

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.04.005
文章编号: 1005-8982(2016)04-0024-05

临床论著

EGFR、PDGFRA 和 VEGFR2 在结肠癌中的表达及变异分析

邓子龙, 刘蔚东

(中南大学湘雅医院, 湖南 长沙 410008)

摘要: **目的** 探讨受体酪氨酸激酶表皮生长因子受体 (EGFR), 血小板源性生长因子受体 α 多肽 (PDGFRA) 和血管内皮细胞生长因子受体 2 (VEGFR2) 在 30 例结肠癌中的过表达及基因突变情况。 **方法** 收集该院确诊为结肠癌的 30 例组织标本, 免疫组织化学检测组织标本中 EGFR, PDGFRA 和 VEGFR2 表达情况, PCR-SSCP 检测标本中 EGFR (外显子 18-21) 和 PDGFRA (外显子 12, 14 和 18) 的基因突变情况。 **结果** 收集该院确诊为结肠癌的 30 例组织标本, 免疫组织化学显示 EGFR 的阳性表达率为 43.3% (13/30), 但是 EGFR 热点区域 (外显子 18-21) 未检测到激活突变。而在 17 例患者 (56.7%) 中检测到 EGFR 外显子 20 的密码子 787 (Q787Q) 的一处无义碱基替换 (CAG>CAA)。PDGFRA 在所有恶性细胞中阳性表达, 热点区域也未发现激活突变, 但是 9 例标本中的 12 号外显子的密码子 567 发生 CCA>CCG 无义突变; 4 例标本中的 18 号外显子的密码子 824 发生 GTC>GTT 无义突变。在 2 例标本中还发现, 14 号内含子有两处碱基改变 IVS14+3G>A 和 IVS14+49G>A, 4 例标本中的 18 号内含子存在 IVS18-50insA 改变。有 22 例 (73.3%) 中 VEGFR2 阳性表达, 且 VEGFR2 表达与肿瘤未转移呈正相关 ($P=0.038$)。 **结论** 结肠癌中虽然 EGFR 和 PDGFRA 过表达, 但是未检测到激活突变, 而 VEGFR2 也在结肠癌中过表达, 其表达与肿瘤未发生转移有关。本研究结果为未来结肠癌治疗提供可能的方向。

关键词: 表皮生长因子受体; 血小板源性生长因子受体 α 多肽; 血管内皮细胞生长因子受体 2; 结肠癌
中图分类号: R735.35 **文献标识码:** A

Molecular characterization of EGFR, PDGFRA and VEGFR2 in colon cancer

Zi-long Deng, Wei-dong Liu

(Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China)

Abstract: Objective To investigate EGFR, PDGFRA and VEGFR2 RTKs overexpression and activating gene mutations in a cohort of 30 colon cancer patients sample. **Methods** EGFR, PDGFRA and VEGFR2 immunohistochemistry was performed in all samples, followed by DNA isolation from the gross macroscopically dissection of the neoplastic area. Screening for EGFR (exons18-21) and PDGFRA (exons12, 14 and 18) mutations was done by PCR-single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCP). **Results** Despite the presence of EGFR immunohistochemical positive reactions in 43 % (13/30) of the samples, no EGFR activating mutations in the hotspot region (exons18-21) were identified. A silent base substitution (CAG > CAA) in EGFR exon 20 at codon 787 (Q787Q) was found in 17 cases (56 %). All PDGFRA immunohistochemical reactions were positive and consistently observed in the stromal component, staining fibroblasts and endothelial cells, as well as in the cytoplasm of malignant cells. No activating PDGFRA mutations were found, yet, several silent mutations were observed, such as a base substitution in exon 12 (CCA > CCG) at codon 567 (P567P) in 9 cases and in exon18 (GTC > GTT) at codon 824 (V824V) in 4 cases. We also observed the presence of base substitutions in intron 14 (IVS14 + 3G > A and IVS14 + 49G > A) in two different cases, and in intron 18 (IVS18-50 insA) in 4 cases. VEGFR2 positivity was observed in 22 of 30 cases (73.3 %),

收稿日期: 2015-08-26

and was significantly associated with lack of metastasis ($P = 0.038$). **Conclusions** Despite the absence of EGFR and PDGFRA activating mutations, the presence of overexpression of these three important therapeutic targets in a subset of cases may be important in predicting the sensitivity of colon cancer to specific anti-RTKs drugs.

