

Slfn1 通过下调 Cyclin D1 抑制内皮祖细胞的黏附功能

况春燕¹, 张璐², 吴强¹, 杨天和¹, 舒金¹, 张萍¹
(贵州省人民医院 1. 心内科, 2. 体检中心, 贵州省贵阳市 550003)

[关键词] 睡眠因子 1; Cyclin D1; 内皮祖细胞

[摘要] **目的** 探讨睡眠因子 1(Slfn1) 对内皮祖细胞(EPC)黏附功能的影响。**方法** 实验分为空白对照组(未给予任何处理的 EPC, N-control 组)、腺病毒阴性对照组(Ad-control 组)、Slfn1 腺病毒载体组(Ad-Slfn1 组)、发夹状 RNA 阴性对照组(ShRNA-control 组)、发夹状 RNA Slfn1 干扰组(ShRNA-Slfn1 组)。分离培养大鼠骨髓源性 EPC, 用 ShRNA-control 质粒、Ad-Slfn1 及相应的对照质粒分别转染 EPC, 采用 Western blot 检测细胞 Slfn1 及 Cyclin D1 表达, 将 EPC 接种在预先铺好纤维连接蛋白的培养板中, 观察其黏附功能。用流式细胞仪检测细胞周期。**结果** ShRNA-Slfn1 组 Slfn1 蛋白的表达明显低于 ShRNA-control 组, Ad-Slfn1 组 Slfn1 蛋白的表达明显高于 Ad-control 组, 说明转染有效。用 ShRNA-Slfn1 减弱 EPC Slfn1 基因的表达明显增强 EPC 的黏附能力, 过表达 Slfn1 基因则明显抑制 EPC 的黏附能力。细胞周期检查结果显示, 降低 EPC Slfn1 基因的表达, EPC 的细胞周期进入到 S 期细胞明显增多, 过表达 Slfn1 基因使 EPC 的细胞周期停止在 G1 期。Western blot 检测结果发现, ShRNA-Slfn1 组 Cyclin D1 的蛋白表达明显高于 ShRNA-control 组, 而 Ad-Slfn1 组 Cyclin D1 的蛋白表达则明显低于 Ad-control 组。**结论** Slfn1 通过下游靶点 Cyclin D1 负性调控 EPC 的黏附功能。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Slfn1 Reduces the Adhesion of Endothelial Progenitor Cells by Decreasing CyclinD1

KUANG Chun-Yan¹, ZHANG Lu², WU Qiang¹, YANG Tian-He¹, SHU Jin¹, and ZHANG Ping¹

(1. Department of Cardiology, 2. Medical Examination Center, The People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang, Guizhou 550003, China)

[KEY WORDS] Schlafen 1; Cyclin D1; Endothelial Progenitor Cell

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the effect of Schlafen 1 (Slfn1) on the adhesion of endothelial progenitor cells (EPC). **Methods** Ad-Slfn1, ShRNA-Slfn1, ShRNA-control and Ad-control were transfected into EPC respectively. Then EPC were plated on fibronectin-coated culture dishes, adherent cells were counted. The protein of Slfn1 and Cyclin D1 were examined by Western blot. EPC cell cycle was examined by flow cytometry analysis. **Results** On 48 h after transfected ShRNA-Slfn1, the expression of Slfn1 protein was decreased significantly compared to that in ShRNA-control group ($P < 0.05$), the transfection of Ad-Slfn1 reversed these responses. Overexpression of Slfn1 suppressed the adhesion of EPC; conversely, the silencing of Slfn1 using shRNA-Slfn1 increased the adhesion of EPC. In addition, cell cycle was arrested G1 phase in Ad-Slfn1 group. Whereas the transfection of shRNA-Slfn1 reversed these responses. The expression of Cyclin D1 protein after transfection of shRNA-Slfn1 was increased clearly compared to that in ShRNA-control group ($P < 0.05$), in contrast, overexpression of Slfn1 reversed these results. Cyclin D1 was involved in Slfn1-mediated EPC adhesion. **Conclusion** Slfn1 reduced the adhesion of EPC through Cyclin D1.

