

缺氧微环境对乳腺癌骨转移机制的研究进展

邵 为 林 涛 仲海燕 徐恩杰 周许辉

摘 要 由于肿瘤细胞快速增殖的特性,增加了对氧的需求,大多数实体瘤都处于缺氧微环境中;尤其是定植在远离血供部位的肿瘤细胞,会进一步加剧这种缺氧的状态。低氧诱导因子(hypoxia-inducible factors, HIFs)是一类重要的氧依赖转录激活因子,它的表达可以促使肿瘤细胞适应这种缺氧微环境,并且 HIFs 可以进一步转录调控多种与乳腺癌细胞侵袭和转移相关的基因,因而肿瘤组织活检发现该因子有高表达则可以认为该肿瘤具有较高的转移风险。本文从调控肿瘤转移的不同阶段,即侵犯、迁移、边集、外渗以及巢信号和骨微环境调控等方面对低氧微环境在乳腺癌骨转移中的作用进行综述。

关键词 缺氧微环境 乳腺癌 骨转移 机制

中图分类号 R5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.05.005

乳腺癌是女性人群中最常见的恶性肿瘤之一,大约有 6% 的乳腺癌患者在初次就诊时候已经发生了转移,转移最常见的是骨转移,也可转移至肺、肝脏和脑^[1,2]。超过 90% 的乳腺癌患者死于肿瘤转移,这也从侧面反映了目前缺乏有效的手段来预测乳腺癌的转移部位。

一、乳腺癌转移

有研究者采用乳腺癌转移的小鼠模型,结合原发灶及转移瘤组织及基因分析,建立了特异的基因表达标签,用来预测乳腺癌是否会发生骨、肺和脑转移^[3,4]。结果显示,不同基因表达决定了转移器官的特异性。该研究进一步将乳腺癌转移部位与乳腺癌内在的 5 种分子亚型相互关联,即表达细胞腔或者上皮标志物的细胞腔 A 型(luminal A)和细胞腔 B 型(luminal B),过表达 ERBB2 致癌基因的 HER-2neu 型,与正常乳腺分子表型相似的正常相似型(normal-like),以及高表达肌上皮或间叶细胞标志物的基底相似型(basal-like)^[4]。

研究表明,基底型发生脑、肺和远处淋巴结转移的概率较高,但发生骨转移的概率较低^[3]。对于乳腺癌转移的器官特异性的可能机制,目前的研究认为这取决于肿瘤到特异器官的血流类型以及肿瘤细胞的归巢能力,而归巢到器官的过程进一步受到靶器官化学诱导因子,黏附分子和肿瘤细胞表面相关受体的调控。乳腺癌骨转移会导致机体原有的由破骨细胞

介导的骨重吸收以及由成骨细胞介导的骨形成之间失去平衡。骨转移瘤根据影像学表现不同分为溶骨性的和成骨性的转移瘤,乳腺癌骨转移主要表现为溶骨性的转移瘤^[5]。

二、缺氧微环境与乳腺癌

瘤内缺氧是一个独立于临床诊断和分期的判断疾病预后标志之一^[6]。瘤内缺氧通常发生在实体瘤细胞增殖并且氧消耗增加的时候。由于实体瘤内部血管结构和功能的异常,可获得的氧气量会相应减少,有数据显示,乳腺癌实体瘤中氧分压(PO_2)范围为 2.5 ~ 28.0mmHg (1mmHg = 0.133kPa),平均 PO_2 为 10mmHg,而正常乳腺组织为 60mmHg,并且 $PO_2 < 10$ mmHg 与肿瘤的转移瘤和致死率有相关性^[7]。

