

RKIP 在下咽癌中的表达及意义

赫 莉¹,陈艳红²,冯志星¹,韩海平¹

(邯郸市中心医院 1. 耳鼻咽喉科; 2. 检验科,河北 邯郸 056001)

摘 要: **目的** 探讨 Raf-1 激酶抑制蛋白(Raf-1 kinase inhibitor protein, RKIP)在下咽癌中的表达及其临床意义,通过与癌旁组织 RKIP 的表达比较,分析 RKIP 在下咽癌的发生、发展及转移中的作用以及癌旁下咽鳞状上皮中的表达及其临床意义。**方法** 采用免疫组化方法检测 46 例下咽鳞癌及 13 例癌旁下咽鳞状上皮组织中 RKIP 的表达情况。对实验结果进行 χ^2 检验及 Wilcoxon 检验。**结果** RKIP 在下咽鳞癌中的表达低于癌旁下咽鳞状上皮,差异具有统计学意义($P=0.034$)。RKIP 在有转移的下咽癌中表达低于无转移的下咽癌,差异具有统计学意义($P=0.020$)。RKIP 在高、中、低不同分化程度的下咽癌中表达阳性率逐渐下降,差异具有统计学意义($P=0.005$)。**结论** 下咽癌的分化程度与 RKIP 的表达有关,下咽癌淋巴结转移的发生与 RKIP 低表达及缺失有关。

关 键 词: RKIP;免疫组化;下咽癌;转移
中图分类号:R739. 63 文献标识码:A [中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2017,23(4):345-349]

Expression and significance of RKIP in hypopharyngeal carcinoma

HE Li¹, CHEN Yan-hong², FENG Zhi-xing¹, HAN Hai-ping¹

(1. Department of Otolaryngology, Central Hospital of Handan City, Handan 056001, China; 2. Department of laboratory, Central Hospital of Handan City, Handan 056001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical significance of Raf-1 kinase inhibitor protein (RKIP) in hypopharyngeal carcinoma. **Methods** Immunohistochemistry was used to detect the expression of RKIP in 46 specimens of hypopharyngeal carcinoma and 13 of para-carcinoma squamous epithelium. All the results were analyzed with chi-square test and Wilcoxon test. **Results** The expression of RKIP in the hypopharyngeal carcinoma was lower than that in the para-carcinoma squamous epithelium, and the difference was statistically significant ($P=0.034$). The positive expression rate of RKIP in carcinoma specimens with lymphatic metastasis was lower than that in those without lymphatic metastasis, and the difference was also significant ($P=0.020$). The positive expression rate of RKIP gradually declined from well differentiation to poor differentiation with statistically significant difference ($P=0.005$). **Conclusions** The differentiation degree of hypopharyngeal carcinoma is associated with the expression of RKIP. And the lymphatic metastasis of hypopharyngeal carcinoma is associated with expression deficiency or down regulation of RKIP.

Key words: RKIP; Immunohistochemistry; Hypopharyngeal carcinoma; Metastasis
[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2017, 23(4): 345-349]

Raf-1 激酶抑制蛋白(Raf-1 kinase inhibitor protein, RKIP)是磷脂酰乙醇胺结合蛋白(phosphatidylethanolamine-binding protein, PEBP)家族成员之一,人类的 RKIP 基因定位于 12 号染色体上,长约 10 000 bp,含 4 个外显子,其转录的 RKIPmRNA 长 1 434 bp,编码 187 个氨基酸,从而构成 RKIP 蛋白^[1]。

RKIP 是一种广泛存在于人体的、具有高度保守性的多功能蛋白,它通过调节多条信号转导通路来影响细胞的生长、增殖及分化,在肿瘤的发生发展中具有重要作用,目前普遍认为 RKIP 能够抑制肿瘤细胞的转移发生,是一种肿瘤转移抑制基因^[2]。RKIP 的表达下调或缺失使得细胞稳定性下降,进而导致细胞的侵袭力和转移力增加,从而促进肿瘤转移的发生。大量实验通过对结肠癌、直肠癌、宫颈癌、前列腺癌、肝癌、乳腺癌、胃癌等多种肿瘤组织的研究,发现 RKIP 不仅具有抑制肿瘤细胞转移的功能,而且

