

VEGF₁₆₅转染内皮祖细胞移植对大鼠肾脏缺血再灌注的保护作用

薛建新^{1,2}, 秦志强², 李 潇³, 曹 朴¹, 贾瑞鹏^{4*}

¹东南大学附属第二医院泌尿外科, 江苏 南京 210003; ²南京医科大学第一附属医院泌尿外科, 江苏 南京 210029; ³南京医科大学附属肿瘤医院泌尿外科, 江苏 南京 210009; ⁴南京医科大学附属南京医院泌尿外科, 江苏 南京 210006

[摘要] 目的: 评估 VEGF₁₆₅ 基因转染的内源性内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)移植治疗肾脏缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)的作用, 进一步阐明 EPCs 对肾脏 IRI 产生保护作用的旁分泌机制。方法: 40 只成年雄性 SD 大鼠被随机分成 4 组, 其中包括假手术组、缺血再灌注组、EPC 移植组、携带 VEGF₁₆₅ 基因转染组。利用重组腺病毒载体 Ad-VEGF₁₆₅ 感染 EPCs, 并进行转染效率鉴定。并进一步移植治疗大鼠肾脏 IRI, 术后 24 h 和 72 h 分别评估血清肌酐及尿素氮水平; 组织病理学检查评估各组大鼠术后肾损伤程度; 免疫组化染色评估 CD31 表达情况; Western blot 检测大鼠肾脏 IRI 中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管生成素-1(Ang-1)及血管生成素-2(Ang-2)表达情况。结果: 研究发现利用重组腺病毒载体 Ad-VEGF₁₆₅ 转染的 EPCs 移植治疗后, 大鼠肾脏血清肌酐、尿素氮水平和肾脏组织病理学明显改善, 术后 72 h 检测大鼠患肾, 其 CD31、VEGF、Ang-1 以及 Ang-2 表达水平均明显提升。结论: VEGF₁₆₅ 基因转染的 EPCs 移植治疗可以有效治疗大鼠肾脏 IRI, 其作用机制可能与 EPCs 归巢后旁分泌过量 VEGF 并进一步促进 Ang-1、Ang-2 等血管新生因子表达, 从而促使肾脏血管新生有关。

[关键词] 缺血再灌注损伤; 内皮祖细胞; 血管内皮生长因子; 转染

[中图分类号] R364.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)01-0034-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20180108

Protective effects of VEGF₁₆₅ transfected endothelial progenitor cells transplantation in the rat model of renal ischemia-reperfusion injury

Xue Jianxin^{1,2}, Qin Zhiqiang², Li Xiao³, Chao Pu¹, Jia Ruipeng^{4*}

¹Department of Urology, the Second Affiliated Hospital of Southeast University, Nanjing 210003; ²Department of Urology, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029; ³Department of Urologic Surgery, the Affiliated Cancer Hospital of NMU, Nanjing 210009; ⁴Department of Urology and Transplantation, the Affiliated Nanjing Hospital of NMU, Nanjing 210006, China

[Abstract] **Objective:** The aim of this study was to assess whether the transplantation of endothelial progenitor cells (EPCs) transfected vascular endothelial growth factor (VEGF) adenovirus protected kidneys from ischemia/reperfusion injury (IRI) in male rats, in order to further improve the paracrine mechanism of EPCs on renal IRI. **Methods:** Forty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups, including Sham-operated group, IRI-operated group, IPC-treated group and EPCs-treated group. Recombinant adenovirus encoding VEGF₁₆₅ gene (Ad-VEGF₁₆₅) was used to infect EPCs, and the transfection efficiency was identified. At 24 h and 72 h after reperfusion, serum samples were respectively collected for the serum urea nitrogen, serum creatinine after the transplantation of EPCs on renal IRI. Besides, kidney tissues were harvested to observe renal morphology changes. Subsequently, immunohistochemical staining detected the expression levels of CD31; vascular endothelial growth factor (VEGF), angiopoietin-1 (Ang-1) and angiopoietin-2 (Ang-2) expression levels in the kidneys were measured using western blot analysis at the indicated time points after reperfusion. **Results:** The results found that the serum urea nitrogen, serum creatinine and morphology were significantly improved, after EPCs transplantation with Ad-VEGF₁₆₅. At 72 hours after reperfusion, expression levels of CD31, VEGF, Ang-1 and Ang-2 in the kidneys of EPCs-treated rats which was transfected by Ad-VEGF₁₆₅ were markedly increased compared to rats subjected to IRI. **Conclusion:** The present work suggested that EPCs transplantation with Ad-VEGF₁₆₅ could effectively treat kidney IRI in rats. In addition, the

