

PDR 患者视网膜前膜中 miR-126 和 VEGF 的表达及意义

金 益 卢珊珊 牟晓月

摘 要 **目的** 研究 miR-126 和血管内皮生长因子(VEGF)在增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)视网膜前膜中的表达及其与新生血管生成的关系。**方法** 将 2015 年 4 月~2018 年 4 月在笔者医院眼科行玻璃体切除术的 PDR 患者 80 例(80 眼)作为研究对象(PDR 组),同时期行玻璃体切除术的 50 例(50 眼)特发性黄斑裂孔(IMH)患者作为对照(IMH 组),分别采集患者视网膜前膜组织,RT-PCR 检测前膜组织中 miR-126、VEGF mRNA、CD34 mRNA 表达水平,免疫组织化学染色检测 VEGF 和 CD34 在视网膜前膜中表达情况,并计数微血管密度,分析 PDR 患者视网膜前膜组织中 miR-126 表达水平与 VEGF、CD34 的相关性。**结果** PDR 组患者视网膜前膜组织中 miR-126 相对表达量显著低于 IMH 组患者($P < 0.05$),VEGF mRNA、CD34 mRNA 相对表达量显著高于 IMH 组患者($P < 0.05$);免疫组化染色结果,PDR 组患者视网膜前膜中 VEGF、CD34 均呈阳性表达,且多于 IMH 组患者,PDR 组患者视网膜前膜中 VEGF IA 值、MVD 均显著高于 IMH 组患者($P < 0.05$);PDR 组患者视网膜前膜组织中 miR-126 与 VEGF 表达水平呈显著负相关($r = -0.543, P = 0.014$),与 CD34 表达呈显著负相关($r = -0.730, P = 0.000$),VEGF 与 CD34 表达水平呈显著正相关($r = 0.571, P = 0.005$)。**结论** PDR 患者视网膜前膜中 miR-126 表达降低,VEGF 表达升高,可能是 PDR 新生血管形成的重要调控机制。

关键词 增殖性糖尿病视网膜病变 miR-126 血管内皮生长因子 CD34 视网膜前膜

中图分类号 R587.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.06.022

Expressions and Significances of MiR-126 and VEGF in the Anterior Retinal Membrane of patients with PDR. Jin Yi, Lu Shanshan, Mou Xiaoyue. Department of Ophthalmology, Taizhou First People's Hospital, Zhejiang 318020, China

Abstract Objective To investigate the expressions of miR-126 and vascular endothelial growth factor(VEGF) in the anterior retinal membrane of proliferative diabetic retinopathy(PDR) and their relationships with neovascularization. **Methods** Eighty cases(80 eyes) of PDR patients who underwent vitrectomy in our hospital from April 2015 to April 2018 were selected as subjects(group PDR). Fifty patients(50 eyes) with idiopathic macular hole(IMH) who underwent vitrectomy at the same time were as controls(group IMH). The tissues of the anterior retinal membrane were collected, respectively. RT-PCR was used to detected the expression of levels of miR-126, VEGF mRNA and CD34 mRNA in the anterior membrane tissue. Immunohistochemistry was used to detect the expressions of VEGF and CD34 in the epiretinal membrane, and the microvascular density was counted. The correlations between the expression of miR-126 with VEGF and CD34 in the epiretinal membrane of PDR patients were analyzed. **Results** The relative expression of miR-126 in group PDR was significantly lower than that in group IMH($P < 0.05$). The relative expressions of VEGF mRNA and CD34 mRNA were significantly higher than those in group IMH($P < 0.05$). Immunohistochemical staining showed that the expressions of VEGF and CD34 in the retina of group PDR were positive, and were more than the those of group IMH. The values of VEGF IA and MVD in anterior retinal membrane of group PDR were significantly higher than those of group IMH($P < 0.05$). The miR-126 expression level in the epiretinal membrane tissue of group PDR was significantly negatively correlated with the VEGF expression level($r = -0.543, P = 0.014$), was significantly negatively correlated with the CD34 expression level($r = -0.730, P = 0.000$). VEGF expression level was significantly positively correlated with the CD34 expression level($r = 0.571, P = 0.005$). **Conclusion** The expression of miR-126 is decreased and the expression of VEGF is increased in the epiretinal membrane of PDR patients. It may be an important regulatory mechanism of PDR angiogenesis.

