

联合有相加作用,抗肿瘤效应比单独给药要强。

综上所述,基于抗体 CDR 和配体寡肽的 EGFR/HER-2 双靶向融合蛋白 Ec-LDP-Hr 不仅具有“导向”载体作用,还有一定的抗肿瘤活性。联合融合蛋白 Ec-LDP-Hr 及其强化形式 Ec-LDP-Hr-AE 可能为高表达靶点 EGFR/HER-2 的结肠癌提供一种新的治疗策略。

### 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, *et al.* Global cancer statistics[J]. Cancer Journal for Clinicians, 2011, 61(2): 69-90
- 2 Blok E, Kuppen P, Leeuwen J, *et al.* Cytoplasmic overexpression of HER-2: a key factor in colorectal cancer[J]. Clinical Medicine Insights: oncology, 2013, 7: 41-51
- 3 Campanella C, Mottotese M, Cianciulli A, *et al.* Epidermal growth factor receptor gene copy number in 101 advanced colorectal cancer patients treated with chemotherapy plus cetuximab[J]. J Transl Med, 2010, 8(1): 36
- 4 Baselga J, Arteaga CL. Critical update and emerging trends in epidermal growth receptor targeting in cancer[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(11): 2445-2459
- 5 Shankaran V, Obel J, Benson AD. Predicting response to EGFR inhibitors in metastatic colorectal cancer: current practice and future directions[J]. Oncologist, 2010, 15(2): 157-167
- 6 Guo XF, Zhu XF, Shang Y, *et al.* A bispecific enediyne-energized fusion protein containing ligand-based and antibody-based oligopeptides against epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor 2 shows potent antitumor activity[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(7): 2085-2094
- 7 Garden OJ, Rees M, Poston GJ, *et al.* Guidelines for resection of

- colorectal cancer liver metastases[J]. Gut, 2006, 55(suppl 3): iii1-iii8
- 8 Lieu C, Kopetz S. The Src family of protein tyrosine kinases: a new and promising target for colorectal cancer therapy[J]. Clinical colorectal cancer, 2010, 9(2): 89-94
- 9 Grünwald V, Hidalgo M. Developing inhibitors of the epidermal growth factor receptor for cancer treatment[J]. J Natl Cancer Inst, 2003, 95(12): 851-867
- 10 Winder T, Lenz HJ. Vascular endothelial growth factor and epidermal growth factor signaling pathways as therapeutic targets for colorectal cancer[J]. Gastroenterology. 2010, 138(6): 2163-2176
- 11 Sapra P, Shor B. Monoclonal antibody-based therapies in cancer: advances and challenges[J]. Pharmacology & Therapeutics, 2013, 138(3): 452-469
- 12 Pedersen MW, Jacobsen HJ, Koefoed K, *et al.* Sym004: A novel synergistic anti-epidermal growth factor receptor antibody mixture with superior anticancer efficacy[J]. Cancer Res, 2010, 70(2): 588-597
- 13 Sapra P, Damelin M, Dijoseph J, *et al.* Long-term tumor regression induced by an antibody-drug conjugate that targets 5T4, an oncofetal antigen expressed on tumor-initiating cells[J]. Mol Cancer Ther, 2013, 12(1): 38-47
- 14 Shankaran V, Obel J, Benson AD. Predicting response to EGFR inhibitors in metastatic colorectal cancer: current practice and future directions[J]. Oncologist, 2010, 15(2): 157-167
- 15 Zhong GS, Zhang SH, Li Y, *et al.* A tandem scFv-based fusion protein and its enediyne-energized analogue show intensified therapeutic efficacy against lung carcinoma xenograft in athymic mice[J]. Cancer Lett, 2010, 295(1): 124-133

(收稿日期:2014-02-27)

(修回日期:2014-03-13)

## 过表达 mimecan 对人脐静脉内皮细胞增殖和凋亡的作用初探

王 晶 沈琼娜 张惠洁 胡小磊 陈凤玲

**摘 要 目的** 应用反转录病毒载体技术构建稳定过表达 mimecan 的人脐静脉内皮细胞株(HUVEC),并观察过表达 mimecan 后 HUVEC 增殖及凋亡的变化。**方法** 应用反转录病毒载体构建稳定过表达 mimecan 的 HUVEC 细胞株,real-time PCR 和 Western blot 法检测 mRNA 和蛋白水平的表达。应用 CCK-8 方法检测过表达 mimecan 后 HUVEC 增殖的变化,应用 Annexin V-PE 染色观察过表达 mimecan 后 HUVEC 凋亡的变化。**结果** 构建了稳定过表达 mimecan 的 HUVEC 细胞株。过表达 mimecan