[基金项目] 国家自然科学基金(81370853, 81570613)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: jiarp_urolog@sina.com

mechanism might be associated with VEGF paracrine function to further promote the expression of Ang-1, Ang-2 and other angiogenic factors after homing of EPCs, thus contributing to renal angiogenesis.

[Key words] ischemia-reperfusion injury; endothelial progenitor cells; vascular endothelial growth factor; transfection

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(01):0034-0039]

肾脏缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)引起的急性肾功能衰竭,仍然是临床亟待解决的问题;然而迄今为止,对于此类综合征仍然没有成功的对策。缺血预适应(ischemic preconditioning, IPC)是通过预先反复短暂的缺血和再灌注,诱导机体对再次缺血损伤产生内源性保护作用,从而减轻肾脏 IRI,同时也是机体针对应激反应的一种防御性机制^[1-2]。已有多项研究均证实:IPC介导的内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)归巢可以有效阻止肾脏 IRI,减少急性肾损伤的发病率,然而具体的作用机制尚不清楚^[3-5]。

EPCs是一种具有定向分化为内皮细胞功能的特殊干细胞,其对于IRI的修复和治疗作用,已经在心脏、肝脏、缺血肢体等组织和器官中得到验证^[6-7]。我们在前期研究中发现:EPCs移植治疗肾脏IRI可以促进患肾修复,其作用机制可能与EPCs归巢后旁分泌血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管生成素-1(angiopoietin-1, Ang-1)及血管生成素-2(angiopoietin-2, Ang-2)等血管新生因子有关;为了明确VEGF在此过程中的作用,本研究利用重组腺病毒载体VEGF₁₆₅基因转染EPCs,形成过表达,进一步观察其作用效果。

1 材料和方法

1.1 材料

成年雄性SD大鼠(东南大学医学院动物中心提供)40只,体重(220±20)g,饲养于恒温控制房,昼夜各12h,自由进食和饮水。RPMI 1640培养基、胰酶、胎牛血清(Sigma公司,美国),EGM-2MV(Lonza公司,美国),CD31单克隆抗体以及VEGF、Ang-1和Ang-2抗体,山羊抗兔二抗(Santa公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 EPC提取和体外诱导培养

SD大鼠脱颈椎处死,75%酒精中浸泡10min,取大鼠后肢胫、腓骨,PBS冲洗骨髓腔3~4遍;Ficoll密度梯度离心法(2500r/min,30min)获取大鼠骨髓单个核细胞后,置于用I型鼠尾胶原蛋白包被的培养瓶中,加入EGM-2MV培养基进行培养,倒置相差

显微镜观察细胞生长形态,4d时移除未贴壁细胞,培养至10d的EPC通过胰酶消化被收集进行EPC鉴定和移植治疗。

1.2.2 VEGF₁₆₅基因转染EPC

酶切得到VEGF₁₆₅cDNA基因片段,以CMV为启动子构建pAdTrack-CMV-VEGF₁₆₅质粒,并扩增鉴定,经Pme I酶切线性化后,电转入BJ5138细菌中,与其内的腺病毒骨架质粒pAdEasy-1在细菌内同源重组,形成AdEasy-VEGF₁₆₅,以1:50感染EPC细胞,qRT-PCR和Western blot鉴定转染后EPC细胞内VEGF的特异蛋白表达;鉴定成功后,大量转染EPC细胞。

