

· 基础研究 ·

## 重组血小板衍生生长因子 CC 促静脉血栓溶解、机化、再通的实验研究

李 炯<sup>1</sup>, 杨 檬<sup>1</sup>, 罗文军<sup>2</sup>, 唐 博<sup>2</sup>, 李 锋<sup>2</sup>, 金真云<sup>3△</sup>

(1. 重庆市渝北区人民医院心胸血管外科 401120; 2. 重庆医科大学附属第二医院血管外科 400010;

3. 重庆市綦江区人民医院心胸血管外科 401420)

**摘要:**目的 探讨重组血小板衍生生长因子 CC(PDGF-CC)对静脉血栓溶解、机化和再通过程的影响。方法 建立大鼠下腔静脉血栓模型,将 40 只雄性 SD 大鼠随机分为 A、B、C、D 4 组,建模后 24 h A 组大鼠注射生理盐水 100 mL, B、C、D 组大鼠直接静脉腔内注射不同剂量重组 PDGF-CC(B 组:100 ng/100  $\mu$ L, C 组:200 ng/100  $\mu$ L, D 组:500 ng/100  $\mu$ L), 每组注射量均为 100  $\mu$ L。7 d 后获取下腔静脉血栓标本, Western blot 检测血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达变化, vWF 免疫组织化学染色分辨血栓切片中阳性细胞的类型。图像分析系统采集并分析切片 HE 染色后静脉管腔面积及血栓面积, 计算溶解率。Masson 染色评价血栓中胶原纤维和细胞外基质面积, 以及新生毛细血管数量, 评价血栓机化、再通情况。结果 成功建立大鼠下腔静脉血栓模型, PDGF-CC 注射后第 7 天 Western blot 测定结果表明各组 VEGF 蛋白均有表达, 但 C、D 组较 B 组表达明显上调, B 组较 A 组表达明显上调。vWF 免疫组织化学染色结果显示阳性细胞类型为血管内皮细胞, 证实存在新生血管形成。切片 HE 染色及 Masson 染色结果显示 C、D 组较其他组血栓溶解更加广泛, 血栓机化率较其他组显著提高, 同时 B 组血栓溶解再通机化率高于 A 组。结论 重组 PDGF-CC 可以通过促血管新生途径显著加快静脉血栓溶解、机化和再通过程。

**关键词:**血小板衍生生长因子 CC; 静脉血栓; 溶解; 机化; 再通

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.24.022

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)24-2877-04

## Effects of recombinant platelet-derived growth factor CC on resolution, organization and recanalization of venous thrombus

Li Jiong<sup>1</sup>, Yang Meng<sup>1</sup>, Luo Wenjun<sup>2</sup>, Tang Bo<sup>2</sup>, Li Feng<sup>2</sup>, Jin Zhenyun<sup>3△</sup>

(1. Department of Cardiothoracic and Vascular Surgery, the People's Hospital of Yubei District, Chongqing, 401120, China;

2. Department of Vascular Surgery, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China;

3. Department of Cardiothoracic and Vascular Surgery, the People's Hospital of QiJiang District, Chongqing 401420, China)

**Abstract: Objective** This study aimed to investigate whether platelet-derived growth factor CC could enhance resolution, organization and recanalization of venous thrombus. **Methods** The experimental models of deep vein thrombosis in rats were induced as previously described and modified. The rats were randomly divided into four groups according to the dose of PDGF-CC (Group A: 0 ng/100  $\mu$ L; Group B: 100 ng/100  $\mu$ L; Group C: 200 ng/100  $\mu$ L and Group D: 500 ng/100  $\mu$ L). The samples were obtained at 7 days after operation and the expressions of protein VEGF were detected by Western blot analysis, respectively. Immunohistochemical staining was used to observe the types of the positive cells expressing vWF in thrombus sections. HE staining and Masson staining were used to analyze the area of resolution and organization in venous thrombi. The capillary number was analyzed quantitatively by high-power microscope. The area of thrombus and collagen fiber in each section were measured and analyzed with image analysis software. **Results** Animal models of venous thrombogenesis were performed successfully. The data of Western blot analysis demonstrated that the expressions of VEGF protein were significantly increased in group C and D than group B and A, which were no statistical significance between group C and group D at day 7 after operation. The positive cells of expressing vWF mostly located in the thrombus border and venous wall and the types of the positive cells by immunohistochemical staining were ECs. The resolution rates, organization rates and recanalization capillary numbers were significantly higher in group C and D than those in group B and A, and those in group B were higher than those in group A. **Conclusion** PDGF-CC could enhance resolution, organization and recanalization of vein thrombi effectively through therapeutic angiogenesis pathway, which provides a novel strategy for gene therapy of venous thromboembolism disease.