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81270908);上海市宝山区科委自然科学基金资助项目(11-E-6);上海交通大学医学院基金资助项目(YZ1054)

作者单位:201900 上海交通大学医学院附属第三人民医院内分泌科

通讯作者:陈凤玲,电子信箱:PhDFLChen@163.com

后, HUVEC 增殖能力降低, 凋亡率增加。结论 过表达 mimecan 抑制 HUVEC 的增殖, 促进其凋亡。

**关键词** 骨生成诱导因子 人脐静脉内皮细胞 过表达 增殖 凋亡

[中图分类号] R5 [文献标识码] A

**Over-expression of Mimecan in Human Umbilical Vein Endothelial Cell Affects Cell Proliferation and Apoptosis.** Wang Jing, Shen Qion-gna, Zhang Huijie, et al. Department of Endocrinology, No. 3 People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 201900, China

**Abstract Objective** To construct a cell model stably over-expressing mimecan in human umbilical vein endothelial cell (HUVEC), and observe the effect of mimecan on HUVEC proliferation and apoptosis. **Methods** In vitro, human mimecan was stably over-expressed in HUVEC using a retrovirus system. Human mimecan expression was verified by quantitative real-time PCR and western blot analysis. The proliferation of HUVEC transduction of mimecan was measured by CCK-8 assay. By Annexin V-PE of staining phosphatidyl serine, we examined the apoptosis rate of HUVEC after over-expression of mimecan. **Results** In our study, we successfully established a cell model stably over-expressing mimecan in HUVEC using retrovirus system. And, real-time PCR and western blot revealed the over-expression of mimecan in HUVEC. Through CCK-8 assay, it was found that the proliferation rate of HUVEC transduction of mimecan was lower compared to control cell. By Annexin V-PE of staining phosphatidyl serine, over-expression of mimecan induced HUVEC apoptosis. **Conclusion** These data indicate that mimecan may involve in the pathogenesis of atherosclerosis through affect the proliferation and apoptosis of HUVEC.

**Key words** Mimecan; HUVEC; Over-expression; Proliferation; Apoptosis

骨生成诱导因子 (osteoinductive factor, OIF), 又名 mimecan 或 osteoglycin, 最早从牛的骨基质中提取出来的一种分泌蛋白<sup>[1,2]</sup>。Mimecan 属于亮氨酸富集蛋白家族成员, 在不同物种间该基因的结构高度保守<sup>[3]</sup>。Mimecan 在人体卵巢、肺、角膜、肾上腺、食管、心脏等组织中广泛表达, 在调控胶原纤维形成及肿瘤细胞的增殖和迁移方面发挥了重要作用<sup>[4,5]</sup>。研究发现 mimecan 与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 密切相关。Kampmann 等<sup>[6]</sup>发现在新生血管中 mimecan 表达量下调, 提示 mimecan 可能与血管重塑相关。Kwon 等<sup>[7]</sup>应用免疫组化染色技术发现, mimecan 在动脉硬化斑块钙化区的表达量升高。Borja 等<sup>[8]</sup>发现在发生 AS 的血管中, mimecan 在血管中层表达下降, 在激活的内皮和新生内膜中表达量上调。这些提示 mimecan 可能在 AS 的发生发展过程中发挥重要作用。

本实验在体外应用反转录病毒载体构建了稳定过表达 mimecan 的人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 模型, 并且初步观察过表达 mimecan 后 HUVEC 增殖和凋亡的变化, 为进一步探索 mimecan 与 AS 的关系奠定基础。

## 材料与方法

1. 材料与试剂: pmscv - puromycin - IRES - GFP (pMSCV PIG)、VSV - G、gag - pol (Clontech 公司); 限制性内切酶 Bgl II 和 Xho I 试剂盒 (TaKaRa 公司); 质粒小抽提试剂盒 (Axygen 公司); 中抽试剂盒 (MN 公司); 293T 人胚肾细胞株 (293T 细胞)、人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) (ATCC 公司); 脂

