

# 乙酰肝素酶与肿瘤研究进展

岳振宇<sup>1,2</sup>, 宋永喜<sup>1</sup>, 王振宁<sup>1</sup>

(1. 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科, 普外教研室胃肠肿瘤外科, 沈阳 110001;

5 2. 中国医科大学, 沈阳 110001)

**摘要:** 乙酰肝素酶是目前发现唯一能裂解硫酸乙酰肝素蛋白多糖的糖苷内切酶, 能破坏细胞外基质及基底膜, 并参与肿瘤血管生成, 与肿瘤的侵袭转移密切相关。本文综述了乙酰肝素酶的结构与功能, 在肿瘤血管发生和浸润转移中的作用。

**关键词:** 乙酰肝素酶; 血管生成; 浸润; 转移

10 **中图分类号:** R73

## Research Advance of Heparanase And Tumor

YUE Zhenyu<sup>1,2</sup>, SONG Yongxi<sup>1</sup>, WANG Zhenning<sup>1</sup>

(1. Department of Surgical Oncology and General Surgery, The First Hospital of China Medical University, ShenYang 110001;

15 2. China Medical University, ShenYang 110001)

**Abstract:** Heparanase is the only endo-beta -D-glucuronidase which can cleave the heparin sulfate(HS), a side chain linking to heparin sulfate proteoglycans (HSPGs) in extracellular matrix. It play an important role in invasion and metastasis of tumor cell and inducing angiogenesis of tumor. In this view, research on the characteristics of molecular structure, relation of the expression and their roles in the invasion and metastasis of malignant tumor were summarized.

20

**Keywords:** Heparanase; angiogenesis; invasion; metastasis

## 0 引言

25 侵袭和转移是肿瘤的两大基本生物学特征。目前研究认为肿瘤细胞实现侵袭转移, 必须穿越基底膜 (BM) 和细胞外基质 (ECM) 组成的天然屏障。该屏障主要有两种成分构成: 一是结构蛋白, 包括胶原, 层粘连素, 纤维结合素和玻璃体结合素等; 二是糖氨聚糖, 其成分主要是硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (HSPGs), 有一个蛋白核心和数个与之共价连接的线性硫酸乙酰肝素侧链组成<sup>[1]</sup>。大量的细胞外基质蛋白, 生长因子, 细胞因子, 炎症趋化因子等结合在硫酸乙酰肝素上, 并被其调节生物学功能<sup>[2]</sup>。乙酰肝素酶能特异性切割 HS 的侧链, 是目前证实的唯一能降解 HSPG 的内源性葡萄糖醛酸内切酶。

30

## 1 HPA 结构

有关肝素酶的最早报道要追溯到 1975 年, Ogren 等发现在大鼠的肥大细胞中有一种能够切割大分子肝素的内切酶<sup>[3]</sup>。直到 1999 年 Vlodavsky 等 4 个不同的实验室分别独立的纯化了肝素酶, 分离到了肝素酶基因<sup>[4-7]</sup>。

35

肝素酶基因位于人染色体 4q21.3, 约 39kb, 包含 13 个外显子和 12 个内含子, 基因启动子位于 AUG 上游 2.3kb 处。该基因表达 5kb 和 1.7kb mRNA, 但两者含有相同的开放读码框架, 均编码含 543 个氨基酸的蛋白质。根据氨基酸的预测序列, 肝素酶包含一个 N 末端信号肽 (Met1-Ala35), 一个 C 末端疏水区 (Pro515-Lle534), 5 个半胱氨酸残基, 6 个糖

**基金项目:** 国家自然科学基金 (编号: 30972879); 高等学校博士学科点专项科研基金 (编号: 200801590006); 辽宁省自然科学基金, (编号: 20092129) 资助

**作者简介:** 岳振宇, (1984-), 男, 硕士研究生, 胃肠肿瘤基础研究。

**通信联系人:** 王振宁, (1972-), 男, 教授, 博士研究生导师, 胃肠肿瘤基础研究. E-mail: josen826@yahoo.com.cn

40 活化点<sup>[8]</sup>。活性类肝素酶通过多种组织和细胞纯化,发现其 N 端自起始密码子缺乏 156 个氨基酸。研究证明 N 末端区域是表达肝素酶活性所必需的<sup>[5]</sup>。肝素酶的前体蛋白被水解切割掉一段肽链(Ser110-Gln157)后,形成由一个 50kd 亚基(Lys158-Ile543)和一个 8kd(Gln36-Glu109)亚基非共价结合的活性异二聚体,其中 8kd 亚基对酶的活性是必须的<sup>[9]</sup>。

