

文章编号 1006-8147(2021)03-0259-07

论 著

通过生物信息学分析鉴定调控神经母细胞瘤骨髓转移的中枢基因

杨倩玉¹,李璇²,闫蓓蓓²,赵旭峰¹,崔华雷³

(1.天津医科大学研究生院,天津 300070;2.天津市儿童医院小儿内科,天津 300074;3.天津市儿童医院小儿外科,天津 300074)

摘要 目的:利用生物信息学的方法,探讨神经母细胞瘤骨髓转移的中枢基因及其可能的分子机制。方法:选取 GEO 数据库中神经母细胞瘤基因骨髓转移的芯片数据集 GSE42548,应用在线分析工具 NetworkAnalyst 筛选差异表达基因。使用 DAVID 数据库对上述差异表达基因进行 GO 功能分析及 KEGG 通路分析。应用 STRING 在线数据库和 Cytoscape 软件构建蛋白质相互作用(PPI)网络,并筛选 hub genes、枢纽模块和 seed genes,利用 Venn 图对 hub genes 和 seed 进行分析。结果:分析芯片数据,筛选得到 990 个差异表达基因,GO 和 KEGG 分析结果显示,差异表达基因与信号转导、生物膜合成等过程有关,并富集在 Hematopoietic cell lineage 通路上。通过构建 PPI 网络筛选得到了 10 个 hub genes、6 个枢纽模块和 17 个 seed genes。通过 Venn 图确定关键基因 Cxcr4。结论:研究中筛选出了 10 个 hub genes 和 17 个 seed genes,其中 Cxcr4 基因在神经母细胞瘤骨髓转移起到关键作用,提示基于 CXCR4-SDF-1 之间的调控关系可能为神经母细胞瘤骨髓转移的早期诊断提供新的见解。

关键词 神经母细胞瘤;骨髓转移;Cxcr4;生物信息学

中图分类号 R739.43

文献标志码 A

Identification of hub genes to regulate neuroblastoma metastasis to bone marrow by bioinformatics analysis

YANG Qian-yu¹, LI Xuan², YAN Bei-lei², ZHAO Xu-feng¹, CUI Hua-lei³

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Pediatric Medicine, Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China; 3. Department of Pediatric Surgery, Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China)

Abstract **Objective:** To investigate the central gene of bone marrow metastasis in neuroblastoma and its possible molecular mechanism by bioinformatics analyses. **Methods:** The chip data set GSE42548 of the neuroblastoma gene bone marrow metastasis in the GEO (gene expression omnibus) database was selected, and the differentially expressed genes were screened by the online analysis tool NetworkAnalyst. DAVID database was used for GO (gene ontology) function analysis and KEGG (kyoto encyclopedia of genes and genome) pathway analysis of the above differentially expressed genes. The online database STRING and Cytoscape software were used to construct the protein-protein interaction (PPI) network, and the hub genes, hub modules and seed genes were screened, and the Venn diagram was used to analyze the hub genes and seed. **Results:** The microarray data were analyzed and 990 differentially expressed genes were screened. The GO and KEGG analysis results showed that the differentially expressed genes were related to signal transduction and biofilm synthesis, and were enriched in Hematopoietic cell pathway. Ten hub genes, six hub modules and seventeen seed genes were obtained by constructing PPI network screening. The key gene Cxcr4 was identified by the Venn diagram. **Conclusion:** In this study, 10 hub genes and 17 seed genes were screened out, among which Cxcr4 gene plays a key role in the bone marrow metastasis of neuroblastoma, suggesting that the regulation relationship between CXCR4 and SDF-1 may provide new insights for the early diagnosis of the bone marrow metastasis of neuroblastoma.

Key words neuroblastoma; bone marrow metastases; Cxcr4; bioinformatics

神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是一种来源于周围神经嵴的儿童实体瘤,占儿童癌症死亡人数的15%,是医学上的一大挑战^[1-3]。半数的神经母细胞瘤患者在诊断时都已发生肿瘤转移,预后较差^[4]。原发性腹腔神经母细胞瘤(primary abdominal neu-

roblastoma tumor, ANB)发生于椎管旁神经节或肾上腺髓质^[5],转移性播散发生在血液和淋巴途径,转移部位最常见于骨髓(total bone marrow, TBM, 71%)、骨骼(56%)、淋巴结(31%)、肺(3%)和其他内脏器官(15%~45%)^[6]。骨髓转移作为神经母细胞瘤的一个关键预后因素,有必要更好地了解神经母细胞瘤形成骨髓转移的机制,早期识别骨髓转移的风险,进行早期临床干预,改善患者预后。然而目前神经