1.2.3 建立动物模型与分组

所有大鼠10%水合氯醛0.35mL/kg腹腔麻醉后,接受右肾切除术,1周后经腹部正中切口建立模型,随即分为如下几组进行研究($n=4$):①假手术组(Sham组):腹部正中切口,分离左侧肾脏血管后关腹;②缺血再灌注组(IRI组):腹部正中切口,游离左肾血管,动脉夹同时夹闭肾脏动、静脉40min后逐层关腹;③EPC移植组(EPC组):按照②制作大鼠肾脏IRI模型后,从大鼠股静脉注射EPC混悬液(1×10^6 个);④携带VEGF₁₆₅基因转染组(VEGF₁₆₅转染组):按照②制作大鼠肾脏IRI模型后,从大鼠股静脉注射携带VEGF₁₆₅基因片段的EPC混悬液(1×10^6 个)。

1.2.4 标本采集和生化检测

术后24h经大鼠眼底静脉丛取血;术后72h,脱颈椎处死大鼠后,由下腔静脉抽取大鼠外周血2~4mL;所有血标本4℃保存,次日3500r/min离心10min,收集血清,自动生化仪检测血清肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)水平;游离肾蒂、夹闭,取肾脏后用于组织病理学和免疫组化染色;肾脏组织置-80℃冰箱保存,备分子生物学检测。

1.2.5 肾脏组织病理学(HE染色)

肾脏IRI损伤72h后获取肾组织,进行冠状面切割。用10%福尔马林固定和石蜡包埋的肾脏组织进行苏木素和伊红染色。通过对肾小管损伤坏死的半定量检测评估组织学的改变。评价标准为:0分为无损伤,1分为≤10%,2分为11%~25%,3分为26%~45%,4分为46%~75%,5分为>76%。评价

者以盲法每个标本随机取5个视野,取平均值作为每个标本的损伤评分。

1.2.6 CD31免疫组化染色

蜡块脱蜡、水化后,滴加小鼠抗大鼠CD31抗体(1:100)50 μ L,室温静置1 h;PBS洗涤3次各5 min,滴加山羊抗兔二抗40~50 μ L,室温静置1 h,PBS洗涤3次各5 min;DAB显色5~10 min,去离子水冲洗10 min;苏木精复染2 min,盐酸酒精分化;去离子水冲洗10~15 min;脱水、透明、封片后显微镜下观察。

1.2.7 Real-time PCR

提取缺血肾组织中总RNA,经纯度、含量及完整性鉴定后,合成cDNA,置于-80℃冰箱备用。利用逆转录-PCR调试基因退火温度,选取最佳退火温度。VEGF₁₆₅基因的引物设计和合成由南京市克瑞斯公司协助完成,其序列如下:VEGF165-u:5'-GTCCAATTGAGACCCTGGTG-3',VEGF165-d:5'-CTATGTGCTGGCTTTGGTGA-3'; β -actin-u:5'-ACTGGAACGCTGAAGGTGAC-3', β -actin-d:5'-AGAGAAGTGGGGTGGCTTTT-3'。按照说明书配好反应体系,引物浓度为10 μ mol/L,用 β -actin作为内参,上机进行RT-PCR扩增和检测。反应条件如下:50℃ 2 min,95℃ 1 min,95℃ 15 s,最佳退火温度15 s,72℃ 45 s,40个循环,读取融解曲线。最后,利用 β -actin内对照规格化各组循环数(Ct值),利用公式 $2^{-\Delta Ct}$,计算各组基因的表达情况。

1.2.8 免疫印迹(Western blot)

制备IRI肾脏的组织匀浆,提取组织蛋白,加入5×loading buffer混匀后沸水中煮10 min使蛋白变性。取上样样品10 μ L,然后加入5×SDS上样缓冲液4 μ L,分别在80 V和120 V情况下电泳后,转膜,TBST中清洗1 min,封闭液封闭过夜;稀释一抗浓度(1:200),温育1.5 h;再稀释二抗浓度(1:5 000),温育1.5 h,洗涤后制作胶片,然后用UVP凝胶图象处理系统Labworks4.6软件分析目的条带的灰度值。