Keywords: EGFR; PDGFRA; VEGFR2; colon cancer

结肠癌是人类最常见的恶性消化道肿瘤,全球每年有超过 100 万新增确诊结肠癌病例,是世界上引起死亡的主要癌症之一^[1]。结肠癌是正常结肠上皮恶性转化为腺瘤性息肉的结果^[2]。尽管结肠癌被大多数发达国家列入早期肿瘤筛查项目,结肠癌治疗方法取得长足进步,但是结肠癌仍然是女性因癌症死亡的第 2 大原因,男性因癌症死亡的第 3 大原因^[3]。根据目前的治疗条件,早期根治性手术切除仍是结肠癌最有效的治疗方法。然而,晚期结肠癌患者可供选择的的治疗方法并不多,且疗效都不理想。因此,结肠癌早期诊断十分必要。目前,广泛使用的结肠癌分类系统是国际抗癌联盟(The International Union against Cancer, UICC)分期标准,该系统是基于临床病理特征,如肿瘤大小、淋巴结转移及器官转移等情况进行分类。然而,由于结肠癌患者具有异质性,UICC 分期标准并不能够准确预测结肠癌患者临床结局。结肠癌患者临床表现各不相同,即使处于相同阶段的结肠癌结局也可能大不相同。因此,通过更好地阐述结肠癌分子基础识别结肠癌特异性生物标志物和治疗靶点将有助于开发结肠癌新的治疗手段。

有丝分裂信号机制的分布,尤其是受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)信号是肿瘤进展的标志性事件,目前 RTKs 已成为靶向治疗的主要靶点^[4]。RTKs 是跨膜蛋白,由细胞外区域、跨膜区域、近膜区域和细胞内区域等组成,而两个激酶区定位于细胞内区域。当 RTKs 与生长因子结合、受体二聚化和自我磷酸化时,位于细胞内区域的酪氨酸残基激活 MAPK、PI3K、JAK/STAT 等信号通路途径,从而影响细胞内基因表达。在肿瘤发生和发展过程中,RTKs 通常表达下调,并且通过过度磷酸化维持信号传导通路在激活状态,导致肿瘤生长、进展、增殖、去分化、凋亡抑制、转移和血管生成^[5-6]。

在不同种类的 RTK 中, I 类[如酪氨酸激酶表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)]和 III 类[如血小板源性生长因子受体 α 多肽(platelet-derived growth factor receptor α , PDGFRA)、KIT、血管内皮细胞生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)等]被证实参与器质性肿瘤形成过程^[7]。EGFR 是首个被证

实与人类肿瘤有关的 RTK, EGFR 拮抗剂已成为癌症治疗的新希望, EGFR 拮抗剂主要分为两类,一类是针对胞外区域的单克隆抗体,如西妥昔单抗;另一类是小分子酪氨酸激酶抑制剂,如吉非替尼(Gefitinib)和厄洛替尼(Erlotinib)等^[8]。近年来,小分子改变已被证实与患者对新研发的抗 EGFR 药物的响应率有关,尤其是 EGFR 胞内激酶区域(外显子 18-21)热点区的 EGFR 突变是吉非替尼和厄洛替尼治疗肺癌有效性的重要预测因子。有临床研究报道,伊马替尼等 KIT 和 PDGFRA 抑制剂在胃肠道基质肿瘤治疗中取得了良好效果^[9]。与抗 EGFR 药物类似的是, KIT 和 PDGFRA 基因的特异性激活基因突变与患者对伊马替尼响应率有关。除了这些选择性抑制剂,多靶点抑制剂在肿瘤治疗中也取得了重要突破,如靶向抑制 KIT、PDGFR 和 VEGFR2 的舒尼替尼(Sunitinib);靶向 KIT、VEGFR2、PDGFR 和 BRAF 等细胞内酪氨酸激酶的索拉菲尼;靶向 KIT、PDGFR 和 VEGFR 的帕唑帕尼等。VEGFR2 不但是促有丝分裂因子,也是重要的血管生成因子,因此阻断 VEGFR2 活性在肿瘤治疗中具有重大价值。近来有研究报道,结肠癌中未见 KIT 分子变异,并发现小部分病例中 KIT 通过 KIT/SCF 共表达激活^[10]。本文的实验主要研究结肠癌中 EGFR、PDGFRA 和 VEGFR2 等 RTKs 的过表达和激活基因突变等表达变异情况,并评估 RTKs 在结肠癌治疗中的作用价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取 2001 年 1 月 -2012 年 12 月于中南大学湘雅医院就诊并经病理确诊为结肠癌的 30 例病理和随访资料完整的患者纳入本次研究。其中,男性 17 例,女性 13 例;年龄 24 ~ 77 岁,平均(49 ± 44.7)岁,12 例患者伴淋巴结转移,2 例患者疾病复发。评价随访时间为 24 个月。