Key words Proliferative diabetic retinopathy; miR-126; Vascular endothelial growth factor; CD34; Anterior retinal membrane

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LY15H130018)

作者单位:318020 台州市第一人民医院眼科(金益、卢珊珊),风湿免疫科(牟晓月)

通讯作者:卢珊珊,电子信箱:shanshanlaichi1984@163.com

增生性糖尿病视网膜病变 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 是糖尿病的严重并发症之一, 糖尿病性视网膜损害刺激视网膜新生血管生成, 引起纤维增殖, 严重者可牵拉视网膜导致视网膜脱离, 导致患者视力严重下降甚至失明^[1]。miR-126 位于内皮细胞分泌的表皮生长因子样结构域 7 中, 多项研究证实, miR-126 在角膜新生血管等新生血管类眼科疾病中发挥重要调控作用^[2,3]。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 能够特异性地作用于内皮细胞, 促进血管内皮细胞增殖、迁移和血管形成, 是重要的促血管内皮细胞生长因子^[4]。本研究通过检测 PDR 患者视网膜前膜中 miR-126、VEGF 表达, 探究 miR-126 与 PDR 新生血管形成的可能作用机制, 现报道如下。

资料与方法

1. 一般资料: 选择 2015 年 4 月 ~ 2018 年 4 月在笔者医院眼科行玻璃体切除术的 PDR 患者 80 例 (80 眼) 作为研究对象 (PDR 组)。纳入标准: (1) 均为 2 型糖尿病, 符合《中国 2 型糖尿病防治指南 (2013 版)》中诊断标准^[5]。(2) 经眼底荧光血管造影等检查有视网膜新生血管形成、玻璃体积血等。(3) 患者及其家属对本研究知情同意。(4) 经医院伦理学委员会批准。排除标准: (1) 高血压症、青光眼、角膜新生血管等其他眼部疾病。(2) 合并严重心脏、肝脏、肾脏、血液病、免疫系统及代谢系统疾病。(3) 无既往眼部手术史、激光治疗史及严重前节屈光间质浑浊。另选择同时期行玻璃体切除术的非糖尿病特发性黄斑裂孔 (idiopathic macular hole, IMH) 患者 50 例 (50 眼) 作为对照 (IMH 组)。

2. 视网膜前膜采集: 术前控制 PDR 患者血糖在正常范围, 行常规眼压、视力等检查。采用 23G 三切口玻璃体切除术, 剥离视网膜前膜, 使用显微镊 (广州达美康科技有限公司) 取出膜组织。

3. RT-PCR: 取视网膜前膜组织, 提取膜组织 RNA, 分别以 U6、 β -actin 为内参对照, RT-PCR 检测膜组织中 miR-126 和 VEGF mRNA、CD34 mRNA 相对表达量。miR-126 引物上游: 5'-GGGGTCG-TACCGTGAGT-3', 下游: 5'-CACTGCGTGTCGTG-GAGT-3', VEGF 引物上游: 5'-AGGGCAGAATCAT-CACGAAG-3', 下游: 5'-GGGAACGCTCCAGGACT-TAT-3', CD34 引物上游: 5'-CCTGCCGTCTGT-CAATGTC-3', 下游 5'-GCACTCCTCGGATTCCT-GAAC-3'。

4. 免疫组织化学染色: 将上述视网膜前膜迅速转入 10% 甲醛固定液中固定 10 ~ 24h, 经不同浓度梯度乙醇脱水后, 使用二甲苯置换出膜组织中乙醇, 浸蜡后包埋于石蜡中, 冷却后, 连续切片 4mm 厚, 摊片, 70℃ 烤片 1h。组织染色方法: 石蜡切片经常规脱蜡、脱水、组织抗原修复及阻断内源性过氧化酶活性后, 加入正常山羊血清封闭, 室温放置 30min 后, 分别加入稀释过的山羊抗兔 VEGF 抗体、鼠抗人 CD34 抗体 (上海艾博抗贸易有限公司), 以 PBS 代替一抗作为对照, 4℃ 下过夜孵育后, 室温放置 30min, 冲洗, 加入二抗 (上海艾博抗贸易有限公司), 37℃ 孵育 1h, 冲洗。DAB 染色, 苏木素复染, 脱水、封片, 显微镜下观察、拍照。

