

## Id-1 和 MMP-9 在结直肠癌中的表达及与临床病理因素的关系

武雪亮<sup>1</sup>,王立坤<sup>2</sup>,薛 军<sup>1\*</sup>,杨东东<sup>1</sup>,屈 明<sup>1</sup>,郭 飞<sup>1</sup>,杨瑞敏<sup>2</sup>,马鹏程<sup>3</sup>,刘 博<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>河北北方学院附属第一医院血管腺体外科,<sup>2</sup>超声医学科,<sup>3</sup>数理学院,<sup>4</sup>病理科,河北 张家口 075000)

**[摘要]** 目的:通过研究 DNA 结合分化抑制蛋白 1(inhibitors of DNA binding-1,Id-1)和基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9,MMP-9)在结直肠腺癌中,分析 Id-1 和 MMP-9 与结直肠腺癌进展的关系。方法:采用免疫组织化学法、RT-PCR 和 Western blot 检测 Id-1 和 MMP-9 在 50 例结直肠癌患者癌组织及 50 例正常组织中的表达情况,分析二者与各临床病理因素的相关性。结果:Id-1 和 MMP-9 在结直肠癌组织中的阳性表达率分别为 72.00%(36/50)和 78.00%(39/50),而在正常结直肠组织中的阳性表达率为 24.00%(12/50)和 22.00%(11/50),差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。Id-1 和 MMP-9 在癌组织中的表达呈正相关( $r=0.422$ , $P=0.002$ )。Id-1 和 MMP-9 的表达与结直肠腺癌的浸润深度、TNM 分期、肝转移、淋巴结转移和脉管浸润具有相关性( $P < 0.05$ ),而与患者的性别、年龄、肿瘤大小和分化程度无关( $P > 0.05$ )。RT-PCR 和 Western blot 检测结果与免疫组织化学检测结果基本一致。生存分析显示 Id-1 和 MMP-9 表达与结直肠癌患者预后关系密切,Id-1 和 MMP-9 高表达提示预后不良。结论:Id-1 和 MMP-9 在结直肠癌中高表达,其表达水平与结直肠腺癌的浸润、转移具有高度相关性,二者联合检测对判断结直肠癌的侵袭、转移及预后具有重要指导意义。

**[关键词]** 结直肠肿瘤;DNA 结合分化抑制蛋白 1;基质金属蛋白酶 9;免疫组织化学;逆转录聚合酶链反应;Western blot

**[中图分类号]** R735.35

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)09-1089-06

**doi:**10.7655/NYDXBNS20160913

## Expressions and clinicopathologic characteristics of Id-1 and MMP-9 in colorectal adenocarcinoma tissues

Wu Xueliang<sup>1</sup>,Wang Likun<sup>2</sup>,Xue Jun<sup>1\*</sup>,Yang Dongdong<sup>3</sup>,Qu Ming<sup>1</sup>,Guo Fei<sup>1</sup>,Yang Ruimin<sup>2</sup>,Ma Pengcheng<sup>3</sup>,Liu Bo<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>Department of Vascular Gland, <sup>2</sup>Department of Ultrasound,<sup>3</sup>Department of Mathematics,<sup>4</sup>Department of Pathology,the First Affiliated Hospital of Hebei North University,Zhangjiakou 075000,China)

**[Abstract]** **Objective:**To explore the expressions of inhibitors of DNA binding 1(Id-1)and matrix metalloproteinase-9(MMP-9)in human colorectal adenocarcinoma tissues and study their correlation with the progression of colorectal adenocarcinoma. **Methods:**The expressions of Id-1 and MMP-9 in 50 specimens of colorectal adenocarcinoma tissues and 50 specimens of normal colorectal tissues were detected by immunohistochemistry,reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR),and Western blotting assay. Correlations between the expressions and clinicopathological features were analyzed. **Results:**The positive rates of Id-1 and MMP-9 in colorectal adenocarcinoma tissues were 72.00% and 78.00%, respectively,while in normal colorectal tissues were 24.00% and 22.00%, respectively. The differences were significant (all  $P < 0.01$ ). Expression of Id-1 was positively related with expression of MMP-9 in colorectal adenocarcinoma tissues ( $r=0.469$ , $P=0.000$ ). Expression levels of Id-1 and MMP-9 were correlated with the depth of tumor invasion,TNM stage,lymph node metastasis,vessel invasion,and liver metastasis(all  $P < 0.05$ ),but not with age,gender,tumor size,and differentiation degrees (all  $P > 0.05$ ). The results of RT-PCR and Western blotting assay were consistent with those of immunohistochemistry. Cox multi-factor analysis showed that Id-1 and MMP-9 expressions were independent prognosis factors for colorectal adenocarcinoma. **Conclusion:**The expression levels of Id-1 and MMP-9 have a high correlation with the invasion and metastasis of colorectal adenocarcinoma,and joint detection of the above indicators to judge the invasion,metastasis and prognosis of