冠心病是常见的心血管疾病, 尽管目前经皮冠状动脉支架植入术越臻完善, 但其对冠状动脉粥样

硬化的临床效果有限, 且内皮受损^[1-4]。而内皮细胞的再生能力有限, 不足以预防血管内膜增厚, 药

[收稿日期] 2015-04-02

[修回日期] 2015-07-29

[基金项目] 国家自然科学基金(81360034); 贵州省科技厅-贵州省人民医院联合基金(黔科合 LS 字[2011]024 号)

[作者简介] 况春燕, 博士, 副主任医师, 贵州医科大学硕士研究生导师, 研究方向为冠心病、血管损伤与修复, E-mail 为 xi-aokay@sina.com。张璐, 医师, 研究方向为冠心病、血管损伤与修复, E-mail 为 121981891@qq.com。吴强, 博士, 主任医师, 研究方向为冠心病、血管损伤与修复, E-mail 为 413972183@qq.com。

物洗脱支架通过抑制平滑肌细胞增殖的同时也抵制内皮细胞增殖,延缓内皮修复过程,增加晚期血栓形成的风险^[5]。内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)是血管内皮细胞修复的一重要来源,其主要来源于骨髓,能归巢到损伤部位,增殖分化成内皮细胞,参与修复损伤的血管内皮^[6-7]。近来的研究也显示,循环 EPC 在数量和功能上已成为冠心病等心血管疾病危险因素的预测指标^[8-9]。人类的临床试验发现移植 EPC 能改善下肢缺血症状^[10]。但是,由于 EPC 生物学功能的分子调控机制目前仍不清楚,从而使其临床应用受到制约。

睡眠因子(Schlafen, Slfn)基因家族是近年来发现的一类新的细胞生长调节基因,广泛参与细胞增殖、分化及凋亡等多种病理生理过程的调控。Slfn1 基因是 Slfn 家族中研究最早的基因之一,其广泛表达在主动脉、静脉、造血干细胞及骨髓^[11]。并参与调节多种细胞的生长发育,在基因敲除 Slfn1 的小鼠,胸腺细胞的增殖受到抑制;在小鼠的纤维细胞、仓鼠卵巢上皮细胞珠、T 细胞、巨噬细胞,过表达 Slfn1,使细胞周期停止在 G1 期,从而抑制以上细胞增殖^[12-14]。而我们的前期研究也发现,Slfn1 作为 TRPC1 的下游靶点参与 TRPC1 对 EPC 增殖能力的调控^[15],通过基因干扰方法降低 Slfn1 在 EPC 的表达,在体外增加了 EPC 增殖能力及管状形成能力,反之,过表达 Slfn1 则逆转了这种作用^[16]。但 Slfn1 是否影响 EPC 的黏附功能,目前尚不清楚。为此,本研究拟通过基因过表达及干扰的方法改变 Slfn1 在 EPC 的表达水平,在体外研究其对 EPC 黏附功能的影响。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

大鼠 Slfn1 重组腺病毒载体(Ad-Slfn1)和空病毒载体(Ad-control)由上海和元生物技术有限公司构建;大鼠 Slfn1 发夹状 RNA 干扰质粒(ShRNA-Slfn1)及发夹状 RNA 阴性对照(ShRNA-control)购自德国 QIAGEN 公司;FITC 标记的抗大鼠 CD34、CD133 和 VEGFR, Dil 标记的乙酰化低密度脂蛋白(Dil-ac-LDL)及异硫氰酸荧光素标记的荆豆凝集素 I(FITC-UEA-I)购自美国 Bios 公司;抗 Cyclin D1 抗体及抗 Slfn1 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;胎牛血清购自美国 Gibco 公司;SD 大鼠由第三军医大学动物实验中心提供。

