

不同时段社交应激对小鼠肺癌生长的影响

吴 晓 刘宝君 吴金峰 厉 蓓 弓唯一 徐海林 段晓虹 董竞成[△]

(复旦大学附属华山医院中西医结合科 上海 200032)

【摘要】 目的 观察不同时段社交应激对小鼠肺癌生长的影响。方法 将 36 只 C₅₇BL/6J 小鼠随机分为 A 组(正常对照组)、B 组(单纯抑郁组)、C 组(瘤前应激组)、D 组(单纯肿瘤组)、E 组(瘤后应激组)、F 组(5 天应激组),每组 6 只。在 10 天社交应激模型的基础上,C、D、E 组分别在应激前、应激 5 天和 10 天后给予皮下肿瘤。ELISA 方法检测各组小鼠血清中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)蛋白的表达,Western blot 方法检测肺组织中磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylated extracellular regulated protein kinases, pERK)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)蛋白的表达,real-time PCR 方法检测血管内皮生长因子受体 2(VEGFR₂) mRNA%和 L1 细胞黏附分子(L1 cell adhesion molecule, L1CAM)等参数。结果 C 组和 F 组与其他各组比较,皮下肿瘤结节的重量、体积及与肿瘤生长有关的上述细胞因子的表达均明显升高($P < 0.05$)。E 组与 D 组比较,两者在肿瘤结节的重量、体积及相关细胞因子的表达上差异不大($P > 0.05$)。结论 发生在肿瘤发生之前及发生过程中的社交应激对小鼠肺癌有显著的促生长作用,其内在机制有待进一步研究。

【关键词】 社交应激; 肿瘤生长; 社会心理因素; 细胞因子

【中图分类号】 R 734.2 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2014.01.002

Effect of social stress in different time periods on the growth of lung cancer in mice

WU Xiao, LIU Bao-jun, WU Jin-feng, LI Bei, GONG Wei-yi,

XU Hai-lin, DUAN Xiao-hong, DONG Jing-cheng[△]

(Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Huashan Hospital,
Fudan University, Shanghai 200040, China)

【Abstract】 **Objective** To observe the effect of social stress in different time periods on the growth of lung cancer in mice. **Methods** Thirty-six C₅₇BL/6J mice were randomly and equally divided into group A (normal control), group B (depression group), group C (tumor before social stress group), group D (tumor group), group E (tumor after social stress group), and group F (5 days' social stress before tumor then another 5 days' social stress). On the basis of 10 days' social stress modeling, just before, during and after the social stress, we inoculated the lung cancer cells subcutaneously in C, D and E group. ELISA was used to measure the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the serum, while Western blot was used to measure the amount of phosphorylated extracellular regulated protein kinases (pERK), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). Real-time PCR was used to measure the amount of VEGF receptor 2 (VEGFR₂)

国家重点基础研究发展计划(973 计划, 2009CB523001); 国家自然科学基金(81173390, 81102562); 国家教育部博士点科研基金(20110071120072)

[△]Corresponding author E-mail: jcdong2004@126.com

mRNA% and L1 cell adhesion molecule (L1CAM). **Results** The weight and volume of tumor nodules, as well as the expression of the above cytokines that related with tumor growth and metastasis in group C and F were much more higher than any other groups ($P < 0.05$). On the other hand, there was no significant difference on the weight or volume of tumor nodules, or the expression of the cytokines between group D and E ($P > 0.05$). **Conclusions** Social stress that occurred before and among the process of lung cancer in mice has significant effect on the growth of lung cancer, while the inner mechanism needs further research.

【Key words】 social stress; tumor growth; psychosocial factors; cytokines

* This work was supported by the National Key Basic Research Program of China (973 Program, 2009CB523000), National Natural Science Foundation of China (81173390, 81102562), Chinese Ministry of Education Fund for Doctor Discipline Scientific Research (20110071120072).

