

王洁,赵宁宁,张彩勤,等. 基于临床肿瘤标本的胃癌转移模型建立[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(1): 7-12.

Wang J, Zhao NN, Zang CQ, et al. Establishment of a nude mouse model of gastric cancer metastasis model derived from clinical tumor specimens [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(1): 7-12.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.01.002

基于临床肿瘤标本的胃癌转移模型建立

王洁^{1,2}, 赵宁宁², 张彩勤², 赵勇², 谭邓旭², 吴朋朋², 赵菊梅¹, 师长宏^{2*}

(1. 延安大学医学院,延安 716000; 2. 空军军医大学实验动物中心,西安 710032)

【摘要】 目的 建立基于临床肿瘤标本的胃癌转移模型,为胃癌的转移研究提供个体化动物模型。**方法** 将胃癌新鲜的手术标本移植到裸鼠皮下,建立胃癌患者异种移植(patient-derived xenograft,PDX)模型。进一步通过手术将皮下瘤组织原位移植到裸鼠胃部肌层,连续观察裸鼠的体征状态,通过近红外荧光活体成像技术检测肿瘤转移的发生。解剖荷瘤小鼠,将肺部转移灶进一步移植裸鼠皮下获得实体瘤。HE染色观察原发瘤与转移瘤的结构特征,(short tandem repeat)STR分析原发瘤和转移瘤的遗传特性。PCR-Array分析转移瘤和原发瘤中转移相关基因的表达。**结果** 成功建立胃癌PDX模型,移植瘤组织结构与患者保持基本一致;通过胃部原位移植发现编号C19751的小鼠发生肺和肝的转移。其中肺转移灶皮下移植后获得了实体瘤,STR分析显示原发瘤保持了与肺转移瘤一致的遗传特征。PCR-Array结果显示,与原发瘤相比,转移瘤中CXCL12,IGF1和MMP2基因表达均显著上调。**结论** 利用临床肿瘤标本成功建立胃癌转移模型,为胃癌转移研究提供了良好的个体化模型。

【关键词】 胃癌;PDX模型;近红外荧光;活体成像;实时定量PCR;裸鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 01-0007-06

Establishment of a nude mouse model of gastric cancer metastasis derived from clinical tumor specimens

WANG Jie^{1,2}, ZHAO Ningning², ZHANG Caiqin², ZHAO Yong², TAN Dengxu², WU Pengpeng², ZHAO Jumei¹, SHI Changhong^{2*}

(1. Medical College of Yan'an University, Yan'an 716000, China. 2. Laboratory Animal Center, the Air Force Medical University, Xi'an 710032)

Corresponding author: SHI Changhong. E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To establish a mouse model of gastric cancer metastasis derived from clinical tumor specimens, and to provide individualized animal models for the metastasis of gastric cancer. **Methods** A patient-derived xenograft (PDX) model was established by subcutaneous transplantation of fresh clinical gastric cancer specimens into nude mice. Then, the tumor tissue from the PDX model was transplanted into the muscle layer of mouse stomach. The physical status of these nude mice was observed continuously. The occurrence of tumor metastasis was detected by near-infrared fluorescence(NIRF) optical imaging *in vivo*. After dissecting the tumor-bearing mice, lung metastatic lesions were further subcutaneously transplanted into nude mice to obtain tumors. The histopathological structures of the primary and metastatic tumors were observed by HE staining, and the genetic characteristics were analyzed using STR tests. Furthermore, the expression of metastasis-related genes was detected by PCR-Array analysis. **Results** A PDX model of gastric cancer is successfully established, and the histopathological characteristics of tumors in the nude mice were basically consistent with those of the patients. Metastatic lesions in the lung and liver were found in the mouse No.C19751 following orthotopic gastric

【基金项目】国家自然科学基金(31572340,31772546);军队实验动物专项课题(SYDW2016-006)。
Funded by National Natural Science Foundation of China (315723240, 31772546), and Military Laboratory Animal Foundation(SYDW2016-006).
【作者简介】王洁(1994—),硕士生,研究方向:肿瘤病理。Email: 1321175638@qq.com
【通信作者】师长宏(1973—),教授,硕士生导师。Email: changhong@fmmu.edu.cn

transplantation. Apparent tumors were formed after subcutaneous transplantation of lung metastatic lesions, and STR analysis showed that the primary tumors well maintained the genetic characteristics of the lung metastatic tumors. The PCR-Array result demonstrated that the expressions of CXCL12, IGF1 and MMP2 in metastatic tumors were significantly upregulated compared with that in the primary tumors. **Conclusions** A PDX metastasis model of gastric cancer is successfully established in nude mice by xenografting clinical tumor specimens, providing an appropriate individualized metastasis model for research on gastric cancer.

