

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.17.001

骨髓内皮祖细胞移植对假孕大鼠黄体促血管生长因子表达的影响*

李广斌, 孙艳明, 宋春静, 王 玲[△]
(天津市胸科医院病理科 300222)

[摘要] **目的** 观察骨髓内皮祖细胞(EPC)移植对假孕大鼠黄体促血管生长因子(VEGF)表达的影响,探讨骨髓 EPC 促进假孕大鼠黄体血管新生的作用机制。**方法** 雌性大鼠经¹³⁷Cs 全身照射后,尾静脉移植雄性大鼠骨髓 EPC 行造血重建,然后制备假孕模型为移植假孕组;分别于假孕第 3、7、11、15 天应用 real time PCR 法检测黄体 VEGF、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF) mRNA 的表达;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测黄体 VEGF、bFGF 蛋白表达;CD31 免疫组织化学法检测黄体微血管密度。**结果** 假孕对照组(输注等量培养液)及移植假孕组 VEGF、bFGF 表达在第 7 天达到最高;黄体微血管密度在第 7、11 天均高于第 3 天组水平($P<0.01$);移植假孕组 VEGF、bFGF 表达在第 7、11 天均高于同期假孕对照组($P<0.05$),且黄体微血管密度在第 7、11 天较同期假孕对照组高($P<0.05$)。**结论** 骨髓 EPC 移植后黄体 VEGF、bFGF mRNA 及其蛋白表达水平升高,促进假孕大鼠黄体血管新生。

[关键词] 骨髓内皮祖细胞;黄体;新生血管化,病理学;管内皮生长因子 A;成纤维细胞生长因子 2

[中图分类号] R36 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2015)17-2305-03

Effect of bone marrow endothelial progenitor cell transplantation on the expression of corpus luteum angiogenic growth factors*

Li Guangbin, Sun Yanming, Song Chunjing, Wang Ling[△]

(Department of Pathology, Tianjin Chest Hospital, Tianjin 300222, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of bone marrow endothelial progenitor cells(EPCs) transplantation on corpus luteum angiogenic growth factors expression, and investigate the mechanism of the EPCs to promote the angiogenesis of pseudopregnancy rat corpus luteum. **Methods** Female rats radiated by ¹³⁷Cs were transplanted EPCs which came from male rat via tail vein. The pseudocycosis model of transplanted female rat was established after hematopoietic reconstitution, which named as pseudopregnancy group. On 3rd, 7th, 11th and 15th day, Vascular endothelial growth factor(VEGF) and basic fibroblast growth factor(bFGF) mRNA were tested through the method of RT-PCR, their protein expression were tested through the method of Western blotting, and the corpus luteum capillary density were tested through CD31 immunohistochemistry. **Results** In pseudopregnancy control groups and transplantation pseudopregnancy groups, the VEGF, bFGF expression achieved the peak on 7th day. The corpus luteum capillary density was higher than that of 3rd day group($P<0.01$) on the 7th and 11th day group. The expression of VEGF and bFGF of transplantation pseudopregnancy group were higher than that of pseudopregnancy control group on 7th, 11th day($P<0.05$), the corpus luteum capillary density of transplantation pseudopregnancy group were higher than that of pseudopregnancy control group on 7th and 11th day($P<0.05$). **Conclusion** EPCs transplantation can increase the expression of VEGF and bFGF mRNA, and promote the growth of corpus luteum angiogenesis.

