

## 多发性骨髓瘤细胞对血管内皮细胞 tPA 及 PAI-1 表达的影响

周 丽<sup>1</sup>, 陆 化<sup>2\*</sup>, 卢瑞南<sup>2</sup>, 王 铃<sup>3</sup>, 李建勇<sup>2</sup>, 孙幸福<sup>4</sup>

<sup>1</sup>常州市武进人民医院血液科, 江苏 常州 213002; <sup>2</sup>南京医科大学第一附属医院血液科, 江苏 南京 210029; <sup>3</sup>南通市第一人民医院血液科, 江苏 南通 226001; <sup>4</sup>南京市高淳人民医院血液科, 江苏 南京 211300

**[摘要]** 目的: 研究多发性骨髓瘤细胞(multiple myeloma cells, MMCs)对人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)组织型纤维蛋白溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator, tPA)、纤维蛋白溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)蛋白表达水平及 mRNA 表达水平的影响, 了解多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)患者纤溶活性, 从而进一步了解 MM 患者血栓形成的原因及机制。方法: MM 细胞株 U266 与 HUVEC 共培养 24、48、72 h, 以同期单独培养的 HUVEC、MMCs 作为对照, ELISA 法检测共培养组和对照组细胞培养上清中 tPA、PAI-1 的蛋白表达水平, PCR 检测 HUVEC、MMCs tPA、PAI-1 mRNA 的表达水平。结果: 无论是 ELISA 法还是 PCR, 均未检测到 MMCs 培养上清中 tPA、PAI-1 蛋白和 mRNA 的表达。与同期单独培养的 HUVEC 相比, ELISA 法检测共培养体系中的 HUVEC tPA、PAI-1 表达水平均升高 ( $P < 0.05$ ); 对照组中, PAI-1 与 tPA 的表达水平呈正相关 ( $r_s=0.80, P=0.01$ ); HUVEC 与 MMCs 共培养体系中, PAI-1 与 tPA 的表达水平呈正相关 ( $r_s=0.88, P=0.002$ ); HUVEC 单独培养组中, t-PA、PAI-1 表达水平与时间呈正相关 ( $r_s=0.90, P=0.001; r_s=0.90, P=0.001$ ); 共培养组中, t-PA、PAI-1 表达水平与时间呈正相关 ( $r_s=0.95, P < 0.001; r_s=0.84, P=0.004$ ); 两组中 tPA、PAI-1 与 GAPDH 条带灰度值比值无明显差异 ( $P > 0.05$ )。结论: MMCs 可促进 HUVEC 对 tPA 及 PAI-1 的分泌, 在保证细胞活力的前提下, 随共培养时间延长, 两者分泌增加, 且 PAI-1 与 tPA 的表达呈一定相关性, 然而, MMCs 对 HUVEC tPA 及 PAI-1 mRNA 的表达无明显影响。

**[关键词]** 多发性骨髓瘤; 人脐静脉内皮细胞; 组织型纤维蛋白溶酶原激活剂; 纤维蛋白溶酶原激活物抑制剂-1

**[中图分类号]** R733.3

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)05-600-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20180506

### Effect of multiple myeloma cells on the expressions of tPA and PAI-1 by the cultured HUVEC

Zhou Li<sup>1</sup>, Lu Hua<sup>2\*</sup>, Lu Ruinan<sup>2</sup>, Wang Ling<sup>3</sup>, Li Jianyong<sup>2</sup>, Sun Xingfu<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology, Changzhou Wujin People's Hospital, Changzhou 213002; <sup>2</sup>Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029; <sup>3</sup>Department of Hematology, Nantong First People's Hospital, Nantong 226001; <sup>4</sup>Department of Hematology, Nanjing Gaochun People's Hospital, Nanjing 211300, China

