



广东小鼠腺病毒血清学调查及病毒和抗体在人工感染小鼠体内消长规律研究

罗银珠^{1,2}, 张 钰^{1,2}, 潘金春^{1,2}, 王 静^{1,2}, 袁 文^{1,2}, 何丽芳^{1,2},
吴瑞可^{1,2}, 黄碧洪^{1,2}, 郭鹏举^{1,2}, 黄 韧^{1,2*}

(1. 广东省实验动物监测所, 广州 510663; 2. 广东省实验动物重点实验室, 广州 510663)

【摘要】 目的 了解我省小鼠腺病毒(Mad)自然感染情况及探究人工感染 Mad 小鼠体内各脏器组织中病毒分布规律及血清抗体变化。方法 采用 ELISA 方法对 2007 年和 2015 年饲养于普通环境小鼠血清及 2013 年~2015 年广东省 12 家监督单位和 32 家委托单位 SPF 级小鼠血清进行病毒抗体检测。利用腹腔注射方法感染 36 只 3 周龄 BALB/c 小鼠, 0.2 mL/只, 浓度为 4.5×10^6 copies/ μ L, 每天观察动物临床表现, 并于攻毒前第 0 天和攻毒后第 3、7、10、15、18、21、30、37、44、51、60 天剖检小鼠(各 3 只), 取组织标本(心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、盲肠内容物)及血清, 应用实时荧光定量 PCR(QPCR)方法检测组织病毒核酸, ELISA 方法检测血清抗体水平。结果 普通饲养小鼠抗体阳性率为 24.44%~84.15%, 其中以 Mad-2 型 K87 株血清型为主。SPF 级小鼠 Mad 血清抗体阳性率均为 0%。所有攻毒小鼠均呈隐性感染, 无临床表现。攻毒后第 3 天及 7 天小鼠各组织病毒核酸检测阳性率均为 100%(3/3), 其中以脾脏 100% 阳性率维持时间最长(60 d)。除肝脾外, 小鼠各组织病毒含量均在攻毒后 7 d 达到高峰, 其中以脾脏病毒含量最高(5.5×10^5 copies/ μ L), 其次是心脏(3.4×10^5 copies/ μ L)、盲肠内容物(2.6×10^5 copies/ μ L)和胃(2.6×10^5 copies/ μ L), 脑为 0.8×10^5 copies/ μ L。攻毒后 15 d 可测出血清抗体, 在 37 d 达到峰值, 此后至 60 d 一直维持高水平。结论 SPF 级小鼠 Mad 感染率低, 普通环境饲养小鼠 Mad 感染率高。人工感染小鼠脾脏病毒含量最高, 阳性率维持时间最长, 说明病毒可以在脾脏内长期复制, 感染后第 7 天为组织病毒核酸最佳检测时间点。血清抗体在感染后 15~60 d 内均可以作为监测指标。

【关键词】 小鼠腺病毒; 血清学; 调查; 人工感染; 体内分布

【中图分类号】 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2017) 01-0043-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.01.009

Serological Survey of Mad Infection Among Mice in Guangdong and Distribution and Serological Studies in Artificial Infection

LUO Yin-zhu^{1,2}, ZHANG Yu^{1,2}, PAN Jin-chun^{1,2}, WANG Jing, YUAN Wen^{1,2}, HE Li-fang^{1,2},
WU Rui-ke^{1,2}, HUANG Bi-hong^{1,2}, Guo Peng-ju^{1,2}, HUANG Ren^{1,2*}

(1. Guangdong Laboratory Animals Monitoring Institute, Guangzhou 510663, China;

2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Laboratory Animals, Guangzhou 510663, China)

【Abstract】 Objective To investigate the natural infection rate of Mouse Adenovirus(Mad) in Guangdong province and to estimate the tissue distribution and serology changes of Mad in infected mice. **Methods** Serums of mice from