5. 图像分析: (1) VEGF 蛋白分布密度: 显微镜下, 采用计算机图像采集系统随机采集每个 VEGF 免疫组化染色切片的 3 个区域图像, 应用 Image-pro-plus 6.0 软件分析图像, 细胞质或 (和) 细胞膜呈棕褐色为阳性, 选取特定阳性区域, 计算阳性区域积分吸光度 (integral absorbance, IA) 值, 以 IA 平均值代表 VEGF 蛋白分布密度。(2) 微血管密度 (microvessel density, MVD) 计数: 参考韩林峰等^[6]方法计数 MVD, 被 CD34 抗体染色为棕褐色的单个内皮细胞或细胞簇即为 1 个微血管计数, 组织结构不相连的分支结构也记作 1 个微血管, 排除血管肌层较厚的血管。首先显微镜 ($\times 100$) 下找到微血管最多的区域, 然后计数 ($\times 200$) 3 个视野的微血管数, 取 3 个视野平均数作为 MVD。

6. 统计学方法: 采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行分析, 计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组比较采用两独立样本 t 检验, 计数资料采用百分数 (%) 表示, 两组比较采用 χ^2 检验, 相关性分析采用 Pearson 相关系数 (r) 法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组一般资料: PDR 组和 IMH 组患者性别、年龄、术前眼压等一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 术前血糖、最佳矫正视力等一般资料比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 详见表 1。

2. 两组 miR-126、VEGF mRNA 表达水平: PDR 组患者视网膜前膜组织中 miR-126 相对表达量低于 IMH 组患者, VEGF mRNA、CD34 mRNA 相对表达量高于 IMH 组患者, 两组患者视网膜前膜组织中 miR-126、VEGF mRNA、CD34 mRNA 相对表达量

表 1 两组一般资料比较

组别	<i>n</i>	性别(男性/女性)	年龄(岁)	术前血糖(mmol/L)	术前最佳矫正视力	术前眼压(mmHg) ^Δ
PDR 组	80	44/36	64.32 ± 8.24	9.41 ± 2.27	0.05 ± 0.01	18.82 ± 4.54
IMH 组	50	27/23	66.17 ± 9.58	5.63 ± 1.84	0.15 ± 0.04	17.65 ± 3.76
<i>t/χ²</i>		0.012	1.169	9.910	21.363	1.524
<i>P</i>		0.911	0.245	0.000	0.000	0.130

^Δ1mmHg = 0.133kPa

比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 2 和图 1。

表 2 PDR 组和 IMH 组患者视网膜前膜组织中 miR-126、VEGF mRNA 表达水平

组别	<i>n</i>	miR-126	VEGF mRNA	CD34 mRNA
PDR 组	80	0.47 ± 0.11	1.32 ± 0.31	0.96 ± 0.27
IMH 组	50	0.92 ± 0.24	0.64 ± 0.18	0.33 ± 0.09
<i>t</i>		14.529	14.085	15.935
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

网膜前膜中 VEGF、CD34 均呈阳性表达,IMH 组患者视网膜前膜中 VEGF、CD34 阳性表达较 PDR 组减少。PDR 组患者视网膜前膜中 VEGF IA 值为 0.031,IMH 组患者视网膜前膜中 VEGF IA 值为 0.016,PDR 组患者视网膜前膜中 VEGF IA 值显著高于 IMH 组患者($t = 11.619, P = 0.000$)。200 倍显微镜下计数,PDR 组视网膜前膜 MVD 为 5.82 ~ 10.31 个,平均 MVD 为 8.06 ± 1.57 个,IMH 组 MVD 为 1.96 ~ 5.87 个,平均 MVD 为 3.91 ± 0.82 个,PDR 组患者视网膜前膜 MVD 显著高于 IMH 患者($t = 4.058, P = 0.015$),详见图 2。