基金项目:河北省卫生厅科研基金项目(20150462)。
作者简介:赫 莉,女,硕士,副主任医师。
通信作者:韩海平,Email:hdshhp@163.com

与恶性肿瘤的发展、预后密切相关^[1,3]。下咽癌是下咽处的鳞状上皮发生恶变而产生的恶性肿瘤,高转移率是它的最大特点,也是造成患者死亡的一个重要因素。本实验通过免疫组化方法检测 RKIP 在下咽癌及癌旁组织中的表达,进而探讨 RKIP 在下咽癌发生及转移中的作用。

1 材料与方法

1.1 临床资料

材料来源于邯郸市中心医院耳鼻咽喉科 2010 年 12 月~2016 年 12 月下咽癌住院手术患者 46 例,男 42 例,女 4 例;年龄 43~76 岁,平均 61 岁。其中梨状窝癌 36 例,喉咽后壁癌 4 例,环后区癌 6 例。按国际抗癌协会(UICC)TNM 分类标准(2002)修订的方案,46 例患者中,T1 7 例,T2 12 例,T3 14 例,T4 13 例。高分化癌 6 例,中分化癌 10 例,低分化癌 30 例。有淋巴结转移 29 例,无淋巴结转移 17 例。

1.2 实验材料

实验所用山羊抗人 RKIP 多克隆抗体、鼠抗人 P-ERK 单克隆抗体,为美国 Santa Cruz 公司产品。即用型二步法免疫组织化学试剂盒,光谱超敏 SP 法试剂盒和浓缩型 DAB 试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。全部病例组织均由 3 名资深病理学医师确诊为鳞状细胞癌并分级,所有病例资料完整。淋巴结转移的 29 例患者下咽鳞癌原发灶及淋巴结转移灶被同时检测。淋巴结转移灶取自颈清扫切除组织,并且术后病理证实淋巴结中确有癌

细胞转移。13 例癌旁组织取自 46 例手术患者,癌旁组织距离肿瘤切缘 2~3 cm,病理证实均为分化良好、无肿瘤组织浸润的鳞状上皮。所有标本均经 10% 中性甲醛固定,石蜡包埋,4 μm 连续切片。

1.3 免疫组织化学染色过程

常规脱蜡水化,PBS 冲洗;切片置入加热沸腾的柠檬酸缓冲液(0.01 mol/L, pH = 6.0)中进行抗原修复,冷却至室温,PBS 洗;滴加过氧化酶阻断液,10 min,PBS 洗;滴加非免疫性阻断血清,10 min;滴加一抗,浓度均为 1:50,4℃ 过夜,PBS 洗;按试剂盒中要求滴加二抗,PBS 洗;滴加 DAB 显色液,3~5 min,水洗;苏木素复染,3 min,水洗;中性树胶封片。选取预实验中已知阳性的癌旁正常鳞状上皮细胞切片作阳性对照(图 1),以 PBS 代替一抗作阴性对照(图 2)。

1.4 结果判定标准

染色细胞内有棕色颗粒为阳性表达,RKIP 染色阳性表达主要定位于细胞胞浆,镜下为细小的棕色颗粒(图 3~5)。每张病理切片在高倍(免疫组化×400)镜下至少观察 10 个不重复的视野,判断细胞着色率和着色强度。采用半定量评分法判定结果:阳性细胞的百分比:0 分,无阳性细胞(图 6);1 分,阳性细胞百分比<10%;2 分,阳性细胞百分比≥10%~50%;3 分,阳性细胞百分比≥50%~80%;4 分,阳性细胞百分比≥80%。染色强度按阴性,弱,中,强染色分别评为 0~3 分。最终的评分是两个指标的乘积。0~3 分为阴性“-”,4~8 分为弱阳性“+”,9~12 分为强阳性“++”。

