

MTDH 在胰腺癌中的表达及其与 E-cadherin、MVD 的关系

黄炎¹,柯儒斌¹,徐新伟¹,王盈¹,干耘¹,苏智峰¹,徐潮¹,任国平²

(1. 杭州市余杭区第一人民医院,浙江 杭州 311100;2. 浙江大学附属第一医院,浙江 杭州 310000)

摘要:[目的] 研究 MTDH 在胰腺癌中的表达及其与钙黏蛋白(E-cadherin)、肿瘤微血管密度的关系及其临床意义。[方法] 应用免疫组织化学 SP 法检测 MTDH、E-cadherin、CD31 在 60 例胰腺癌及其癌旁正常胰腺组织中的表达;并用抗 CD31 抗体标记微血管,计数微血管密度。应用即时荧光定量 PCR 检测 10 例胰腺癌及其癌旁正常胰腺组织中 MTDH mRNA 的表达水平。[结果] MTDH 在胰腺癌组织中的表达率显著高于癌旁胰腺组织中的表达($P<0.05$);胰腺癌组织 MTDH 的表达与患者临床分期($P=0.014$)、淋巴结转移($P=0.002$)和远处转移($P=0.006$)相关;E-cadherin 的表达与患者临床分期($P=0.002$)、淋巴结转移($P=0.023$)和组织学分级($P=0.027$)相关。MTDH 在胰腺癌组织中的表达与 E-cadherin 表达负相关($P<0.05$),与 MVD 表达呈正相关($P<0.05$)。[结论] MTDH 在胰腺癌中高表达,其表达水平与肿瘤的进展和转移相关。MTDH 蛋白的高表达可能通过影响肿瘤 E-cadherin 的表达和肿瘤微血管生成来促进胰腺癌的转移。

主题词:胰腺肿瘤;肿瘤转移;异黏蛋白

中图分类号:R735.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2015)06-0475-07

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2015.06.B007

Expression of MTDH in Pancreatic Carcinoma and Its Correlations with E-cadherin and Microvascular Density

HUANG Yan, KE Ru-bing, XU Xin-wei, et al.

(The First People's Hospital of Yuhang District, Hangzhou 311100, China)

Abstract:[Purpose] To investigate the expression of MTDH in pancreatic carcinoma and its correlations with E-cadherin and microvascular density. [Methods] Immunohistochemistry was used to examine the expression of MTDH, E-cadherin and CD31 in 60 cases of pancreatic cancer and corresponding cancer adjacent tissues. With CD31 antibody as an endothelial marker, the expression level of MTDH mRNA in 10 samples of pancreatic cancer and corresponding cancer adjacent tissues was detected by real-time PCR. [Results] Expression of MTDH in pancreatic cancer tissues was higher than that in cancer adjacent tissues ($P<0.05$). The expression of MTDH related to clinical stage ($P=0.014$), lymph node metastasis ($P=0.002$) and distant metastasis ($P=0.006$). The expression of E-cadherin related to clinical stage ($P=0.002$), lymph node metastasis ($P=0.023$) and histological grade ($P=0.027$). MTDH expression was positively correlated with MVD ($P<0.05$) and negatively correlated with E-cadherin ($P<0.05$) in pancreatic carcinoma tissues. [Conclusions] The expression of MTDH is up-regulated in pancreatic cancer, and it might relate to the progression of pancreatic cancer. MTDH might promote the progression of pancreatic carcinoma through influencing the expression of E-cadherin and promoting tumor microvessel generation.

Subject words: pancreatic neoplasms; tumor metastasis; MTDH

胰腺癌早期即发生浸润和转移是影响胰腺癌患者生存率和病死率的重要因素,对胰腺癌浸润、转移

相关指标的研究在预测肿瘤预后和指导临床治疗方面具有重要意义。近年来,新型癌基因异黏蛋白(metadherin, MTDH)在肿瘤侵袭和转移中的作用引起了重视。MTDH 是新近发现的与多种肿瘤侵袭和转移相关的癌基因,其在多种肿瘤的发生和发展中起着重要的作用。研究显示,MTDH 过度表达与胶质

