

MK 和 VEGF 在甲状腺乳头状癌中的表达及意义

Expression of MK and VEGF in Papillary Thyroid Carcinoma and Its Clinical Significance

ZHAO Juan, YAN Shu, ZHANG Wen-wei, JIANG Li-wei, QIN Zuo-rong, QIU Jie

赵娟^{1,2}, 闫舒¹, 张文伟¹, 姜立伟¹, 秦作英¹, 邱杰¹

(1. 青岛大学附属医院, 山东 青岛 266100; 2. 单县中心医院, 山东 菏泽 274300)

摘要: [目的] 探讨 MK 和 VEGF 在人甲状腺乳头状癌中的表达和临床意义。 [方法] 应用免疫组化方法 (SP 法) 检测 MK 蛋白和 VEGF 在甲状腺乳头状癌组织 (40 例)、配对癌旁正常甲状腺组织 (40 例) 和结节性甲状腺肿组织 (40 例) 中的表达, 并探讨两者与甲状腺乳头状癌临床病理特征的关系。 [结果] (1) MK 和 VEGF 在甲癌组 (75.0%、67.5%) 的表达均高于癌旁组 (10.0%、2.5%) 和结甲组 (25.0%、10.0%), 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。 (2) 甲状腺乳头状癌组织中 MK 和 VEGF 的表达与肿瘤分期 (TNM 分期) 和淋巴结转移有关 ($P < 0.05$), 有淋巴结转移组和 III、IV 期肿瘤组两者表达较高。 (3) MK 和 VEGF 在甲状腺乳头状癌组织中的表达呈正相关 ($r = 0.339, P < 0.05$)。 [结论] MK 和 VEGF 的表达与甲状腺乳头状癌的癌变、肿瘤分期和淋巴结转移具有相关性, 联合检测可能对甲状腺乳头状癌的诊疗和预后评估更具有指导意义。

关键词: MK; VEGF; 甲状腺乳头状癌; 免疫组化

中图分类号: R736.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2019)08-0758-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.08.B016

甲状腺癌 (thyroid carcinoma, TC) 是一种常见的内分泌恶性肿瘤, 而甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 为甲状腺恶性肿瘤的主要类型, 约占 80%, 其局部侵袭性和颈部淋巴结转移率均非常高, 需要在早期准确诊断并及时给予有效治疗, 以改善患者生存质量及提高生存率。目前大部分甲状腺乳头状癌, 通过镜下形态学结构如纤维血管轴心、乳头水肿、纤维化的间质、钙化和空泡状核、核沟与核内包涵体等特征可以准确诊断^[1]。但临床经常会遇到一些不典型病例, 如结节性甲状腺肿等, 其形成的假乳头或伴随乳头状增生与乳头状癌鉴别一直是临床难题。由于甲状腺乳头状癌的病因尚未明确, 且近几年来分子生物学的发展较为迅速, 因此对甲状腺乳头状癌相关分子的研究成为本领域的热点^[2]。甲状腺乳头状癌特异性肿瘤标志物的确立, 可能对临床鉴别甲状腺良性病变与甲状腺乳头状癌, 提高甲状腺乳头状癌的诊断率, 改善甲状腺乳头状癌的治疗及预后具有重要意义。

中期因子 (midkine, MK) 最初是在小鼠 cDNA 文库中发现的, 人类 MK 基因位于 11 号染色体 q11.2, 分子量为 13kD, 长度约为 1500bp, 其作用为编码分泌性的碱性肝素结合蛋白。研究表明, 人类 MK 在

人的不同生长发育时期及不同组织中的表达量不同, 其中, 在妊娠中期胎儿脑组织中表达量最高, 出生后在人体各种组织中的表达量均呈下降趋势, 成年后仅仅在肾小管和肠上皮有一定的表达, 其它组织表达量甚微。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是一种由某些肿瘤细胞所分泌的糖蛋白, 其相对分子质量为 34 000~42 000, 它能结合血管内皮细胞上的受体, 不仅促进血管生成, 而且维持肿瘤继续生长, 参与肿瘤侵蚀及转移调控。