[基金项目] 广东省科技计划项目(2014B070706006)。

[作者简介] 罗银珠(1983-), 女, 硕士, 兽医师, 研究方向: 实验动物病原学。E-mail: agluo122@sina.com

[通讯作者] 黄韧(1959-), 男, 博士, 研究员。E-mail: labking@sohu.com

general environment of Guangzhou in 2007 and 2015, and the SPF mice from 12 supervision and 32 entrusted units of Guangdong province among 2013 ~ 2015 were detected by ELISA. Thirty-six 3 weeks old BALB/c mice were each intraperitoneally inoculated with 0.2 mL of Mad in 4.5×10^6 copies/ μ L concentration. The tissue samples, including heart, liver, spleen, lung, kidney, brain, stomach, cecum contents and serum were taken at 0 d before inoculation, and 3, 7, 10, 15, 18, 21, 30, 37, 44, 51, 60 d after inoculation (3 animals each time). Real-time fluorescent quantitative PCR (Q-PCR) method was used to detect the virus nucleic acid of tissue. In addition, the antibody against Mad was detected by ELISA. **Results** Antibody positive rate was 24.44% ~ 84.15% and 0% among the general environment mice and the SPF mice, respectively, which is given priority to with Mad-2 K87 serotype strains. There were no clinical manifestations among all infected mice. The virus nucleic acid positive rate was 100% (3/3) in all tissue samples in 3 d and 7 d, which maintained a longest time to 60 d in spleen. Besides the liver, virus nucleic acid content were highest at 7 d in each tissue of infected mice, with spleen highest (5.5×10^5 copies/ μ L), heart was second at 3.4×10^5 copies/ μ L, cecum contents and stomach ranked third (2.6×10^5 copies/ μ L), followed by brain (0.8×10^5 copies/ μ L). The antibody could be successfully detected at 15 d after inoculated, hit the peak at 37 d and maintained a high level until 60 d. **Conclusions** Mad infection rate is low in SPF mice, high in general environment mice. Mad nucleic acid content is the highest and positive rate maintain the longest in spleen, suggesting that Mad mainly replicate in spleen. And 7 d is the best pot for nucleic acid testing. Serum neutralizing antibody can be used as a monitoring index within 15 ~ 60 d after infection.

【Key words】 Mouse adenovirus; Serology; Survey; Artificial infection; Distribution.

小鼠腺病毒 (mouse adenovirus, Mad) 属于腺病毒科, 哺乳动物腺病毒属, 核酸线性双股 DNA^[1,2]。目前已报道有 Mad-1 型 FL 株 (1960 年 Hartley 等^[3]分离)、Mad-2 型 K87 株 (1966 年 Kazuo Hashimaoto 等^[4,5]分离) 和 Mad-3 型 (2009 年 Boris Klempa 等^[6]分离) 三个血清型。小鼠是 Mad 的自然宿主, Becker 等^[9] 2007 年在英国地区捕获的野鼠血清流行病调查中检测出有较高 Mad 阳性率 (68%), 但在实验鼠自然感染率不高^[1,7,8], 隐性感染居多, 被感染的小鼠可长期带毒和排毒并可增加感染其他病原微生物可能性, 从而影响小鼠健康, 干扰实验研究。国家实验动物微生物监测标准 (GB14922.2-2011) 将 Mad 列入需要排除的检测项目。为了解我省 SPF 级与普通级小鼠中 Mad 流行情况、病毒和抗体在人工感染小鼠体内消长规律, 本实验对我省 2013 ~ 2015 年 SPF 级小鼠及 2007 年和 2015 年广州地区普通环境饲养小鼠进行 Mad 抗体检测, 并利用 Mad-1 型 FL 株低浓度感染低日龄小鼠来模拟自然感染, 观察感染鼠临床症状及抗原抗体消长情况, 旨在为我省实验小鼠质量控制工作及 Mad 科学研究提供实验室参考。

