

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.14.003

## 雌二醇对 EOMA 细胞增殖、ER $\alpha$ 、ER $\beta$ 及 VEGF 表达的影响\*

宋晓峰,王宁,李亚莎,金先庆,王佚,李晓庆,周德凯 $\Delta$

(重庆医科大学附属儿童医院胃肠外科及新生儿外科/儿童发育疾病研究教育部重点实验室/

重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地/儿科学重庆市重点实验室,重庆 400014)

**[摘要]** **目的** 探讨 17 $\beta$ -雌二醇(E<sub>2</sub>)对鼠源性血管瘤血管内皮细胞(EOMA 细胞)生长,雌激素  $\alpha$ 、 $\beta$  受体亚型(ER $\alpha$ 、 $\beta$ )及血管内皮生长因子(VEGF)表达的影响。**方法** 用 1、10、100 nmol/L 浓度的 E<sub>2</sub> 分别作用于 EOMA 细胞,同时设对照组(不加 E<sub>2</sub>)。四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测不同时间点其对 EOMA 细胞生长的影响;Western blot 检测 EOMA 细胞的 ER $\alpha$ 、 $\beta$  表达强度;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞培养上清液中 VEGF 的分泌水平。**结果** 1 nmol/L E<sub>2</sub> 组在 36 h 时高于对照组( $P < 0.05$ );10 nmol/L E<sub>2</sub> 组、100 nmol/L E<sub>2</sub> 组各个时间点 OD 值均明显高于对照组( $P < 0.05$ ),36 h 时 OD 值最高( $P < 0.01$ )。E<sub>2</sub> 作用下 10 nmol/L E<sub>2</sub> 组 ER $\alpha$  和 ER $\beta$  水平及 100.0 nmol/L E<sub>2</sub> 组 ER $\alpha$  水平较对照组均明显增高( $P < 0.05$ )。24、48 h 时,各浓度 E<sub>2</sub> 组与对照组的 VEGF 水平比较均差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),48 h 时 100 nmol/L E<sub>2</sub> 组和 10 nmol/L E<sub>2</sub> 组 VEGF 水平均高于 1 nmol/L E<sub>2</sub> 组( $P < 0.05$ )。**结论** E<sub>2</sub> 可促进 EOMA 细胞增殖,可能主要通过 ER $\alpha$ 、VEGF 表达水平上调来实现。

**[关键词]** 雌二醇;雌激素受体  $\alpha$ ;雌激素受体  $\beta$ ;内皮,血管;血管瘤;鼠源性血管内皮瘤内皮细胞;血管内皮生长因子

**[中图分类号]** R726.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2017)14-1878-03

### Effect of E<sub>2</sub> on the expression of estrogen receptor $\alpha$ 、 $\beta$ and VEGF and the proliferation of EOMA cells\*

Song Xiaofeng, Wang Ning, Li Yasha, Jin Xianqing, Wang Yi, Li Xiaoqing, Zhou Dekai $\Delta$

(Department of Gastrointestinal and Neonatal Surgery, the Children's Hospital, Chongqing Medical University/Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders/Chongqing

International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders/Key

Laboratory of Pediatrics in Chongqing, Chongqing 400014, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the effect of 17 $\beta$ -estradiol (E<sub>2</sub>) on proliferation of murine endothelial (EOMA) cells and the expression of estrogen receptor(ER $\alpha$  and ER $\beta$ ) and vascular endothelial growth factor (VEGF). **Methods** Different concentrations of E<sub>2</sub> (1, 10, 100 nmol/L) were used in EOMA cells. At the same time, We set the control group (without E<sub>2</sub>). MTT assay was used to detect the effect of EOMA on the growth of EOMA cells at different time points. Western blot was used to detect the expression of ER $\alpha$  and  $\beta$  in EOMA cells; and the secretion level of VEGF in supernatant was detected by ELISA. **Results** The OD value of E<sub>2</sub> group(10 nmol/L) was significantly higher than that of control group at 36 h( $P < 0.05$ ). The OD values of E<sub>2</sub> group(10 nmol/L and 100 nmol/L) were significantly higher than that of control group( $P < 0.05$ ) at each time, and the OD value was the highest at 36 h( $P < 0.01$ ). The expression of ER $\alpha$  and ER $\beta$  in EOMA cells cultured with E<sub>2</sub> (10 nmol/L) and the expression of ER $\alpha$  in EOMA cells cultured with(100 nmol/L) were significantly higher than those in the control group( $P < 0.05$ ). At 24, 48 h, the expression of VEGF of each E<sub>2</sub> group was higher than that of the control group; and at 48 h, the VEGF levels in the E<sub>2</sub> group(10 nmol/L and 100 nmol/L) were significantly higher than E<sub>2</sub> group(1 nmol/L) ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** E<sub>2</sub> could promote the proliferation of EOMA cells, mainly through the expression of ER $\alpha$ , VEGF to achieve.

