

结直肠癌大鼠热创伤应激模型建立与评价

樊理华 李东丽 何佳群 武旖旎 韩新

【摘要】目的 建立操作简便、重复性好的结直肠癌大鼠热创伤应激模型,用于研究围术期手术应激对肿瘤生长及肿瘤微环境的影响。**方法** 健康雄性 SD 大鼠 72 只,采用随机数字表法分为正常对照组、癌症模型组和热创伤应激组 3 组,每组 24 只。癌症模型组和热创伤应激组用 N-甲基-N-亚硝基脲(MNU)化学诱导法灌肠 16 周,建立 MNU 诱导的结直肠癌模型。16 周后热创伤应激组大鼠分别以特制的阻热黄铜模板加热后进行热创伤刺激,并分别于热创伤刺激后 0、6、12 和 24h 各随机取 6 只大鼠取血和采集结直肠组织;正常对照组和癌症模型组也根据热创伤应激组处理时间各随机取 6 只大鼠取血和采集结直肠组织。采用 ELISA 法检测大鼠血清促肾上腺皮质激素(ACTH)、IL-6、IL-10、皮质酮水平,采用 Western blot 法检测结直肠组织细胞周期蛋白(Cyclin) D1 和髓样细胞白血病-1(Mcl-1)蛋白水平。**结果** 热创伤应激组大鼠血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮水平较正常对照组和癌症模型组均升高,且热创伤应激组创伤应激后 6、12、24h 血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮水平较应激后 0h 均升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。热创伤应激组 4 个时间点 Cyclin D1 和 Mcl-1 蛋白表达水平较正常对照组 0h 和癌症模型组 0h 均升高,且热创伤应激组创伤应激后 6、12、24h Cyclin D1 和 Mcl-1 蛋白表达水平较应激后 0h 均升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** 结直肠癌大鼠热创伤应激模型具有操作简便、重复性好等优点;热创伤应激可激活 IL-6 诱导结直肠癌大鼠肿瘤增殖,该模型可用于围术期手术创伤对肿瘤微环境影响的机制研究。

【关键词】 雄性大鼠 结直肠癌 热创伤应激 动物模型

Establishment of a thermal injury stress model in colorectal cancer rats FAN Lihua, LI Dongli, HE Jiaqun, et al. Department of Anesthesiology, the Sixth Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University(Lishui People's Hospital), Lishui 323000, China

【Abstract】Objective To establish a thermal injury stress model in colorectal cancer rats. **Methods** Seventy-two healthy male SD rats were randomly divided into 3 groups: normal control group, cancer model group, thermal injury of cancer group. Cancer model group and thermal injury of cancer group were treated with chemical induction of N-methyl-N-nitrosourea(MNU) for 16 weeks to establish MNU-induced colorectal cancer model. Sixteen weeks later, rats in the thermal injury of cancer group were heated with a special heat-resistant brass template, and six rats were randomly selected at 0, 6, 12 and 24h after the heat trauma stimulation to collect blood and colorectal tissues. Normal control group and cancer model group were also randomly selected according to the treatment time of the heat trauma stress group, six rats were taken blood and colorectal tissues were collected. Serum levels of ACTH, IL-6, IL-10 and corticosterone were measured by ELISA. Cyclin D1 and myeloid leukemia-1(Mcl-1) were detected by Western blot. **Results** The levels of serum ACTH, IL-6, IL-10 and corticosterone in the thermal injury of cancer group were higher than those in normal control group and cancer model group, and the levels of serum ACTH, IL-6, IL-10 and corticosterone in the thermal injury of cancer group increased 6, 12 and 24h after trauma stress compared with 0h after stress (all $P < 0.05$). The levels of Cyclin D1 and Mcl-1 protein in the thermal injury of cancer group were higher than those in normal control group at 0h and cancer model group at 0h at 4 time points, and the levels of Cyclin D1 and Mcl-1 protein in the thermal injury of cancer group at 6, 12, 24h were higher than those at 0h after stress(all $P < 0.05$). **Conclusion** Thermal injury stress model in rats with colorectal cancer has the advantages of simple operation and good repeatability. Thermal injury stress can activate IL-6 to induce tumor proliferation in rats with colorectal cancer. This model can be used to study the mechanism of perioperative surgical trauma on tumor microenvironment.