1.3 统计学方法

所有数据使用SPSS 18.0统计软件进行分析。所有计量数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组均数比较采用 t 检验,方差齐性时多组均数比较采用单因素方差分析,方差不齐时采用秩和检验。 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 VEGF₁₆₅基因转染EPCs效率鉴定

为研究VEGF₁₆₅基因对EPCs归巢作用的影响,

我们构建了VEGF₁₆₅过表达腺病毒,并转染EPCs,以提高EPCs中VEGF₁₆₅的表达。为了分析病毒转染是否成功,采用qRT-PCR和Western blot分别检测VEGF₁₆₅ mRNA和VEGF₁₆₅蛋白表达水平,检测结果如图1所示,转染过表达的EPCs中VEGF₁₆₅ mRNA和VEGF₁₆₅蛋白表达水平远大于Sham组。

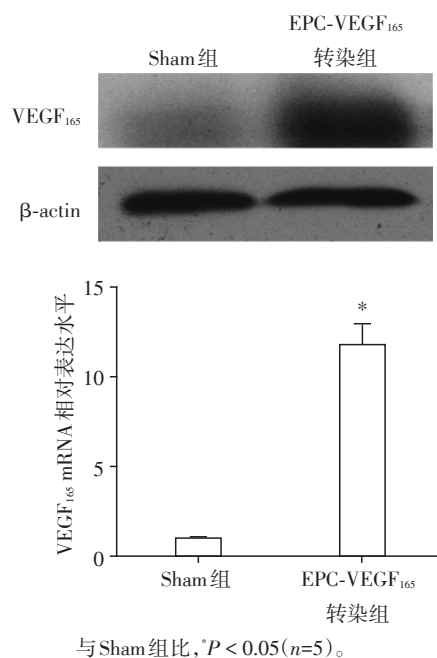


图1 VEGF₁₆₅基因转染EPCs后VEGF₁₆₅的表达水平

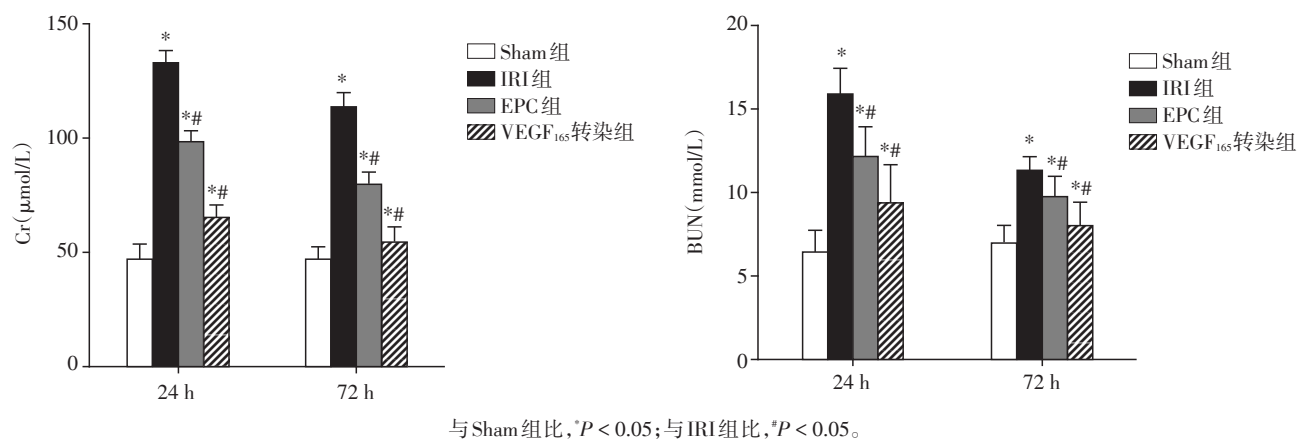
Figure 1 Expression of VEGF₁₆₅ in EPCs after transfection of recombinant adenovirus