## 2 HPA 的分子生物学特性

45 肝素酶基因 mRNA 在脾脏,淋巴结,胸腺及胎盘等免疫组织中均可检测到,而在其他非免疫组织如心脏,肺脏,肝脏及胰腺等均不表达,但在恶性肿瘤细胞中普遍存在<sup>[10]</sup>。虽然普遍认为 HPA 是一种膜结合蛋白,但实际上仅有少数细胞表面和细胞外检测到 HPA,大部分研究观察到该酶定位于胞浆,在成纤维细胞及肿瘤细胞中位于核周的酸性内涵体和溶酶体中,在中性粒细胞中位于第三颗粒。序列同源性研究和二级结构预测表明 HPA 属于糖基水解酶 A 家族。这个家族水解糖苷键是需要两个关键的残基,一个是质子供体,一个是亲质子供体,两者分别保留于 HPA 的 Glu225 和 Glu343 处<sup>[11]</sup>。HPA 能识别 HS 侧链上的特异位点,将 HS 降解为 10-20 个糖单位大小的短糖链,产生如下效应:(1)降解了 ECM 和 BM (2)释放和激活了结合在 HS 上的生长因子(3)促进尿激酶型纤溶酶原激活物及组织纤溶酶原激活物释放,活化 MMPs<sup>[12]</sup>(4)促进组织中特异的生长因子释放(5)诱导 T 细胞介导的迟发型超敏反应和自身免疫反应(6)激活脂酶,增强脂质代谢<sup>[13]</sup>。HPA 的最适 PH 为 5.0-6.5.在生理 PH 下酶没有活性,还可被胰蛋白酶等酶类降解。

## 3 肝素酶的表达调节

HPA 的表达调节机制和影响因素现在还不十分清楚,但已有部分学者进行了这方面的探索。研究者发现 *HPSE 基因* 的启动子区富含 GC 的重复序列,可受多重调节,很多转录因子都能调节 HPSE 的转录。Jiang 等发现在甲状腺肿瘤细胞中转录因子 Sp1 和 GA 结合蛋白共同结合在最小启动子区的一些位点上调节肝素酶的表达<sup>[14]</sup>。Lu 等在转移的乳腺癌细胞中发现 Ets1 和 Ets2 能调节肝素酶 mRNA 的表达<sup>[15]</sup>。在人膀胱癌和前列腺癌中 EGR1 (属于锌指家族)可影响 HPA mRNA 的表达。而后发现 EGR1 不仅介导了 T 淋巴细胞中 PMA 引起的 HPSE 的表达,也介导了 HPA 在其他肿瘤中的表达<sup>[10]</sup>。在人胃癌组织中发现 NF-kB 的活性和 HPA 的表达量呈正相关,但并没有证实 NF-kB 与 TNFa 引起的 HPA 表达有任何关系<sup>[16]</sup>。在雌激素受体阳性的乳腺癌细胞中雌激素可影响 HPA 的表达<sup>[17]</sup>。在肾上皮细胞中高糖环境可提高 HPA 的表达<sup>[18]</sup>。最近研究表明 HPSE 基因受肿瘤抑制基因 P53 的严格调节,P53 的突变和野生型的活性降低都可引起 HPA 的高表达<sup>[19]</sup>。HPA 的表达还和其启动子区的甲基化水平成负相关。HPA 低表达细胞如果给予甲基化抑制剂可增加 HPA mRNA 的表达,进一步研究认为 HPA 的高表达并不是因为其自身的异常去甲基化作用,而是其他基因或转录因子的反向调节作用<sup>[20]</sup>。