**[基金项目]** 河北省卫计委医学科学研究重点课题计划(20150058);河北省科技支撑计划项目(152777237);张家口市科技局指令性计划(1311055D)

\*通信作者(Corresponding author),E-mail:yfyxuejun@163.com

colorectal cancer has important guiding significance.

[Key words] colorectal neoplasms; inhibitors of DNA binding 1; matrix metalloproteinase-9; immunohistochemistry; RT-PCR; Western blot

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(09): 1089-1094]

尽管手术联合放化疗等综合性治疗在一定程度上提高了结直肠癌的手术切除率和术后5年生存率,但术后5年生存率仍徘徊在50%~60%<sup>[1-2]</sup>。复发和远处转移(直接浸润、淋巴结、血行转移等)是结直肠癌患者预后较差的重要原因。动物实验证实:DNA结合分化抑制蛋白1(inhibitors of DNA binding-1, Id-1)能诱导肿瘤血管生成,促进肿瘤的生长及侵袭,其表达缺失、沉默与乳腺癌、食管癌、胃癌、子宫内膜癌等多种恶性肿瘤的发生、进展及预后密切相关<sup>[3-6]</sup>。本研究通过对Id-1、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)行免疫组织化学染色,同时应用RT-PCR法和Western blot检测二种基因转录和蛋白水平的表达情况,探讨Id-1和MMP-9与结直肠癌临床病理因素的相关性,为探索结直肠癌浸润、转移机制及精准化治疗提供科学依据。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

收集2008年5月—2010年5月河北北方学院附属第一医院血管腺体外科手术切除的结直肠癌组织和正常组织50例,癌组织取自癌灶中心处,另取切缘(距肉眼可见癌组织>5 cm),经病理证实为正常肠组织。全部病例均为原发性肿瘤,且术前未行新辅助放化疗等针对性治疗。其中男:女为29:21,年龄33~71岁,中位年龄57岁。

免疫组织化学SP检测试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),兔抗人单克隆浓缩型Id-1抗体、鼠抗人MMP-9单克隆抗体(香港Abcam公司),兔抗人GAPDH多克隆抗体(Santa Crue公司,美国),DAB显色剂(北京TIANGEN公司);总RNA提取试剂、反转录试剂盒、SDS-PAGE标准指示剂、BCA蛋白定量试剂盒(Fementas公司,美国),RIPA试剂(Solarbio公司,美国);引物由大连TaKaRa生物工程公司合成。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 免疫组织化学染色

采用链霉素亲和生物素-过氧化物酶免疫组织化学方法(SP法),收集蜡块切片,厚度为4 μm。苏木精-伊红染色,病理诊断。切片经过80℃烤箱烤片

30 min,脱蜡、梯度酒精脱水,放入枸橼酸缓冲液中,置微波炉内(95℃ 15 min)行抗原修复;3% $H_2O_2$ 室温孵育20 min, PBS冲洗;正常山羊血清封闭,37℃ 10 min;加入兔抗人单克隆Id-1抗体(1:250)、鼠抗人MMP-9单克隆抗体(1:150),4℃冰箱孵育过夜;PBS冲洗,滴加试剂盒中生物素标记二抗,37℃孵育30 min;PBS冲洗,滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液,37℃孵育;PBS冲洗,DAB显色;自来水反复冲洗后,苏木素复染对比;常规脱水,二甲苯透明,干燥,封片。以PBS缓冲液代替一抗作阴性对照。Id-1和MMP-9阳性表达的判定:细胞浆中染有棕黄色、褐色颗粒,计算阳性细胞百分比评分,≤5%为0分,>5%~25%为1分,>25%~50%时为2分,>50%~75%时为3分,>75%时为4分;无着色0分,浅黄色1分,黄色2分,深黄色3分。两者相乘,0分为(-),1~4分为(+),5~8分为(++),9~12分为(+++),+~+++均视为阳性。