基金项目 天津市科技计划项目(14RCGFSY00150)

作者简介 杨倩玉(1994-),女,硕士在读,研究方向:儿科学;通信作者:崔华雷, E-mail: chltxz@sina.com。

母细胞瘤选择骨髓作为优先转移部位的机制尚不清楚。因此,本研究旨在通过生物信息学的方法,筛选 TBM 与 ANB 组织的差异表达基因,进一步筛选 hub genes 和信号通路,为探究神经母细胞瘤骨髓转移的发生发展提供新的思路和理论依据。

1 材料和方法

1.1 数据的获取及差异基因的筛选 从 GEO(Gene Expression Omnibus)数据库中利用检索词“Neuroblastoma”进行检索并限定记录类型为“series”,最终筛选获得基因表达谱 GSE42548^[6],该数据集基于平台 GPL1261[Mouse430_2]Affymetrix Mouse Genome 430 2.0 Array。GSE27342 的阵列数据集包含 24 个 ANB(primary abdominal Neuroblastoma tumor)组织和 5 个 TBM(total bone marrow)组织数据。运用在线分析工具 NetworkAnalyst(<https://www.networkanalyst.ca/>)对数据集进行质量评估和差异表达分析,设置差异的判定参数为:adj. $P < 0.05$ 且 $|\log_2 FC| > 3$ 。其中 FC(foldchange)表示差异表达基因的差值倍数。

1.2 GO(gene ontology)富集分析及基因 KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genome) 通路富集分析 为了研究差异表达基因的潜在功能,利用在线数据库 DAVID^[7](<https://david.ncifcrf.gov/>)实现了从数据收集到生物学分析的过度,即对所得的差异表达基因基因本体论 GO 富集分析^[8]和 KEGG 通路富集分析^[9]。其中,GO 包括生物过程(biological process, BPs)、细胞成分(cell component, CCs)和分子功能(molecular function, MFs)注释。同时在 KEGG 数据库中对代谢通路图进行检索。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

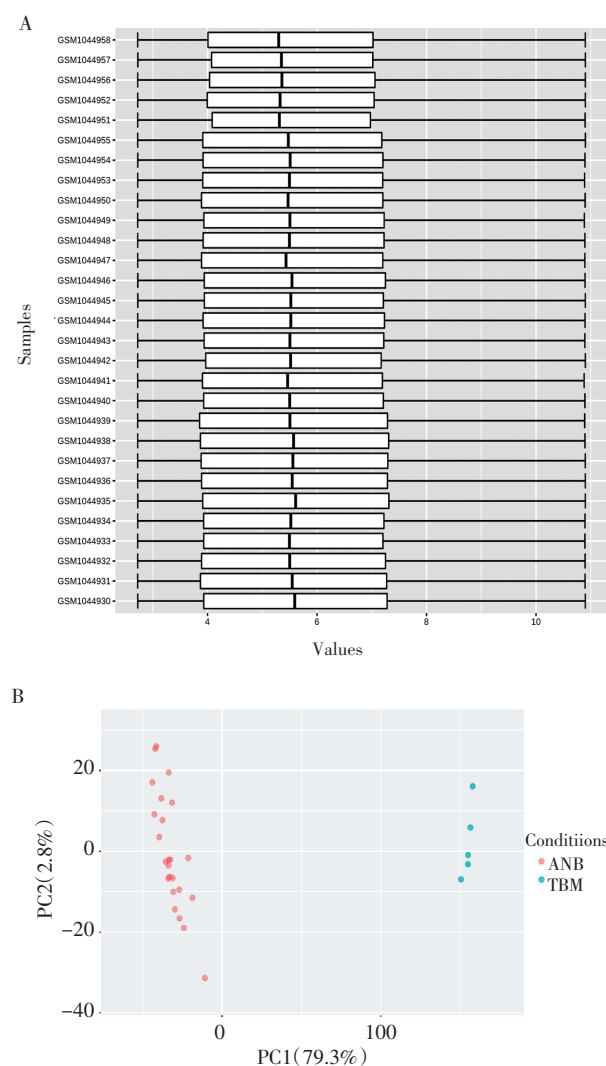
1.3 蛋白质-蛋白质相互作用网络的整合及可视化 为了探究差异表达基因的蛋白交互作用,笔者将这些差异表达基因提交到用于检索交互基因的搜索工具(String, <http://string.embl.de/>)数据库^[10],选择组合评分 > 0.4 的经过验证的交互作用为显著。然后利用 Cytoscape 软件^[10]对蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络的整合进行可视化。利用 Cytoscape 软件^[10]中的 NetworkAnalyzer 对网络基本特性进行分析。