本文应用免疫组化的方法, 研究甲状腺疾病患者组织中 MK 和 VEGF 的表达情况及两者之间的相关性, 以期进一步探索该两种标志物在甲状腺乳头状癌患者的诊断、鉴别诊断、治疗及预后评估中的指导意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集单县中心医院 2015 年 10 月至 2018 年 1 月行甲状腺切除患者的组织蜡块, 所有患者临床资料完整。将所有患者分为 3 组, 甲状腺乳头状癌 (PTC 组) 40 例; 配对癌旁正常甲状腺组织 (癌旁组) (取自距癌灶边缘 > 0.8cm 的距离, 且术后病理证实为正常甲状腺组织) 40 例; 结节性甲状腺肿 (结甲组) 40 例。其中, 甲癌组男性 11 例, 女性 29 例; 年龄

通信作者: 邱杰, 副主任医师, 博士; 青岛大学附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 山东省青岛市崂山区海尔路 59 号 (266100); E-mail: wfqpeter@163.com

收稿日期: 2019-03-02; **修回日期:** 2019-05-09

45~67岁, ≥55岁 18例, <55岁 22例, 平均年龄 48.8±13.4岁。结甲组中男性 10例, 女性 30例, 年龄 25~65岁, 平均 45.8±10.9岁。甲癌组有淋巴结转移 21例, 无淋巴结转移 19例; TNM分期[美国癌症联合委员会 (American Joint Committee on Cancer, AJCC)颁布的第 8版甲状腺癌 TNM分期] I、II期 23例, III、IV期 17例; 所有甲状腺疾病患者均经我院病理科确诊, 均签署知情同意书。

1.2 纳入标准

(1)术前无放疗、化疗或甲状腺手术史; (2)无食管癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、乳腺癌、肺癌、卵巢癌、膀胱癌、神经母细胞瘤等相关疾病病史(有文献证实 MK 与食管癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、乳腺癌、肺癌、卵巢癌、膀胱癌、神经母细胞瘤等多种肿瘤的发生发展、转移密切关系^[3-4], 为保证实验结果的准确性, 入组患者中剔除食管癌、胃癌、直肠癌、肺癌、乳腺癌、肝癌、胰腺癌、卵巢癌、膀胱癌、神经母细胞瘤的患者); (3)无桥本甲状腺炎(hashimoto thyroiditis, HT)病史(有文献证实, HT患者、HT合并 PTC患者中相同肿瘤标志物的阳性表达情况存在明显差异, HT组相对低表达^[5]); (4)无内分泌相关疾病病史(甲状腺功能与激素水平相关, 为保证结果准确性, 入组患者中剔除内分泌相关疾病患者); (5)无其他恶性肿瘤病史; (6)无严重的心脑血管疾病; (7)各项临床资料完整。

1.3 主要试剂

山羊抗人 MK 多克隆抗体和小鼠抗人 VEGF 单克隆抗体, 均购自美国 Santa Cruz 公司, SP 免疫组织化学试剂盒和 DAB 显色试剂盒均购自福州迈新生物有限公司。

1.4 免疫组化技术

所有标本均经 10%中性福尔马林溶液固定, 常规组织处理, 石蜡包埋, 4μm 厚连续切片, 常规苏木素-伊红(HE)染色。采用 SP 法进行 MK 和 VEGF 免疫标记, 具体操作步骤依据试剂说明书进行, 抗原修复采用高压锅高温修复, DAB 显色, 苏木素对比染色, 中性树胶封片, 镜下观察。使用磷酸盐缓冲溶液(PBS)代替一抗作阴性对照, 并且使用已知的阳性切片作为参考来对照实验切片染色情况。