**Key words:** platelet-derived growth factor CC; venous thrombus; resolution; organization; recanalization

深静脉血栓形成(deep vein thrombosis, DVT)是血管外科的常见疾病,是由于基因缺陷导致血液成分、血流动力学和血管壁三者功能失衡所致,不但严重影响患者的生活,甚至可能威胁患者的生命。国内外治疗静脉血栓的方法主要是抗凝、溶栓和祛聚治疗,但这些非手术方式均存在不同程度的局限性,使得机体内静脉血栓的最终溶解吸收主要依赖于自身极其缓慢的自然纤溶机制,因此,临床上迫切需要更高效、迅速的,能加快血栓溶解、机化、再通技术来治疗这类疾病。

研究表明血栓溶解过程和创伤愈合过程类似,都伴随有静

脉壁的炎症反应,各种炎症细胞的浸润及新生毛细血管的形成。目前,已证实新生的血管能够对血栓溶解产生显著影响,促进血管新生可以加速血栓的溶解、机化和再通<sup>[1]</sup>。血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)是参与血栓溶解、机化、再通的多种因子之一。PDGF-C 是 PDGF 家族的新成员,其在体内的活性形式是 PDGF-CC<sup>[2]</sup>。大量研究表明,PDGF 对内皮细胞迁移和增生有重要作用。但目前关于 PDGF-CC 与血栓疾病的直接关系的研究仍较少。本实验将探讨重组 PDGF-CC 是否能通过促血管新生作用加速静脉血栓

溶解、机化和再通过程,为临床治疗 DVT 开辟新的治疗思路。

## 1 材料与与方法

**1.1 实验动物及试剂** 雄性 SD 大鼠 40 只,体质量 280.43~320.98 g,平均 309.43 g,由重庆医科大学实验动物中心提供及代养,并符合重庆医科大学实验动物管理委员会制订的实验动物管理要求。试剂:重组 PDGF-CC 因子购自美国 PEPRO-TECH 公司,VEGF 多克隆抗体,vWF 免疫组织化学试剂盒,ECL 化学发光试剂盒均购自 Santa Cruz 公司,考马斯亮兰蛋白定量试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

## 1.2 方法

**1.2.1 下腔静脉血栓模型的建立** 参照文献[3-4]的方法并加以改进。配制 10% 水合氯醛,按照 3 mL/kg 剂量行腹腔麻醉。麻醉生效后,SD 大鼠取仰卧位,四肢外展固定,腹部备皮,并消毒铺巾。取腹正中切口,长约 5 cm。进腹后将肠管向左上方推移并用纱布隔开,充分暴露手术区。打开右侧后腹膜,首先结扎右侧腰静脉,分离并显露右肾静脉及以下下腔静脉,结扎下腔静脉后方各属支。其次打开左侧后腹膜,结扎左侧腰静脉,完全游离左肾静脉开口以下下腔静脉直至双侧髂静脉汇合处,并结扎下腔静脉各属支。顺下腔静脉放置 BD 公司 26 G 针头于静脉侧方,4-0 丝线于左肾静脉下方穿过,并将下腔静脉和针头一同结扎,结扎后缓慢回退 26 G 针头,致使下腔静脉管腔狭窄 90% 以上。微神经血管钳于结扎线下方钳夹下腔静脉壁 60 s,松开 30 s,不同部位各重复 2 次,待血管颜色由暗红色变为暗黑色,观察见血管腔有血块形成后关闭腹腔。术后大鼠单笼饲养。

## 1.2.2 实验动物分组及因子注射

**1.2.2.1 实验大鼠共 40 只,随机分为 4 组,每组 10 只,具体如下:**A 组:注射生理盐水;B 组:PDGF-CC 因子浓度为 100 ng/100  $\mu$ L;C 组:PDGF-CC 因子浓度为 200 ng/100  $\mu$ L;D 组:PDGF-CC 因子浓度为 500 ng/100  $\mu$ L,每组注射量均为 100  $\mu$ L。

