

ALDH1、Twist 在胃腺癌组织中的表达及临床意义*

赵艳¹, 金鑫², 李楠¹, 朱博¹, 钱军^{2△}

1. 蚌埠医学院第一附属医院 病理科 蚌埠医学院病理学教研室 (蚌埠 233003);
2. 蚌埠医学院第一附属医院 肿瘤外科 (蚌埠 233003)

【摘要】 目的 分析乙醛脱氢酶 1(ALDH1)、Twist 在胃腺癌(GAC)组织中的表达及意义。方法 回顾性分析 86 例 GAC 患者临床病理资料及随访结果。对 86 例 GAC 标本及 30 例正常对照组织(随机选取其中 30 例 GAC 患者术中不含癌组织的切缘组织)采用原位杂交实验检测 ALDH1、Twist mRNA 表达,采用免疫组化染色法检测 ALDH1、Twist、上皮间质转化相关因子 E-cadherin、N-cadherin 蛋白的表达,分析其与患者临床病理参数、术后生存时间的关系,探讨 ALDH1、Twist 的表达与上皮间质转化的关系。结果 GAC 组织中 ALDH1、Twist mRNA 和蛋白的表达阳性率分别为 57.0%、53.5%和 60.5%、58.1%,与对照组之间差异有统计学意义($P<0.05$)。ALDH1 蛋白的表达与肿瘤的临床 TNM 分期和淋巴结转移有关($P<0.05$),Twist 蛋白的表达与肿瘤远处转移、淋巴结转移及浸润深度有关($P<0.05$)。ALDH1、Twist 的表达与 E-cadherin 的低表达和 N-cadherin 的高表达存在相关性。单因素分析表明 TNM 分期、淋巴结转移、远处转移、肿瘤大小、ALDH1 和 Twist 的表达与 GAC 患者术后 5 年生存率相关(P 均 <0.05)。结论 GAC 组织中 ALDH1、Twist 的检测对预测肿瘤侵袭转移、判断预后具有一定价值。

【关键词】 胃肿瘤 ALDH1 Twist 上皮间质转化 转移

Expression and Clinical Significance of ALDH1 and Twist in Gastric Adenocarcinoma ZHAO Yan¹, JIN Xin², LI Nan¹, ZHU Bo¹, QIAN Jun^{2△}. 1. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Medical College, Bengbu 233003, China; 2. Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233003, China

△ Corresponding author, E-mail: qianjun215036@sina.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the expressions and clinical significances of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) and Twist in gastric adenocarcinoma. **Methods** A total of 86 cases of gastric adenocarcinoma was included in this study. GAC specimens and normal gastric tissues were obtained from the patients. *In situ* hybridization method was used to detect the expression of ALDH1, Twist mRNA. Immunohistochemistry was used to detect the expression of ALDH1, Twist, E-cadherin and N-cadherin. The relationship of ALDH1 and Twist with epithelial-mesenchymal transition phenomenon was studied. Survival analysis was carried to demonstrate the relationships of clinical pathological parameters with 5-year survival rate. **Results** The positive rates of ALDH1, Twist mRNA in GAC tissues were 57.0% and 53.5%, while the positive rates of proteins were 60.5% and 58.1%, which were significantly higher than those in normal controls ($P<0.05$). The expression of ALDH1 protein was significantly correlated with TNM stage and lymph node metastasis ($P<0.05$). The expression of Twist protein was significantly correlated with distant metastasis, lymph node metastasis and invasion depth ($P<0.05$). The expressions of ALDH1 and Twist were significantly correlated with low expression of E-cadherin and high expression of N-cadherin ($P<0.05$). Univartate analysis showed TNM stage, lymph node metastasis, distant metastasis and tumor size, the expression of ALDH1 and Twist related to 5-year survival rate ($P<0.05$). **Conclusion** The enhanced expression of ALDH1 and Twist in gastric adenocarcinoma may play a role in GAC invasion, metastasis and prognosis.