在所有肿瘤疾病中,肺癌发病率居首位^[1],属于全球范围内的高发性疾病。抑郁、焦虑等社会心理因素被认为会影响疾病的发生和发展^[2]。多项研究证实,社会心理因素不仅与肿瘤疾病的发生有关,而且还参与到肿瘤发展的各个阶段^[3]。同时,在肿瘤患者中也存在较高的抑郁症发病率,其症状的发展被证明与肿瘤患者的预后息息相关^[4]。肿瘤患者在经受肿瘤带来的痛苦的同时,往往还要承受随之发生的心理变化和影响,尤其是一些负面的社会心理因素,对疾病发展和转归都有不利影响^[5],甚至有患者在疾病康复后仍然受到社会心理因素的负面影响^[6]。虽然社会心理因素对肿瘤生长的影响早已为科研及医务工作者所重视和研究^[7-12],但是其在肿瘤发展不同阶段的干预和影响鲜见报道。

本文通过模拟人类在社交应激压力作用下的心理应激状态,多次给予实验小鼠社交失败应激刺激,通过观察和分析与人类相似的抑郁样症状,建立模拟人类抑郁状态的社交应激性抑郁动物模型。通过在肿瘤发展的不同阶段给予社交应激干预,将小鼠肿瘤模型与社交应激性抑郁模型相结合,观察与肿瘤发生和发展相关的若干指标,探讨社会应激在肿瘤发展的不同阶段对肿瘤生长的影响,从而为肿瘤伴发心理性疾病的治疗提供一定的理论基础。

材 料 和 方 法

实验动物及设备 6周龄雄性 C₅₇BL/6J 小鼠(简称“C₅₇小鼠”,上海斯莱科公司,许可证编号:2008001622124);Noldus 动物行为学视频跟踪系统(复旦大学上海医学院神经生物研究院);透明带孔

有机玻璃隔板及鼠笼(上海移数信息科技有限公司);CD-1 退役种鼠,雄性,4~6月龄[北京维通利华公司,许可证编号:SCXK(京 2011-0011)];SYBR Green PCR 试剂盒(美国 MBI 公司);Trizol(美国 Invitrogen 公司);real-time 检测仪(型号:ABI-7500,美国 ABI 公司);生物安全柜(型号:TYPE B2,美国 Sigma 公司);低温冷冻离心机(型号:1-15K,美国 Sigma 公司);手持式匀浆机(型号:F6/10,德国 FLUKO 公司)。

C₅₇小鼠肺癌模型的建立 将非小细胞肺癌系肿瘤细胞 3LL 培养于含 10% 胎牛血清的 1640 培养基中至对数生长期,收集肿瘤细胞,调整细胞浓度为 1×10^7 /mL,制备单细胞悬液。用 1 mL 空针在 C₅₇小鼠左腋皮下接种肿瘤细胞悬液,每只 2×10^6 /0.2 mL。

动物分组 将 36 只 C₅₇小鼠随机分为 A 组(正常对照组)、B 组(单纯抑郁组)、C 组(瘤前应激组:先应激后皮下肿瘤)、D 组(单纯肿瘤组)、E 组(瘤后应激组:先皮下肿瘤后应激)、F 组(5 天应激组:先应激 5 天,肿瘤后再应激 5 天),同时将 24 只 CD-1 退役种鼠与 B、C、E、F 组对应随机分组。将各组小鼠饲养于标准 SPF 级环境中,使 C、D、E、F 组小鼠在同一天用同一批次肿瘤细胞皮下肿瘤。

社交应激模型的建立 将单只 CD-1 小鼠放于中间有透明带孔隔板的鼠笼一侧饲养,单笼饲养 7 天。将一只 C₅₇小鼠放入对应组 CD-1 小鼠鼠笼的一侧,接受 CD-1 小鼠的刺激,5~10 min 后将 C₅₇小鼠放于鼠笼中透明带孔隔板的另一侧,相处过夜 24 h,同一只 C₅₇小鼠连续 10 天接受不同 CD-1 小鼠的刺激。实验过程中,不改变 CD-1 小鼠所饲养的

