

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2022.06.008

脑源性神经营养因子 在下咽鳞状细胞癌中的表达及临床意义*

任艳茹¹ 檀子峤² 姚孟薇² 杨欣欣² 徐 静² 李晓瑜^{2Δ}(¹ 济宁医学院临床医学院, 济宁 272013; ² 济宁医学院附属医院, 济宁 272029)

摘 要 **目的** 探讨脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 在下咽鳞状细胞癌 (Hypopharyngeal squamous cell carcinoma, HSCC) 组织中的表达及其与 HSCC 患者临床病理学特征的关系, 分析 BDNF 与下咽癌侵袭转移能力的关系。**方法** 收集 2013 年 4 月-2016 年 12 月 HSCC 患者 33 例的病理和临床资料, 免疫组织化学染色 (IHC) 方法检测 33 例 HSCC 患者癌组织、22 例癌旁组织及 12 例非癌患者正常咽部黏膜上皮中 BDNF 的表达水平。Transwell 侵袭实验检测外源性 BDNF 对下咽癌 FaDu 细胞系侵袭能力的影响。**结果** BDNF 蛋白在 HSCC 癌组织中的表达显著高于癌旁组织及正常咽部黏膜组织, 差异具有统计学意义 ($P < 0.0125$); BDNF 蛋白在 HSCC 癌旁组织中的表达明显高于正常咽部黏膜组织, 差异具有统计学意义 ($P < 0.0125$); HSCC 癌组织标本中 BDNF 蛋白的表达与肿瘤直径、分化程度、是否淋巴结转移及临床分期相关 ($P < 0.05$), 与性别、年龄及浸润深度无关 ($P > 0.05$); Transwell 侵袭实验添加外源性 BDNF 的实验组对比未添加外源性 BDNF 的对照组, 外源性 BDNF 明显增强 FaDu 细胞的侵袭能力, 两组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** BDNF 蛋白在 HSCC 癌组织中表达水平与肿瘤直径、分化程度、淋巴结转移及临床分期相关; BDNF 蛋白可促进 FaDu 细胞的侵袭转移能力。

关键词 下咽鳞状细胞癌; 脑源性神经营养因子; 侵袭转移能力

中图分类号: R766 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2022)12-418-06

Expression and significance of BDNF in hypopharyngeal squamous cell carcinoma

REN Yanru¹, TAN Ziqiao², YAO Mengwei², YANG Xinxin², XI Jing³, LI Xiaoyu^{2Δ}(¹ School of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining 272013, China; ² Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in hypopharyngeal squamous cell carcinoma (HSCC) and its relationship with clinicopathological features of HSCC, and to analyze the relationship between BDNF and invasion and metastasis of hypopharyngeal carcinoma. **Methods** The pathological and clinical data of 33 patients with HSCC who underwent surgery in the Department of Otorhinolaryngology of our hospital from April 2013 to December 2016 were collected. Immunohistochemical staining (IHC) was used to detect the expression of BDNF in 33 cases of HSCC patients, 22 cases of paracancerous tissues and 12 cases of normal pharyngeal mucosa. Transwell invasion assay was used to detect the effect of BDNF on the invasive ability of hypopharyngeal carcinoma FaDu cell line. **Results** Immunohistochemical staining showed that the expression of BDNF protein in cancer tissues was significantly higher than that in paracancerous tissues and normal pharyngeal mucosa, and the difference had statistical significance ($P < 0.0125$); the expression of BDNF protein in paracancerous tissues was significantly higher than that

* [基金项目] 山东省自然科学基金 (ZR2019MH059); 济宁市重点研发计划项目 (2021YXNS052; 2021YXNS108); 济宁医学院贺林院士新医学临床转化工作站科研基金 (JYHL2018FZD06)

Δ [通信作者] 李晓瑜, E-mail: lxyent@163.com

in normal pharyngeal mucosa, and the difference had statistical significance ($P < 0.0125$). The expression of BDNF protein in cancer tissues was correlated with tumor diameter, degree of differentiation, lymph node metastasis and clinical stage ($P < 0.05$), but not with sex, age and depth of invasion ($P > 0.05$). Transwell invasion assay found that the FaDu cell invasion ability was significantly enhanced in the experimental group supplemented with exogenous BDNF compared with the control group without exogenous BDNF, and the difference had statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression level of BDNF protein in cancer tissues is significantly higher than that in paracancerous tissues and normal pharyngeal mucosa, and the expression level is related to tumor diameter, degree of differentiation, lymph node metastasis and clinical stage. BDNF protein can promote the invasion and metastasis of FaDu cells.