**[Key words]** estradiol; estrogen receptor alpha; estrogen receptor beta; endothelium, vascular; hemangioma; murine endothelial cells; vascular endothelial growth factor

血管瘤是婴幼儿最常见的肿瘤,发病率高达 3%~8%。部分血管瘤可出现严重的并发症,造成患儿机体功能障碍,严重毁损容貌,甚至危及生命。而血管瘤的发病原因、影响其生长的因素目前仍不清楚。有研究发现血管瘤的发生及生长与雌激素密切相关<sup>[1-3]</sup>。雌激素通过雌激素受体(ER)发挥生理效应,ER 有  $\alpha$  和  $\beta$  两种亚型,二者在雌激素作用下如何发挥效应有待进一步研究。本实验拟通过观察 17 $\beta$ -雌二醇(E<sub>2</sub>)对血

管瘤血管内皮细胞的增殖、血管内皮生长因子(VEGF)及 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  表达的影响,探讨雌激素影响血管瘤发生及增殖调控的机制。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 鼠源性血管内皮瘤内皮细胞(EOMA 细胞)购自美国典型菌种保藏中心(ATCC);DMEM/F-12 细胞培养液购自美国 Hyclone 公司;胎牛血清购自美国 Invitrogen 公司;兔

\* 基金项目:国家临床重点专科建设项目(国卫办医函[2013]544);重庆市自然科学基金资助项目(cstc2011jjA10087);重庆市卫生局基金资助项目(2011-2-252);重庆市教委科学技术研究资助项目(KJ120308)。 作者简介:宋晓峰(1970—),副主任医师,博士,主要从事血管瘤发病机制及治疗方面研究。  $\Delta$  通信作者, E-mail: 732587579@qq.com。

表 1 各组不同时间点 OD 值比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	12 h	24 h	36 h
正常对照组	0.419 7±0.076 9	0.503 2±0.059 7	0.592 9±0.110 2
1 nmol/L E <sub>2</sub> 组	0.496 7±0.045 3	0.602 5±0.088 2	0.767 1±0.067 7 <sup>a</sup>
10 nmol/L E <sub>2</sub> 组	0.551 0±0.067 4 <sup>ab</sup>	0.613 1±0.056 3 <sup>ab</sup>	0.868 2±0.017 3 <sup>ac</sup>
100 nmol/L E <sub>2</sub> 组	0.545 6±0.074 8 <sup>ab</sup>	0.605 6±0.055 8 <sup>ab</sup>	0.856 1±0.012 2 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与正常对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与同组 36 h 比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与 1 nmol/L E<sub>2</sub> 组比较。