基金项目:浙江省医药卫生一般研究计划(2013KYB228);杭州市余杭区重大科研项目(余科[2012]68号2012-5医学)

通讯作者:黄炎,主治医师,硕士;杭州市余杭区第一人民医院病理科,浙江省杭州市余杭区临平迎宾路369号(311100);E-mail: hy9902004@126.com

收稿日期:2014-07-21; **修回日期:**2014-09-04

母细胞瘤、乳腺癌、肝癌、胃癌等多种肿瘤的侵袭转移有关^[1-4]。然而,MTDH在胰腺癌中的表达及相关功能的研究报道较少。本实验运用免疫组织化学法和即时荧光定量PCR检测胰腺癌组织中MTDH的表达水平,分析其与临床病理特征之间的关系,并检测其与肿瘤转移有关的E-cadherin和微血管密度(micro vessel density, MVD),分析MTDH与这些指标之间的相关性,探讨其在肿瘤转移中可能的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集2010年1月到2012年12月杭州市余杭区第一人民医院和浙江大学附属第一医院手术切除的胰腺癌患者石蜡标本60例,每例均包括癌组织和正常胰腺组织(距癌组织边缘 $\geq 4\text{cm}$)。所有切片均由两位资深病理医师复检,病理类型均为胰腺导管腺癌。每例均有详细的临床资料,术前均未接受化疗和放疗。其中男性36例,女性24例,年龄41~80岁,平均61.6岁。组织分化程度:高一中分化49例,低分化11例。按照国际抗癌联盟(UICC)2010版关于TNM分期系统进行分期:I~II期24例,III~IV期36例; $T_1\sim T_2$ 期45例, $T_3\sim T_4$ 期15例;发生淋巴结转移32例,发生远处转移12例。10例新鲜胰腺癌手术标本(癌组织和相应癌旁组织)取自2012年6月至2012年12月在浙江大学附属第一医院肝胆外科行wipple手术切除术者,癌旁组织取自癌组织边缘大于5cm处。所有病例术后均经病理检查证实。每例标本取下后立即放入液氮罐中保存备用。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色

60例胰腺癌石蜡标本进行免疫组织化学染色。兔抗人MTDH抗体(产品目录为ab45338)购自abcam公司,工作浓度为1:200;E-cadherin抗体和CD31抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司,工作浓度均为1:100。二步法抗兔试剂盒(Super Picture Polymer Detection kit)购自美国Zymed公司。参照试剂盒说明操作,关键步骤如下:切片常规脱蜡至水,微波修复抗原,3% H_2O_2 孵育10min,滴加一抗室温孵育2h,滴加二抗室温孵育10min,DAB显色,苏木素对比染色,透明封固,以PBS代替一抗作空白对照。MTDH结果判定:MTDH的表达定位于胰腺

癌细胞胞浆,呈棕黄色或棕褐色颗粒状。参照文献[5]的方法按着色强度打分:0分为无色,1分为浅着色(淡黄色),2分为中等着色(黄棕色),3分为强着色(棕色),染色强度需与背景着色相对比;再选取染色均匀的肿瘤区,按400倍视野下阳性肿瘤细胞所占百分比打分:0分为阴性(-),1分为阳性细胞 $\leq 10\%$,2分为10%~50%,3分为 $>50\%$ 。染色结果分级标准为:染色指数(SI)为着色强度乘以阳性细胞比例, $\text{SI} \geq 4$ 为高表达, $\text{SI} \leq 3$ 为低表达。E-cadherin结果判断参照文献[5]稍作修改,以 $\geq 70\%$ 癌细胞着色且着色位于细胞膜上视为钙黏蛋白保留(+), $<70\%$ 癌细胞着色且着色不位于细胞膜均视为钙黏蛋白缺失(-)。微血管判断及(MVD)计数方法参照文献[6]。