Keywords: Hypopharyngeal squamous cell carcinoma; Brain-derived neurotrophic factor; Invasion and metastasis

下咽鳞状细胞癌 (Hypopharyngeal squamous cell carcinoma, HSCC) 占有头颈部恶性肿瘤的 3% 左右, 是头颈部恶性程度最高、预后最差的肿瘤之一, 据相关研究报道下咽癌患者的 5 年总生存率仅为 30% ~ 35%^[1]。近 50% 的患者在诊断后一年内复发, 且多发展为远处转移^[2]。因此, 进一步了解 HSCC 的致癌机制及有效靶点对尽早干预、防止复发、提高预后具有十分重要的意义。

脑源性神经营养因子 (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF), 最早由德国学者在猪脑提取液中发现的一种碱性蛋白^[3]。它通过其与细胞表面受体发生配体-受体反应激活各种关键信号通路^[4]。BDNF 作为目前肿瘤领域研究的热点, 过往文献证明 BDNF 在喉癌^[5]、甲状腺癌^[6]等头颈部肿瘤中高表达, 其高表达可以促进肿瘤的生长、侵袭、转移、上皮-间充质转化和化疗耐药性^[7-8]。目前 BDNF 在 HSCC 癌组织中的表达情况及其对 HSCC 侵袭转移能力的影响却尚未报道。本文旨在探讨 BDNF 在 HSCC 中的表达及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2013 年 4 月至 2016 年 12 月我院耳鼻喉科手术中用于病理检查留取的 33 例 HSCC 癌组织、22 例 HSCC 癌旁组织以及 12 例行悬雍垂-腭-咽成形术 (UPPP) 的正常咽部黏膜组织石蜡包埋组织切片标本。纳入标准: 1) 符合 HSCC 临床诊断标准, 经病理检查证实; 2) 临床资料完整; 3) 排除由其他肿瘤侵犯或转移; 4) 患者及家属均知情并签署知情同意书。本研究已通过济宁医学院附属

医院伦理委员会批准。

1.2 细胞株与试剂

细胞株: 人下咽鳞状细胞癌 FaDu 细胞, 购自 iCell Bioscience Inc。

MEM 培养基、胎牛血清、青链霉素双抗混合液 (Gibco); 胰蛋白酶消化液 (BIOTOP); 冻存液 (美伦公司); 4% 多聚甲醛 (索莱宝公司); 结晶紫染色液 (5× 结晶紫染色储液 + 稀释液) (凯基生物公司); Matrigal 基质胶 (Corning); 磷酸盐缓冲液 (福州迈新公司); EDTA 抗原修复液 pH 9.0; 内源性过氧化物酶阻断剂 (北京中杉金桥公司); 兔抗人 BDNF 多克隆抗体 (Affinity 公司); 兔抗人 TrkB 多克隆抗体 (Proteintech Group); 抗体稀释液 (Proteintech Group); 增强酶标山羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物通用型二抗, DAB 显色试剂盒 (北京中杉金桥公司)。苏木素-伊红染色液、二甲苯、75%、95%、无水乙醇、中性树胶封片剂等均由我院病理科实验室提供。

1.3 二步法免疫组织化学染色

通过免疫组织化学染色检测 33 例 HSCC 癌组织、22 例 HSCC 癌旁组织及 12 例正常咽部黏膜组织中 BDNF 表达量。按照试剂说明书步骤进行通用二步法免疫组织化学染色, 脱蜡、水化、抗原修复、阻断内源性过氧化物酶、孵育一抗、次日取出组织切片, PBS 洗片 2min×3 次, 滴加适量反映增强剂、滴加即用型二抗增强酶标羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物、DAB 显色、苏木素染色、将染色后的石蜡切片放置于上行梯度浓度的酒精中脱水、透明、封片, 储存。