1.2 EPC 的培养、鉴定、转染及分组

以大鼠后腿的股骨和胫骨髓为原材料,培养 EPC 5~7 天后用于实验^[15]。培养 5~7 天的 EPC 用 Dil-ac-LDL(10 g/L)孵育,放置在培养箱中过夜,吸出培养板中 Dil-ac-LDL,用 2% 多聚甲醛固定 10 min, PBS 浸洗 3 次后,加 FITC-UEA-I 于标本内, 37℃ 孵育 1 h,用倒置荧光显微镜观察,双染阳性细胞为 EPC。流式细胞术鉴定:培养 5~7 天的 EPC 用 FITC 标记的抗 CD133、VEGFR-2、CD34 及同型对照抗体避光孵育 1 h 后上机检测^[15,17]。根据试剂使用方法将质粒加入 EPC,转染 48 h 后用于实验。实验分组:发夹状 RNA 干扰 Slfn1 组(ShRNA-Slfn1 组)、发夹状 RNA 阴性对照组(ShRNA-control 组)、Slfn1 腺病毒载体组(Ad-Slfn1 组)、腺病毒阴性对照组(Ad-control 组)、空白对照组(未给予任何处理的 EPC, N-control 组)。

1.3 细胞黏附功能测定

将转染质粒 48 h 的 EPC 用于实验。细胞用胰酶消化后,各组用同等量的细胞接种于预先铺好纤维连接蛋白的培养板中,置 37℃ 培养箱中培养 30 min, PBS 洗 3 次,随机选取 5 个高倍镜视野($\times 200$)计数贴壁细胞^[18]。

1.4 细胞周期测定

首先用无血清的 DMEM 培养液加入到培养 5~7 天的 EPC,培养 24 h,其目的是使细胞周期同步化。继之转染以上质粒,转染 48 h 后进行实验。细胞经 PBS 洗 3 次后,加入 0.25% 胰蛋白酶消化,之后用预冷的 70% 乙醇固定 24 h,用 PBS 洗去固定液,加入 25 $\mu\text{g/L}$ RNA 酶, 50 $\mu\text{g/L}$ PI 溶液,于 37℃ 水浴 30 min,最后用流式细胞仪测定细胞周期^[16]。

1.5 Western blot 检测 Slfn1 和 Cyclin D1 的蛋白表达

收取转染后 48 h 的细胞,用细胞裂解液提取细胞总蛋白,用 Bradford 法^[19]测量蛋白含量。并将质量相同的总蛋白分别加载到每个泳道上,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳。继之转膜过夜,之后分别加入抗 Slfn1、Cyclin D1 抗体和 β -actin 室温孵化 1 h,最后加入用辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵化 1 h。之后用化学发光法显影蛋白条带,用凝胶成像分析系统对蛋白条带定量。

1.6 统计学方法

用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间两两比较采用 LSD 检验,多组间均值差异检验采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠骨髓源 EPC 的鉴定

荧光双染结果显示,EPC 摄取 UEA-I 表现为蓝色荧光,摄取 Dil-ac-LDL 表现红色荧光,同时摄取

Dil-ac-LDL 和 UEA-I 的细胞表现黄色荧光,即为双染阳性细胞,双染阳性率为 $91.00\% \pm 0.02\%$ 。流式细胞仪检测 CD133、CD34 及 VEGFR-2 分子在 EPC 上的表达,结果显示 VEGFR-2 为 78.59% ,CD133 为 80.38% ,CD34 为 80.69% (图 1)。