## 4 肝素酶与肿瘤血管发生

75 肿瘤组织无限生长除了癌细胞自身特性外,也有赖于肿瘤组织血管的生成。HSPG 是血管的主要成分,因此 HSPG 的降解酶一直被认为与血管的发生过程密切相关。内皮细胞是血管的重要组成部分,构成了整个血管的内壁,免疫组织化学方法发现在人多种肿瘤组织附近萌芽血管的上皮细胞更容易表达 HPA,而成熟或静止的血管内皮细胞低表达或不表达<sup>[21]</sup>。在多发性骨髓瘤患者中发现 HPA 活性高的患者,其微血管密度要显著高于 HPA 表达活性低

的患者。在体外转染了 HPA 基因的 EB 细胞系，其促血管生成能力增加了 4 倍。Zhao 等发现肝素酶的抑制剂 PI-88 等可以抑制新生血管的形成<sup>[22]</sup>。转染 HPA 特异性 siRNA 的肿瘤细胞，其微血管密度明显低于转染了空载体的对照细胞<sup>[23]</sup>。目前认为肝素酶主要通过以下几种方式发挥作用：在肿瘤细胞生长时 HPA 降解了 ECM 和 BM 这些物理屏障，促进了上皮细胞浸润和转移。同时 HPA 也可不依赖其酶活性而通过 PKB/AKT 途径引发血管生成效应如上皮细胞的粘附，浸润，转移和生存等<sup>[24]</sup>。HS 侧链的降解释放了其上结合的各种生物活性因子，如 FGF 等可诱导肿瘤新生血管的形成。HPA 还上调环氧酶 2 (COX-2) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 两个血管发生的重要调节因子<sup>[25]</sup>。最近还发现 HPA 能增加了多配体蛋白聚糖的合成及其在细胞表面的脱落，多配体蛋白聚糖的脱落区能提高肿瘤血管的生成和肿瘤的生长<sup>[26, 27]</sup>。

## 5 肝素酶与肿瘤转移

研究表明 HPA 在人胃癌<sup>[28,29]</sup>，大肠癌<sup>[30]</sup>，宫颈癌<sup>[31]</sup>，胰腺癌<sup>[32,33]</sup>，肝癌<sup>[34,35]</sup>，前列腺癌<sup>[36,37]</sup>，膀胱癌<sup>[38]</sup>，子宫内膜癌<sup>[39]</sup>，肾细胞癌<sup>[40]</sup>等癌组织中表达水平明显高于对照正常组织，并且其表达水平与肿瘤的恶性程度和转移程度密切相关。除此之外膀胱癌患者的尿液中 HPA 的含量增高，其表达水平和肿瘤恶性程度呈正相关<sup>[41]</sup>。胰腺癌患者血清中随着 HPA 活性升高，预示着更短的生存时间<sup>[42]</sup>。Vlodavsky 等通过载体将 HPA 分别导入无转移潜力的小鼠淋巴瘤细胞系和低转移潜力的黑色素瘤细胞系，结果转染后的细胞系均高表达 HPA，并获得高转移潜能。经裸鼠静脉接种后大体标本和显微镜检查发现转染组有明显肝脏转移<sup>[3]</sup>。Cohen 等将稳定转入 HPA cDNA 的乳腺癌 MCF-7 细胞注入裸鼠乳腺，结果显示表达 HPA 的细胞引起的肿瘤比空载体引起的肿瘤生长快，体积约为后者的 7 倍<sup>[43]</sup>。Edovitsky 设计了鼠 HPA mRNA 特异小干扰 RNA (siRNA) 瞬时转染具有高水平内源性 HPA 活性和高转移特性的鼠 B16 黑色素瘤细胞，结果显示 HPA 基因转录后沉默可以有效抑制鼠 B16 黑色素瘤细胞的侵袭和转移潜能<sup>[23]</sup>。Chen 利用反义核苷酸技术抑制 HPA mRNA 的表达，能显著抑制食管癌的侵袭转移<sup>[44]</sup>。通过抑制肿瘤细胞中 HPA 的表达，可明显降低肿瘤细胞的转移和侵袭能力。这不仅证明 HPA 与肿瘤的侵袭转移相关，还为肿瘤抑制剂的开发和肿瘤的治疗开辟了一条新的途径。