质体 Lipo-fectamine 2000、Trizol (Invitrogen 公司); 反转录和 realtime PCR 试剂盒 (Promega 公司), 细胞培养基 DMEM、opti-MEM 培养基、胎牛血清 (FBS)、嘌呤霉素 (puromycin) (Gibco 公司); 兔抗人 FLAG 单抗 (Sigma 公司), 兔抗人 GAPDH 单抗、HRP 标记山羊抗兔二抗 (Cell signal); Western blot 化学发光试剂盒 (Pierce 公司)。

2. HUVEC 及 293T 细胞培养: HUVEC 及 293T 细胞均以添加 10% FBS 的 DMEM 细胞培养基培养, 培养基置于 37℃、含 5% CO<sub>2</sub> 的细胞孵育箱中, 细胞传代比例 1:6, 每 2~3 天传代 1 次。

3. pMSCV PIG - OIF - 3FLAG 反转录病毒载体的构建及鉴定: 人 mimecan 基因全长序列以含人 mimecan 基因编码序列框架的质粒为模板, 经 PCR 技术扩增, 并分别添加了含 3 个重复的 FLAG 编码序列和 Bgl II、Xho I 的酶切位点。RCP 引物序列分别为 h - mimecan FOR: 5' - ACTGAGATCTATGAAGACTCTGCAGTCTACACTTCTCTGTTACTGCTTGTGCGCTCTGATAAAGCCAGCACCACCAACCCAGCAGGACTCAGCG - 3' (下划线为 Bgl II 酶切位点); h - mimecan REV: 5' - CTGCGCTCGAGTTACTTGTCTGCTATCGTCTTTGTAGTCTGATGTCATGCTCTTTGTAGTCTCCGTCA-TGCTCTTTGTAGTCAAAGTATGACCTAT - 3' (下划线分别为 Xho I 酶切位点及 3 个 FLAG 编码序列)。将扩增的 OIF - 3FLAG 片段序列定向克隆到 pGEM - T Easy 载体中, 构建 pGEM - T Easy - mimecan - 3FLAG 重组载体, 并经双酶切及测序鉴定。鉴定成功后, 将 pGEM - T Easy - mimecan - 3FLAG 重组载体经 Bgl II、Xho I 双酶切, 收集目的片段, 经 T4 连接酶作用, 与酶切后的 pMSCV PIG 载体连接为 pMSCV PIG - OIF - 3FLAG 重组载体, 经转化、挑克隆、抽质粒, 最后测序鉴定。

4. 反转录病毒的包装:待处于对数期生长的 293T 细胞融合度达 60% 时应用脂质体 Lipofectamine 2000 进行转染。将鉴定成功的重组载体 pMSCV PIG - OIF - 3FLAG (或空载体 pMSCV PIG) 及包装载体 GAG - POL, VSVG 按质量比 3:3:2 加入无血清的 opti - MEM 培养液中稀释,同时按操作说明将适量体积的 Lipofectamine 2000 加入 opti - MEM 培养基中,室温孵育 5min 后,将质粒溶液与脂质体溶液混合,室温静置 25min 后将混合物加入无血清及双抗的细胞培养基中,置于孵育箱中孵育 6h 后换回常规培养基,48h 后荧光显微镜下观察绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 表达。以空载体转染作为对照。

5. 稳定细胞株的构建及筛选:病毒载体转染 293T 细胞 48h 后收集细胞培养基的上清液,用孔径 0.45 $\mu$ m 的滤头过滤上清并加入 1,5 - 二甲基 - 1,5 - 二氮十一亚甲基聚甲溴化物 (polybrene) 至终浓度为 8 $\mu$ g/ml 混匀,将其加入 HUVEC 的培养基中感染目的细胞;8h 后换回常规培养基,48h 后添加嘌呤霉素至终浓度为 1.5 $\mu$ g/ml 进行筛选,4 天后筛选出稳定感染反转录病毒空载体 pMSCV PIG 的 HUVEC 细胞株 (以下简称对照组 HUVEC) 及重组载体 pMSCV PIG - OIF - 3FLAG 的 HUVEC 细胞株 (以下简称过表达组 HUVEC)。