鼠笼,每天将 C₅₇小鼠放入不同 CD-1 小鼠鼠笼中接受刺激,建模流程见图 1。建模最后一天,所有 C₅₇小鼠单笼饲养,24 h 后进行行为学检测。

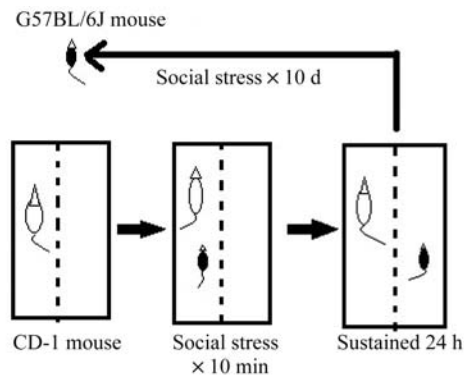


图 1 社交应激模型的建立

Fig 1 The establishment of social stress model

C₅₇小鼠行为学检测 将空的透明鼠笼放于社交应激旷场边缘的中间位置,将一只待测 C₅₇小鼠放于社交应激旷场的中央位置,打开 Noldus 动物运动轨迹跟踪系统,记录 150 s 内 C₅₇小鼠在旷场内的运动轨迹。取出 C₅₇小鼠,将一只未攻击过 C₅₇小鼠的 CD-1 小鼠放入旷场边缘的透明鼠笼内,将同一只 C₅₇小鼠再次放入旷场中的相同位置,再次记录 150 s 内 C₅₇小鼠在旷场中的运动轨迹。每次行为学检测结束后,用酒精棉球清理旷场及鼠笼以消除上一只小鼠留下的气味。行为学测试结束后,CD-1 小鼠和 C₅₇小鼠分别单笼饲养。

处死取材 各组 C₅₇小鼠饲养 31 天后,眼球取血,1 500 r/min 离心 15 min(离心半径 5 cm),取上清保存于 EP 管中, - 80 °C 冻存。将各组 C₅₇小鼠的

肺组织取出,放入 - 80 °C 冰箱中冻存。剥离 C、D、E、F 组 C₅₇小鼠的皮下肿瘤结节,测量长短径并称重,同时将肿瘤组织冻存。

ELISA 检测 运用 ELISA 方法检测小鼠血清中 VEGF 的表达。按照妙通公司 VEGF ELISA 试剂盒的 Protocol 操作,全自动酶标仪在 450 nm 处检测各孔的吸光度(D)值。

Western blot 检测 运用 Western blot 方法检测各组小鼠肺组织中 pErk、MMP-2 及 MMP-9 蛋白的表达。将肺组织细胞裂解,提取组织蛋白,定量和分离,转膜后分别与相应蛋白抗体孵育并显色。

real-time PCR 检测 运用 real-time PCR 方法检测肺组织中 VEGFR₂ mRNA 和 L1 CAM mRNA 的表达。剪取米粒大小的肺组织转移至去核酶试管中,加入预冷的 Trizol,用 Trizol 法提取总 RNA,逆转录合成样本 cDNA。50 μL PCR 反应体系包括:real-time PCR MIX 32 μL,上游、下游引物各 2 μL,探针 1 μL,cDNA 模板 2 μL,ddH₂O 13 μL。PCR 反应条件为:95 °C 2 min,95 °C 15 s,60 °C 20 s,循环 40 次。

统计学处理 用 SPSS 16.0 统计软件对数据进行统计,采用 One-way ANOVA 方法进行检验, P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

实验流程 将实验小鼠随机分为 6 组,根据不同分组在社交应激造模的不同阶段给予小鼠皮下肿瘤,31 天后处死实验小鼠,取材并分析,实验流程见图 2。

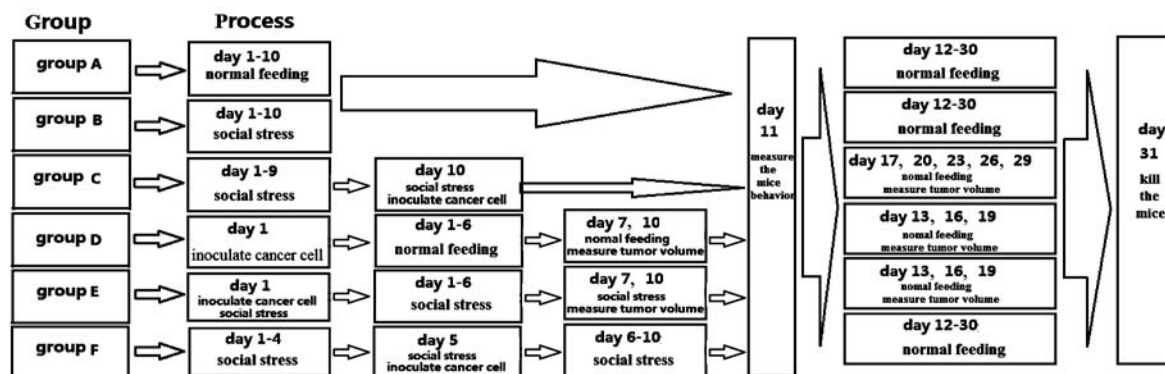


图 2 动物实验流程图

Fig 2 Animal experimental flowchart

A: Normal control; B: Depression group; C: Tumor after social stress group; D: Tumor group; E: Tumor before social stress group; F: Five days social stress before tumor then another five days social stress. The same in Fig 3 to 7.