1.2.2 即时荧光定量PCR

10例新鲜胰腺癌手术标本进行即时荧光定量PCR检测。采用20 μl 反应体系,使用(ABI PRISM 7900 Sequence Detection System)即时荧光定量PCR系统进行扩增反应,检测MTDH mRNA在胰腺癌组织及癌旁正常组织中的表达。相应引物均由上海生工生物工程有限公司合成。内参为GAPDH,上游引物:5'-GGGAACTGTGGCGTGAT-3',下游引物:5'-GAGTGGGTGTCGCTGTTGA-3',引物长度为299bp;MTDH上游引物:5'-CGTGATAAGGTGCTGACTGATTG-3',下游引物:5'-CAGGAAATGATGCGGTTGTAAG-3',引物长度为106bp;反应条件为95 $^{\circ}\text{C}$ 5min,然后95 $^{\circ}\text{C}$ 10s,60 $^{\circ}\text{C}$ 60s,40个循环,循环后接着做溶解曲线。定量方法参照文献[7],用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ (Ct 值为荧光信号达到设定阈值时所经过的循环数)法计算10对标本中MTDH mRNA的表达差异。

1.3 统计学处理

应用SPSS13.0统计软件进行分析。MVD数据以均数 $\pm$ 标准差表示,两组间比较采用 t 检验;采用 χ^2 检验分析免疫组织化学结果;采用Spearman秩相关分析各指标之间的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