抗小鼠 ER $\alpha$  抗体、兔抗小鼠 ER $\beta$  抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; 羊抗人肌动蛋白(Actin)抗体购自美国 Santa Cruz 公司; 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白 G(IgG) 抗体及兔抗羊 IgG 抗体购自北京中杉生物技术公司; E<sub>2</sub> 购自美国 Sigma 公司; VEGF 抗体包被板购自北京四正柏生物科技有限公司; 凯基全蛋白提取试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 血管瘤血管内皮细胞培养和传代 EOMA 细胞接种在含 10% 胎牛血清(FBS)的 DMEM/F-12 高糖培养基中, 置于 5% CO<sub>2</sub> 37 °C, 饱和湿度的培养箱中培养; 常规传代培养。取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测 E<sub>2</sub> 对 EOMA 细胞增殖的影响 EOMA 细胞以  $1 \times 10^3$  /mL 的浓度接种于 96 孔板, 每孔 100  $\mu$ L, 培养 24 h 在细胞单层铺满孔底后加入不同浓度的 E<sub>2</sub>, 使其培养液中终浓度分别为 1、10、100 nmol/L (分别为 1、10、100 nmol/L E<sub>2</sub> 组), 每个浓度设 6 个复孔, 同时设正常对照组(不加 E<sub>2</sub>) 和空白对照组(与实验平行不加细胞, 其他条件相同的对照孔, 比色时以空白孔调零)。培养 12、24、36 h 后分别于每孔加 MTT 溶液(5 mg/mL) 20  $\mu$ L, 继续培养 4 h 后, 终止培养, 吸弃孔内培养上清液。每孔加入 150  $\mu$ L 二甲基亚砜(DMSO), 振荡 10 min, 使结晶物充分融解。在酶联免疫监测仪上选择 490 nm 波长, 测定细胞各孔光密度值(OD 值)。实验重复 3 次, 取其平均值分析。

1.2.3 Western blot 检测 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  蛋白在 EOMA 细胞中的表达水平 EOMA 细胞接种于培养瓶中, 在细胞接近铺满瓶底后加入不同浓度的 E<sub>2</sub>, 使其培养液中终浓度分别为 1、10、100 nmol/L (分别为 1、10、100 nmol/L E<sub>2</sub> 组), 每个浓度设 5 个培养瓶, 同时设对照组(加入等体积溶剂)。培养 24 h 后收集 EOMA 细胞, 凯基全蛋白提取试剂盒按步骤提取全蛋白。蛋白样品按 4 : 1 比例加入十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)蛋白上样缓冲液中, 沸水浴加热后电泳。电泳完毕后, 将目的蛋白位置的浓缩胶切下, 置入电转缓冲液中; SDS-PAGE 凝胶在电转缓冲液中浸泡后, 将滤纸、聚偏二氟乙烯(PVDF)膜和 SDS-PAGE 凝胶安装好并置入电转槽中, 100 v 恒压转膜 90 min; 电转完毕, 取下 PVDF 膜置入 TBS-T 中漂洗, 根据 Marker 剪出所需的蛋白的 PVDF 膜; 将 PVDF 膜置于封闭液中, 常温下轻微摇动 1 h; TBS-T 洗 PVDF 膜; 分别加入稀释一抗, 置入 4 °C 冰箱孵育过夜(稀释比例: 兔抗小鼠 ER $\alpha$  抗体为 1 : 200, 兔抗小鼠 ER $\beta$  抗体为 1 : 200, 羊抗人  $\beta$ -actin 为 1 : 3 000); TBS-T 洗 PVDF 膜; 分别加入 1 : 5 000 稀释二抗孵育 1 h; TBS-T 洗 PVDF 膜; 电化学发光(ECL)试剂盒进行化学发光, 成像并存储数据; Quantity-One 软件获得同次电泳所得的目的蛋白和  $\beta$ -actin 条带灰度值数据, 以各组的目