#### 1.2.2 RT-PCR法

提取并测定总RNA浓度,设计Id-1上游引物:5'-CTGAGGCACTGGCGAGGAGA-3',下游引物:5'-GAGAAGCACCAAACGTGACCAT-3';MMP-9上游引物:5'-TGGAGTCACTGTACACCCTC-3',下游引物:5'-CGGACATCCGCTAAACAGGT-3';GAPDH(内参)上游引物:5'-ACCCACTCCTCCACCTTGA-3',下游引物:5'-ACCACCCTGTTGCTGTAGCC-3'。反应体系:PCR Buffer×1, dNTP 0.2 mmol/L, cDNA模板 200 ng, Taq酶 1.25 μL, 随机引物浓度 0.4 mol/L, RNA酶抑制剂 1 μL, 反应总体积 25 μL。根据试剂盒说明书操作进行扩增:以1 μL DNA样本作为模板,以去离子水为阴性对照模板;扩增条件为95℃预变性2 min;95℃10 s, 64℃15 s, 72℃延伸45 s, 共35个循环;最后72℃再延伸10 min。应用相应软件进行密度定量测定。

#### 1.2.3 Western blot法

RIPA裂解液提取总蛋白并定量。取50 μg蛋白,置入5×缓冲液(4:1),100℃水浴,5 min×3次;SDS-PAGE电泳,后转至PVDF膜;取出膜,加5%脱脂奶粉;弃封闭液滴加特异性的一抗(Id-1 1:1 500稀释;MMP-9 1:150稀释;GAPDH 1:150稀释)4℃孵

育过夜;加 TBST 洗涤液,10 min×3 次;滴加特异性二抗(1:1 500)37℃孵育 1 h;再次加入 TBST 洗涤液,10 min×3 次;ECL 法检测条带,进行密度定量分析。

### 1.2.4 随访

对 50 例结直肠癌患者定期复查并随访,时间为 2008 年 10 月 1 日—2015 年 8 月 31 日,中位随访时间为 61 个月,无 1 例失访,其中 27 例生存,23 例死亡,随访期间有 21 例患者确诊复发转移。

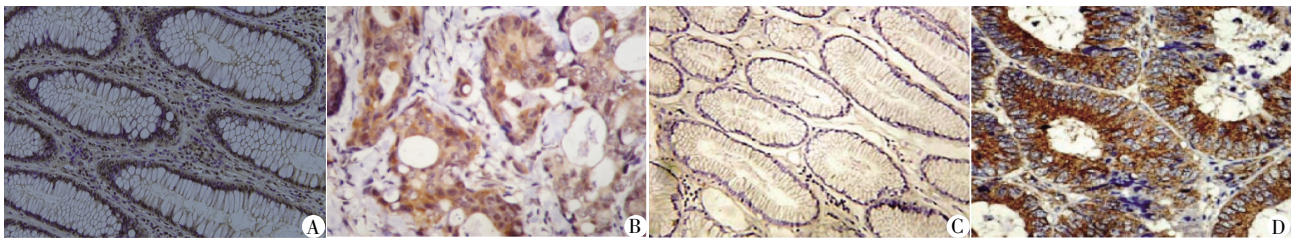
### 1.3 统计学方法

应用 SPSS17.0 统计软件分析,计数资料以百分率表示,采用  $\chi^2$  检验、Fisher 精确概率法,相关性分析采用 Spearman 检验。 $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 免疫组化检测 Id-1 和 MMP-9 在结直肠癌中的表达及相关性

Id-1 阳性表达定位于细胞质,Id-1 在结直肠癌组织中的阳性表达率为 72.00%(36/50),明显高于正常组织中的阳性表达率 24.00%(12/50),差异存在统计学意义( $\chi^2=23.431, P < 0.001$ );MMP-9 阳性表达定位于细胞质,MMP-9 在结直肠癌组织中的阳性表达率为 78.00%(39/50),明显高于正常组织中的阳性表达率 22.00%(11/50),差异存在统计学意义( $\chi^2=29.961, P < 0.001$ ,图 1),Id-1 和 MMP-9 表达呈明显正相关( $r=0.422, P=0.002$ ,表 1)。