3. 免疫组化:免疫组化染色发现,PDR 组患者视

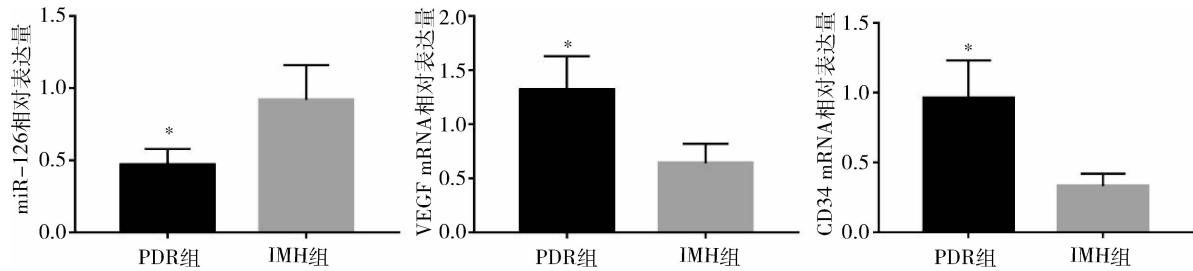


图 1 miR-126、VEGF mRNA、CD34 mRNA 相对表达量
与 IMH 组比较,* $P < 0.05$

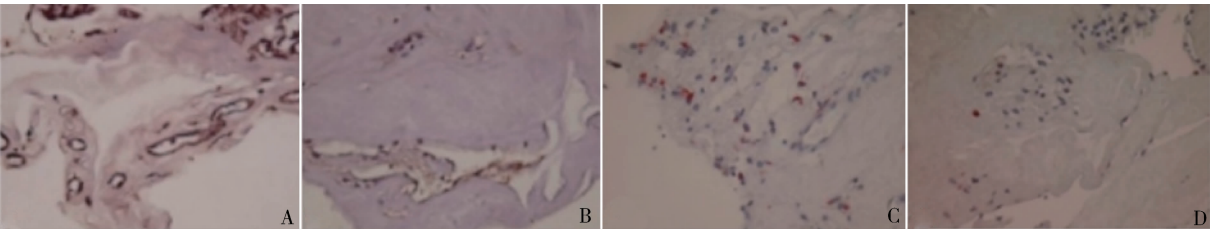


图 2 PDR 组患者视网膜前膜中 VEGF 免疫组化(×400)

A. PDR 组 VEGF 蛋白表达;B. IMH 组 VEGF 蛋白表达;C. PDR 组 CD34 阳性细胞;D. IMH 组 CD34 阳性细胞

4. PDR 组 miR-126、VEGF 的关系:PDR 组患者视网膜前膜组织中 miR-126 与 VEGF 表达水平呈显著负相关($r = -0.543, P = 0.014$),与 CD34 表达呈显著负相关($r = -0.730, P = 0.000$);PDR 组患者视网膜前膜组织中 VEGF 与 CD34 表达水平呈显著正相关($r = 0.571, P = 0.005$),详见图 3。

讨 论

糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是由持续性高血糖引起的一种慢性、进行性危害视力的视网膜微血管病变,PDR 以视网膜出现新生血管形成为主要特征,对患者视力危害更大^[7,8]。研究表明,miR-126 表达下调可能与糖尿病患者内皮损伤

