



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.01.008
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3754.shtml

· 基础研究 ·

中电导钙激动钾离子通道在原发性肝癌中的表达及其意义

杨筱崑¹, 刘谨文¹, 张汝超², 殷茜¹, 沈文状¹, 张磐石¹, 易继林¹

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院 普通外科, 湖北 武汉 430030; 2. 三峡大学附属宜昌中心医院 普通外科, 湖北 宜昌 443003)

摘要

目的: 探讨中电导钙激动钾离子通道 (SK4) 在原发性肝细胞癌 (HCC) 中的表达情况及意义。

方法: 收集 46 例 HCC 患者手术标本的 HCC 组织与癌旁组织。用免疫组化法检测两种组织中 SK4 与血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 在的表达, 分析 HCC 组织中 SK4 与 VEGF 表达的相关性; 用 real-time PCR 法检测两种组织中 SK4 mRNA 的表达, 并分析 SK4 mRNA 表达与 HCC 临床病理因素的关系。用 Western blot 法检测两种组织中 SK4 蛋白的表达。

结果: 免疫组化结果显示, 肝癌组织中 SK4 和 VEGF 的阳性表达率均明显高于癌旁组织 (均 $P < 0.05$), 且在 HCC 组织中 SK4 和 VEGF 阳性表达呈正相关 ($r = 0.364$, $P < 0.05$); real-time PCR 结果显示, HCC 组织中 SK4 mRNA 表达水平较癌旁组织明显上调 ($P < 0.05$), 且 SK4 mRNA 的高表达与肿瘤低分化及门静脉癌栓有关 (均 $P < 0.05$); Western blot 结果显示, SK4 蛋白在 HCC 细胞膜的表达明显高于癌旁肝细胞, 但两者胞质 SK4 水平无明显差异。

结论: SK4 在 HCC 组织中表达增高, 其可能通过上调 VEGF 的表达等途径促进 HCC 细胞的侵袭转移。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(1):37-42]

关键词

癌, 肝细胞; 钾通道, 钙激活; 血管内皮生长因子类

中图分类号: R735.7

Expression of intermediate-conductance calcium-activated potassium channel protein 4 in hepatocellular carcinoma and its significance

YANG Xiaowei¹, LIU Jinwen¹, ZHANG Ruchao², YIN Qian¹, SHEN Wenzhuang¹, ZHANG Panshi¹, YI Jilin¹

(1. Department of General Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2. Department of General Surgery, Center Hospital of Yichang, China Three Gorges University, Yichang, Hubei 443003, China)

Corresponding author: LIU Jinwen, Email: liujinwen@tjh.tjmu.edu.cn

ABSTRACT

Objective: To investigate the expression and significance of intermediate-conductance calcium-activated potassium channel protein 4 (SK4) in hepatocellular carcinoma (HCC).

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81072002); 湖北省自然科学基金资助项目 (2011CDB556)。

收稿日期: 2013-02-17; **修订日期:** 2013-10-11。

作者简介: 杨筱崑, 华中科技大学同济医学院附属同济医院博士研究生, 主要从事肝脏、乳腺及甲状腺肿瘤基础与临床方面的研究。

通信作者: 刘谨文, Email: liujinwen@tjh.tjmu.edu.cn

Methods: The surgical specimens of HCC and adjacent tissues from 46 HCC patients were collected. The expressions of SK4 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the two types of tissues were measured by immunohistochemical staining, and the correlation between SK4 and VEGF expression was analyzed. The SK4 mRNA expressions in the two types of tissues were determined by real-time PCR, and the relations of SK4 mRNA expression with the clinicopathologic factors were analyzed. The SK4 protein expressions in the two types of tissues were detected by Western blot analysis.