1.5 结果判定

切片染色结果由两位高年资病理科医师进行双

盲阅片。显微镜下观察 MK 蛋白、VEGF 在细胞质中出现浅黄色至棕褐色阳染颗粒者为阳性。根据 Kawasaki 等的研究, 根据染色的密度与强度对患者甲状腺组织标本的阳性情况进行评分: 最终的综合分数=染色强度评分×染色密度评分根据染色结果, 将患者划分为 4 级。采用半定量结果判读, 每张切片观察 5 个高倍视野(10×4), 分别对阳性细胞百分比及染色强度评分, 计数阳性细胞百分比。

每个免疫组化切片随机选取 5 个高倍视野(10×4)并取平均值, 通过计算阳性细胞表达百分率和阳性细胞显色程度, 进行 MK 和 VEGF 表达结果评分。阳性细胞百分率评分标准: <5%计 0 分, 5%~25%计 1 分, 25%~50%计 2 分, 50%~70%计 3 分, >75%计 4 分。阳性细胞显色程度评分标准: 颜色不清楚或没有色度计 0 分, 浅黄色计 1 分, 棕黄色计 2 分, 深褐色计 3 分。采用 Remmele 半定量方法, 阳性细胞百分率和显色程度的乘积, 0~1 分计(-), 2~4 分计(+), 5~8 分计(++), 9~12 分计(+++)。最终 0~1 分计阴性, 2~12 分计阳性。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 22.0 对实验数据进行统计学处理, 计数资料采用 χ^2 检验, 两变量间的相关性分析采用 Spearman 等级相关分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

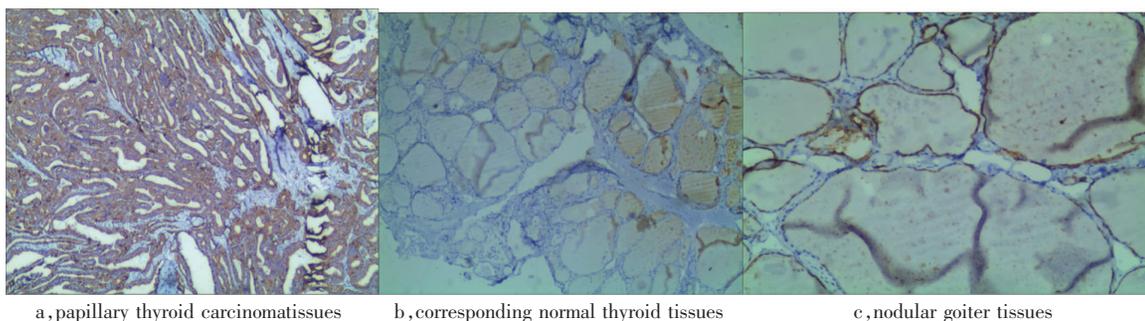
2.1 MK 和 VEGF 在不同甲状腺组织中的表达

MK 阳性表达定位于细胞质。免疫组化结果显示, 其在不同甲状腺组织中均有表达(Figure 1), 阳性表达率: 甲癌组为 75.0%(30/40), 癌旁组为 10.0%(4/40), 结甲组为 25.0%(10/40), 三组间差异有统计学意义($P<0.05$)。MK 诊断 PTC 的灵敏性为 75.0%, 特异性为 82.5%。

VEGF 的阳性表达定位于细胞质(Figure 2), 阳性表达率: 甲癌组为 67.5%(27/40), 癌旁组为 2.5%(1/40), 结甲组为 10.0%(4/40), 三组间差异有统计学意义($P<0.05$)。VEGF 诊断 PTC 的灵敏性为 67.5%, 特异性为 92.5%。见 Table 1。