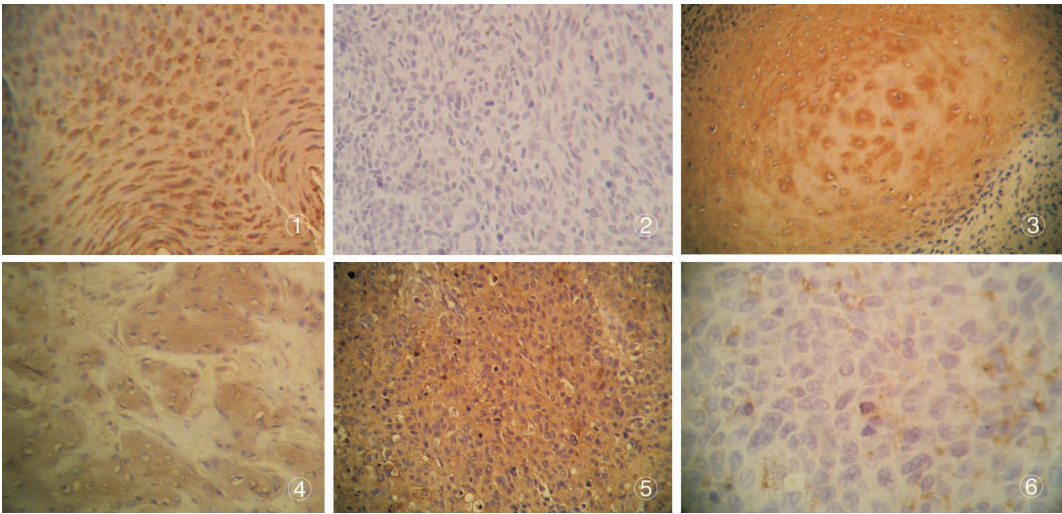


图 1 癌旁正常鳞状上皮细胞阳性对照(免疫组化×400) 图 2 以 PBS 代替一抗作阴性对照(免疫组化×400) 图 3 RKIP 在下咽高分化癌中的阳性表达(免疫组化×400) 图 4 RKIP 在下咽中分化癌中的阳性表达(免疫组化×400) 图 5 RKIP 在下咽低分化癌中的阳性表达(免疫组化×400) 图 6 RKIP 在淋巴结转移灶中的阴性表达(免疫组化×400)

1.5 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行分析。29 例有转移下咽鳞癌与其淋巴结转移灶中 RKIP 的表达比较采用 Wilcoxon 检验,其他实验数据的比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 RKIP 的表达在下咽癌与癌旁组织中的比较

在 13 例癌旁组织中,RKIP 表达强阳性9 例,弱阳性 2 例,阴性 2 例。46 例下咽鳞癌原发癌灶中,强阳性 14 例,弱阳性10 例,阴性 22 例。两者比较,下咽鳞癌 RKIP 表达阳性率为 52%,明显低于癌旁组织 85%,差异具有统计学意义($P=0.034$,表 1)。

表 1 RKIP 在下咽癌与癌旁组织中表达情况比较 (例)						
分组	例数	RKIP 表达			χ^2	P
		-	+	++		
下咽癌	46	22	10	14	6.737	0.034
癌旁组织	13	2	2	9		

2.2 RKIP 的表达在有转移与无转移下咽癌中的比较

在 46 例下咽鳞癌中,无转移 17 例,RKIP 表达强阳性 9 例,弱阳性 4 例,阴性4 例;有转移 29 例,其中下咽癌原发灶 RKIP 表达强阳性 5 例,弱阳性 6 例,阴性18 例,两者比较,有转移的下咽癌中表达阳性率为 38%,低于无转移的下咽癌 76%,差异具有统计学意义($P=0.020$,表 2)。