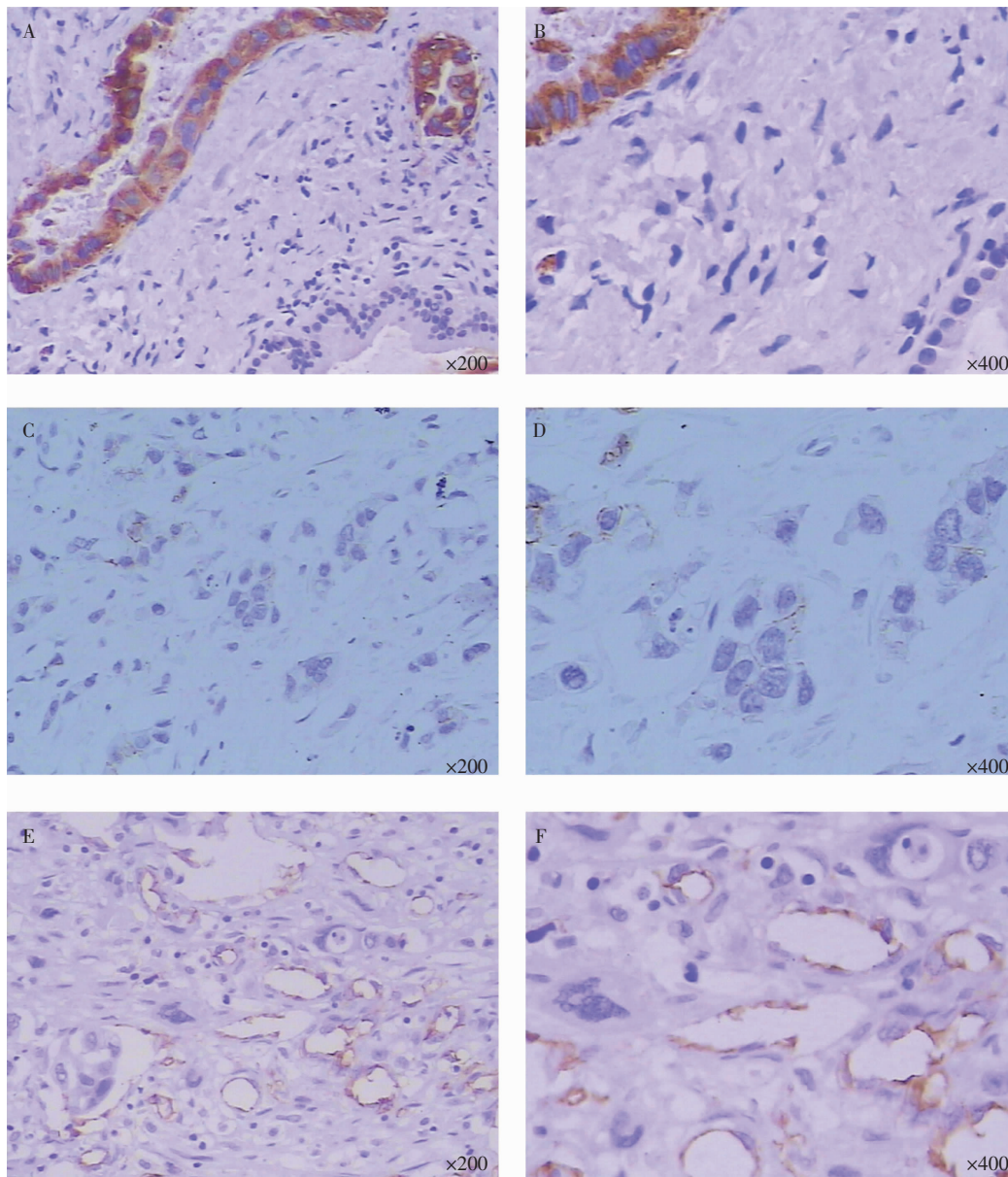
2 结果

2.1 MTDH、E-cadherin、CD31在正常胰腺组织及胰腺癌组织中的表达

免疫组织化学结果显示,MTDH在胰腺癌组织定位于细胞浆,阳性表达率为90.00%(54/60),而在

癌旁正常胰腺组织中,MTDH 在胰腺腺泡弱表达或不表达,在正常胰腺导管组织中几乎不表达,癌旁胰腺组织中 MTDH 的阳性表达率仅为 1.67%(1/60),两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)(Figure 1A、B)。与 MTDH 不同,E-cadherin 的表达呈现相反的特征,在胰腺癌组织中 E-cadherin 的阳性表达率为 38.3%(23/60),而在癌旁胰腺组织中阳性表达率为98.33%

(59/60),差异具有统计学意义($P<0.05$)(Figure 1C、D)。此外,我们还发现,CD31(MVD 值)的表达水平在胰腺癌及癌旁正常组织中也存在显著差异,差异具有统计学意义($P<0.05$)(Figure 1E、F)。应用即时荧光定量 PCR 检测 *MTDH* mRNA 表达的实验结果与免疫组织化学结果相符,胰腺癌中 *MTDH* mRNA 表达水平明显高于癌旁正常组织,差异具有统计学意义



Note: A、B: expression and cytoplasmic localization of MTDH in pancreatic carcinoma tissues, and negative signals were observed in normal ductal epithelium; C、D: low expression of E-cadherin in pancreatic carcinoma tissues; E、F: positive expression of CD31 in pancreatic carcinoma tissues.

Figure 1 Expression of MTDH, E-cadherin and CD31 detected by immunohistochemistry in pancreatic carcinoma tissues

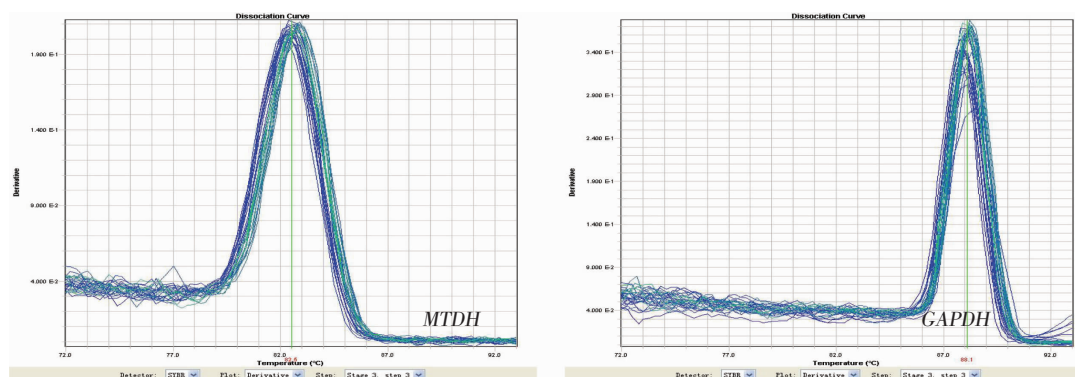


Figure 2 Dissociation curve graph of *MTDH* and *GAPDH* detected by real time-PCR