【Key words】 Stomach neoplasms Aldehyde dehydrogenase 1 Twist Epithelial-mesenchymal transition Metastasis

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤,尽管目前临

床上采取了包括手术、化疗、放疗、基因治疗在内的综合治疗策略,但胃癌的总体生存率不超过 40%^[1]。死亡率高的主要原因是局部复发和远处转移。这与胃癌的高侵袭性和转移特性有关。肿瘤起始细胞(tumor initiating cells, TICs)假说认为在肿

* 国家自然科学基金(No. 81173386)和安徽省重点实验室、工程中心开放课题计划(No. BYKL1409ZD)资助
△ 通讯作者, E-mail: qianjun215036@sina.com

瘤中存在一小群能自我更新、多向分化及无限增殖的细胞是导致肿瘤复发和传统治疗抵抗的主要原因。乙醛脱氢酶 1(ALDH1)作为 TICs 标志物已在头颈部鳞癌、肺癌、乳腺癌^[2-4]等多种实体瘤中得到证实,也被认为是胃 TICs 的可能标志物之一。

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是具有极性的上皮细胞转化为具有移行能力的间质细胞并获得侵袭和转移能力的过程。EMT 过程中的关键调控因子 Twist 可以抑制上皮细胞间黏附蛋白 E-cadherin 的表达从而对肿瘤的侵袭和转移产生重要影响^[5]。本研究通过免疫组化及原位杂交法检测胃腺癌(gastric adenocarcinoma, GAC)标本及正常对照组织中 ALDH1、Twist 的表达,分析其与患者临床病理参数、术后生存时间、EMT 相关因子表达的关系,探讨两者在 GAC 转移、判断预后中的价值。

1 资料与方法

1.1 标本收集

收集我院临床病理科 2007 年 1 月至 2008 年 6 月间外检档案中行根治性切除 GAC 标本 106 例。纳入 106 例中随访资料完备的 86 例(81.1%)患者作为研究对象。术前未经化疗或放疗。其中男 69 例,女 17 例。年龄 36~83 岁,中位年龄为 58 岁。根据 pTNM 分期(国际 UICC1997 分期标准):Ⅰ期 17 例,Ⅱ期 19 例,Ⅲ期 36 例,Ⅳ期 14 例。高分化癌 2 例,中分化癌 41 例,低分化癌 43 例。淋巴管侵犯阴性 28 例,阳性 58 例,远处转移阴性 72 例,阳性 14 例。从中随机选取 30 例不含癌组织的切缘组织为对照组。术后随访自入院确诊日期开始至 2013 年 6 月,随访形式为门诊复查及电话随访相结合,死亡为随访终点,随访时间 2~78 个月,中位随访期 52 个月。

1.2 抗体与试剂

鼠抗人 ALDH1(H-8, sc-166362)单克隆抗体、兔抗人 Twist(H-81, sc-15393)单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司。ALDH1、Twist 原位杂交试剂盒购自武汉博士德生物技术有限公司。兔抗人 E-cadherin 单克隆抗体(克隆号 82-4)、鼠抗人 N-cadherin 单克隆抗体(克隆号 6G11)、二抗及 DAB 显色剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 标本组织原位杂交实验和免疫组化染色

所有标本均经 4%(体积分数)甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μm 切片。采用原位杂交实验检测

ALDH1、Twist mRNA 表达。探针为地高辛标记的 ALDH1 及 Twist 寡核苷酸,杂交信号检测由 DAB 显色,具体步骤按试剂盒说明书进行。采用免疫组化染色法检测 ALDH1、Twist, EMT 相关因子 E-cadherin、N-cadherin 蛋白的表达,标本组织经微波抗原修复后按试剂盒说明书操作(Elivision 法)。ALDH1、Twist 单克隆抗体浓度为 1:100。所有免疫组化和原位杂交实验均以已知阳性切片为阳性对照,免疫组化以 PBS 代替一抗为阴性对照。

1.4 结果判定

1.4.1 原位杂交检测结果判定 以细胞质出现淡黄色至棕褐色颗粒为阳性表达。染色强度判断标准参照 1.4.2 免疫组化染色判定标准。

1.4.2 免疫组化检测结果判定 ALDH1、Twist 蛋白位于细胞质,以癌细胞胞质出现淡黄色至棕褐色颗粒为阳性表达。E-cadherin、N-cadherin 以细胞膜和(或)细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性。高倍镜下随机选取 5 个视野(每个视野观察细胞数不少于 200 个),按阳性细胞所占百分比及着色深浅进行结果判定。着色深浅等级为:0=无着色(不表达),1=淡黄色(弱表达),2=棕黄色(中等表达),3=棕褐色(强表达)。阳性细胞所占百分比分为:0%, <10%, 10%~<25%, 25%~<50%, 50%~75%或更高。<10%的细胞 ALDH1 弱至强表达视为阴性, $\geq 10\%$ 的细胞 ALDH1 弱表达或更强表达视为阳性^[3]。