## 6 肝素酶抑制剂

由于 HPA 在肿瘤浸润转移中所起的作用，研究和筛选其抑制剂成为肿瘤治疗的一个新方向。目前发现多种 HPA 的抑制剂，如舒拉明，羟化酚类化合物，低分子量的肝素，富组氨酸糖蛋白，磷酸甘露戊糖硫酸酯 (PI-88) 等<sup>[45]</sup>。他们的作用原理都是直接或间接的减少 HPA 的含量或降低活性，防止 HSPGs 的降解，保护基质的稳定。其中 PI-88 为 HS 类似物，不仅竞争性抑制 HPA 对 HS 的降解，并能阻断生长因子对 HS 的识别和结合，是唯一一个进入临床实验的 HPA 抑制剂，现在正在进行转移黑色素瘤，非小细胞癌，前列腺癌，多发性骨髓瘤为主要应用的临床 II 期试验，拥有良好的临床应用前景。还有学者应用 RNA 干扰技术和寡义核苷酸技术对 HPA 的表达进行抑制。相信不久的将来 HPA 的抑制剂一定会在临床上发挥重要作用。

## 7 问题及展望

综上所述，HPA 与肿瘤的血管发生，浸润和转移密切相关，为人们防治肿瘤提供了一

个新的靶点。HPA 的表达水平可用来联合诊断, 监测病情, 疗效观察, 判断预后和复发 [35.38.46.47.48.49.50]。HPA 的抑制剂可用于临床治疗。但还有很多问题我们知之甚少, 如 HPA 基因的调节, 酶活性的测定, 前体酶的活化, 和其他肿瘤相关蛋白的作用机制? 相信这些问题在不久的将来都会得到深入的研究, 同时也会有更新更有效的抑制剂产生, 会对肿瘤的治疗产生深刻的影响