肿瘤细胞在应对缺氧微环境时候会激活缺氧诱导因子,即 HIF-1 和 HIF-2。HIF-1 由一种氧调控的 HIF-1 α 亚基和一种结构性表达的 HIF-1 β 亚基组成,起到一种异质蛋白的作用^[8]。在生理氧浓度状态下,HIF-1 α 亚基被羟基化到脯氨酸残基 564 和(或)402,从而导致 von Hippel-Lindau(VHL)E3 泛素连接酶复合体引导 HIF-1 α 与蛋白酶结合从而发生降解。3 种氧依赖的多聚羟化酶[PHD1(多聚羟化酶结构域 1)、PHD2 和 PHD3]控制 HIF 蛋白丰富度。在低氧状态下,多聚羟化酶表达下降,从而导致 HIF-1 α 富集并且与 HIF-1 β 形成二聚体^[9]。HIF-1 异质二聚体结合到缺氧应答基因的 DNA 序列 5'-RCGTG-3'端,并与如 p300 之类的共激活蛋白共同作用,从而转录激活 HIF-1 目标基因。HIF-2 α 的调控方式与 HIF-1 α 类似,也是与 HIF-1 β 结合形成 HIF-2 异质二聚体。虽然 HIF-1 α 与

基金项目:国家自然科学基金资助项目(U1603118)

作者单位:200003 上海,第二军医大学长征医院脊柱外科

通讯作者:周许辉,电子信箱:xhzhouspine@163.com

HIF-2 α 在序列上有极高的相似性,但 HIF-2 仅能转录激活部分由 HIF-1 激活的基因。HIF 目标基因包括许多与肿瘤转移相关的基因,提示该基因可能与乳腺癌患者预后不良相关。如果不考虑淋巴结转移的问题,那么 HIF-1 α 在肿瘤组织中高表达的乳腺癌患者比低表达的患者预后较差^[10]。

实体瘤缺氧微环境的发现使得研究者开始探究 HIFs 在乳腺癌转移中的作用。例如,乳腺上皮细胞 HIF-1 α 敲除的乳腺癌小鼠肺转移瘤的发生率明显低于对照组乳腺癌小鼠。将原位移植的人类乳腺癌细胞注射到有免疫缺陷的小鼠乳房脂肪垫中,发现 HIF-1 在乳腺癌血路转移至肺组织的过程中有很重要的作用。因此,寻找能够尽早识别出可以促进肿瘤转移的缺氧微环境的方法是非常有研究前景的。另外最近的一些综述也阐述了缺氧微环境可以促使骨转移瘤的生成^[3]。

三、缺氧微环境加剧乳腺癌骨转移过程

肿瘤细胞可以通过血管或淋巴管途径,经过侵蚀邻近组织,从而到达血液进行扩散。因此,肿瘤细胞能够迁移侵蚀周围组织,必须减少细胞间的连接作用,降解细胞基质(ECM),并且进入血管或者淋巴管,这就是内渗作用。肿瘤细胞只能在循环中存活,而骨转移瘤要想发生,癌细胞必须黏附到骨髓毛细血管,通过外渗作用定植于骨髓间隙。许多研究证实,肿瘤要想转移并在远处器官中存活,必须要有适合转移的微环境^[11]。但是在肿瘤进展过程中,癌细胞何时、何地以及如何转移不得而知。肿瘤的转移很可能发生在原发肿瘤演变的早期,甚至发生在侵蚀作用以前。另一方面,转移也可以发生在晚期,这是由于肿瘤细胞对于转移部位微环境的需要很长的适应过程。因此,无论是在原发部位还是在转移部位,潜在的缺氧微环境都是促使肿瘤细胞向远处器官转移的重要信号。例如在骨组织中,由于其存在极大的氧梯度,扩散的肿瘤细胞可以在骨髓中感受到这种缺氧微环境^[11]。

一项纳入了 83 例无淋巴结及明显的远处转移的乳腺癌患者的研究发现,HIF-1 α 蛋白在肿瘤原发部位中的高表达与骨髓穿刺液中是否存在癌细胞有相关性^[1]。这些存在于骨髓中的早期转移的癌细胞预示了术后在骨组织和其他器官会发生明显的转移,更进一步说明了 HIF-1 α 在早期转移中的作用。HIF-1 α 在乳腺癌骨转移的机制在小鼠模型中得到了进一步研究,研究者采用持续表达 HIF-1 α 阴性

产物的 MDA-MB-231 细胞进行研究,将 MDA-MB-231 亚克隆细胞注射到免疫缺陷小鼠的左心室,让其随着血液循环在骨中形成克隆体。结果发现,肿瘤区域以及长骨血管密度随着细胞中 HIF-1 表达量减少而显著减少;采用 shRNA 技术敲除 HIF-1 α 也同样观察到溶骨性缺损的减少,癌转移区血管密度减少,以及生存时间的延长。研究者进一步将 C3H10T1/2 鼠胚胎成纤维母细胞以及鼠初级颅骨成骨细胞暴露于缺氧微环境或者持续激活 HIF-1 α 的表达,发现细胞的分化受到抑制,并能促进破骨细胞形成^[12]。