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.3.2018-1172

基金项目:浙江省科技厅公益技术应用研究计划项目(2015C37115);丽水市医学重点学科研究项目(2014zdxk06)

作者单位:323000 温州医科大学附属第六医院(丽水市人民医院)麻醉科

通信作者:樊理华, E-mail: flh2222@163.com

【Key words】 Male rats Colorectal cancer Thermal injury stress Animal model

结直肠癌是常见的恶性肿瘤,目前最有效的治疗方法是广泛性根治手术,但仍有 50% 的患者术后 2 年出现复发或转移,其中约 20%~30% 的患者出现局部复发转移,而 50%~80% 的患者发生远处转移^[1-2]。手术本身是一种强烈的创伤应激,是增加肿瘤侵袭和转移的主要原因之一^[3]。但是目前还没有一种理想的手术创伤肿瘤模型用于手术应激对肿瘤影响的研究,因而建立简单有效的肿瘤创伤应激模型非常必要。本研究拟制备大鼠结直肠癌模型,在该模型基础上予以特制的阻热黄铜模板对大鼠进行热创伤处理,建立大鼠热创伤应激模型,旨在探索针对性的防治措施。

1 材料和方法

1.1 实验动物条件 健康雄性 SD 大鼠 72 只,体重 150~200g,购自温州医科大学实验动物中心,本实验获得温州医科大学动物保护委员会批准。实验前大鼠适应性喂养 1 周,自由获取水和食物;动物房 12h 明暗周期循环(7:00~19:00 给予光照),控制室温为(21±2)℃、湿度 60%。

1.2 试剂和仪器 N-甲基-N-亚硝基脲(MNU)(加拿大 Toronto Research Chemicals 公司),促肾上腺皮质激素(ACTH)(10817-09R)、IL-6(10926-09R)、IL-10(10542-09R)、皮质酮(10356-09R) ELISA 试剂盒(上海博蕴生物科技有限公司),一次性使用静脉留置针(苏州灵岩医疗器械有限公司),高速低温离心机(安徽中科中佳科学仪器公司),光学显微镜(日本 Olympus 公司),超声破膜仪(美国 Sonics 公司),Bio-Rad 垂直电泳仪(美国 Bio-Rad 公司),Las2000mini 曝光机(美国 General Electric 公司),Multiskan Mk3 型酶标仪(德国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组 采用随机数字表法将大鼠分为正常对照组、癌症模型组和热创伤应激组 3 组,每组 24 只。

1.3.2 结直肠癌模型的建立 将 MNU 用无菌蒸馏水配制成浓度为 4mg/ml 的灌肠液对大鼠进行灌肠,灌肠前抓住大鼠尾巴促使大鼠将直肠内大便排出,用 5ml 注射器抽取灌肠液(1ml/200g)接上小儿灌肠管,导管前端用石蜡油涂抹,置入肛门约 6cm,缓慢匀速推注,推毕后保持原位 10min。灌注频率:前 4 周以 3 次/周灌肠,4 周后以 1 次/周持续灌肠至 16 周。每天对大鼠进行观察,每次灌注前记录 1 次体重。

1.3.3 热创伤应激模型的建立 在结直肠癌模型基础上,麻醉大鼠后,剪去大鼠背部脊柱两侧范围约 30mm×30mm 的长毛后,用 8% 硫化钠脱毛,露出体表皮肤,将大鼠俯卧于手术固定板上,将特制的阻热黄铜模板(12mm×12mm)放入 100℃ 沸水中 10min,取出后置于大鼠裸露皮肤处 20s,将其重新加热后置于脊柱另一侧,整个烫伤过程只靠黄铜本身重力,不再另外施压。