【Keywords】 gastric cancer; patient-derived xenograft (PDX) model; near infrared fluorescence (NIRF); optical imaging; real-time PCR; nude mouse

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

胃癌是我国常见的恶性肿瘤,多数患者就诊时已达到进展期,甚至出现远处转移,从而给胃癌的根治性治疗带来困难^[1]。因此,胃癌的侵袭和转移机制已成为胃癌防治研究的关键环节。成功建立真实模拟人胃癌组织细胞侵袭和转移生物学行为和特征动物模型已成为胃癌研究的重要前提。将人体新鲜的肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠体内建立的胃癌患者异种移植(patient-derived tumor xenograft, PDX)模型,较好的保持了原发瘤的异质性^[2],但该类模型主要移植于裸鼠皮下,很难发生与临床相近的转移特征^[3]。将肿瘤移植到与人体原发部位相应的动物器官形成的原位移植可获得与原发瘤相似的微环境,促进原发肿瘤的基因和生物学特性的表达,模拟胃癌体内演进过程^[4-5],从而可能形成个体化的转移模型。因此,本研究拟通过将胃癌 PDX 模型的瘤组织原位移植,期望筛选获得相应的转移模型,从而为胃癌的转移研究提供良好的动物模型。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性 BALB/c 裸鼠 10 只,6 ~ 7 周龄,体重 22 ~ 25 g,购自北京维通利华【SCXK(京)2016-0011】,饲养在空军军医大学实验动物中心屏障设施内【SYXK(陕)2014-001】。环境温度 23 ~ 25℃,相对湿度 40% ~ 60%,12 h 昼夜交替,饲料经辐照处理,饮用水经高压灭菌处理,动物自由摄食和饮水。

1.1.2 临床材料

临床胃癌标本来自第四军医大学西京医院消化病医院,肿瘤标本的取得经过患者本人及家属同意,并签署知情同意书,相应实验通过西京医院医学伦理委员会的批准,批准编号:2015432。动物实验通过了第四军医大学实验动物福利及伦理委员会批准(14013)。

1.1.3 实验试剂

组织基因组 DNA 提取试剂盒由北京天根生化科技有限公司提供。肿瘤移植所用基质胶(Matrigel Matrix)由美国 BD 公司生产。胎牛血清购自浙江天杭生物科技股份有限公司,苏木精和伊红染色液购自北京 Leagene 生物技术有限公司。七甲川花菁近红外荧光(near-infrared fluorescence, NIRF)染料 MHI-148 由美国 Cedars-Sinai Medical Center, Leland Chung 教授提供^[6],异氟烷麻醉剂购自深圳市瑞沃德生命科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 皮下移植建立 PDX 模型

将临床获得新鲜的胃癌手术标本剪碎为 3 mm³,混合适量的基质胶,利用穿刺针移植到裸鼠背部皮下,成瘤后当体积生长至 800 mm³ ~ 1000 mm³ 时(命名为 P1 代),异氟烷麻醉小鼠,手术获取肿瘤组织在另一只裸鼠皮下进行传代,命名为 P2 代,以此类推。每代冻存肿瘤组织(冻存液成分为:10% DMSO + 90%胎牛血清)。取 P3 代瘤组织,部分移植裸鼠皮下,连续测量肿瘤体积,肿瘤长度(l)和宽度(w),肿瘤体积(V),公式为: $V = 1/2 \times (w^2 \times l)$,绘制肿瘤生长曲线^[7];部分肿瘤组织,4%多聚甲醛固定,石蜡包埋切片,进行 HE 染色,光学显微镜下观察。