**[Abstract]** **Objective:** To study the influence of multiple myeloma cells (MMCs) on the secretion of tissue-type plasminogen activator (tPA) and tissue-type plasminogen activator (PAI-1) by the cultured human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) to confirm the fibrinolytic activity as well as the causes and mechanisms of thrombosis in multiple myeloma (MM). **Methods:** Human MM cell line U266 was co-cultured with HUVEC for 24 h, 48 h and 72 h, with the same period of HUVEC cultured alone as control as well as MMCs. The expressions of HUVEC, MMCs tPA, and PAI-1 mRNA in those groups were detected by polymerase chain reaction (PCR), tPA and PAI-1 protein levels in the supernatant were detected by ELISA. **Results:** No expression of tPA and PAI-1 protein and mRNA in the culture supernatants of MMCs was detected by both ELISA and PCR. The expression level of tPA protein in the co-culture system by ELISA was significantly ( $P < 0.05$ ) higher than that in the control group, as well as the PAI-1 protein level ( $P < 0.05$ ). There was a positive correlation between the PAI-1 and tPA protein level in the control group ( $r_s=0.80, P=0.01$ ) and in the co-culture system ( $r_s=0.88, P=0.002$ ) by ELISA. The levels of t-PA and PAI-1 protein were positively correlated with the time in the HUVEC cultured alone group ( $r_s=0.90, P=0.001; r_s=0.90, P=0.001$ ) and the co-culture system ( $r_s=0.95, P < 0.001; r_s=0.84, P=0.004$ ) significantly by ELISA. The difference of the expression level of tPA mRNA between the two groups was not significant ( $P > 0.05$ ), as well as the

**[基金项目]** 江苏省中医药局科技项目(L213219); 江苏大学医学临床科技发展基金(JLY20160186)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: luhua1956@aliyun.com

expression level of PAI-1 mRNA ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** MMCs can promote the secretion of tPA and PAI-1 protein from HUVEC. On the premise of ensuring the cells viability, the secretion of both proteins increased along with the extension of incubation time, and there was a certain correlation between the tPA and PAI-1 protein level. However, MMCs had no obvious effect on the expression level of tPA and PAI-1 mRNA.

**[Key words]** multiple myeloma; human umbilical vein endothelial cells; tissue-type plasminogen activator; plasminogen activator inhibitor-1

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(05): 600-604]

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种浆细胞克隆性增生的恶性肿瘤,并发症主要有贫血、出血和血栓、感染及骨痛,其中出血和血栓形成最为严重,其发生率为3%~10%,尤其是应用沙利度胺或其他药物时,血栓发生率上升至10%~30%<sup>[1]</sup>,究其原因,主要是由MM本身改变引起,表现为以下几点:①高黏滞血症:易产生此症状的MM类型以IgM为主,其次为IgA和IgG;②凝血因子的改变:MM患者的某些凝血因子,如凝血因子Ⅷ(coagulation factor Ⅷ, FⅧ)、组织因子(tissue factor, TF)浓度升高<sup>[2]</sup>,使其易处于高凝状态;③蛋白C(protein C, PC)系统的异常:MM患者血清活化蛋白C抵抗(activated protein C resistance, APC-R)质量浓度及血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)浓度较正常人高<sup>[3]</sup>;④某些化疗药物:如沙利度胺、雷那度胺等可增加血栓风险<sup>[4]</sup>;⑤单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP):包括DNA修复、药物转运及代谢、细胞因子平衡基因的多态性改变,为静脉血栓栓塞的危险因素;⑥纤溶系统的异常:Zangari等<sup>[5]</sup>研究显示MM患者血清白细胞介素(interleukin, IL)-6、纤维蛋白溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)、C反应蛋白(C reaction protein, CRP)明显升高,其中IL-6、CRP的表达水平与PAI-1呈正相关,而与总纤溶能力(global fibrinolytic capacity, GFC)呈负相关。

组织型纤维蛋白溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator, tPA)和PAI-1是纤溶系统的主要成分和关键性调节物质,血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)为其主要来源<sup>[6]</sup>。为探讨多发性骨髓瘤细胞(multiple myeloma cells, MMCs)对纤溶功能的影响,本研究构建MM细胞株U266和人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)的共培养体系,检测HUVEC单独培养组和共培养组HUVEC tPA、PAI-1 mRNA的表达水平及细胞培养上清中tPA及PAI-1的蛋白浓度,观

察并分析tPA、PAI-1 mRNA在两组中表达的差异,以及tPA、PAI-1的蛋白表达水平与时间的相关性,探讨MMCs对HUVEC tPA、PAI-1表达的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