1.3.4 检测标本采集 热创伤应激组和癌症模型组分别于热创伤刺激后 0、6、12 和 24h 各随机取 6 只大鼠取血和采集结直肠组织。正常对照组不作任何处理,根据另两组处理时间各随机取 6 只大鼠取血和采集结直肠组织。3 组大鼠均于实验结束时予 5% 水合氯醛 7ml/kg 腹腔内注射麻醉,尾静脉穿刺取血;脱颈椎处死,取出肛缘至回盲部的结直肠组织,经液氮冰冻后-80℃ 保存。

1.4 血清指标检测 采用 ELISA 法检测大鼠血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮表达水平。

1.5 结直肠组织细胞周期蛋白(Cyclin) D1 和髓样细胞白血病-1(myeloid cell leukemia-1, Mcl-1)蛋白表达水平检测 采用 Western blot 法。取大鼠结直肠组织 60mg,把组织剪切成细小的碎片,按照每 20mg 组织加入 200μl 裂解液的比例加入裂解液(裂解液中加入蛋白酶和磷酸酶抑制剂)。研磨后的匀浆在超声破膜机下超声破膜 10s×3 次,4℃、12 000r 离心 5min,小心吸取上清液,进行蛋白含量测定。在 Bio-Tek 荧光分析仪上测定并计算出实际浓度。灌胶上样,采用 Bio-Rad 垂直电泳仪进行电泳,转膜封闭过夜,洗膜后加入一抗孵育(稀释度 1:1 000)4℃ 摇床孵育过夜(16h),冲洗后加二抗孵育,曝光。采用 Quantity One 凝胶分析软件行半定量分析,以 Cyclin D1、Mcl-1 与内参 β-actin 灰度值的比值反映 Cyclin D1、Mcl-1 的蛋白表达。

1.6 病理组织学观察 部分结直肠组织于 4% 多聚甲醛固定 24h,制备石蜡标本切片后行 HE 染色,观察肿瘤组织病理形态,确定病理类型。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般情况及病理检查结果 临床表现来看,正常对照组大鼠在实验期间活动正常,体重增长,无死亡。癌症模型组和热创伤应激组大鼠实验期间活动减

少,精神萎靡,腹泻,黏液脓血便,毛发脱落等,体重低于正常对照组,部分大鼠有腹水现象,也有死亡现象,解剖发现结肠肿瘤、腹腔有粘连。病理结果提示正常对照组大鼠结肠黏膜光滑,纹理清晰,未见充血、水肿(图 1a)。癌症模型组和热创伤应激组大鼠结直肠组织腺癌,癌组织多呈椭圆形、圆形,胞质丰富,核大畸形、深染,多见核分裂象,呈弥漫性生长。癌组织排列呈团状或索状,在肠壁中呈浸润性生长,癌细胞间有结缔组织(图 1b)。

2.2 各组大鼠血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮水平比较 癌症模型组和正常对照组大鼠血清 ACTH 和皮质酮水平比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),但癌症模型组大鼠血清 IL-6、IL-10 水平较正常对照组均升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。热创伤应激组大

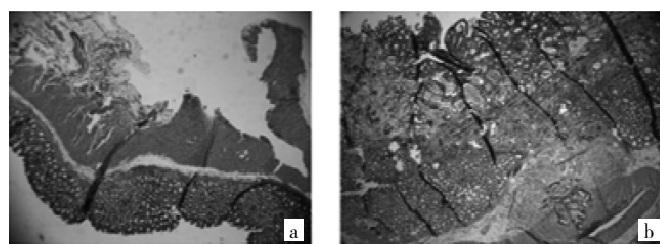


图 1 大鼠病理所见(a:正常对照大鼠;b:结直肠癌大鼠;HE 染色,×4)

鼠血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮水平较正常对照组和癌症模型组均升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);且热创伤应激组创伤应激后 6、12、24h 血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮水平较应激后 0h 均升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮水平比较