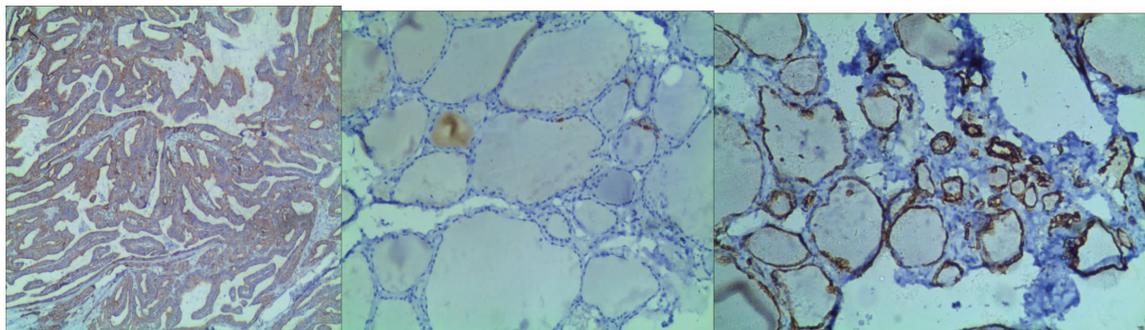
2.2 甲状腺乳头状癌组织中 MK 和 VEGF 表达与临床病理特征的关系

MK 和 VEGF 的表达与患者性别、年龄无关($P>$



a, papillary thyroid carcinomatissues b, corresponding normal thyroid tissues c, nodular goiter tissues

Figure 1 The expression of MK in different thyroid tissues(10×4)



a, papillary thyroid carcinomatissues b, corresponding normal thyroid tissues c, nodular goiter tissues

Figure 2 The expression of VEGF in different thyroid tissues(10×4)

0.05),与淋巴结转移、临床分期有关($P<0.05$),MK 表达与肿瘤直径相关($P<0.05$),而 VEGF 表达与肿瘤直径无关($P>0.05$)。见 Table 2。

2.3 MK 和 VEGF 表达的相关性

应用 Spearman 等级相关分析, MK 和 VEGF 在人甲状腺乳头状癌组织的表达呈正相关($r=0.339, P<0.05$)。见 Table 3。

Table 1 The expression of MK and VEGF in different thyroid tissues

Groups	n	MK		VEGF	
		Positive	Negative	Positive	Negative
Papillary thyroid cancer	40	30	10	27	13
Corresponding normal thyroid tissues	40	4	36	1	39
Nodular goiter	40	10	30	4	36
χ^2	-	20.000		51.733	
P	-	<0.001		<0.001	

3 讨 论

近年来分子生物学的发展较为迅速,积极探索发现与甲状腺乳头状癌相关的生物分子标志物及不同分子标志物间的相关性,将有助于甲状腺乳头状癌的早期诊断、鉴别诊断、治疗及预后评估等。

人类 MK 在人的不同生长发育时期及不同组织中的表达量不同,然而, MK 在多种实体肿瘤如肺癌、乳腺癌、前列腺癌、膀胱癌和所有消化系统肿瘤中均高表达^[6-9],使 MK 成为“泛癌”生物标志物。周伟民等^[10]研究表明乳腺癌患者血清中 MK 水平明显高于乳腺良性肿瘤患者,且与患者肿瘤直径、临床分

期、淋巴结转移及预后复发明显相关。近年来, MK 在实体肿瘤的发生发展中发挥着重要作用,但目前文献鲜有报道 MK 在甲状腺乳头状癌中的表达情况。杨鹏飞等^[11]研究表明,甲状腺恶性结节患者血清中 MK 浓度明显高于良性结节患者和正常人群。Fujiwara 等^[12]报道显示 MK 在甲状腺乳头状癌原发灶呈高表达,在癌旁组织则低表达或不表达。本研究采用免疫组化 SP 法检测 MK 在甲状腺良恶性肿瘤中的表达情况,结果显示, MK 在癌旁组、结甲组及甲癌组中表达的阳性率分别为 10.0%(4/40)、25.0%(10/40)和 75.0%(30/40),差异有统计学意义($P<0.01$)。提示 MK 在不同甲状腺组织中的阳性率不同,在甲癌组中表达水平最高,明显高于结甲组和癌旁组,与杨鹏飞、Fujiwara 等的研究一致。综上, MK

Table 2 The relationship of MK and VEGF expression with clinicopathological features of papillary thyroid carcinoma