RPMI1640培养液、胎牛血清购自美国Gibco公司, RNA提取液TRIzol购自美国Invitrogen公司, 逆转录试剂盒购自日本TaKaRa公司, ELISA试剂盒购自美国eBioscience公司。HUVEC细胞株由南京医科大学基础实验室惠赠, 骨髓瘤细胞株U266购自美国ATCC公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养及细胞、上清液的提取

将HUVEC、U266细胞株分别接种于含10%胎牛血清、100 μg/mL青霉素、100 μg/mL链霉素RPMI 1640培养基中, 37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 2~3 d传代1次, 取对数生长期的细胞用于实验。U266细胞和HUVEC分别在含1% FBS的RPMI 1640培养基中饥饿培养12 h后收获, 重悬细胞和调整细胞密度均为1×10<sup>5</sup>个/mL。共培养组6孔板中加入U266、HUVEC细胞悬液各1 mL培养, 对照组6孔板中加入HUVEC细胞悬液1 mL、RPMI1640培养基1 mL分别培养24、48、72 h, 每个时间点设3个复孔, 37℃、5% CO<sub>2</sub>的条件下培养, 分别分选和提取24、48、72 h每组的HUVEC细胞培养上清, 用于提取RNA, 采用ELISA方法测定上清液中tPA和PAI-1的浓度, 另设U266细胞株单独培养, 提取上清及MMCs, 步骤同上。实验重复3次。

#### 1.2.2 ELISA法测定上清tPA和PAI-1的浓度

将tPA标准品稀释为如下浓度: 1 000.000、500.000、250.000、125.000、62.500、31.250、15.625 pg/mL, 将PAI-1标准品稀释为如下浓度: 5 000.000、2 500.000、1 250.000、625.000、312.500、156.250、78.125 pg/mL, 分别作为两者的标准曲线; 按照试剂

盒说明书进行加样品及抗体、恒温振荡器震荡、洗板、加底物反应液及停止反应液等步骤,最后采用分光光度仪在450 nm处读取吸光度。

### 1.2.3 PCR测定U266细胞、HUVEC tPA和PAI-1 mRNA的表达

采用TRIzol一步法分别提取MMC<sub>s</sub>、HUVEC总RNA,紫外分光光度仪测定 $D(260\text{ nm})/D(280\text{ nm})$ (介于1.8~2.0之间为合格)。根据RNA浓度取约 $\leq 0.5\ \mu\text{g}$ 的RNA(注意:需将测得的RNA浓度均平衡到 $0.25\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ,若样品浓度均在0.25以上,直接用表格换算稀释), $2\ \mu\text{L}$ 随机引物,加入DEPC处理的双蒸馏水至总反应体积为 $10.0\ \mu\text{L}$ ,于 $37\ ^\circ\text{C}$ 反应15 min, $85\ ^\circ\text{C}$  5 s逆转录为cDNA,置于 $-20\ ^\circ\text{C}$ 冰箱备用。

GenBank上查找tPA、PAI-1和GAPDH基因的序列,应用Primer Premier5软件(ABI公司,美国)设计引物,PAI-1引物序列上游:5'-TGCCCTCTACTTCAACGG-3',下游:5'-GTCGGTCATTCCCAGGTT-3',扩增片段长度为390 bp;tPA引物序列上游:5'-GGATTTCGTGACAACATGCGAC-3',下游:5'-TTTGAGGAACATGACGGGCCA-3',扩增片段长度为500 bp;GAPDH基因作为内参照基因,引物序列上游:5'-TGAACGGGAAGCTCACTGG-3',下游:5'-TCACACCCTGTTGCTGTA-3',扩增片段长度为307 bp。采用 $25\ \mu\text{L}$ 反应体系,包括 $12.5\ \mu\text{L}$  ultraTaq酶PCRMix( $2\times$ ), $0.5\ \mu\text{mol/L}$ 引物各 $1.0\ \mu\text{L}$ 、 $1.0\ \mu\text{L}$  cDNA、 $9.5\ \mu\text{L}$ 双蒸水。反应条件为: $94\ ^\circ\text{C}$ 预变性2 min,1个循环; $94\ ^\circ\text{C}$ 变性20 s, $56\ ^\circ\text{C}$ 退火20 s, $72\ ^\circ\text{C}$ 延伸30 s,32个循环; $16\ ^\circ\text{C}$ 停止。每个标本的相应基因均同时加样3个复孔。反应结束后取 $5.0\ \mu\text{L}$  PCR产物加样在1.2%的葡聚糖凝胶上进行电泳( $100\ \text{V}$ ,30 min),采用紫外灯曝光观察电泳结果,经条带对比证实PCR扩增产物为目的基因tPA、PAI-1。