**1.2.2.2 实验液注射** 血栓模型建立后 24 h,同法采用水合氯醛腹腔麻醉,麻醉生效后,沿原正中切口进腹,分离手术粘连后,显露结扎线下方约 3 cm 下腔静脉段,按照实验分组要求于静脉前壁,采用 BD 微量注射器直接穿刺血管壁腔内注射 100  $\mu$ L 实验液,注射完毕,棉签局部加压止血,确认止血完毕,理顺小肠,缝合腹腔,分笼饲养。

## 1.2.3 Western blot 检测血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达

**1.2.3.1 标本获取** 重组 PDGF-CC 注射术后第 7 天,分别取 A、B、C、D 组实验大鼠各 3 只,10% 水合氯醛腹腔麻醉后,取腹壁“U”形切口,充分显露腹腔,分离下腔静脉周围各粘连,取结扎线至髂静脉汇入部间下腔静脉段标本,置于液氮保存。

**1.2.3.2 Western blot 检测蛋白** 检测时将每组组织标本混合,等比匀浆后,各匀浆液加入 Loading buffer 裂解细胞,收集细胞裂解液煮沸 5 min,冰上放置 5 min,12 000 r 离心 2 min,上清分装后于 -20  $^{\circ}$ C 储存。行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),制胶,上样,电泳,转印,杂交,ECL 显色。反复进行 3 次 Western blot 检测。将胶片图像扫描入计算机,用凝胶分析软件 Quantity One 图像处理系统进行分析,按图像的光密度进行半定量,每次结果以内参(GAPDH)光密度值为参照,其他组条带灰度与 GAPDH 光密度值之比作为其相对值。

**1.2.4 组织学分析** 取 A、B、C、D 组术后第 7 天实验大鼠各 7 只,同前法取结扎线至髂静脉汇入段间下腔静脉血栓标本。每组大鼠各取 1 只行血栓模型大体观察,各组剩余 6 只行组织

学分析,各组标本切片后行 vWF 免疫组织化学染色,显微镜下观察分析阳性细胞类型。各组标本切片 HE 染色后采用医学图像分析系统随机截取 40 倍视野中血栓图像,根据测定的血栓面积及管腔面积,计算血栓收缩面积占管腔面积的百分比,即血栓溶解率=(管腔面积-血栓面积)/管腔面积 $\times$ 100%,分析血栓溶解情况。切片 Masson 染色后,红细胞及其他细胞胞质染成红色,而胶原纤维、细胞外基质及血管壁染成蓝色,细胞核为黑色。采用医学图像分析系统,根据胶原纤维及细胞外基质染色结果计算血栓机化率,同时每张切片随机计数 5 个高倍镜视野下毛细血管数量,分析新生血管情况。

**1.3 统计学处理** 用 SPSS12.0 统计软件进行分析,实验数据均以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用方差及 One-Way ANOVA 分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 动物一般情况** 40 只大鼠,术后无死亡,造模成功率 100%。实验大鼠术后 24 h 剖腹大体观察,可见左肾静脉以下结扎线至髂静脉汇合部间下腔静脉充盈,颜色呈暗黑色,张力高,内被实质性血栓填满(图 1)。切开静脉前壁,见其内血栓呈圆柱状,结构完整(图 2),体质量(72.42 $\pm$ 20.23)mg,长度(8.39 $\pm$ 2.15)mm,证实大鼠下腔静脉血栓模型的成功建立。