### [参考文献] (References)

- [1] ECCLES SA. Heparanase: breaking down barriers in tumors[J]. *Nat Med*, 1999,5(7):735-6.
- [2] SALMIVIRTA M, LIDHOLT K, LINDAHL U. Heparan sulfate: a piece of information[J]. *FASEB J*, 1996,10(11):1270-9.
- [3] OGREN S, LINDAHL U. Cleavage of macromolecular heparin by an enzyme from mouse mastocytoma[J]. *J Biol Chem*, 1975,10;250(7):2690-7.
- [4] VLODAVSKY I, FRIEDMANN Y, ELKIN M, et al. Mammalian heparanase: gene cloning, expression and function in tumor progression and metastasis[J]. *Nat Med*, 1999,5(7):793-802
- [5] HULETT MD, FREEMAN C, HAMDORF BJ, et al. Cloning of mammalian heparanase, an important enzyme in tumor invasion and metastasis[J]. *Nat Med*, 1999,5(7):735-6.
- [6] KUSSIE PH, HULMES JD, LUDWIG DL, et al. Cloning and functional expression of a human heparanase gene[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999,261(1):183-7.
- [7] TOYOSHIMA M, NAKAJIMA M. Human heparanase. Purification, characterization, cloning, and expression[J]. *J Biol Chem*, 1999,274(34):24153-60.
- [8] SIMIZU S, ISHIDA K, WIERZBA MK, et al. Secretion of heparanase protein is regulated by glycosylation in human tumor cell lines[J]. *J Biol Chem*. 2004,279(4):2697-703. Epub 2003 Oct 22.
- [9] FAIRBANKS MB, MILDNER AM, LEONE JW, et al. Processing of the human heparanase precursor and evidence that the active enzyme is a heterodimer[J]. *J Biol Chem*, 1999,274(42):29587-90.
- [10] MESTRE AM, RAO S, HORNBY JR, et al. Early growth response gene 1 (EGR1) regulates heparanase gene transcription in tumor cells[J]. *J Biol Chem*, 2005,280(42):35136-47.
- [11] HULETT MD, HORNBY JR, OHMS SJ, et al. Identification of active-site residues of the pro-metastatic endoglycosidase heparanase[J]. *Biochemistry*, 2000,39(51):15659-67.
- [12] PURUSHOTHAMAN A, CHEN L, YANG Y, et al. Heparanase stimulation of protease expression implicates it as a master regulator of the aggressive tumor phenotype in myeloma[J]. *J Biol Chem*, 2008,283(47):32628-36.
- [13] KIM HH, LEE WS, YANG JM, et al. Basic peptide system for efficient delivery of foreign genes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003,1640(2-3):129-36.
- [14] JIANG P, KUMAR A, PARRILLO JE, et al. Cloning and characterization of the human heparanase-1 (HPR1) gene promoter: role of GA-binding protein and Sp1 in regulating HPR1 basal promoter activity[J]. *Diabetes*, 2005,54(7):2172-8.
- [15] LU WC, LIU YN, KANG BB, et al. Trans-activation of heparanase promoter by ETS transcription factors[J]. *Oncogene*, 2003,22(6):919-23.
- [16] CAO HJ, FANG Y, ZHANG X, et al. Tumor metastasis and the reciprocal regulation of heparanase gene expression by nuclear factor kappa B in human gastric carcinoma tissue[J]. *World J Gastroenterol*, 2005,11(6):903-7.
- [17] ELKIN M, COHEN I, ZCHARIA E, et al. Regulation of heparanase gene expression by estrogen in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2003,63(24):8821-6.
- [18] MAXHIMER JB, SOMENEK M, RAO G, et al. Heparanase-1 gene expression and regulation by high glucose in renal epithelial cells: a potential role in the pathogenesis of proteinuria in diabetic patients[J]. *Diabetes*, 2005,54(7):2172-8.
- [19] BARAZ L, HAUPT Y, ELKIN M, et al. Tumor suppressor p53 regulates heparanase gene expression[J]. *Oncogene*, 2006,25(28):3939-47.
- [20] OGISHIMA T, SHIINA H, BREAUJT JE, et al. Promoter CpG hypomethylation and transcription factor EGR1 hyperactivate heparanase expression in bladder cancer[J]. *Oncogene*, 2005,24(45):6765-72.
- [21] ELKIN M, ILAN N, ISHAI-MICHAELI R, et al. Heparanase as mediator of angiogenesis: mode of action[J]. *FASEB J*, 2001,15(9):1661-3.
- [22] ZHAO H, LIU H, CHEN Y, et al. Oligomannurinate sulfate, a novel heparanase inhibitor simultaneously targeting basic fibroblast growth factor, combats tumor angiogenesis and metastasis[J]. *Cancer Res*, 2006,66(17):8779-87.
- [23] EDOVITSKY E, ELKIN M, ZCHARIA E, et al. Heparanase gene silencing, tumor invasiveness, angiogenesis, and metastasis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004,96(16):1194-5.
- [24] GINGIS-VELITSKI S, ZETSER A, FLUGELMAN MY, et al. Heparanase induces endothelial cell migration via protein kinase B/Akt activation[J]. *J Biol Chem*, 2004,279(22):23536-41.
- [25] COHEN-KAPLAN V, NARODITSKY I, ZETSER A, et al. Heparanase induces VEGF C and facilitates tumor lymphangiogenesis[J]. *Int J Cancer*, 2008,123(11):2566-73.
- [26] SANDERSON RD, YANG Y, SUVA LJ, et al. Heparan sulfate proteoglycans and heparanase--partners in