### 1.3 统计学方法

采用IBM SPSS Statistics 19.0软件进行统计学分析,所有实验数据以均数 $\pm$ 标准误( $\bar{x} \pm s_e$ )表示。

共培养组和对照组中tPA、PAI-1表达水平差异采用*t*检验,两组中tPA、PAI-1浓度与时间的关系及tPA、PAI-1两者之间的关系采用Spearman秩相关检验进行相关分析, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

通过ELISA及PCR检测方法发现,MMC<sub>s</sub>无tPA及PAI-1蛋白和mRNA的表达,故而将HUVEC与MMC<sub>s</sub>共培养组设为实验组,HUVEC单独培养组设为对照组,结果如下。

### 2.1 共培养组与对照组中tPA和PAI-1蛋白表达

通过ELISA方法,对HUVEC与MMC<sub>s</sub>共培养组(实验组)及HUVEC单独培养组(对照组)中HUVEC对tPA和PAI-1蛋白的表达情况进行检测。与同期对照组相比,共培养体系中HUVEC的tPA和PAI-1蛋白表达水平均升高,且有显著差异( $P < 0.05$ ,表1)。无论对照组还是实验组,细胞培养上清中PAI-1与tPA的蛋白表达水平呈正相关( $r_s=0.80$ , $P=0.01$ ; $r_s=0.88$ , $P=0.002$ )。在对照组中,t-PA、PAI-1蛋白表达水平与时间呈正相关( $r_s=0.90$ , $P=0.001$ ; $r_s=0.90$ , $P=0.001$ );实验组中,t-PA、PAI-1蛋白表达水平与时间呈正相关( $r_s=0.95$ , $P < 0.001$ ; $r_s=0.84$ , $P=0.004$ )。

### 2.2 共培养组与对照组tPA和PAI-1 mRNA表达

通过半定量PCR,对HUVEC与MMC<sub>s</sub>共培养组(实验组)及HUVEC单独培养组(对照组)中HUVEC对tPA和PAI-1 mRNA的表达情况进行检测,采用Image J软件对条带进行分析(图1)。与同期对照组相比,实验组中tPA与GAPDH条带灰度值比值无明显差异( $P > 0.05$ ,表2),实验组中PAI-1与GAPDH条带灰度值比值也无统计学差异( $P > 0.05$ ,表2)。

## 3 讨论

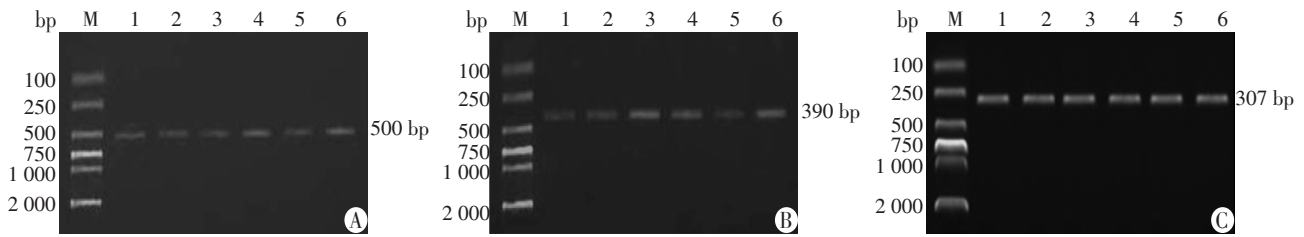
MM是一种侵袭性恶性血液系统疾病,其血栓栓塞性疾病的发病率较正常者增加,发病机制复杂多

表1 两组中tPA和PAI-1蛋白表达水平

Table 1 The expression level of tPA and PAI-1 protein in the co-culture system and in the control group

(ng/mL,  $\bar{x} \pm s_e$ )