6. Real - Time PCR 检测 mimecan mRNA 水平表达:待状态良好的对照组 HUVEC 及过表达组 HUVEC 细胞密度达 80% ~ 90%,加 Trizol 抽提细胞 RNA,1 $\mu$ g 细胞 RNA 总量进行反转录,得到 cDNA。PCR 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成,引物序列为:GAPDH:上游引物序列 5' - gatcatcag-caatgctcctgc - 3',下游引物序列 5' - ggatcatg agcttcctccacgatacc - 3'。Mimecan:上游引物序列 5' - tacttgaccataatgcccctgg - 3',下游引物序列 5' - aactgggtgcattagccttgc - 3'。按照试剂盒操作说明进行 cDNA 扩增,20 $\mu$ l 反应体系中含有 cDNA 模板 4 $\mu$ l,上下游引物各 0.4 $\mu$ l,参比染料 CXR 0.2 $\mu$ l,qPCR Mix 10 $\mu$ l,DEPC 水 5 $\mu$ l。以 GAPDH 为内参校正每个样本的循环阈值 (CT) 得到  $\Delta$ CT,根据公式计算  $2^{-\Delta\Delta CT}$ 。实验重复 3 次。

7. Western blot 法检测标签蛋白 FLAG 表达:待对照组 HUVEC 及过表达组 HUVEC 细胞密度增至 90%,加入蛋白裂解液 RIPA,按照 1:100 比例加入苯甲基磺酰氟 (PMSF 100mmol/L),抽提蛋白。应用垂直电泳仪和转膜仪 (Bio - Rad) 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳和转膜,采用 Western blot 化学发光法检测 FLAG 蛋白的表达量。以 GAPDH 为内参。

8. CCK - 8 法检测细胞增殖:分别将处于对数生长期的过表达组 HUVEC 细胞和对照组细胞以  $2 \times 10^3$  的细胞密度接种于 96 孔培养板内,每孔含培养液 100 $\mu$ l,放入培养箱中孵育 24h,待细胞密度达 60%,每孔加入 CCK8 溶液 10 $\mu$ l 反应 4h 后,用酶联免疫检测仪检测 450nm 处的光密度值。用无细胞的培养液作为空白对照,每组设 3 个复孔,实验重复 3 次。

9. Annexin V - PE 染色检测细胞凋亡:将过表达 mimecan 的 HUVEC 细胞及对照组细胞以  $5 \times 10^3$  的细胞密度均匀铺于 48 孔细胞培养板中,置于 37 $^{\circ}$ C 孵育箱中培养,直至细胞密度

达到 70% ~ 80%。孔板离心,弃上清,然后将每孔的细胞各自转移至 1.5ml EP 管内。向每管中加入 195 $\mu$ l Annexin V - PE 结合液和 5 $\mu$ l Annexin V - PE 染色液重悬细胞,使其混匀,室温避光孵育 10min。离心,弃上清,加入 190 $\mu$ l Annexin V - PE 结合液。冰浴避光放置。随即进行荧光观察,Annexin V - PE 为红色荧光。实验重复 3 次。

10. 统计学方法:所有数据均以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 应用 293T 细胞包装病毒及鉴定:将 pMSCV PIG - OIF - 3FLAG 重组载体 (或 pMSCV PIG 空载体) 及 GAG - POL, VSV - G 共转染 293T 细胞 48h 后,荧光显微镜观察发现转染 pMSCV PIG - OIF - 3FLAG 重组载体及 pMSCV PIG 空载体的细胞均有 GFP 绿色荧光蛋白表达,表示反转录病毒包装成功 (图 1)。

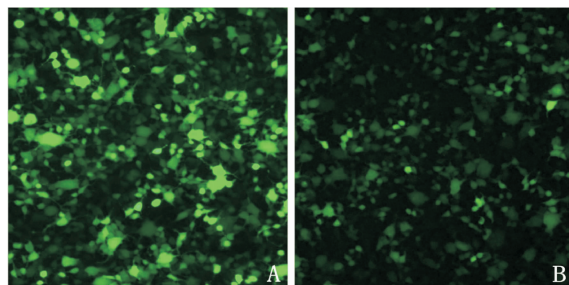


图 1 293T 细胞 GFP 荧光观察 ( $\times 80$ )