A:结直肠正常组织中 Id-1 的表达;B:结直肠癌组织中 Id-1 的表达;C:结直肠正常组织中 MMP-9 的表达;D:结直肠癌组织中 MMP-9 的表达。

图 1 免疫组织化学法检测结直肠癌组织及正常组织中 Id-1 和 MMP-9 的表达(SP,×400)

Figure 1 Expression of Id-1 and MMP-9 protein in colorectal adenocarcinoma and normal tissues detected by immunohistochemistry (SP, ×400)

### 2.2 Id-1 和 MMP-9 的表达水平与临床病理参数间的关系

Id-1、MMP-9 的表达水平均与肿瘤浆膜浸润、TNM 分期、淋巴结转移、肝转移及脉管浸润相关( $P$ 均  $< 0.01$ ,表 2)。

### 2.3 RT-PCR 检测 Id-1 mRNA 及 MMP-9 mRNA 在结直肠癌中的表达

以 GAPDH 作内参照,以 Id-1/GAPDH 和 MMP-9/GAPDH 值来定量,结果显示,癌组织中 Id-1 mRNA 的表达水平( $0.96 \pm 0.03$ )明显高于结直肠正常肠黏膜组织( $0.20 \pm 0.04$ ),差异有统计学意义( $t=2.332, P=0.011$ ),MMP-9 mRNA 的表达水平( $0.88 \pm 0.04$ )明显高于结直肠正常肠黏膜组织( $0.21 \pm 0.03$ ),差异有统计学意义( $t=2.251, P=0.013$ ,图 2)。

表 1 Id-1 和 MMP-9 表达在结直肠癌组织中的相关性  
Table 1 Correlation of Id-1 and MMP-9 expression in colorectal adenocarcinoma tissues (n)

Id-1	MMP-9		总计
	阳性	阴性	
阳性	32	4	36
阴性	7	7	14
总计	39	11	50

$r=0.422, P=0.002$ 。

### 2.4 Western blot 检测 Id-1 及 MMP-9 在结直肠癌中的表达

以 Id-1/GAPDH 比值做蛋白定量检测,Id-1 蛋白在结直肠癌组织中的表达水平( $0.82 \pm 0.04$ )亦较结直肠正常肠黏膜组织( $0.31 \pm 0.02$ )高,差异有统计学意义( $t=2.082, P=0.020$ );MMP-9 蛋白在结直肠癌组织中的表达水平( $0.86 \pm 0.05$ )亦较结直肠正常肠黏膜组织 ( $0.29 \pm 0.03$ )高,差异有统计学意义( $t=2.853, P=0.003$ ,图 3)。

### 2.5 生存分析及结直肠癌的独立预后因素分析

单因素生存分析显示:Id-1 表达水平 (HR=2.650,  $P=0.009$ )、MMP-9 表达水平(HR=4.459,  $P=0.006$ );Cox 回归模型多因素分析显示,Id-1 表达水平(HR=1.193,  $P=0.002$ )、MMP-9 表达水平 (HR=2.215,  $P=0.001$ )、浆膜浸润 (HR=1.431,  $P < 0.001$ )、肝转移 (HR=2.018,  $P=0.038$ )、淋巴结转移 (HR=1.856,  $P=0.015$ )、TNM 分期 (HR=1.174,  $P < 0.001$ )和脉管浸润 (HR=1.310,  $P < 0.001$ )均是影响结直肠癌患者预后的独立因素(表 3)。Kaplan-Meier 法绘制曲线提示 Id-1 表达阳性的结直肠癌患者生存时间明显降低,MMP-9 表达阳性的结直肠癌患者生存时间亦明显降低(图 4)。

表2 Id-1和MMP-9在结直肠癌组织中的表达与临床病理因素的关系

Table 2 Relationship between clinical pathological factors and expression of Id-1 and MMP-9 in colorectal cancer tissues