各组小鼠行为学比较 B、C、E、F 组 C_{57} 小鼠在社交区(interaction zone)和角落区(corner zone)的停留时间在应激鼠 CD-1 存在和不存在的条件下明显不同,差异有统计学意义($P < 0.05$, 图 3)。在 CD-1 小鼠出现后,B、C 组 C_{57} 小鼠在社交区停留时间的变化尤为明显($P < 0.01$);在 CD-1 小鼠存在和不存在的情况下,A、D 组 C_{57} 小鼠在社交区和角落区停留时间的变化不大,差异无统计学意义($P >$

0.05)。图 3C 中 1、2 分别是非应激组和应激组小鼠在 CD-1 小鼠不存在时,在社交应激旷场中的运动轨迹,图中可见,两组小鼠的运动轨迹在社交应激旷场中均匀分布;3、4 图分别是非应激组和应激组小鼠在 CD-1 小鼠存在时,在社交应激旷场中的运动轨迹,图中可见,非应激组小鼠的运动轨迹仍均匀分布于社交应激旷场中,而应激组小鼠的运动轨迹主要分布于社交应激旷场中的右下角。

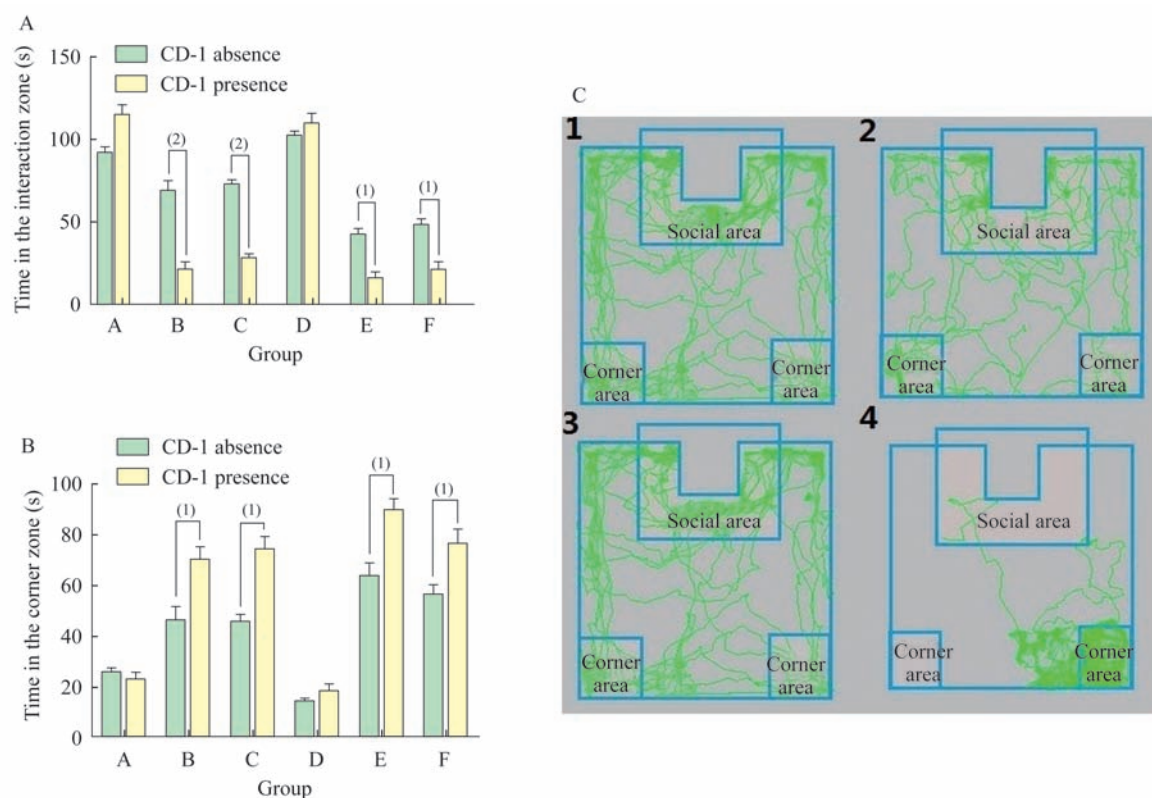


图 3 各组小鼠在社交应激旷场中不同区域停留时间及运动轨迹

Fig 3 The sustained time and the trajectory of the mice in different groups in different zones of the open field

A: The comparison of the time of the mice in different groups in the interaction zone of the open field, ⁽¹⁾ $P < 0.05$, ⁽²⁾ $P < 0.01$; B: The comparison of the time of the mice in different groups in the corner zone of the open field, ⁽¹⁾ $P < 0.05$; C: The trajectory of the mice in different groups in the social defeat open field.