1.5 统计学方法

采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验进行统计分析,生存分析采用 Kaplan-Meier 法, log-rank 检验比较生存差异,相关性分析采用 Spearman 等级相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 原位杂交检测及免疫组化检测结果

见图 1~图 6、表 1。86 例 GAC 中 ALDH1、Twist mRNA 及蛋白表达均高于对照组,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。GAC 组中 E-cadherin 低表达和 N-cadherin 高表达,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 GAC 组织 ALDH1、Twist 蛋白表达与 EMT 相关因子表达的相关性

由表 2 可见, GAC 组织中 ALDH1 表达与 E-cadherin 表达呈负相关($r = -0.341, P < 0.05$),与 N-cadherin 的表达呈正相关($r = 0.397, P < 0.05$);

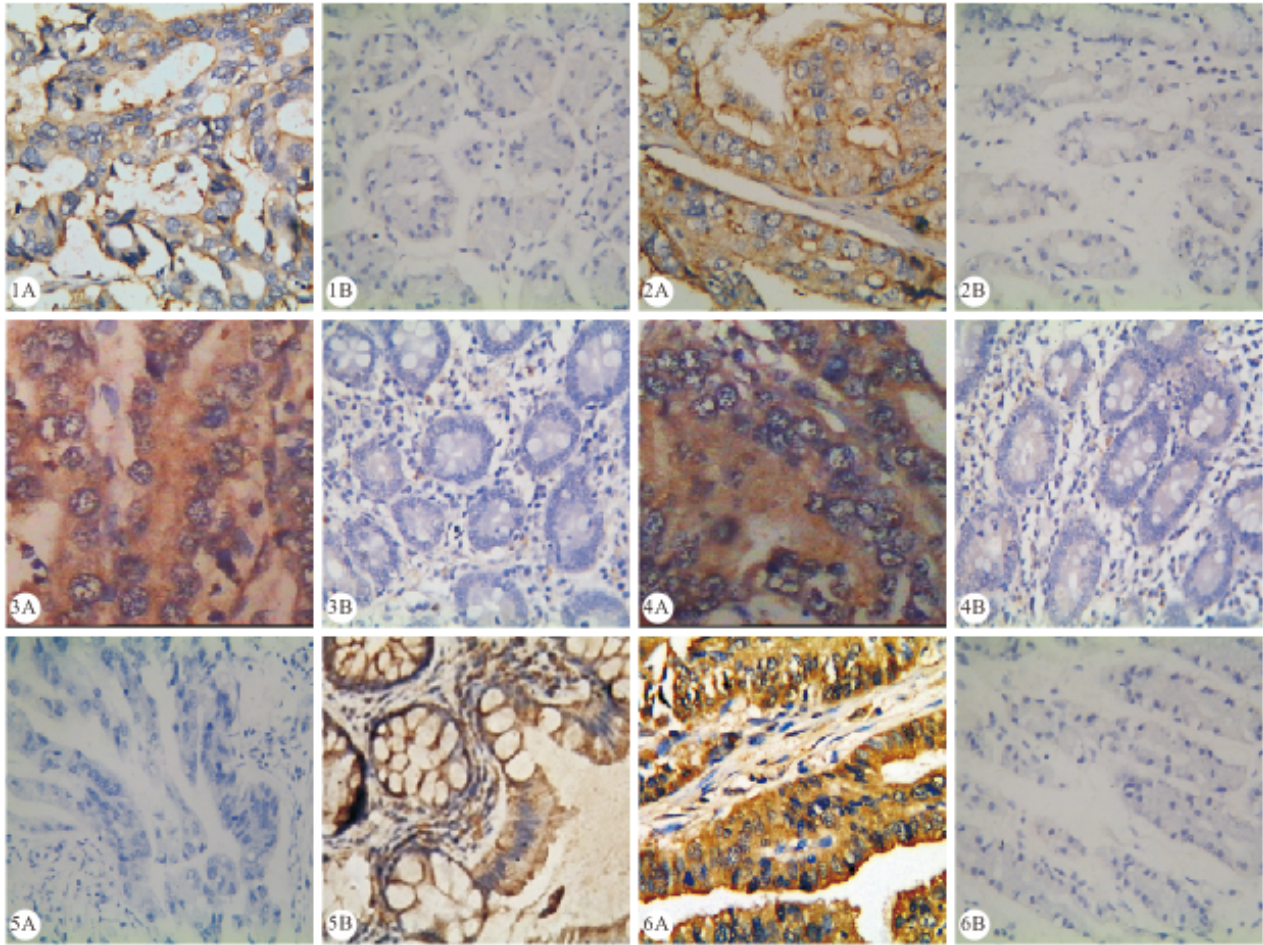


图 1 ALDH1 在 GAC 及正常对照组织中的表达。Elivision 法 ×400 图 2 Twist 在 GAC 及正常对照组织中的表达。Elivision 法 ×400
图 3 ALDH1 mRNA 在 GAC 及正常对照组织中的表达。DAB 显色 ×400 图 4 Twist mRNA 在 GAC 及正常对照组织中的表达。DAB 显色 ×400
图 5 E-cadherin 在 GAC 及正常对照组织中的表达。Elivision 法 ×400 图 6 N-cadherin 在 GAC 及正常对照组织中的表达。Elivision 法 ×400

Fig 1 Expression of ALDH1 in GAC group and control group. Elivision ×400 Fig 2 Expression of Twist in GAC group and control group. Elivision ×400
Fig 3 ALDH1 mRNA expression in GAC group and control group. DAB ×400 Fig 4 Twist mRNA expression in GAC group and control group. DAB ×400
Fig 5 Expression of E-cadherin in GAC group and control group. Elivision ×400 Fig 6 Expression of N-cadherin in GAC group and control group. Elivision ×400

A: GAC; B: Control group

表 1 标本组织中 ALDH1、Twist 及 EMT 相关因子的表达〔例数(%)〕