2.2 术后24、72 h各组大鼠肾脏功能检测

图2为术后24、72 h时大鼠外周血BUN表达水平,术后24 h,IRI组、EPC组和VEGF₁₆₅转染组较Sham组均明显升高($P < 0.05$);术后72 h时,IRI组较Sham组差异仍显著($P < 0.05$),VEGF₁₆₅转染组与Sham组无明显差异。术后24 h和72 h时大鼠外周血Cr表达水平(图2),在术后24 h,Sham组与IRI组之间差异有显著性,而EPC组和VEGF₁₆₅转染组较IRI组有明显改善,差异有统计学意义($P < 0.05$);术后72 h,VEGF₁₆₅转染组Cr下降明显($P < 0.05$)。

2.3 肾脏组织病理学(HE染色)

Sham组肾脏微结构正常,无明显损伤。IRI组肾小管管腔扩张,肾小管上皮低平,细胞排列紊乱、有呈颗粒样变性、细胞核固缩,肾小球皱缩,间质增生,炎症细胞浸润明显。EPC组较IRI组损伤减轻,但仍有部分肾小管管腔扩张,肾小管上皮细胞低平变化。VEGF₁₆₅转染组较IRI组损伤轻,正常微结构尚存在,肾小管管腔扩张,细胞排列整齐,炎症细胞浸润不明显(图3)。IRI组、EPC组和VEGF₁₆₅转染

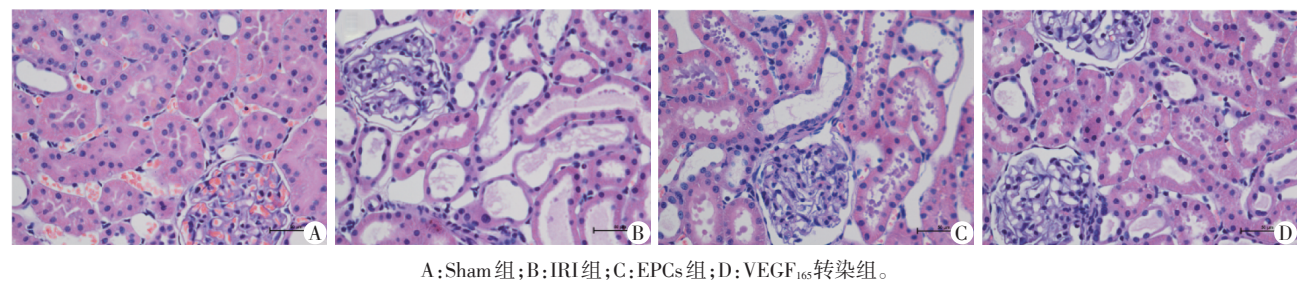


与Sham组比,* $P < 0.05$;与IRI组比,* $P < 0.05$ 。
图2 术后24、72 h大鼠外周血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)比较
Figure 2 Comparison of blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (Cr) in different treatment groups at 24 h and 72 h after operation

组肾小管损伤评分在术后72 h均明显高于Sham组(P 均 < 0.05)。

Sham组毛细血管内皮CD31⁺细胞表达数目较少,且染色较浅。EPC组及VEGF₁₆₅转染组毛细血管内皮CD31⁺细胞表达数目较Sham组有所增加。

2.4 各组肾脏组织术后72 h CD31表达情况



A:Sham组;B:IRI组;C:EPCs组;D:VEGF₁₆₅转染组。
图3 术后72 h各组肾脏HE染色情况(×400)
Figure 3 Renal morphology in different treatment groups at 72 h following reperfusion(×400)