四、缺氧微环境与上皮-间叶细胞转化(EMT)

上皮间叶细胞转化(EMT)指的是上皮细胞失去极性并且向间叶细胞形态转化,是肿瘤细胞发生转移的重要方式^[13]。与 EMT 相关的缺氧诱导基因已经被证实存在于多种癌细胞中。相关基因包括 SNAIL1、SLUG(SNAIL2)和 TWIST 可以下调上皮细胞钙黏蛋白表达,这种蛋白对于黏附连接很重要,在细胞间的黏附以及组织结构的维持起到重要功能。上皮细胞钙黏蛋白表达的丧失或减少通常发生在晚期癌组织侵袭性的头端^[14]。许多针对乳腺癌的细胞学的研究表明,缺氧微环境会导致上皮细胞钙黏蛋白、SNAIL1 和 SLUG 的转录抑制因子表达增加,这一过程受到 NOTCH1 信号通路以及由 SNAIL1 和 SLUG 操纵子转录激活的 HIF-1 调控^[15]。另有研究表明,在 MDA-MB-231 骨转移衍生细胞系(BO1833)中,上皮细胞钙黏蛋白通过 HIF-1 依赖的 PPAR- γ 途径的调控会上调其表达。

HIF-1 α 可以直接调控乳腺癌细胞中 TWIST 的表达。在胚胎发育过程中,TWIST 可以促进原肠胚的形成以及中胚层的分化。在乳腺癌中,TWIST 的表达会导致上皮细胞钙黏蛋白介导到的细胞间的黏附作用丧失,间叶细胞标志物上调,以及诱导细胞能动性。体外实验中,缺氧微环境或者 HIF-1 α 过表达会通过 TWIST 机制诱导非转移性乳腺癌产生转移表型;TWIST 微小干扰 RNA(siRNA)可以逆转该效应^[15]。除了 TWIST 之外,AXL(一种受体酪氨酸激酶)最近被证实为一种新 HIF 靶基因,它可以促进 VHL 缺乏或缺氧微环境中的癌细胞的 EMT、侵袭和转移。最新的文献进一步证实了 AXL 可以促进许多种类的癌细胞发生转移,包括乳腺癌、卵巢癌以及肺癌^[3]。

转录抑制因子 ZEB1 被认为具有启动癌细胞骨转移的潜能,ZEB1 通过激活 MMP-1 诱导破骨细胞

的形成;ZEB1 还可促进 BMP 抑制基因的转录,并可以通过 miR-200 家族间接抑制 BMP 抑制子的降低。最后,ZEB1 基因表达可以促进由 BMP 抑制子介导的破骨细胞分化。在大肠癌细胞中,HIF-1 α 可以直接结合到 ZEB1 近端操纵子中的缺氧应答原件(HRE),从而导致 ZEB1 转录激活和表达增加。另外,ZEB1 基因表达的下调可以抑制由 HIF-1 α 诱导的 EMT 和细胞侵袭^[16]。

五、HIF 调控的肿瘤侵袭和内渗作用

研究发现,实体瘤的侵袭端可以检测到 HIF-1 α 高表达。侵袭性肿瘤细胞可以通过激活的金属蛋白酶基质(MMPs)以及肽链内切酶降解基膜(ECM)。MMP-2 和 MMP-9 可以降解作为基膜主要成分的 IV 型胶原纤维。缺氧可以通过 HIF-1 过程增加 MMP-2 和 MMP-9 的表达及活性,而乳腺癌中 MMP-2 水平增加与预后不良具有相关性^[17]。缺氧微环境除了会导致由胞外蛋白裂解作用激活的分泌型 MMPs 产生量增加外,也会诱导肿瘤细胞膜通过直接将 HIF-2 结合到 MMP14 基因位点的 HRE 来连接 MT1-MMP。