组别	n	ACTH 水平(ng/L)			
		应激后 0h	应激后 6h	应激后 12h	应激后 24h
热创伤应激组	24	15.63 ± 0.87 [△]	19.59 ± 1.11 ^{*△}	22.07 ± 0.56 ^{*△}	25.25 ± 2.29 ^{*△}
癌症模型组	24	10.37 ± 2.93	10.24 ± 3.34	9.97 ± 3.30	10.02 ± 3.06
正常对照组	24	10.71 ± 2.81	8.96 ± 2.42	10.58 ± 2.25	9.50 ± 3.12

组别	n	IL-6 水平(ng/L)			
		应激后 0h	应激后 6h	应激后 12h	应激后 24h
热创伤应激组	24	47.50 ± 2.11 ^{*△}	57.75 ± 3.72 ^{*△}	80.34 ± 3.97 ^{*△}	108.12 ± 20.33 ^{*△}
癌症模型组	24	36.86 ± 2.95 [*]	36.26 ± 3.77 [*]	39.74 ± 1.05 [*]	36.40 ± 4.19 [*]
正常对照组	24	22.51 ± 7.11	22.05 ± 3.70	21.73 ± 6.61	21.84 ± 4.29

组别	n	IL-10 水平(ng/L)			
		应激后 0h	应激后 6h	应激后 12h	应激后 24h
热创伤应激组	24	94.88 ± 2.32 ^{*△}	110.44 ± 5.52 ^{*△}	131.31 ± 3.28 ^{*△}	200.28 ± 51.90 ^{*△}
癌症模型组	24	74.86 ± 5.34 [*]	75.41 ± 6.78 [*]	72.65 ± 5.10 [*]	77.33 ± 8.88 [*]
正常对照组	24	51.12 ± 10.17	53.25 ± 9.19	48.12 ± 16.31	53.70 ± 8.69

组别	n	皮质酮(ng/ml)			
		应激后 0h	应激后 6h	应激后 12h	应激后 24h
热创伤应激组	24	75.10 ± 4.30 ^{*△}	89.47 ± 5.28 ^{*△}	104.18 ± 5.84 ^{*△}	142.46 ± 9.31 ^{*△}
癌症模型组	24	32.15 ± 13.71	49.48 ± 11.79	53.22 ± 16.79	53.68 ± 18.86
正常对照组	24	39.62 ± 14.22	39.19 ± 16.90	39.27 ± 22.29	42.87 ± 16.69

注:与正常对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与癌症模型组比较,[△] $P < 0.05$;与同组热创伤应激后 0h 比较,[▲] $P < 0.05$

2.3 各组大鼠结直肠组织中 Cyclin D1 和 Mcl-1 蛋白表达水平比较 取正常对照组 0h、癌症模型组 0h 与热创伤应激组 0、6、12、24h 4 个时间点的大鼠进行 Cyclin D1 和 Mcl-1 蛋白表达水平比较,发现热创伤应激组 4 个时间点 Cyclin D1 和 Mcl-1 蛋白表达水平较正常对照组 0h 和癌症模型组 0h 均升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);且热创伤应激组创伤应激后 6、12、24h Cyclin D1 和 Mcl-1 蛋白表达水平较应激后 0h 均升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见图 2 和表 2。

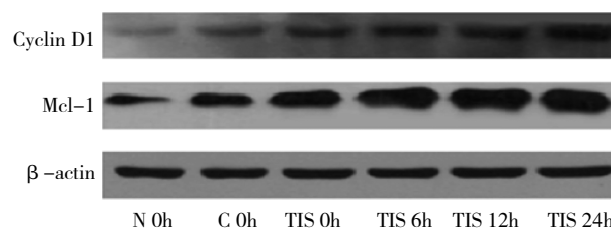


图 2 正常对照组(N)0h、癌症模型组(C)0h 与热创伤应激组(TIS)0、6、12、24h 的 Cyclin D1 和 Mcl-1 蛋白表达电泳图

表 2 各组大鼠结直肠组织中 Cyclin D1、Mcl-1 蛋白表达水平比较(ng/ml)