1.2 EGFR、PDGFRA 和 VEGFR2 免疫组织化学检测

免疫组织化学染色采用二步法染色(SP法),具体操作按说明书一、二抗杂交,最后经 DAB 显色,逐级脱水、透明、封片。

1.3 肿瘤组织 DNA 准备

按照试剂盒说明提取结肠癌组织中的基因组 DNA,置于 -20°C 冰箱冷冻保存备用。

1.4 EGFR 与 PDGFRA 基因突变检测

采用下述引物聚合酶链反应扩增 EGFR 基因外显子 18-21 和 PDGFRA 基因外显子 12、14 和 18, EGFR 正向引物:5'-GGTACTGGTGGAGTATGATAG-3',反向引物:5'-TGGTCCTGCACCAGTAATATG-3'; PDGFRA 正向引物:5'-CTCTFCATAATGCTTGCTCTGATAGC-3',反向引物:5'-GTGGAAAAATAGCCTCAATTC-3',扩增产物长度分别为 248 bp 和 211 bp。反应条件为:初始变性 94°C 、5 min; 94°C 、30 s, 56°C 、30 s, 72°C 、20 s, 45 个循环; 72°C 延伸 10 min; 4°C 结束反应。PCR 产物经 3% 琼脂糖凝胶电泳确定后,用 ABI 公司的 3730XL 测序仪进行序列分析。应用 Chromas 软件在信噪比 $>98\%$ 的条件下判断基因突变情况。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,计数资料以率表示,两两组间用 χ^2 检验和均数 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EGFR 表达特征

免疫组织化学分析表明,EGFR 的阳性(2+/3+)表达率约为 43.3%(13/30)(见图 1)。本实验还通过突变分析探讨 EGFR 过表达的可能分子基础,结果显示 EGFR 基因的“热点区”(内含子 18-21)中无突变,但是在 17 例(56.7%)患者第 20 号内含子的 787 号密码子中检测到沉默碱基替换(CAG>CAA)。EGFR 基因变化和临床病理参数无相关性。

2.2 PDGFRA 表达特征

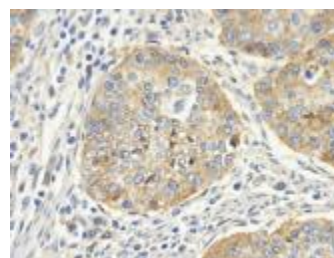
免疫组织化学结果表明,30 例结肠癌中 21 例 PDGFRA 强阳性表达(3+),6 例中等阳性表达(2+),3 例阳性表达(+),所有病例都呈阳性表达(见图 2)。PDGFRA 阳性表达于肿瘤细胞浆和内皮细胞及成纤维细胞等基质成分。

本研究同样对 30 例结肠癌中 PDGFRA 的热点外显子 12、14 和 18 进行突变分析,结果同样未发现 PDGFRA 的激活突变。然而本研究发现,PDGFRA 中存在沉默突变,在 9 例患者中发现 PDGFRA12 号外显子第 567 号密码子中的碱基替换(CCA>CCG);还

在 4 例患者中发现 PDGFRA18 外显子第 824 号密码子中的碱基替换(GTC>GTT)。此外,在 2 个不同病例中发现 14 号内含子碱基替换(IVS14+3G>A 和 IVS14+49G>A)(见图 3),在 4 个病例中发现了 18 号内含子(IVS18-50insA)碱基替换(见附表)。由于所有病例中 PDGFRA 表达均为阳性,因此 PDGFRA 表达与病理参数之间的相关性无法进行分析。

