

# miR - 21 降解 PTEN 影响香烟提取物诱导的PASMCs 的增殖与迁移

金光军 周冰之 张建成

**摘要 目的** 探讨微小 RNA - 21(miR - 21)的表达对香烟提取物诱导的肺动脉平滑肌细胞中的PTEN/PI<sub>3</sub>K/AKT通路及增殖与迁移的影响。**方法** 分离雄性SD大鼠的肺细小动脉平滑肌细胞(PASMC),10% CSE处理PASMCs 24h后分别在PASMCs中转染miR - NC,miR - 21,anti - miR - NC,anti - miR - 21,通过real - time - PCR检测转染效率。Western blot法检测4组PASMCs增殖及凋亡蛋白PCNA、Bcl - 2,caspase - 3以及PTEN和相关信号通路中AKT/P - AKT的表达量。通过MTT实验比较4组细胞增殖的变化。用细胞划痕和Transwell实验检测4组细胞迁移能力的变化。**结果** 转染miR - 21组的miR - 21表达量与转染miR - NC组的比较表达量上升( $P = 0.000$ ),而anti - miR - 21组的比anti - miR - NC的miR - 21表达量下降( $P = 0.000$ )。在10% CSE处理后,过表达miR - 21后抑制了PTEN的表达从而上调了AKT/P - AKT,进而使PCNA和Bcl - 2的表达上升,caspase - 3的表达被抑制,相反敲降miR - 21后PTEN表达上升,AKT/P - AKT活性下降,PCNA以及Bcl - 2的表达被抑制,caspase - 3表达上升。在10% CSE作用下过表达miR - 21后PASMCs的增殖能力显著增强( $P < 0.01$ ),而敲降miR - 21后PASMCs的增殖能力减弱( $P < 0.01$ )。在10% CSE作用下过表达miR - 21后PASMCs的迁移能力增强,而敲降miR - 21后PASMCs的迁移能力减弱。**结论** miR - 21通过负向调控PTEN从而活化PI<sub>3</sub>K/AKT信号通路促进了香烟提取物诱导的PASMCs的增殖迁移。

**关键词** miR - 21 香烟提取物 肺动脉平滑肌细胞 PTEN/PI<sub>3</sub>K/AKT

中图分类号 R562.1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.01.013

**miR - 21 Lowers the Level of PTEN to Influence the Proliferation and Migration Induced by Cigarette Smoke Extract (CSE) in Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells.** Jin Guangjun, Zhou Bingzhi, Zhang Jiancheng. Department of Emergency Medicine, The Second Affiliated Hospital of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang 310005, China

**Abstract Objective** To investigate the role of miR - 21 in PTEN/PI<sub>3</sub>K/AKT pathway and proliferation, migration induced by cigarette smoke extract (CSE) in pulmonary artery smooth muscle cells (PASMCs). **Methods** The PASMCs in male SD rats were cultured in vitro and stimulated with 10% CSE for 24h, and then the miR - NC, miR - 21, anti - miR - NC, anti - miR21 were transfected into the PASMCs respectively. The expressions of miR - 21 mRNA were detected by real - time fluorescence RT - PCR. The expression of PCNA, Bcl - 2, caspase - 3 and PTEN, AKT/P - AKT were detected by Western blot. The proliferation of PASMCs was examined by MTT assay. (4) The migration of PASMCs was measured by Scratch and Transwell cell test. **Results** The miR - 21 mRNA in transfect miR - 21 group were elevated significantly than those in control group ( $P = 0.000$ ) but the miR - 21 mRNA level in transfect anti - miR21 group were significantly lower than those in control group ( $P = 0.000$ ). Under 10% CSE stimulates miR - 21 overexpression could up - regulation P - AKT/AKT, Bcl - 2, PCNA and down - regulation of PTEN, caspase - 3 while miR - 21 knock down down - regulation P - AKT/AKT, Bcl - 2, PCNA and up - regulation of PTEN and caspase - 3. miR - 21 overexpression promoted PASMCs proliferation ( $P < 0.01$ ), while miR - 21 knock down attenuated proliferation ( $P < 0.01$ ). Compared with the control, the migration ability of PASMCs in miR - 21 overexpression group significantly increased while in miR - 21 knock down group significantly decreased. **Conclusion** miR - 21 lowers the level of PTEN then promotes the activation of PI<sub>3</sub>K/AKT pathway, thereby accelerates the proliferation and migration induced by CSE of PASMCs.