Table 1 ALDH1, Twist, E-cadherin and N-cadherin expression in different gastric tissues [case (%)]

Group	n	Positive expression of ALDH1		Positive expression of Twist		Positive expression of EMT-related factors	
		Protein	mRNA	Protein	mRNA	E-cadherin	N-cadherin
GAC	86	46 (53.5)	49 (57.0)	50 (58.1)	52 (60.5)	32 (37.2)	42 (48.8)
Control	30	6 (20.0) *	7 (23.3) *	5 (16.7) *	6 (20.0) *	26 (86.7) *	4 (13.3) *

* $P<0.05$, vs. GAC group

GAC 组织中 Twist 表达与 E-cadherin 表达呈负相关($r=-0.283, P=0.001$), 与 N-cadherin 表达呈正相关($r=0.304, P=0.015$)。

2.3 ALDH1、Twist 蛋白表达与临床病理特征的关系

ALDH1 蛋白表达与 GAC 有无淋巴结转移及

临床分期有关($P<0.05$), Twist 蛋白表达与肿瘤淋巴结转移、远处转移及浸润深度有关($P<0.05$), 见表 3。

2.4 EMT 相关因子表达与 GAC 淋巴结转移的关系

GAC 淋巴结转移组中 E-cadherin、N-cadherin

表 2 GAC 中 ALDH1、Twist 表达与 E-cadherin、N-cadherin 表达的关系(例数)

Table 2 The relationship between ALDH1, Twist and E-cadherin, N-cadherin protein expression in GAC (case)

	E-cadherin		N-cadherin	
	—	+	—	+
ALDH1				
—	18	22	27	13
+	36	10	17	29
Twist				
—	15	21	24	12
+	39	11	20	30

ALDH1 and E-cadherin: $r = -0.341$, $P = 0.001$; ALDH1 and N-cadherin: $r = 0.397$, $P = 0.005$; Twist and E-cadherin: $r = -0.283$, $P = 0.001$; Twist and N-cadherin: $r = 0.304$, $P = 0.015$

表 3 GAC 组织中 ALDH1、Twist 蛋白的表达与临床病理特征的关系(例数)

Table 3 The relationship between ALDH1, Twist protein expression and clinicopathological characteristics in GAC (case)