图 1 大鼠下腔静脉血栓模型的建立

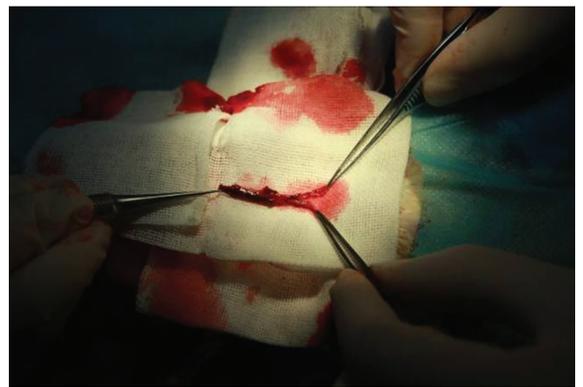


图 2 大鼠下腔静脉内可见大量血栓

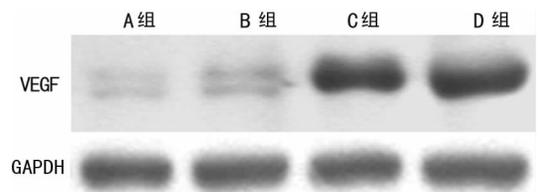


图 3 VEGF 蛋白 Western blot 检测结果

**2.2 各组 VEGF 蛋白表达比较** 统计结果显示 C、D 组 VEGF 蛋白表达较 B 组明显上调,B 组较 A 组有上调,光密度

检测值结果显示 C、D 组光密度值明显高于 A、B 组 ( $P < 0.05$ ), 同时 B 组又明显高于 A 组 ( $P < 0.05$ ), C、D 两组之间蛋白表达水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 3、表 1。

2.3 组织学染色分析

表 1 VEGF 蛋白 Western blot 检测光密度值 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	光密度值
A 组	10	0.039 ± 0.005
B 组	10	0.199 ± 0.664 <sup>#</sup>
C 组	10	1.562 ± 0.432 <sup>*</sup>
D 组	10	1.661 ± 0.464 <sup>*</sup>

\*:  $P < 0.05$ , 与 A、B 组比较; #:  $P < 0.05$ , 与 A 组比较。

2.3.1 vWF 免疫组织化学染色结果 切片 vWF 免疫组织化

学染色结果显示(图 4), vWF 阳性细胞的细胞质呈棕黄色, 阳性细胞类型以血管内皮细胞多见, 多位于血栓体的边缘、血栓体与血管壁间隙区域以及部分血管壁。

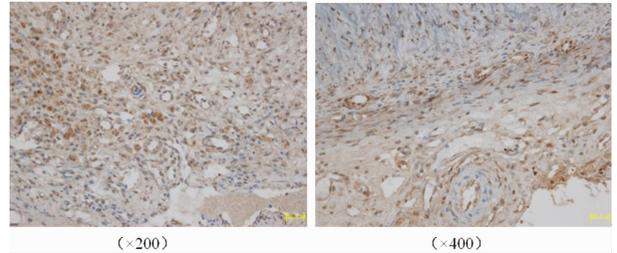


图 4 术后第 7 天 vWF 免疫组织化学染色结果

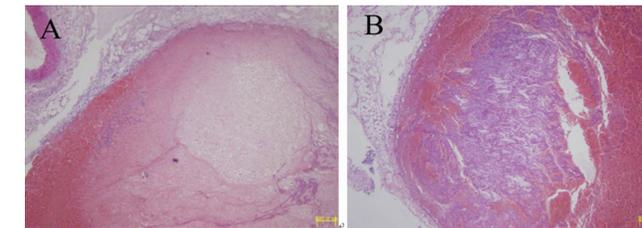
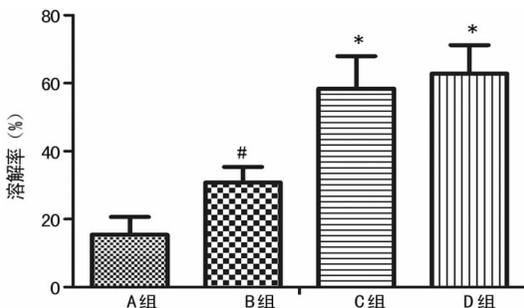


图 5 术后第 7 天各组血栓 HE 染色结果



\*:  $P < 0.05$ , 与 A、B 组比较; #:  $P < 0.01$ , 与 A 组比较。

图 6 术后第 7 天, 各组下腔静脉标本血栓溶解率

2.3.2 HE 染色结果 HE 染色可见下腔静脉内大量血栓形成, 血栓形成初期为大量红细胞填充, 而随着时间的推移, 血栓开始机化, 部分血栓收缩, 肉芽组织开始长入, 血栓边缘炎性细胞

浸润。术后第 7 天各组间比较(图 5), C、D 组下腔静脉血栓皱缩明显, 血栓与血管壁间间隙增宽, 血管壁和血栓间炎性细胞浸润明显增多, 血栓溶解更加广泛, 血栓溶解率与 A、B 组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。同时 B 组血栓溶解再通机化率又高于 A 组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 而 C、D 两组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 6。