**Key words** miR - 21; Tobacco; Pulmonary artery smooth muscle cells; PTEN/PI<sub>3</sub>K/AKT

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2018KY560)

作者单位:310005 杭州,浙江中医药大学附属第二医院急诊医学科

通讯作者:金光军,电子信箱:jgj2062087@163.com

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease,COPD)发病过程中会伴随血管痉挛、肺血管重塑及肺血栓等症状,从而导致肺血管阻力加强产生肺动脉高压(pulmonary artery hypertension,PAH)<sup>[1]</sup>。

研究表明,在 PAH 的发病过程中,肺血管内皮细胞、平滑肌细胞的过度增殖引起的血管重塑是肺动脉高压疾病发病的重要缘由<sup>[2]</sup>。

近年来研究表明吸烟可导致肺血管重构,其主要机制可能是吸烟产生的烟雾促使人的肺动脉平滑肌细胞(human pulmonary artery smooth muscle cells, HPASMCs)的状态发生改变后产生异样增殖并向内膜迁移<sup>[3~5]</sup>。微小 RNA(microRNA, miRNA)是一种非编码 RNA 约为 22~28 个核苷酸长,在真核生物中广泛存在<sup>[6]</sup>。miRNA 的异常表达与平滑肌的生理状态及 PAH 有着紧密的关联<sup>[7~9]</sup>。已有研究发现,miRNA - 21 可通过负调控 PTEN(gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten)的表达量,影响 PASMCs 的增殖和凋亡<sup>[10]</sup>。PTEN 作为抑癌基因,可以使磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸[phosphatidylinositol(3,4,5)-t risphosphate, PIP<sub>3</sub>]去磷酸化来抑制 PI<sub>3</sub>K/AKT 通路<sup>[11~14]</sup>。笔者初步研究发现,香烟提取物(cigarette smoke extract, CSE)诱导 PASMCs 的增殖和迁移增加,miR - 21 表达增加,抑制 miR - 21 表达能抑制香烟提取物诱导的 PASMCs 增殖和迁移。本研究通过过表达和敲降 miR - 21 看其在 CSE 诱导的 PASMCs 是否通过影响 PTEN/PI<sub>3</sub>K/AKT 通路而影响了 PASMCs 细胞的增殖,迁移的能力。

## 材料与方法

1. 材料:健康 SD 大鼠,体质量 200 ± 20g;武汉卷烟厂生产红双喜牌过滤嘴香烟,每支含尼古丁 1.0mg、焦油 15mg;DMEM 美国购于 Hyclone 公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS) Lipofectamine 2000 转染试剂、Trizol、Opti - MEM 培养基均来自美国 Invitrogen 公司;All - in - OneTMmiRNAQ - PCR Detection Kit 购于上海伯易生物有限公司;miR - 21 引物和 U6 siRNA 引物由上海生工公司合成; $\alpha$ -平滑肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)单克隆抗体、PCNA、Bcl - 2、AKT、P - AKT、PTEN、caspase - 3 以及  $\beta$ -actin 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司;四甲基偶氮唑盐(MTT)粉末来自美国 Sigma 公司;Transwell 小室购于美国 Costar 公司。

2. 分离原代鼠肺动脉平滑肌细胞培养及鉴定:参照文献[15]并稍做修改,超净台内用纤维器械在无菌 PBS 中将肺动脉 3 级以下的分支取下,取下后刮除血管内外膜,放入含有胶原酶 I 的离心管中进行消化,在 CO<sub>2</sub> 培养箱中消化 2~4h,分离得到 PASMCs。

消化所得细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养液,置于 37℃、CO<sub>2</sub> 含量 5% 的培养箱中培养,并对所得细胞进行细胞形态学和  $\alpha$ -SMA IF 及免疫细胞化学(1:1000)进行鉴定。原代培养到 3~6 代的 PASMCs 可用于实验。

3. CSE 制备及干预:CSE 制备参照文献[16]并做适当修改。将去除过滤嘴的香烟点燃,负压将烟雾吸入到含有 DMEM 培养基的封闭的玻璃瓶,轻轻晃动它解散,用氢氧化钠将溶液 pH 值调至 7.4,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤得到 100% 的 CSE 原液。CSE 原液用完全培养基稀释成 10% 用于后续实验。

4. miRNA 转染 PASMCs:将 miR - NC、miR - 21、anti - miR - NC、anti - miR - 21 干粉离心后用 125 μl RNase - free H<sub>2</sub>O 配制成 20 μmol/L 的储存液。转染步骤如下:接种 2 × 10<sup>5</sup> 细胞到 24 孔板中,用无双抗培养基培养过夜后,弃原培养液,PBS 清洗两边后换成 400 μl 在 37℃ 温育的 opti - MEM 培养基。准备 A、B 两个 EP 管,A 管中加入 47.5 μl opti - MEM 后加 25 μl 浓度为 20 μmol/L 的 miR - 21,B 管中将 2 μl 转染试剂(Lipo2000)加入到 48 μl 转染培养基 opti - MEM,A、B 管轻轻混合后室温孵育 5 min;将 B 管液体加入到 A 管中轻轻混匀室温放置 20 min 后,将混合液加入 24 孔板,充分混合;37℃,培养 6 h;加入 1 ml 正常生长液含双倍血清,不移除转染混合物孵育 24 h;换成正常培养基培养 24 h 后分别提取 RNA 和蛋白进行检测。