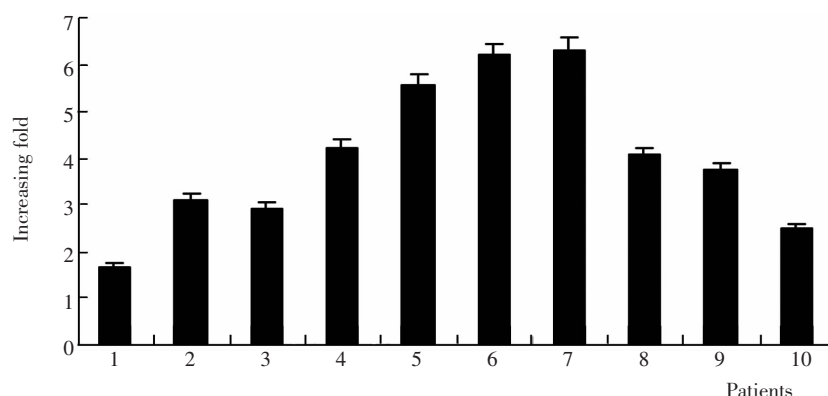


Figure 3 Real time-PCR analysis of *MTDH* expression in pancreatic carcinoma tissues

($P < 0.05$) (Figure 2, 3)。

2.2 MTDH 和 E-cadherin 的表达与胰腺癌临床病理特征的关系

MTDH 的表达水平与患者的年龄、肿块大小、性别、部位、组织学分级、组织学类型等无关 ($P > 0.05$), 而与临床分期、淋巴结转移、远处转移有关 ($P < 0.05$); E-cadherin 的表达水平与患者年龄、性别、部位、肿块大小、T 期、远处转移等无关 ($P > 0.05$), 而与临床分期、淋巴结转移、组织学分级有关 ($P < 0.05$) (Table 1)。

2.3 MTDH 与 E-cadherin、MVD 的相关性

Spearman 相关分析结果显示, MTDH 和 E-cadherin 表达呈负相关性 ($r = -0.573$, $P = 0.008$); 此外, MTDH 高表达组 MVD 值为 41.21 ± 11.22 , 明显高于 MTDH 低表达或不表达组 MVD 值 (30.13 ± 13.94) ($P = 0.006$), Spearman 等级相关分析显示 MTDH 表达水平与 MVD 值的相关系数为 0.608, 呈正相关性

(Table 2)。

3 讨论

胰腺癌因具有恶性程度高、早期诊断困难等特点, 患者术后 5 年生存率不足 5%, 药物治疗仅能维持生命 5~6 个月, 病死率已跃居恶性肿瘤的第 4 位^[8]。究其原因, 胰腺癌早期即发生侵袭、转移是主要因素之一。恶性肿瘤的主要生物学特征是侵袭和转移, 与此密切相关的基因成为当前肿瘤研究的热点, 这些基因及其产物有可能成为肿瘤治疗的新靶点或观察患者预后的重要指标。

3.1 MTDH 与胰腺癌临床病理特征之间的关系

异黏蛋白 MTDH 是新近发现的与多种肿瘤侵袭和转移相关的癌基因, 其确切的生物学功能目前尚不清楚。作为 Ha-Ras 的下游基因, MTDH 能促进肿瘤的增殖和生长; 增强肿瘤细胞侵袭和转移能力;

Table 1 Association of MTDH and E-cadherin expressions with clinicopathological characteristics of pancreatic carcinoma