病理参数	n	Id-1			MMP-9		
		阳性率[n(%)]	$\chi^2$ 值	P值	阳性率[n(%)]	$\chi^2$ 值	P值
性别			0.169	0.681		0.305	0.581
男	32	23(71.88)			25(78.13)		
女	18	13(72.22)			14(77.78)		
年龄			0.455	0.422		0.352	0.533
≥60岁	34	25(73.52)			26(76.47)		
≤60岁	16	11(68.75)			13(81.25)		
肿瘤大小			0.411	0.520		0.299	0.591
≥5 cm	31	22(70.97)			24(77.42)		
<5 cm	19	14(73.68)			15(78.95)		
浆膜浸润			6.231	0.012		8.069	0.005
有	39	30(76.92)			33(84.62)		
无	11	6(54.55)			6(54.55)		
分化程度			0.423	0.518		0.274	0.601
高	12	9(75.00)			9(75.00)		
中	21	15(71.43)			16(76.19)		
低	17	12(70.59)			14(82.35)		
TNM分期			12.556	<0.001		14.282	<0.001
I+II	13	7(53.84)			6(46.15)		
III+IV	37	29(78.38)			33(89.19)		
淋巴结转移			10.052	0.002		7.258	0.007
有	29	27(93.10)			27(93.10)		
无	21	9(42.86)			12(57.14)		
肝转移			17.214	<0.001		14.270	<0.001
有	15	15(100.0)			15(100.0)		
无	35	21(60.00)			24(68.57)		
脉管浸润			11.388	<0.001		12.755	<0.001
有	16	15(93.75)			16(100.0)		
无	34	21(61.76)			23(67.65)		

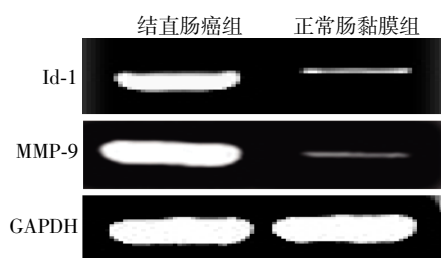


图2 RT-PCR检测结直肠癌及正常肠黏膜组织Id-1、MMP-9 mRNA的表达

Figure 2 Expression of Id-1 and MMP-9 mRNA in colorectal adenocarcinoma and normal tissues detected by RT-PCR

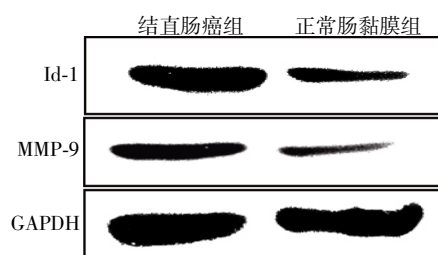


图3 Western blot检测结直肠癌及正常肠黏膜组织Id-1、MMP-9蛋白的表达

Figure 3 Expression of Id-1 and MMP-9 protein in colorectal adenocarcinoma and normal tissues detected by Western blot

### 3 讨论

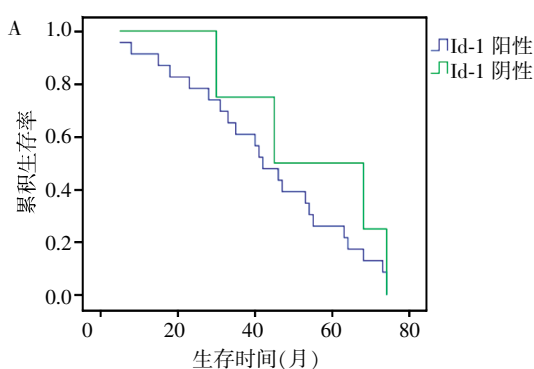
Id-1系螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix, HLH)转录因子家族重要成员,其在正常组织中呈不表达或低表达状态,而在恶性肿瘤及体外培养的肿瘤细胞系中均呈高表达趋势<sup>[8-9]</sup>。大多数HLH结构存在一

个碱性HLH(bHLH)因子与其紧密相邻,二者相互结合形成异质二聚体,其碱性区与目标DNA结合,诱导启动子中的E-盒样结构的靶基因转录并整合成所谓的“E-box”DNA序列,从而调控细胞增殖分化。而Id-1无碱性结构域,与bHLH因子结合生成的二聚体无转录功能,因而无法与目标DNA序列

表 3 结直肠癌患者 Cox 回归分析多因素分析

Table 3 Cox regression analysis of multiple factors analysis in patients with colorectal adenocarcinoma