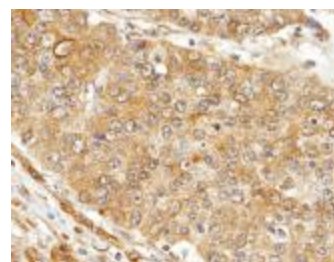
2.3 VEGFR2 表达特征

免疫组织化学结果检查 VEGFR2 的阳性表达率为 73.3%(22/30),6 例为中等阳性表达(2+),16 例为强阳性表达(3+),VEGFR2 阳性表达主要定位于恶性细胞细胞浆。基质中未发现 VEGFR2 阳性表达,但是在少数肿瘤细胞周围的内皮细胞弱阳性表达(见图 4)。VEGFR2 表达与临床病理参数表明 VEGFR2 过表达与肿瘤不发生转移呈正相关($P=0.038$)。



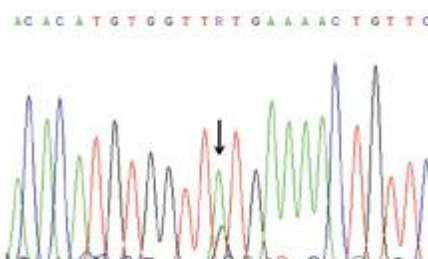
肿瘤细胞细胞浆中 EGFR 阳性表达,基质及内皮细胞阴性表达

图 1 免疫组织化学检测 EGFR 在结肠癌中的表达 ($\times 40$)



肿瘤细胞细胞浆中 PDGFRA 阳性表达,基质、成纤维细胞及内皮细胞偶有表达

图 2 免疫组织化学检测 PDGFRA 在结肠癌中的表达 ($\times 40$)

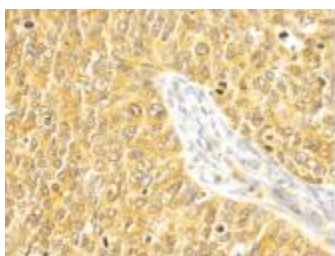


PDGFRA14 号内含子中发生碱基替换(IVS14+49G>A,黑色箭头所指)

图 3 PDGFRA 序列部分电泳图谱

附表 结肠癌中 EGFR 和 PDGFRA 基因突变类型分析

基因(外显子)	核苷酸变化	氨基酸替换	发生例数	dbSNP
EGFR(外显子 20)	2361G>A	Q787Q	17	rs1050171
PDGFRA(外显子 12)	1701G>A	P567P	9	rs1873778
PDGFRA(外显子 14)	2002+3G>A	IVS14+3G>A	1	未记录
	2002+49G>A	IVS14+49G>A	1	未记录
PDGFRA(外显子 18)	2472C>T	V824V	4	rs2228230
	2449-50insA	IVS18-50insA	4	rs3830355



肿瘤细胞细胞浆中 VEGFR2 阳性表达, 基质中阴性表达, 围绕神经元细胞的少数内皮细胞中阳性表达

图 4 免疫组织化学检测 VEGFR2 在结肠癌中的表达 (×40)

3 讨论

随着人们对肿瘤细胞中分子改变事件认识的不加深, 使得有效靶向治疗肿瘤的新药物层出不穷。EGFR、PDGFR 和 VEGFR2 等分子在肿瘤增殖和血管生成中发挥重要作用, 是肿瘤治疗的潜在靶点。本研究结果可用于识别这些治疗靶点的分子改变, 而这些治疗靶点能够预测结肠癌对选择性抑制剂治疗的阳性反应率。

EGFR 过表达在结肠癌中发生频率较高, 频率范围一般在 25%~70%间^[1]。本研究和其他研究结果显示, EGFR 在 33%~43%的结肠癌中过表达^[2]。尽管存在 EGFR 过表达, 本文的实验并未发现结肠癌中有 EGFR 激活基因突变, 但是在 17 例标本中(56%)发现 EGFR 第 20 号内含子中的 787 号密码子中有沉默碱基替换(CAG>CAA)。这一多态性被称为单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP), EGFR 的 SNP 具有人种差异, 在亚洲和非裔美国人群中 G 等位基因发生频率更高, 而欧洲人种中 A 等位基因发生频率更高(rs1050171, NCBI SNP 数据库), NP 在 EGFR 功能中的作用目前仍不清楚。Taguchi 等^[3]在不同基因表达型头颈部鳞状细胞癌细胞株中未发现 EGFR mRNA 和蛋白表达水平有变化, 但是其研究发现 G/A 杂合基因型细胞株对吉非替尼的敏感性明显高于 G/G 纯合基因型头