虽然 ECM 被蛋白酶降解已经被证实为肿瘤细胞侵袭的一个重要机制,但是近年来研究表明,胶原纤维(尤其是 I 型胶原纤维)可以在细胞侵袭过程中提供迁移途径。在进展型乳腺癌的小鼠模型的组织中发现,乳腺癌表现为局部胶原纤维沉积增加,这可能在肿瘤早期就已经形成。随着肿瘤体积增加,胶原纤维逐渐被强化、成束以及排列成线性^[18]。许多研究观察到肿瘤细胞更倾向于沿着胶原纤维束进行侵袭。另外,胶原纤维排列成线型的类型及程度对于乳腺癌具有评估其预后的价值。

在乳腺癌中,HIF-1 α 可以促进胶原纤维的生物合成以及线性排列,该过程是在缺氧微环境中,通过转录激活胶原脯氨酰基(P4HA1、P4HA2)以及胶原赖氨酰基(PLOD1、PLOD2)羟化酶而实现的,同时赖氨酰氧化酶家族(LOX、LOXL2 和 LOXL4)也参与了该过程^[6]。适当的羟基化作用可以促使新合成的前胶原多肽链折叠成稳定的三螺旋结构,接着该产物会分泌到细胞外间隙之中。在人类乳腺癌细胞种植的免疫缺陷小鼠模型中,无论敲除 HIF-1 α 、P4HA1 或 P4HA2 哪一个基因,都会导致肿瘤纤维化减少,同时无论敲除 P4HA1 或 P4HA2 中哪一个基因都会使得癌细胞完全失去肺和淋巴结转移特性^[19]。然而,敲除 PLOD2 基因并不会抑制胶原纤维的沉积,但是

会使得胶原纤维形成交联,从而影响乳腺癌的转移。

六、缺氧微环境与外渗作用

外渗作用包括对肿瘤细胞黏附到血管内皮细胞的调控,而 HIF 基因可以促进外渗作用。L1CAM 是一种可以被 HIFs 转录激活的蛋白,具有通过与整合素、神经纤毛蛋白抗体 1 和 CD24 的嗜同种作用或异嗜性作用产生的细胞黏附作用。研究表明,乳腺癌细胞暴露在缺氧环境中 48h 就会增加对于血管内皮细胞(endothelial cell,ECs)的黏附,而不表达 HIF-1 或者 L1CAM 的则会减少对 ECs 的黏附。采用细胞工程学的方法使得 MDA-MB-231 细胞中 HIF-1 的表达水平低于基线水平并将 L1CAM 过表达,接着将该细胞注入小鼠循环系统,与注入正常的 MDA-MB-231 小鼠比较,外渗作用有所增强^[20,21]。缺氧也会诱导与 L1CAM 蛋白相互作用的 CD24 的表达,而 HIF-1 α 过表达会增加 CD24 的 mRNA 和蛋白水平。与 L1CAM 相似,shRNA 的表达会减少 CD24 的水平进而减少肿瘤转移,而在 HIF-1 α 敲除癌细胞中 CD24 会显著过表达。虽然这些实验并未在乳腺癌细胞中进行,但是根据免疫组化的结果,早期侵袭性乳腺癌的不良预后与 CD24 的表达相关。以上研究说明,HIF-1 具有调控 CD24 在乳腺癌中过表达的潜能。另外也有研究表明,血管生成素样类似物 4(ANGPTL4)与 L1CAM 作为 HIF 诱导的蛋白也被证实参与了乳腺癌细胞的外渗作用^[21]。

七、缺氧与骨组织归巢微环境

乳腺癌细胞归巢到转移部位可能是肿瘤细胞趋化因子受体和靶器官配体分泌的共同引导的作用。基质细胞源性因子 1(SDF-1)/趋化因子受体(CXCR4)信号复合体在骨转移中可能起到重要的作用。例如,SDF-1 在骨髓基质细胞中十分丰富。表达编码 SDF-1 和 CXCR4 的基因在多种细胞中均会受到缺氧状态下 HIF 依赖途径的诱导^[18]。在体外实验中利用 srRNA 抑制 CXCR4 的表达,或者用相应抗体或者肽链进行中和封闭,可以抑制肿瘤肺转移。另外,SDF-1/CXCR4 在缺氧微环境中会合成小管,乳腺癌细胞会黏附到 ECs 上并且通过 HIF 依赖途径刺激跨越内皮细胞迁移。抑制 CXCR4 或者用 SDF-1 中和抗体处理 ECs 后,乳腺癌细胞黏附及通过人类脐静脉上皮细胞(HUVEC)迁移显著减少。因此,CXCR4 可以作为一种用来预测存在内脏转移的乳腺癌患者是否会发生骨转移的标志物^[5,19]。缺氧微环境,HIF 依

