

死亡相关蛋白激酶在急性白血病细胞中的表达及临床意义

应裴裴, 杨明珍[△]

(安徽医科大学第一附属医院血液科, 合肥 230032)

[摘要] **目的** 探讨死亡相关蛋白激酶(DAPK)表达与急性白血病(AL)患者临床特征之间的关系。**方法** 应用半定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测 DAPK mRNA 在 54 例 AL 患者(AL 组)及 18 例骨髓移植供者和健康体检者(对照组)骨髓细胞或外周血中的相对表达量。**结果** AL 组 DAPK mRNA 表达量(0.1048 ± 0.0941)明显低于对照组(0.3567 ± 0.1061), 差异有统计学意义($P < 0.01$)。急性淋巴细胞白血病(ALL)患者 DAPK mRNA 表达(0.0577 ± 0.0995)低于急性髓系白血病(AML)患者(0.1198 ± 0.0884), 差异有统计学意义($P = 0.0037$)。DAPK mRNA 表达改变与患者 WBC 计数、纤维蛋白原呈正相关($P < 0.05$); 与患者的性别、年龄、AML 亚型、初诊 AL 第一次诱导缓解治疗疗效等结果均无相关性($P > 0.05$)。**结论** DAPK mRNA 表达在白血病细胞中显著降低。

[关键词] 骨髓细胞; 急性白血病; 死亡相关蛋白激酶; 逆转录-聚合酶链反应

[中图分类号] R733.71

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)22-3072-03

The expression and clinical significance of death-associated protein kinase in acute leukemia

Ying Peipei, Yang Mingzhen[△]

(Department of Hematology, First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China)

[Abstract] **Objective** To detect expression of death-associated protein kinase (DAPK) in acute leukemia cells, explore the relationship between DAPK expression and clinical characteristics of patients with acute leukemia(AL). **Methods** The relative expression of DAPK mRNA in leukemic cells and normal bone marrow cells or peripheral blood was detected by semi quantitative RT-PCR method. **Results** The expression of DAPK mRNA in bone marrow or peripheral blood samples of 18 normal control group was 0.3567 ± 0.1061 , The expression of DAPK mRNA in bone marrow or peripheral blood samples of 54 patients with acute leukemia was 0.1048 ± 0.0941 , the experimental group was significantly lower than the control group, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). In the experimental group, the relative expression of 13 ALL patients was 0.0577 ± 0.0995 , and the relative expression of in 41 patients with AML was 0.1198 ± 0.0884 , AML group was lower than that of ALL group ($P = 0.0037$). DAPK mRNA expression was positively correlated with the white blood cell count and fibrinogen content of the patients ($P < 0.05$); and had no correlation with sex, age, fusion gene, platelet count, LDH value, acute myeloid leukemia subtype, and first remission induction therapy in newly diagnosed acute leukemia patients ($P > 0.05$). **Conclusion** DAPK mRNA expression was significantly decreased in leukemia cells.

[Key words] bone marrow cells; acute leukemia; death-associated protein kinase; reverse transcriptase PCR

近年研究表明,急性白血病(AL)发生是遗传和表观遗传改变及环境因素相互作用的结果,特别是启动子区甲基化,导致肿瘤抑制基因及肿瘤相关基因表达沉默,在其发生、发展中发挥了重要作用。死亡相关蛋白激酶(DAPK)是一种与肿瘤凋亡、转移等密切相关的丝氨酸/苏氨酸激酶,可激活经典的 p53-半胱氨酸蛋白酶(caspase)途径及不依赖于 caspase 凋亡途径的多条肿瘤细胞凋亡通路,同时 DAPK 可被 Fas、 γ -干扰素(INF- γ)、肿瘤坏死因子 β (TNF- β)、c-myc 等因子激活,很可能是多种信号诱导肿瘤细胞凋亡的汇合点^[1]。本研究采用半定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法,对 AL 患者细胞中 DAPK mRNA 的表达水平进行了检测,观察其与 AL 各临床指标及该病发生、发展的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 2~10 月安徽医科大学第一附属医院血液科的 54 例 AL 患者骨髓或外周血标本。其中初治 AL 38 例,复发 6 例,慢性粒细胞白血病急变 3 例,骨髓增生异常综合征急变 2 例,第一次诱导未缓解 5 例。初诊 AL 38 例,第一次诱导缓解时,放弃治疗 9 例,未缓解 9 例,缓解 18 例,死亡 2 例(1 例死于重症感染,1 例死于脑出血)。所有病例均经