5. Real - time PCR 检测 miRNA - 21 表达:Trizol 提取 4 组实验细胞总 RNA,加入等体积的异丙醇沉淀 RNA,DEPC 水溶解后,测定 RNA 的纯度,测定后取部分 RNA 跑琼脂糖凝胶电泳进行质检。取 2 μl 总 RNA,应用 All - in - One™ miRNAQ - PCR Detection Kit 进行 RT - PCR 检测,每样品测 3 次,实时定量检测。miRNA - 21 引物序列为:5' - TAGCTTATCAGACTGATGTTGAAAA - 3'。Real - time 分析采用 2<sup>-△△CT</sup> 方法。

6. Western blot 法检测相关蛋白的表达量变化:取对数生长期的 PASMCs 悬液接种在 6 孔板,进行实验干预后提取总蛋白。用 BCA 法进行蛋白定量,定量后跑胶,转膜。转完膜后室温用 TBST 配制 5% BSA 封闭将膜放入其中摇床封闭 1 h,一抗 4℃ 摆育过夜。次日,回收一抗,TBST 溶液洗涤 3 次,每次 5 min,室温二抗摇床孵育 1 h,二抗回收后再次用 TBST 溶液洗 3 次,洗完后膜用 Odyssey 扫描仪扫膜,保存结果用软件进行灰度分析。

7. MTT 检测细胞增殖:胰酶消化转染 4 组 miRNA 后的细胞,终止后离心收集,制成细胞悬液,调整细胞浓度为  $1 \times 10^4$ /孔,轻轻混匀,加入到 96 孔板中,在相应刺激下培养 48h 后,拿出 96 孔板,每孔加用无酚红培养基配制的 MTT 10  $\mu$ l (5 mg/ml, 即 0.5% MTT)。在 37℃ 孵育 4h, 将 150  $\mu$ l 二甲基亚砜溶液加入到各孔。孵育 15min。微孔板每孔吸光度在 570nm, 空白为 0。

8. 划痕实验检测 PASMCs 的迁移能力:先在 6 孔板背后划线,然后分别消化转染 4 种 miRNA 的细胞,并以  $5 \times 10^5$  个细胞数量加入到 6 孔板中,当细胞融合到约 90% 时,单层培养细胞沿培养基的底部放置,并用滴管枪头作为 0h 的时间点,在显微镜下记录划痕区域的宽度。除去培养液,用含 10% CSE 的 10% 胎牛血清培养基在划痕后继续培养至 24h。利用 Image J 软件统计计算,并记录。

9. Transwell 实验检测 PASMCs 的迁移能力:制备处于生长对数期的原代细胞悬液,24 孔板中每孔加 0.5ml, 对细胞进行转染, 转染后将 4 组细胞用胰酶消化后细胞计数板计数, 用只含 10% CSE 的 DMEM 培养液重悬并将细胞浓度调整为  $2 \times 10^8$ /L, 上室每孔加 0.1ml 制备好的的细胞悬液, 下室每孔中加 0.5ml 完全培养液。10% CSE 刺激 24h 后, 用甲醛固定 30min 后风干, 将细胞用 0.1% 结晶紫染色 20min, 棉签轻轻擦去小室上层细胞后, 400 倍显微镜下随机挑选 5 个视野进行统计分析计算细胞数量。

10. 统计学方法:所有数据均以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,采用 SPSS 12.0 统计学软件进行统计分析,两组间比较采用 *t* 检验,多组之间比较采用 *F* 检验,两两之间比较采用 *q* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. RT-PCR 检测 miR-21 mRNA 表达:如图 1 所示,过表达 miR-21 组的 miR-21 含量明显高于转染 miR-NC 组 ( $P = 0.000$ )。而转染 anti-miR-21 组 miR-21 的表达量明显低于转染 anti-miR-NC 组 ( $P = 0.000$ )。