[Key words] bone marrow endothelial progenitor cell; corpus luteum; angiogenesis, pathologic; vascular endothelial growth factor A; fibroblast growth factor 2

内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)是一类单个核细胞群,主要定居于骨髓,作为内皮细胞的前体细胞,在一定条件下,可以分化为成熟的内皮细胞,参与血管新生过程。卵巢黄体具有重要的内分泌调节功能,其微血管呈现周期性增生和闭锁及凋亡。在黄体期,其微血管呈现明显增生,由此带来的丰富血供是维持黄体微环境稳定,执行功能的重要保障,黄体功能不足或下降,往往与其血供减少有关。本课题组前期研究表明,由于骨髓 EPC 在假孕大鼠黄体向血管内皮细胞分化,促进了黄体血管新生,改善了黄体血供;本次实验主要目的在于探讨 EPC 移植后对假孕大鼠黄体血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)表达的影响,探讨其促进黄体血管新生的其他可能途径。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 清洁级 Wistar 雄性大鼠为供体鼠 60 只,体质量 200~220 g。清洁级 Wistar 雌性大鼠为受体鼠 120 只,体质量 180~200 g,由天津实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(津)2010-0002。

1.1.2 主要试剂 孕马血清促性腺激素(PMSG)由宁波第二激素厂生产,批号:兽药字(2006)110254564。人绒毛膜促性腺激素(HCG)由上海生物化学制药厂生产,批号:0409013。RP-MI1640 培养液、胎牛血清(美国 Gibco 公司);大鼠淋巴细胞分离液、CD31 免疫组织化学染色试剂盒(天津灏洋生物制品科技有限责任公司);VEGF、bFGF 用逆转录 PCR(RT-PCR)试剂盒(北京中山生物技术有限公司);PCR 引物(上海生物工程技

术服务有限公司设计合成);蛋白免疫印记法(Western blot)所用 β -actin、VEGF、bFGF 兔抗鼠多克隆抗体(美国 Santa 公司);BAC 蛋白定量试剂盒(上海生物工程技术服务有限公司)。

1.1.3 主要仪器 Real time PCR Detection System(QIA-GEN Instrument, AG);DXY-2 稳压稳流电泳仪(北京六一仪器厂);凝胶成像系统(美国 Kodak 公司);RM2135 切片机(德国莱卡仪器有限公司);Olympus DP71 显微照相系统、BHT 光学显微镜(日本 Olympus 公司);Chemilmager TM5500 凝胶成像系统(美国 Alpha 公司)。

1.2 方法

1.2.1 EPC 的分离、移植 处死供体雄性大鼠,收集骨髓细胞悬液,分离采用大鼠淋巴细胞分离液(密度为 1.077×10^3 g/L),2 000 r/min 离心 20 min,制备骨髓单个核细胞悬液,调整细胞浓度为 $(2 \sim 3) \times 10^7$ /mL,备用;受体雌性大鼠采用 137 Cs 射线全身照射,照射前将大鼠卵巢部位用铅皮箍绑,照射剂量为 7.50 Gy,剂量率为 0.74 Gy/min。照射 6 h 后,受体大鼠经尾静脉注入供体鼠骨髓单个核细胞悬液 1 mL(3×10^7 个)。无菌条件下采取大鼠移植第 7、15 天内眦血,动态观察外周血象变化,以血象接近正常水平为造血重建成功。

1.3.2 假孕大鼠模型的制备、分组 受体大鼠于造血重建后,各组每只颈部皮下注射 50 IU PMSG,48 h 后每只皮下注射 30 IU HCG,注射 HCG 24 h 后定义为假孕第 1 天。将受体大鼠随机分为 3 d 移植假孕组、7 d 移植假孕组、11 d 移植假孕组和 15 d 移植假孕组,每组 15 只;另取假孕大鼠 40 只尾静脉输注等量培养液作为假孕对照组,分为 3 d 假孕对照组、7 d 假孕对照组、11 d 假孕对照组和 15 d 假孕对照组,每组 10 只。