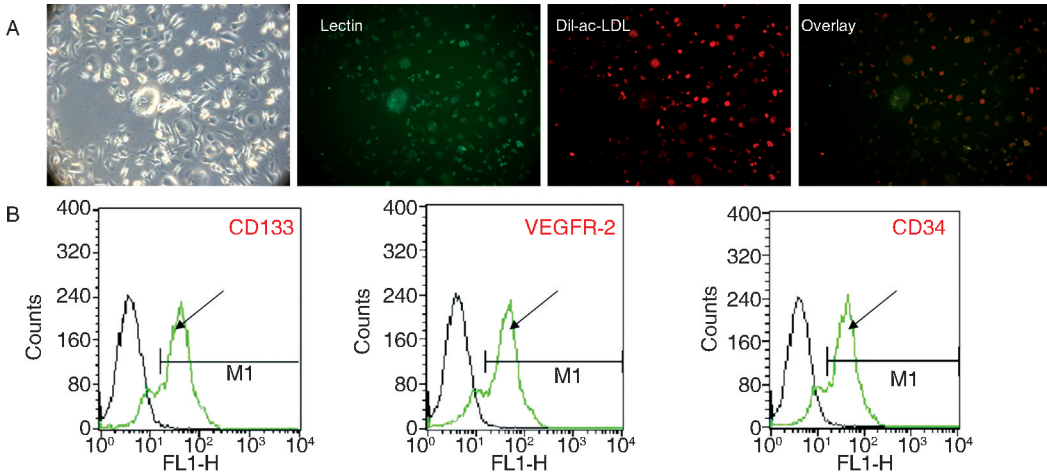


图 1. 大鼠骨髓源 EPC 的特征 A 为荧光双染鉴定 EPC,每孔细胞 3 个随机视野观察,×200 倍;B 为流式细胞仪检测 CD133、VEGFR-2 及 CD34 分子在 EPC 的表达,黑线区域表示同型阴性对照,绿线区域表示 CD133、VEGFR-2 及 CD34 分子的表达。

Figure 1. Characteristics of bone marrow-derived EPC

2.2 质粒转染效率

ShRNA-Slfn1 组 Slfn1 蛋白表达水平低于 ShRNA-control 组 (0.47 ± 0.02 比 0.92 ± 0.03 ; $P < 0.05$),而 Ad-Slfn1 组 Slfn1 蛋白表达高于 Ad-control 组 (1.21 ± 0.04 比 0.78 ± 0.06 ; $P < 0.05$),说明转染有效(图 2)。

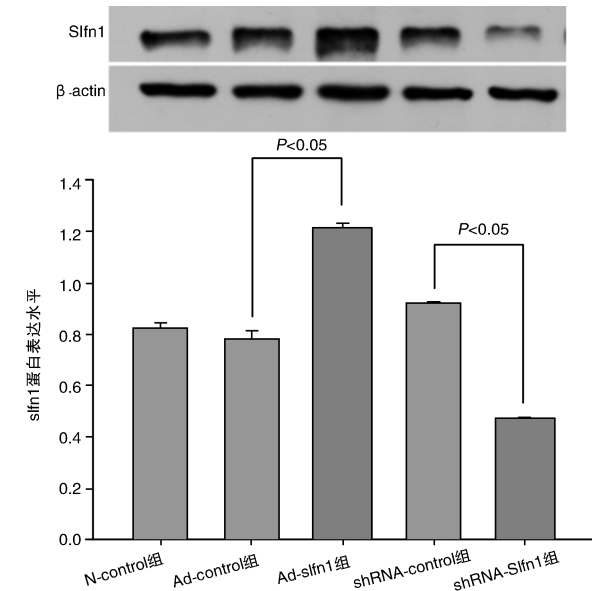


图 2. 质粒转染效率检测($n = 3$)

Figure 2. Transfection efficiency of plasmid($n = 3$)

2.3 EPC 黏附能力

ShRNA-Slfn1 组 EPC 黏附数目明显多于 ShRNA-control 组($P < 0.05$),而 Ad-Slfn1 组 EPC 黏附数目明显少于 Ad-control 组($P < 0.05$;表 1 和图 3)。

2.4 EPC 细胞周期分布

ShRNA-Slfn1 组 EPC 分布在 G1 期的数目明显少于 ShRNA-control 组 ($P < 0.05$),而 ShRNA-Slfn1 组 EPC 进入到 S 期的数目多于 ShRNA-control ($P < 0.05$)。Ad-Slfn1 组 EPC 分布于 G1 期的数目多于 Ad-control 组 ($P < 0.05$),而分布于 S 期的数目低于 Ad-control 组 ($P < 0.05$)。Ad-control 组和 ShRNA-control 组 EPC 各细胞周期分布数目与 N-control 组相比差异均无统计学意义(表 2 和图 4)。