1.4 hub genes 的筛选及模块的构建 使用 Cytoscape^[10]的插件 CytoHubba 来识别 PPI 网络模块中的 hub genes。计算 PPI 网络中的最大团中心性(maximal clique centrality, MCC),对分数进行筛选,规定分数前 10 的基因为 hub genes。采用 Cytoscape^[10]插件中的分子复杂检测(MCODE)方法对 PPI 网络模块对全网络基因进行分析,提取基因模块同时收

集 seed genes,以 MCODE 评分 > 5 且节点个数 > 10 作为截断标准,筛选枢纽模块。其中,MCODE 分析采用默认参数(degree cutoff=2, node score cutoff=0.2, K core=2 and max depth=100)。最后利用 Venn 图对 hub genes 和 seed 进行分析。

2 结果

2.1 质量控制及差异基因的筛选 本实验在 GEO 数据库中筛选并下载了基因表达数据集 GSE42548,对数据集进行质量评估。同时,进一步对数据集 GSE42548 的数据进行方差过滤和丰度规律并进行标准化(图 1),其中,箱式图显示数据分布在一条水平线上;由主成分分析(PCA)图可见组内样本重复性良好,组间差异显著,提示数据可靠并进一步分析。



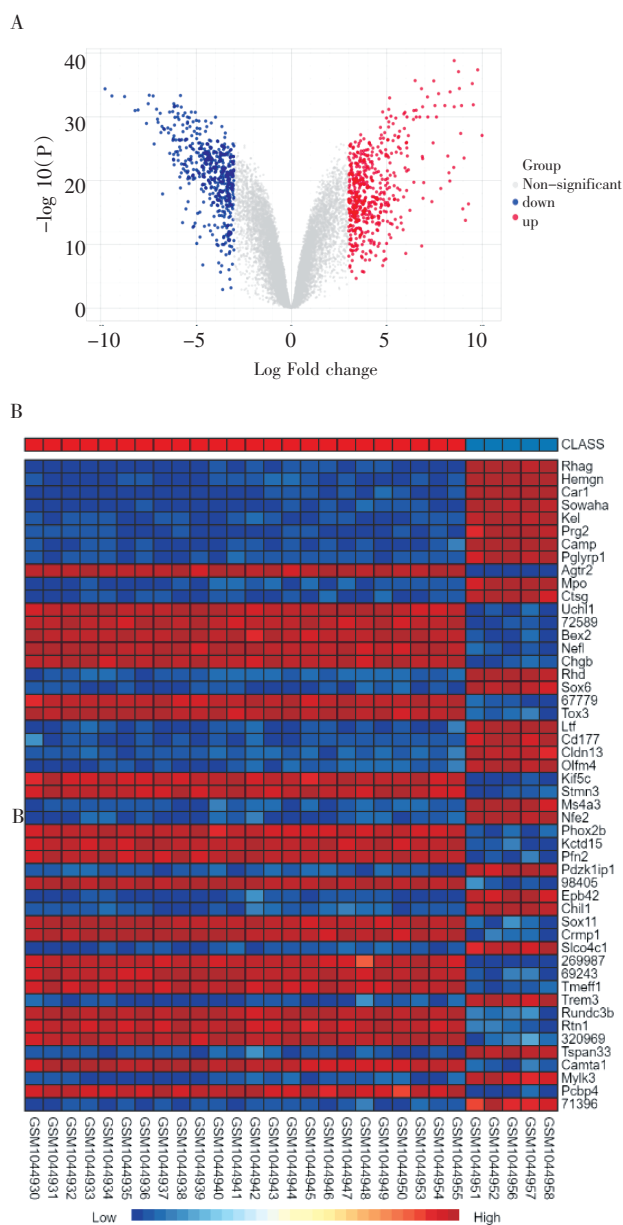
注:A:箱式图;B:主成分分析图

图1 神经母细胞瘤基因芯片数据集 GSE42548 的质量控制

Fig 1 Quality control of neuroblastoma gene chip dataset GSE42548

根据前述所定的筛选条件进行分析,可得差异表达基因共 990 个,其中上调的差异基因共 499 个,

下调的差异基因共 491 个,对差异基因进行可视化分析。如图 2 所示,在火山图中红色代表上调的差异基因,蓝色代表下调的差异基因。热图显示了 TOP50 的差异基因表达水平,其中上调差异基因 24 个,下调差异基因 26 个。