1.2.3 RT-PCR 检测 VEGF、bFGF 的 mRNA 表达 取各组大鼠黄体组织样品,添加液氮研磨至粉末。蛋白酶 K 消化过夜后,酚-氯仿-异戊醇抽提基因组 DNA。VEGF 上游引物:5'-GCACGTTGGCTCACTTCCAG-3',下游引物:5'-TGG TCG GAA CCA GAA TCT TTA TCT C-3';bFGF 上游引物:5'-TTC ACA GCC TGT GCT CTAG GG-3',下游引物:5'-GAT CGG GT CAG GTT TTG GAA A-3'; β -actin:上游引物:5'-GGG AAA TCG TGC GTG ACA TT-3',下游引物:5'-GCG GCA GTG GCC ATC TC-3'。以基因组 DNA 作为模版进行 PCR 扩增,并以 β -actin 作为参照。PCR 反应:10 μ L 体系中加入基因组 DNA 样品 1.0 μ L,上、下游引物各 0.1 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C,5 min 预变性;98 $^{\circ}$ C 10 s,57.5 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 10 s,30 个循环;72 $^{\circ}$ C 10 min 补平末端。VEGF 的 PCR 产物为 107 bp,bFGF 的 PCR 产物为 51 bp, β -actin 的 PCR 产物为 76 bp。PCR 产物鉴定经 1.5% 的琼脂糖(含有 0.5 mg/mL 溴化乙锭)凝胶电泳后,将凝胶放入成像仪中,紫外光下自显影,扫描成像。利用 Image J 计算条带灰度值。

1.2.4 Western blot 检测黄体组织中 VEGF、bFGF 蛋白表达

取各组大鼠黄体组织样品,按照 BAC 蛋白定量试剂盒说明提取大鼠黄体标本蛋白,进行蛋白定量测定。上样量 80 μ g,8% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,电转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上;封闭 2 h 后滴加一抗(一抗稀释浓度 1:100),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;3 次洗膜后二抗室温孵育 30 min,ECL 显影,洗片。以 β -actin(1:200 稀释)作为内对照,胶片经扫描仪扫描后获得图像,用 Bandleader 软件进行灰度分析,计算目的蛋白条带与 β -actin 的灰度比值作为目的蛋白相对表达量。

1.2.5 免疫组织化学检测黄体组织中 CD31 的表达 CD31 染色按照免疫组织化学试剂盒说明书进行。CD31 兔抗鼠多克隆抗体(1:50 稀释)。结果判断:CD31 免疫组织化学阳性产物为棕黄色颗粒,主要表达于血管内皮细胞的细胞膜和细胞质。通过 CD31 标记黄体血管,检测黄体微血管密度(MVD)。

1.2.6 MVD 检测计算方法 低倍镜下($\times 100$)扫描整个切片,寻找 3 个血管高密度区,再在高倍镜下($\times 400$)计数这 3 个视野的被染成棕黄色的微血管数,对微血管的识别不需具备完整的管腔和红细胞,具有棕黄色的内皮细胞或内皮细胞簇且与邻近微血管和其他组织成分清楚分开,即为一个可计数的微血管,取此 3 个视野微血管数的平均值作为 MVD 值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多个样本均数间的比较采用单因素方差分析,两两比较行 LSD 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠移植后生存情况 移植假孕各组大鼠在骨髓移植 7 d 后一般状态开始下降,各组均有动物出现不同程度的毛色杂乱,食欲减退,体质量下降等,14 d 后一般状态好转,动物存活率约 65%。

2.2 各组大鼠黄体组织 VEGF、bFGF mRNA 表达结果 假孕对照组大鼠黄体 VEGF mRNA 表达在第 7 天达到最高,显著高于 3 d 假孕对照组水平($P < 0.01$),第 11 天开始下降,表达仍高于 3 d 假孕对照组($P < 0.05$),第 15 天接近 3 d 假孕对照组水平;bFGF 表达也在第 7 天达到最高,高于 3 d 假孕对照组水平($P < 0.05$),之后开始下降,第 15 天接近 3 d 假孕对照组水平,与 3 d 假孕对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。移植假孕组 VEGF 表达在第 7 天达到最高,第 11 天开始下降,仍显著高于 3 d 移植假孕组水平($P < 0.01$),第 15 天接近 3 d 移植假孕组水平,且在第 7、11、15 天表达均高于同期假孕对照组($P < 0.05$);移植假孕组 bFGF 表达与 VEGF 呈现相似趋势,表现为第 7 天最高,之后下降,且在第 7、11 天表达高于同期假孕对照组($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠黄体组织 VEGF、bFGF 的 mRNA 表达($\bar{x} \pm s$)