皮下肿瘤结节重量及体积变化的比较 各组 C_{57} 小鼠在皮下肿瘤 7 天后,用千分尺测量小鼠皮下肿瘤的长径(b)和短径(a),根据公式 $V = b * a^2 / 2$,计算出皮下肿瘤的体积,并绘制体积变化曲线图(图 4A)。C、F 组小鼠皮下肿瘤体积的增长速度明显高于 D 组和 E 组;C 组小鼠皮下肿瘤体积的增长速度与 F 组小鼠比较,差异明显;而 D 组与 E 组比较差异不大。运用多次重复测量资料的方差分析方法分析数据,球形检验结果不满足协方差矩阵球对称的条件($P < 0.01$)。通过

对一元分析结果进行校正,得出不同测量时相之间小鼠肿瘤体积存在差异($F = 687.094, P < 0.01$)的结论;不同测量时间和不同分组之间也存在着交互作用($F = 29.341, P < 0.01$)。肿瘤 21 天后,剖离皮下肿瘤结节,用电子天平称重,比较各种瘤组小鼠肿瘤结节的重量(图 4B)。C 组肿瘤结节的重量明显高于 D、E 和 F 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);F 组与 E 组和 D 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);E 组与 D 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

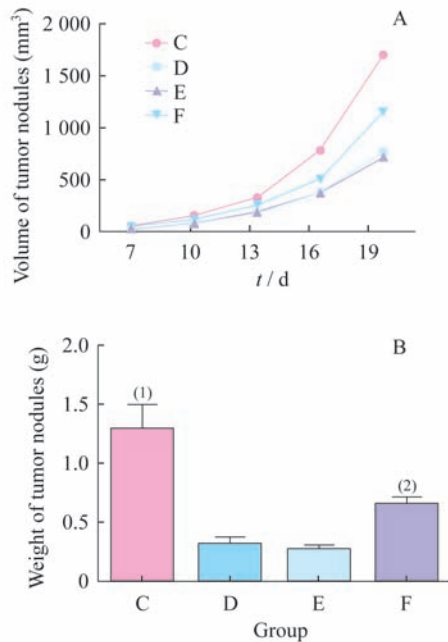


图4 各组小鼠肿瘤结节体积及重量比较

Fig 4 The comparison of the tumor nodules' volume and weight in the mice of different groups

A: The comparison of the tumor nodules' volume; B: The comparison of the tumor nodules' weight, ⁽¹⁾ vs. D, E or F group, ⁽²⁾ vs. D or E group, $P < 0.05$.

血清中 VEGF 的表达水平 C、F 组血清中 VEGF 蛋白的表达明显高于其他各组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); D、E 组血清中 VEGF 蛋白的表达明显高于 A、B 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); D 组与 E 组比较, 血清中 VEGF 蛋白的表达

差异无统计学意义 ($P > 0.05$); C 组与 F 组比较, 血清中 VEGF 蛋白的表达稍高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 5)。

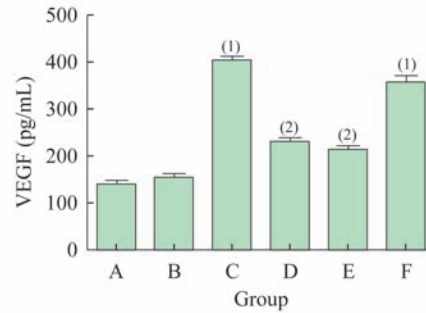


图5 各组小鼠血清中 VEGF 的表达

Fig 5 The expression of VEGF in the serum of the mice in different groups

⁽¹⁾ vs. other groups, ⁽²⁾ vs. A or B group, $P < 0.05$.