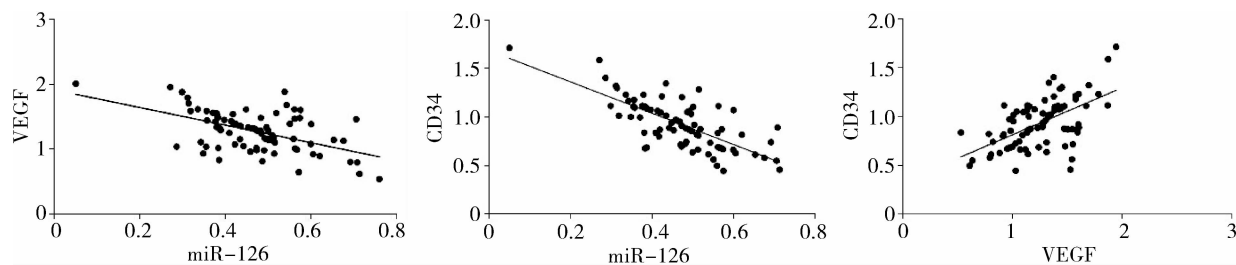


图3 miR-126、VEGF、CD34 的相关性分析

有关,并通过介导内皮功能损伤参与糖尿病血管并发症发生^[9]。

动物实验表明,DR 小鼠内皮细胞和视网膜周细胞中 miR-126 表达明显降低,IRS-1 明显升高,而过表达 miR-126 可明显抑制内皮细胞和视网膜周细胞侵袭和生存能力,抑制 IRS-1 及 PI_3K/AKT 通路蛋白表达,提示 miR-126 在 DR 发生中具有重要调控作用,可能是 DR 的潜在治疗靶点^[10]。CD34 抗原一种与新生小血管相关的阶段特异性白细胞分化抗原,选择性地表达与人类血管内皮细胞、祖细胞表面,在新生血管内皮细胞中表达量远高于非新生血管内皮,是最稳定、敏感且特异性的新生血管内皮标志物^[11,12]。本研究显示,PDR 患者视网膜前膜组织中 miR-126 相对表达量显著低于对照组,VEGF mRNA、CD34 mRNA 相对表达量显著高于对照组,免疫组化观察发现,PDR 组患者视网膜前膜中 VEGF、CD34 阳性表达多于对照组,PDR 组 VEGF 蛋白分布密度及 MVD 均显著高于对照组,说明 PDR 患者新生血管增多。

DR 病理改变包括视网膜基膜增厚、毛细血管闭塞、血-视网膜屏障破坏及新生血管生成等,毛细血管闭塞可导致视网膜局部缺氧,引发 VEGF 等促进组织血管生成因子的产生,进一步促进新生血管生成,使 DR 发展成为 PDR^[13,14]。VEGF 参与 DR 的发病机制包括:①糖代谢的多元醇通路异常激活可进一步激活 VEGF 基因,促进 DR 病程进展;②高糖可激活蛋白激酶 C 途径,通过上调 VEGF,促进新生血管形成,促进 DR 进展为 PDR;③糖基化终末产物 (AGEs) 过量产生促进 VEGF 分泌,增加视网膜毛细血管通透性;④VEGF 促进慢性炎症过程,进一步损害视网膜内皮细胞^[15,16]。多项研究证实,VEGF 是 miR-126 的靶基因,两者在促进新生血管生成、维持血管完整性等过程中存在调控作用。如 Chen 等^[17]研究证实,过表达 miR-126 可以通过负调控 VEGF-A 信号,

抑制胃癌肿瘤生长和肿瘤血管生成。另有研究表明,miR-126 在风湿性关节炎中低表达,促进成骨细胞中 VEGF 表达,增加内皮细胞血管生成,而过表达 miR-126 则有相反效果^[18]。

本研究显示,PDR 患者视网膜前膜中 miR-126 表达水平与 CD34 呈显著负相关,而 VEGF 表达水平与 CD34 呈显著正相关,说明视网膜前膜中 miR-126、VEGF 表达水平与新生血管生成有关。PDR 患者视网膜中 VEGF 表达异常增高,诱导大量新生血管生成,手术中极易出现活动性出血而影响手术成功率。近年来临床实验表明,抗 VEGF 治疗抑制新生血管活动性,可有效提高手术成功率^[19]。本研究表明,PDR 患者视网膜前膜中 miR-126 表达水平与 VEGF 呈显著负相关,推测 miR-126 和 VEGF 在 PDR 新生血管生成中存在调控机制,通过干扰 miR-126 表达,可降低视网膜前膜中 VEGF 表达,对 PDR 病情发展起抑制作用,且有助于提高 PDR 治愈率及术后视力恢复。

综上所述,PDR 患者视网膜前膜中 miR-126 和 VEGF 异常表达,可能是新生血管形成的重要病理机制,在 PDR 发病及进展过程中发挥重要调控作用,提示 miR-126 可作为 PDR 临床治疗的新靶点。但 miR-126 和 VEGF 在视网膜前膜新生血管形成的具体调控途径有待于进一步探究。