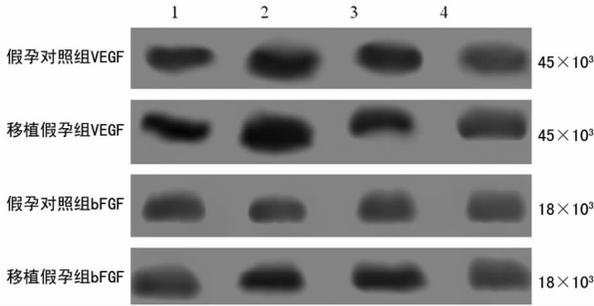
时间	VEGF mRNA 表达		bFGF mRNA 表达	
	假孕对照组	移植假孕组	假孕对照组	移植假孕组
3 d	1.01 \pm 0.06	1.15 \pm 0.08	1.05 \pm 0.07	1.12 \pm 0.08
7 d	1.75 \pm 0.12 ^a	2.15 \pm 0.18 ^{bc}	1.27 \pm 0.09 ^a	1.98 \pm 0.15 ^{bc}
11 d	1.36 \pm 0.09 ^a	1.86 \pm 0.12 ^{bc}	1.14 \pm 0.06	1.68 \pm 0.12 ^{bc}
15 d	1.06 \pm 0.08	1.32 \pm 0.10 ^c	1.03 \pm 0.04	1.18 \pm 0.11

^a: $P < 0.05$,^b: $P < 0.01$,与 3 d 组比较;^c: $P < 0.05$,与同期假孕对照组比较。

表 2 各组大鼠黄体组织 VEGF、bFGF 的蛋白表达($\bar{x} \pm s$)

时间	VEGF 蛋白表达		bFGF 蛋白表达	
	假孕对照组	移植假孕组	假孕对照组	移植假孕组
3 d	0.98 \pm 0.16	1.05 \pm 0.11	0.35 \pm 0.06	0.39 \pm 0.11
7 d	1.86 \pm 0.37 ^b	2.15 \pm 0.28 ^{bc}	0.47 \pm 0.12 ^a	0.62 \pm 0.17 ^{bc}
11 d	1.14 \pm 0.09	1.46 \pm 0.25 ^{bc}	0.42 \pm 0.09	0.46 \pm 0.15
15 d	0.85 \pm 0.06	0.78 \pm 0.10 ^a	0.23 \pm 0.07	0.27 \pm 0.13

^a: $P < 0.05$,^b: $P < 0.01$,与 3 d 组比较;^c: $P < 0.05$,与同期假孕对照组比较。



1,2,3,4 分别为第 3、7、11、15 天组。

图 1 各组大鼠黄体组织 VEGF、bFGF 蛋白表达

2.3 各组大鼠黄体组织 VEGF、bFGF 蛋白的表达结果 假孕对照组黄体 VEGF 蛋白表达在第 7 天达到高峰,与 3 d 假孕对照组比较有统计学差异 ($P < 0.01$),之后持续下降;移植假孕组 VEGF 表达亦于第 7 天达到高峰,与 3 d 假孕对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$),第 11 天下降,与 3 d 移植假孕组比较差异仍有统计学意义 ($P < 0.05$),到第 15 天表达最低;且在第 7、11 天组 VEGF 表达高于同期假孕对照组 ($P < 0.05$)。bFGF 表达在假孕对照组及移植假孕组均于第 7 天最