Factors		N	Expression of MTDH				Expression of E-cadherin			
			Low or non	High	χ^2	P	Deleted group	Reserved group	χ^2	P
Gender	Male	36	15	21	0.102	0.750	20	16	1.422	0.233
	Female	24	11	13			17	7		
Age(years)	<60	29	10	19	1.791	0.181	15	14	2.347	0.126
	≥ 60	31	16	15			22	9		
Region	Head of pancreas	37	14	23	1.187	0.276	21	16	0.984	0.321
	Body and tail of pancreas	23	12	11			16	7		
Size	≤ 2	7	5	2	2.547	0.110	3	4	1.186	0.276
	>2	53	21	32			34	19		
Clinical stage	I ~ II	24	15	9	5.984	0.014	9	15	9.882	0.002
	III ~ IV	36	11	25			28	8		
T	T ₁ ~T ₂	45	24	21	7.330	0.007	27	18	0.212	0.646
	T ₃ ~T ₄	15	2	13			10	5		
N	N ₀	28	18	10	9.386	0.002	13	15	5.157	0.023
	N ₁	32	8	24			24	8		
M	M ₀	48	25	23	7.483	0.006	28	20	1.128	0.288
	M ₁	12	1	11			9	3		
Histological grade	High and middle differentiated	49	19	30	2.261	0.133	27	22	4.872	0.027
	Low differentiated	11	7	4			10	1		

Table 2 Correlation between expression of MTDH and E-cadherin and between expression of MTDH and MVD in pancreatic carcinoma tissues

MTDH expression	E-cadherin expression				MVD			
	Reserved group (n=23)	Deleted group (n=37)	r	P	>35.32 (n=35)	≤ 35.32 (n=25)	r	P
Low or non(n=26)	21	5	-0.573	<0.05	10	16	0.608	<0.05
High(n=34)	16	18			25	9		

增强肿瘤细胞的成瘤能力以及降低肿瘤细胞对药物的敏感性^[9]。在对细胞系的分析中发现 MTDH 表达在多种肿瘤细胞中均比相应的正常细胞显著升高,提示 MTDH 的表达可能和肿瘤的发生有关^[1,2]。我们的研究结果也显示,胰腺癌组织中 MTDH 的表达显著高于癌旁组织。与文献报道中其他癌一致,我们研究结果显示个别病例癌旁胰腺组织腺泡中有 MTDH 弱阳性表达,阳性细胞数<20%,其机制和意义尚未明确,可能与胰腺组织自身产生内源性酶较多而引起非特异性着色有关,但其表达明显弱于 MTDH 在胰腺癌中的表达。另外,值得注意的是,经研究发现,和大多数研究情况一致,我们均只观察到 MTDH 表达于细胞浆,并未观察到其在细胞核内的表达。而 Emdad 的研究报道了 MTDH 在核和浆均有表达^[10],在对乳腺癌的研究也发现,临床 II 期的患者仅偶见 MTDH 核表达,而 III 期患者出现显著的细胞

核表达 MTDH,即越晚期的乳腺癌患者更易出现核染色,并且在乳腺癌肝转移灶中也发现了 MTDH 核转位现象^[11]。对于 MTDH

在细胞中的不同定位值得我们进一步研究。

多个研究证实 MTDH 与肿瘤细胞的侵袭和转移密切相关,上调 Hela 细胞 MTDH 的表达可以显著提高细胞的侵袭能力^[12],相反,下调前列腺癌细胞 PC-3 和 DU145 的 MTDH 表达可以显著降低肿瘤细胞的侵袭能力^[13]。我们的研究结果也显示,MTDH 在胰腺癌淋巴结转移阳性组的表达率显著高于淋巴结转移阴性组,且胰腺癌远处转移组的表达率显著高于未远处转移组,提示 MTDH 的表达与胰腺癌淋巴结转移和远处转移密切相关,其在促进胰腺癌转移方面可能起着重要作用。我们还发现,MTDH 的表达与胰腺癌 TNM 分期呈正相关,即随 MTDH 表达水平的升高,临床病理分期增加,预后变差。