临床、形态学、免疫学及组化染色确诊。对照组取自 18 例骨髓移植供者和健康体检者的骨髓或外周血单个核细胞。

1.2 试剂与仪器 淋巴细胞分离液, Trizol 试剂(美国 Invotrogen 公司),引物(上海生工生物工程有限公司),PCR 仪(德国 Biometra 公司),Tanon 凝胶成像系统(上海 Tanon 公司),分光光度仪,低温冷冻离心机。Takara Code No. RR055A PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver. 2 购自日本 TaKaRa 公司。

1.3 方法

1.3.1 引物选择 PCR 引物序列参照文献[2]。DAPK 上游引物:5'-GCC TGG AGA CGG AGA AGA T-3',下游引物:5'-AAC TCC CGT GGC TGG TAG A-3',扩增产物长度为 170 bp; β -actin 上游引物:AGC GAG CAT CCC CCA AAG TT,下游引物:GGG CAC GAA GGC TCA TCA TT,扩增片段长度为 285 bp。由上海生工生物工程技术有限公司合成、纯化,用无 RNA 酶灭菌双蒸水溶解为 20 μ mol/L, -20 $^{\circ}$ C 保存以备用。

1.3.2 细胞总 RNA 提取 抽取对照组及 AL 组患者骨髓或外周血各 3 mL,肝素抗凝,经淋巴细胞 Ficoll 分离液分离单个

核细胞,取界面层单个核细胞 100 μL 移入 1.5 mL EP 管内,加入 1 mL Trizol 保护液中充分混匀。按 TRizol 法提取 RNA,所提取总 RNA 用 DEPC 处理,双蒸水溶解后用紫外分光光度计测定纯度($OD_{260}/OD_{280} > 1.8$),同时进行 RNA 定量。

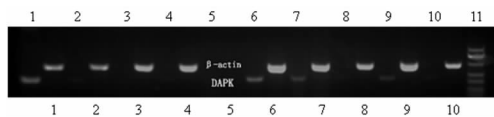
1.3.3 半定量 RT-PCR 总反应体系 25 μL ,内含 prime script 1 step Enzyme Mix 1 μL , 2×1 step Buffer 12.5 μL ,上游、下游引物 Primer(20 $\mu\text{m}/\mu\text{L}$)各 0.5 μL 。Template RNA/内参 RNA 0.5 μL ($< 0.5 \mu\text{L}$),RNase Free dH_2O up to 25 μL 。优化后最佳反应条件:50 $^\circ\text{C}$ 30 min,94 $^\circ\text{C}$ 预变性 2 min,94 $^\circ\text{C}$ 变性 30 s,55 $^\circ\text{C}$ 退火 30 s,72 $^\circ\text{C}$ 延伸 1 min,28 个循环。对照:(1)直接用每个样本总 RNA 进行 RT-PCR 反应;(2)不加引物进行反应;(3)不加 RNA 进行 RT-PCR 反应。

1.3.4 PCR 产物电泳结果判定 取扩增产物 10 μL ,在 2% 琼脂糖凝胶(每 50 μL 加 5 μL GOLDview)上进行电泳,80 V,40 min。紫外线投射仪下观察并照相。根据特异性条带的有无,分别记为阳性和阴性。以目的基因 DNA 扩增带密度与 β -actin 扩增片段密度比值为其 mRNA 表达水平的定量指标。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件包进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间进行 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 DAPK mRNA 的表达 DAPK mRNA 在部分 AL 患者骨髓单个核细胞中的表达电泳图见图 1。AL 组 DAPK mRNA 表达水平明显低于对照组(0.104 8 \pm 0.094 1 vs. 0.356 7 \pm 0.106 1, $P < 0.01$)。



1:对照组;2、3、4、6、7、8、9、10:AL组;5:空白对照组;11:DNA mark 500。

图 1 DAPK mRNA 的表达电泳图

表 1 初诊 AL 患者骨髓单个核细胞中 DAPK mRNA 表达与临床特征 WBC 相关性($\bar{x} \pm s$)

临床特征	n	DAPK mRNA 表达量	P
初诊 AL WBC 计数			
$\geq 20 \times 10^9/\text{L}$	17	0.136 5 \pm 0.093 7	< 0.05
$< 20 \times 10^9/\text{L}$	21	0.062 4 \pm 0.087 1	
初诊 ALL WBC 计数			
$\geq 20 \times 10^9/\text{L}$	4	0.060 0 \pm 0.071 1	> 0.05
$< 20 \times 10^9/\text{L}$	9	0.056 6 \pm 0.113 7	
初诊 AML WBC 计数			
$\geq 20 \times 10^9/\text{L}$	13	0.160 0 \pm 0.088 9	< 0.01
$< 20 \times 10^9/\text{L}$	12	0.066 0 \pm 0.065 8	