颈部鳞状细胞癌细胞株。Arias-Pulido 等^[4]近来在 89 例宫颈癌(75 例鳞状细胞癌、9 例腺癌及 5 例腺鳞癌)中研究也未发现 EGFR 激活突变, EGFR 在腺鳞癌中过表达机制仍有待进一步研究。以往研究还发现 EGFR 能够被 EGFR 基因扩增或 HPV E5 和 E6 等 HPV 癌基因蛋白调控, HPV E5 和 E6 通过抑制 EGFR 内吞和降解使 EGFR 表达水平升高^[5]。有临床实验评价了抗 EGFR 治疗对进展期结肠癌的效果, 该研究正在进行西妥昔单抗单独或联合放疗治疗复发性或早期结肠癌。一项 30 例局部复发进展期或转移性结肠癌患者参与的多中心 II 期临床实验发现基于吉非替尼治疗后, 患者无客观反应率, 且 1/5 的患者疾病稳定进展, 该研究结果提示药物肿瘤响应率与 EGFR 免疫组织化学检测的表达结果无关^[6]。该结论并不出乎研究者的意料, 因为某些肿瘤患者, 特别是肺癌患者, 与显著临床响应有关的参数并不是 EGFR 免疫活性, 而是 EGFR 酪氨酸激酶激活突变。本研究显示结肠癌中没有 EGFR 激活突变情况, 因此笔者推测厄洛替尼和吉非替尼单独使用的药效性较低。

目前, 有关 PDGFRA 在结肠癌发生过程中作用的研究较少。Estevez-Garcia 等^[7]分析 36 例结肠癌组织中 PDGFRA 的表达情况, 结果表明 PDGFRA 在肿瘤细胞中的过表达率为 42%, 而在基质细胞中的过表达率仅为 8%。Bernal-Sprekelsen 等^[8]最近的一项研究中发现 PDGFRA 几乎全部表达于结肠癌的基质, 而在肿瘤新生细胞中较少表达。本研究显示结肠癌中, PDGFRA 主要过表达于肿瘤基质或者新生肿瘤细胞中。造成该结果的原因可能是研究小组间使用的抗体不一致或者分析的标本组织学亚型不一致。本研究显示不管是否存在基因变异, 结肠癌中未检测到 PDGFRA 的激活突变, 这些基因变异绝大部分属于基因变异。本研究结果与 Estevez-Garcia 等^[7]在 36 例结肠癌中的研究结果一致。然而, 最近在大鼠模型和结肠癌肿瘤标本中的前临床研究显示基于伊马替尼的治疗对宫颈癌有一定疗效。

VEGFR2 广泛分布于人类疾病和肿瘤中。以往研究认为 VEGFR2 主要分布于激活的内皮细胞, 但是近来免疫组织化学研究发现 VEGFR2 也分布于肿瘤细胞中, 磷酸化 VEGFR2 易位至肿瘤细胞核是肿瘤发展过程中常见事件, 这可能与肿瘤中存在自分泌 VEGF/VEGFR2 环有关。Shen 等^[9]研究显示 VEGFR2 是前癌干细胞(precancerous stem cell, pC-

SCs)标志物。本文实验显示 VEGFR2 在大约 2/3 的结肠癌中阳性表达,但是 VEGFR2 过表达与肿瘤未发生转移相关,该结果提示结肠癌中还存在其他促进转移的分子,如本研究发现的那样 VEGFR2 在肿瘤细胞浆中过表达。目前,对结肠癌患者采用抗 VEGFR2 药物治疗已在进行临床实验,其中索拉菲尼和放疗及顺铂联合治疗正在进行 I、II 临床评估。研究认为,同时抑制多种受体酪氨酸激酶能够优化分子靶向抑癌药物相关的总疗效。目前,帕唑帕尼和拉帕替尼联合或单独治疗转移结肠癌的疗效和安全性正在进行临床研究,拉帕替尼是 EGFR 和 HER2 的双重酪氨酸激酶及抑制^[20]。

总之,本研究全面分析结肠癌中 EGFR、PDGFRA 和 VEGFR2 等癌基因蛋白的表达和变异情况,结果表明结肠癌中虽然 EGFR 和 PDGFRA 过表达,但是未检测到激活突变,而 VEGFR2 也在结肠癌中过表达,其表达与肿瘤未发生转移有关。本研究结果为未来结肠癌治疗提供了可能的方向。