Index	n	MK				VEGF			
		Positive case	Positive rate(%)	χ^2	P	Positive case	Positive rate(%)	χ^2	P
Gender									
Male	11	7	63.64	12.00	0.539	9	81.82	11.25	0.416
Female	29	23	79.31			18	62.07		
Age(years)									
<55	22	19	86.36	3.500	0.142	17	77.27	1.067	0.145
≥55	18	11	61.11			10	55.56		
Lymphatic metastasis									
Yes	21	19	90.48	4.923	0.044	18	85.71	2.083	0.009
No	19	11	57.89			9	47.37		
Clinical stages									
I, II	23	14	65.22	1.440	0.042	19	82.61	0.750	0.017
III, IV	17	16	88.24			8	47.06		
Diameter of tumor(cm)									
≤1.0	22	13	59.09	1.884	0.027	16	72.73	0.941	0.435
>1.0	18	17	94.44			11	61.11		

Table 3 The relationship between MK and VEGF expression in PTC

MK	VEGF		Total	r	P
	Negative	Positive			
Negative	6	4	10	0.339	0.032
Positive	7	23	30		
Total	13	27	40		

在甲状腺乳头状癌中呈高表达,且随着癌变的过程进展,其表达也逐渐增强。因此,早期检测甲状腺乳头状癌患者组织中的MK表达情况将有利于提高早期甲状腺乳头状癌的诊断率。此外,研究表明,MK在肿瘤组织中活性很高,但在正常组织中活性较低^[13-17],由于其在肿瘤组织中的特殊作用使其有望成为治疗恶性肿瘤的靶点,故对MK在甲状腺乳头状癌组织中的研究有一定的临床意义,其可能成为甲状腺乳头状癌诊治和预后的重要指标之一。

血管内皮生长因子能结合血管内皮细胞上的受体,不仅促进血管生成,而且维持肿瘤继续生长,参与肿瘤侵蚀及转移调控。有研究显示在肿瘤细胞中,WNT-β-catenin-TCF通路可以通过靶向调节miR-23b而促进VEGF的表达^[18-19],肿瘤的血管形成受多种调控因子的调节,其中VEGF作为最强的直接作用于血管内皮细胞的生长因子,对肿瘤组织内新生血管的形成起到至关重要的作用。本研究结果显示:VEGF在癌旁组、结甲组及甲癌中表达阳性率分别为2.5%、10.0%和67.5%,差异有统计学意义($P < 0.01$)。提示VEGF在不同的甲状腺组织病理中阳性

率不同,在甲状腺乳头状癌中表达程度最高。从某种意义上说明VEGF可能参与了PTC细胞间质肿瘤微环境的代谢,为肿瘤的生长和进一步浸润提供了基础,特别是肿瘤的生长和转移均依赖于体内的新生血管。VEGF的生理功能不仅包括参与各种生理性及病理性的有丝分裂活动,并能增强其作用,还包括参与肿瘤免疫逃避。肿瘤组织中VEGF通过抑制抗原递呈细胞——树突细胞的分化,和直接下调自身抗肿瘤免疫系统,以逃避肿瘤免疫功能^[20]。已有研究认为,VEGF抑制剂对晚期宫颈癌患者的生存期有延长作用,开发以VEGF为靶点的药物即靶向治疗对宫颈癌患者具有重要的临床意义,通过阻断新生血管的宫颈癌治疗模式,不仅可减少不良反应,而且可有效提高宫颈癌患者的生活质量及5年生存率。开发以VEGF为靶点的药物对甲状腺乳头状癌治疗是否亦具有重要的临床意义,有待进一步研究证实。

此外,本研究结果提示,甲状腺乳头状癌组织中MK和VEGF的表达与患者性别、年龄无关。MK和VEGF在伴有淋巴结转移的PTC中的表达显著高于不伴有淋巴结转移者。MK和VEGF表达与甲状腺乳头状癌淋巴结转移具有相关性,说明MK和VEGF能较好的反应甲状腺乳头状癌细胞的转移能力,与血管形成促进肿瘤转移、参与转移调控的理论是一致的。Shao等^[21]报道,MK强阳性和高表达与甲状腺乳头状癌的甲状腺包膜外侵犯、淋巴结转移和