1 材料和方法

1.1 小鼠血清、病毒和细胞株

2007 年和 2015 年广州地区普通环境饲养小鼠血清及 2013 年 ~ 2015 年广东省 12 家监督单位和

32 家委托单位提供的 SPF 级小鼠。

小鼠腺病毒 FL 株购自美国典型菌种保藏中心 (ATCC VR-550), BHK-21 细胞由本实验室保存。

1.2 实验动物

SPF 级 BALB/c 小鼠, 雄性, 36 只, 3 周龄, 体重 15 ~ 18 g, 购自于广东省医学实验动物中心 [SCXK (粤) 2013 - 0002], 饲养于广东省实验动物监测所二级生物安全感染实验室内 [SYXK (粤) 2012 - 0122], 实行光照/黑暗各 12 h 昼夜循环, 自由进食, 动物实验开展经广东省实验动物监测所动物使用和管理委员会审批 (I-IACUC2015003)。实验前, 随机抽取部分动物血清经酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测确定为 Mad 抗体阴性。

1.3 主要试剂和仪器

荧光定量 PCR 仪为 ABI 7500; 酶标仪为 Thermo M μ ltiskan GO; DNA 抽提试剂盒购自 Omega 公司; ELISA 抗体检测试剂盒购于 EXPRESS BIO 公司; DMEM 培养液购自 Gibco 公司; DNA 聚合酶购自大连宝生物公司; 其余试剂均为进口或国产分析纯。

1.4 实验方法

1.4.1 QPCR 引物合成

所用 Mad 引物参照参考文献^[10]。引物由上海英潍捷基生物技术有限公司合成。

1.4.2 病毒滴度测定

将小鼠腺病毒接种 BHK-21 细胞, 吸附作用 1 h 后加入含 2% 血清的维持液, 放入 37℃、5% CO₂ 细

胞培养箱中培养,倒置生物显微镜观察细胞形态,70% 细胞产生细胞病变(CPE)后收获病毒液,反复冻融 3 次,离心取上清液作为感染病毒,并用 QPCR 对病毒拷贝数进行定量。

1.4.3 人工感染试验

取浓度约为 4.5×10^6 copies/ μ L 的病毒液,腹腔注射病毒液每只 0.2 mL。动物接种病毒后,观察 60 d。每天观察动物的皮毛、外观、行为活动、饮食和精神状态。并在感染后第 3、7、10、15、18、21、30、37、44、51、60 天时,随机各取 3 只,麻醉后眼眶采血以制备血清置 -20°C 待测,随后脱颈椎安乐死并快速采集小鼠心脏、肝、脾、肺、肾、脑、胃、盲肠内容物置 -20°C 待测。

1.4.4 QPCR 检测各组织抗原

称量适量组织,加入 600 μ L 的 PBS 缓冲液于组织研磨机上研磨 3 ~ 5 min,将组织匀浆。研磨后,10000 r/min 离心 10 min,取 200 μ L 上清抽提核酸,具体步骤参照核酸提取试剂盒(TIANamp Genomic DNA Kit)说明书。最后应用 ABI 7500 Real-Time PCR System, Taqman RT-PCR 两步法试剂盒(Takara)即 95°C 30 s, 95°C 5 s, 60°C 30 s, 进行 40 个循环,荧光信号采集设于 60°C , 溶解曲线设置为: 95°C 5 s, 65°C 1 min, 50°C 30 s, 进行荧光定量 PCR 检测鉴定。

1.4.5 血清抗体检测(ELISA)

根据试剂盒说明进行操作:样本稀释及加样,将

血清样本从 1:50 稀释,再向 ELISA 微孔板各加 100 μ L 稀释好的样本; 37°C 孵育后洗板,每孔加 100 μ L 酶标二抗, 37°C 孵育后洗板,加显色液;反应完毕,立即用酶标仪读数,测试波长为 405 nm。

结果判定方法:样本(或对照)A 值 = 特异孔 A 值 - 非特异孔 A 值;阳性对照 A 值 ≥ 0.600 , 阴性对照 A 值 ≤ 0.250 , 则试验成立;样本 A 值 ≥ 0.300 判为阳性,样本 A 值 < 0.300 判为阴性。