	<i>n</i>	ALDH1 protein		<i>P</i>	Twist protein		<i>P</i>
		—	+		—	+	
Gender				0.301			0.949
Male	69	34	35		29	40	
Female	17	6	11		7	10	
Age (yr.)				0.751			0.296
≥50	51	23	28		19	32	
<50	35	17	18		17	18	
Tumor diameter (cm)				0.180			0.241
≥3	30	11	19		10	20	
<3	56	29	27		26	30	
Differentiation				0.665			0.382
Well and moderate	43	19	24		20	23	
Poor	43	21	22		16	27	
Lymphatic metastasis				0.022			0.000
Negative	28	18	10		20	8	
Positive	58	22	36		16	42	
Distant metastases				0.376			0.014
Negative	72	35	37		26	46	
Positive	14	5	9		10	4	
pTNM stage				0.012			0.680
I + II	36	11	25		16	20	
III + IV	50	29	21		20	30	
Depth of invasion				0.795			0.013
Serosa inside	27	12	15		6	21	
Serosa outside	59	28	31		30	29	

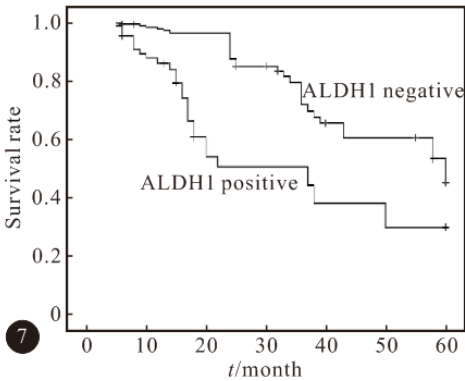


图 7 ALDH1 阳性、阴性组患者术后生存曲线

Fig 7 Survival curves of patients with positive and negative ALDH1 expression

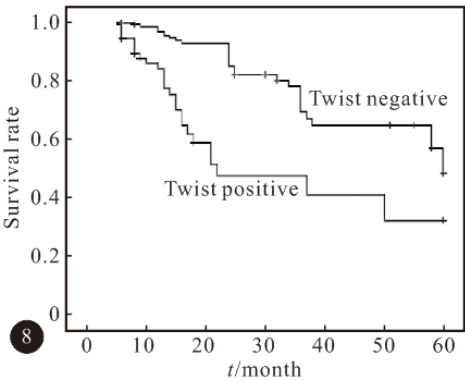


图 8 Twist 阳性、阴性组患者术后生存曲线

Fig 8 Survival curves of patients with positive and negative Twist expression

表 4 GAC 患者术后生存的单因素分析

Table 4 Univariate analysis of postoperative GAC patients

	<i>n</i>	5-year survival rate (%)	χ^2	<i>P</i>
Gender			2.31	0.130
Male	69	57.8		
Female	17	58.8		
Age (yr.)			0.83	0.360
≥50	51	51.6		
<50	35	68.1		
Tumor diameter (cm)			10.13	0.002
≥3	30	41.4		
<3	56	85.5		
Differentiation			1.87	0.170
Well and moderate	43	58.4		
Poor	43	57.5		
Lymphatic metastasis			7.43	0.006
Negative	28	80.4		
Positive	58	49.2		
Distant metastases			5.12	0.040
Negative	72	68.2		
Positive	14	23.9		
pTNM stage			17.00	0.010
I + II	36	77.5		
III + IV	50	39.3		
ALDH1			5.65	0.020
Negative	40	51.9		
Positive	46	31.3		
Twist			5.67	0.030
Negative	36	52.3		
Positive	50	35.7		

3 讨论

近年来肿瘤综合治疗的理念日益普及,但复发和转移仍是导致绝大多数患者治疗失败和死亡的原因。EMT 最初在胚胎发育和组织再生及修复过程中发挥作用,现在被认为是影响肿瘤局部和远处转移的重要环节,能促进上皮性肿瘤的侵袭和转移^[6]。在 EMT 过程中,上皮标志物 E-cadherin 等表达下调,间质标志物 vimentin、N-cadherin 等表达上调,使得上皮性肿瘤的细胞间极性减弱,细胞连接变得疏松导致黏附能力下降,迁移运动能力增加易于转移^[7]。EMT 过程受多种调节因子控制, Twist 就是其中之一。Twist 是具有螺旋-环-螺旋结构的转录因子,能抑制 E-cadherin 的表达,诱导 EMT 的发生。E-cadherin 表达下调或缺失时, Twist 的表达上调。因而 Twist 被认为是 EMT 的启动者^[8]。Feng 等^[9]发现在胃癌 MGC-803 和 HGC-27 细胞系中 Twist 高表达,甚至呈现出高侵袭性特征,从而导致胃癌细胞转移能力增强,而用小干扰 RNA (small interference RNA) 技术敲除 Twist 基因后, E-cadherin 的表达明显增加,使胃癌细胞的迁移能力明显受到抑制。本实验结果显示在 GAC 组织中