1.2.2 肿瘤组织溯源性检测

利用组织基因组 DNA 提取试剂盒按照说明书提取 P1 代肿瘤组织的 DNA,将提取的 DNA 通过 BioTek 公司的微孔板酶标仪检测 DNA 含量。将 10 ng/ μ L 含量的 DNA 送至西京医院医学鉴定中心进行 STR 检测。

1.2.3 原位移植模型的制备

实验前裸鼠禁食 6 h,异氟烷麻醉裸鼠,腹部碘伏消毒,手术切开并暴露胃,进一步切开胃部肌层,将 P1 代肿瘤组织 1 mm³ 包埋于肌层,手术缝合并关腹。持续观察小鼠的体征状态。

1.2.4 活体成像检测转移的发生

移植一月后,编号为 C19751 的小鼠出现明显消瘦症状,NIRF 染料 MHI-148 腹腔注射小鼠,剂量为每只 10 nmol,24 h 后使用 Caliper Lumina II 小动物光学成像系统测定小鼠肿瘤部位 NIRF 强度 ROI (regions of interest, ROI)^[8]。

1.2.5 转移瘤的分析

待小鼠持续消瘦,施于安死术,立即解剖,观察各个脏器的转移的情况,取部分转移灶 4%多聚甲醛固定,石蜡包埋切片,进行 HE 染色,光学显微镜下观察;部分转移灶移植裸鼠皮下,动态测量肿瘤体积的变化,待体积生长至 800 mm³~1000 mm³ 时,取部分组织进行 STR 基因分型检测。

1.2.6 PCR-Array 分析

Trizol 法提取原发瘤和转移瘤组织样品中的 RNA,随后用 RNeasy® MinElute™ 纯化试剂盒 (Qiagen)对提取的 RNA 进行纯化,使用 NanoDrop® ND-1000 测定 RNA 浓度和纯度后,按 SuperScript. III Reverse Transcriptase (Invitrogen) 说明书进行 cDNA 合成,用 RT² Profiler™ PCR Array Human Tumor Metastasis 试剂盒 (Qiagen, PAHS-028Z) 进行实时定量 PCR (Real-Time PCR) 分析^[9]。实验过程和结果分析均由上海康成生物工程有限公司完成。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件对数据进行分析,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,部分计量资料以 median 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。

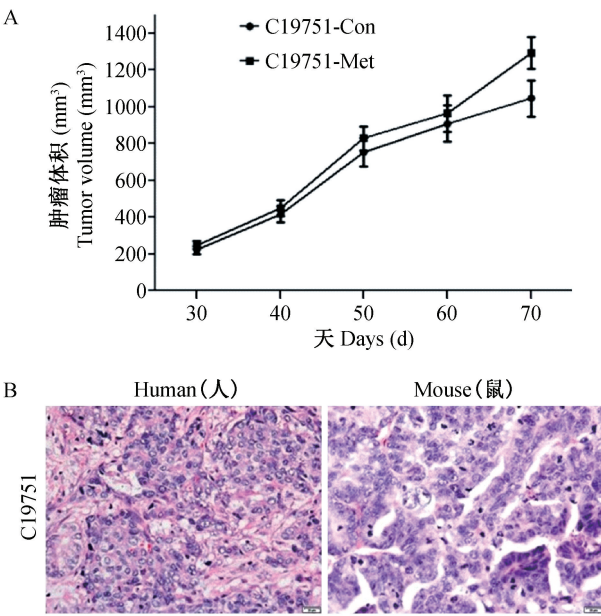
2 结果

2.1 胃癌 PDX 模型的生长特征及组织形态学观察

根据 PDX 模型肿瘤生长情况,连续测定肿瘤体积,绘制标本 C19751 移植瘤的生长曲线,记为 C19751-Con。进一步将肺部和肝转移灶皮下移植裸鼠,结果仅有肺部转移灶形成明显的实体瘤,肝部没有形成实体瘤,同时绘制肺转移瘤皮下生长曲线,记为 C19751-Met。结果见图 1A。生长曲线显示肿瘤呈现指数生长趋势,符合肿瘤生长的特点。且转移瘤与原发瘤相比,没有显著差异。瘤组织 HE 染色后,结果见图 1B,肿瘤组织腺体生长丰富,肿瘤细胞处于增殖旺盛阶段,符合胃腺癌的特征,小鼠移植瘤与原发瘤基本保持相同的形态结构。