Results: The results of immunohistochemical staining showed that the positive expression rates of both SK4 and VEGF in HCC tissue were significantly higher than those in adjacent tissue (both $P < 0.05$), and there was a positive correlation between SK4 and VEGF expression in HCC tissue ($r = 0.364$, $P < 0.05$). The results of real-time PCR showed that SK4 mRNA expression in HCC tissue was significantly up-regulated compared with adjacent tissue ($P < 0.05$), and the high SK4 mRNA expression was associated with poor differentiation and portal vein tumor thrombus (both $P < 0.05$). The results of Western blot showed that the SK4 protein expression level in the cell membrane of cells from HCC tissue was significantly higher than that of cells from adjacent tissue, but the expression levels in the cytoplasm of both tissues had no obvious difference between them.

Conclusion: The SK4 expression is increased in HCC, which may promote the invasion and metastasis of HCC through up-regulating VEGF expression or others.

[Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(1):37-42]

KEYWORDS Carcinoma, Hepatocellular; Potassium Channels, Calcium-Activated; Vascular Endothelial Growth Factors

CLC number: R735.7

离子通道对于维持细胞的动态平衡和稳定起着至关重要的作用。现已陆续发现有多种钾离子通道与肿瘤关系密切,而中电导钙激动钾离子通道蛋白(intermediate-conductance calcium-activated potassium channel protein, SK4)已被证实众多肿瘤细胞中高表达,并可能影响肿瘤细胞的发生和发展^[1-5]。原发性肝癌(HCC)恶性程度高,目前治疗效果不理想。研究SK4在HCC中表达状况及其作用对深入了解HCC的发生发展机制有重要意义,并可能提供一种新的HCC治疗策略。本实验采用免疫组化染色法、real-time PCR和Western blot方法,比较HCC组织和癌旁组织中的SK4的表达变化,以及血管内皮生长因子(VEGF)在HCC组织和癌旁组织中的表达差异,旨在探讨HCC组织中SK4与VEGF表达的关系,并分析SK4的表达与HCC患者临床特征之间的关系。

1 材料与方法

1.1 标本及其一般资料

随机选取2009—2011年于华中科技大学附属同济医院因原发性肝细胞性肝癌(HCC)行肝切除的患者46例;其中男34例,女12例;平均年龄

(43.4 ± 8.6)岁。所有患者术前未经化疗或介入治疗等其他治疗手段。手术切除标本取部分肝癌组织和其对应的癌旁组织(>1 cm)冻存,其余标本送病理室处理,所选病例均经病理证实为HCC。

1.2 免疫组化法检测 SK4 和 VEGF

拟行免疫组化染色的标本经10%福尔马林溶液固定后,常规脱水,石蜡包埋,作4 μm 连续切片,行SK4和VEGF免疫组化染色;染色方法为SABC法。以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照。所有抗体和SABC试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。染色完成后,在光学显微镜下观察。SK4阳性染色为细胞膜和胞浆染为棕褐色,VEGF阳性染色为胞浆染为棕黄色。结果判断采用综合评分法:每张切片计数5个高倍($\times 400$)视野,观察:(1)染色程度,不着色0分,浅棕色1分,棕黄色或棕色2分,棕褐色或深棕色3分。(2)阳性细胞数,无细胞着色0分;染色细胞数占视野25%以下为1分;25%~50%为2分;50%以上为3分。两种评分相加:0~1分为阴性(-),2~3分为弱阳性(+),4分为阳性(++),5~6分为强阳性(+++)。