2. Western blot 法检测 miR-21 对 CSE 诱导的 PASMCs 中 PTEN/PI<sub>3</sub>K/AKT 信号转导通路的影响:如图 2 所示,10% CSE 处理后转染 miR-21 和转染 miR-NC 的 PASMCs 相比,PTEN 蛋白表达量下降,从而 P-AKT 显著上升,同时与增殖相关的 PCNA 及 Bcl-2 的表达量增加,而凋亡相关蛋白 caspase-3 的

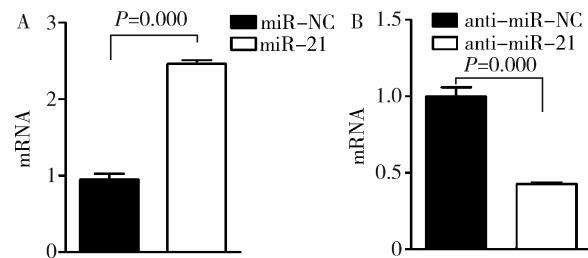


图 1 RT-PCR 检测 miR-21 mRNA 结果

A. 过表达 miR-21; B. 敲降 miR-21

表达量下降。而转染 anti-miR-21 组与转染 anti-miR-NC 组相比,PTEN 表达量上升, P-AKT 显著下降,从而使 PCNA 和 Bcl-2 的表达量下降而 caspase-3 表达量上升。

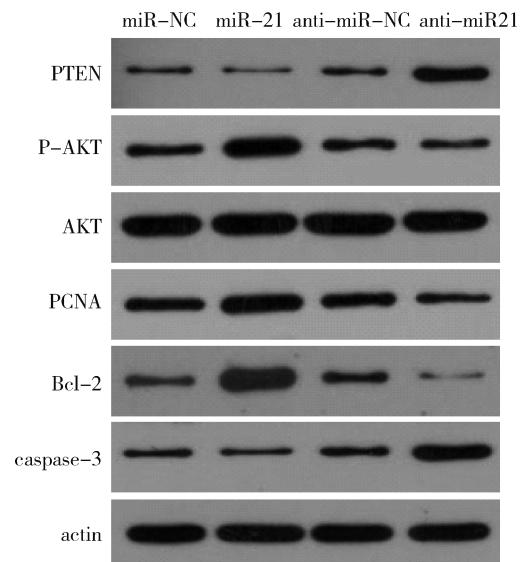


图 2 miR-21 对 CSE 诱导的 PASMCs 中 PTEN/PI<sub>3</sub>K/AKT 信号转导通路中蛋白表达量的影响

3. miR-21 对 CSE 诱导的细胞增殖的影响:如图 3 所示,与对照组比较,转染 miR-21 后 MTT 检测 *A* 值升高 ( $P < 0.01$ ),而转染 anti-miR-21 组与对照组比较,MTT 检测 *A* 值降低 ( $P < 0.01$ )。

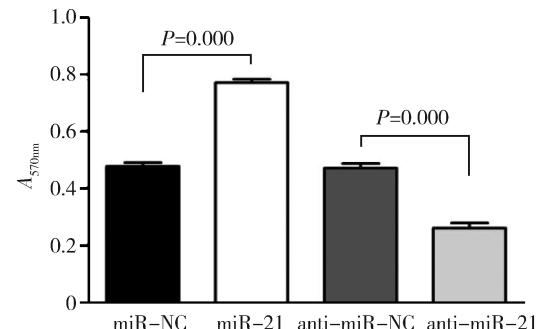


图 3 miR-21 对 CSE 诱导的细胞增殖的影响

4. miR - 21 对 CSE 诱导的细胞迁移的影响:如图 4 所示,转染了 miR - 21 的细胞经 24h 培养后其划痕愈合速度较快,划痕愈合情况明显优于 miR - NC 组 ( $P < 0.01$ ), 而转染了 anti - miR - 21 组的细胞划痕愈合速度较转染 anti - miR - NC 组相比较慢 ( $P <$