2.2 肿瘤组织溯源性 STR 检测

STR (short tandem repeat) 检测所选取的 16 个



注:A. C19751 (原发瘤/转移瘤)生长曲线 (Con 为原发瘤, Met 为肺转移瘤); B. 组织学特征。(标尺=20 μm)

图 1 PDX 模型的生长曲线及组织结构 (H&E 染色, ×400)
Note. A. Growth curves for the C19751 mouse (Con is primary tumor, Met is metastatic tumor). B. Histologic characteristics (bar = 20 μm).

Figure 1 Growth curves and histologic characteristics of the PDX models (H&E staining, ×400)

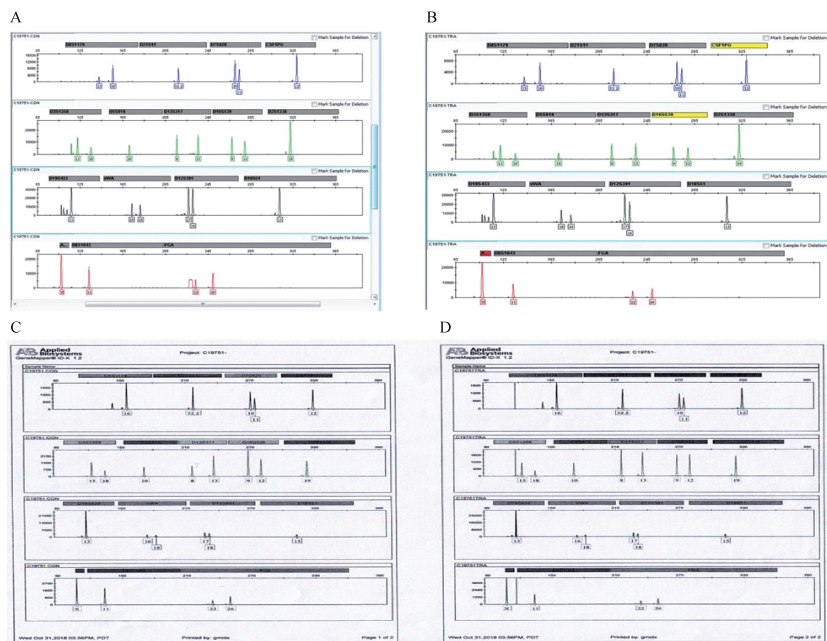
位点具有种属特异性,是从人类的 23 对染色体中所挑选的等位基因,多态性程度高。STR 由 2 ~ 6 个碱基构成一个核心序列,核心序列串联重复排列,序列和重复次数决定多态性^[10]。检测结果表明,从人类染色体上选取的 16 个位点均检测到信号,原始患者组织、小鼠皮下移植瘤、小鼠胃癌原位移植组织及小鼠肺转移瘤同源性为 99.99% (图 2)。

2.3 转移模型的特征

将 3 例临床胃癌手术标本采用裸鼠皮下移植的方法成功建立了 PDX 模型,进一步原位移植一个月后,C19751 模型组显著消瘦,注射肿瘤靶向性 NIRF 染料,活体成像结果显示 MHI-148 染料特异性集聚在肿瘤部位;并同时在胃部、肝部和肺部出现荧光信号 (图 3A)。解剖小鼠后,肉眼可看到部分小鼠在肝部有肿瘤病灶、部分小鼠在肺脏有肿瘤病灶 (图 3B 和 3C),进一步固定组织进行 HE 染色,观察到肺和肝组织中出现明显的肿瘤侵入形态结构 (图 4)。进一步将肺部转移瘤组织裸鼠皮下移植,大约 3 个月便可形成肺转移瘤,转移发生率高达到 90%。