赖表达的趋化因子,以及相应的配体如 CXCR6、CCR5 和 CCL5 已经被证实可以增强乳腺癌细胞直接迁移能力。除了 CXCR4 之外,CTGF 和骨桥蛋白(OPN)也是癌细胞归巢或黏附到骨组织的重要基因^[22,23]。

八、在骨组织中缺氧微环境对破骨细胞的调控

骨组织包含多种骨髓源性的细胞(BMDCs),包括造血干细胞、间叶细胞、内皮细胞,以及骨组织缺氧区域。一旦癌细胞到达骨髓,该细胞就会黏附到骨基质,并且促进破骨细胞形成,从而形成肿瘤的骨转移,其中骨组织中的缺氧微环境也发挥着相应的作用。例如,HIF-1 α 受到缺氧而激活,从而促进骨原始细胞聚集,并且影响成骨细胞和破骨细胞的分化以及活性。乳腺癌细胞产生的细胞因子作用于骨组织微环境的宿主细胞,从而促进破骨细胞生成,增强骨重吸收作用。有趣的是,缺氧微环境可以诱导前列腺、乳腺以及结肠癌细胞中甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)的分泌以及基因的表达。乳腺癌细胞中 PTHrP 的表达可以破坏溶解骨组织。PTHrP 的转录可以由 HIF-2 α 通过结合 PTHrP 基因操纵子区域中缺氧应答原件进行增强^[7,20]。

由于肿瘤细胞在骨组织中可以保留于缺氧微环境,PTHrP 的分泌可以在骨组织中增强。PTHrP 的表达量为原位肿瘤中的 60%,但在正常乳腺组织中不表达。一项对照研究发现,乳腺癌骨转移患者的原发病灶中可以检测到 92% 的 PTHrP 阳性率,而非骨转移癌患者的骨组织中仅为 17%,这说明 PTHrP 在原发灶中的表达可以促进肿瘤在骨组织中倾向性定植和生长。核因子(NF- κ B)受体激活剂配体(RANKL)以及其同源受体 RANK 是调控破骨细胞功能和生存的重要调节因子。有研究表明,抑制 RANKL 可以阻止肿瘤诱导的破骨细胞生成,保护骨组织免于破坏,并且可以抑制骨转移癌的进展。缺氧微环境可以诱导 RANK 和 RANKL 的 mRNA 以及蛋白在 MDA-MB-231 以及 MCF-7 乳腺癌细胞中生成,并且可以加速 RANKL 介导的癌细胞迁移。除了 RANKL 外,缺氧还可以诱导肾上腺髓质激素的生成,从而可以促进乳腺癌细胞在骨组织中的增殖,扩大骨转移癌形成的溶骨性缺损。

综上所述,目前关于乳腺癌的研究多采用肺作为转移靶器官的模型,而对于骨转移的模型较少有报道。值得注意的是如果要进一步证实动物模型中转移癌研究的相关结论,必须要获得转移癌患者相应组织标本,由于治疗手段及伦理学的限制,相关工作较

难开展。虽然缺氧微环境在乳腺癌转移的作用仍未明确,但是众多研究表明,缺氧诱导的相关基因的表达在促进乳腺癌骨转移中发挥了重要的作用。HIF-1 α 的表达水平有望成为乳腺癌患者预后不良的独立预测因素,该指标对于预测乳腺癌转移的危险度具有重要意义。因此,后续对于缺氧微环境导致乳腺癌转移特异性的相关机制研究仍然十分重要,这或许可以成为治疗乳腺癌转移的新靶点。