肿瘤中晚期分期等临床病理特征相关。有研究表明, MK 免疫组化染色结果的阳性程度可用于 PTC 和结甲的鉴别, 以及对是否发生转移的预测^[22]。与本研究结果相符。分析其原因, 可能是 MK 在甲状腺乳头状癌发生发展、淋巴结转移过程中发挥了重要的促进作用, MK 有可能通过抑制细胞凋亡, 从而保护细胞, 进而达到增殖细胞的作用, 也可能是作为一类拮抗细胞凋亡的因子, 其具体作用机制有待进一步研究。有资料显示, VEGF 在乳腺癌的发生、发展中发挥着重要作用, 并且 VEGF 阳性表达率与淋巴结转移呈正相关。综上, MK 和 VEGF 表达程度越高的患者, 发生肿瘤转移和复发的风险更大。MK 与 VEGF 表达呈正相关 ($r=0.339, P=0.032$), 推测 MK 和 VEGF 蛋白之间可能存在一定的协同作用效应, 但具体的机制还需要进一步探讨。

综上所述, MK 和 VEGF 在甲状腺乳头状癌组织中均高表达, 且 MK 和 VEGF 与甲状腺乳头状癌淋巴结转移、临床分期相关, 联合检测可能成为甲状腺乳头状癌早期诊断、治疗和预后的重要指标。

参考文献:

- [1] Wang WN, Zhao CL, Liang YM, et al. Primary mucinous carcinoma of the thyroid: a clinicopathological feature analysis and literature review[J]. *Cancer Res Clin*, 2015, 27(9): 632-634.
- [2] Liu FX, Xia QS, Qiu J, et al. The expression and clinical significance of C-myc and p53 in thyroid papillary carcinoma[J]. *Journal of Chinese Oncology*, 2015, 21(4): 320-324.
- [3] Jham BC, Costa NL, Silva JM, et al. Midkine expression in oral squamous cell carcinoma and leukoplakia [J]. *Oral Pathol Med*, 2012, 41(1): 21.
- [4] Zhao S, Zhao G, Xie H, et al. A conjugate of an antimidkine single-chain variable fragment to doxorubicin inhibits tumor growth[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2012, 45(3): 230.
- [5] Shi YQ, Qu J, Wang XY, et al. Expression of RAS, Gal-3, CK-19 and its clinical significance in patients with hashimoto's thyroiditis complicated with papillary thyroid carcinoma [J]. *Internal Medicine of China*, 2017, 12(2): 161-163, 170. [石毅琼, 瞿旻, 王昕钰, 等. 桥本甲状腺炎合并乳头状甲状腺癌患者 RAS、Gal-3 和 CK-19 的表达及临床意义[J]. *内科*, 2017, 12(2): 161-163, 170.]
- [6] Moon HS, Park WI, Sung SH, et al. Immunohistochemical and quantitative competitive PCR analyses of midkine and pleiotrophin expression in cervical cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2003, 88(3): 289-297.
- [7] Tsutsui J, Kadomatsu K, Matsubara S, et al. A new family of heparin-binding growth/differentiation factors: increased midkine expression in Wilms' tumor and other human carcinomas[J]. *Cancer Res*, 1993, 53(6): 1281-1285.
- [8] Ohhashi S, Ohuchida K, Mizumoto K, et al. Midkine mRNA is overexpressed in pancreatic cancer[J]. *Dig Dis Sci*, 2009, 54(4): 811-815.
- [9] Ren YJ, Zhang QY. Expression of midkine and its clinical significance in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(13): 2006-2010.
- [10] Zhou WM, Zhong J, Min LS, et al. Expression and Clinical Significance of Medium-term Factor in Serum of Patients with Breast Cancer [J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2014, 31(1): 146-148. [周伟民, 钟婧, 闵丽娜, 等. 中期因子在乳腺癌患者血清中的表达及临床意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2014, 31(1): 146-148.]
- [11] Yang PF, Li J, Zhang JZ, et al. Detection of serum Midkine in patients with thyroid nodules and its clinical significance [J]. *Journal of Hubei University of Science and Technology (Medical Edition)*, 2016, 30(1): 7-10. [杨鹏飞, 李娟, 张建中, 等. 甲状腺结节患者血清 Midkine 检测及其临床意义[J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2016, 30(1): 7-10.]
- [12] Fujiwara K, Horiguchi K, Maliza R, et al. Expression of the heparin-binding growth factor midkine and its receptor, Ptpzrl, in adult rat pituitary[J]. *Cell Tissue Res*, 2015, 359: 909-914.
- [13] Gao K, Ding L, Li L, et al. Analysis of the efficacy and prognostic factors of intensity-modulated radiotherapy for patients with advanced cervical cancer[J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2014, 49(1): 30-35. [高琨, 丁丽, 李力, 等. 中晚期宫颈癌患者调强放疗的疗效及预后影响因素分析 [J]. *中华妇产科杂志*, 2014, 49(1): 30-35.]
- [14] Gao X, Zhang SL. Expression and clinical significance of BMI-1 gene and protein in cervical cancer [J]. *Journal of Chinese Medical University*, 2011, 40(8): 719-721. [高翔, 张淑兰. BMI-1 基因和蛋白在子宫颈癌中的表达和临床意义[J]. *中国医科大学学报*, 2011, 40(8): 719-721.]
- [15] Wang LY, Yang ZC, Yang Z, et al. Expression and significance of FOXC1 protein in cervical cancer and endometrial cancer [J]. *Journal of Chongqing Medical University*, 2010, 35(4): 497-500. [王露颖, 杨正才, 杨竹, 等. FOXC1 蛋白在子宫颈癌及子宫内膜癌中的表达及意义[J]. *重庆医科大学学报*, 2010, 35(4): 497-500.]
- [16] Shen Z, Zhou Y, Zhao WD, et al. Expression of Vimentin and E-Cadherin in cervical cancer and their correlation with epithelial interstitialization[J]. *Journal of Anhui Medical University*, 2013, 48(5): 505-508. [申震, 周颖, 赵卫东, 等. Vimentin 及 E-Cadherin 在子宫颈癌中的表达及其与上皮细胞间质化的相关性[J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(5): 505-508.]
- [17] Song EL, Wang ML, Xiong XJ, et al. Relationship between AEG-1 expression and microangiogenesis in cervical cancer tissue[J]. *Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2014, 30(7): 717-720. [宋恩霖, 王茂梅, 熊秀娟, 等. 子宫颈癌组织中 AEG-1 表达与微血管生成的关系 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2014, 30(7): 717-720.]
- [18] Chen L, Han L, Zhang K, et al. VHL regulates the effects of miR-23b on glioma survival and invasion via suppression of HIF-1 α /VEGF and β -catenin/Tcf-4 signaling[J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14: 1026-1036.
- [19] Hwang I, Kim J, Jeong S. β -Catenin and peroxisome proliferator-activated receptor- δ coordinate dynamic chromatin loops for the transcription of vascular endothelial growth factor Agene in colon cancer cells [J]. *Biol Chem*, 2012, 30: 41364-41373.
- [20] Da SL, Neves BM, Moura L, et al. Neurotensin downregulates the pro-inflammatory properties of skin dendritic cells and increases epidermal growth factor expression[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2011, 1813(10): 1863-1871.
- [21] Shao H, Yu X, Wang C, et al. Midkine expression is associated with clinicopathological features and BRAF mutation in papillary thyroid cancer[J]. *Endocrine*, 2014, 46(2): 285-291.
- [22] Zhang Y, Meng Z, Zhang M, et al. Immunohistochemical evaluation of midkine and nuclear factor-kappa B as diagnostic biomarkers for papillary thyroid cancer and synchronous metastasis[J]. *Life Sci*, 2014, 118(1): 39-45.