1.3 实时荧光定量 PCR 检测 SK4 mRNA

取100 mg -70 $^{\circ}\text{C}$ 标本组织置于玻璃研磨器

内,先加入 200 μL 的 Trizol 试剂溶液,充分研磨组织。待组织液化后,转入 1.5 mL 的 EP 管(艾本德离心管)中,再在研磨器内加入 800 μL 的 Trizol 溶液洗净,然后全部转入 EP 管中。颠倒混匀 10 次,室温静置 5 min。每 1 mL Trizol 中加入 200 μL 氯仿,盖紧样品瓶盖,用力摇晃试管 15 s,使其充分混匀。室温放置 3 min。12 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min。吸取上层水相转移至干净的离心管中,加入等体积异丙醇,混匀后室温放置 20 min。12 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,弃上清液。加入 1 mL 75% 乙醇洗涤沉淀。12 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 3 min,弃上清液。室温干燥 5~10 min。加入 30~50 μL 无 RNA 酶水(RNase-free H_2O),充分溶解 RNA。测定所得 RNA 溶液样品浓度。使用美国赛莫非公司逆转录试剂盒(RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit, Thermo Scientific, 美国),按说明书要求逆转录合成 cDNA。取 cDNA 样品 0.5 μg ,使用美国赛莫非公司荧光定量 PCR 试剂盒(Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2 \times), Thermo Scientific, 美国),按说明书进行 real time PCR。反应所用引物 SK4:正义链为 5'-GGC CAA GCT TTA CAT GAA CAC G-3',反义链为 5'-GTC TGA AAG GTG CCC AGT GG-3',产物长度 133 bp。内参 GAPDH 引物:正义链为 5'-CCT GCC AAG TAT GAT GAC-3',反义链为 5'-GGA GTT GCT GTT GAA GTC-3',产物长度 117 bp。引物均由上海生工生物工程有限公司合成。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min \rightarrow 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 56 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s \rightarrow 72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;共 40 个循环。使用 Rotor- 基因实时分析软件 6.0 分析数据,并采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算 mRNA 相对表达量。

1.4 Western blot 检测细胞膜上 SK4 蛋白

使用细胞膜和细胞浆蛋白提取试剂盒(碧云天,中国),按照说明书提取并分离细胞膜蛋白和胞浆蛋白。以二喹啉甲酸(BCA)法试剂盒测定样品蛋白浓度。样品 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min 变性,然后冰上冷却。按 30 μg 上样量,使用 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE) 90 min。采用湿转法转膜到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上。转膜完成后,以 5%BSA 溶液室温封闭 3 h,洗膜 3 次。以 1:1 000 的兔抗人 SK4 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,洗膜 3 次。1:8 000 羊抗兔辣根过氧化物酶(HRP)标记 IgG

二抗孵育 1 h,洗膜 3 次。以电化学发光(ECL)试剂盒(碧云天,中国)曝光条带,紫外线凝胶成像仪(UVP)观察并拍照。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,阳性表达率之间比较使用 χ^2 检验。肝癌组织中 SK4 和 VEGF 表达的相关性分析采用 Spearman 相关分析。其他计量数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间计量数据显著性检验采用 t 检验。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 视为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC 组织与癌旁组织中 SK4 的表达

SK4 表达主要位于细胞膜上,也可见胞浆内表达。阳性细胞镜下可见胞膜和胞浆被染成棕褐色或棕黄色。46 例 HCC 组织中 SK4 阳性表达率高于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$) (表 1)。

表 1 SK4 在 HCC 组织和癌旁组织中的表达

组织类型	SK4		阳性表达率 (%)	χ^2	P
	(+)	(-)			
HCC	34	12	73.9	25.091	0.0000
癌旁组织	10	36	21.7		

2.2 HCC 组织与癌旁组织中 VEGF 的表达

VEGF 表达位于细胞胞质和胞膜上,在血管内皮细胞上也可见弱阳性表达。HCC 组织中 VEGF 阳性表达率显著高于癌旁组织,两者阳性表达率差异有统计学意义($P<0.05$) (表 2)。

表 2 VEGF 在 HCC 组织和癌旁组织中的表达

组织类型	VEGF		阳性表达率 (%)	χ^2	P
	(+)	(-)			
HCC	33	13	71.7	15.035	0.0001
癌旁组织	14	32	30.4		