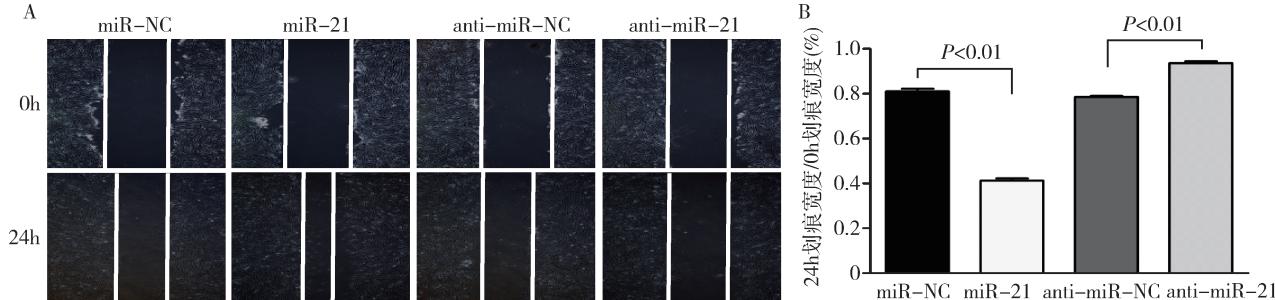


图 4 细胞划痕实验结果

A. 细胞划痕实验照片 ( $\times 200$ ) ; B. 细胞划痕实验量化图

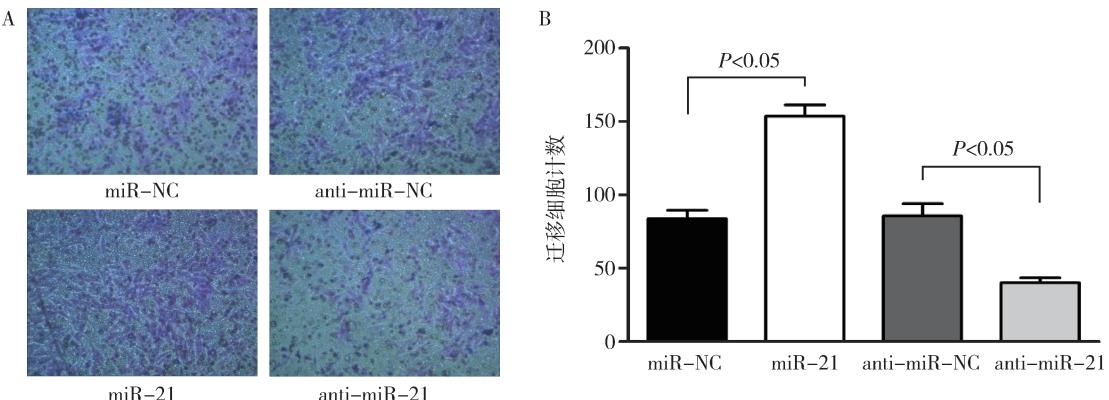


图 5 transwell 实验结果

A. 转染 miR - 21/miR - NC 和转染 anti - miR - 21/anti - miR - NC 细胞培养 36h 后 transwell 小室下层细胞结晶紫染色观察 ( $\times 200$ ) ; B. Transwell 实验量化图

## 讨 论

COPD 在发病的过程中,往往伴随着并发症 PAH,而 PAH 形成的病理学基础是血管重构。PASMCs 的异常增殖、分化和迁移在肺血管重构中发挥着重要作用<sup>[17]</sup>。各种相关因子的平衡失调导致 PASMCs 的异常增殖或迁移,最终导致肺血管中层增厚,管腔狭窄或闭塞,形成 PAH<sup>[18,19]</sup>。Wright 等报道,长期暴露于香烟烟雾的豚鼠出现肺动脉管壁增厚现象,PASMCs 增殖并向内膜迁移,肺小动脉的肌化是造成肺血管结构改变的重要机制<sup>[20]</sup>。microRNA 作为一种非编码 RNA,其作用是通过碱基互补配对的原则和 mRNA 的 3'UTR 区域发生不同程度的互补结合,从而使目标 mRNA 翻译受抑制或降解,进而影响细胞的生物学功能。研究发现,miRNA 在受伤的

0.01)。图 5 可见 miR - 21 转染组的细胞穿膜数量明显多于 miR - NC 组 ( $P < 0.05$ ),而转染 anti - miR - 21 组的细胞穿膜数量明显少于 anti - miR - NC 组 ( $P < 0.05$ )。

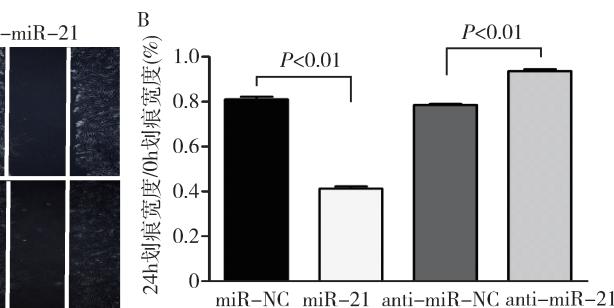


图 4 细胞划痕实验结果

A. 细胞划痕实验照片 ( $\times 200$ ) ; B. 细胞划痕实验量化图

血管平滑肌中上调,参与了血管重构的过程。而在目前 miRNA 的研究过程中,关于 miR - 21 的研究较多,大量实验证实 miR - 21 是唯一一个几乎在所有实体瘤(甲状腺乳头状癌、结肠癌细胞、肝癌细胞等)中过表达的 miRNA<sup>[21~23]</sup>。