VEGFR₂ 和 LICAM 的 mRNA 表达水平 C 组 C₅₇ 小鼠肺组织中 VEGFR₂ 和 LICAM 的 mRNA 表达水平明显高于其他各组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 6)。F 组 C₅₇ 小鼠肺组织中 VEGFR₂ 和 LICAM 的 mRNA 表达水平与 A、B、D、E 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。D 组小鼠肺组织中 VEGFR₂ mRNA 表达水平明显高于 E 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), E 组肺组织中 VEGFR₂ mRNA 表达水平与 A、B 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。D、E 组肺组织中 LICAM mRNA 表达水平明显高于 A、B 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 B 组与 A 组、D 组与 E 组比较差异, 无统计学意义 ($P > 0.05$)。

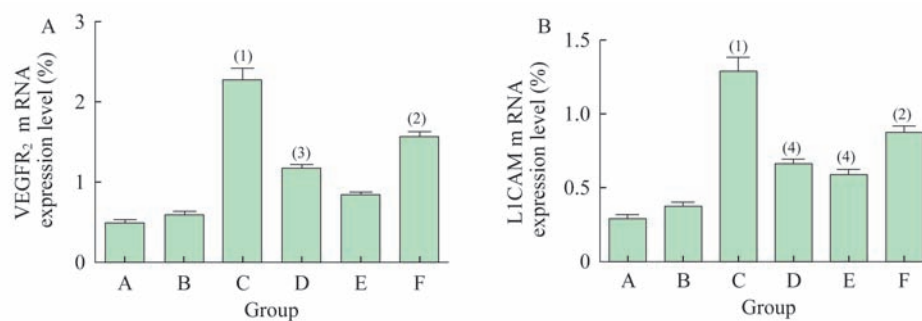


图6 各组小鼠肺组织中 VEGFR₂ 和 LICAM mRNA 的表达水平

Fig 6 The expression levels of LICAM and VEGFR₂ mRNA in the lung tissues of the mice in different groups

A: The expression level of VEGFR₂ mRNA; B: The expression level of LICAM mRNA, ⁽¹⁾ vs. other groups, ⁽²⁾ vs. A, B, D or E group, ⁽³⁾ vs. E group, ⁽⁴⁾ vs. A or B group, $P < 0.05$.

肺组织中 pErk、MMP-2 及 MMP-9 蛋白的表达

水平 C、F 组小鼠肺组织中 pErk、MMP-2、MMP-9

蛋白的表达水平均高于其他各组,差异有统计学意义(图 7, $P < 0.05$)。D 组小鼠肺组织中 pErk、MMP-2、MMP-9 蛋白的表达水平高于 A、B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 E 组与 D 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

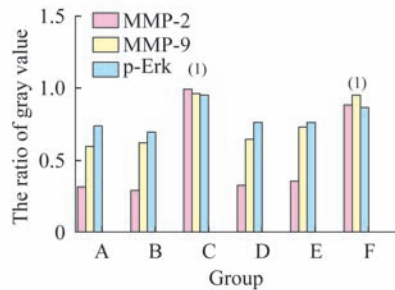


图 7 各组小鼠肺组织中 pErk、MMP-2 及 MMP-9 的表达水平

Fig 7 The expression levels of pErk, MMP-2 and MMP-9 in the lung tissues of the mice in different groups

(1) vs. other groups, $P < 0.05$.

讨 论

世界卫生组织 2011 年 9 月公布的最新数据显示,肺癌的发病率和死亡率在全球高居榜首,肺癌已经成为一个严重的公共健康问题^[13]。尽管现代医学在肿瘤的治疗上已经取得了很大的进步,但是即使运用先进的分子靶向治疗技术,非小细胞肺癌患者的生存率仍然没有得到很好的改善^[14]。肿瘤疾病的一个显著特点是易复发和转移^[15],肿瘤致死的患者中超过 90% 死于肿瘤的复发和转移,而非原发性肿瘤疾病本身^[16]。

抑郁症(major depression disorder, MDD)或称抑郁障碍,是由各种原因引起的以抑郁为主要症状并伴有相应思维与行为改变的一组心境障碍^[17],它严重地影响了人们的工作和生活质量,而其具体的病因及发病机制目前尚不完全清楚。国内已有研究证明高神经质、内倾、高社会依赖性、自律自责性、完美主义人格特质及负性生活事件为 MDD 的高危易感因素^[18]。据世界卫生组织(WHO)预测,到 2020 年 MDD 将成为仅次于缺血性心脏病的第 2 位致残疾病^[19]。MDD 的发病多由亲人死亡、夫妻离异、天灾人祸等负性生活事件造成,临床表现为情绪抑郁、多愁善感、思维迟钝、睡眠障碍,学习工作效率低下、多疑、缺乏生活情趣,甚至有自杀倾向^[20]。社交应激性抑郁动物模型模拟人类社交失败时呈现的心理