组别	n	Cyclin D1	Mcl-1
热创伤应激组 0h	6	0.41 ± 0.02 ^{*△}	0.59 ± 0.04 ^{*△}
热创伤应激组 6h	6	0.54 ± 0.01 ^{*△▲}	0.79 ± 0.02 ^{*△▲}
热创伤应激组 12h	6	0.66 ± 0.01 ^{*△▲}	0.94 ± 0.01 ^{*△▲}
热创伤应激组 24h	6	0.81 ± 0.09 ^{*△▲}	1.22 ± 0.06 ^{*△▲}
癌症模型组 0h	6	0.28 ± 0.02 [*]	0.36 ± 0.05 [*]
正常对照组 0h	6	0.15 ± 0.04	0.15 ± 0.04

注:与正常对照组 0h 比较,^{*} $P<0.05$;与癌症模型组 0h 比较,[△] $P<0.05$;与热创伤应激组 0h 比较,[▲] $P<0.05$

3 讨论

既往研究结直肠癌的肿瘤发生、肿瘤生物学和特定分子事件对结直肠生物学的影响,应用较多的是人类的结直肠癌活检标本、结直肠癌异种移植瘤以及结直肠癌体外细胞培养模型,但这些方法使用的是已建立的肿瘤和结肠癌细胞系,具有突变复杂性,这限制了对单个突变影响的清晰理解^[4]。另外这些模型大多应用于小鼠,会对实验的操作及观察空间有一定的限制,且不能完全自然模拟结直肠癌原位生长及侵袭转移过程^[5]。本实验成功地通过 MNU 灌肠方法建立了大鼠结直肠癌模型,模拟大鼠结直肠癌自然诱导生长过程,成瘤时间相对较短,成瘤率高,肿瘤组织病理和生物学特性比较稳定,自然客观地模拟了结肠癌的发生机制,应用 SD 大鼠又可进一步提升实验操作的空间,为更深入地研究结肠癌发病机制、转移机制和抗转移治疗提供了一种理想的动物模型。本实验结果表明,癌症模型组和热创伤应激组大鼠与正常对照组相比实验期间活动减少,精神萎靡,腹泻、黏液脓血便、毛发脱落等,体重低于正常对照组,解剖发现结肠肿瘤、腹腔有粘连。大鼠肿瘤组织 HE 染色病理结果显示癌细胞穿透结肠组织黏膜层、侵入肌层,提示结直肠癌模型制备成功。

理想的动物模型是手术应激研究的基础,应该与围术期产生的手术应激机制相近,模拟手术应激对机体造成的创伤;动物存活时间足够长,不影响做后续的实验研究;模型制作简单,诱导因素单一,模型重复性好,造成手术应激的同时尽量避免触发其他应激源对应激指标结果的干扰^[6-7]。手术诱导的应激反应与热创伤损害触发的应激反应大部分类似^[8],热创伤能够提供一个创伤诱导的应激反应的模型,用来研究长时间应激反应的长期效应。目前,国内外建立的创伤应激动物模型种类繁多,以 Regas FC 和 Ehrlich HP 发明的铜梳烧伤模型应用较为广泛^[9],且操作简便可重复性好,被认为是研究

创伤应激的合理方法,所以本实验选择该具有代表性的热创伤应激模型,对结直肠癌大鼠造成热创伤应激以进一步研究手术应激对肿瘤微环境的影响。

肿瘤的发生、发展过程复杂,其与机体的相互关系的研究也在不断深入中,其中肿瘤微环境在肿瘤始动、进展、转移和耐药性中发挥着关键作用^[10]。研究表明肿瘤多样性和侵袭性都跟其微环境组成、生化特性、构造和生理特性相关^[11]。手术切除肿瘤病灶除了能够引起手术部位的局部改变,还可导致机体的全身性变化。手术创伤可通过应激激发引起全身炎症反应、神经内分泌反应、细胞因子的变化、代谢改变以及其他一些可能的生物学反应,导致下丘脑-垂体-肾上腺轴兴奋,皮质类固醇大量释放,导致肿瘤微环境的变化,从而改变肿瘤的生物学特性^[12-14]。本实验用高温黄铜块对大鼠进行热创伤处理,通过对比各组大鼠血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮水平来评估应激状态,建立大鼠热创伤应激模型。大鼠热创伤即刻可见皮肤损伤,创伤 1 周内创伤处皮肤有水肿、出血、坏死。ELISA 法测大鼠血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮水平表明热创伤应激后上述指标水平显著升高,提示热创伤应激模型制备成功。

