L, et al. Clinical implications of near-infrared fluorescence imaging in cancer [J]. Future Oncol, 2009, 5(9): 1501-1511
- [8] Yi X, Wang F, Qin W, et al. Near-infrared fluorescent probes in cancer imaging and therapy: an emerging field[J]. Int J Nanomedicine, 2014, 9: 1347-1365
- [9] Hilderbrand S A, Weissleder R. Near-infrared fluorescence: application to in vivo molecular imaging [J]. Curr Opin Chem Biol, 2010, 14(1): 71-79
- [10] Hoetker M S, Goetz M. Molecular imaging in endoscopy [J]. United European Gastroenterol J, 2013, 1(2): 84-92
- [11] Zhi M, Wu K C, Dong L, et al. Characterization of a specific phage-displayed Peptide binding to vasculature of human gastric cancer[J]. Cancer Biol Ther, 2004, 3(12): 1232-1235
- [12] Chen K, Yap L P, Park R, et al. A Cy5.5-labeled phage-displayed peptide probe for near-infrared fluorescence imaging of tumor vasculature in living mice[J]. Amino Acids, 2012, 42(4): 1329-1337
- [13] Xin J, Zhang X, Liang J, et al. In vivo gastric cancer targeting and imaging using novel symmetric cyanine dye-conjugated GX1 peptide probes[J]. Bioconjug Chem, 2013, 24(7): 1134-1143
- [14] Peters T J, Stewart A J. Albumin research in the 21st century [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1830(12): 5351-5353
- [15] Tesseromatis C, Alevizou A. The role of the protein-binding on the mode of drug action as well the interactions with other drugs[J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2008, 33(4): 225-230
- [16] Neumann E, Frei E, Funk D, et al. Native albumin for targeted drug delivery[J]. Expert Opin Drug Deliv, 2010, 7(8): 915-925
- [17] Elzoghby A O, Samy W M, Elgindy N A. Albumin-based nanoparticles as potential controlled release drug delivery systems[J]. J Control Release, 2012, 157(2): 168-182

(下转第 3027 页)

的靶分子,进而合成特异性结合于靶分子的诊断探针和靶向治 疗药物。目前的研究验证了 Survivin 和 MMP14 在胰腺癌组织 中的表达情况,为后续研究奠定了基础。

参考文献(References)

[1] 吕文超,崔云甫. 胰腺癌流行病学和病因学研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(27): 2805-2809

Lv Wen-chao, Cui Yun-fu. Advance in understanding the epidemiology and etiology of pancreatic cancer [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2011, 19(27): 2805-2809

- [2] Yamamoto Y, Hiraoka N, Goto N, et al. A targeting ligand enhances infectivity and cytotoxicity of an oncolytic adenovirus in human pancreatic cancer tissues[J]. J Control Release, 2014, 192: 284-293
- [3] Saif M W. Advanced stage pancreatic cancer: novel therapeutic options[J]. Expert Rev Clin Pharmacol, 2014, 7(4): 487-498
- [4] Hackert T, Buchler M W. Pancreatic cancer: advances in treatment, results and limitations[J]. Dig Dis, 2013, 31(1): 51-56
- [5] Altieri D C. Survivin and IAP proteins in cell-death mechanisms[J]. Biochem J, 2010, 430(2): 199-205
- [6] Pavlidou A. Association of survivin splice variants with prognosis and treatment of breast cancer [J]. World Journal of Clinical Oncology, 2014, 5(5): 883
- [7] Wang Y, Ma S, Wang W, et al. Inhibition of Survivin Reduces HIF-1α, TGF-β1 and TFE3 in Salivary Adenoid Cystic Carcinoma[J]. PLoS ONE, 2014, 9(12): e114051
- [8] 孙建建,李胜棉,赵松,等. Survivin 和 Caspase-3 在胰腺癌组织中的 表达及与预后的关系[J]. 肿瘤防治研究,2012, 39(01): 62-67 Sun Jian-jian, Li Sheng-mian, Zhao Song, et al. Expression and Prognostic Significance of Survivin and Caspase-3 in Pancreatic caricinoma [J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2012, 39(01): 62-67
- [9] 郭梅梅,刘江伟,贾福鑫,等. Survivin 和 COX-2 的表达及与胰腺癌预 后的关系[J]. 现代生物医学进展,2013, 13(19): 3632-3636 Guo Mei-mei, Liu Jiang-wei, Jia Fu-xin, et al. Expression of Survivin & COX-2 and Prognosis of Pancreatic Cancer Patients[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(19): 3632-3636
- [10] Necochea-Campion R D, Chen C, Mirshahidi S, et al. Clinico-

pathologic relevance of Survivin splice variant expression in cancer [J]. Cancer Lett, 2013, 339(2): 167-174