A. 转染 pMSCV PIG 空载体的 293T; B. 转染 pMSCV PIG OIF - 3FLAG 重组载体的 293T

2. 稳定过表达 mimecan 的 HUVEC 细胞株的筛选及鉴定:包装完成的 293T 细胞病毒上清感染 HUVEC 细胞株 48h 后,加嘌呤霉素筛选 2 天,荧光显微镜下观察过表达组 HUVEC 细胞及对照组 HUVEC 细胞均表达 GFP (图 2)。real - time PCR 检测发现,过表达组 mimecan 的 mRNA 表达量较对照组细胞株平均高 10.3 倍,两者差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 图 3)。

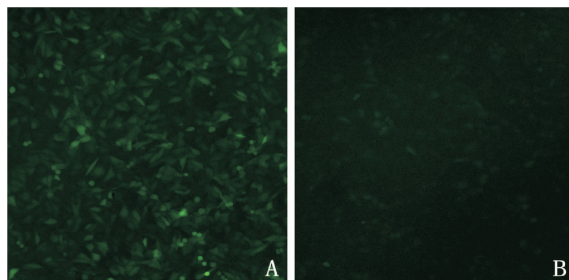


图 2 稳定细胞株 GFP 荧光观察 ( $\times 80$ )

A. 对照组 HUVEC; B. 过表达组 HUVEC

Western blot 法分析显示,过表达组细胞株 FLAG 蛋白表达阳性,对照组细胞株 FLAG 蛋白表达阴性(图4)。上述结果说明稳定过表达 mimecan 的 HUVEC 细胞株构建成功。

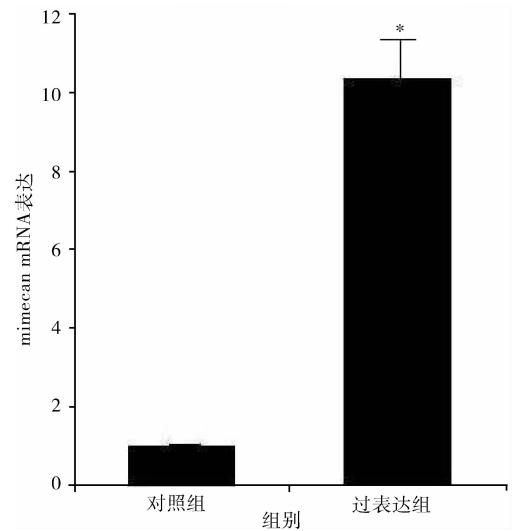


图3 稳定细胞株 mimecan mRNA 相对表达水平  
与对照组比较,\**P*<0.05

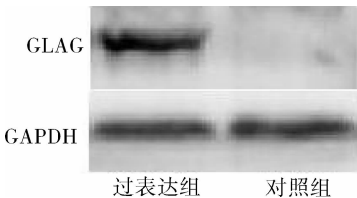


图4 稳定细胞株 FLAG 标签蛋白表达量

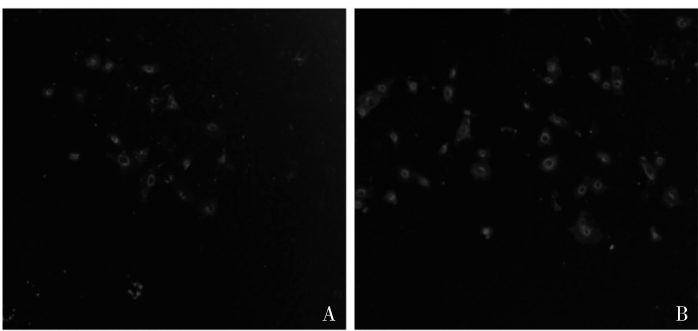


图6 过表达 mimecan 对 HUVEC 凋亡的影响(×200)

A. 对照组 HUVEC 凋亡细胞荧光;B. 过表达组 HUVEC 凋亡细胞荧光;C. 对照组与过表达组两组的凋亡率比较,\**P*<0.05

3. 过表达 mimecan 抑制 HUVEC 增殖:应用 CCK8 法检测过表达 mimecan 后,HUVEC 增殖能力的改变。结果显示,对照组 HUVEC 吸光度平均为 1.151,过表达组 HUVEC 吸光度平均为 1.016,两组有显著性差异(*P*<0.05,图5),提示过表达 mimecan 的 HUVEC 细胞株增殖能力减弱。