注:A:火山图;B:TOP50 差异基因热图

图 2 差异基因的可视化分析

Fig 2 Visual analysis of differential genes

2.2 富集分析结果 利用在线基因注释工具 DAVID 对 990 个差异表达基因 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析,结果如图 3 所示:差异表达基因主要参与的生物过程(BP)为:multicellular organism development,signal transduction,immune system process,cell differentiation,innate immune response;

差异表达基因主要参与的细胞成分(CC)为:membrane,cytoplasm,plasma membrane,extracellular exosome,cytosol. KEGG 分析显示差异蛋白在 Hematopoietic cell lineage 中富集,同时笔者在 KEGG 代谢通路数据库中检索了 Hematopoietic cell lineage 代谢通路,见图 4。

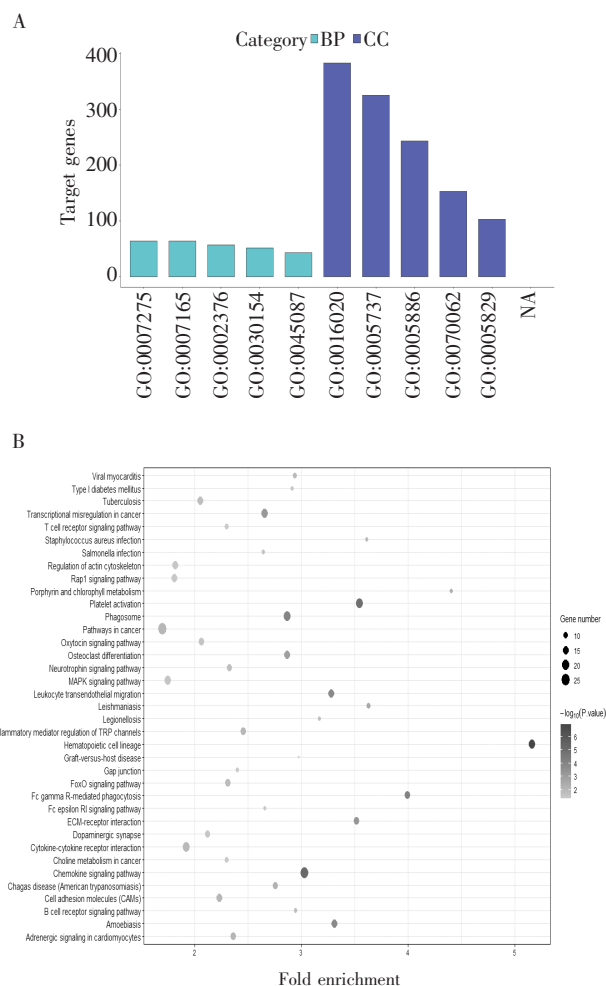


图 3 差异表达基因 Top5 的 GO 富集分析(A)及 KEGG 通路富集分析(B)

Fig 3 GO enrichment analysis of differentially expressed gene Top5(A) and KEGG pathway enrichment analysis(B)

2.3 蛋白质-蛋白质相互作用网络的整合及可视化 将差异表达基因导入到 STRING 数据库中,得到一个由 845 个节点构成的蛋白互作网络,其中每个节点代表一个蛋白,连接蛋白的线代表着节点蛋白间的相互作用关系。将得到的数据表格导入到 Cytoscape 软件中,构建 PPI 网络如图 5。利用 NetworkAnalyzer 分析了所得 PPI 的网络特性,图 6 展现了网络节点的度的分布遵循幂律分布(图 6A),靠近中心的程度(图 6B),平均聚集系数(图 6C),最短路径分布(图 6D)。