蛋白/ $\beta$ -actin 的灰度比值作为相对表达水平。

1.2.4 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞培养上清液中 VEGF 的分泌水平 EOMA 细胞以  $1 \times 10^5$  /mL 的浓度接种于 24 孔板, 每孔 0.5 mL, 培养 24 h 在细胞单层铺满孔底后加入不同浓度的 E<sub>2</sub>, 使其培养液中终浓度分别为 1、10、100 nmol/L (分别为 1、10、100 nmol/L E<sub>2</sub> 组), 每个浓度设 5 个复孔, 同时设溶剂对照组(不加 E<sub>2</sub>, 加入等体积溶剂)。培养 24、48 h 后分别收集培养上清液。ELISA 法检测不同培养条件下细胞上清液中 VEGF 的分泌水平。在 450 nm 下测 OD 值, VEGF 浓度与 OD<sub>450</sub> 值之间呈正比, 通过绘制标准曲线计算出各组的 VEGF 浓度。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计学软件作统计学分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用  $t$  检验, 检验水准  $\alpha = 0.05$ , 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MTT 法检测 E<sub>2</sub> 对 EOMA 细胞增殖活性的影响 1 nmol/L E<sub>2</sub> 组在 12、24 h 和正常对照组差异无统计学意义 ( $P = 0.086, 0.154$ ), 在 36 h 时高于正常对照组 ( $P < 0.05$ ); 10、100 nmol/L E<sub>2</sub> 组各个时间点 OD 值均明显高于正常对照组 ( $P < 0.05$ ), 36 h 时 OD 值最高 ( $P < 0.01$ )。36 h 时, 1 nmol/L E<sub>2</sub> 组与 10 nmol/L E<sub>2</sub> 组、100 nmol/L E<sub>2</sub> 组 OD 值比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 10 nmol/L E<sub>2</sub> 组与 100 nmol/L E<sub>2</sub> 组比较差异无统计学意义 ( $P = 0.275$ ), 见表 1。

2.2 Western blot 检测 E<sub>2</sub> 对 EOMA 细胞 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  蛋白表达水平的影响 E<sub>2</sub> 作用下对照组中 ER $\alpha$  蛋白表达强度大于 ER $\beta$  ( $P = 0.047$ )。E<sub>2</sub> 作用下 ER $\alpha$  10 nmol/L E<sub>2</sub> 组及 100 nmol/L E<sub>2</sub> 组较对照组均明显增高 ( $P < 0.05$ ), 但不同剂量组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。E<sub>2</sub> 作用下 ER $\beta$  表达数值较对照组有上升趋势, 但仅 100 nmol/L E<sub>2</sub> 组较对照组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 不同剂量组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 1、表 2。



A:  $\beta$ -Actin; B: ER $\alpha$ ; C: ER $\beta$ 。

图 1 Western blot 检测 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  蛋白表达

2.3 ELISA 法检测细胞培养上清液中 VEGF 的分泌水平与溶剂对照组比较, 不同浓度 E<sub>2</sub> 均增加 EOMA 细胞 VEGF 的分泌水平。24、48 h 时, 各浓度 E<sub>2</sub> 组与溶剂对照组的 VEGF 水平比较均差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。24 h 时各浓度 E<sub>2</sub> 组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 48 h 时 100 nmol/L E<sub>2</sub> 组和 10 nmol/L E<sub>2</sub> 组均高于 1 nmol/L E<sub>2</sub> 组 ( $P < 0.05$ )。同组在各个时间点间比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 3。

表 2 Western blot 检测 EOMA 细胞 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  蛋白表达水平 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	ER $\alpha$	ER $\beta$
对照组	0.307 $\pm$ 0.038	0.232 $\pm$ 0.048
1 nmol/L E <sub>2</sub> 组	0.357 $\pm$ 0.060	0.264 $\pm$ 0.031
10 nmol/L E <sub>2</sub> 组	0.435 $\pm$ 0.051 <sup>a</sup>	0.290 $\pm$ 0.019
100 nmol/L E <sub>2</sub> 组	0.447 $\pm$ 0.068 <sup>a</sup>	0.318 $\pm$ 0.025 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

表 3 不同浓度 E<sub>2</sub> 作用下 VEGF 蛋白的表达 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}, n=5$ )

组别	24 h	48 h
溶剂对照组	129.74 $\pm$ 8.28	167.00 $\pm$ 11.05
1 nmol/L E <sub>2</sub> 组	226.12 $\pm$ 50.42 <sup>a</sup>	233.64 $\pm$ 28.75 <sup>a</sup>
10 nmol/L E <sub>2</sub> 组	242.92 $\pm$ 40.21 <sup>a</sup>	293.60 $\pm$ 19.87 <sup>ab</sup>
100 nmol/L E <sub>2</sub> 组	279.26 $\pm$ 34.98 <sup>a</sup>	313.78 $\pm$ 42.92 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与溶剂对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 1 nmol/L E<sub>2</sub> 组比较。