3.2 MTDH 与 E-cadherin 之间的关系

PI3K-Akt 信号转导系统在肿瘤的转移过程中起重要作用,通过 GSK3 β 的磷酸化失活,导致 snail

蛋白在细胞核内的聚集或使其转录增加,引起细胞间黏附分子 E-cadherin 的下调表达,最终导致 EMT 的发生^[14,15],即肿瘤播散过程中的早期事件。在多种肿瘤中发现 E-cadherin 的丢失与肿瘤的转移及患者的预后呈负相关关系^[16]。鉴于多个研究已证实 MTDH 对 PI3K-Akt 信号转导系统的正向调控^[17,18]。因此,我们检测了 E-cadherin 在胰腺癌中的表达,并探讨了 E-cadherin 的表达水平与临床病理指标之间的相关性,并拟以明确 MTDH 与 E-cadherin 之间是否存在负相关关系。我们的研究表明,E-cadherin 的表达情况与胰腺癌的组织病理学分级和临床分期密切相关,这与在其他肿瘤的研究发现 E-cadherin 随肿瘤分期和分级的升高而降低的结果一致^[16,19]。Liu 等^[20]在对肺癌研究中发现,用熊果酸处理肺癌细胞系 A549 后 MTDH 表达下调而 E-cadherin 表达上调,这说明 MTDH 和 E-cadherin 之前可能存在负调控。通过对 E-cadherin 及 MTDH 表达水平的相关性分析我们也发现,E-cadherin 与 MTDH 的表达水平呈负相关关系,MTDH 高表达组,其 E-cadherin 值越低。我们的研究结果提示 MTDH 可能通过抑制 E-cadherin 表达从而导致细胞间的相互黏附力下降,造成细胞容易分散而向外周浸润性生长,促进胰腺癌转移。

3.3 MTDH 与 MVD 之间的关系

肿瘤组织的增殖依赖充足的血液供应,因此血管生成在肿瘤的生长、侵袭和转移中起关键作用。研究表明 MVD 与胰腺癌肿瘤分级存在正相关,与生存和预后存在负相关,即 MVD 值越高的患者肿瘤分级越高、预后越差、生存期越短^[21]。对于 MVD 评估可采用不同的血管标志物——CD31、CD34 及 FⅧ。CD31 在成熟和非成熟的内皮细胞均表达,而 CD34 及 FⅧ仅表达在成熟的内皮细胞,对非成熟的内皮细胞敏感性低,因此 CD31 被认为在研究肿瘤新生血管时最合适的标记^[22]。在本实验中,我们采用了 CD31 抗体用来评估胰腺癌的微血管密度。本实验结果显示 MVD 在不同临床分期的患者间未发现显著性差异,但不同核级的组间可见显著性差异,核级越高 MVD 值越高,这与以往的研究结果相一致^[23]。

Emad 在体内实验及体外实验均证实,稳定表达 MTDH 基因的鼠胚成纤维细胞能够在裸鼠成瘤,并且所形成的肿瘤较对照组有更为丰富的血管,进一

步的研究表明,MTDH 可上调一系列促进血管生成的分子表达如 angiopoietin-1、MMP-2 和 HIF- α ;体外实验也证实 MTDH 可促进脐静脉内皮细胞在 Matrigel 中形成管道结构^[24]。因此 MTDH 在血管生成的过程中起重要作用。通过对 MVD 及 MTDH 表达水平的相关性分析我们也发现,MVD 与 MTDH 的表达水平呈正相关关系,MTDH 高表达组,其 MVD 值越高。我们的研究结果提示 MTDH 可能通过促进胰腺癌的微血管形成而促进胰腺癌转移。

综上所述,MTDH 在胰腺癌中高表达,其表达水平与肿瘤的进展和转移相关;MTDH 蛋白的高表达可能通过影响肿瘤 E-cadherin 的表达和肿瘤微血管生成来促进胰腺癌的转移,但具体机制有待我们进一步研究。

参考文献:

- [1] Kochanek DM, Wells DG. CPEB1 regulates the expression of MTDH/AEG-1 and glioblastoma cell migration [J]. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(2):149-160.
- [2] Luparello C, Longo A, Vetrano M. Exposure to cadmium chloride influences astrocyte-elevated gene-1 (AEG-1) expression in MDA-MB231 human breast cancer cells [J]. *Biochimie*, 2012, 94(1):207-213.
- [3] He XX, Chang Y, Meng FY, et al. MicroRNA-375 targets AEG-1 in hepatocellular carcinoma and suppresses liver cancer cell growth in vitro and in vivo [J]. *Oncogene*, 2012, 31(28):3357-3369.
- [4] Jian-bo X, Hui W, Yu-long H, et al. Astrocyte-elevated gene-1 overexpression is associated with poor prognosis in gastric cancer [J]. *Med Oncol*, 2011, 28(2):455-462.
- [5] Huang Y, Re GP, Xu C, et al. Astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) is a biomarker for aggressive pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14:479.
- [6] Imao T, Egawa M, Takashima H, et al. Inverse correlation of microvessel density with metastasis and prognosis in renal cell carcinoma [J]. *Int J Urol*, 2004, 111:948-953.
- [7] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method [J]. *Methods*, 2001, 25(4):402-408.
- [8] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(1):10-29.
- [9] Yoo BK, Emdad L, Lee SG, et al. Astrocyte elevated gene-1 (AEG-1): a multifunctional regulator of normal and abnormal physiology [J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 130(1):1-8.