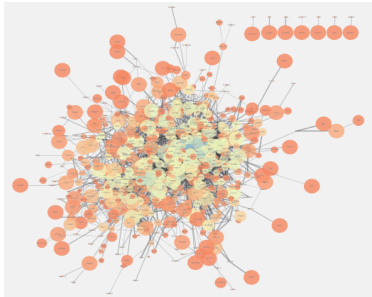
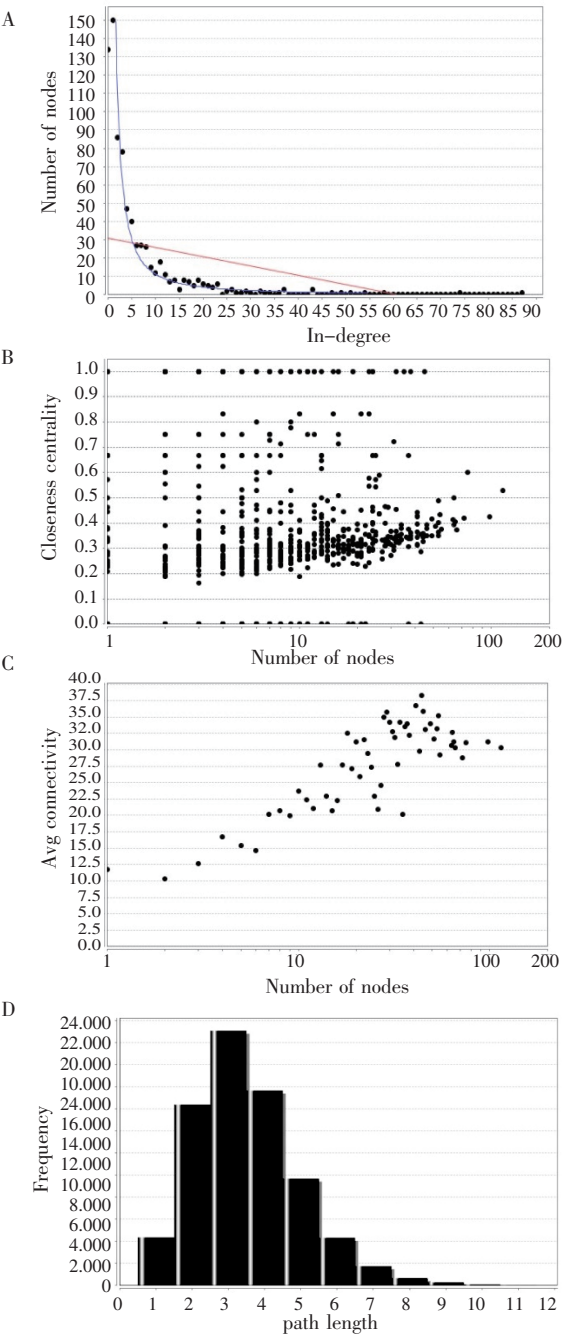


图 5 神经母细胞瘤中差异表达基因的蛋白-蛋白相互作用网络
Fig 5 Protein-protein interaction networks of differentially expressed genes in neuroblastoma



注:A:度数分布;B:靠近中心的程度;C:平均聚集系数;D:最短路径分布
图 6 差异表达基因的 PPI 网络特性分析
Fig 6 Analysis of PPI network characteristics of differentially expressed genes

2.4 hub genes 的筛选及枢纽模块的分析 利用 Cytoscape 的插件 CytoHubba 中的 MCC 算法分析得出分数前 10 的 hub genes:Cxcr2、Pbbp、Hvcn1、C3、Pf4、Fpr1、Ccr1、Fpr2、Cxcr4、Cxcl12, 如图 7A 所示。这些基因可能在神经母细胞瘤转移过程中起着关键的作用。采用 Cytoscape 插件中的 MCODE 分析全 PPI 网络,共得到 21 个基因模块。根据限定条件(MCODE 评分>5 且节点个数>10)筛选,共得到 6 个枢纽模块,其中枢纽模块 1 共由 72 个节点和 684 条连接线组成(图 7B),其中 seed genes 为 Cxcr4,经验证上述 10 个 hub genes 中除 Fpr1 外全部参与枢纽模块 1;枢纽模块 2 共由 42 个节点和 175 条连接线组成,其中 seed genes 为 Ncf2;枢纽模块 3 共由 52 个节点和 160 条连接线组成,其中 seed genes 为 Epb4.2;枢纽模块 4 共由 27 个节点和 80 条连接线组成,其中 seed genes 为 Igsf6;枢纽模块 5 共由 6 个节点和 15 条连接线组成,其中 seed genes 为 Apol11b;枢纽模块 6 共由 22 个节点和 56 条连接线组成,其中 seed genes 为 Ly75。