1.5 统计学方法

所有数据采用 GraphPad Prism 5.01 进行数据处理及分析。

2 结果

2.1 小鼠抗体阳性率

小鼠抗体检测结果,广州地区普通环境饲养小鼠 Mad 抗体检测阳性率较高(见表 2),2015 年比 2007 年高 4 倍,均以 Mad-2 K87 血清型流行为主。2013 年 ~ 2015 年广东省 SPF 级小鼠 Mad 阳性率为 0% (见表 3),说明 SPF 级小鼠 Mad 感染率低或无。

2.2 人工感染小鼠临床表现、血清及体内组织分布结果

2.2.1 临床观察结果

BALB/c 感染 Mad 后直至实验结束(60 d),除感染初期动物出现轻微立毛,在精神状态、运动及饮食方面等均无明显异常,总体呈现隐性感染状态。

表 1 Mad 引物序列

Tab.1 Primer sequences of Mad

引物 Primer	序列 Sequence
正向引物 Forward primer	5' - ACTCTGAGCGGTGTCCGC -3'
反向引物 Reverse primer	5' -GATGTGCATGAAGGCCCACT -3'
探针 Probe	5' -JOE -TGACGACGCCTTCAATGCAGCC- ECLIPS -3'

表 2 2007 和 2015 年广州地区普通环境饲养小鼠 Mad 抗体阳性率(%)

Tab.2 Mad antibody positive rate in mice raised in ordinary environment in 2007 and 2015 of Guangzhou region

项目(Items)	抗体阳性率(Positive rate)	
	2007	2015
FL 血清型(FLserotype)	0(0/45)	2.44(2/82)
K87 血清型(K87serotype)	24.44(11/45)	81.71(67/82)
总阳性率(Total positive rate)	24.44(11/45)	84.15(69/82)

表 3 2013 年 ~ 2015 年广东省检测 SPF 级动物感染率比较

Tab.3 Results of Mad antibody tests in SPF mice in 2013 ~ 2015 in Guangdong

项目(Items)	抗体阳性的动物数量(Number of antibody positive animals)		
	2013	2014	2015
总数(Detection number)	588	296	875
阳性数(Positive number)	0	0	0
阳性率(Positive rate)	0%	0%	0%

注:动物来源于广东省 12 家监督单位和 32 家委托单位 SPF 级小鼠。

Note. SPF mice from the 12 supervision companys and 32 units entrusted of Guangdong province.

2.2.2 组织病毒含量变化

感染后第 3 天及 7 天小鼠各组织病毒核酸检测阳性率均为 100% (3/3), 其中以脾脏 100% 阳性检测率维持时间最长(图 1A)。感染后第 7 天病毒核酸在脾组织中含量最高, 其次是心脏、盲肠和胃, 最低是肺和肝(图 1B)。小鼠体内各组织病毒含量均在人工感染后第 7 天达到高峰(肝在第 3 天), 随后病毒核酸开始下降。(图 1C、图 1D)。

2.2.3 血清抗体滴度变化

感染小鼠体内抗体滴度随着感染时间迁移而升高, 接种后 15 d 可测出阳性抗体(阳性率为 100% (3/3)), 在 37 d 达到峰值, 此后至 60 d 可一直维持高水平, 为便于计算, 抗体滴度用 Log₂ 的指数表示(图 2)。