2.3.3 Masson 染色结果 术后第 7 天, Masson 染色可见 C、D 组下腔静脉内血栓肉芽组织形成明显, 血栓机化广泛, 可见新生血管出现于血栓边缘区域, 而 B 组肉芽组织较少, 胶原纤维水平较低, 新生血管少见(图 7), C、D 组血栓机化率及新生毛细血管数与 A、B 组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。同时 B 组血栓机化率及新生毛细血管数又高于 A 组, 差异有显著性 ( $P < 0.01$ ), 而 C、D 两组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 8~9。

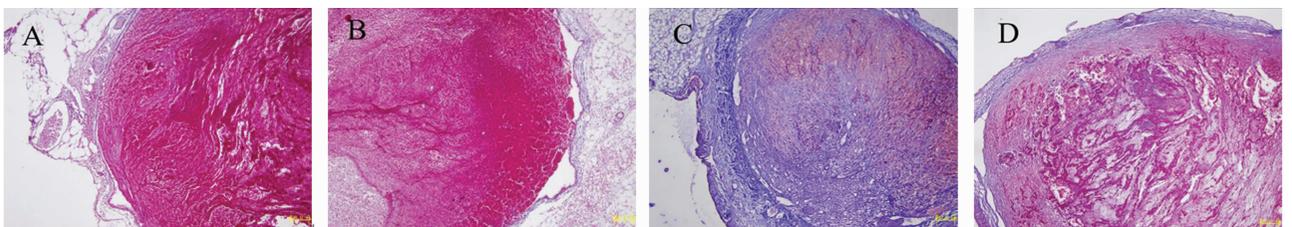
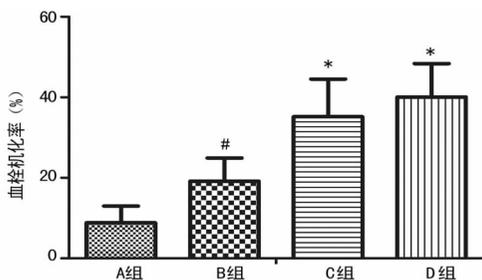
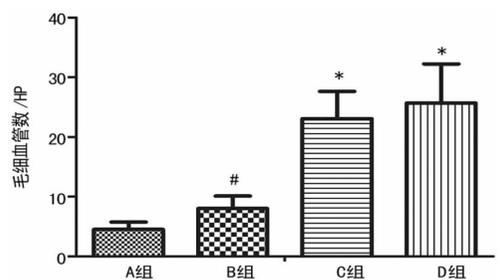


图 7 术后第 7 天各组血栓 Masson 染色结果



\*:  $P < 0.05$ , 与 A、B 组比较; #:  $P < 0.01$ , 与 A 组比较。

图 8 术后第 7 天各组下腔静脉标本血栓机化率



\*:  $P < 0.05$ , 与 A、B 组比较; #:  $P < 0.01$ , 与 A 组比较。

图 9 术后第 7 天各组下腔静脉标本毛细血管数量测定

### 3 讨 论

目前,深静脉血栓的治疗主要是非手术治疗为主,包括抗凝、溶栓和祛聚治疗,其历史已有 40 多年。抗凝治疗对已形成血栓无溶解作用,而溶栓治疗能够快速溶解血栓,更有效地纠正血液流变学改变,一度被认为是治疗该病的一种理想的治疗选择,但在溶栓药物、用量及途径等许多细节问题上仍有争议,同时加大溶栓剂量有引起大出血的风险<sup>[5]</sup>。使得机体内静脉血栓的最终溶解吸收主要依赖于自身极其缓慢的自然纤溶机制,因此,临床上迫切需要更高效、迅速的加快血栓溶解、机化、再通技术来治疗这类疾病。

新近研究表明,机体在缺血、缺氧或闭塞等生理或病理状态下可以产生新生血管来增加侧支循环、改善组织缺血及促进血管再通<sup>[6]</sup>,这一过程被称为血管闭塞性疾病的“分子搭桥术”或“生物搭桥术”。其原理是在 VEGF、表皮生长因子(EGF)、肝细胞生长因子(HGF)、碱性成纤维生长因子(bFGF)、PDGF 等多种细胞因子作用下,诱导内皮祖细胞(EPCs)、成纤维细胞等有分化潜能的干细胞,向血栓内增殖、迁移,分化成成熟血管内皮细胞并形成新生血管的过程。