参考文献

- Walker ND, Patel J, Munoz JL, *et al.* The bone marrow niche in support of breast cancer dormancy [J]. *Cancer Lett*, 2016, 380(1): 263-271
- Contag CH, Lie W, Bammer MC, *et al.* Cancer cells and human bone tissue in a co-culture model [J]. *Mol Imaging Biol*, 2014, (September 2013): 158-166
- Johnson RW, Sowder ME, Giaccia AJ. Hypoxia and bone metastatic disease [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2017, 15(4): 231-238
- Robinson PC, Benham H. Advances in classification, basic mechanisms and clinical science in ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis [J]. *Intern Med J*, 2015, 45(2): 127-133
- Li B, Wong M, Pavlakis N. Treatment and prevention of bone metastases from breast cancer: a comprehensive review of evidence for clinical practice [J]. *J Clin Med*, 2014, 3(1): 1-24
- Kan C, Vargas G, Le Pape F, *et al.* Cancer cell colonisation in the bone microenvironment [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(10): 1674
- Sceneay J, Parker BS, Smyth MJ, *et al.* Hypoxia-driven immunosuppression contributes to the pre-metastatic niche [J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(1): e22355
- Wilson C, Holen I, Coleman RE. Seed, soil and secreted hormones: potential interactions of breast cancer cells with their endocrine/paracrine microenvironment and implications for treatment with bisphosphonates [J]. *Cancer Treat Rev*, 2012, 38(7): 877-889
- Futakuchi M, Fukamachi K, Suzui M. Heterogeneity of tumor cells in the bone microenvironment: mechanisms and therapeutic targets for bone metastasis of prostate or breast cancer [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 99: 206-211
- Zhang XH, Jin X, Malladi S, *et al.* Selection of bone metastasis seeds by mesenchymal signals in the primary tumor stroma [J]. *Cell*, 2014, 154(5): 1060-1073
- Semenza GL. The hypoxic tumor microenvironment: a driving force for breast cancer progression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(3): 382-391
- Sosnoski DM, Norgard RJ, Grove CD, *et al.* Dormancy and growth of metastatic breast cancer cells in a bone-like microenvironment [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2015, 32(4): 335-344
- Wei W, Yaguang W, Wei R, *et al.* Biological roles of human bone morphogenetic protein 9 in the bone microenvironment of human breast cancer MDA-MB-231 cells [J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(9): 1660-1674

表现的早期肺部恶性肿瘤起到重要的辅助诊断作用。

对于恶性亚厘米 SPN 的术式尚不完全一致。目前普遍接受的是,如果术中快速冷冻病理报告浸润癌,应该考虑做肺叶切除^[1-4,12,13]。但还应该结合患者的具体病情和身体耐受情况。

虽然本研究的病例数较少,但对于缺乏影像学特征的亚厘米 SPN 患者,CTC 检测能够起到重要的辅助诊断作用,提高早期肺癌诊断率,实现早期肺癌的精准治疗。这一结论还有待于多中心、大数据的验证。辅助 CTC 检测还能够减少亚厘米 SPN 患者复查胸部 CT 扫描次数和缩短复查随访时间。本研究所有患者复查胸部 CT 扫描不超过 3 次,从首诊到手术时间少于 6 个月(平均 4.2 个月)。文献报告中有患者随访时间为 72 个月^[2-7]。减少了胸部 CT 扫描对患者的放射性损伤,而且在某种程度上解除或缓解了患者的心理压力。

参考文献

- 1 Sakurai H, Nakagawa K, Watanabe S, *et al.* Clinicopathologic features of resected subcentimeter lung cancer [J]. *Ann Thorac Surg*, 2015, 99(5):1731-1738
- 2 苏雷,支修益,张毅,等.亚厘米肺结节的外科诊疗分析[J].中国微创外科杂志,2017,17(1):11-14
- 3 Shin KE, Lee KS, Yi CA, *et al.* Subcentimeter lung nodules stable for 2 years at LDCT: long-term follow-up using volumetry [J]. *Respirology*, 2014, 19(6):921-928
- 4 Van Schil PE. How to deal with subcentimeter lung cancer: a moving target [J]. *Thorac Dis*, 2016, 8(10):E1221-E1225
- 5 Flores R, Bauer T, Aye R, *et al.* Balancing curability and unnecessary surgery in the context of computed tomography screening for lung cancer [J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 147(5):1619-1626
- 6 苏雷,支修益,张毅,等.胸腔镜治疗孤立性肺小结节的分析[J].