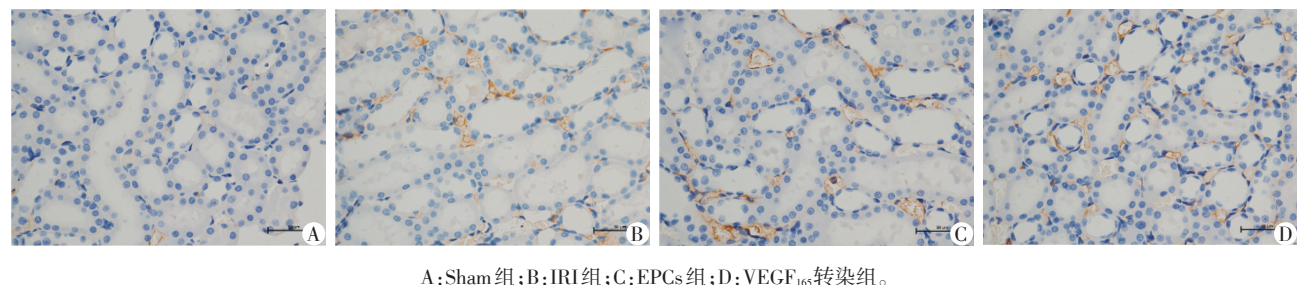
VEGF₁₆₅转染组:毛细血管内皮细胞表达CD31强阳性,且数目相比Sham组和IRI组明显增多(图4)。

2.5 各组术后72 h患肾内VEGF、Ang-1、Ang-2分子基因表达情况

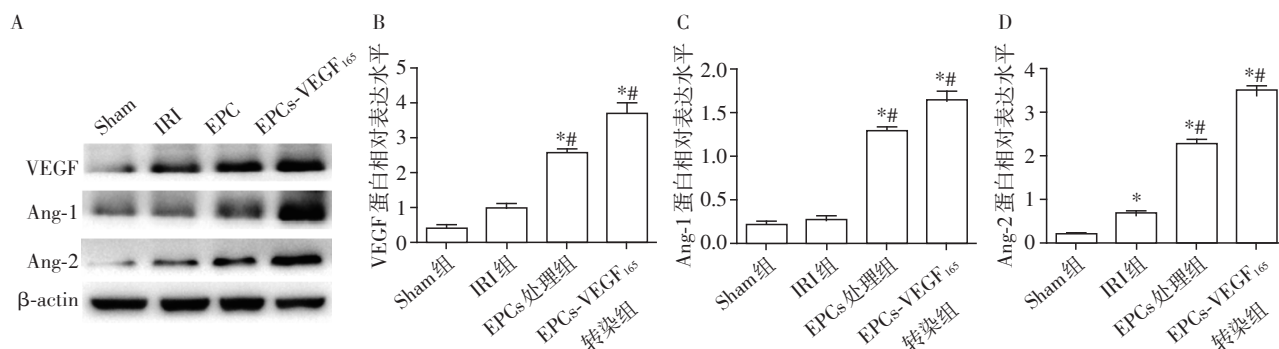
本研究利用Western blot检测各组肾脏组织VEGF、Ang-1、Ang-2的表达水平:EPC组、VEGF₁₆₅转染组的肾脏组织中VEGF、Ang-1、Ang-2表达水平与Sham组比较均显著上调,差异有统计学意义($P < 0.05$,图5)。

3 讨论

近年来,随着肾脏部分切除术、肾移植术、肾血管外科修复等手术的广泛开展,肾脏IRI引起的急性肾损伤的发病率有逐年升高的趋势,已经成为迫切需要解决的临床问题。肾脏IRI是一种由多种因素、多种途径引起的复杂病理生理过程,但是目前尚未找到有效治疗手段。近期大量研究表明,血管内皮细胞为IRI的重要靶点,肾脏缺血可



A:Sham组;B:IRI组;C:EPCs组;D:VEGF₁₆₅转染组。
图4 术后72 h各组肾脏组织CD31免疫组织化学染色(×400)
Figure 4 Immunohistochemical staining for CD31 in different treatment groups at 72 h after reperfusion(×400)



与假手术组比,* $P < 0.05$;与IRI组比,** $P < 0.05$ 。

图5 Western blot检测各组肾脏组织VEGF、Ang-1、Ang-2的表达水平

Figure 5 Expression of VEGF, Ang-1, Ang-2 in different groups

引起肾脏血管内皮细胞缺氧、肿胀、血管腔狭窄、血管紧张度降低、肾血流灌注减少以及持续低氧状态和炎症级联反应的发生,最终导致肾小管上皮细胞的缺血和坏死、肾功能急剧受损,可见血管内皮损伤是IRI重要的始动因素^[8]。因此,如果能够找到促进损伤血管内皮细胞功能修复的新方法,将会为肾脏IRI引起的急性肾损伤提供一种新的潜在治疗靶点。