项目	回归系数	标准差	HR 值	P 值
浆膜浸润	0.358 5	0.726	1.431	<0.001
TNM 分期	0.160 3	0.665	1.174	<0.001
淋巴结转移	0.038 9	0.153	1.856	0.015
肝转移	0.701 9	0.585	2.018	0.038
脉管浸润	0.270 3	0.791	1.310	<0.001
Id-1 表达水平	0.472 0	0.629	1.193	0.002
MMP-9 表达水平	0.795 3	0.621	2.215	0.001



结合<sup>[10-11]</sup>。Id-1 通过多种途径促进细胞增殖侵袭。Id-1 通过与 E2A 结合形成特异性复合物抑制 E2A 活化 P21, 激活 CDK2 诱导 Rb 蛋白磷酸化, 而 Rb 蛋白的磷酸化在肿瘤增殖中发挥重要作用, 能抑制细胞分裂周期中 G1/S 停滞, 促使细胞分裂周期顺利进行<sup>[12]</sup>。Cheung 等<sup>[13]</sup>研究报道 Id-1 表达上调能激活 Raf-1 及 MAPK 激酶信号转导途径, 抑制细胞凋亡, 参与肿瘤发生发展。

MMP-9 是 MMPs 家族分子量最大的基质金属蛋白酶, 主要由中细粒细胞和巨噬细胞分泌, 能有

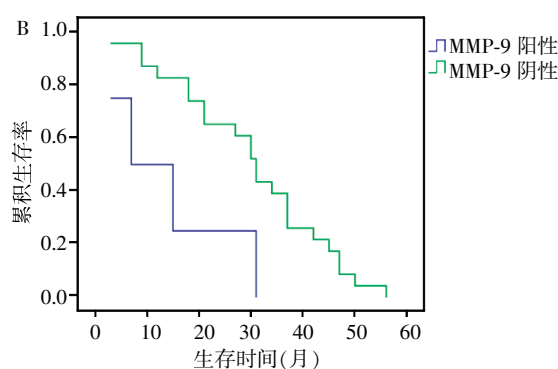


图 4 结直肠癌患者 Id-1(A)、MMP-9(B)表达与生存期的相关性

Figure 4 Correlation between survival and expression of Id-1(A) and MMP-9(B) in patients with colorectal adenocarcinoma

效降解、破坏肿瘤细胞表面的基底膜和细胞外基质, 使肿瘤细胞穿过缺失的基底膜向周围组织侵袭, 最终导致肿瘤浸润和转移<sup>[14]</sup>。此外, MMP-9 通过降解血管基底膜及细胞外基质, 还能促进血管内皮细胞自基底膜的释放和迁移, 促进微血管的形成, 并为肿瘤的生长和浸润提供必要的空间和营养基础<sup>[15]</sup>。大量研究表明 MMP-9 在多种恶性肿瘤组织和肿瘤细胞系中均呈高表达状态, 体外侵袭实验也证实肿瘤细胞的高侵袭转移能力与 MMP-9 的过表达密切相关<sup>[16-17]</sup>。

本研究结果显示, Id-1 和 MMP-9 在结直肠癌组织中的阳性表达远高于结直肠正常组织, 且两者在癌组织中的表达水平呈明显正相关, 这与胡斌等<sup>[18]</sup>研究结果一致。Id-1 和 MMP-9 的表达与结直肠癌的浸润程度、TNM 分期、肝转移、淋巴结转移和脉管浸润等均具有相关性, 且 Id-1 和 MMP-9 表达阳性的患者预后较差。此外, RT-PCR 和 Western blot 检测结果显示, Id-1 mRNA 和蛋白表达水平与 MMP-9 mRNA 和蛋白表达水平呈相同趋势, 与免疫组织化学检测结果基本一致。表明 Id-1 和 MMP-9 在结直肠癌中呈高表达, 其表达水平与结直肠癌的发生、侵袭、浸润、转移、预后均具有高度相关性, 且二

者在致肠黏膜癌变中具有协同作用。研究证实将 PD98059 导入转移的乳腺癌细胞中抑制 Id-1 的表达, 发现 MMP-9 和 MT1-MMP 表达水平均随之下降, 肿瘤细胞的侵袭能力亦明显降低<sup>[19]</sup>; 此外, 在前列腺癌细胞系的研究中也发现 Id-1 能调节 MMP-9 的表达, 考虑上调的 Id-1 通过诱导血管内皮生长因子的转录上调 VEGF 的表达, 并激活 MMP-9 的分泌, 从而促进肿瘤微血管生成和转移, 但具体机制还需进一步探讨。