免疫组化结果判读: 由两名病理科专业医师在

光学显微镜下采取双盲法判定。观察细胞膜和细胞质,在组织中阳性表达时染色为棕黄色或褐色颗粒,调节至 400× 镜下随机选择 5 个视野计数细胞并根据阳性细胞所占比例(0 分: <5%; 1 分: 5~25%; 2 分: 26%~50%; 3 分: >51%)及染色强度(0 分: 无色; 1 分: 浅黄色; 2 分: 棕黄色; 3 分: 棕褐色)进行评分。以上两项积分相加 ≥ 3 分时判定结果为阳性。

1.4 Transwell 侵袭实验

对照组: 不含 BDNF 的 MEM 完全培养基中生长的 FaDu 细胞; 实验组: 在含 400ng/ml BDNF 刺激因子的 MEM 完全培养基中生长的 FaDu 细胞, 每组均设置 3 个副孔。

将 Matrigal 基质胶提前一天从 -20°C 冰箱转移至 4°C 冰箱, 使其由固态变为液态, 用 MEM 无血清培养基按 1:2 稀释 Matrigal 基质胶, 用预冷枪头吸取 50 μl 稀释好的 Matrigal 加入 Transwell 上室, 37°C 恒温培养箱内过夜孵育基质胶, 吸出上层液态的不凝胶, 使薄层 Matrigal 基质胶沉积底部。取生长状态良好的各组 FaDu 细胞, 更换为 MEM 无血清培养基饥饿过夜, 常规消化、离心, 用 MEM 无血清培养基重悬至单细胞悬液, 计数后调整 FaDu 细胞浓度至 1×10^6 个/ml。于 Transwell 下室中加入 30% MEM 完全培养基 600 μl , 向 Transwell 上室每孔滴注 100 μl 各组细胞悬液 (1×10^5 个/孔)。放置于 37°C 恒温培养箱内过夜培养, 取出 24 孔板, 弃去上室培养基, 吸除剩余培养基及基质胶, 将小室浸于 500 μl 4% 多聚甲醛小孔, 室温下固定 30min 后, 蒸馏水清洗 3 次, 再浸入 500 μl 预先配制的结晶紫溶液中, 室温下染色 30min 后, 蒸馏水清洗 3 次, 用棉签轻轻拭去上室未穿膜 FaDu 细胞。将小室放置于倒置显微镜下观察, 400× 视野下随机选取 5 个视野计数, 结果取平均值。

1.5 统计学方法

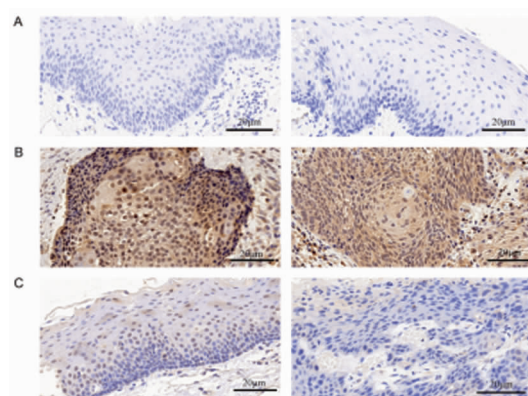
采用 SPSS25.0 软件进行统计学分析, 通过 Fisher 精确概率法进行统计学分析。采用 Graph-Pad Prism 5 软件对 Transwell 侵袭试验结果进行统计学分析, 以 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 BDNF 在 HSCC 癌组织、癌旁组织及正常咽

部黏膜组织中的表达情况

光学显微镜下显示 BDNF 在组织中主要表达在细胞膜和细胞质, 在组织中 BDNF 阳性表达时染色为棕黄色或褐色颗粒(图 1 示)。



注: A 为正常咽部黏膜组织切片; B 为下咽癌组织切片;

C 为下咽癌癌旁组织切片。

图 1 不同组织中 BDNF 的表达情况(40×)

2.2 BDNF 在 HSCC 癌组织、癌旁组织及正常咽部黏膜组织中的表达

正常咽部黏膜组织中 BDNF 表达的阳性率为 0(0/12); 22 例 HSCC 患者癌旁组织有 7 例可见 BDNF 阳性表达, 阳性率为 31.8%(7/22); HSCC 患者的癌组织中 28 例可见 BDNF 阳性表达, 阳性率为 84.8%(28/33)。BDNF 蛋白在 HSCC 癌组织中的表达显著高于癌旁组织及正常咽部黏膜组织, 具有统计学意义($P < 0.0125$); 且在 HSCC 癌旁组织中的 BDNF 蛋白阳性表达明显高于正常咽部黏膜组织, 具有统计学意义($P < 0.0125$)。