实验表明,在血管损伤导致的再狭窄中 miRNA - 21 异常高表达,同时,有研究发现 miRNA - 21 可通过对 PTEN 的负调控来提高 PASMCs 的增殖能力并抑制其凋亡。同时在颈动脉损伤中 miR - 21 上调,导致 PTEN 表达下降,促进了 PASMCs 的增殖<sup>[12]</sup>。2011 年,美国学者认为 miR - 21 与 PTEN 的 mRNA 的 3' - UTR 存在的结合位点<sup>[22]</sup>。在结肠癌患者中,miR - 21 与 PTEN 结合后使 PTEN 的表达量改变而影响细胞的增殖迁移。PTEN 作为一种抑癌基因参与并影

响了 PI<sub>3</sub>K 磷脂酰肌醇 -3 激酶(phosphatidylinositol -3'kinase, PI<sub>3</sub>K)/AKT(又称 protein kinase B, PKB)信号通路的活化。PTEN 与 PI<sub>3</sub>K 的产物 PIP<sub>3</sub>结合从而去磷酸化 PIP<sub>3</sub>, 使 PIP<sub>3</sub> 处于低活化状态从而抑制 AKT 的活化, 来降低 PI<sub>3</sub>K/AKT 信路通路活化水平。该通路被称为 PTEN/PI<sub>3</sub>K/AKT 信号转导通路<sup>[24,25]</sup>。该通路不只和肿瘤的发生、发展有着紧密的联系, 同时很大程度的影响了 PASMCs 的增殖迁移。在 PASMCs 中, 香烟提取物致使 PTEN 失活从而活化 PI<sub>3</sub>K/AKT 通路, 活化的 AKT 可以促使众多蛋白发生磷酸化修饰, 从而促进细胞的增殖, 迁移侵袭, 抑制凋亡。因此笔者推测 miR - 21 能通过负调控 PTEN 而活化 PI<sub>3</sub>K/AKT 通路促进 PASMCs 的增殖迁移从而参与 PAH 的形成。

本研究用通过在 PASMCs 中成功过表达和敲降 miR - 21 并用 10% CSE 处理后通过 WB 检验发现在过表达 miR - 21 后, PTEN 蛋白含量减少, 使 AKT 的磷酸化水平提高, 而提高了增殖相关蛋白 PCNA 的表达量和 Bcl - 2 的蛋白含量, 而凋亡相关蛋白 caspase - 3 的表达量明显下降。而在转染 anti - miR - 21 后, 与转染 anti - miR - NC 比较, PTEN 蛋白表达量上升从抑制了 AKT 的磷酸化导致了 PCNA 和 Bcl - 2 的表达量下降, 而使 caspase - 3 的表达量有所提升。同时, 过表达 miR - 21 组细胞的 MMT 值明显上升, 细胞的增殖速度加快, 迁移能力增强。而敲降 miR - 21 后 MMT 值比对照组下降, 细胞的增殖速度变慢, 迁移能力减弱。

综上所述, 在 CSE 刺激的 PASMCs 中, miR - 21 可以通过负向调控 PTEN 的表达量从而使 PI<sub>3</sub>K/AKT 通路活化, 正向调控了香烟烟雾诱导的 PASMCs 的增殖和迁移。本研究为阐明吸烟致肺动脉高压的机制, 寻找新的治疗手段提供了实验依据。