2.4 胃癌转移相关基因的分析

RT² Profiler™ PCR Array Human Tumor Metastasis 试剂盒含有 84 个 SYBR® Green 优化的

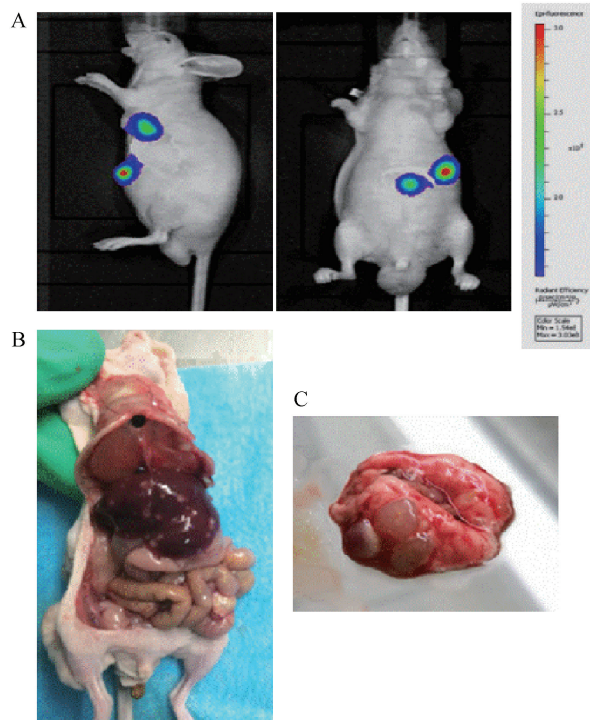


注:A. 小鼠皮下移植瘤; B. 小鼠肺转移瘤; C. 原始患者组织; D. 小鼠原位移植组织。

图 2 PDX 模型 STR 检测

Note. A. Mouse xenograft. B. Mouse lung metastasis. C. Primary patient tissue; D. Mouse orthotopic xenograft.

Figure 2 STR detection of the PDX models



注:A. 近红外荧光活体成像结果; B. 肝转移灶; C. 肺转移灶。

图 3 近红外荧光活体成像及转移灶

Note. A. NIRF optical imaging. B. Liver metastatic lesions. C. Lung metastatic lesions.

Figure 3 NIRF optical imaging and metastatic lesions

肿瘤转移相关基因引物,并含有相应的反应体系质量控制。实时定量 PCR(real-time PCR)结果分析采用 $\Delta\Delta C_t$ 方法。首先计算每个处理组中的每个转移相关基因的 ΔC_t ($\Delta C_t = \text{average } C_t - \text{average of HK gene } C_t$),随后计算两组 PCR Array 中每个基因的 $\Delta\Delta C_t$ ($\Delta\Delta C_t = \Delta C_t \text{ 组 2} - \Delta C_t \text{ 组 1}$,组 1 是原发瘤,组 2 是转移瘤),最后通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算组 2 与组 1 对应基因的表达。分析结果见图 5。有三个基因表达显著上调,涉及 *CXCL12*, *IGF1* 和 *MMP2*,上调倍数分别达到 (18.09 ± 3.8) , (13.30 ± 2.66) 和 (6.09 ± 1.78) ,与原发瘤相比差异有显著性($P < 0.01$)。

3 讨论

肿瘤转移的发生主要取决于肿瘤细胞的转移潜能和生长的微环境^[11]。特别是与肿瘤发生相匹配的基质环境能够影响肿瘤的分化、基因的表达和转移的发生。通过手术将肿瘤组织移植到与原发部位相应动物器官的原位移植(patient-derived orthotopic xenograft, PDOX)可提供适合肿瘤生长的体内环境^[12];有利于肿瘤特异性抗原的表达,维持肿瘤的异质性;由于移植部位血供丰富,有利于肿瘤转移的发生。与皮下移植相比, PDOX 模型更准确、客观地模拟人体肿瘤的体内演进过程,易形成与临床肿瘤相似的转移特征^[13]。Lang 等^[14]将一例