表 1 BDNF 在下咽癌组织及癌旁组织、正常咽部黏膜组织中的表达差异

组别	总例数	BDNF 表达		χ^2	P
		阳性例数	阴性例数		
癌组织	33	28	5	30.867	<0.001
癌旁组织	22	7	15		
正常组织	12	0	12		

注: 两两比较, 采用 χ^2 分割法进行检验, $P < \alpha' = 0.0125$, 差异有统计学意义。

2.3 BDNF 表达与下咽癌临床病理参数之间的关系

下咽癌组织标本中 BDNF 蛋白的表达与肿瘤直径、分化程度、是否淋巴结转移及临床分期相关($P < 0.05$), 与性别、年龄及浸润深度无关($P > 0.05$)。见表 2。

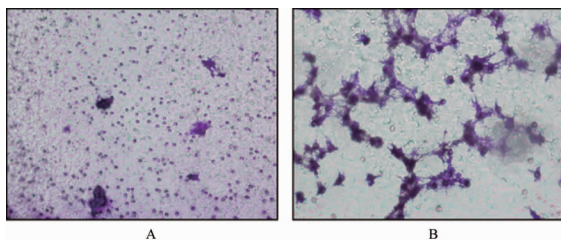
表 2 下咽癌组织中 BDNF 的表达与临床病理学参数的关系

临床病理学参数	样本例数	BDNF		
		阳性例数	表达率/%	P 值*
性别				
男	30	25	83.3	1.000
女	3	3	100.0	
年龄/岁				
>60	15	11	73.3	0.152
≤60	18	17	94.4	
肿瘤直径/cm				
>2	20	20	100.0	0.005
≤2	13	8	61.5	
浸润深度				
黏膜下层及周围	14	13	92.9	0.366
肌层	19	15	78.9	
分化程度				
中-低分化	27	25	92.6	0.031
高分化	6	3	50.0	
淋巴结转移				
有	24	24	100.0	0.001
无	9	4	44.4	
临床分期				
I、II	8	3	37.5	<0.001
III、IV	25	25	100.0	

注: * 因 $n=33<40$, 采用 Fisher 精确概率法进行检验。

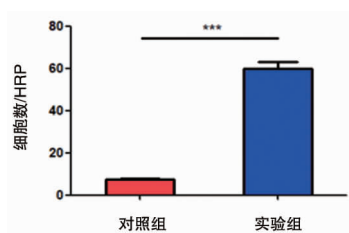
2.4 BDNF 对 FaDu 细胞的侵袭能力的影响

外源性 BDNF 明显增强 FaDu 细胞的侵袭能力, 两组间差异性具有统计学意义 ($P<0.05$)。见图 2、图 3。



注: A 为对照组穿膜的 FaDu 细胞;
B 为 400ng/ml 浓度组穿膜的 FaDu 细胞。

图 2 Transwell 侵袭实验不同浓度 BDNF 穿膜的 FaDu 细胞



注: 与对照组相比, *** $P<0.05$ 。

图 3 不同浓度 BDNF 下穿膜的 FaDu 细胞数

3 讨论

头颈部鳞状细胞癌 (HNSCC) 是上呼吸道最常

见的恶性肿瘤, HSCC 约占所有 HNSCC 的 3%, 然而却是所有头颈部恶性肿瘤中预后最差的一种^[3], 这与其早期即出现区域淋巴结转移和随后的远处转移扩散有关, 这是 HSCC 的一个重要特征^[9]。HSCC 治疗手段包括手术切除, 放射疗法 (RT) 或化学疗法。对于特定的早期病例 (T1 和部分 T2 期患者及无淋巴结转移者), 可以采用单纯手术切除治疗方式, 而晚期 HSCC 则需要手术切除及放、化疗联合的综合性治疗^[10]。下咽局部有丰富的淋巴网络, 使肿瘤可以早期扩散到颈部和咽后淋巴结, 增加了转移的机会, 导致 HSCC 患者预后较其他头颈部肿瘤相对较差。因此, 找寻新的有意义的治疗靶点对于 HSCC 的治疗和远期预后具有重要意义。