时间(h)	tPA蛋白			PAI-1蛋白		
	共培养组	对照组	<i>P</i> 值	共培养组	对照组	<i>P</i> 值
24	0.29 $\pm$ 0.06	0.07 $\pm$ 0.03	0.030	4.79 $\pm$ 0.66	4.10 $\pm$ 0.53	0.035
48	0.53 $\pm$ 0.07	0.18 $\pm$ 0.06	0.016	13.98 $\pm$ 1.82	7.71 $\pm$ 2.07	0.016
72	0.98 $\pm$ 0.13	0.51 $\pm$ 0.02	0.048	23.10 $\pm$ 5.36	19.00 $\pm$ 5.62	0.009
<i>r<sub>s</sub></i> 值	0.95	0.90		0.84	0.90	
<i>P</i> 值	< 0.001	0.001		0.004	0.001	



A: tPA; B: PAI-1; C: GAPDH. 1、3、5分别为24、48、72 h HUVEC单独培养组; 2、4、6分别为24、48、72 h HUVEC和MMCs共培养组。

图1 PCR检测两组中tPA和PAI-1 mRNA表达水平

Figure 1 The expression of tPA mRNA and tPA mRNA in the co-culture system and in the control group by PCR

表2 两组中tPA和PAI-1 mRNA相对表达水平

Table 2 The expression level of tPA and PAI-1 mRNA in the co-culture system and in the control group ( $\bar{x} \pm s_e$ )

时间(h)	tPA mRNA			PAI-1 mRNA		
	共培养组	对照组	P值	共培养组	对照组	P值
24	0.68 ± 0.02	0.65 ± 0.02	0.096	0.93 ± 0.06	0.93 ± 0.00	0.953
48	0.71 ± 0.02	0.69 ± 0.02	0.094	0.98 ± 0.02	0.97 ± 0.02	0.304
72	0.73 ± 0.02	0.70 ± 0.02	0.109	1.05 ± 0.02	0.98 ± 0.03	0.069

样,相关治疗是静脉血栓发生的主要原因之一<sup>[7]</sup>,另外,纤溶功能受损也可导致血栓并发症的发生发展。这些都促使对MM患者纤溶功能方面的研究。

纤溶系统包括纤维蛋白溶解酶(即纤溶酶)、纤溶酶的激活物和抑制物3个组成部分,纤溶酶激活剂有2种:tPA和尿激酶纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, uPA),而在循环系统中,tPA起着举足轻重的作用,作为其抑制剂的PAI-1和PAI-2可调节纤溶系统活性。本实验通过ELISA及PCR检测方法发现MMCs并无tPA及PAI-1蛋白和mRNA的表达,继而通过ELISA方法,检测不同时间点共培养组及对照组的细胞培养上清中tPA及PAI-1的蛋白浓度,结果显示,无论在HUVEC单独培养还是HUVEC与MMCs共培养条件下,tPA及PAI-1的表达水平随时间延长而升高,且共培养体系中HUVEC tPA和PAI-1蛋白水平较对照组升高。实验证明MMCs能促进HUVEC对tPA及PAI-1的分泌,且以PAI-1升高更为明显,表明MM患者本身可通过影响VEC对tPA及PAI-1的分泌功能,导致纤溶活性降低,与Misiewicz等<sup>[8]</sup>研究相符。低纤溶活性一贯被认为是动静脉血栓形成的危险因素,然而,过去有研究显示tPA和PAI-1在静脉血栓形成中的作用是有争议的,尽管有些研究认为这两种蛋白与静脉血栓的形成无明显相关,但大部分研究者却不这么认为。Prins和Hirsh认为tPA和PAI-1在静脉血栓形成中,尤其是术后患者,也许起了重要作用,Meltzer等<sup>[9]</sup>也发现升高的tPA和PAI-1与静脉血栓

栓塞相关。tPA和PAI-1可作为深静脉血栓(deep vein thrombosis, DVT)/肺血栓栓塞(pulmonary thromboembolism, PTE)的血清标志物,结合本实验结果,MM患者的DVT/PTE风险增加。同时,研究还发现两组的tPA及PAI-1 mRNA的表达无差异,表明MMCs对HUVEC tPA及PAI-1 mRNA的表达无明显影响,该结果可能与基因转录后调控或翻译水平的调控有关,其中机制有待进一步研究。