2.3 RKIP 的表达在不同分化程度下咽癌各指标比较

在 46 例下咽癌中,高分化 6 例,RKIP 表达强阳性 1 例,弱阳性 4 例,阴性 1 例;中分化 10 例,RKIP 表达强阳性 6 例,弱阳性 2 例,阴性 2 例;低分化 30 例,RKIP 表达强阳性 7 例,弱阳性 4 例,阴性 19 例。高、中、低分化的下咽癌 RKIP 表达阳性率分别为 83%、80%、37%,表达逐渐下降,差异具有统计学意义($P=0.005$)。RKIP 的表达在 46 例下咽癌中,不同性别、年龄、肿瘤发病部位、T 分期等组间的比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具体数据见表 2。

2.4 RKIP 的表达在 29 例有转移下咽癌原发灶与淋巴结转移灶中的比较

在有转移的 29 例下咽癌淋巴结转移癌灶中,RKIP 表达强阳性 5 例,弱阳性 8 例,阴性 16 例(图 6)。原发灶与转移灶比较,差异无统计学意义($P=0.817$),具体数据见表 3。

表 2 RKIP 在下咽癌组织中表达的各临床病理学参数 (例)

临床特征	例数	RKIP 表达			χ^2	P
		-	+	++		
性别						
男	42	20	8	14	2.947	0.229
女	4	2	2	0		
年龄(岁)						
≥60	24	14	2	8	5.445	0.066
<60	22	8	8	6		
发病部位						
梨状窝	36	17	7	12	1.002	0.909
喉咽后壁	4	2	1	1		
环后区	6	3	2	1		
T 分期						
T1	7	2	2	3	10.422	0.108
T2	14	5	1	8		
T3	12	7	3	2		
T4	13	8	4	1		
肿瘤分化						
高分化	6	1	4	1	14.648	0.005
中分化	10	2	2	6		
低分化	30	19	4	7		
淋巴结转移						
有	29	18	6	5	7.856	0.020
无	17	4	4	9		

表 3 RKIP 在下咽癌原发灶中与其淋巴结转移灶中表达情况比较 (例)

分组	例数	RKIP 表达			χ^2	P
		-	+	++		
原发灶	29	18	6	5	0.403	0.817
淋巴结转移灶	29	16	8	5		

3 讨论

下咽癌是来源于喉咽部鳞状上皮的恶性肿瘤,95%为鳞状细胞癌,是耳鼻咽喉头颈外科中常见的恶性肿瘤,下咽癌发生转移概率较高,就诊时已有 50% 的患者存在颈淋巴结转移,其中梨状窝癌的颈淋巴结转移率最高,约 70% 左右,下咽癌晚期可以出现远处转移。下咽癌转移是造成患者治疗失败以及死亡的一个重要原因。对于下咽癌发生以及转移的分子机尚不完全清楚,研究其发生、侵袭及转移的分子机制对探讨新的可行性治疗方案具有重要临床意义。

Raf-1 激酶抑制蛋白是 1984 年 Bernier 和 Jolles 最先从牛脑中纯化出来的一种碱性蛋白,具有胞浆可溶性,它是磷脂酰乙醇胺结合蛋白(phosphatidylethanolamine-binding protein, PEBP)家族成员之一。RKIP 蛋白的二级结构中含有 9 个 β -折叠、2 个 α -螺

旋构成,它结构紧凑,于蛋白表面存在一个狭窄空穴,这一空穴能够容纳一个阴离子,如此构成一个配体的结合位点,而磷脂酰乙醇胺的磷酸集团恰恰正是与这一结合位点的天然配体^[4]。RKIP 家族成员在序列上有高度相似性,在许多组织中都稳定表达,例如:浦肯野细胞、脑胶质细胞、前列腺、生殖系统的精子细胞、输卵管、子宫及胰岛 B 细胞等^[4],可以看出它在人体中发挥重要的保守的生物学功能。