表 1. Slfn1 对 EPC 黏附功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1. Effects of Slfn1 on adhesion of EPC($\bar{x} \pm s, n = 6$)

分 组	黏附细胞数
N-control 组	12.50 ± 0.43
Ad-control 组	11.33 ± 0.49
Ad-Slfn1 组	5.00 ± 0.52^a
shRNA-control 组	11.67 ± 0.88
shRNA-Slfn1 组	18.50 ± 0.43^b

a 为 $P < 0.05$,与 Ad-control 组比较;b 为 $P < 0.05$,与 shRNA-control 组比较。

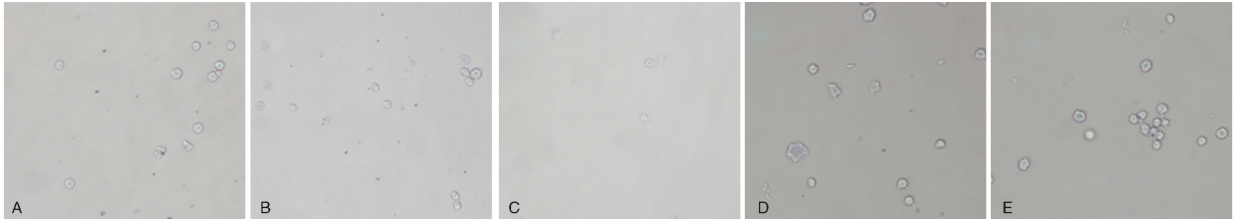


图 3. 细胞黏附代表图(×200) A 为 N-control 组,B 为 Ad-control 组,C 为 Ad-Slfn1 组,D 为 shRNA-control 组,E 为 shRNA-Slfn1 组。
Figure 3. Representative pattern of adhesion in EPC(×200)

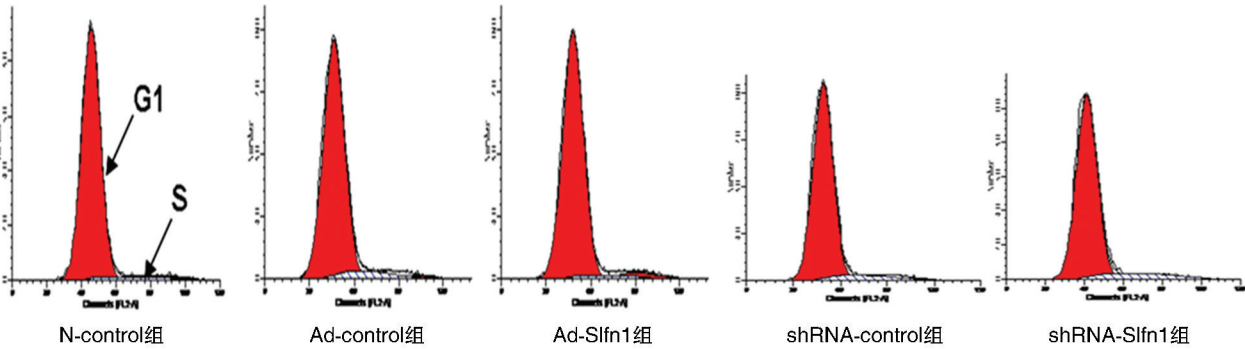


图 4. 细胞周期代表图
Figure 4. Representative pattern of cell cycle

表 2. 各组 EPC 细胞周期的分布($\bar{x} \pm s$, $n = 3$, %)

Table 2. Cell cycle distribution of EPC in each group($\bar{x} \pm s$, $n = 3$, %)