PDGF 是贮存于血小板  $\alpha$  颗粒中的一种碱性蛋白质,是低分子量促细胞分裂素,能刺激停滞于  $G_0/G_1$  期的成纤维细胞、神经胶质细胞、平滑肌细胞等多种细胞进入分裂增殖周期,它是正常组织生长和维持的重要生长因子,其过度表达与多种疾病,如肿瘤、糖尿病、纤维化疾病和动脉粥样硬化等有密切的关系<sup>[7-9]</sup>。PDGF 家族包括 4 个成员:PDGF-A、PDGF-B、PDGF-C、PDGF-D。目前,已有大量证据表明 PDGFs 对于内皮细胞和平滑肌细胞有重要作用<sup>[10]</sup>。动物模型研究也表明 PDGF 或其受体的特异性阻滞剂能够抑制内膜增生,这些结果间接说明了 PDGFs 对内皮细胞有强烈的迁移和增生作用<sup>[11]</sup>。根据 Li 等<sup>[12]</sup>的最新研究,PDGF 家族的 PDGF-CC 可以刺激血管新生和成熟,促进缺血组织的血运重建,促进内皮细胞的迁移与血管萌发。

本研究主要探讨重组 PDGF-CC 是否能通过诱导新生血管形成和成熟,促进血运重建,从而促进大鼠的深静脉血栓的溶解、机化和再通作用。首先,作者在大鼠下腔静脉血栓模型的建立方案中,未采用其他学者提出的下腔静脉结扎、彩超定位下腔静脉缩窄、腔内注射凝血酶等方法,而是采用了 Modarai 等<sup>[3]</sup>描述的下腔静脉缩窄联合静脉壁机械性损伤的方法并加以改进,因为这更符合 Virchow 提出的静脉血流滞缓、静脉壁的损伤、血液高凝状态 3 大因素,更能准确地模拟人体内血栓形成的自然过程。经过大体观察及组织学切片分析,结果显示所有大鼠下腔静脉血栓模型都成功建立,而且麻醉满意,所需仪器及器械条件要求低、操作方法简便、血栓形成稳定,大鼠死亡率极低,为后续开展静脉血栓相关研究工作做好铺垫。

VEGF 的 Western blot 检测结果表明注射 PDGF-CC 后,静脉壁及血栓内的 VEGF 蛋白表达上调,C、D 组对 VEGF 引起的上调程度相近,无明显差异性,其原因可能为 PDGF-CC 的受体饱和加大剂量并不能产生更强的生物学效应,而 B 组上调降低,而 A 组几乎没有上调。提示 PDGF-CC 能引起 VEGF 蛋白水平的上调,这与 Banfi 等<sup>[13]</sup>学者的研究结果一致。

重组 PDGF-CC 注射后第 7 天取下腔静脉血栓标本行 HE 染色,可见下腔静脉内大量血栓形成,血栓形成初期为大量红细胞填充。随着时间推移,血栓开始机化过程,部分血栓收缩,肉芽组织开始长入,血栓边缘炎性细胞浸润。Masson 染色可

见 C、D 组下腔静脉内血栓肉芽组织形成明显,血栓机化广泛,可见新生血管出现于血栓边缘区域,而 B 组肉芽组织较少,胶原纤维水平较低,新生血管少见,血栓机化率与其他各组比较差异有统计学意义。

下腔静脉、血栓标本 HE 染色及 vWF 免疫组化染色结果显示注射重组 PDGF-CC 因子后,C、D 组血栓溶解机化再通率比 A、B 组明显升高。根据上述基因表达和病理检查的结果,可以得出结论:(1)采用下腔静脉缩窄联合静脉壁机械性损伤能成功建立稳定的大鼠下腔静脉血栓模型;(2)Western blot 检测结果表明因子注射之后 7 d 时 VEGF 表达明显上调,提示 PDGF-CC 可能通过 VEGF 起作用;(3)PDGF-CC 免疫组化化学结果显示阳性细胞主要为血管内皮细胞,证实新生管道为血管;(4)HE 染色结果显示 C、D 组血栓溶解广泛,血栓与血管壁间间隙明显增宽,血栓溶解率显著高于其他各组;(5)Masson 染色结果显示 C、D 组血栓中胶原纤维明显增多,血栓机化明显,血栓机化率和毛细血管数量均显著高于其他各组;(6)重组 PDGF-CC 对血栓溶解机化再通有良好的促进作用。