2.2 DAPK mRNA 表达与 AL 临床表现的关系 初诊 AL 患者中,WBC $\geq 20 \times 10^9/\text{L}$ 组 DAPK mRNA 表达高于 WBC $< 20 \times 10^9/\text{L}$ 组($P = 0.016$);初诊急性髓系白血病(AML)患者,WBC $\geq 20 \times 10^9/\text{L}$ 组 DAPK mRNA 表达高于 WBC $< 20 \times 10^9/\text{L}$ 组($P < 0.01$);初诊急性淋巴细胞白血病(ALL)患者,WBC $\geq 20 \times 10^9/\text{L}$ 组与 WBC $< 20 \times 10^9/\text{L}$ 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。AML 患者 DAPK mRNA 表达

高于 ALL 患者($P = 0.037$),纤维蛋白原(Fib)大于或等于 4 g/L 组高于小于 4 g/L 组($P = 0.031$),初诊 AL 患者中 WBC $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$ 组高于 WBC $< 100 \times 10^9/\text{L}$ 组($P = 0.019$);与患者的性别、年龄、初诊诱导治疗疗效均无相关性($P > 0.05$),见表 2。对初诊 AML 25 例患者进行白血病分型,其中 M1 3 例,M2 13 例,M4 1 例,M5 8 例,DAPK mRNA 表达与 AML 亚型无相关性($P > 0.05$),因 M1、M4 例数过少未进行比较分析,见表 3。

表 2 AL 患者骨髓单个核细胞中 DAPK mRNA 表达与临床特征的相关性($\bar{x} \pm s$)

临床特征	n	DAPK mRNA 表达量	P
年龄(岁)			
≥ 60	15	0.100 70 \pm 0.085 90	0.843
< 60	39	0.106 40 \pm 0.098 13	
性别			
男	40	0.104 70 \pm 0.098 90	0.993
女	14	0.105 00 \pm 0.106 46	
初诊 AL WBC 计数			
$\geq 100 \times 10^9/\text{L}$	5	0.188 00 \pm 0.134 80	0.019
$< 100 \times 10^9/\text{L}$	33	0.081 50 \pm 0.083 30	
分型			
ALL	13	0.057 70 \pm 0.099 51	0.037
AML	41	0.119 80 \pm 0.088 42	
Fib(g/L)			
≥ 4	27	0.132 20 \pm 0.094 11	0.031
< 4	27	0.077 40 \pm 0.087 42	
初诊 AL 第一次诱导治疗			
缓解	18	0.096 10 \pm 0.111 40	0.990
未缓解	9	0.096 70 \pm 0.081 00	

表 3 初诊 AML 患者 DAPK mRNA 表达与其亚型的相关性($\bar{x} \pm s$)

类型	n	DAPK mRNA 表达量	P
M2 组	13	0.090 0 \pm 0.620 0	0.150
非 M2 组	12	0.142 5 \pm 0.110 1	
M5 组	8	0.113 8 \pm 0.790 9	0.958
非 M5 组	17	0.115 9 \pm 0.977 9	
M2 组	13	0.090 0 \pm 0.620 0	0.452
M5 组	8	0.113 8 \pm 0.790 9	

3 讨 论

凋亡受阻是人类肿瘤的重要特征之一,白血病是起源于造血干细胞的恶性克隆性疾病,其发生、发展与白血病细胞增殖失控、分化障碍、凋亡受阻密切相关。DAPK 是一种重要的凋亡前基因,定位于人类染色体 9q34.1,全长 4 293 bp,是一种钙离子调节的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,通过去磷酸化激活来调控细胞凋亡;其家族至少有 5 个成员,在各种组织中广泛表达,参与外源性和内源性凋亡通路,启动诱导凋亡途径,是凋亡的正性调节因子之一^[3]。DAPK 的结构包括一个核心的激酶区、

钙离子/钙调蛋白结合区、锚蛋白重复序列区、P-环、细胞骨架结合区、死亡区和富含丝氨酸的尾部 7 个部分。核心激酶区位于钙离子/钙调蛋白结合区与 N-端之间,由 11 个丝/苏氨酸结构组成,还含有一个保守的赖氨酸残基,该残基与腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)的结合有关,若发生突变(K42W 或 K42A)会引起凋亡作用的消失^[4-6]。