#### 参考文献

- Pan D, Liu R, Ren S, et al. Prediction of pulmonary arterial hypertension in chronic obstructive lung disease from three-dimensional vectorcardiographic parameters [J]. Ann Noninvasive Electrocardiol, 2016, 21(3):280 - 286
- Tuder RM, Stachere, Robinson, et al. Pathology of pulmonary hypertension [J]. Clin Chest Med, 2013, 34 (4):639 - 650
- Li MX, Chen YH, Liao CC, et al. Role and mechanism of hydrogen sulfide in cigarette smoke induced chronic obstructive pulmonary disease related pulmonary vascular remodeling in rats [J]. Nat Med J China, 2017, 97(2):137 - 142
- 谢俊刚, 徐永健, 张珍祥, 等. 香烟提取物对人支气管平滑肌细胞 DNA 的损伤作用及细胞应激的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(11):2028 - 2030
- Lin JL, Xu YJ, Zhang ZX, et al. Effect of cigarettesmoke extract on the role of protein kinase C in the proliferation of passively sensitized human airway smooth muscle cells [J]. J Huazhong Univer Sci Technol[ Med Sci], 2005, 25(3):269 - 273
- Nikitina EG, Urazova LN, Stegny VN. MicroRNAs and human cancer [J]. Exp Oncol, 2012, 34(1):2 - 8
- Xiao T, Xie L, Huang M, et al. Differential expression of microRNA in the lungs of rats with pulmonary arterial hypertension [J]. Mol Med Rep, 2017, 15(2):591 - 596
- Zhou G, Chen T, Raj JU. MicroRNAs in pulmonary hyper-tension [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2015, 52 (2):139 - 151
- 王泽慧, 边云飞, 卫娜, 等. 大鼠 microRNA - 145 慢病毒表达载体的构建及其对血管平滑肌细胞表型转化的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(5):424 - 428
- Ji R, Cheng Y, Yue J, et al. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of MicroRNA in vascular neointimal lesion formation [J]. Circulat Res, 2007, 100 (11):1579 - 1588
- Mori N, Kyo S, Sakaguchi J, et al. Concomitant activation of AKT with extracellular-regulated kinase 1/2 occurs independently of PTEN or PIK3CA mutations in endometrial cancer and may be associated with favorable prognosis [J]. Cancer Sci, 2007, 98(12):1881 - 1888
- Uegaki K, Kanamori Y, Kigawa J, et al. PTEN-positive and phosphorylated-Akt-negative expression is a predictor of survival for patients with advanced endometrial carcinoma [J]. Oncol Rep, 2005, 14 (2):389 - 392
- Bogusiewicz M, Semczuk A, Gogacz M, et al. Lack of correlation between leptin receptor expression and PI<sub>3</sub>K/Akt signaling pathway proteins immunostaining in endometrioid-type endometrial carcinomas [J]. Cancer Lett, 2006, 238(1):61 - 68
- Esteve FJ, Guo H, Zhang S, et al. PTEN, PIK3CA, p - AKT, and p - p70S6K status: association with trastuzumab response and survival in patients with HER2 - positive metastatic breast cancer [J]. Am J Pathol, 2010, 177(4):1647 - 1656
- 钱国清, 王亮星, 陈婵, 等. 大鼠肺小动脉平滑肌细胞的原代培养及鉴定方法的研究[J]. 应用生理学杂志, 2010, 26(1):125 - 128
- 胡静, 徐永健, 张珍祥, 等. 香烟烟雾提取物通过 PKC 途径促进大鼠肺动脉平滑肌细胞 bFGF 表达[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24 (6):1228 - 1230
- Hautefort A, Chesne J, Preussner J, et al. Pulmonary endothelial cell DNA methylation signature in pulmonary arterial hypertension [J]. Oncotarget, 2017, 8(32):52995 - 53016
- Ma L, Chung WK. The role of genetics in pulmonary arterial hypertension [J]. J Pathol, 2017, 241(2):273 - 280
- Xu X, Hu H, Wang X, et al. Involvement of CapG in proliferation and apoptosis of pulmonary arterial smooth muscle cells and in hypoxia-induced pulmonary hypertension rat model [J]. Exp Lung Res, 2016, 42(3):142 - 153
- Shi F, Long X, Hendershot A, et al. Fibronectin matrixpolymerization regulates smooth muscle cell phenotype through a Rac1 dependent mechanism [J]. PLoS One, 2014, 9(4):e94988 (下转第 73 页)