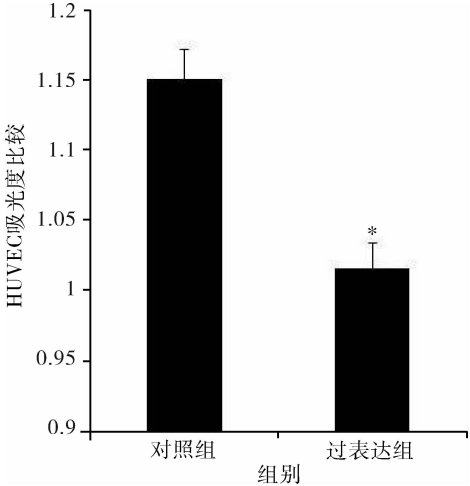
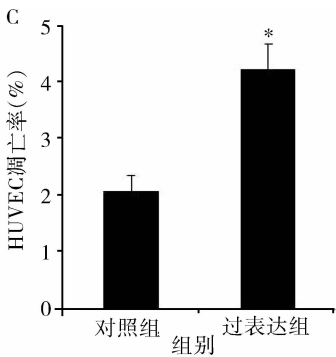


图5 过表达 mimecan 对 HUVEC 增殖能力的影响  
与对照组比较,\**P*<0.05

4. 过表达 mimecan 促进 HUVEC 凋亡:应用 Annexin V - PE 染色观察过表达 mimecan 后,HUVEC 凋亡率的改变。结果显示,过表达组 HUVEC 凋亡率平均为 4.1%,对照组凋亡率平均为 2.1%,两组差异有统计学意义(*P*<0.05,图6),提示过表达 mimecan 的 HUVEC 细胞凋亡率增高。



讨 论

mimecan 最早是从牛的骨基质中提取的一种分泌蛋白,人 mimecan 基因位于 9q22,在不同的组织中广泛表达,该基因在不同种属间基因结构高度保守提

示其在生物体内重要的生理功能<sup>[9,10]</sup>。mimecan 与心血管疾病密切相关,在血管的形成,病理生理改变,动脉粥样硬化、心肌重塑等方面发挥重要作用。Gu 等<sup>[2]</sup>研究发现 mimecan 在去窦弓神经的大鼠模型中

参与了大血管的重塑过程。Petretto 等<sup>[11]</sup>研究发现大鼠 mimecan 表达量与左心室密度呈正相关,提示 mimecan 在心肌重塑中可能发挥了重要作用。Kampmann 等<sup>[6]</sup>通过建立股动脉结扎的兔子模型,发现 mimecan 在大动脉及新生的侧支动脉中主要由外膜的平滑肌细胞及血管周围的成纤维细胞产生,且在侧支动脉的生成过程中表达量下调,这提示 mimecan 与大动脉及外周动脉的形成密切相关。Kwon 等<sup>[7]</sup>应用免疫组化染色发现, mimecan 在动脉硬化斑块钙化区域表达量升高。Borja 等<sup>[8]</sup>发现在 AS 损害中, mimecan 在血管中层表达下降,在激活的内皮和新生内膜中表达上调。一些与血管损伤及生成有关的细胞因子,如成纤维细胞生长因子,转化生长因子  $\beta$ , 血小板源性生长因子及血管紧张素 II 可以下调 mimecan 的表达<sup>[12-14]</sup>。这些提示了 mimecan 可能成为心血管疾病预防及治疗中新的研究方向,但具体的作用机制仍需进一步研究。

AS 发生的病理生理机制包括血管壁的脂质浸润、内皮细胞损伤、平滑肌细胞增殖迁移以及黏附分子介导的炎症等。目前认为血管内皮细胞的损伤是动脉粥样硬化形成的早期始动环节。局部血管内皮细胞更新加快,凋亡增多,内皮细胞增殖和凋亡失衡是 AS 发生、发展的关键因素,影响了血管内膜的完整性,进而诱发 AS。