状态,多次给予实验动物社交失败应激刺激,使实验动物产生与人类抑郁症状相似的抑郁样行为学改变,从而为研究人类 MDD 提供模型基础。

研究证实,肿瘤患者特别是进展期或晚期肿瘤患者常伴发心理性疾病,尤其是 MDD^[21]。MDD 不仅会降低肿瘤患者的生活质量,造成身心痛苦,使他们渴望死亡或自杀,甚至还会引起患者家属的心理性疾病^[22]。因此,为了提高肿瘤患者的治愈率、改善肿瘤患者的生活质量和心理状态,有必要对肿瘤伴发抑郁的疾病状态进行研究,观察社会心理因素引起的抑郁状态对肿瘤生长的影响,从而为肿瘤伴发心理性疾病的治疗提供一定的实验依据。

由于肿瘤患者在肿瘤发病的任何阶段都有可能伴发心理性疾病,因此本实验通过设置肿瘤发病前、发病中和发病后 3 个不同干预时段,观察社交应激性抑郁对小鼠肿瘤生长的影响。实验中将小鼠的社交应激模型与肺癌模型在不同时段相结合,分别在社交应激模型建立的 10 天时间里,选取 3 个时间点给予实验小鼠皮下肿瘤,观察不同时段社交应激对小鼠肺癌进展的影响。从实验结果可以发现(如图 4),在实验小鼠皮下肿瘤之前,先给予小鼠应激刺激,会对实验小鼠的机体即肿瘤的生长环境产生影响,而且应激对小鼠机体的影响有利于皮下肿瘤的生长。肿瘤的生长依赖于其自身血管形成和发展,VEGF 是与血管生成有关的重要的特异性细胞因子^[23],VEGF 通过与 VEGFR 结合激活细胞内一系列蛋白,使其发生二聚化和自身磷酸化而发挥生物学效应。此外,VEGF 还可诱导血管内皮细胞的增殖、出芽及微血管形成^[24]。因此,我们检测了小鼠血清中 VEGF 蛋白的表达水平及转移的肺组织中 VEGFR₂ mRNA 的表达水平。通过对各组实验结果比较(图 5、6),我们推测瘤前应激组在经过 10 天社交应激之后,小鼠机体免疫力已经有所下降,在此基础上接种肿瘤细胞,机体对肿瘤细胞的免疫力不足,加上应激可能对 VEGF 及 VEGFR 的生成有一定作用,因此该组小鼠皮下肿瘤的生长速度最快。因为急性应激可以激活并增强机体的免疫防御能力,所以对于瘤后应激组,在接种肿瘤的基础上紧接着给予社交应激刺激,这一刺激很可能增强了小鼠免疫系统对肿瘤细胞的免疫防御作用,相比其他各组,该组小鼠的肿瘤生长相关指标的表达水平最低。

肿瘤的生长和转移是一个长期、多步骤的过程,其中最重要的一步就是对由胶原蛋白、层粘连蛋白、纤维粘连蛋白以及结缔组织的蛋白聚糖等高分子化

合物组成的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解,ECM可以被多种蛋白酶所降解,其中MMPs家族中的明胶酶类MMP-2和MMP-9是参与肿瘤细胞降解ECM、发生侵袭和转移的主要酶类^[25]。既往研究发现,肿瘤的始发和进展往往与细胞黏附分子表达水平的变化有关,这一变化可以通过增强细胞迁移的信号传导来刺激肿瘤细胞转移^[26]。近期研究显示,L1CAM过表达与肺癌、黑色素瘤等肿瘤的预后和转移密切相关,L1CAM还与其他类型肿瘤的淋巴结和骨髓的微小转移有关,这说明L1CAM在肿瘤的早期转移扩散中发挥着重要作用。本实验检测了小鼠肺组织中MMP-2和MMP-9蛋白的表达水平以及L1CAM mRNA的表达水平,其结果与VEGF及VEGFR所反映的结果基本相符,瘤前应激组血管生长相关分子的表达水平均高于其他各组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

本研究发现肿瘤发生前期所伴发的抑郁状态对肿瘤生长有促进作用。这一发现提示临床医师,在肿瘤伴抑郁状态的患者接受抗肿瘤治疗的同时给予抗抑郁药物,有利于改善患者的抑郁状态。推测社交应激对肿瘤生长的影响不仅作用于肿瘤生长相关的细胞因子的表达,还会对机体的免疫系统产生影响,但是社交应激对免疫系统的影响程度、作用的时间点及通路等问题,还有待进一步探讨和研究。