IL-6 是肿瘤相关的重要促炎因子,其在结直肠癌及间质表型的结直肠癌细胞中高表达,在结直肠癌肿瘤炎症微环境中起着重要作用^[15]。研究表明,经 IL-6 介导的信号通路在结直肠癌的发生、发展中发挥着重要的作用,IL-6 可使信号转导及转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)磷酸化^[16]。磷酸化的 STAT3(p-STAT3)进入细胞核,与特定的 DNA 序列结合,引起一系列促增殖蛋白(如 Cyclin D1)和抗凋亡蛋白(如 Mcl-1)的表达,从而导致肿瘤的发生。细胞的增殖状态对研究肿瘤生物学行为、判断其危害性具有及其重要意义,一旦细胞周期调控失常,就会导致肿瘤的恶性增生。Cyclin D1 是细胞周期 G 期的关键调节因子,其功能受抑制可导致细胞周期停滞,而该蛋白的不规则表达则加速 G₁ 期^[17]。Mcl-1 蛋白属 B 淋巴细胞瘤-2 基因(bcl-2)家族蛋白,是一种高度调节蛋白,能够引起广泛的生存信号,也可作为细胞凋亡控制顶端的分子迅速下调凋亡过程,并通过早期介入导致线粒体细胞色素 C 释放的级联来促进细胞存活^[18]。本研究检测发现大鼠血清中 IL-6 在热创伤应激后明显升高,表明热创伤应激可异常诱导 IL-6 水平。同时结直肠组织中两个增殖凋亡相关蛋白在热创伤应激后也能显著升高,这说明热创伤应激能够促进结直肠癌大鼠肿瘤细胞增殖。

综上所述,本实验在成功构建的结直肠癌模型基础上复合热创伤应激,构建了结直肠癌大鼠热创伤应激模型,具有操作简便、重复性好等优点。热创伤应激可引起大鼠血清 ACTH、IL-6、IL-10、皮质酮水平升高,导致手术应激相类似的激素改变。另外,热创伤应激可导致结直肠癌大鼠体内 IL-6 的异常激活,诱导促细胞增殖蛋白(Cyclin D1)和抗细胞凋亡蛋白(Mcl-1)的表达,从而促进结直肠癌大鼠肿瘤增殖,故该模型可用于围术期手术创伤对肿瘤微环境影响的机制研究,从而改善恶性肿瘤术后预后。