3 讨论

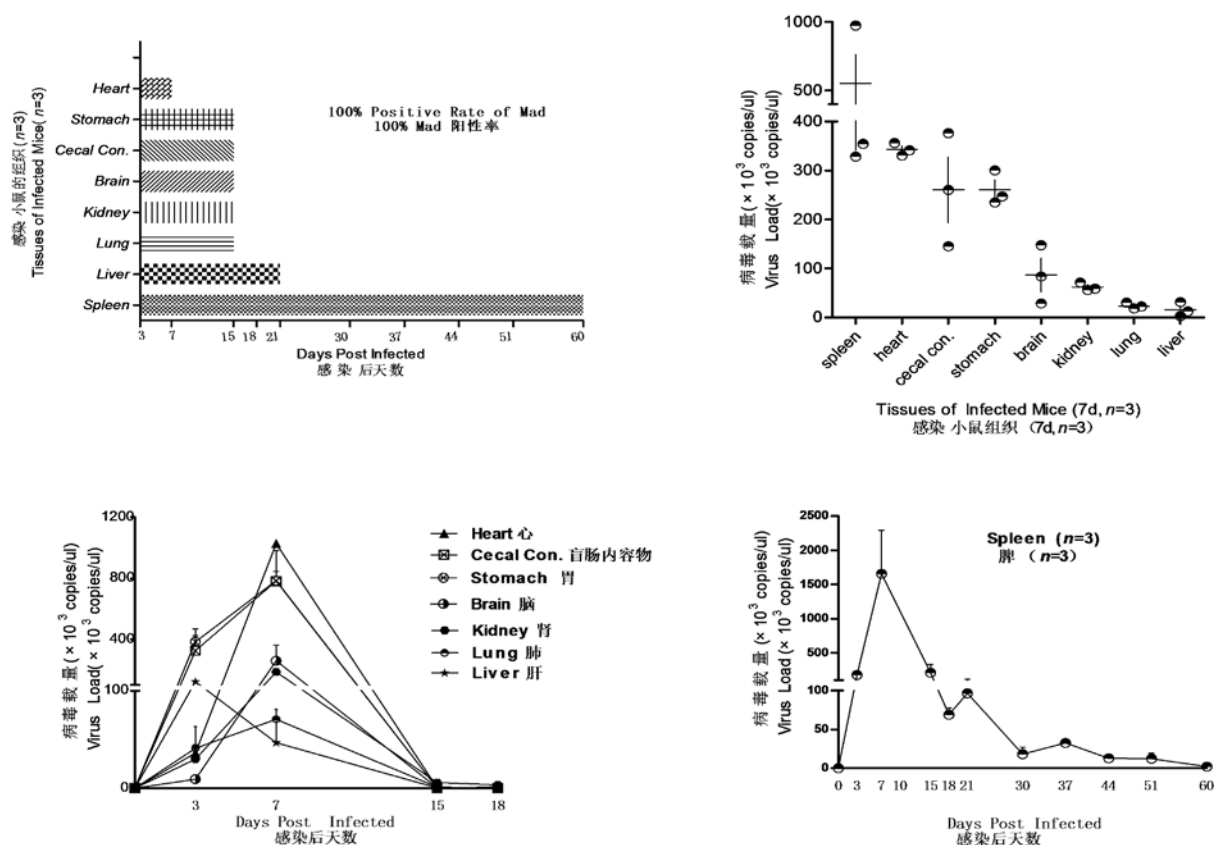
腺病毒科已知分有 5 类包括哺乳动物腺病毒属(Mastadenovirus)、禽腺病毒属(Aviadenovirus)、鱼类腺病毒属(Ichadenovirus)、唾液酸酶腺病毒属(Siadenovirus)、腺嘌呤富集性腺病毒属(Atadenovirus)等^[11]。鼠腺病毒(Mad)属于哺乳腺病毒。中国 Mad 在啮齿类动物中血清流行病学情况, 20 世纪 90 年代中期 1985~1987 (14 个省市 38 个单位开放饲养和 SPF 小鼠), 开放养小鼠阳性率为 4% (24/623), 屏障小鼠阳性率为 0% (0/178)^[12], 21 世纪初 2003~2007 年(21 个省/市, 47 个单位送检 39 个品系小鼠)血清阳性率 0.24%^[13]; 近年 2012~2013 (10 余个省市 36 家实验动物使用机构) Mad 血清阳性率 8.3% (27/325)^[14], 总体呈现高低高曲线。从我省小鼠血清流行性调查实验数据可以看出 2013 年~2015 年间 SPF 级小鼠 Mad 感染率为 0。说明 Mad 在实验用 SPF 鼠内流行率低, 而对比之下, 广州地区普通环境饲养的小鼠血清病毒抗体检测阳性率高, 2015 年达到 80% 以上, 显示着该病毒在该鼠群中携带率高, 并以 Mad-2 K87 血清型流行为主。以上结果反映了我省在实验鼠 Mad 病毒控制及质量控制方面达到较好的水平, 而开放饲养环境下因饲养过程中有与携带病原野鼠接触的可能性导致 Mad 在普通级小鼠内流行。