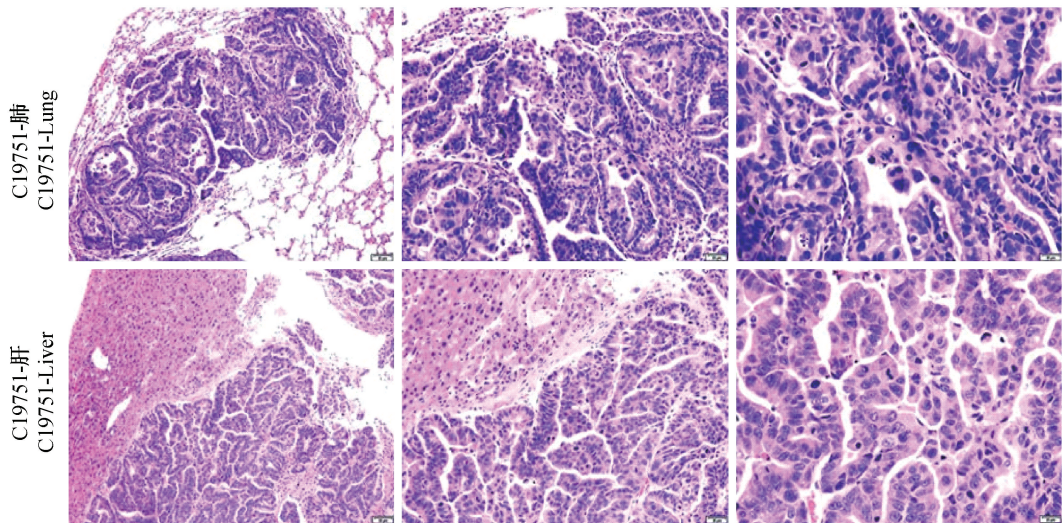


图 4 肺和肝转移瘤组织结构 (H&E 染色, ×400, 标尺 = 20 μm)

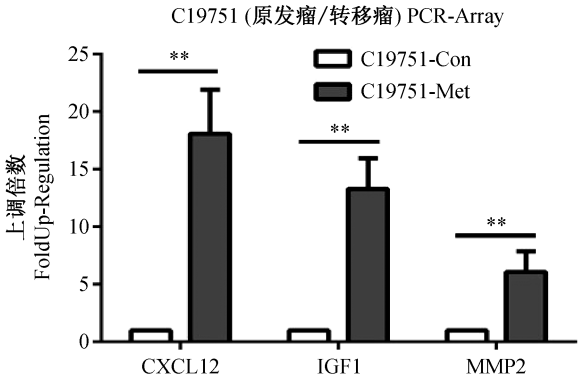
Figure 4 Histology of metastatic lesions in the lung and liver (H&E staining, ×400, Scale bar = 20 μm)

临床肾癌组织标本皮下移植后获得 PDX 模型,进一步将皮下瘤组织原位肾包膜移植,3 周后发生肺转移,4 周后发生脑转移,体现出较强的转移潜能。我们通过皮下移植建立的 14 例胃癌 PDX 模型,无一例发生转移,而将 3 例 PDX 模型的 F0 代瘤组织原位移植裸鼠 5 周后,就有一例(C19751)发生了肝和肺转移(图 3)。

早期转移的发生无法用肉眼观察。七甲川菁 (heptamethine cyanine) 近红外荧光染料 MHI-148 可特异性识别肿瘤细胞,不需标记探针可直接用于肿瘤模型的活体成像,具有成像和靶分子的双重功能^[15]。研究发现肿瘤细胞对该类染料的吸收主要通过缺氧和活化的 HIF1α/OATPs 信号实现,从而使该类染料具有了肿瘤靶向性。由于胃癌的形成和发展与缺氧和活化的 HIF1α/OATPs 分子密切相关^[16],这与 NIRF 染料的靶向识别机制相对应。从而不需标记靶分子,直接用于胃癌模型的检测。基于此,本研究将 NIRF 染料 MHI-148 用于胃癌 PDOX 模型的活体成像,不仅检测到胃部移植瘤,而且成功检测到了肝转移和肺转移病灶,验证了该类染料的肿瘤靶向性,为转移瘤的早期检测提供了有效的影像学方法。