肿瘤细胞中存在 BDNF/TrkB 自分泌通路, BDNF/TrkB 通路与肿瘤细胞的形成、侵袭转移以及耐药性^[11] 相关。BDNF 除了在神经系统肿瘤中高表达外, 在呼吸系统、消化系统、血液系统及生殖系统的肿瘤组织中同样发现表达上调^[12-15]。BDNF/TrkB 信号通路在头颈部多种肿瘤发生发展过程中的重要作用^[8,16], 但 BDNF 在 HSCC 中的表达情况及对于 HSCC 侵袭转移能力的影响知之甚少, 因此, 研究 BDNF 对于 HSCC 的生长浸润转移及预后的影响有重要的价值。

通过免疫组化实验, 我们发现: 1) HSCC 组织中肿瘤直径 $>2\text{cm}$ 的患者 BDNF 蛋白的表达水平明显高于 $\leq 2\text{cm}$ 的患者; 2) 中低分化的患者 BDNF 蛋白的表达水平明显高于高分化的患者; 3) 有淋巴结转移的患者 BDNF 蛋白的表达水平明显高于无淋巴结转移的患者; 4) III、IV 期患者 BDNF 蛋白的表达水平明显高于 I、II 期的患者。以上各组间差异均有统计学意义。本文中浸润至肌层及以下的患者与浸润至黏膜下层的患者的 BDNF 蛋白的表达率无统计学差异, 分析可能原因: 1) 由于样本量较少导致统计学差异不明显; 2) 本文中所收集晚期患者 (III 及 IV 期) 较多, 肿瘤恶性度普遍较高, 从而影响了 BDNF 蛋白的表达差异性。我们认为增加样本量, 丰富不同肿瘤分期, 可使统计学差异更加显著。

大量新生血管的形成是另一个与肿瘤远处侵袭转移密切相关的因素, BDNF 在血管生成的过程中是必不可少的^[17], Kermani 等^[18] 发现 BDNF 有双重促血管生成的作用, 其既可以通过局部激活内皮细胞亚群表达的 TrkB 受体, 也可以通过主动募

集骨髓源性干细胞的方式促进血管内皮生成。通过这种双重促血管生成活性,与血管内皮生长因子(VEGF)共同作用促进生成新生血管,达到促进肿瘤生长和侵袭转移的作用^[19]。

Kupferman 等^[20]发现 BDNF 参与喉癌及舌癌的生长过程,并且可以诱导细胞迁移和上皮-间充质转化(EMT)的形成。BDNF 在肿瘤微环境中可以通过成纤维细胞(CAFs)控制的旁分泌轴协助淋巴结转移,与正常成纤维细胞相比,含有来自头颈部肿瘤患者相关成纤维细胞(CAFs)的条件培养基可促进头颈部细胞增殖、细胞浸润、耐受化疗药物以及淋巴结转移,从机制上证明了 BDNF 在头颈部肿瘤发生及进展过程中的重要作用^[21]。这一过程也被 Dudás 等证实,通过无血清培养基中培养成纤维细胞,发现激活的成纤维细胞,也可以产生高水平的 BDNF,能够诱导肿瘤细胞 EMT 形成,并且发现使用 TGF- β 1 处理舌鳞状细胞癌 SCC-25 细胞后可抑制其生长,而 BDNF 处理后可恢复 SCC-25 细胞的生长,认为 BDNF 可以提高肿瘤细胞存活率,从而导致患者预后恶化^[22-23]。

本文根据上述文献的报道进一步验证 HSCC 的侵袭转移能力是否与 BDNF 相关,在免疫组化结果证实 BDNF 在 HSCC 组织中高度表达的基础上,我们以外源性 BDNF 作为刺激因子培养 FaDu 细胞,通过 Transwell 侵袭实验,发现与对照组相比外源性 BDNF(400ng/ml)处理后的 FaDu 细胞穿膜数量更多,侵袭能力明显增强,两组间比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),与上述文献报道结果一致,以此证明 BDNF 的表达与 FaDu 细胞的侵袭转移密切相关。