首都医科大学学报,2015,36(4):525-528

- 7 苏雷,支修益,张毅,等.胸腔镜辅助治疗孤立性肺结节 120 例分析[J].中国微创外科杂志,2013,13(11):966-973
- 8 Patel VK, Naik SK, Naidich DP, *et al.* A practical algorithmic approach to the diagnosis and management of solitary pulmonary nodules: part 1: radiologic characteristics and imaging modalities [J]. *Chest*, 2013, 143(3):825-839
- 9 Christoph DC, Asuncion BR, Hassan B, *et al.* Significance of folate receptor alpha and thymidylate synthase protein expression in patients with non-small-cell lung cancer treated with pemetrexed [J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(1):19-30
- 10 连欢欢,丁志丹,袁东风,等.应用 FR 靶向 PCR 法检测 CTC 在肺癌诊断中的临床价值:初步研究[J].中国肺癌杂志,2016,19(12):813-820
- 11 Bak SH, Lee HY, Kim JH, *et al.* Quantitative CT scanning analysis of pure ground-glass opacity nodules predicts further CT scanning change [J]. *Chest*, 2016, 149(1):180-191
- 12 Tsutani Y, Miyata Y, Nakayama H, *et al.* Appropriate sublobar resection choice for ground glass opacity dominant clinical stage IA lung adenocarcinoma. Wedge resection or segmentectomy [J]. *Chest*, 2014, 145(1):66-71
- 13 Gupta S, Chandrakumar D. Meta-analysis of intentional sublobar resections versus lobectomy for early stage non-small cell lung cancer [J]. *Ann Cardiothorac Surg*, 2014, 3(2):134-141
- 14 Travis WD, Brambilla E, Burke AP, *et al.* International association for the study of lung cancer/American thoracic society/European respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma [J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(2):244-285
- 15 Wang L, Wu C, Qiao L, *et al.* Clinical significance of folate receptor-positive circulating tumor cells detected by ligand-targeted polymerase chain reaction in lung cancer [J]. *Cancer*, 2017, 8(1):104-110

(收稿日期:2018-08-01)

(修回日期:2018-08-01)

(上接第 19 页)

- 14 Bussard KM, Mastro AM. Ex-vivo analysis of the bone microenvironment in bone metastatic breast cancer [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2009, 14(4):387-395
- 15 Liu W, Vivian CJ, Brinker AE, *et al.* Microenvironmental influences on metastasis suppressor expression and function during a metastatic cell's journey [J]. *Cancer Microenviron*, 2014, 7(3):117-131
- 16 Wu C, Yang S, Sun Z, *et al.* Characterization of the attenuation of breast cancer bone metastasis in mice by zoledronic acid using 99mTc bone scintigraphy [J]. *Pathol Oncol Res*, 2014, 20(3):747-754
- 17 Arrigoni C, Bersini S, Gilardi M, *et al.* In vitro co-culture models of breast cancer metastatic progression towards bone [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9):E1405
- 18 Haider M, Holen I, Dear TN, *et al.* Modifying the osteoblastic niche with zoledronic acid in vivo - potential implications for breast cancer bone metastasis [J]. *Bone*, 2014, 66:240-250

- 19 Steinman RA, Brufsky AM, Oesterreich S. Zoledronic acid effectiveness against breast cancer metastases - a role for estrogen in the microenvironment [J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(5):213
- 20 Wan S, Liu Y, Weng Y, *et al.* BMP9 regulates cross-talk between breast cancer cells and bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2014, 37(5):363-375
- 21 Bliss SA, Sinha G, Sandiford OA, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes stimulate cycling quiescence and early breast cancer dormancy in bone marrow [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(19):5832-5844
- 22 吴玲,王佳,吴英,等.乳腺癌骨转移过程中的分子机制[J].中国肿瘤外科杂志,2017,9(1):55-57
- 23 麻丽珍,陈勇,叶冠东,等.乳腺癌细胞骨形态形成蛋白、骨桥蛋白表达与乳腺癌细胞的侵袭性及转移性的关系[J].广西医科大学学报,2016,33(3):473-475

(收稿日期:2017-10-12)

(修回日期:2018-09-12)