实验小鼠自然感染临床虽然不多见, 但可能会干扰实验研究, 特别是涉及中枢神经系统、肾脏和

肠胃系统^[8,15]。本试验结果显示通过腹腔途径接种 BALB/c 小鼠后, 感染小鼠无呈现明显的临床症状, 感染后 3 d Mad 各组织呈现 100% 阳性检出率并以脾脏 100% 阳性检出率维持时间最长(60 d)。在血液系统, 神经系统, 消化系统等均检测出病毒核酸, 此结果与 1998 年报告^[8]将此归类为多系统性感染疾病结论一致。脑内检出病毒核酸, 与研究^[16,17]发现内皮细胞是其主要侵袭目标, 可破坏小鼠血脑屏障的结果相吻合。病毒载量结果显示各组织载毒量在 7 d 最高, 到 15 d 大部分组织病毒载量检测不到或没有, 暗示该病毒致病力有限。心脏在本次实验中其最高组织病毒载量为 3.4×10^5 copies/ μ L (7 d), 位同时段组织病毒载量第二(第一为脾脏), 这与 2015 年关于 Mad-1 与心肌炎关系研究^[18], 报道^[19-21] Mad 感染成年 C57 小鼠内可引起脑脊髓炎出血性脑脊髓炎病症, 小鼠心肌炎结果形成互相佐证。小鼠脾脏引起本实验的关注, 其病毒含量明显高于其他组织, 且在脾脏持续复制, 核酸检测阳性维持时间最长, 说明脾脏是病毒长期复制的器官。

本试验所感染小鼠大部分组织载毒量在 7 d 达到高峰然后逐渐下降至检测不到, 相比之下 Mad 抗体水平在 15 d 即可以检测到抗体(阳性率为 100%, $n=3$), 抗体滴度在 37 d 达到峰值, 此后至 60 d 一直维持高水平。提示感染早期(15 d 前)以病原核酸检测为宜, 15 d 后以抗体检测为主, 并建议对小鼠群的监测每 1~2 个月进行一次, 可及时了解小鼠群中 Mad 流行情况。在感染早期, 盲肠内容物及胃都出现了高载毒量, 证实该病毒可通过粪便途径传播和排毒, 粪便、垫料是 Mad 的重要传播途径之一, 必须严格执行动物房生物安全 and 卫生管理是预防与控制 Mad 的传播重要举措。

QPCR 核酸检测法近年来广泛被用于微生物核酸检测, 该检测方法具有快速、敏感、特异、通用、成本低及可定量等优点, 对腺病毒感染的早期诊断及预防具有重要意义^[22]。本研究利用 QPCR 法, 从 Mad 感染小鼠不同时间的组织标本中检测到病毒并对病毒核酸含量进行准确定量检测, 可以用来判断感染小鼠病毒的复制与所致疾病的病程的关系, 为实验动物小鼠腺病毒的检测、流行病学监测、预防等提供重要的理论依据和技术支持。

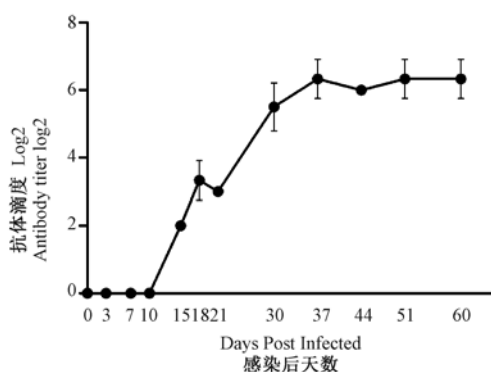


注: (A) 100% 核酸阳性率在各组织的维持时间; (B) 0 ~ 18 d 心、盲肠内容物、胃、脑、肾、肺、肝 Mad 病毒核酸含量变化图; (C) 各组织感染第 7 天核酸含量差异; (D) 0 ~ 60 d 脾脏 Mad 病毒核酸含量变化图。

图 1 Mad 病毒在感染小鼠各组织差异 (n=3)

Note. (A) 100% antigen positive rate and difference tissues. (B) 0 ~ 18 d Mad contents of heart, cecum contents, stomach, brain, kidney, lung, and liver. (C) Contents of Mad in difference tissues (7 d). (D) Content of Mad in spleen (0 ~ 60 d).