本研究应用反转录病毒载体 pMSCV PIG 构建了稳定过表达 mimecan 的 HUVEC 细胞模型。pMSCV PIG 载体具有嘌呤霉素抗性和表达 GFP 的特点,便于稳定细胞株的筛选。应用 real-time PCR 技术和 Western blot 法分别从 mRNA 及蛋白表达水平对稳定细胞株进行鉴定。应用 CCK-8 技术检测发现过表达 mimecan 后, HUVEC 的增殖能力下降;应用 Annexin V-PE 染色发现过表达 mimecan 后, HUVEC 的凋亡率增多。血管内皮细胞增殖和凋亡的失衡破坏了血管内壁的连贯性,表现为内皮功能紊乱,包括内皮来源的血管收缩及舒张因子释放改变,诱发血管痉挛;促使血管平滑肌细胞增殖、迁移至内膜下,促进血小板黏附聚集诱发血栓形成等。这些因素共同促进了 AS 的发生、发展。已知影响内皮功能的主要机制,包括内皮信号转导改变, NO 合酶表达的减少, L-精氨酸利用减少,以及活性氧的增加等。而 mimecan 影响内皮细胞增殖和凋亡的机制和途径尚待进一步研究。

综上所述,本研究构建了稳定过表达 mimecan 的

HUVEC 细胞模型,初步研究发现过表达 mimecan 抑制 HUVEC 增殖,促进细胞凋亡。提示 mimecan 通过影响血管内皮细胞的功能进而对动脉粥样硬化的发生发展起作用。有利于进一步研究 mimecan 在心血管疾病中的作用以及寻找防治心血管疾病的新靶点。

#### 参考文献

- 1 Tanaka K, Matsumoto E, Kaji H, *et al.* Role of osteoglycin in the linkage between muscle and bone [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287 (15):11616-11628
- 2 Gu XS, Lei JP, Shi JB, *et al.* Mimecan is involved in aortic hypertrophy induced by sinoaortic denervation in rats [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 352(1~2): 309-316
- 3 郑翠侠, 张晓娜, 马勤耘, 等. 小鼠骨生成诱导因子基因逆转录病毒载体的构建及其在 293T 细胞中的表达 [J]. *上海交通大学学报:医学版*, 2010, 12(30): 1501-1504
- 4 Ge G, Seo NS, Liang X, *et al.* Bone morphogenetic protein-1/tolloid-related metalloproteinases process osteoglycin and enhance its ability to regulate collagen fibrillogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279 (40): 41626-41633
- 5 雷军平, 曹江晨. Mimecan/osteoglycin 与心血管疾病 [J]. *东南国防医药*, 2012, 1 (14): 52-54
- 6 Kampmann A, Fernandez B, Deindl E, *et al.* The proteoglycan osteoglycin/mimecan is correlated with atherogenesis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2009, 322(1-2): 15-23
- 7 Kwon HM, Hong BK, Kang TS, *et al.* Expression of osteopontin in calcified coronary atherosclerotic plaques [J]. *J Korean Med Sci*, 2000, 15(5): 485-493
- 8 Borja F, Andreas K, Frederic P, *et al.* Osteoglycin expression and localization in rabbit tissues and atherosclerotic plaques [J]. *Mol Cell Biochem*, 2003, 246 (1-2): 3-11
- 9 Tasheva ES, Pettenati M, Kap-Her C, *et al.* Assignment of mimecan gene to human chromosome band 9q22 by in situ hybridization [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 2000, 88(3/4): 326-327
- 10 Ma QY, Zhang XN, Song HD, *et al.* Mimecan in pituitary corticotroph cells may regulate ACTH secretion and the HPAA [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 341(1-2): 71-77
- 11 Petretto E, Sarwar R, Cook SA, *et al.* Integrated genomic approaches implicate osteoglycin (Ogn) in the regulation of left ventricular mass [J]. *Nat Genet*, 2008, 40(5): 546-552
- 12 Tasheva ES, Koester A, Conrad GW, *et al.* Mimecan/osteoglycin-deficient mice have collagen fibril abnormalities [J]. *Mol Vis*, 2002, 8:407-415
- 13 Long CJ, Roth MR, Tasheva ES, *et al.* Fibroblast growth factor-2 promotes keratin sulfate proteoglycan expression by keratocytes in vitro [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(18): 13918-13923
- 14 张惠洁, 张晓娜, 陈凤玲, 等. 人骨生成诱导因子基因慢病毒载体构建及在人主动脉平滑肌细胞中稳定过表达 [J]. *蚌埠医学院学报*, 2012, 11(37): 1273-1276

(收稿日期:2014-03-18)

(修回日期:2014-03-26)