分 组	G1 期	G2 期	S 期
N-control 组	91.08 ± 0.26	1.90 ± 0.64	7.02 ± 0.90
Ad-control 组	89.71 ± 0.45	2.82 ± 0.74	7.47 ± 0.42
Ad-Slfn1 组	92.11 ± 0.10 ^a	3.77 ± 0.93	4.12 ± 0.92 ^a
shRNA-control 组	90.42 ± 0.57	2.17 ± 0.14	7.40 ± 0.47
shRNA-Slfn1 组	86.93 ± 0.87 ^b	2.16 ± 0.14	10.90 ± 0.28 ^b

a 为 $P < 0.05$, 与 Ad-control 组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 shRNA-control 组比较。

2.5 Cyclin D1 蛋白表达

Ad-Slfn1 组 Cyclin D1 蛋白表达水平低于 Ad-control 组(0.51 ± 0.05 比 0.81 ± 0.01 ; $P < 0.05$), 而 ShRNA-Slfn1 组 Cyclin D1 蛋白表达水平高于 ShRNA-control 组(1.13 ± 0.03 比 0.82 ± 0.04 ; $P < 0.05$; 图 5)。

3 讨 论

本研究有三个主要的发现:①过表达 EPC 的 Slfn1 基因明显抑制 EPC 的黏附功能,反之,基因干扰 EPC 的 Slfn1 基因则增加 EPC 的黏附功能。②过

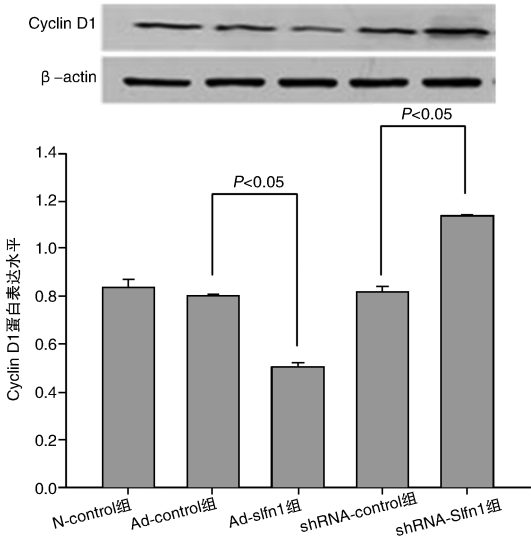


图 5. EPC 中 Cyclin D1 蛋白的表达($n = 3$)
Figure 5. Expression of Cyclin D1 protein in EPC($n = 3$)

表达 EPC 的 Slfn1 基因,EPC 的细胞周期停止在 G1 期,反之,降低 EPC 的 Slfn1 基因表达,EPC 的细胞周期进展到 S 期。③Slfn1 基因通过下游靶点 Cyclin D1 调控 EPC 的黏附功能。

EPC 通过增殖、迁移、黏附等归巢到血管损伤部位修复损伤的血管内皮,参与内皮的完整性及功能的维持^[20]。EPC 的黏附能力是其必备的生物学特性。研究报道,EPC 的黏附功能参与选择素和结

合素对 EPC 的归巢、定置到损伤血管处的功能^[5]。动脉的切应力增加 EPC 黏附到血管内皮生长因子结合的表面^[21]。纤维包被的释放内皮细胞生长因子的微载体促进了 EPC 的黏附能力^[22]。耐拜十四烷酯在体外能促进 EPC 黏附到血管内皮和细胞外基质的能力^[23]。但是,Slfn1 是否影响 EPC 的黏附功能,目前尚未见报道。