RKIP 作为一个转移抑制子,通过参与多条信号通路来发挥作用的^[5]。RKIP 能够识别 Raf-1 的活性部位,通过与 Raf-1 结合来抑制丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路^[6]。RKIP 通过与富集在细胞膜上的 Raf-1 结合来阻止 Raf-1 与 p21 活化激酶结合,阻断 p21 活化激酶和丝氨酸蛋白酶对 Raf-1 的磷酸化,这一反应的发生抑制下游靶点 MEK 的激活,从而负向调节 MAPK 信号通路^[7]。RKIP 已被证实通过以下 3 种机制抑制核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路活性。首先, RKIP 通过结合 Raf-1 抑制 MEK 磷酸化,从而影响 NF- κ B 活性;其次, RKIP 能够影响和封闭 NF- κ B 诱导激酶 (NF- κ B inducing kinase, NIK) 和转化生长因子 β 活化激酶 1 (transforming growth factor- β activated kinase 1, TAK1), 因为 NIK 和 TAK1 都是 NF- κ B 活化所必需的,所以 RKIP 通过这一途径实现对 NF- κ B 活性的抑制;第三,体外实验表明 RKIP 可以抑制 IKK α 、IKK β 激酶活化^[7], RKIP 抑制 NF- κ B 的激活就是通过与 NF- κ B 激活途径中的这些重要激酶的相互作用来实现的^[8]。此外, RKIP 是蛋白激酶 C (PKC) 的一个重要底物蛋白,被 PKC 磷酸化的 RKIP 可以与 Raf-1 解离,从而解除其对 Raf-1 的抑制作用,进而正向调节 MAPK 信号通路^[9]。RKIP 可以促进 G 蛋白偶联 (GPCR) 信号通路的传导^[10]。因为 RKIP 是 GPCR 激酶 2 的生理抑制剂,当 GPCR 与其配体结合后, RKIP 即与 Raf-1 分离,并作用于 GPCR 激酶 2 使其失活,这一过程由 PKC 介导 RKIP 上的第 153 个丝氨酸磷酸化触发^[11]。我们看到作为具有多种功能的 RKIP 蛋白,它直接参与体内的多条信号通路,它的含量变化除了直接关系到细胞的传导功能,还能间接影响细胞的增殖、分化和凋亡。

除了参与信号通路,有实验证明,下调 RKIP 功能可以影响转移血管的生成、组织细胞凋亡,影响基因组的完整性^[6]。同时有实验发现 RKIP 参与细胞周期的纺锤体检查点的调控,使细胞加速进入分裂

后期,导致分裂指数下降,这些改变使得细胞遇到致癌因素或其他不良刺激时,容易出现染色体异常,从而解释了它与转移侵袭进展相关的原因^[12]。

对于 RKIP 蛋白低表达的上游机制,有研究表明,与 RKIP 基因启动子区域的高甲基化状态有关。Zlobec 等^[13]通过对 337 例结肠癌的研究发现, RKIP 的转录与 5' 末端 CpG 岛的甲基化有关,作者认为在结肠癌中, CpG 岛启动子区域的高甲基化状态能够引起一系列抑癌基因失活,从而引起肿瘤细胞转移的发生。Guo 等^[14]在对胃贲门腺癌的研究中得出同样结论,贲门腺癌 RKIP 基因启动子区域的异常甲基化状态是导致其转录沉默的主要原因。