2.3 HCC 组织中 SK4 与 VEGF 表达的相关性

Spearman 相关分析显示 HCC 组织中 SK4 与 VEGF 存在正相关($r=0.364$, $P=0.014$)。

2.4 HCC 组织与癌旁组织中 SK4 mRNA 的表达

real-time PCR 的扩增曲线显示 PCR 体系反应正常,曲线均出现明显指数扩增期;SK4 基因

溶解曲线峰值位于 87 ℃；波峰锐利，无明显引物二聚体及非特异性扩增产物形成（图 1）。PCR

产物经 2% 琼脂糖电泳分析，可见无明显非特异性产物（图 2）。

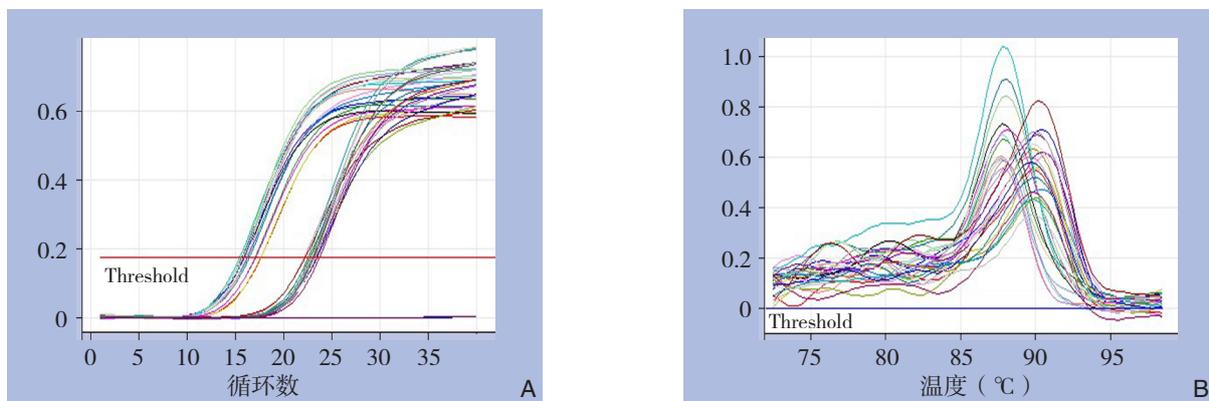


图 1 SK4 基因 real-time PCR 扩增反应图

A: 扩增曲线; B: 溶解曲线

Figure 1 Amplification signal of real-time PCR of SK4 gene

A: Amplification curves; B: Melting curves

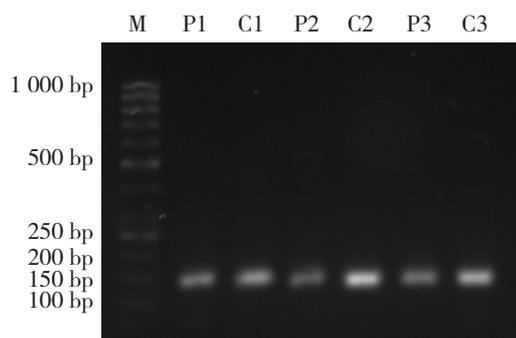


图 2 琼脂糖电泳鉴定 PCR 扩增产物 M: 分子量标准; C1-3: HCC; P1-3: 癌旁组织

Figure 2 Identification of the PCR products through agarose electrophoresis M: Molecular weight marker; C1-3: HCC tissue; P1-3: Adjacent tissue

HCC 组织的 SK4 mRNA 表达明显高于癌旁组织，表达量上调约 2.17 倍。27 例（61.36%）HCC 组织中的 SK4 mRNA 表达高于癌旁组织，差异具统计学意义（ $P < 0.05$ ）（表 3）。其中上调 4 倍以上者 3 例（6.82%），上调 3 倍以上者 6 例（13.64%），上调 2 倍以上者 18 例（40.91%）；其余 17 例（38.64%）无明显表达差异（ $P > 0.05$ ）。

表 3 SK4 mRNA 在 HCC 组织和癌旁组织中的表达 ($n=46$)

Table 3 SK4 mRNA expressions in HCC and adjacent tissue ($n=46$)

组别	SK4	GAPDH	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	P
肝癌组织	20.346 ± 3.752	17.833 ± 2.199	2.17	0.042
癌旁组织	18.129 ± 4.056	16.785 ± 1.762		