目前研究认为,在肾脏急性IRI过程中,IPC可以通过发挥所谓的“归巢记忆”功能,迅速诱导EPCs归巢到缺血肾脏,从而对缺血肾脏产生较为可靠的保护作用^[3]。血管内皮损伤的修复存在两种主要方式,一是通过直接诱导损伤部位邻近的内皮细胞增殖进行修复,二是通过EPCs归巢机制进行修复。因正常内皮细胞的增生修复能力较差,所以EPCs归巢是脏器损伤中内皮修复的主要方式。EPCs是一种具有定向归巢和自我更新、增殖能力的多能干细胞,可通过直接或间接的方式参与损伤组织和血管的修复,从而对机体发挥保护作用。自从1997年Asahara等^[9]首次分离并鉴定EPCs以来,在创伤、缺血等动员因素的刺激下,机体可从骨髓中的EPCs向外周血中动员,在某些细胞因子的作用下趋向于受损组织,通过黏附作用聚集到受损脏器,分化为成熟的内皮细胞,在受损脏器微血管内皮修复以及血管新生的过程中发挥了重要作用,从而有效减少了因缺血后微循环障碍而引起的级联放大效应,发挥对损伤组织的保护作用。另外也有学者认为,在缺血损伤修复的过程中,EPCs可通过自分泌/旁分泌机制释放产生保护性的细胞因子,促进EPCs进一步聚集,然后聚集到损伤脏器,间接参与血管新生和组织的修复^[10]。

VEGF家族及其受体可通过促进内皮细胞的异

常增生、迁移,使血管通透性增强,从而在血管新生中发挥重要作用^[11]。其中,VEGF是一种参与血管内皮细胞有丝分裂的特异性诱导剂,可结合内皮细胞上特异性VEGF受体(VEGFR),引起VEGFR细胞内激酶区特定酪氨酸残基的磷酸化而活化促分裂原活化蛋白激酶,从而完成VEGF相应的促增殖作用^[12]。另外,近年来有研究报道,VEGF可诱导骨髓源性的EPCs活化,并促进其从骨髓中动员到外周血循环中,促进受损血管的新生^[13]。

综上所述,本研究是为了进一步探索和完善IPC对缺血肾脏产生保护作用的EPCs归巢机制理论,通过建立大鼠肾脏IRI模型,用体外培养的重组腺病毒载体Ad-VEGF₁₆₅感染EPCs移植到大鼠肾脏IRI模型中,观察其对肾脏IRI的保护作用。我们进一步检测了大鼠术后72 h肾脏IRI中VEGF、Ang-1、Ang-2蛋白的表达情况,研究发现:在肾脏IRI中,用腺病毒载体Ad-VEGF₁₆₅转染EPCs移植大鼠肾脏IRI中VEGF、Ang-1、Ang-2蛋白表达均较IRI组有所增加,说明VEGF可诱导骨髓源性的EPCs活化,并促进其从骨髓中动员到外周血循环中,促进受损组织和血管的修复。

[参考文献]

- [1] Tanaka D, Suga T, Tanaka T, et al. Ischemic preconditioning enhances muscle endurance during sustained isometric exercise[J]. Int J Sports Med, 2016, 37(8): 614-618
- [2] 李强, 李敬东. 肝移植缺血预处理研究进展[J]. 中国现代普通外科进展, 2010, 13(6): 470-473
- [3] Bo CJ, Chen B, Jia RP, et al. Effects of ischemic preconditioning in the late phase on homing of endothelial progenitor cells in renal ischemia/reperfusion injury[J]. Transplant Proc, 2013, 45(2): 511-516
- [4] 刘昊, 吴然, 贾瑞鹏, 等. 缺血预适应对肾脏缺血再