参考文献

- 1 李若琳,陈楠. 血管内皮生长因子和结缔组织生长因子在增生型糖尿病视网膜病变中的研究进展[J]. 临床眼科杂志, 2015, 23(6):573-576
- 2 程帅帅,张红. miR-126 对角膜新生血管的影响[J]. 东南大学学报:医学版, 2015, 34(5):828-831
- 3 Wang L, Lee AYW, Wigg JP, et al. miR-126 regulation of angiogenesis in age-related macular degeneration in CNV mouse model [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(6):895
- 4 尤巧英,黄迪华,诸葛福媛,等. 血管生成素 2 及血管内皮生长因子与 2 型糖尿病大血管病变的关系[J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 22(3):252-254
- 5 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年

- 版)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2014, 30(10):26-89
- 6 韩林峰, 柯根杰, 王林, 等. 全视网膜激光凝对增生型糖尿病视网膜病变视网膜前膜中环氧化酶-2、血管内皮生长因子表达的影响[J]. 中华眼底病杂志, 2016, 32(2):140-143
- 7 Nentwich MM, Ulbig MW. Diabetic retinopathy - ocular complications of diabetes mellitus[J]. World J Diabetes, 2015, 6(3):489-499
- 8 魏堂堂, 顾永昊. 糖尿病性视网膜病变发病机制研究进展[J]. 实用防盲技术, 2016, 11(3):127-131
- 9 何亚非, 黄婷, 刘艳霞, 等. 1型糖尿病患者血浆 microRNA-126 变化与内皮功能的相关性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(5):485-488
- 10 Fang S, Ma X, Guo S, *et al.* MicroRNA-126 inhibits cell viability and invasion in a diabetic retinopathy model via targeting IRS-1[J]. Oncol Lett, 2017, 14(4):4311-4318
- 11 Siemerink MJ, Hughes MR, Dallinga MG, *et al.* CD34 promotes pathological epi-retinal neovascularization in a mouse model of oxygen-induced retinopathy[J]. PLoS One, 2016, 11(6):e0157902
- 12 Foroozan M, Roudi R, Abolhasani M, *et al.* Clinical significance of endothelial cell marker CD34 and mast cell marker CD117 in prostate adenocarcinoma[J]. Pathol Res Prac, 2017, 213(6):612-618
- 13 张凤俊, 易敬林, 李晶明, 等. 糖尿病视网膜病变发病机制研究进展[J]. 眼科新进展, 2016, 36(6):584-587
- 14 Klaassen I, de Vries EW, Imc V, *et al.* Identification of proteins associated with clinical and pathological features of proliferative diabetic retinopathy in vitreous and fibrovascular membranes[J]. PLoS One, 2017, 12(11):e0187304
- 15 谢一英, 李瑞琳, 逯朝阳, 等. 高糖对 AhR 及其血管生成相关因子表达的影响[J]. 热带医学杂志, 2017, 17(11):1433-1436
- 16 陈小红, 王云鹏, 陈梅珠, 等. VEGF 在糖尿病性视网膜病变发病机制中的作用及抗 VEGF 治疗新进展[J]. 眼科新进展, 2015, 35(7):692-696
- 17 Chen H, Li L, Wang S, *et al.* Reduced miR-126 expression facilitates angiogenesis of gastric cancer through its regulation on VEGF-A[J]. Oncotarget, 2014, 5(23):11873-11885
- 18 Chen C, Su C, Hsu C, *et al.* CCN1 promotes VEGF production in osteoblasts and induces endothelial progenitor cell angiogenesis by inhibiting miR-126 expression in rheumatoid arthritis[J]. J Bone Miner Res, 2017, 32(1):34-45
- 19 李冰, 叶俊杰. 抗血管内皮生长因子在辅助增生性糖尿病视网膜病变手术治疗中的应用[J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(1):87-92

(收稿日期:2018-09-17)

(修回日期:2018-09-21)

(上接第94页)