来源于不同肿瘤患者的胃癌细胞具有不同的转移潜能,这为转移模型的筛选提供了材料。通过原位移植可以保持原发瘤的异质性,促进转移相关基因的表达。与胃癌转移相关的分子报道较多,这些分子在鉴别胃癌转移潜能方面存在争议,特别是单个分子表型的可靠性和特异性较差,缺乏临床的应用验证。PCR-Array 分析显示,与原发瘤相比较,

C19751 中趋化因子 CXCL12 (CXC chemokine ligand 12)、胰岛素样生长因子 1 受体 (insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R) 和基质金属蛋白酶 2 (matrix



注:Con 为原发瘤, Met 为转移瘤, 与原发瘤比较, ** $P < 0.01$ 。

图 5 PCR-Array 分析

Note. Con is primary tumor, Met is metastatic tumor. Compared with the primary tumor, ** $P < 0.01$.

Figure 5 Results of PCR-array analysis

metalloproteinase-2, MMP2) 表达均显著上调。CXCL12 属于 CXC 类趋化因子家族,趋化因子受体 CXCR4 (chemokine receptor 4) 是 CXCL12 的特异性受体,两者的结合具有专一性,称为 CXCL12 / CXCR4 轴。该生物轴可调控肿瘤细胞增殖、迁移及侵袭,促进肿瘤血管生成^[17]。其中 CXCR4 的阳性表达与胃癌的腹腔转移有密切关系, CXCL12-CXCR4 轴可作为评估胃癌腹腔转移的重要指标。IGF1 是酪氨酸蛋白激酶家族的成员之一,调节细胞增殖、凋亡、血管内皮生长因子的表达等。研究表明,IGF1 受体 (IGF1R) 在多种肿瘤组织中高表达,

参与肿瘤的发生发展过程。IGF1R 信号通路对肿瘤细胞侵袭、迁移、增殖和肿瘤的发生发展等过程发挥重要作用^[18]。IGF1R 基因的表达量下降可降低胃癌细胞的侵袭、迁移能力。MMP2 是 MMP 家族重要成员,与胃癌的侵袭、转移和生存状态密切相关。该酶主要通过消化基底膜中 IV 型胶原纤维来介导血管侵袭和转移。MMP2 阳性表达的胃癌组织更易发生转移,与胃癌的浸润深度、淋巴管浸润、区域淋巴结转移及 TNM 分期有关^[19]。

本研究胃癌肿瘤标本原位移植后只发生了肺和肝的转移,但皮下移植后仅有肺的转移灶形成实体瘤。分析原因可能是肝转移灶肿瘤细胞数量较少,很难在皮下形成实体瘤,需要进一步筛选肝转移瘤获得更多的转移病灶。获得的肺转移瘤通过反复筛选后,直接皮下移植便可形成肺转移瘤,转移发生率达到 90% 以上,说明该肿瘤具有较强的肺转移潜能。该模型为临床胃癌的转移研究提供了有效的个体化模型。

参 考 文 献 (References)