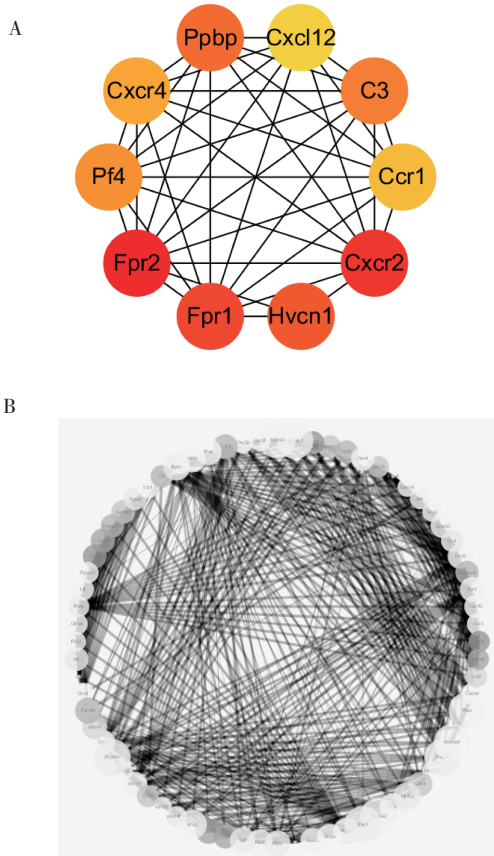


图 7 排名前 10 的 hub genes(A)和通过 MCODE 筛选出的枢纽模块(B)
Fig 7 Top 10 hub genes (A) and hub modules screened by MCODE(B)

在上述 21 个基因模块中,共得到 17 个 seed genes: Cxcr4、Ncf2、Epb4.2、Igsf6、Apol11b、Ly75、Itga2b、Adcy8、Vamp5、Emx2、Snca、Sp100、Fam171b、Rtn2、Arxes1、Stfa2l1、Tspyl5。最后将筛选出来的 hub genes 和 seed genes 制作 Venn 图(图 8),共有一个相交的关键基因: Cxcr4($\log_2FC=3.799\ 8$,即上调 13.926 8 倍)。

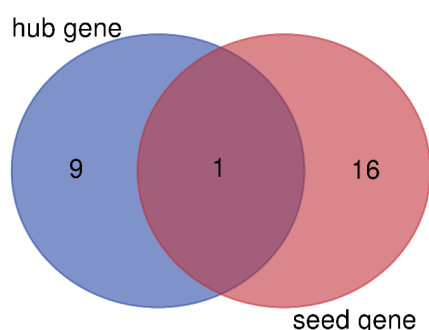


图 8 Top10 hub genes 和 seed genes 的维恩图

Fig 8 Venn diagrams of Top10 hub genes and seed genes

3 讨论

NB 来源于固有的迁移神经嵴细胞,具有很高的远处转移的潜力,患者经常在诊断时发现骨髓转移^[1]。手术切除仍然是本病最有效的治疗方法,但是对于晚期病例和有远处转移的患者,预后较差^[12-13]。因此,研究 NB 骨髓转移发生、发展的分子机制具有重要意义。

本研究从数据库中下载了一个与 NB 骨转移相关的数据集 GSE42548,并使用生物信息学方法来识别 NB 骨转移的候选生物标志物以探究潜在的治疗靶点。经分析后共鉴定出 990 个差异表达基因,包括 499 个上调的差异基因和 491 个下调的差异基因。这些差异基因主要参与了 multicellular organism development, signal transduction, immune system process, cell differentiation, innate immune response 等生物过程和 membrane, cytoplasm, plasma membrane, extracellular exosome, cytosol 细胞成分。同时,KEGG 功能分析显示,差异表达蛋白在 Hematopoietic cell lineage 通路中富集。Ubellacker 等^[14]表明,调节骨髓造血干细胞的功能和分化潜能影响造血微环境,进而预防或限制骨髓转移性疾病,最终改变预后。结合本研究 KEGG 结果说明, Hematopoietic cell lineage 通路可能在 NB 骨转移过程中发挥着重要作用。

在进一步分析中,本研究将差异表达基因导入到 STRING 数据库中并利用 Cytoscape 软件制作 PPI 图网络,用插件 CytoHubba 中的 MCC 算法分析