### 3 讨论

临床观察发现血管瘤瘤体增生与高水平雌激素有着密切联系:血管瘤患儿女性明显多于男性;肝硬化患儿由于肝功能减退,灭活雌激素的能力降低而出现肝掌、蜘蛛痣;裸鼠血管瘤移植模型在适当的外来雌激素的干预下,移植肿瘤增殖稳定;课题组前期研究也发现血管瘤患儿血清 E<sub>2</sub> 水平明显高于对照组。

雌激素是一种重要的脂溶性类固醇激素,主要由卵巢、睾丸及肾上腺皮质分泌产生,主要包括 E<sub>2</sub>、雌酮(estrone, E<sub>1</sub>)和雌三醇(estriol, E<sub>3</sub>),其中浓度最高且生理活性最强的是 E<sub>2</sub><sup>[4]</sup>。

经典理论认为雌激素通过与其受体结合而发挥生理作用,其生理作用主要由 ER $\alpha$ 、 $\beta$  两种亚型介导,ER $\alpha$  和 ER $\beta$  由不同的基因编码,具有不同的 cDNA 和蛋白质分子结构,在不同组织器官中分布不同及相应 mRNA 表达差异是对雌激素靶器官和组织的生理、病理产生不同影响的雌激素作用的组织特异性的物质基础<sup>[5]</sup>。基因表达图谱显示 ER $\alpha$  能够上调与细胞生长相关基因的表达,而 ER $\beta$  能调节与信号转导、细胞周期进展及细胞凋亡相关基因的表达<sup>[6]</sup>。学者研究发现 E<sub>2</sub> 干预下可影响胃癌细胞株的增殖活力和 ER $\alpha$  蛋白质表达水平<sup>[7]</sup>。E<sub>2</sub> 刺激膜相关的结合位点 ER 并诱导快速的细胞内信号转导和组织反应,其中 ER $\alpha$  转染的乳腺癌细胞与 ER $\alpha$  阴性对照细胞相比细胞增殖增加<sup>[8]</sup>。研究发现大鼠子宫同时有 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  两种受体亚型的表达,但 ER $\alpha$  mRNA 表达水平明显强于 ER $\beta$ ,E<sub>2</sub> 可明显上调去势大鼠子宫 ER $\alpha$  的 mRNA 表达,但对 ER $\beta$  无明显作用,推测 E<sub>2</sub> 可通过 ER $\alpha$ /ER $\beta$  比率升高,改变二聚体构成,促进子宫内膜的增殖<sup>[9]</sup>。

ER $\alpha$ 、ER $\beta$  在血管瘤上皮细胞增殖中的作用机制尚不明确,二者是共同介导了雌激素对血管瘤上皮细胞的增殖作用,还是相互拮抗发挥生物学效应,需要实验进一步研究。课题组在前期研究基础上发现 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  在 EOMA 细胞胞质均有表达,ER $\alpha$  的表达水平显著高于 ER $\beta$ ,推测 ER $\alpha$  为雌激素作用的经典靶组织。本次实验通过 MTT、Western blot、ELISA 法检测 E<sub>2</sub> 对 EOMA 细胞增殖、对 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  表达强度及对 VEGF

的分泌水平的影响。

在 MTT 法检测 E<sub>2</sub> 对 EOMA 细胞增殖的影响实验中观察到:不同剂量组在各个时间点表现出效应-时间相关性,推测雌激素的促进增殖效应可能与 E<sub>2</sub> 作用时间有关。100 nmol/L E<sub>2</sub> 组与 10 nmol/L E<sub>2</sub> 组 OD 值比较差异无统计学意义,推测可能与 E<sub>2</sub> 作用下 ER 饱和有关。1 nmol/L E<sub>2</sub> 组在 36 h 时与 100 nmol/L E<sub>2</sub> 组、10 nmol/L E<sub>2</sub> 组 OD 值比较差异有统计学意义,表现出在一定浓度范围内的剂量-效应相关性。通过 MTT 实验可以看出 E<sub>2</sub> 有明显的促进 EOMA 细胞增殖的作用,同时表现出时间、剂量-效应相关性。