4 参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, et al. Colorectal cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(3): 177-193.DOI: 10.3322/caac.21395.
- [2] 郑树, 张苏展, 黄彦钦. 结直肠癌研究 30 年回顾和现状[J]. 实用肿瘤杂志, 2016, 31(1): 2-5.DOI: 10.13267/j.cnki.syzlzz.2016.01.002.
- [3] Demicheli R, Retsky MW, Hrushesky WJ, et al. The effects of surgery on tumor growth: a century of investigations[J]. Ann Oncol, 2008, 19(11): 1821-1828.DOI: 10.1093/annonc/mdn386.
- [4] Budak M, Korpınar MA, Kalkan T, et al. Mutation detection in the promoter region of survivin gene on N-methyl-N-nitrosourea induced colon tumor model in experiment[J]. Bratisl Lek Listy, 2014, 115(9): 554-556.DOI: 10.4149/BLL_2014_107.
- [5] Johnson RL, Fleet JC. Animal models of colorectal cancer[J]. Cancer Metastasis Rev, 2013, 32(1-2): 39-61.DOI: 10.1007/s10555-012-9404-6.
- [6] Neeman E, Ben-Eliyahu S. Surgery and stress promote cancer metastasis: new outlooks on perioperative mediating mechanisms and immune involvement[J]. Brain Behav Immun, 2013, 30(Suppl): S32-40.DOI: 10.1016/j.bbi.2013.03.006.
- [7] Lejeune FJ. Is surgical trauma prometastatic[J]. Anticancer Res, 2012, 32(3): 947-951.DOI: 10.1016/j.bbi.2012.32.945.
- [8] Ben-David B. Anaesthesia in cancer surgery: can it affect cancer survival[J]. Curr Clin Pharmacol, 2016, 11(1): 4-20.DOI: 10.2174/1574884711666160122093154.
- [9] Simonetti O, Oriana S, Lucarini G, et al. Delayed wound healing in aged skin rat models after thermal injury is associated with an increased MMP-9, K6 and CD44 expression[J]. Burns, 2013, 39(4): 776-787.DOI: 10.1016/j.burns.2012.09.013.
- [10] Hui L, Chen Y. Tumor microenvironment: Sanctuary of the devil [J]. Cancer Lett, 2015, 368(1): 7-13.DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.039.
- [11] Takahashi K, Ehata S, Koinuma D, et al. Pancreatic tumor microenvironment confers highly malignant properties on pancreatic cancer cells[J]. Oncogene, 2018, 37(21): 2757-2772. DOI: 10.1038/s41388-018-0144-0.
- [12] Kadosawa T, Watabe A. The effects of surgery-induced immunosuppression and angiogenesis on tumour growth[J]. Vet J, 2015, 205(2): 175-179. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.04.009.
- [13] Brivio F, Lissoni P, Rovelli F, et al. Effects of IL-2 preoperative immunotherapy on surgery-induced changes in angiogenic regulation and its prevention of VEGF increase and IL-12 decline[J]. Hepatogastroenterology, 2002, 49(44): 385-387.
- [14] Thakor AS, Gambhir SS. Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy[J]. CA Cancer J Clin, 2013, 63(6): 395-418.DOI: 10.3322/caac.21199.
- [15] Waldner MJ, Foersch S, Neurath MF. Interleukin-6—a key regulator of colorectal cancer development[J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(9): 1248-1253. DOI: 10.7150/ijbs.4614.
- [16] Zhang X, Hu F, Li G, et al. Human colorectal cancer-derived mesenchymal stem cells promote colorectal cancer progression through IL-6/JAK2/STAT3 signaling[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2): 25. DOI: 10.1038/s41419-017-0176-3.
- [17] Jiang L, Yang W, Bian W, et al. microRNA-623 targets cyclin D1 to inhibit cell proliferation and enhance the chemosensitivity of cells to 5-fluorouracil in gastric cancer[J]. Oncol Res, 2018. DOI: 10.3727/096504018X15193469240508. [Epub ahead of print]
- [18] Li H, Liu L, Chang H, et al. Downregulation of MCL-1 and upregulation of PUMA using mTOR inhibitors enhance antitumor efficacy of BH3 mimetics in triple-negative breast cancer [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2): 137. DOI: 10.1038/s41419-017-0169-2.

(收稿日期:2018-05-04)

(本文编辑:陈丽)

《浙江医学》对图表的要求

稿件中若有图表,分别按其在正文中出现的先后次序连续编码。每幅图应冠有图题。说明性的文字应置于图下方注释中,并在注释中表明图表中使用的全部非公知公用的缩写。线条图应墨绘在白纸上,高宽比例以 5:7 为宜。以计算机制图者应提供激光打印图样。照片图要求有良好的清晰度和对比度;图中需标注的符号(包括箭头)请用另纸标上,不要直接写在照片上。每幅图的背面应贴上标签,注明图号、方向及作者姓名。若刊用人像,应征得本人的书面同意,或遮盖其能被辨认出系何人的部分。大体标本照片在图内应有尺度标记。病理照片要求注明染色方法和放大倍数。图表中如有引自他刊者,应注明出处。电子版投稿中图片建议采用 JPG 格式。表格建议采用三横线表(顶线、表头线、底线),如遇有合计和统计学处理内容(如 t 值、 P 值等),则在此行上面加一条分界横线;表内数据要求同一指标有效位数一致,一般按标准差的 1/3 确定有效位数。

本刊编辑部