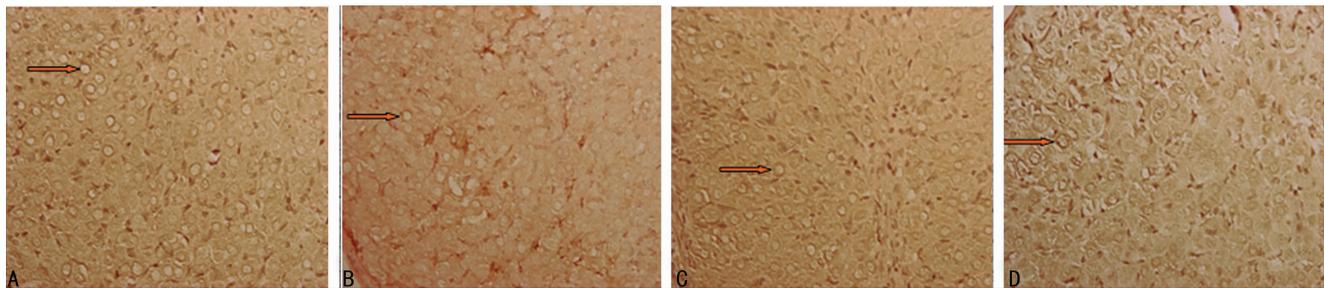
高,与 3 d 组比较有统计学差异 ($P < 0.05, P < 0.01$),之后持续下降,到第 15 天表达最低;在第 7 天,移植假孕组 bFGF 表达较假孕对照组升高 ($P < 0.05$),见表 2,图 1。

2.4 各组大鼠黄体微血管 MVD 检测结果 假孕对照组黄体微血管密度在第 7 天最高,随后下降,第 7、11 天与第 3 天组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),第 15 天表达最低;移植假孕组黄体微血管密度变化趋势与假孕对照组相似,且第 7、11 天移植假孕组黄体微血管密度高于同期假孕对照组 ($P < 0.05$),见表 3、图 2。

表 3 CD31 免疫组织化学检测各组大鼠黄体组织微血管 MVD 检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

时间	假孕对照组	移植假孕组
3 d	24.60 ± 2.56	25.15 ± 2.35
7 d	37.15 ± 4.35 ^a	43.28 ± 3.98 ^b
11 d	32.36 ± 3.18 ^a	38.76 ± 3.46 ^{ab}
15 d	22.78 ± 2.12	23.85 ± 2.51

^a: $P < 0.01$, 与 3 d 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同期假孕对照组比较。



1:3 d; 2:7 d; 3:11 d; 4:15 d。

图 2 移植假孕组大鼠黄体组织微血管 CD31 免疫组织化学染色 ($\times 400$)

3 讨 论

血管新生是指在机体生长发育过程中或创伤修复、缺血、缺氧和炎症等情况下,原有微血管内皮细胞经过出芽、迁移、增殖与基质重塑等最终形成新毛细血管的过程。目前研究发现,EPC 经动员归巢到目的器官是促进组织血管新生的有效途径^[1]。黄体作为发生生理性血管新生的少数几个成年组织之一,在黄体期,其微血管呈现明显增生,这个过程对于维持黄体功能至关重要^[2]。作者之前的研究观察到,EPC 归巢到黄体后,可以通过分化为内皮细胞促进黄体血管新生;本次实验观察到,在假孕对照组及移植假孕组大鼠黄体中,VEGF 和 bFGF 的表达在总体上呈现类似的先升后降的趋势;同时,移植假孕组 VEGF 在 mRNA 及蛋白的表达上,在第 7、11 天高于同期假孕对照组 ($P < 0.05$);bFGF 的表达在第 7 天高于同期假孕对照组 ($P < 0.05$);黄体微血管密度在第 7、11 天高于同期假孕对照组 ($P < 0.05$)。

VEGF 是一种极强的血管增生促进剂,在绝大多数动物(如小鼠和人类)的黄体化颗粒细胞中都可以检测到 VEGF mRNA^[3],而且在颗粒细胞黄体化过程中,VEGF 的表达量显著增加^[4]。bFGF 是一种作用广泛的细胞因子,主要分布于神经组织、垂体、肾上腺、卵巢和胎盘,诱导新生血管形成^[5]。卵巢中的 bFGF 主要来源于黄体颗粒细胞,卵泡膜细胞等,bFGF 通过自分泌和旁分泌形式调节血管新生,且与 VEGF 关系密切,在体外培养的内皮细胞中给予 bFGF,可以发现 VEGF 的