- [11] Nigam J, Chandra A, Kazmi H R, et al. Prognostic significance of survivin in resected gallbladder cancer[J]. J Surg Res, 2014 [Epub of ahead]
- [12] Soubani O, Ali A S, Logna F, et al. Re-expression of miR-200 by novel approaches regulates the expression of PTEN and MT1-MMP in pancreatic cancer[J]. Carcinogenesis, 2012, 33(8): 1563-1571
- [13] Jia L F, Wei S B, Mitchelson K, et al. miR-34a inhibits migration and invasion of tongue squamous cell carcinoma via targeting MMP9 and MMP14[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e108435
- [14] Ulasov I, Yi R, Guo D, et al. The emerging role of MMP14 in brain tumorigenesis and future therapeutics [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer, 2014, 1846(1): 113-120
- [15] Ulasov I, Thaci B, Sarvaiya P, et al. Inhibition of MMP14 potentiates the therapeutic effect of temozolomide and radiation in gliomas [J]. Cancer Med, 2013, 2(4): 457-467
- [16] Dangi-Garimella S, Strouch M J, Grippo P J, et al. Collagen regulation of let-7 in pancreatic cancer involves TGF- β1-mediated membrane type 1-matrix metalloproteinase expression [J]. Oncogene, 2010, 30(8): 1002-1008
- [17] Dangi-Garimella S, Krantz S B, Barron M R, et al. Three-Dimensional Collagen I Promotes Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer through MT1-MMP-Mediated Expression of HMGA2[J]. Cancer Res, 2011, 71(3): 1019-1028
- [18] Haage A, Nam D H, Ge X, et al. Matrix metalloproteinase-14 is a mechanically regulated activator of secreted MMPs and invasion[J]. Biochem Bioph Res Co, 2014, 450(1): 213-218
- [19] Carpi S, Fogli S, Giannetti A, et al. Theranostic Properties of a Survivin-Directed Molecular Beacon in Human Melanoma Cells[J]. PLoS ONE, 2014, 9(12): e114588
- [20] Kogo R, How C, Chaudary N, et al. The microRNA-218~Survivin axis regulates migration, invasion, and lymph node metastasis in cervical cancer[J]. Oncotarget, 2014 [Epub of ahead]
- [21] Singh N, Subramanian K, Kanwar R K, et al. Clinical aspects for survivin: a crucial molecule for targeting drug-resistant cancers [J]. Drug Discov Today, 2014, [Epub of ahead]

(上接第 3013 页)

- [18] Schaafsma B E, van der Vorst J R, Gaarenstroom K N, et al. Randomized comparison of near-infrared fluorescence lymphatic tracers for sentinel lymph node mapping of cervical cancer [J]. Gynecol Oncol, 2012, 127(1): 126-130
- [19] Mieog J S, Troyan S L, Hutteman M, et al. Toward optimization of imaging system and lymphatic tracer for near-infrared fluorescent sentinel lymph node mapping in breast cancer [J]. Ann Surg Oncol, 2011, 18(9): 2483-2491
- [20] Sheng Z, Hu D, Zheng M, et al. Smart human serum

albumin-indocyanine green nanoparticles generated by programmed assembly for dual-modal imaging-guided cancer synergistic phototherapy[J]. ACS Nano, 2014, 8(12): 12310-12322

- [21] Saxena V, Sadoqi M, Shao J. Polymeric nanoparticulate delivery system for Indocyanine green: biodistribution in healthy mice[J]. Int J Pharm, 2006, 308(1-2): 200-204
- [22] Kelder W, Nimura H, Takahashi N, et al. Sentinel node mapping with indocyanine green (ICG) and infrared ray detection in early gastric cancer: an accurate method that enables a limited lymphadenectomy [J]. Eur J Surg Oncol, 2010, 36(6): 552-558