- in active surveillance of prostate cancer:a systematic review[J]. Eur Urol, 2015, 67(4):627–636
- 2 Kim TH, Jeong JY, Lee SW, et al. Diffusion – weighted magnetic resonance imaging for prediction of insignificant prostate cancer in potential candidates for active surveillance[J]. Eur Radiol, 2015, 25(6):1786–1792
- 3 李拔森, 王良, 闵祥德, 等. 第二版前列腺影像报告和数据系统对前列腺癌的诊断价值[J]. 放射学实践, 2016, 31(12):1138–1142
- 4 李鹏, 黄英, 李艳, 等. 多参数磁共振成像诊断和鉴别诊断外周带早期PC和前列腺炎[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(37):2973–2977
- 5 Fusco R, Sansone M, Petrillo M, et al. Multiparametric MRI for prostate cancer detection:preliminary results on quantitative analysis of dynamic contrast enhanced imaging, diffusion – weighted imaging and spectroscopy imaging [J]. Magn Reson Imaging, 2016, 34(7):839–845
- 6 Iannelli G, Caivano R, Rago L, et al. Diffusion – weighted magnetic resonance imaging in patients with prostate cancer treated with radiotherapy[J]. Tumori, 2016, 102(1):71–76
- 7 Riches SF, Payne GS, Morgan VA, et al. Multivariate modelling of prostate cancer combining magnetic resonance derived T2, diffusion, dynamic contrast – enhanced and spectroscopic parameters[J]. Eur Radiol, 2015, 25(5):1247–1256
- 8 Yuan Q, Costa DN, Sénégas J, et al. Quantitative diffusion – weighted imaging and dynamic contrast – enhanced characterization of the index lesion with multiparametric MRI in prostate cancer patients[J]. J Magn Reson Imaging, 2017, 45(3):908–916
- 9 Tae KJ, Xu S, Wood BJ, et al. Automated prostate cancer detection using T2 – weighted and high – b – value diffusion – weighted magnetic resonance imaging[J]. Med Phys, 2015, 42(5):2368–2378
- 10 马向征, 王世威, 许茂盛, 等. DCE – MRI联合DWI定量分析在前列腺癌诊断中的应用价值[J]. 浙江医学, 2017, 39(1):7–11
- 11 Scheenen TW, Rosenkrantz AB, Haider MA, et al. Multiparametric magnetic resonance imaging in prostate cancer management: current status and future perspectives[J]. Invest Radiol, 2015, 50(9):594–600
- 12 Matsugasaki T, Baco E, Palmer S, et al. Prostate cancer volume estimation by combining magnetic resonance imaging and targeted biopsy – proven cancer core – length: Correlation with cancer volume [J]. J Urol, 2015, 194(4):957–965
- 13 Othman AE, Falkner F, Weiss J, et al. Effect of temporal resolution on diagnostic performance of dynamic contrast – enhanced magnetic resonance imaging of the prostate[J]. Invest Radiol, 2015, 51(5):290–296
- 14 Boroomand A, Shafiee MJ, Khalvati F, et al. Noise – compensated, bias – corrected diffusion weighted endorectal magnetic resonance imaging via a stochastically fully – connected joint conditional random field model[J]. IEEE Trans Med Imaging, 2016, 35(12):2587–2597
- 15 Radtke JP, Kuru TH, Boxler S, et al. Comparative analysis of transperineal template saturation prostate biopsy versus magnetic resonance imaging targeted biopsy with magnetic resonance imaging – ultrasound fusion guidance[J]. J Urol, 2015, 193(1):87–94
- 16 Grant KB, Agarwal HK, Shih JH, et al. Comparison of calculated and acquired high b – value diffusion – weighted imaging in prostate cancer[J]. Abdom Imaging, 2015, 40(3):578–586
- 17 王永杰, 金彪, 吴斌, 等. DCE – MRI定量参数结合DWI对前列腺癌的诊断价值[J]. 中国医学计算机成像杂志, 2017, 23(3):247–251
- 18 Brock M, Roghmann F, Sonntag C, et al. Fusion of magnetic resonance imaging and real – time elastography to visualize prostate cancer: A prospective analysis using whole mount sections after radical prostatectomy[J]. Ultraschall Med, 2015, 36(4):355–361
- 19 Matsuoka Y, Numao N, Saito K, et al. Candidate selection for quadrant – based focal ablation through a combination of diffusion – weighted magnetic resonance imaging and prostate biopsy[J]. BJU Int, 2016, 117(1):94–101
- 20 Moldovan PC, Van d BT, Sylvester R, et al. What is the negative predictive value of multiparametric magnetic resonance imaging in excluding prostate cancer at biopsy? A systematic review and Meta – analysis from the European Association of Urology Prostate Cancer Guidelines Panel[J]. Eur Urol, 2017, 72(2):250–266

(收稿日期:2018-03-15)

(修回日期:2018-04-14)

(上接第51页)

- 21 Ren J, Kuang TH, Chen J, et al. The diagnostic and prognostic values of microRNA – 21 in patients with gastric cancer:a meta – analysis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(1):120–130
- 22 Nielsen BS, Jorgensen S, Fog JU et al. High levels of microRNA – 21 in the stroma of colorectal cancers predict short disease – free survival in stage II colon cancer patients [J]. Clin Exp Metastasis, 2011, 28(1):27–38
- 23 张莎,任安,经吴弘,等. microRNA调控平滑肌细胞分化和表型转换的分子机制研究进展[J]. 医学研究杂志, 2017, 46(11):175–

178

- 24 Haddadi N, Lin Y, et al. PTEN/PTENP1: ‘Regulating the regulator of RTK – dependent PI<sub>3</sub>K/Akt signalling’, new targets for cancer therapy [J]. Nat Rev Urol, 2018, 17(1):37
- 25 Kim DH, Suh J, Surh YJ, et al. Regulation of the tumor suppressor PTEN by natural anticancer compounds [J]. Ann N Y Acad Sci, 2017, 1401(1):136–149

(收稿日期:2018-03-15)

(修回日期:2018-04-16)