作者推测 PDGF-CC 促血栓溶解的可能机制:(1)外源性 PDGF-CC 蛋白在局部发挥其自身的生物学特性,如与 PDGF-R $\alpha$  受体结合促进内皮细胞增殖迁移,促进 EPCs 在血栓局部更有效地形成新生血管;(2)VEGF 是 EPCs 重要的趋化因子,注射重组 PDGF-CC 后,PDGF-CC 能够通过某种途径导致 VEGF 蛋白水平上调,使血栓内 VEGF 局部浓度增高,募集更多 EPCs 到达血栓区,替代更新内皮细胞,长成新生血管,这与姜坤等<sup>[14]</sup>学者的研究结果一致。另有学者证实 PDGF-CC 会引起基质金属蛋白酶(MMP)的上调<sup>[15]</sup>,提示 PDGF-CC 的作用可能是多种途径;(3)VEGF 上调能更好地动员骨髓里的成血、血管干细胞,进而分化成 EPCs,并进入外周血循环,在血栓局部的血管生成处分化成血管内皮细胞。

### 参考文献:

- [1] Leistner DM, Fischer-Rasokat U, Honold J, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction(TOPCARE-AMI): final 5-year results suggest long-term safety and efficacy [J]. *Clin Res Cardiol*, 2011, 100(10): 925-934.
- [2] Lei H, Kazlauskas A. Focus on molecules: platelet-derived growth factor C (PDGF-C) [J]. *Exp Eye Res*, 2008, 86(5): 711-712.
- [3] Modarai B, Burnand KG, Sawyer B, et al. Endothelial progenitor cells are recruited into resolving venous thrombi [J]. *Circulation*, 2005, 111(20): 2645-2653.
- [4] McGuinness CL, Humphries J, Waltham M, et al. Recruitment of labeled monocytes by experimental venous thrombi [J]. *Thromb Haemost*, 2001, 85(6): 1018-1024.
- [5] Recto MR, Doyle S, Massicotte MP, et al. Right pulmonary artery thrombosis after hybrid stage 1 palliation: resolution after direct tissue plasminogen activator infusion [J]. *Pediatr Cardiol*, 2012, 31(1): 106-109.
- [6] Aghourian MN, Lemarié CA, Blostein MD. In vivo monitoring of venous thrombosis in mice [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(3): 447-452.
- [7] Suzuki H, Usui I, Kato I. Deletion of platelet-derived growth factor receptor- $\beta$  improves diabetic(下转第 2883 页)

因此,本研究试图发现 miR-92b 是否参与了胶质瘤干细胞的分化过程,从而将其纳入胶质瘤治疗的靶标。本研究首次发现,SHG-44 胶质瘤细胞中存在部分肿瘤干细胞,经过特异培养基的筛选,可使其中的干细胞快速增殖,以球状生长,并表现干细胞特异的表面抗原。干细胞以含血清培养基诱导后,可以分化为胶质瘤细胞,并表达胶质细胞或神经元细胞的特异性表面抗原。胶质瘤干细胞分化后的 miR-92b 基因前体表达水平提高,说明 miR-92b 基因参与了分化过程相关基因表达的调节。至于通过其表达水平的变化,调节下游哪些靶基因的表达,是下一步需要研究的问题。

#### 参考文献:

[1] 冯军峰. 神经干细胞及肿瘤干细胞与脑肿瘤发生关系的研究[J]. 国外医学: 神经病学神经外科学分册, 2005, 32(2): 167-169.

[2] Lefranc F, Facchini V, Kiss R. Proautophagic drugs: a novel means to combat apoptosis-resistant cancers, with a special emphasis on glioblastomas[J]. *Oncologist*, 2007, 12(12): 1395-1403.

[3] 黄强. 胶质瘤起源细胞探讨[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2003, 8(8): 337-340.

[4] Nass D, Rosenwald S, Meiri E, et al. MiR-92b and miR-9/9\* are specifically expressed in brain primary tumors and can be used to differentiate primary from metastatic brain tumors[J]. *brain pathology*, 2009, 19(3): 375-383.