研究结果表明,DAPK 基因在正常组织中均有表达,而在一些人类肿瘤细胞株和原发性恶性肿瘤如 B 细胞、T 细胞来源的恶性肿瘤、鼻咽癌、卵巢癌/子宫癌、鳞状细胞癌、肺癌、结直肠癌等组织中 DAPK 的表达异常低下或缺失^[6-13],而且其表达缺失也与其 CpG 岛的甲基化改变密切相关,提示与癌症的发生、发展有着密切的联系。本研究显示,DAPK 基因在白血病细胞中的表达明显低于健康人单个核细胞,差异有统计学意义($P < 0.01$),与上述结论一致,进一步证实 DAPK 基因是潜在的白血病抑制基因。

通过分析 DAPK 表达与 AL 临床特征之间的关系发现,ALL 组 DAPK mRNA 表达量低于 AML 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 DAPK 表达缺失在 ALL 中可能较 AML 有更高潜在促进白血病细胞发生、发展的风险,其具体作用机制尚有待进一步研究。相关分析显示,DAPK 表达与初诊 AL WBC 计数呈正相关,但均明显低于对照组。AL 的发生与白血病细胞增殖失控、分化障碍、凋亡受阻密切相关,可能在 $WBC \geq 20 \times 10^9/L$ 患者发病过程中白血病细胞增殖失控起主要作用。进一步研究发现,初诊 ALL 中 DAPK 表达与 WBC 计数无相关性,而初诊 AML 中 DAPK 表达与 WBC 计数依然呈正相关性,有研究报道 DAPK 主要表达在较成熟细胞^[14],可能髓系 $WBC \geq 20 \times 10^9/L$ 患者较髓系 $WBC < 20 \times 10^9/L$ 患者白血病细胞发育成熟些,细胞越原始,DAPK 相对表达越低。DAPK 导致 AML 发生是否存在其他机制,尚需大量研究证实。因时间原因仅对初诊 AL 患者第一次诱导治疗疗效进行分析,未进行长期动态随访,生存率与 DAPK mRNA 表达是否相关,尚需大量研究证实。肿瘤的转移过程与黏附紧密相关。血浆 Fib 是一种糖蛋白,由肝细胞合成和分泌,其主要生理功能作为凝血因子 I 直接参与体内凝血过程,同时其与细胞黏附、伸展移动、增殖和分化密切相关。有研究显示^[15],Fib 及其降解产物在患癌时增高,可增强血小板对癌细胞的黏附,从而利于癌细胞的转移,故 Fib 水平升高往往预示着肿瘤有转移的倾向。本研究发现,DAPK mRNA 表达改变与患者 Fib 呈正相关,在白血病患者中高水平表达 DAPK mRNA 可能预示有高度侵袭和转移倾向。血液的高凝状态与恶性肿瘤的发生、发展及复发转移有着密切的关系,恶性肿瘤患者的血液多存在明显的高凝状态^[16]。提示在白血病患者中 DAPK mRNA 表达较高者血液多存在明显的高凝状态。本研究发现 AL 细胞中 DAPK mRNA 表达量明显低于对照组,表明 DAPK 表达缺失可能是 AL 发生、发展重要机制之一,而在高水平表达 DAPK mRNA AL 患者中,Fib 明显增高,可能在该类患者发病机制中 Fib 高表达占有重要作用。本研究因患者就诊时间干扰,实验样本量不足,受时间实验条件等客观因素限制,未能进行大样本实验,其结果有待于进一步验证。

肿瘤细胞中的一些抑癌基因高度甲基化可导致基因转录失活^[17],牛一蒙等^[18]通过 RT-PCR 检测到 AL 患者中 DAPK 启动子区甲基化与其 mRNA 的异常表达有关,目前广泛认为 DAPK 在肿瘤组织中降低是由于其启动子区 CpG 岛区发生异常甲基化。本研究结果也证实了 DAPK 在 AL 细胞尤其 ALL 中异常低表达。研究 DAPK 分子作用机制及其参与肿瘤发