PAI-1的血清水平与IL-6呈正相关,而MM患者IL-6水平较正常者升高,高水平的IL-6与凝血级联反应有关<sup>[10]</sup>,所以纤溶活性的降低和凝血反应的增强均促使MM患者易形成DVT。tPA能通过纤维蛋白结合而有效激活纤维蛋白溶酶原转化为纤溶酶,对纤维蛋白起到降解作用,由于血清PAI-1浓度明显高于tPA,因而大部分tPA与PAI-1结合成无活性的复合物,只有一小部分tPA作为活性酶存在于血循环中,同时PAI-1水平升高,能促进tPA自VEC表面释放,增加血循环中tPA-PAI-1复合物的量<sup>[11]</sup>。研究认为tPA的血清水平与静脉血栓形成相关,但并不决定血凝块溶解时间(clot lysis time, CLT),认为tPA可能是其他危险因素的标志,如炎症、内皮活化等,PAI-1为tPA的抑制物,是CLT的主要决定因素。tPA和PAI-1活性的平衡决定着人体是处于血栓前抑或抗栓状态,前者升高,后者随之升高,两者作为纤溶系统的主要调节成分,共同调节纤溶活性。

近些年来,肿瘤患者每年血栓栓塞性疾病的发病率占0.5%,而在一般人群中占0.1%,可见肿瘤患

者的血栓形成风险比正常者升高5倍。MM患者因纤溶功能改变及其他高危因素,导致血栓栓塞事件明显高于其他实体瘤,且血栓的发生发展是影响MM患者预后的危险因素之一,但对总生存率(overall survival, OS)影响不大,这点不同于实体瘤<sup>[5]</sup>。由于MM患者血栓栓塞的发病机制是复杂的、多因素的,只有明确血栓形成的原因、发病机制,才能采取有效的预防措施及针对性治疗,从而促使对此进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Leekbeek FW, Kruip MJ, Sonneveld P, et al. Risk and management of thrombosis in multiple myeloma [J]. *Thromb Res*, 2012, 129(Suppl 1):S88-92
- [2] Shimizu K, Itoh J. A possible link between Trousseau's syndrome and tissue factor producing plasma cells [J]. *Am J Hematol*, 2009, 84(6):382-385
- [3] Zangari M, Berno T, Zhan F, et al. Activated protein C resistance as measured by residual factor V after Russell's viper venom and activated protein C treatment analyzed as a continuous variable in multiple myeloma and normal controls[J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2011, 22(5):420-423
- [4] Al-Ani F, Bermejo JM, Mateos MV, et al. Thromboprophylaxis in multiple myeloma patients treated with lenalidomide - A systematic review [J]. *Thromb Res*, 2016, 141(1):84-90
- [5] Zangari M, Tricot G, Polavaram L, et al. Survival effect of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma treated with lenalidomide and high-dose dexamethasone[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(1):132-135
- [6] Teng H, Chopp M, Hozeska-Solgot A, et al. Tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 contribute to sonic hedgehog-induced *in vitro* cerebral Angiogenesis[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e33444
- [7] Isoda A, Sato N, Miyazawa Y, et al. Silent venous thromboembolism in multiple myeloma patients treated with lenalidomide[J]. *Int J Hematol*, 2015, 102(3):271-277
- [8] Misiewicz M, Robak M, Chojnowski K, et al. Correlations between ROTEM fibrinolytic activity and t-PA, PAI-1 levels in patients with newly diagnosed multiple myeloma [J]. *Pol Merkur Lekarski*, 2014, 36(215):316-319
- [9] Meltzer ME, Lisman T, de Groot PG, et al. Venous thrombosis risk associated with plasma hypofibrinolysis is explained by elevated plasma levels of TAFI and PAI-1[J]. *Blood*, 2010, 116(1):113-121
- [10] Vallianou N, Lazarou V, Tzangarakis J, et al. Pulmonary embolism as the first manifestation of multiple myeloma [J]. *Case Rep Med*, 2013, 2013:236913
- [11] Urano T, Suzuki Y. Accelerated fibrinolysis and its propagation on vascular endothelial cells by secreted and retained Tpa [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012(1):208108

[收稿日期] 2017-12-12