得出分数前 10 的 hub genes: Cxcr2、Pbbp、Hvcn1、C3、Pf4、Fpr1、Ccr1、Fpr2、Cxcr4、Cxcl12; 利用插件 MCODE 计算基因模块,共得到 21 个模块和 17 个 seed genes,根据限定条件 MCODE 评分>5 且节点个数>10,共得到 6 个枢纽模块。根据本研究结果可知,10 个 hub genes 中除 Fpr1 外全部参与枢纽模块 1,且枢纽模块 1 的 seed genes 为 Cxcr4。进一步将筛选出来的 hub genes 和 seed genes 制作 Venn 图,得到相交基因,同样是 Cxcr4。因此推测 CXCR4 在 NB 骨转移过程中起重要作用。研究表明,趋化因子受体特别是 CXCR4,通常控制免疫和炎症细胞的迁移,在肿瘤进展中发挥重要作用^[15]。Zhang 等^[16]表明 CXCR4 在 NB 中的表达是动态调控的,并且可以被不同的组织间质所调控,体外实验证明过表达 CXCR4 促进 NB 细胞迁移进度,同时使用体内异种移植模型证明, CXCR4 过表达细胞显示转移发生率增加,最明显的是骨髓转移。进一步证明 CXCR4 可能直接参与了 NB 细胞的骨髓转移。

Cxcr4 的表达可能是 NB 细胞的一般特征,提示 CXCR4 的表达在神经母细胞的发病机制中起着至关重要的作用^[17]。NB 细胞与骨髓源性成分在多个水平上相互作用,经历了一套复杂的相互作用^[18]。SDF-1 作为骨髓的主要成分,可能在这一过程中发挥关键作用,不仅介导肿瘤细胞归向骨髓,而且促进肿瘤细胞与骨髓基质的黏附^[19]。NB 表达的 CXCR4 和骨髓来源的 SDF-1 之间的相互作用可能是引导 NB 细胞向骨髓转移,并支持它们在这一部位建立微转移的能力^[20]。也就是说, NB 细胞可以基于 CXCR4-SDF-1 的机制来促进它们靶向迁移向表达 SDF-1 的骨髓。NB 细胞与骨髓源性成分的相互作用在多个水平上发生,包括对骨髓源性因子(可能部分依赖于 CXCR4)的反应中的迁移, SDF-1 介导的对骨髓细胞的黏附,以及促进由骨髓基质细胞源性成分诱导的增殖^[21]。此外,骨髓基质细胞来源的因子可以诱导 NB 以可能依赖 CXCR4 的方式迁移^[22]。因此,依赖于 CXCR4-SDF-1 的 NB 骨转移的机制可能是肿瘤细胞以一种依赖于 SDF-1 以及其他趋化因子的方式进入骨髓,并与骨髓基质细胞的黏附,再加上骨髓源性因子介导的 NB 细胞增殖,可能导致骨髓转移的优先建立。

然而,进一步的临床验证工作将是非常必要的,用以确定 CXCR4 作为 NB 骨髓转移的生物标志物的选择。通过定期检测 NB 患儿血液中 CXCR4 水平早期识别患儿发生骨髓转移的风险,将有可能通过早期诊断和早期干预来改善 NB 患者的预后。

综上所述,本研究基于生物信息学筛选出了NB骨髓转移中的关键通路和10个hub genes、17个seed genes,其中Cxcr4基因在NB骨转移起到关键作用,提示基于CXCR4-SDF-1之间的调控关系可能为NB骨髓转移的早期诊断提供新的见解,有待进一步深入研究。本文为探索NB骨髓转移发生、发展的分子机制、筛选诊断或预后标志物提供了理论依据。

参考文献:

- [1] Newman E A, Abdessalam S, Aldrink J H, et al. Update on neuroblastoma[J]. *J Pediatr Surg*, 2019, 54(3):383
- [2] Nakagawara A, Li Y, Izumi H, et al. Neuroblastoma[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2(3):16079
- [3] Tomolonis J A, Agarwal S, Shohet J M. Neuroblastoma pathogenesis: deregulation of embryonic neural crest development[J]. *Cell Tissue Res*, 2018, 372(2):245
- [4] Kholodenko I V, Kalinovskiy D V, Doronin I I, et al. Neuroblastoma origin and therapeutic targets for immunotherapy[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018:7394268
- [5] Aygun N. Biological and genetic features of neuroblastoma and their clinical importance[J]. *Curr Pediatr Rev*, 2018, 14(2):73
- [6] Teitz T, Inoue M, Valentine M B, et al. Th-MYC mice with caspase-8 deficiency develop advanced neuroblastoma with bone marrow metastasis[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(13):4086
- [7] Jiao X, Sherman B T, Huang D W, et al. DAVID-WS: a stateful web service to facilitate gene/protein list analysis [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(13):1805
- [8] Hulsegge I, Kommadath A, Smits M A. Globaltest and GOEAST: two different approaches for gene ontology analysis [J]. *BMC Proc*, 2009, 3 (Suppl 4):S10
- [9] Ogata H, Goto S, Sato K, et al. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(1):29
- [10] Doncheva N T, Morris J H, Gorodkin J, et al. Cytoscape string app: network analysis and visualization of proteomics data[J]. *J Proteome Res*, 2019, 18(2):623
- [11] Mühlethaler-Mottet A, Liberman J, Ascensão K, et al. The CXCR4/CXCR7/ CXCL12 axis is involved in a secondary but complex control of neuroblastoma metastatic cell homing[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5):e0125616
- [12] Meier R, Mühlethaler-Mottet A, Flahaut M, et al. The chemokine receptor CXCR4 strongly promotes neuroblastoma primary tumour and metastatic growth, but not invasion[J]. *PLoS One*, 2007, 2(10):e1016
- [13] Tolbert V P, Matthay K K. Neuroblastoma: clinical and biological approach to risk stratification and treatment [J]. *Cell Tissue Res*, 2018, 372(2):195
- [14] Ubellacker J M, Baryawno N, Severe N, et al. Modulating bone marrow hematopoietic lineage potential to prevent bone metastasis in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(18):5300
- [15] Balkwill F. Cancer and the chemokine network[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(7):540
- [16] Zhang L, Yeager H, Das B, et al. Tissue microenvironment modulates CXCR4 expression and tumor metastasis in neuroblastoma[J]. *Neoplasia*, 2007, 9(1):36
- [17] Klein S, Abraham M, Bulvik B, et al. CXCR4 promotes neuroblastoma growth and therapeutic resistance through miR-15a/16-1-Mediated ERK and BCL2/cyclin D1 pathways[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(6):1471
- [18] Gross N, Meier R. Chemokines in neuroectodermal cancers: the crucial growth signal from the soil[J]. *Semin Cancer Biol*, 2009, 19(2):103
- [19] Ulrich H, Ratajczak M Z, Schneider G, et al. Kinin and purine signaling contributes to neuroblastoma metastasis[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:500
- [20] Ma M, Ye J Y, Deng R, et al. Mesenchymal stromal cells May enhance metastasis of neuroblastoma via SDF-1/CXCR4 and SDF-1/CXCR7 signaling[J]. *Cancer Lett*, 2011, 312(1):1
- [21] Raffaghelli L, Cocco C, Corrias M V, et al. Chemokines in neuroectodermal tumour progression and metastasis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2009, 19(2):97
- [22] Sanz-Rodríguez F, Hidalgo A, Teixidó J. Chemokine stromal cell-derived factor-1 α modulates VLA-4 integrin-mediated multiple myeloma cell adhesion to CS-1/fibronectin and VCAM-1[J]. *Blood*, 2001, 97(2):346

(2020-11-26 收稿)

(上接第 258 页)

- thoracic duct at the jugulo-subclavian junction[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 1999, 27(2):100
- [6] 李正江,唐平章. 颈廓清术后乳糜瘘的治疗及预防[J]. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 1998, 33(4):52
 - [7] 杜梅红,张小路,杨中杰. 胰腺实性假乳头状瘤 7 例 CT 分析[J]. *中国肿瘤外科杂志*, 2015, 7(5):301
 - [8] 孙韶龙,高峰,吴鑫,等. 甲状腺癌颈廓清术后乳糜瘘的治疗体会[J]. *现代肿瘤医学*, 2014, 22(9):2056
 - [9] Roh J L, Kim D H, Il Park C. Prospective identification of chyle leakage in patients undergoing lateral neck dissection for metastatic thyroid cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(2):424
 - [10] 彭江涛,杨可,张旭. 分化型甲状腺癌颈淋巴结清扫范围分析[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2014, 28(8):784

- [11] Belloso A, Saravanan K, De Carpentier J. The community management of chylous fistula using a pancreatic lipase inhibitor (orlistat)[J]. *Laryngoscope*, 2006, 116(10):1934
- [12] Polistena A, Vannucci J, Monacelli M, et al. Thoracic duct lesions in thyroid surgery: an update on diagnosis, treatment and prevention based on a cohort study[J]. *Int J Surg*, 2016, 28(Suppl 1):S33
- [13] Santaolalla F, Anta J A, Zabala A, et al. Management of chylous fistula as a complication of neck dissection: a 10-year retrospective review[J]. *Eur J Cancer Care (Engl)*, 2010, 19(4):510
- [14] Evans J, Clark M F, Mincher L, et al. Chylous effusions complicating lymphoma: a serious event with octreotide as a treatment option[J]. *Hematol Oncol*, 2003, 21(2):77

(2020-11-06 收稿)