生、发展的信号传导过程,探求阻断其信号传导或抑制其作用的方法,可能为未来肿瘤的治疗提供新的视野。

参考文献

- [1] Cohen O, Inbal B, Kissil JL, et al. DAP-kinase participates in TNF-alpha and Fas-induced apoptosis and its function requires the death domain[J]. *J Cell Biol*, 1999, 146(2): 141-148.
- [2] Raval A, Tanner SM, Byrd VC, et al. Downregulation of death associated protein kinase 1 (DAPK1) in chronic lymphocytic leukemia[J]. *Cells*, 2007, 129(5): 879-890.
- [3] Kogel D, Prehn JH, Scheidtmann KH. The DAP kinase family of pro-apoptotic; novel players in the apoptotic game [J]. *Bioessays*, 2001, 23(4): 352-358.
- [4] Zhao XL, Meng ZY, Qiao YH, et al. Promoter methylation of DAPK gene in cervical carcinoma[J]. *Ai Zheng*, 2008, 27(10): 919-923.
- [5] Yanagawa N, Osakabe M, Hayashi M, et al. Detection of HPV-DNA, p53 alterations, and methylation in penile squamous cell carcinoma in Japanese men[J]. *Pathol Int*, 2008, 58(5): 477-482.
- [6] Kissil JL, Feinstein E, Cohen O, et al. DAP-kinase loss of expression in various carcinoma and B-cell lymphoma cell lines; possible implications for role as tumor suppressor gene[J]. *Oncogene*, 1997, 15(5): 403-407.
- [7] Aggerholm A, Hokland P. DAP-kinase CpG island methylation in acute myeloid leukemia: methodology versus biology? [J]. *Blood*, 2000, 95(30): 2997-2999.
- [8] Nakatsuka S, Takakuwa T, Tomita Y, et al. Hypermethylation of death-associated protein(DAP)kinase CpG island is frequent not only in B-cell but also in T- and natural killer(NK)/T-cell malignancies[J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(1): 87-91.
- [9] Wong TS, Chang HW, Tang KC, et al. High frequency of promoter hypermethylation of the death-associated protein-kinase gene in nasopharyngeal carcinoma and its detection in the peripheral blood of patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(5): 433-437.
- [10] Bai T, Tanaka T, Yukawa K, et al. Reduced expression of death-associated protein kinase in human uterine and ovarian carcinoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2004, 11(7): 661-665.
- [11] Ogi K, Toyota M, Ohe-Toyota M, et al. Aberrant methylation of multiple genes and clinicopathological features in oral squamous cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(32): 3164-3171.
- [12] Toyooka S, Toyooka KO, Miyajima K, et al. Epigenetic down-regulation of death-associated protein kinase in lung cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(30): 3034-3041.
- [13] Satoh A, Toyota M, Itoh F, et al. DNA methylation and histone deacetylation associated with silencing DAP-kinase gene expression in colorectal and gastric cancers[J]. *Br J Cancer*, 2002, 86(20): 1817-1823. (下转第 3077 页)

的活性,减少其在腺肌症中的表达,进而减少新生血管,减少其转移和侵袭作为治疗的切入点,已经成为目前探索腺肌症分子治疗的热点。Zhong 等^[12]报道强氧化剂不利于 HIF-1 α 在低氧细胞的表达及其 DNA 结合活性。本研究中发现,通过高浓度氧改变腺肌症细胞的乏氧状态,细胞中 HIF-1 α 蛋白的表达明显下降,且随着时间的延长,HIF-1 α 持续下降趋势,与前述研究结果相符。HIF-1 α 是氧感受家族中的管家转录因子,在常氧下极不稳定,可经泛素蛋白酶解通路迅速被降解,而缺氧则抑制其降解,使 HIF-1 α 表达增强,并通过激活一系列靶基因的转录,使细胞获得对组织低氧和营养物质供应减少的适应能力,维持细胞的生存与增殖^[13]。本研究将腺肌症细胞持续高浓度氧刺激,一方面利用氧自由基对细胞本身的损害减少 HIF-1 α 的表达,另一方面使持续高浓度氧状态降低 HIF-1 α 的稳定性,使其降解。而高浓度氧降低 HIF-1 α 表达最主要的机制,是利用持续高浓度氧提高腺肌症细胞生长环境的氧分压,使乏氧细胞转变为富氧细胞,减少低浓度氧环境对细胞的刺激,降低 HIF-1 α 的表达,相应降低 HIF-1 α 转录的一系列因子,减少腺肌症细胞的生长^[14]。