参 考 文 献

- [1] Sculier JP. Nonsmall cell lung cancer[J]. *Eur Respir Rev*, 2013,22(127):33-36.
- [2] Reiche EM, Nunes SO, Morimoto HK. Stress, depression, the immune system, and cancer[J]. *Lancet Oncol*, 2004,5(10):617-625.
- [3] Andersen BL, Farrar WB, Golden-Kreutz D, et al. Stress and immune responses after surgical treatment for regional breast cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1998,90(1):30-36.
- [4] Brundage MD, Davies D, Mackillop WJ. Prognostic factors in non-small cell lung cancer: a decade of progress[J]. *Chest*, 2002,122(3):1037-1057.
- [5] 惠起源,魏晓萍,高枫. 社会心理因素与癌症[J]. *现代肿瘤医学*, 2007,15(12):1875-1876.
- [6] Hodges LJ, Humphris GM, Macfarlane G. A meta-analytic investigation of the relationship between the psychological distress of cancer patients and their carers[J]. *Soc Sci Med*, 2005,60(1):1-12.
- [7] Demiral AN, Sen M, Demiral Y, et al. The effect of socioeconomic factors on quality of life after treatment in patients with head and neck cancer[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008,70(1):23-27.
- [8] Nomura Y, Yasumoto S, Yanai F, et al. Survival and late effects on development of patients with infantile brain tumor[J]. *Pediatr Int*, 2009,51(3):337-341.
- [9] Seidman AD, Portenoy R, Yao TJ, et al. Quality of life in phase II trials: a study of methodology and predictive value in patients with advanced breast cancer treated with paclitaxel plus granulocyte colony-stimulating factor[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1995,87(17):1316-1322.
- [10] Kunin-Batson A, Kadan-Lottick N, Zhu L, et al. Predictors of independent living status in adult survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2011,57(7):1197-1203.
- [11] Singer S, Krauss O, Keszte J, et al. Predictors of emotional distress in patients with head and neck cancer[J]. *Head Neck*, 2012,34(2):180-187.
- [12] Deppermann KM. Influence of age and comorbidities on the chemotherapeutic management of lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2001,33(Suppl 1):S115-S120.
- [13] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. *Int J Cancer*, 2010,127(12):2893-2917.
- [14] Sant M, Aareleid T, Berrino F, et al. EURO-CARE-3: survival of cancer patients diagnosed 1990-94-results and commentary[J]. *Ann Oncol*, 2003,14(Suppl 5):v61-v118.
- [15] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011,144(5):646-674.
- [16] Mehlen P, Puisieux A. Metastasis: a question of life or death[J]. *Nat Rev Cancer*, 2006,6(6):449-458.
- [17] 张菁,贺茂林,李舜伟. 神经系统疾病伴发抑郁障碍的诊疗特点[J]. *中华医学杂志*, 2010,90(45):3180-3183.
- [18] 李建英,王彦芳,彭菊意,等. 抑郁障碍患者抑郁症状与人格、生活事件、应对方式和社会支持相关研究[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2011,20(1):40-41.
- [19] Hirsh V. Skeletal disease contributes substantially to morbidity and mortality in patients with lung cancer[J]. *Clin Lung Cancer*, 2009,10(4):223-229.
- [20] Freixinet JL, Julia-Serda G, Rodriguez PM, et al. Hospital volume: operative morbidity, mortality and survival in thoracotomy for lung cancer. A Spanish multicenter study of 2994 cases[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2006,29(1):20-25.
- [21] Akechi T, Okuyama T, Sugawara Y, et al. Major depression, adjustment disorders, and post-traumatic stress disorder in terminally ill cancer patients: associated and predictive factors[J]. *J Clin Oncol*, 2004,22(10):1957-1965.
- [22] Bukberg J, Penman D, Holland JC. Depression in hospitalized cancer patients[J]. *Psychosom Med*, 1984,46(3):199-212.
- [23] Ferrara N. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002,2(10):795-803.
- [24] Ferrara N, Gerber H P, Lecouter J. The biology of VEGF and its receptors[J]. *Nat Med*, 2003,9(6):669-676.
- [25] Samantaray S, Sharma R, Chattopadhyaya TK, et al. Increased expression of MMP-2 and MMP-9 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2004,130(1):37-44.
- [26] Schmid RS, Maness PF. L1 and NCAM adhesion molecules as signaling coreceptors in neuronal migration and process outgrowth[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2008,18(3):245-250.

(收稿日期:2013-02-16;编辑:张秀峰)