综上所述,BDNF 蛋白在 HSCC 癌组织中表达水平显著高于癌旁组织及正常咽部黏膜组织,且表达水平与肿瘤直径、分化程度、是否淋巴结转移及临床分期密切相关;并且通过实验发现 BDNF 蛋白可促进下咽鳞状细胞癌细胞系 FaDu 的侵袭转移能力,进一步说明 BDNF 的表达对 HSCC 的侵袭转移有作用。临床上可通过检测 BDNF 的表达来辅助判断患者预后,后期实验也可通过 BDNF 作为切入点进一步研究所涉及的相关通路,期许找到 HSCC 潜在的治疗靶点。

参考文献:

[1] Newman JR, Connolly TM, Illing EA, et al. Survival

trends in hypopharyngeal cancer: a population-based review[J]. *Laryngoscope*, 2015, 125(3): 624-629. DOI: 10.1002/lary.24915.

[2] Hall SF, Groome PA, Irish J, et al. The natural history of patients with squamous cell carcinoma of the hypopharynx[J]. *Laryngoscope*, 2008, 118(8): 1362-1371. DOI: 10.1097/MLG.0b013e318173dc4a.

[3] Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain[J]. *EMBO J*, 1982, 1(5): 549-553. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1982.tb01207.x.

[4] Pritz CO, Bitsche M, Salvenmoser W, et al. Endocytic trafficking of silica nanoparticles in a cell line derived from the organ of Corti[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2013, 8(2): 239-252. DOI: 10.2217/nmm.12.91.

[5] Zhu L, Werner JA, Mandic R. Implications of tropomyosin-related kinase B (TrkB) in head and neck cancer[J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(5A): 3121-3126.

[6] McGregor LM, McCune BK, Graff JR, et al. Roles of trk family neurotrophin receptors in medullary thyroid carcinoma development and progression[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(8): 4540-4545. DOI: 10.1073/pnas.96.8.4540.

[7] de Moraes JK, Wagner VP, Fonseca FP, et al. Uncovering the role of brain-derived neurotrophic factor/tyrosine kinase receptor B signaling in head and neck malignancies[J]. *J Oral Pathol Med*, 2018, 47(3): 221-227. DOI: 10.1111/jop.12611.

[8] Lee J, Jiffar T, Kupferman ME. A novel role for BDNF-TrkB in the regulation of chemotherapy resistance in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30246. DOI: 10.1371/journal.pone.0030246.

[9] Werner JA, Rathcke IO, Mandic R. The role of matrix metalloproteinases in squamous cell carcinomas of the head and neck[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2002, 19(4): 275-282. DOI: 10.1023/a:1015531319087.

[10] Garneau JC, Bakst RL, Miles BA. Hypopharyngeal cancer: A state of the art review[J]. *Oral Oncol*, 2018, 86: 244-250. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2018.09.025.

[11] Nakamura K, Martin KC, Jackson JK, et al. Brain-derived neurotrophic factor activation of TrkB induces vascular endothelial growth factor expression via hypoxia-inducible factor-1alpha in neuroblastoma cells[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(8): 4249-4255. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2789.

[12] Odate S, Nakamura K, Onishi H, et al. TrkB/BDNF signaling pathway is a potential therapeutic target for pul-