表达增加,如果阻断了 VEGF 的表达,bFGF 就不能诱导内皮细胞形成血管^[6]。另有报道,体外培养的骨髓单个核细胞具有分泌 VEGF 及 bFGF、胰岛素样生长因子的能力^[7];骨髓单个核细胞能够释放 VEGF 和单核细胞趋化蛋白-1,并发现 EPC 在分化为血管内皮细胞的过程中能分泌 bFGF^[8]。本实验在建立大鼠假孕模型的基础上,进行同种异体 EPC 移植,通过观察黄体 VEGF、bFGF mRNA 及蛋白的表达,观察黄体微血管密度的变化,综合评价 EPC 移植对假孕大鼠黄体促血管生长因子表达的影响,发现移植 EPCs 促进黄体血管新生,其机制可能并不仅仅是本研究之前观察到的单纯自身分化作用,EPCs 同时也以自分泌和旁分泌的形式影响着局部血管生成因子的释放,促进了黄体 VEGF 及 bFGF 的表达,从而促进了黄体血管的新生,进一步探讨了 EPCs 移植促进黄体血管新生的可能机制,为 EPCs 移植缓解黄体血管新生不足导致的黄体功能下降和不全提供理论和实验依据。

参考文献

[1] Asahara T, Mufobara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. Science, 1997, 275(32): 964-967.
 [2] Shimizu T, Hoshino Y, Miyazaki H, et al. Angiogenesis and microvasculature in the female reproductive organs: physiological and pathological implications[J]. (下转第 2317 页)

血管因间质内压力上升而塌陷时,局部微环境处于缺氧状态。肿瘤细胞在长期缺氧微环境刺激下,通过 Hif-1 α 表达增高调控血管新生,促进细胞发生上皮间质转化等途径适应缺氧微环境而促进肿瘤生长和转移^[11]。

本实验通过体外实验研究发现,DS 可以减少实验组裸鼠腹腔内的胃癌结节数量并减小其体积,且可有效地降低 Hif-1 α mRNA 及蛋白的表达,表明 DS 可以抑制胃癌细胞在腹腔内的转移生长,其可能是 DS 通过抑制 Hif-1 α 的表达而发挥作用,使肿瘤局部缺氧状态不能得到改善,从而抑制肿瘤的生长,最终抑制胃癌细胞在腹腔的转移生长。Ardyanto 等^[12]用 CoCl₂ 处理不同分化程度的人胃癌细胞株,结果显示 Hif-1 α 的表达与胃癌细胞的增殖和凋亡相关。易楠等^[13]的研究发现 miR-18 α 能作用于 Hif-1 α 的 3'UTR,抑制其蛋白表达,从而最终抑制胃癌细胞的增殖。

总之,本实验研究发现,DS 可以减少实验组裸鼠腹腔内的胃癌结节数量并减小体积,且可有效地降低 Hif-1 α mRNA 及蛋白的表达。DS 抑制胃癌细胞腹腔种植转移的机制可能是其通过下调 Hif-1 α 的表达而发挥作用,Hif-1 α 在 DS 抑制胃癌腹腔种植转移中发挥重要作用,降低 Hif-1 α 的表达对抑制胃癌腹腔种植转移具有重大意义。本研究发现,DS 可以抑制胃癌的腹腔种植转移,可为胃癌腹腔种植转移临床治疗提供新的药物。

参考文献

- [1] Hagiwara A, Sakakura C, Yamasaki J, et al. Dextran sulfate inhibits injured abdominal wall-specific tumor implantation in mice[J]. *Anticancer Drugs*, 2000, 11(10): 873-877.
- [2] Arjumand W, Sultana S. Role of VHL gene mutation in human renal cell carcinoma[J]. *Tumor Biology*, 2012, 33(1): 9-16.
- [3] Jung JH, Im S, Jung ES, et al. Clinicopathological implications of the expression of hypoxia-related proteins in gastric cancer[J]. *Int J Med Sci*, 2013, 10(9): 1217-1223.
- [4] Hagiwara A, Sakakura C, Shirasu M, et al. Intraperitoneal

injection of dextran sulfate as an anti-adherent drug for the prevention of peritoneal metastasis of cancer shows low toxicity in animals[J]. *Anticancer Drugs*, 2000, 11(5): 393-399.