- 7 Hasegawa A, Yonezawa T, Taniguchi N, *et al.* Role of fibulin 3 in aging-related joint changes and osteoarthritis pathogenesis in human and mouse knee cartilage[J]. Arthri Rheumatol, 2017, 69(3):576-585
- 8 Ratneswaran A, Sun MMG, Dupuis H, *et al.* Nuclear receptors regulate lipid metabolism and oxidative stress markers in chondrocytes[J]. J Mol Med, 2017, 95(4):431-444
- 9 Sakao K, Takahashi KA, Arai Y, *et al.* Induction of chondrogenic phenotype in synovium-derived progenitor cells by intermittent hydrostatic pressure[J]. Osteoarthritis Cartil, 2008, 16(6):805-814
- 10 Wang K, David AE, Choi YS, *et al.* Scaffold materials from glycosylated and PEGylated bovine serum albumin[J]. J Biomed Mater Res Part A, 2015, 103(9):2839-2846
- 11 邵博, 贺多敏, 龚忠诚, 等. 软骨上清液与转化生长因子诱导滑膜间充质干细胞向软骨细胞分化的对比研究[J]. 口腔医学研究, 2017, 33(4):353-357
- 12 Novakofski KD, Torre CJ, Fortier LA. Interleukin-1 α , -6, and -8 decrease Cdc42 activity resulting in loss of articular chondrocyte phenotype[J]. J Orthopaed Res, 2012, 30(2):246-251
- 13 Kalpakci KN, Brown WE, Hu JC, *et al.* Cartilage tissue engineering using dermis isolated adult stem cells: the use of hypoxia during expansion versus chondrogenic differentiation[J]. PLoS One, 2014, 9(5):e98570
- 14 Toegel S, Pabst M, Wu SQ, *et al.* Phenotype-related differential α -2,6- or α -2,3-sialylation of glycoprotein N-glycans in human chondrocytes[J]. Osteoarthritis Cartil, 2010, 18(2):240-248
- 15 Shi M, Zhang Y, Liu L, *et al.* MAP1S protein regulates the phagocytosis of bacteria and Toll-like receptor (TLR) signaling[J]. J Biol Chem, 2016, 291(3):1243-1250
- 16 van Caam A, Madej W, Thijssen E, *et al.* Expression of TGF β -family signalling components in ageing cartilage: age-related loss of TGF β and BMP receptors[J]. Osteoarthritis Cartil, 2016, 24(7):1235-1245
- 17 Tan AR, VandenBerg CD, Attur M, *et al.* Cytokine preconditioning of engineered cartilage provides protection against interleukin-1 insult[J]. Arthritis Res Ther, 2015, 17(1):361
- 18 Zhong L, Schivo S, Huang X, *et al.* Nitric oxide mediates crosstalk between interleukin 1 β and WNT signaling in primary human chondrocytes by reducing DKK1 and FRZB expression[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(11):2491
- 19 Goldring MB. The role of the chondrocyte in osteoarthritis[J]. Arthritis & Rheumatology, 2000, 43(9):1916-1926
- 20 Novakofski KD, Torre CJ, Fortier LA. Interleukin-1 α , -6, and -8 decrease cdc42 activity resulting in loss of articular chondrocyte phenotype[J]. J Orthop Res, 2012, 30(2):246-251
- 21 Kong L, Ge BX. MyD88-independent activation of a novel actin-Cdc42/Rac pathway is required for Toll-like receptor-stimulated phagocytosis[J]. Cell Research, 2008, 18(7):745-755
- 22 Suzuki W, Yamada A, Aizawa R, *et al.* Cdc42 is critical for cartilage development during endochondral ossification[J]. Endocrinology, 2014, 156(1):314-322
- 23 Blom M, Reis K, Heldin J, *et al.* The atypical rho GTPase RhoD is a regulator of actin cytoskeleton dynamics and directed cell migration[J]. Exp Cell Res, 2017, 352(2):255-264
- 24 Nagahama R, Yamada A, Tanaka J, *et al.* Rho GTPase protein Cdc42 is critical for postnatal cartilage development[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2016, 470(4):813-817
- 25 Wang J, Wang C, Xu C, *et al.* Signaling cascades governing Cdc42-mediated chondrogenic differentiation and mesenchymal condensation[J]. Genetics, 2016, 202(3):1055-1069
- 26 石杨, 盛坤, 张敏, 等. 微流控芯片流体剪切力和肿瘤坏死因子- α 共同作用对大鼠软骨细胞表型的影响[J]. 色谱, 2017, 35(4):458-465

(收稿日期:2018-02-24)

(修回日期:2018-03-27)