2.5 HCC 组织中 SK4 mRNA 表达与临床特征的关系

SK4 mRNA 的表达在性别、肿瘤最大直径、血清甲胎蛋白（AFP）以及临床分期分组间差异无统计学意义（均 $P > 0.05$ ），而在有无门静脉癌栓及组织分化水平分组间差异有统计学意义（均 $P < 0.05$ ）（表 4）。

表 4 HCC 组织中 SK4 mRNA 的表达与临床特征之间的关系

Table 4 Relations of SK4 mRNA expression in HCC tissue with clinicopathologic features

临床项目	n	SK4 mRNA	P
性别			
男	32	21.343 ± 3.6768	0.501
女	12	20.376 ± 5.4353	
肿瘤最大直径 (cm)			
< 5	23	19.387 ± 4.153	0.097
≥ 5	21	21.476 ± 3.988	
血清 AFP			
阴性	9	22.766 ± 3.765	0.274
阳性	35	20.291 ± 6.381	
临床分期			
I, II	19	19.911 ± 7.210	0.059
III, IV	25	23.101 ± 3.485	
门脉癌栓			
有	11	24.357 ± 1.569	0.020
无	33	19.681 ± 4.576	
组织分化			
高	15	15.281 ± 0.910	0.000
中	17	18.971 ± 3.488	
低	12	24.765 ± 1.826	

2.6 HCC 组织和癌旁组织中 SK4 蛋白的表达

分别提取 HCC 组织和癌旁组织细胞膜和胞质蛋白, 作 Western blot 检测。结果显示两组细胞质中 SK4 蛋白无明显差异, 但 HCC 细胞膜上 SK4 蛋白表达明显高于癌旁组织 (图 3)。

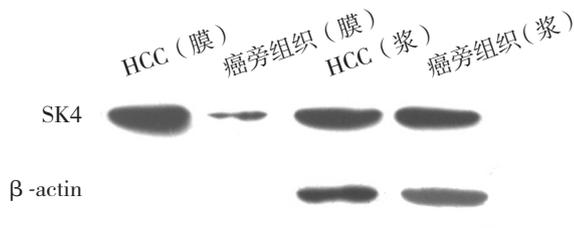


图 3 SK4 蛋白在 HCC 组织与癌旁组织胞膜和胞质中的表达

Figure 3 SK4 protein expressions in the cell membrane and cytoplasm of HCC and adjacent tissue

3 讨 论

SK4, 也称为 IKCa1 或 KCa3.1, 是由 KCNN4 基因编码的一类钙激动钾离子通道, 广泛分布于全身多种非兴奋性细胞的细胞膜上。SK4 对细胞内低剂量的钙离子浓度升高变化极其敏感, 该通道的激活并不参与细胞膜静息电位的调节, 而主要通过引起局部细胞膜电位的超极化而进一步提高胞内的钙离子浓度。

目前已有实验证实, 在前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌和子宫内膜癌等组织中均检出显著高表达的 SK4 mRNA 和 SK4 通道, 同时在体外培养的多种肿瘤细胞中给予 SK4 阻断剂或 siRNA 均可抑制肿瘤细胞的增殖和分化^[1-5]。本实验免疫组化结果显示, HCC 组织中 SK4 通道的表达明显高于癌旁组织, 同时 real-time PCR 结果显示, SK4 mRNA 在 HCC 组织中的表达也明显高于癌旁组织。说明 SK4 在肝癌组织中的表达确实提高, 其高表达与基因转录水平调控有关。Western blot 结果还显示, HCC 细胞胞浆内 SK4 蛋白水平和癌旁组织基本相似, 但在胞膜上的表达较癌旁组织明显上调。说明 SK4 在胞质中转录翻译后还可能通过某种机制使其胞膜上的表达增强, 而在胞膜上的 SK4 通道的功能可能对肝癌组织更有意义。已有研究^[1]显示, 前列腺癌细胞膜上大量 SK4 通道的激活可导致细