- [10] Emdad L, Sarkar D, Su ZZ, et al. Astrocyte elevated gene-1: recent insights into a novel gene involved in tumor progression, metastasis and neurodegeneration[J]. *Pharmacol Ther*, 2007, 114(2): 155–170.
- [11] Li J, Zhang N, Song LB, et al. Astrocyte elevated gene-1 is a novel prognostic marker for breast cancer progression and overall patient survival [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(11): 3319–3326.
- [12] Emdad L, Sarkar D, Su ZZ, et al. Activation of the nuclear factor kappaB pathway by astrocyte elevated gene-1; implications for tumor progression and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(3): 1509–1516.
- [13] Ash SC, Yang DQ, Britt DE. LYRIC/AEG-1 overexpression modulates BCCIPalpha protein levels in prostate tumor cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 371(2): 333–338.
- [14] Zhou BP, Deng J, Xia W, et al. Dual regulation of Snail by GSK3beta-mediated phosphorylation in control of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nat Cell Biol*, 2004, 6(10): 931–940.
- [15] Julien S, Puig I, Caretti E, et al. Activation of NF-kappaB by Akt upregulates Snail expression and induces epithelium mesenchyme transition[J]. *Oncogene*, 2007, 26(53): 7445–7456.
- [16] Perl AK, Wilgenbus P, Dahl U, et al. A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma[J]. *Nature*, 1998, 392(6672): 190–193.
- [17] Jeon HY, Choi M, Howlett EL, et al. Expression patterns of astrocyte elevated gene-1(AEG-1) during development of the mouse embryo[J]. *Gene Exp Patterns*, 2010, 10(8): 361–367.
- [18] Li J, Yang L, Song L, et al. Astrocyte elevated gene-1 is a proliferation promoter in breast cancer via suppressing transcriptional factor FOXO1[J]. *Oncogene*, 2009, 28(36): 3188–3196.
- [19] Mai ZS, Wu HY, Li Q, et al. Significance of E-cadherin expression in cervical epithelial neoplasia and cervical squamous carcinoma[J]. *The Journal of Practical Medicine*, 2012, 28(22): 3753–3755. [麦振声, 吴海燕, 黎清, 等. E-钙黏蛋白在宫颈上皮瘤变及宫颈鳞癌中的表达及意义[J]. *实用医学杂志*, 2012, 28(22): 3753–3755.]
- [20] Liu K, Guo L, Miao L, et al. Ursolic acid inhibits epithelial-mesenchymal transition by suppressing the expression of astrocyte-elevated gene-1 in human nonsmall cell lung cancer A549 cells[J]. *Anticancer Drugs*, 2013, 24(5): 494–503.
- [21] Hoem D, Straume O, Immervoll H, et al. Vascular proliferation is associated with survival in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *APMIS*, 2013, 121(11): 1037–1046.
- [22] Poblet E, Gonzalez-Palacios F, Jimenez FJ. Different immunoreactivity of endothelial markers in well and poorly differentiated areas of angiosarcomas[J]. *Virchows Arch*, 1996, 428(4–5): 217–221.
- [23] Barău A, Ruiz-Sauri A, Valencia G, et al. High microvessel density in pancreatic ductal adenocarcinoma is associated with high grade[J]. *Virchows Arch*, 2013, 462(5): 541–546.
- [24] Emdad L, Lee SG, Su ZZ, et al. Astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) functions as an oncogene and regulates angiogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(50): 21300–21305.