- [5] 徐远义,黄允宁,王伟,等. 硫酸右旋糖苷抑制人胃癌细胞黏附以及整合素 β -1 基因表达的机制研究[J]. *中国药理学通报*, 2007, 23(12): 1552-1555.
- [6] 赵雪艳,王娟,荣小伟,等. DS 对胃癌细胞整合素 β 1 表达及腹腔种植转移的影响[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2013, 29(4): 365-368.
- [7] 王娟,赵雪艳,荣小伟,等. 硫酸右旋糖苷对人胃癌细胞腹腔种植转移和整合素 β 1 表达的影响[J]. *诊断病理学杂志*, 2014, 21(4): 224-227.
- [8] 王娟,赵雪艳,王红红,等. 硫酸右旋糖苷对人胃癌细胞腹腔种植转移和 VEGF 表达的影响[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2014, 30(6): 625-628.
- [9] Ratcliffe PJ. HIF-1 and HIF-2: working alone or together in hypoxia[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(4): 862-865.
- [10] 李伟,熊正文,李宏伟,等. COX-2、VEGF 和 E-cad 在乳腺癌组织中的表达及临床病理意义[J]. *中国现代普通外科进展*, 2010, 13(10): 766-771.
- [11] Noman MZ, Messai Y, Carre T, et al. Microenvironmental hypoxia orchestrating the cell stroma cross talk, tumor progression and antitumor response[J]. *Crit Rev Immunol*, 2011, 31(5): 357-377.
- [12] Ardyanto TD, Osaki M, Nagahama Y, et al. Down-regulation of cobalt-induced HIF-1 alpha expression correlates with cell proliferation and apoptosis in human gastric carcinoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2008, 19(2): 339-343.
- [13] 易楠,李杏玉,李铁军,等. miR-18a 抑制 HIF-1 α 的表达及对胃癌细胞增殖的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(14): 1977-1983.

(收稿日期:2014-11-15 修回日期:2015-02-16)

(上接第 2307 页)

- Curr Pharm Des, 2012, 8(3): 303-309.
- [3] Qiu Y, Seager M, Osman A, et al. Ovarian VEGF(165) b expression regulates follicular development, corpus luteum function and fertility[J]. *Reproduction*, 2012, 143(4): 501-511.
- [4] van den Driesche S, Myers M, Gay E, et al. HCG up-regulates hypoxia inducible factor1 alpha in luteinized granulosa cells: implications for the hormonal regulation of vascular endothelial growth factor A in the human corpus luteum[J]. *Mol Hum Reprod*, 2008, 14(8): 455-464.
- [5] Assal Y, Mie M, Kobatake E. The promotion of angiogenesis by growth factors integrated with ECM proteins through coiledcoil structures[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(13): 3315-3323.

- [6] Gao JM, Yan J, Li R, et al. Improvement in the quality of heterotopic allotransplanted mouse ovarian tissues with basic fibroblast growth factor and fibrin hydrogel[J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(10): 2784-2793.
- [7] Guan XM, Cheng M, Li H, et al. Biological properties of bone marrow-derived early and late endothelial progenitor cells in different culture media[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(6): 1722-1728.
- [8] Duncan WC, Driesche S, Fraser HM. Inhibition of vascular endothelial growth factor in the primate ovary up-regulates hypoxia-inducible factor-1alpha in the follicle and corpus luteum[J]. *Endocrinology*, 2011, 149(7): 3313-3318.

(收稿日期:2014-11-08 修回日期:2015-03-16)