参 考 文 献:

- [1] GJ S. World health classification of tumours pathology and genetics: tumours of the digestive system[J]. *Lancet Oncology*, 2001, 22(7): 454-455.
- [2] Kim JC, Kim SY, Roh SA, et al. Gene expression profiling: canonical molecular changes and clinicopathological features in sporadic colorectal cancers[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(43): 6662-6672.
- [3] Honein-AbouHaidar GN. Benefits and barriers to participation in colorectal cancer screening: a protocol for a systematic review and synthesis of qualitative studies[J]. *Bmj Open*, 2014, 4(2): 297-301.
- [4] Mirshafiey A, Ghalamfarsa G, Asghari B, et al. Receptor Tyrosine Kinase and Tyrosine Kinase Inhibitors: New Hope for Success in Multiple Sclerosis Therapy[J]. *Innov Clin Neurosci*, 2014, 11(7/8): 23-36.
- [5] Grusch M, Schelch K, Riedler R, et al. Spatio-temporally precise activation of engineered receptor tyrosine kinases by light[J]. *The EMBO Journal*, 2014, 33(8): 1713-1726.
- [6] Del Campo JM, Prat A, Gil-Moreno A, et al. Update on novel therapeutic agents for cervical cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 110(8): S72-76.
- [7] Hojjat-Farsangi M. Small-molecule inhibitors of the receptor tyrosine kinases: promising tools for targeted cancer therapies[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(8): 13768-13801.
- [8] Wu LL, Zhang ZQ, Yao HL, et al. Clinical efficacy of second-generation tyrosine kinase inhibitors in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors: a meta-analysis of recent clinical trials[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 8(6): 2061-2067.
- [9] Sosipatros A, Boikos, Constantine A, et al. The genetic landscape of gastrointestinal stromal tumor lacking KIT and PDGFRA mutations[J]. *Endocrine*, 2014, 47(2): 401-408.
- [10] Gavert N. c-Kit Is Suppressed in Human Colon Cancer Tissue and Contributes to L1-Mediated Metastasis[J]. *Cancer Research*, 2013, 73(18): 5754-5763.
- [11] Laurent-Puig P. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2009, 27(35): 5924-5930.
- [12] Press OA. Gender-related survival differences associated with EGFR polymorphisms in metastatic colon cancer[J]. *Cancer Research*, 2008, 68(8): 3037-3042.
- [13] Taguchi T, Tsukuda M, Imagawa-Ishiguro Y, et al. Involvement of EGFR in the response of squamous cell carcinoma of the head and neck cell lines to gefitinib[J]. *Oncol Rep*, 2008, 19(5): 65-71.
- [14] Arias-Pulido H, Joste N, Chavez A, et al. Absence of epidermal growth factor receptor mutations in cervical cancer[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2008, 18(9): 749-754.
- [15] Zhang B, Srirangam A, Potter DA, et al. HPV16 E5 protein disrupts the c-Cbl-EGFR interaction and EGFR ubiquitination in human foreskin keratinocytes[J]. *Oncogene*, 2005, 24(19): 2585-2588.
- [16] Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of nonsmall-cell lung cancer to gefitinib[J]. *N Engl J Med* 2004, 20(350): 2129-2139.
- [17] Estevez-Garcia P, Castano A, Martin AC, et al. PDGFR alpha/beta and VEGFR2 polymorphisms in colorectal cancer: incidence and implications in clinical outcome[J]. *Bmc Cancer*, 2012, 12: 514(5): 683-697.
- [18] Bernal-Sprekelsen JC. Spontaneous rectovaginal fistula during bevacizumab therapy for colon cancer[J]. *International Journal of Colorectal Disease*, 2013, 28(4): 591.
- [19] Shen R, Ye Y, Chen L, et al. Precancerous stem cells can serve as tumor vasculogenic progenitors[J]. *PLoS ONE*, 2008, 3(7): e1652.
- [20] Faivre S, Djelloul S, Raymond E. New paradigms in anticancer therapy: targeting multiple signaling pathways with kinase inhibitors[J]. *Semin Oncol*, 2006, 33(19): 407-420.

(张蕾 编辑)