- osteolytic tumor growth and metastasis[J]. *Matrix Biol*, 2004,23(6):341-52.
- [27] YANG Y, MACLEOD V, MIAO HQ, et al. Heparanase enhances syndecan-1 shedding: a novel mechanism for stimulation of tumor growth and metastasis[J]. *J Biol Chem*, 2007,282(18):13326-33.
- 180 [28] WANG Z, Xu H, JIANG L, et al. Positive association of heparanase expression with tumor invasion and lymphatic metastasis in gastric carcinoma[J]. *Mod Pathol*, 2005,18(2):205-11.
- [29] TANG W, NAKAMURA Y, TSUJIMOTO M, et al. Heparanase: a key enzyme in invasion and metastasis of gastric carcinoma[J]. *Mod Pathol*, 2002,15(6):593-8.
- 185 [30] SATO T, YAMAGUCHI A, GOI T, et al. Heparanase expression in human colorectal cancer and its relationship to tumor angiogenesis, hematogenous metastasis, and prognosis[J]. *J Surg Oncol*, 2004,87(4):174-81.
- [31] SHINYO Y, KODAMA J, HONGO A, et al. Heparanase expression is an independent prognostic factor in patients with invasive cervical cancer[J]. *Ann Oncol*, 2003,14(10):1505-10.
- [32] KOLIOPANOS A, FRIESS H, KLEEFF J, et al. Heparanase expression in primary and metastatic pancreatic cancer[J]. *Cancer Res*, 2001,61(12):4655-9.
- 190 [33] HOFFMANN AC, MORI R, VALLBOHMER D, et al. High expression of heparanase is significantly associated with dedifferentiation and lymph node metastasis in patients with pancreatic ductal adenocarcinomas and correlated to PDGFA and via HIF1a to HB-EGF and bFGF[J]. *J Gastrointest Surg*, 2008,12(10):1674-81; discussion 1681-2.
- [34] LIU YB, GAO SL, CHEN XP, et al. Expression and significance of heparanase and nm23-H1 in hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2005,11(9):1378-81
- 195 [35] CHEN G, DANG YW, LUO DZ, et al. Expression of heparanase in hepatocellular carcinoma has prognostic significance: a tissue microarray study[J]. *Oncol Res*, 2008,17(4):183-9.
- [36] OGISHIMA T, SHIINA H, BREAUULT JE, et al. Increased heparanase expression is caused by promoter hypomethylation and up-regulation of transcriptional factor early growth response-1 in human prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2005,11(3):1028-36.
- 200 [37] GOHJI K, OKANOTO M, KITAZAWA S, et al. Heparanase protein and gene expression in bladder cancer[J]. *J Urol*, 2001,166(4):1286-90
- [38] LERNER I, BARAZ L, PIKARSKY E, et al. Clinical significance of urine heparanase in bladder cancer progression[J]. *Clin Cancer Res*, 2008,14(3):668-76.
- 205 [39] INAMINE M, NAGAI Y, HIRAKAWA M, et al. Heparanase expression in endometrial cancer: analysis of immunohistochemistry[J]. *J Obstet Gynaecol*. 2008,28(6):634-7
- [40] SHAFAT I, PODE D, PERETZ T, et al. Clinical significance of urine heparanase in bladder cancer progression[J]. *Neoplasia*, 2008,10(2):125-30.
- 210 [41] MIKAMI S, OYA M, SHIMODA M, et al. Expression of heparanase in renal cell carcinomas: implications for tumor invasion and prognosis[J]. *Clin Cancer Res*, 2008,14(19):6055-61.
- [42] QUIROS RM, RAO G, PLATE J, et al. Elevated serum heparanase-1 levels in patients with pancreatic carcinoma are associated with poor survival[J]. *Cancer*, 2006,106(3):532-40.
- [43] COHEN I, PAPPO O, ELKIN M, et al. Heparanase promotes growth, angiogenesis and survival of primary breast tumors[J]. *Int J Cancer*, 2006,118(7):1609-17.
- 215 [44] DOVINER V, MALY B, REINHARTZ T, et al. Heparanase expression: a potential ancillary diagnostic tool for distinguishing between malignant cells and reactive mesothelium in body cavity effusions[J]. *Cytopathology*, 2007,18(1):13-9.
- [45] CHEN KS, ZHANG L, TANG L, et al. Expression of heparanase mRNA in anti-sense oligonucleotide-transfected human esophageal cancer EC9706 cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2005,11(31):4916-7.
- 220 [46] BEN-IZHAK O, KAPLAN-COHEN V, ILAN N, et al. Heparanase expression in malignant salivary gland tumors inversely correlates with long-term survival[J]. *Neoplasia*, 2006,8(10):879-84.
- [47] MCKENZIE EA. Heparanase: a target for drug discovery in cancer and inflammation[J]. *Br J Pharmacol*, 2007,151(1):1-14.
- 225 [48] NAGLER R, BEN-IZHAK O, COHEN-Kaplan V, et al. Heparanase up-regulation in tongue cancer: tissue and saliva analysis[J]. *Cancer*, 2007,110(12):2732-9.
- [49] SHAFAT I, BARAK AB, POSTOVSKY S, et al. Heparanase levels are elevated in the plasma of pediatric cancer patients and correlate with response to anticancer treatment[J]. *Neoplasia*, 2007,9(11):909-16.
- 230 [50] DAVIDSON B, SHAFAT I, RISBERG B, et al. Heparanase expression correlates with poor survival in metastatic ovarian carcinoma[J]. *Gynecol Oncol*, 2007,104(2):311-9.