[5] Maes OC, An J, Sarojini H, et al. Changes in microRNA expression patterns in human fibroblasts after low-LET radiation[J]. *J Cell Biochem*, 2008, 105(3): 824-834.

[6] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs[J]. *Science*, 2001, 294(5543): 853-858.

[7] Miller CR, Perry A. Glioblastoma-Morphologic and molecular genetic diversity [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2007,

131(3): 397-406.

[8] Silber J, Lim DA, Petritsch C, et al. MiR-124 and miR-137 inhibit proliferation of glioblastoma multiforme cells and induce differentiation of brain tumor stem cells[J]. *BMC Medicine*, 2008, 6(1): 14.

[9] Huse JT, Brennan C, Hambardzumyan D, et al. The PTEN-regulating microRNA miR-26a is amplified in high-grade glioma and facilitates gliomagenesis in vivo[J]. *Genes Dev*, 2009, 23(11): 1327-1337.

[10] Kefas B, Godlewski J, Comeau L, et al. microRNA-7 inhibits the epidermal growth factor receptor and the akt pathway and is down-regulated in glioblastoma[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(10): 3566-3572.

[11] Xia H, Qi Y, Ng SS, et al. microRNA-146b inhibits glioma cell migration and invasion by targeting MMPs[J]. *Brain Res*, 2009, 1269: 158-165.

[12] Hilah G, Gopal P, Andrew A, et al. MIR-451 and Imatinibmesylate inhibit tumor growth of Glioblastoma stem cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 38(31): 86-89.

[13] Papagiannakopoulos T, Shapiro A, Kosik KS. MicroRNA-21 targets a network of key tumor-suppressive pathways in glioblastoma cells[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(19): 8164-8172.

[14] Sengupta S, Nie J, Wagner RJ, et al. MicroRNA 92b controls the G1/S checkpoint gene p57 in human embryonic stem cells [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(7): 1524-1528.

[15] Haug BH, Henriksen JR, Buechner J, et al. MYCN-regulated miRNA-92 inhibits secretion of the tumor suppressor DICKKOPF-3(DKK3) in neuroblastoma[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(7): 1005-1012.

(收稿日期: 2013-03-06 修回日期: 2013-05-13)

(上接第 2880 页)

nephropathy in Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II $\alpha$ (Thr286Asp) transgenic mice[J]. *Diabetologia*, 2011, 54(11): 2953-2962.

[8] Yasukagawa T, Niwa Y, Simizu S, et al. Suppression of cellular invasion by glybenclamide through inhibited secretion of platelet-derived growth factor in ovarian clear cell carcinoma ES-2 cells[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(10): 1504-1509.

[9] Keramati AR, Singh R, Lin A, et al. Wild-type LRP6 inhibits, whereas atherosclerosis-linked LRP6R611C increases PDGF-dependent vascular smooth muscle cell proliferation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(5): 1914-1918.

[10] Park ES, Yoo JM, Lim Y, et al. Inhibitory effects of docetaxel on platelet-derived growth factor(PDGF)-BB-induced proliferation of vascular smooth muscle cells through blocking PDGF-receptor  $\beta$  phosphorylation[J]. *J Pharmacol Sci*, 2011, 116(2): 204-213.

[11] Johanna A, Radosa G, Christer B. Role of platelet-derived

growth factors in physiology and medicine [J]. *Genes Dev*, 2008, 22(10): 1276-1312.

[12] Li X, Tjwa M, Moons L, et al. Revascularization of ischemic tissues by PDGF-CC via effects on endothelial cells and their progenitors[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(1): 118-127.

[13] Banfi A, von Degenfeld G, Gianni-Barrera R, et al. Therapeutic angiogenesis due to balanced single-vector delivery of VEGF and PDGF-BB[J]. *FASEB J*, 2012, 26(6): 2486-2497.

[14] 姜坤, 李传勇, 孟庆友, 等. 内皮祖细胞移植治疗慢性深静脉血栓形成的实验研究[J]. *中国普通外科学杂志*, 2010, 25(1): 61-63.

[15] Wägsäter D, Zhu C, Björck HM, et al. Effects of PDGF-C and PDGF-D on monocyte migration and MMP-2 and MMP-9 expression [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 202(2): 415-423.

(收稿日期: 2013-01-09 修回日期: 2013-04-22)