- [1] Ratti M, Lampis A, Hahne J C, et al. Microsatellite instability in gastric cancer: molecular bases, clinical perspectives, and new treatment approaches [J]. *Cell Mol Life Sci*. 2018, 75 (22): 4151-4162.
- [2] Cassidy JW, Caldas C, Bruna A. Maintaining tumor heterogeneity in patient-derived tumor xenografts [J]. *Cancer Res*. 2015, 75 (15): 2963-2968.
- [3] Hiroshima Y, Maawy A, Zhang Y, et al. Patient-derived mouse models of cancer need to be orthotopic in order to evaluate targeted anti-metastatic therapy [J]. *Oncotarget*. 2016, 7 (44): 71696.
- [4] Izumchenko E, Meir J, Bedi A, et al. Patient-derived xenografts as tools in pharmaceutical development [J]. *Clin Pharmacol Ther*. 2016, 99 (6): 612-621.
- [5] Kawaguchi K, Igarashi K, Murakami T, et al. Tumor-targeting Salmonella typhimurium A1-R sensitizes melanoma with a BRAF-V600E mutation to vemurafenib in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) nude mouse model [J]. *J Cell Biochem*. 2017, 118 (8): 2314-2319.
- [6] Shi C, Wu JB, Chu GC, et al. Heptamethine carbocyanine dye-mediated near-infrared imaging of canine and human cancers through the HIF-1 α /OATPs signaling axis [J]. *Oncotarget*. 2014, 5 (20): 10114-10126.
- [7] 张贺,张彩勤,赵勇,等. 基于临床手术标本的胰腺癌原位移植模型建立及评价 [J]. *中国实验动物学报*. 2018 (03): 296-301.
Zhang H, Zhang CQ, Zhao Y, et al. Establishment and characterization of a patient-derived orthotopic xenograft (PODX) model of pancreatic cancer [J]. *Acta Lab Animalis Sci Sin*, 2018, 26 (03): 296-301.
- [8] Rapis C, Vangestel C, Verhaeghe J, et al. Characterization of an orthotopic colorectal cancer mouse model and its feasibility for accurate quantification in positron emission tomography [J]. *Mol Imag Biol*, 2017, 19 (5): 762-771.
- [9] Zhu W, Cai M, Tong Z, et al. Overexpression of EIF5A2 promotes colorectal carcinoma cell aggressiveness by upregulating MTA1 through C-myc to induce epithelial-mesenchymal transition [J]. *Gut*. 2012, 61 (4): 562-575.
- [10] 张贺,陈薛,谭邓旭,等. 基于肿瘤个体化治疗药物筛选的异种移植模型评价策略 [J]. *中国实验动物学报*. 2018 (04): 523-527.
Zhang H, Chen X, Tan DX, et al. Evaluation strategy of patient-derived xenograft models based on drug-screening of individualized treatment [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2018, 26 (04): 523-527.
- [11] Monsky WL, Mouta Carreira C, Tsuzuki Y, et al. Role of host microenvironment in angiogenesis and microvascular functions in human breast cancer xenografts: Mammary fat pad versus cranial tumors I [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8 (4): 1008-1013.
- [12] Sicklick JK, Leonard SY, Babicky ML, et al. Generation of orthotopic patient-derived xenografts from gastrointestinal stromal tumor [J]. *J Transl Med*. 2014, 12: 41.
- [13] Murakami T, Murata T, Kawaguchi K, et al. Cervical cancer patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) is sensitive to cisplatin and resistant to Nab-paclitaxel [J]. *Anticancer Res*. 2017, 37 (1): 61-66.
- [14] Lang H, Béraud C, Bethry A, et al. Establishment of a large panel of patient-derived preclinical models of human renal cell carcinoma [J]. *Oncotarget*. 2016, 7 (37): 59336.
- [15] 王勤周,张成,李丽,等. 七甲川菁荧光染料在肝细胞癌移植模型活体成像中的应用 [J]. *实验动物与比较医学*. 2018 (04): 250-254.
Wang QZ, Zhang C, Li L, et al. The Application of heptamethine cyanine dye in optical imaging of hepatocellular carcinoma transplantation model [J]. *Lab Anim Comp Med*, 2018, 38 (4): 250-254.
- [16] Shi C, Wu JB, Pan D. Review on near-infrared heptamethine cyanine dyes as theranostic agents for tumor imaging, targeting, and photodynamic therapy [J]. *J Biomed Optics*. 2016, 21 (5): 50901.
- [17] Balkwill F. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4 [J]. *Semin Cancer Biol*. 2004, 14 (3): 171-179.
- [18] 罗玉政,陈波,李红樱. 沉默 IGF1R 表达对胃癌细胞侵袭与迁移能力的影响及机制 [J]. *中国临床研究*. 2018 (02): 163-166.
- [19] Luo YZ, Chen B, Li HY. Effect of silencing IGF1R expression on invasion and migration abilities of gastric cancer cells and its mechanism [J]. *Chin J Clin Res* 2018, 31 (02): 163-166.
李倩玉,韩冬艳,蒋虹伟,等. p28, MMP2, β -catenin 在胃癌及淋巴结转移瘤中的表达 [J]. *诊断学理论与实践*. 2016 (02): 169-173.
Li QY, Han DY, Jiang HW, et al. Expressions of p28, MMP2 and β -catenin proteins in human gastric carcinoma and metastatic lymph nodes [J]. *J Diagn Concepts Practice*, 2016, 15 (02): 169-173.