胞膜电位超极化, 引发 CRAC 通道和 / 或 TRPC 开放而致钙离子内流入胞浆, 而胞浆内钙离子浓度升高对于肿瘤细胞增殖是必要条件。另有研究^[5]显示, 肿瘤细胞通过 G₀/G₁ 和 G₁/S 期时需要持续的细胞膜电位的超极化, 在持续到 G₁ 和 S 期晚期的细胞膜电位超极化过程中需要高密度的 SK4 通道电流, 阻断 SK4 则可导致去极化从而阻滞细胞于 G₁ 和 S 晚期^[4] 或 G₀/G₁ 期。结合已有的研究结果, 笔者认为, 在 HCC 细胞中 SK4 的高表达可通过调节细胞膜电位水平和 / 或调节胞内钙离子浓度而影响和调控 HCC 细胞增殖和细胞周期的进程。

有研究^[6]显示, SK4 的激活可以激活下游 p38MAPK 信号通路, SK4 表达上调引发的胞内钙离子浓度升高对于另一 MAPK 信号通道 Ras/Raf/MEK/ERK 信号系统的活化也起着重要作用^[7]。而 MAPK 信号通路的激活对于肿瘤尤其是 HCC 的发生发展显得格外重要^[8]。成纤维细胞和血管内皮细胞受一些生长因子刺激后可通过激活 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路而上调 SK4 的表达, 从而导致该细胞增殖分化^[9-10]。由此推测, HCC 中 SK4 表达的上调也可能通过提高细胞内钙离子浓度而促进 MAPK 信号系统的激活, 而该信号通路的激活亦有可能反作用上调 SK4 的表达, 从而形成一种促进 HCC 细胞增殖的恶性正反馈, 但其具体的分子机制还需深入研究。

VEGF 是肿瘤细胞产生的最重要的促血管生成因子, 在诱导肿瘤血管新生、促进肿瘤生长、侵袭和转移中起重要作用。本实验检测到肝癌组织中 VEGF 表达水平较癌旁组织显著升高, 这与既往的研究结果相同^[11]。说明 HCC 细胞具有高增殖、高侵袭的特性。综合分析 HCC 组织中 SK4 与 VEGF 的表达关系, 发现二者的阳性表达之间有明显的正相关性; 说明 HCC 组织中 SK4 与 VEGF 的高表达间有一定的内在联系。在自身免疫性脑脊髓炎动物模型的研究中发现, SK4 对 T 淋巴细胞分泌的一些细胞因子的合成起重要作用; 若阻断 SK4 则对这些细胞因子的合成分泌产生很明显的抑制作用^[12]。在胶质瘤细胞中 HERG 钾离子通道的高表达可以促进肿瘤细胞分泌 VEGF^[13]。由此推测, HCC 细胞中 SK4 的高表达可能也会通过类似的某些途径促进 HCC 细胞自分泌一些生长因子和细胞因子, 如 VEGF 和表皮生长因子 (EGF) 等, 从

而促进 HCC 的增殖生长和肿瘤新生血管生成, 均有利于 HCC 的转移和侵袭。另外, 已有研究显示血管内皮细胞在受到 VEGF 等因子刺激后可导致 SK4 表达上调^[9-10], 从而提高细胞增殖水平。而在 HCC 组织中高表达的 VEGF 是否可以同样以某种机制引发 SK4 表达上调进而导致 HCC 细胞增殖则需要进一步研究证实。

本实验结果也发现, SK4 mRNA 在有门静脉癌栓的 HCC 患者中的表达显著高于无门静脉癌栓者, 且 HCC 组织中 SK4 与 VEGF 的表达呈正相关。说明 SK4 的表达高低可能与肝癌组织的侵袭性和转移性相关。实验还显示 SK4 在不同分化程度的 HCC 组织中的表达差异也有显著性; 其在低分化的 HCC 组织中表达明显高于高分化者。说明 SK4 的表达可能也与 HCC 的分化水平有关。上述结果提示, SK4 表达水平的检测可作为一种辅助手段以帮助判断 HCC 的分化水平和侵袭性。