Fig.1 Mad nucleic acids in difference tissues of infected mice



注: 抗体滴度是能检出阳性结果的最大稀释倍数。

图 2 感染 BALB/c 小鼠抗 Mad 血清抗体的测定 (n=3)

Note. Antibody titer is the biggest diluted multiples in checking out the positive sample.

Fig.2 Determination of serum antibody against Mad of BALB/c mice infected

参考文献:

- [1] 田克恭. 实验动物病毒性疾病[M]. 北京: 中国农业出版社, 1992, 41-45.
- [2] Davison AJ, Benko M, Harrach B. Genetic content and evolution of adenoviruses[J]. J Gen Virol, 2003, 84: 2895-2908.
- [3] Hartley JW, Rowe WP. A new mouse virus apparently related to the ade-novirus group[J]. Virol, 1960, 11: 645-647.
- [4] Hashimoto K, Sugiyama T, Sasaki S. An Adenovirus Isolated from the Feces of Mice I. Isolation and identification[J]. Jpn J Microbiol, 1966, 10(2): 115-125.
- [5] van der Veen J, Mes A. Serological classification of two mouse adenoviruses[J]. Arch Gesamte Virusforsch, 1974, 45(4): 386-387.
- [6] Klempa B, Kruger DH, Auste B, et al. A novel cardiotropic murine adenovirus representing a distinct species of mastadenoviruses[J]. J Virol, 2009, 83(11): 5749-59.
- [7] 贺争鸣, 范文平, 卫礼, 等. 小鼠腺病毒单克隆抗体的研制及初步应用[J]. 中国实验动物学报, 1997, 5(2): 15-18.

- [8] Baker DG. Natural Pathogens of Laboratory Mice, Rats, and Rabbits and Their Effects on Research [J]. Clin Microbiol Rev, 1998, 11(2) :231 – 266.
- [9] Becker SD, Bennett M, Stewart JP, *et al.* Serological survey of virus infection among wild house mice (*Mus domesticus*) in the UK [J]. Lab Anim, 2007, 41(2) :229 – 238.
- [10] Bootz F, Sieber I, Popovic D, *et al.* Comparison of the sensitivity of in vivo antibody production tests with in vitro PCR-based methods to detect infectious contamination of biological materials [J]. Lab Anim, 2003, 37(4) :341 – 51.
- [11] Adams MJ. Virus Taxonomy: Adenoviridae-Family [M]. Elsevier Inc, 2012, 125 – 141.
- [12] 贺争鸣, 吴惠英, 卫礼, 等. 小鼠腺病毒在鼠群中心感染及血清学检测方法的比较 [J]. 北京实验动物学, 1988, 5(2) :16 – 20.
- [13] 王吉, 卫礼, 巩薇, 等. 2003 – 2007 年我国实验小鼠病毒抗体检测结果与分析 [J]. 实验动物与比较医学, 2008, 28(6) :394 – 396.
- [14] 王翠娥, 陈立超, 周倩, 等. 实验大鼠和小鼠多种病毒的血清学检测结果分析 [J]. 实验动物科学, 2014, 31(2) :20 – 24.
- [15] Ginder DR. Increased susceptibility of mice infected with mouse adenoviruses to *Escherichia coli*-induced pyelonephritis [J]. J Exp Med, 1964, 120: 1117 – 1128.
- [16] Charles PC, Guida JD, Brosnan CF, *et al.* Mouse adenovirus type-1 replication is restricted to vascular endothelium in the CNS of susceptible strains of mice [J]. Virol, 1998, 245(2) :216 – 228.
- [17] Gralinski LE, Ashley SL, Dixon SD, *et al.* Mouse adenovirus type 1-induced breakdown of the blood-brain barrier [J]. J Virol, 2009, 83(18) :93 – 98.
- [18] McCarthy MK, Procario MC, Twisselmann N, *et al.* Proinflammatory effects of interferon gamma in mouse adenovirus 1 myocarditis [J]. J Virol, 2015, 89(1) :468 – 79.
- [19] Guida JD, Fejer G, Pirofski LA, *et al.* Mouse adenovirus type 1 causes a fatal hemorrhagic encephalomyelitis in adult C57BL/6 but not BALB/c mice [J]. J Virol, 1995, 69(12) :7674 – 7681.
- [20] Blailock ZR, Rabin ZR, Melnick JL. Adenovirus endocarditis in mice [J]. Science, 1967, 157(3784) :69 – 70.
- [21] Blailock ZR, Rabin ER, Melnick JL. Adenovirus myocarditis in mice. An electron microscopic study [J]. Exp Mol Pathol, 1968, 9(1) :84 – 96.
- [22] 姚新华, 郭英飞. 实时荧光定量 PCR 快速检测腺病毒方法的建立与评价 [J]. 解放军预防医学杂志, 2015, 33(2) :127 – 129.