Twist 高表达, Twist 的阳性率随着肿瘤浸润的增加而升高, 淋巴结及远处转移组的阳性率高于未转移组, Twist 的表达与 N-cadherin 的表达呈正相关, 而与 E-cadherin 的表达呈负相关。综合以上结果也提示在 GAC 组织中 Twist 可能通过抑制 E-cadherin 的表达诱导 EMT 的发生而促进肿瘤的浸润和转移。

已有研究表明肿瘤中具有 TICs 特性的细胞更易发生 EMT 过程^[10,11]。现今已有多种细胞表面标志物可用来确定干细胞样的 TICs 包括 CD44^[12]、CD133^[13]、ALDH1 等。Chen 等^[14]对头颈部鳞癌 (HNSCC) 细胞系的研究表明, ALDH1 阳性的肿瘤细胞具有更强的侵袭能力, 通过悬浮培养法可诱导 HNSCC 细胞发生不同程度的 EMT, 发生 EMT 的 HNSCC 细胞高表达 ALDH1, 同时具有间质细胞的某些特性。本研究发现 GAC 组织中 ALDH1 高表达, 转移灶中亦存在 ALDH1 阳性细胞, 并且 ALDH1 的表达越高, 肿瘤分期亦越高, 更易发生淋巴结转移, 患者生存率更低。ALDH1 的表达亦和 N-cadherin 的高表达及 E-cadherin 的低表达相关。可见 ALDH1 可能直接启动或与其他通路或因子相互作用调节 EMT 的发生从而促进 GAC 侵袭和转移, 但对于 ALDH1 启动 EMT 的具体信号机制仍需进一步研究。

本研究同时在 GAC 中比较了 ALDH1 和 Twist 与临床病理参数的关系, 结果表明, ALDH1 蛋白的表达与肿瘤的临床 TNM 分期和淋巴结转移有关 ($P<0.05$)。Twist 蛋白的表达与肿瘤远处转移、淋巴结转移及浸润深度有关 ($P<0.05$)。可见 ALDH1 和 Twist 在 GAC 的进展中都起到了重要作用, 但作用的机制可能存在差异。但可以明确的是两者的表达都与肿瘤的转移密切相关。淋巴结转移是 GAC 的一个重要生物学特性, 也是影响预后的一个关键因素。淋巴结转移尤其是结外侵犯不利于局部病灶的控制和患者生存率的改善。在发生淋巴结转移的 GAC 病例中, EMT 相关因子 E-cadherin 明显下调而 N-cadherin 显著上调, 说明 ALDH1 和 Twist 在 GAC 转移中的作用可能都和上皮间质转化有关。

本研究提示 ALDH1、Twist 阳性患者预后较阴性患者更差。单因素分析表明两者的表达与 GAC 患者术后 5 年生存率有关 (P 均 <0.05)。可见检测 GAC 组织中 ALDH1、Twist 的表达对预测肿瘤侵袭转移、判断预后具有一定价值。

EMT 现象的发生可能是促进 GAC 侵袭转移的重要途径之一。通过靶向调控 ALDH1 或 EMT 的关键调节因子 Twist 等或可有效抑制 GAC 的侵袭和转移,改善患者预后,为 GAC 治疗提供新的视角。

参 考 文 献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, *et al.* Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*,2011;61(2):69-90.

2 Chen YC, Chen YW, Hsu HS, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 1 is a putative marker for cancer stem cells in head and neck squamous cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009; 385 (3):307-313.

3 Jiang F, Qiu Q, Khanna A, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell associated marker in lung cancer. *Mol Cancer Res*,2009;7(3):330-338.

4 Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, *et al.* ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell*,2007;1 (5):555-567.

5 Eliasm C, Tozer KR, Silber JR, *et al.* TWIST is expressed in human gliomas and promotes invasion. *Neoplasia*,2005;7(9): 824-837.