Slfn1 基因是细胞周期基因,主要通过下调 Cyclin D1 的表达使细胞周期停止在 G1 期,不能进展到 S 期,从而影响细胞周期的进展,继而调控细胞的生物学行为^[12-14]。我们的前期研究发现,Slfn1 在 EPC 过表达抑制 EPC 的增殖、迁移及管状形成能力,而干扰 Slfn1 基因在 EPC 的表达,则逆转这种作用^[16,24]。众所周知,细胞的生物学行为包括增殖、迁移、分化、凋亡、黏附等功能,相互之间密不可分。Slfn1 是否也调节 EPC 的黏附能力,目前尚不清楚。因此,本研究在前期研究基础上继续研究 Slfn1 对 EPC 黏附功能的影响。结果发现,在体外过表达 EPC 的 Slfn1 基因,抑制 EPC 的黏附功能,反之,通过发夹状 RNA 降低 EPC 的 Slfn1 基因的表达,能逆转这种作用,增强了 EPC 的黏附功能。研究报道,Slfn1 主要通过其下游靶点 Cyclin D1 影响细胞周期的进展期,从而调节细胞的生物学功能^[13]。为此,我们通过改变 EPC 上 Slfn1 基因的表达,观察其对 EPC 细胞周期的影响,结果发现,过表达 Slfn1 基因使 EPC 的细胞周期停滞在 G1 期,而降低 Slfn1 基因在 EPC 的表达则促进细胞周期由 G1 期向 S 期进展。我们进一步检测了 Slfn1 基因的下游靶点基因 Cyclin D1^[13]的表达,结果发现,过表达 Slfn1 基因下调 Cyclin D1 的表达,反之,降低 Slfn1 基因在 EPC 的表达则上调 Cyclin D1 的表达。Cyclin D1 是细胞周期基因,它主要作用于细胞周期的 G1 期向 S 期的进展,从而调节细胞的增殖、迁移等生物学行为^[16,24]。而已有的研究也表明,Cyclin D1 和细胞的黏附功能密切相关,基因沉默 Wnt1 可诱导信号蛋白 3 (Wnt1-inducible signaling protein-3, WISP3) 通过下调其下游靶基因 Cyclin D1 和转录因子 4 (transcription factor-4, TCF-4) 抑制胃癌细胞的增殖、迁移和黏附功能^[25]。激活 Notch-1 信号通路,通过上调其下游的靶基因 Cyclin D1、血管内皮生长因子等促进人类乳腺癌细胞的黏附、增殖、迁移功能^[26]。而我们的研究结果和以上研究结果是一致的,由此我们推测,Slfn1 基因通过其下游靶点 Cyclin D1 调节 EPC 的黏附功能。

总之,以上的研究表明,Slfn1 基因通过其靶基

因 Cyclin D1 在体外负性调控 EPC 的黏附功能,Slfn1 基因在由 EPC 介导的血管内皮的完整性及功能的维持上可能发挥关键的作用。

[参考文献]

- [1] Weiss DR, Juchem G, Kemkes BM, et al. Extensive deendothelialization and thrombogenicity in routinely prepared vein grafts for coronary bypass operations: facts and remedy [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2009, 2 (2): 95-113.
- [2] Sitia S, Tomasoni L, Atzeni F, et al. From endothelial dysfunction to atherosclerosis [J]. *Autoimmun Rev*, 2010, 9 (12): 830-834.
- [3] 刘挺海, 褚现明, 安毅. 内皮祖细胞对 PCI 术后内皮损伤的修复作用研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23 (3): 315-320.
- [4] 何文凤, 倪海燕, 吕湛. 超敏 C 反应蛋白与冠心病相关性研究进展 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2013, 33 (5): 437-441.
- [5] Mani G, Chandrasekar B, Feldman MD, et al. Interaction of endothelial cells with self-assembled monolayers for potential use in drug-eluting coronary stents [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2009, 90 (2): 789-801.
- [6] Asahara T, Kawamoto A, Masuda H. Concise review: Circulating endothelial progenitor cells for vascular medicine [J]. *Stem Cells*, 2011, 29 (11): 1 650-655.
- [7] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. *Science*, 1997, 275 (5302): 964-967.
- [8] Umemura T, Soga J, Hidaka T, et al. Aging and hypertension are independent risk factors for reduced number of circulating endothelial progenitor cells [J]. *Am J Hypertens*, 2008, 21 (11): 1 203-209.
- [9] Schwartzberg S, Afek A, Charach G, et al. Comparative analysis of the predictive power of different endothelial progenitor cell phenotypes on cardiovascular outcome [J]. *World J Cardiol*, 2010, 2 (9): 299-304.
- [10] Kawamoto A, Katayama M, Handa N, et al. Intramuscular transplantation of G-CSF-mobilized CD34(+) cells in patients with critical limb ischemia: a phase I/IIa, multicenter, single-blinded, dose-escalation clinical trial [J]. *Stem Cells*, 2009, 27 (11): 2 857-864.
- [11] Bustos O, Naik S, Ayers G, et al. Evolution of the Schlafen genes, a gene family associated with embryonic lethality, meiotic drive, immune processes and orthopoxvirus virulence [J]. *Gene*, 2009, 447 (1): 1-11.
- [12] Schwarz DA, Katayama CD, Hedrick SM. Schlafen, a new family of growth regulatory genes that affect thymocyte development [J]. *Immunity*, 1998, 9 (5): 657-668.
- [13] Brady G, Boggan L, Bowie A, et al. Schlafen-1 causes a