综上所述,高浓度氧可损伤腺肌症细胞,并抑制其生长,通过减少细胞中 HIF-1 α 的表达,可能对病灶中新生血管的生成产生抑制。通过高浓度氧来抑制腺肌症病灶的生长和侵袭,在国内外的研究中尚处于新兴阶段,但已经有一些基础实验证明了这条途径的可能性。本研究从细胞水平进一步证明了高浓度氧对腺肌症病灶的抑制,为临床研究中,探索腺肌症非手术治疗提供新的思路。尤其针对育龄期腺肌症患者保留生育力的治疗研究提供了理论基础。

参考文献

- [1] Taran F, Stewart E, Brucker S. Adenomyosis: epidemiology, risk factors, clinical phenotype and surgical and interventional alternatives to hysterectomy [J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2013, 73(9): 924-931.
- [2] 张颖, 段华. 子宫内膜-肌层交界区的生理功能与相关疾病 [J]. *华妇产科杂志*, 2009, 44(11): 876-878.
- [3] Zhou S, Yi T, Liu R, et al. Proteomics identification of annexin A2 as a key mediator in the metastasis and proangiogenesis of endometrial cells in human adenomyosis [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2012, 11(7): 715-720.
- [4] Goteri G, Lucarini G, Montik N, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α), and microvessel density in endometrial tissue in women with adenomyosis [J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2009, 28(2): 157-163.
- [5] Ahn G, Seita J, Hong B, et al. Transcriptional activation of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) in myeloid cells promotes angiogenesis through VEGF and S100A8 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(7): 2698-2703.
- [6] Wang J, Jiang C, Alattar M, et al. Oxidative injury induced by cadmium sulfide nanoparticles in A549 cells and rat lungs [J]. *Inhal Toxicol*, 2015, 25(5): 1-10.
- [7] Holley AK, Dhar SK, Xu Y, et al. Manganese superoxide dismutase: beyond life and death [J]. *Amino Acids*, 2012, 42(1): 139-158.
- [8] Yasmeeen H, Hasnain S. In vitro antioxidant effect of *Camellia sinensis* on human cell cultures [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2015, 28(5): 1573-1581.
- [9] Huang T, Chen Y, Chou T, et al. Oestrogen-induced angiogenesis promotes adenomyosis by activating the Slug-VEGF axis in endometrial epithelial cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(7): 1358-1371.
- [10] Riddell J, Maier P, Sass S, et al. Peroxiredoxin 1 stimulates endothelial cell expression of VEGF via TLR4 dependent activation of HIF-1 α [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e50394.
- [11] Cammarata PR, Neelam S, Brooks MM. Inhibition of hypoxia inducible factor-1 α downregulates the expression of epithelial to mesenchymal transition early marker proteins without undermining cell survival in hypoxic lens epithelial cells [J]. *Mol Vis*, 2015, 9(1): 1024-1035.
- [12] Zhong H, Marzo AM, Laughner E, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor-1 α in common human cancers and their metastases [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(6): 5830-5835.
- [13] Feast A, Martinian L, Liu J, et al. Investigation of hypoxia-inducible factor-1 α in hippocampal sclerosis: A postmortem study [J]. *Epilepsia*, 2012, 53(8): 1349-1359.
- [14] Sun L, Marti HH, Veltkamp R. Hyperbaric oxygen reduces tissue hypoxia and hypoxia-inducible factor-1 α expression in focal cerebral ischemia [J]. *Stroke*, 2008, 39(3): 1000-1006.
- [14] 吴红红, 曹晖, 王亚哲, 等. CD7 阳性急性髓系白血病骨髓干/祖细胞 5 个基因表达的研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2009, 17(2): 298-303.
- [15] 朱明霞, 彭佳, 倪飞, 等. 恶性淋巴瘤患者血浆纤维蛋白原水平与功能测定的临床意义研究 [J]. *血栓与止血学*, 2010, 16(5): 210-212.
- [16] Voland C, Serre CM, Delmas P. Platelet-osteosarcoma cell interaction is mediated through a specific fibrinogen-binding sequence located within the N-terminal domain of thrombospondin [J]. *J Bone Miner Res*, 2000, 15(4): 361-368.
- [17] Giuseppe L, Luciana T, Maria Teresa V, et al. DNA methylation and demethylating drugs in myelodysplastic syndromes and secondary leukemias [J]. *Haematologica*, 2002, 87(12): 1324-1341.
- [18] 牛一蒙, 王萍萍, 王玥, 等. 急性白血病死亡相关蛋白激酶基因表达及启动子区甲基化状态研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22(1): 111-112.

(收稿日期: 2016-03-26 修回日期: 2016-05-14)

(收稿日期: 2016-03-27 修回日期: 2016-05-15)