总之本实验结果表明, SK4 是 HCC 的一个重要的肿瘤相关分子, 其在 HCC 中的高表达可能通过调节胞内钙离子浓度而影响 HCC 细胞的增殖和细胞周期, 并可能通过与 VEGF 的相互作用等多种途径促进 HCC 细胞增殖和侵袭转移。据此, 笔者认为 SK4 可能是 HCC 一个新的治疗靶点。但对其具体分子调控机制的了解尚需进一步实验研究。

参考文献

- [1] Lallet-Daher H, Roudbaraki M, Bavencoffe A, et al. Intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels (IKCa1) regulate human prostate cancer cell proliferation through a close control of calcium entry[J]. *Oncogene*, 2009, 28(15):1792-1806.
- [2] Chou CC, Lunn CA, Murgolo NJ. KCa3.1: target and marker for cancer, autoimmune disorder and vascular inflammation?[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2008, 8(2): 179-187.
- [3] Jäger H, Dreker T, Buck A, et al. Blockage of intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels inhibit human pancreatic cancer cell growth in vitro[J]. *Mol Pharmacol*, 2004, 65(3): 630-638.
- [4] Roy JW, Cowley EA, Blay J, et al. The intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel inhibitor TRAM-34 stimulates proliferation of breast cancer cells via activation of oestrogen receptors[J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159(3):650-658.
- [5] Wang ZH, Shen B, Yao HL, et al. Blockage of intermediate-conductance- Ca^{2+} -activated K^{+} channels inhibits progression of human endometrial cancer[J]. *Oncogene*, 2007, 26(35):5107-5114.
- [6] Kaushal V, Koeberle PD, Wang Y, et al. The Ca^{2+} -activated K^{+} channel KCNN4/KCa3.1 contributes to microglia activation and nitric oxide-dependent neurodegeneration[J]. *J Neurosci*, 2007, 27(1):234-244.
- [7] Gudermann T, Roelle S. Calcium-dependent growth regulation of small cell lung cancer cells by neuropeptides[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2006, 13(4) 1069-1084.
- [8] M í n guez B, Tovar V, Chiang D, et al. Pathogenesis of hepatocellular carcinoma and molecular therapies[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2009, 25(3):186-194.
- [9] Grgic I, Eichler I, Heinau P, et al. Selective blockade of the intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel suppresses proliferation of microvascular and macrovascular endothelial cells and angiogenesis in vivo[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(4):704-709.
- [10] Armstead WM, Kiessling JW, Riley J, et al. Phenylephrine infusion prevents impairment of ATP- and calcium-sensitive potassium channel-mediated cerebrovasodilation after brain injury in female, but aggravates impairment in male, piglets through modulation of ERK MAPK upregulation[J]. *J Neurotrauma*, 2011, 28(1):105-111.
- [11] 刘谨文, 易继林. 肝动脉化疗栓塞对原发性肝癌组织中树突状细胞 VEGF 表达的影响 [J]. *腹部外科*, 2006, 19(5):304-306.
- [12] Reich EP, Cui L, Yang L, et al. Blocking ion channel KCNN4 alleviates the symptoms of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice[J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35(4):1027-1036.
- [13] Masi A, Becchetti A, Restano-Cassulini R, et al. hERG1 channels are overexpressed in glioblastoma multiforme and modulate VEGF secretion in glioblastoma cell lines[J]. *Br J Cancer*, 2005, 93(7):781-792.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 杨筱崑, 刘谨文, 张汝超, 等. 中电导钙激动钾离子通道在原发性肝癌中的表达及其意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(1):37-42. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.01.008
Cite this article as: YANG XW, LIU JW, ZHANG RC, et al. Expression of intermediate-conductance calcium-activated potassium channel protein 4 in hepatocellular carcinoma and its significance[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(1):37-42. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.01.008