[收稿日期] 2016 – 07 – 08

(上接第 36 页)

- cancer risk: results from the prostate cancer prevention trial [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2013, 6(2) :91 – 99.
- [9] Yan XJ, Tian Y, Wang C, *et al.* The expressions and clinical significance of IGFBP-2, -3 in both serum and tumor tissues in patients with epithelial ovarian cancer. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2009, 40(4) :639 – 643.
- [10] D Katsaros, H Yu, M A Levesque, *et al.* IGFBP-3 in epithelial ovarian carcinoma and its association with clinicopathological features and patient survival [J]. Eur J Cancer, 2001, 37(4) :478 – 485.
- [11] PL Torng, YCG Lee, CYF Huang, *et al.* Insulin like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) acts as an invasion-metastasis suppressor in ovarian endometrioid carcinoma [J]. Oncogene, 2008, 27(15) :2137 – 2147.
- [12] A Karasik, J Menczer, C Pariente, *et al.* Insulin like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-2 are increased in cyst fluids of epithelial ovarian cancer [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1994, 78(2) :271 – 276.
- [13] H Kanety, M Kattan, I Goldberg, *et al.* Increased insulin like growth factor binding protein-2 (IGFBP-2) gene expression and protein production lead to high IGFBP-2 content in malignant ovarian cyst fluid [J]. Br J Cancer, 1996, 73(9) :1069 – 1073.
- [14] EJ Lee, C Mircean, I Shmulevich, *et al.* Insulin-like growth factor binding protein 2 promotes ovarian cancer cell invasion [J]. Mol Cancer, 2005, 4(1) :article 7.
- [15] JM Weiss, WY Huang, S Rinaldi, *et al.* IGF-I and IGFBP-3: risk of prostate cancer among men in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial [J]. Int J Cancer, 2007, 121(10) :2267 – 2273.
- [16] D Sachdev, D Yee. Disrupting insulin-like growth factor signaling as a potential cancer therapy [J]. Mol Cancer Ther, 2007, 6(1) :1 – 12.
- [17] D Sachdev. Regulation of breast cancer metastasis by IGF signaling [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2008, 13(4) :431 – 441.
- [18] Heidegger I, Pircher A, Klocker H, *et al.* Targeting the insulin-like growth factor network in cancer therapy [J]. Cancer Biol Ther, 2011, 11(8) :701 – 707.
- [19] Heidegger I, Massoner P, Sampson N, *et al.* The insulin-like growth factor (IGF) axis as an anticancer target in prostate cancer [J]. Cancer Lett, 2015, 367(2) :113 – 121.

[收稿日期] 2016 – 06 – 30