- monary large cell neuroendocrine carcinoma [J]. Lung Cancer, 2013, 79 (3) : 205-214. DOI: 10. 1016/j. lungcan. 2012. 12. 004.
- [13] Ketterer K, Rao S, Friess H, et al. Reverse transcription-PCR analysis of laser-captured cells points to potential paracrine and autocrine actions of neurotrophins in pancreatic cancer [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9 (14) : 5127-5136.
- [14] Pearse RN, Swendeman SL, Li Y, et al. A neurotrophin axis in myeloma; TrkB and BDNF promote tumor-cell survival [J]. Blood, 2005, 105 (11) : 4429-4436. DOI: 10. 1182/blood-2004-08-3096.
- [15] 于晓辉. TrkB 介导的失巢凋亡抑制与卵巢癌的转移和耐药 [D]. 上海: 上海交通大学, 2007.
- [16] Ng YK, Wong EY, Lau CP, et al. K252a induces anoikis-sensitization with suppression of cellular migration in Epstein-Barr virus (EBV)-associated nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Invest New Drugs, 2012, 30 (1) : 48-58. DOI: 10. 1007/s10637-010-9513-4.
- [17] Xu H, Czerwinski P, Xia N, et al. Downregulation of BDNF Expression by PKC and by TNF- α in Human Endothelial Cells [J]. Pharmacology, 2015, 96 (1-2) : 1-10. DOI: 10. 1159/000430823.
- [18] Kermani P, Hempstead B. Brain-derived neurotrophic factor: a newly described mediator of angiogenesis [J]. Trends Cardiovasc Med, 2007, 17 (4) : 140-143. DOI: 10. 1016/j. tcm. 2007. 03. 002.
- [19] Sasahira T, Ueda N, Yamamoto K, et al. Trks are novel oncogenes involved in the induction of neovascularization, tumor progression, and nodal metastasis in oral squamous cell carcinoma [J]. Clin Exp Metastasis, 2013, 30 (2) : 165-176. DOI: 10. 1007/s10585-012-9525-x.
- [20] Kupferman ME, Jiffar T, El-Naggar A, et al. TrkB induces EMT and has a key role in invasion of head and neck squamous cell carcinoma [J]. Oncogene, 2010, 29 (14) : 2047-2059. DOI: 10. 1038/onc. 2009. 486.
- [21] Jiffar T, Yilmaz T, Lee J, et al. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) coordinates lympho-vascular metastasis through a fibroblast-governed paracrine axis in the tumor microenvironment [J]. Cancer Cell Microenviron, 2017, 4 (2) DOI: 10. 14800/ccm. 1566.
- [22] Dudás J, Bitsche M, Schartinger V, et al. Fibroblasts produce brain-derived neurotrophic factor and induce mesenchymal transition of oral tumor cells [J]. Oral Oncol, 2011, 47 (2) : 98-103. DOI: 10. 1016/j. oraloncology. 2010. 11. 002.
- [23] Dudás J, Riml A, Tuertscher R, et al. Brain-Derived Neurotrophin and TrkB in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20 (2) DOI: 10. 3390/ijms20020272.

(收稿日期 2022-04-15)

(本文编辑: 甘慧敏)

(上接第 417 页)

- [17] Khong TY. The pathology of placenta accreta, a worldwide epidemic [J]. J Clin Pathol, 2008, 61 (12) : 1243-1246. DOI: 10. 1136/jcp. 2008. 055202.
- [18] Lei ZM, Reshef E, Rao V. The expression of human chorionic gonadotropin/luteinizing hormone receptors in human endometrial and myometrial blood vessels [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1992, 75 (2) : 651-659. DOI: 10. 1210/jcem. 75. 2. 1379262.
- [19] Zygmunt M, Herr F, Münstedt K, et al. Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2003, 110 Suppl 1: S10-18. DOI: 10. 1016/s0301-2115(03)00168-4.
- [20] Herr F, Baal N, Reisinger K, et al. HCG in the regulation of placental angiogenesis. Results of an in vitro study [J]. Placenta, 2007, 28 Suppl A: S85-93. DOI: 10. 1016/j. placenta. 2007. 02. 002.
- [21] Kovalevskaya G, Birken S, Kakuma T, et al. Differential expression of human chorionic gonadotropin (hCG) glycosylation isoforms in failing and continuing pregnancies: preliminary characterization of the hyperglycosylated hCG epitope [J]. J Endocrinol, 2002, 172 (3) : 497-506. DOI: 10. 1677/joe. 0. 1720497.
- [22] Li D, Wen X, Ghali L, et al. hCG beta expression by cervical squamous carcinoma--in vivo histological association with tumour invasion and apoptosis [J]. Histopathology, 2008, 53 (2) : 147-155. DOI: 10. 1111/j. 1365-2559. 2008. 03082. x.
- [23] Aldaz-Carroll L, Richon S, Dangles-Marie V, et al. Specific detection of type II human chorionic gonadotropin beta subunit produced by trophoblastic and neoplastic cells [J]. Clin Chim Acta, 2015, 444: 92-100. DOI: 10. 1016/j. cca. 2015. 02. 009.

(收稿日期 2022-03-09)

(本文编辑: 甘慧敏)