- 灌注损伤后内皮祖细胞归巢动力学的影响[J]. 中华肾脏病杂志,2013,29(3):199-203
- [5] 薄成佳,陈 波,贾瑞鹏,等. 晚期缺血预适应对肾脏缺血再灌注损伤大鼠内皮祖细胞归巢的影响[J]. 中华实验外科杂志,2012,29(8):1634
- [6] Berezin AE, Kremzer AA. Circulating endothelial progenitor cells as markers for severity of ischemic chronic heart failure[J]. J Card Fail, 2014, 20(6):438-447
- [7] Wang L, Wang X, Wang L, et al. Hepatic vascular endothelial growth factor regulates recruitment of rat liver sinusoidal endothelial cell progenitor cells[J]. Gastroenterology, 2012, 143(6):1555-1563
- [8] Chatauret N, Badet L, Barrou B, et al. Ischemia-reperfusion: From cell biology to acute kidney injury [J]. Prog Urol, 2014, 24(Suppl 1):S4-S12
- [9] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. Science, 1997, 275(532):964-967
- [10] Xu S, Zhu J, Yu L, et al. Endothelial progenitor cells: current development of their paracrine factors in cardiovascular therapy [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2012, 59(4):387-396
- [11] Thomas AL, Morgan B, Dreys J, et al. Vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: PTK787/ZK 222584[J]. Semin Oncol, 2003, 30(3 Suppl 6):32-38
- [12] Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, et al. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow [J]. J Clin Invest, 2002, 109(3):337-346
- [13] Wang S, Chen Z, Tang X, et al. Transplantation of vascular endothelial growth factor 165 transfected endothelial progenitor cells for the treatment of limb ischemia [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(4):4967-4974
- [收稿日期] 2016-11-02

- (上接第10页)
- C/EBP δ to initiate leukemogenesis[J]. Leukemia, 2016, 30(9):1887-1896
- [8] Haus-Seuffert P, Meisterernst M. Mechanisms of transcriptional activation of cAMP-responsive element-binding protein CREB[J]. Mol Cell Biochem, 2000, 212(1/2):5-9
- [9] Montminy M, Brindle P, Arias J, et al. Regulation of somatostatin gene transcription by cyclic adenosine monophosphate[J]. Metabolism, 1996, 45(8 Suppl 1):4-7
- [10] Lonze BE, Ginty DD. Function and regulation of CREB family transcription factors in the nervous system[J]. Neuron, 2002, 35(4):605-623
- [11] Dimitrova N, Nagaraj AB, Razi A, et al. InFlo: a novel systems biology framework identifies cAMP-CREB1 axis as a key modulator of platinum resistance in ovarian cancer [J]. Oncogene, 2017, 36(17):2472-2482
- [12] Chhabra A, Fernando H, Watkins G, et al. Expression of transcription factor CREB1 in human breast cancer and its correlation with prognosis [J]. Oncol Rep, 2007, 18(4):953-958
- [13] Li Y, Chen D, Li Y, et al. Oncogenic cAMP responsive element binding protein 1 is overexpressed upon loss of tumor suppressive miR-10b-5p and miR-363-3p in renal cancer[J]. Oncol Rep, 2016, 35(4):1967-1978
- [14] Wang YW, Chen X, Ma R, et al. Understanding the CREB1-miRNA feedback loop in human malignancies [J]. Tumour Biol, 2016, 37(7):8487-8502
- [15] Peng B, Hu S, Jun Q, et al. MicroRNA - 200b targets CREB1 and suppresses cell growth in human malignant glioma[J]. Mol Cell Biochem, 2013, 379(1/2):51-58
- [16] Tan X, Wang S, Zhu L, et al. cAMP response element-binding protein promotes gliomagenesis by modulating the expression of oncogenic microRNA - 23a [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(39):15805-15810
- [17] Hutter G, Sailer M, Azad TD, et al. Reverse phase protein arrays enable glioblastoma molecular subtyping[J]. J Neurooncol, 2017, 131(3):437-448
- [收稿日期] 2017-09-14