- cell cycle arrest by inhibiting induction of cyclin D1[J]. J Biol Chem, 2005, 280 (35): 30 723-734.
- [14] Zhang Y, Yang Z, Cao Y, et al. The Hsp40 family chaperone protein DnaJB6 enhances Schlafen1 nuclear localization which is critical for promotion of cell-cycle arrest in T-cells[J]. Biochem J, 2008, 413 (2): 239-250.
- [15] Kuang CY, Yu Y, Wang K, et al. Knockdown of transient receptor potential canonical-1 reduces the proliferation and migration of endothelial progenitor cells[J]. Stem Cells Dev, 2012, 21 (3): 487-496.
- [16] Kuang CY, Yang TH, Zhang Y, et al. Schlafen 1 inhibits the proliferation and tube formation of endothelial progenitor cells[J]. PLoS One, 2014, 9 (10): e109711.
- [17] 龚如, 江基尧. 内皮祖细胞在缺血性脑血管疾病治疗中的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科杂志, 2014, 41 (2): 130-133.
- [18] Lucchesi D, Russo R, Gabriele M, et al. Grain and bean lysates improve function of endothelial progenitor cells from human peripheral blood: involvement of the endogenous antioxidant defenses[J]. PLoS One, 2014, 9 (10): e109298.
- [19] Da Silva MA, Arruda MA. Mechanization of the Bradford reaction for the spectrophotometric determination of total proteins[J]. Anal Biochem, 2006, 351 (1): 155-157.
- [20] Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells functional characterization [J]. Trends Cardiovasc Med, 2004, 14 (8): 318-322.
- [21] Suzuki Y, Yamamoto K, Ando J, et al. Arterial shear stress augments the differentiation of endothelial progenitor cells adhered to VEGF-bound surfaces[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 423 (1): 91-97.
- [22] Musilli C, Karam JP, Paccosi S, et al. Pharmacologically active microcarriers for endothelial progenitor cell support and survival[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2012, 81 (3): 609-616.
- [23] Powerski M, Henrich D, Sander A, et al. In vitro manipulation of endothelial progenitor cell adhesion to vascular endothelium and extracellular matrix by the phorbol ester PMA[J]. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol, 2011, 39 (4): 214-222.
- [24] 张璐, 况春燕, 杨天和. 睡眠分子1负性调控内皮祖细胞迁移的体外研究[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42 (11): 951-956.
- [25] Fang F, Zhao WY, Li RK, et al. Silencing of WISP3 suppresses gastric cancer cell proliferation and metastasis and inhibits Wnt/beta-catenin signaling [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7 (10): 6 447-461.
- [26] Li L, Zhao F, Lu J, et al. Notch-1 signaling promotes the malignant features of human breast cancer through NF-kappaB activation[J]. PLoS One, 2014, 9 (4): e95912.
- (此文编辑 文玉珊)