总之, Id-1 的异常表达参与结直肠癌的演进, 其诱导 MMP-9 的过表达可能是促进其浸润、转移的重要途径之一, 对二者作用机制的深入探讨将有望为结直肠癌精准化治疗提供科学依据。

[参考文献]

[1] 沈琳. 精准医疗快速发展时期结直肠癌治疗沉淀与突破[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2016, 36(3): 261-263  
[2] 代珍, 郑荣寿, 邹小农, 等. 中国结直肠癌发病趋势分析和预测[J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(7): 598-603  
[3] Kubelac MP, Fetica B, Vlad IC, et al. The role of inhibitor of DNA-binding 1 (ID-1) protein and angiogenesis in serous ovarian cancer [J]. Anticancer Res, 2014, 34(1): 413-416

- [4] 朱博,宋超,王萍. ID1蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义[J]. 上海交通大学学报(医学版),2013,33(3):298-302
- [5] Ma HY, Ye W, Leng YM, et al. TGF- $\beta$ 1-induced expression of Id-1 is associated with tumor progression in gastric cancer[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(7): 10-19
- [6] Georgiadou D, Sergentanis TN, Sakellariou S, et al. VEGF and Id-1 in pancreatic adenocarcinoma: Prognostic significance and impact on angiogenesis[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2014, 40(10): 1331-1337
- [7] Zhuang Z, Jlan P, Loncjian L, et al. Altered phenotype of lymphatic endothelial cells induced by highly metastatic OTSCC cells contributed to the lymphatic metastasis of OTSCC cells[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(3): 686-692
- [8] Ma H, Wei Y, Leng Y, et al. TGF- $\beta$ 1-induced expression of Id-1 is associated with tumor progression in gastric cancer[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(7): 19
- [9] Zhao J, Wang S, Liu N, et al. Correlation between the expression of Id-1 and hyperthermia-associated molecules in oral squamous cell carcinoma [J]. *J Clin Pathol*, 2013, 66(9): 758-763
- [10] 马莉娟,何金彩,柴泽英. 细胞分化抑制因子-1与细胞增殖核抗原 Ki-67 在宫颈癌中的表达及相关性研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(8): 627-630
- [11] 刘旭剑,王小玲,冯建刚,等. Id-1, VEGF 及微血管密度与脊柱转移瘤术中出血量及肿瘤来源间的关系[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2012, 22(8): 678-681
- [12] Li W, Zhang CH, Hong YL, et al. Inhibitor of DNA-binding-1/inhibitor of differentiation-1 (ID-1) is implicated in various aspects of gastric cancer cell biology[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(3): 3009-3015
- [13] Cheung HW, Ling MT, Tsan SW, et al. Id-1-induced Raf/MEK pathway activation is essential for its protective role against taxol-induced apoptosis in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(6): 881-887
- [14] Dragutinovi VV, Radonji NV, Petronijevi ND, et al. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and -9 (MMP-9) in preoperative serum as independent prognostic markers in patients with colorectal cancer [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 355(1/2): 173-178
- [15] Lee SJ, Kim WJ, Moon SK. Role of the p38 MAPK signaling pathway in mediating interleukin-28A-induced migration of UMUC-3 cells [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30(4): 945-952
- [16] 王常田,程晓峰,张雷,等. 多西环素对大鼠体外循环后肺内酰孕孕酮和栽陨酰孕活性和基因表达的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2014, 34(1): 27-31
- [17] Tseng CN, Huang CF, Cho CL, et al. Brefeldin A effectively inhibits cancer stem cell-like properties and MMP-9 activity in human colorectal cancer Colo 205 cells[J]. *Molecules*, 2013, 18(9): 10242-10253
- [18] 胡斌,陈子华,陈志康,等. Id-1 和 MMP-9 在人大肠癌组织中的表达及相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(17): 2630-2633
- [19] 郭斌,张成梅,刘少华. Id-1 在恶性肿瘤发生中的作用及其机制[J]. 生命科学, 2010, 22(5): 401-404

[收稿日期] 2015-11-16