综上所述, RKIP 在人体的多个组织中稳定表达,如浦肯野细胞、脑胶质细胞、前列腺等,并且参与体内多条信号通路的调节,如丝裂原活化蛋白激酶信号通路、核因子 κ B 信号通路、G 蛋白偶联信号通路等。RKIP 与人体的细胞生长、增殖及组织分化密切相关,具有重要的生物学功能^[7]。现已证实, RKIP 是一种转移抑制基因,能够抑制肿瘤细胞转移的发生, RKIP 的表达下调及缺失与肿瘤的发生、发展、转移及不良预后高度相关, RKIP 能够作为临床预测恶性肿瘤性疾病预后的有效指标^[15]。Kim 等^[16]采用免疫组化方法检测 91 例食道鳞癌淋巴结转移癌灶,发现 RKIP 低表达的为 65 例 (71.4%), 明显高于原发癌灶 (50%) 和原位癌癌灶 (28.9%), 随着食管鳞癌的侵袭与转移发生, RKIP 表达呈现下降趋势,所以 RKIP 具有抑制食管鳞癌浸润和转移的作用。Fu-Min 等^[17]进行了相似的实验,在对 77 例食管鳞癌组织标本的研究中发现, RKIP 在食管鳞癌中的表达明显低于癌旁组织 ($P < 0.01$), 在无淋巴结转移的癌组织表达高于有淋巴结转移的癌组织,提示 RKIP 表达下调与食管鳞癌的发生及转移相关 ($P < 0.01$)。Birner 等^[18]研究发现,在 Barrett 食管、低级别上皮瘤变、高级别上皮瘤变和腺癌组织中, RKIP 表达含量是依次降低的,这表明 RKIP 的下调和缺失参与食管上皮瘤变过程。Wei 等^[19]在对贲门腺癌的研究中发现, RKIP 基因启动子区域甲基化的阳性率在贲门腺癌中为 62.1%, 显著高于癌旁组织的 4.1%, 研究说明 RKIP 低表达及缺失与 RKIP 基因启动子区域的异常甲基化有关。在既往史中有上消化道肿瘤病史的患者中,这点表现的更为突出,所以 RKIP 高甲基化状态以及 RKIP 蛋白低表达能够预测贲门腺癌的不良临床预后。Paola 等^[20]通过对肝细胞癌的研究发现, RKIP 作为肿瘤

抑制基因除了具有抑制肿瘤作用,还能在癌细胞中发挥作用促进药物诱导细胞凋亡的发生。

我们的实验结果证实,下咽鳞癌组织中 RKIP 表达比癌旁下咽鳞状上皮中明显降低,说明 RKIP 表达下降与下咽癌发生有一定关系,在有转移的下咽癌中 RKIP 表达阳性率低于无转移的下咽癌,说明 RKIP 表达下降与下咽癌的转移有关,在不同分化程度的下咽癌中,随着分化程度下降,恶性程度增加,RKIP 表达呈现下降趋势,说明 RKIP 表达与肿瘤分化有关。我们实验同时检测了 RKIP 在下咽癌原发灶及其淋巴结转移灶中的表达,结果无显著差异,说明下咽癌原发癌灶与转移癌灶的癌细胞中 RKIP 表达无显著差异,所以我们认为虽然 RKIP 表达下调时更易出现转移现象,但转移灶和原发灶 RKIP 表达是无显著差异的。当然,对于下咽癌中 RKIP 是具体通过怎样的途径发挥作用,又是何种机制调节着 RKIP 的表达等等这些问题还有待于我们进一步研究发现。

参考文献:

- [1] 彭丽敏,栗妍,朱莉. Raf 激酶抑制蛋白与妇科肿瘤间的潜在联系[J]. 医学综述,2014,20(6):1023-1026.
- [2] Tang H, Park S, Sun SC, et al. RKIP inhibits NF-kappaB in cancer cells by regulating upstream signaling components of the IkappaB kinase complex[J]. FEBS Lett, 2010, 584(4):662-668.
- [3] 褚静,王立芹,曾娟. RKIP 基因表达上调对宫颈癌细胞生物学行为影响[J]. 中国医药导刊,2016,18(8):833-834.
- [4] Li FF, Song SJ, Zhang RN. Phosphatidylethanolamine-binding protein (PEBP) in basic and clinical study[J]. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan, 2009, 40(3):214-218.
- [5] Ammad Ahmad, Farooqi, Yiwei, Li, et al. The biological complexity of RKIP signaling in human cancers[J]. Experimental & molecular medicine, 2015, 4(47):185.
- [6] Swadesh KD, Sujita UK, Sokhi, et al. Raf kinase inhibitor RKIP inhibits MDA-9/Syntenin-mediated metastasis in melanoma [J]. Cancer Research, 2012, 72(23):6217-6226.
- [7] 喻敏,吕农华. Raf 激酶抑制蛋白在常见消化系统恶性肿瘤中的研究进展[J]. 肿瘤, 2013, 33(4):378-381.
- [8] Tang H, Park S, Sun SC, et al. RKIP inhibits NF-kappaB in cancer cells by regulating upstream signaling components of the IkappaB kinase complex[J]. FEBS Lett, 2010, 584(4):662-668.
- [9] Corbit KC, Trakul N, Eves EM, et al. Activation of Raf-1 signaling by protein kinase C through a mechanism involving Raf kinase inhibitory protein [J]. Biol Chem, 2003, 278(15):13061-13068.
- [10] Krosiak T, Koch T, Kahl E, et al. Human phosphatidylethanolamine-binding protein facilitates heterotrimeric G protein-dependent signaling [J]. J Biol Chem, 2001, 276(43):39772-39778.
- [11] Lorenz K, Lohse MJ, Quittner U. Protein kinase C switches the Raf kinase inhibitor from Raf-1 to GRK-2 [J]. Nature, 2003, 426(6966):574-579.
- [12] Al-Mulla F, Hagan S, Al-Ali W, et al. Raf kinase inhibitor protein: mechanism of loss of expression and association with genomic instability[J]. J. Clin. Pathol, 2008, 61(1):524-529.
- [13] Zlobec I, Bihl M, Foerster A, et al. Comprehensive analysis of CpG island methylator phenotype (CIMP)-high, -low, and-negative colorectal cancers based on protein marker expression and molecular features[J]. J Pathol, 2011, 225(3):336-343.
- [14] Guo W, Dong Z, Guo Y, et al. Aberrant methylation and loss expression of RKIP is associated with tumor progression and poor prognosis in gastric cardia adenocarcinoma[J]. Clin Exp Metastasis, 2013, 30(3):265-275.
- [15] 李冬霞,张慧,汤正,等. 胃癌组织中 RKIP 基因启动子甲基化及蛋白表达[J]. 临床与实验病理学杂志, 2014, 30(4):376-378.
- [16] Kim HS, Won KY, Kim GY, et al. Reduced expression of Raf-1 kinase inhibitory protein predicts regional lymph node metastasis and shorter survival in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Pathol Res Pract, 2012, 208(5):292-299.
- [17] Fu-Min, Ping, Gui-Jing, et al. Expression of RKIP, E-cadherin and NF-kB p65 in esophageal squamous cell carcinoma and their correlations[J]. International journal of clinical and experimental pathology, 2015, 8(9):10164-10170.
- [18] Birner P, Jesch B, Schultheis A, et al. RAF-kinase inhibitor protein (RKIP) downregulation in esophageal cancer and its metastases[J]. Clin Exp Metastasis, 2012, 29(6):551-559.
- [19] Wei G, Zhiming D, Yanli G, et al. Aberrant methylation and loss expression of RKIP is associated with tumor progression and poor prognosis in gastric cardia adenocarcinoma[J]. Clin Exp Metastasis, 2013, 30:265-275.
- [20] Paola P, Manuela L, Nicoletta V, et al. Analysis of Possible Mechanisms Accounting for Raf-1 Kinase Inhibitor Protein Downregulation in Hepatocellular Carcinoma[J]. OMICS A Journal of Integrative Biology, 2012, 16(11):579-588.

(收稿日期:2017-03-01)