6 Li J, Zhou BP. Activation of β -catenin and Akt pathways by Twist are critical for the maintenance of EMT associated cancer stem cell-like characters. *BMC Cancer*,2011;11:49. doi: 10. 1186/1471-2407-11-49.

7 Kang Y, Massague J. Epithelial mesenchymal transitions: twist in development and metastasis. *Cell*,2004;118(3):277-279.

8 Vesuna F, Van Diest P, Chen JH, *et al.* Twist is a transcriptional repressor of E-cadherin gene expression in breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008; 367 (2): 235-241.

9 Feng MY, Wang K, Song HT, *et al.* Metastasis-induction and apoptosis-protection by TWIST in gastric cancer cells. *Clin Exp Metastasis*,2009;26(8):1013-1023.

10 Santisteban M, Reiman JM, Asiedu MK, *et al.* Immune-induced epithelial to mesenchymal transition *in vivo* generates breast cancer stem cells. *Cancer Res*,2009;69(7):2887-2895.

11 Mani SA, Guo W, Liao MJ, *et al.* The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*, 2008;133(4):704-715.

12 Dalerba P, Dylla SJ, Park K, *et al.* Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2007;104(24):10158-10163.

13 陆瑞祺, 吴巨钢, 周国才等. 胃癌 CD133 阳性细胞亚群肿瘤起始细胞样特性的检测. *中华胃肠外科杂志*,2012;15(2):174-179.

14 Chen C, Wei Y, Hummel M, *et al.* Evidence for epithelial-mesenchymal transition in cancer stem cells of head and neck squamous cell carcinoma. *PLoS One*,2011;6(1):e16466. doi: 10.1371/journal.pone.0016466.

(2015-03-08 收稿,2015-08-08 修回)

编辑 沈 进

(上接第 53 页)

3 Avila-Costa MR, Colin-Barenque L, Zepeda-Rodríguez A, *et al.* Ependymal epithelium disruption after vanadium pentoxide inhalation: a mice experimental model. *Neurosci Lett*,2005;381 (1-2):21-25.

4 Aschner M, Edward LD, Cristina S, *et al.* Gene-environment interactions: neurodegeneration in non-mammals and mammals. *Neurotoxicology*,2010;31(5):582-588.

5 胡志鹏, 李卫星, 张红明等. HSP70 基因多态性与焦炉工外周血淋巴细胞凋亡的易感性研究. *环境与健康杂志*,2012;29 (4):306-310.

6 Kim JH, Hong YC. HSP70-hom gene polymorphisms modify the association of diethylhexyl phthalates with insulin resistance. *Environ Mol Mutagen*,2014;55(9):727-734.

7 周鼎伦, 封承勇, 兰亚佳. 钒对神经行为功能影响的配对分析. *四川大学学报(医学版)*,2007;38(3):468-470.

8 Lahiri S. DNA isolation by a rapid method from human blood samples: effects of $MgCl_2$, EDTA, storage time, and temperature on DNA yield and quality. *Biochem Genet*,1993; 31(7-8):321-328.

9 Andersson T, Alfredsson L, Kallberg H, *et al.* Calculating measures of biological interaction. *Eur J Epidemiol*,2005;20 (7):575-579.

10 林海明, 张文霖. 主成分分析与因子分析的异同和 SPSS 软件——兼与刘玉玫、卢纹岱等同志商榷. *统计研究*,2005;3:65-69.

11 严艳萍. bFGF 对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤后 HSP70 表达的影响. 天津:天津医科大学,2006.

12 周 舫, 李芳泽, 蒋长征等. HSP70-hom 基因多态性与高原反应易感性的关系. *工业卫生与职业病*,2005;31(1):29-31.

13 Garci GB, Quiroga D, Sturtz N, *et al.* Morphological alterations of central nervous system (CNS) myelin in vanadium (V)-exposed adult rats. *Drug Chem Toxicol*,2004;2 (3):281-293.

14 Li H, Zhou DL, Zhang Q, *et al.* Vanadium exposure-induced neurobehavioral alterations among Chinese workers. *Neurotoxicology*, 2013; 36: 49-54. doi: 10.1016/j.neuro. 2013.02.008.

(2015-03-13 收稿,2015-07-24 修回)

编辑 余 琳