通过 Western blot 检测 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  蛋白在 EOMA 细胞中的表达水平,实验结果显示:E<sub>2</sub> 作用下对照组中 ER $\alpha$  蛋白表达强度高于 ER $\beta$ ,和课题组前期通过其他检查方式得出的结论一致,即 ER $\alpha$  的表达显著高于 ER $\beta$ 。在 10、100 nmol/L 的 E<sub>2</sub> 作用下可上调 ER $\alpha$  蛋白的表达水平。仅 100 nmol/L 剂量的 E<sub>2</sub> 可上调 ER $\beta$  蛋白的表达水平。推测 E<sub>2</sub> 主要通过上调 ER $\alpha$  的表达发挥生理效应,这和其他学者的发现一致。

VEGF 是一个高度特异的血管内皮细胞有丝分裂原,对血管内皮细胞有强烈的促分裂和趋化作用,能特异性地刺激内皮细胞增殖,还具有促血管通透性作用。学者研究发现血管瘤细胞中 ER 的阳性表达与 VEGF 阳性表达呈正相关,雌激素和 VEGF 同时存在时,对血管瘤血管内皮细胞的促增殖作用更加显著,二者存在协同作用<sup>[10-12]</sup>。Hyder 等<sup>[13]</sup>进一步研究发现:VEGF 基因上有 2 个核苷酸序列与 ER 基因中的雌激素反应元件高度同源,分别位于 VEGF 基因的 5 和 3 非翻译区,这 2 个序列可与 ER 特异性地结合,雌激素与 ER 结合可影响 VEGF 的表达。

课题组通过 ELISA 法检测细胞培养上清液中 VEGF 的分泌水平,实验结果显示:3 个浓度的 E<sub>2</sub> 均增加 EOMA 细胞 VEGF 的分泌水平,与对照组比较均有显著差别,24 h 时不同剂量组间比较差异无统计学意义,48 h 时 1 nmol/L E<sub>2</sub> 组分别与 10 nmol/L E<sub>2</sub> 组、100 nmol/L E<sub>2</sub> 组比较差异有统计学意义,提示存在剂量-时间-效应相关性。但同一剂量组在两个时间点间比较没有显著差异。

本次研究结果显示 E<sub>2</sub> 能增加 EOMA 细胞 VEGF 的分泌,并协同 VEGF 促进 EOMA 细胞的增殖水平;E<sub>2</sub> 上调 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  的表达,其效应以上调 ER $\alpha$  更为显著,推测 E<sub>2</sub> 主要通过 ER $\alpha$  信号通路调节血管瘤内皮细胞的增殖。本次研究进一步证实了血管瘤生长的雌激素依赖性,为血管瘤发生及增殖机制的研究提供新的实验依据。同时由于当前临床对于血管瘤的治疗往往是经验性的,缺乏充分的理论基础及实验依据,而深入的对雌激素及其受体的研究有助于为血管瘤的基因或内分泌治疗提供新的靶点,为诊断及指导治疗提供新的思路。

### 参考文献

- [1] Sun ZY, Yang L, Yi CG, et al. Possibilities and potential roles of estrogen in the pathogenesis of proliferation hemangioma formation [J]. Med Hypotheses, 2008, 71 (2): 286-292.
- [2] 徐伟立,董春锋,牛爱国,等. 血管瘤患儿雌激素升高因素及其与瘤体增生的关系[J]. 实用儿科临床杂志, 2007, 22 (18): 1430. (下转第 1884 页)

的研究。总之,miR-204 可能在乳腺癌的发生、发展及治疗过程中发挥重要作用,靶向 miR-204 治疗也可能为乳腺癌的治疗提供新思路。

#### 参考文献

- [1] 张敏璐,黄哲宙,郑莹. 中国 2008 年女性乳腺癌发病、死亡和患病情况的估计及预测[J]. 中华流行病学杂志, 2012,33(10):1049-1051.
- [2] Kantelhardt EJ, Cubasch H, Hanson C. Taking on breast cancer in East Africa: global challenges in breast cancer [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2015, 27(1): 108-114.
- [3] 范雅文,张旭辉,张嵘,等. 三阴乳腺癌的异质性及靶向治疗[J]. 生物技术通讯, 2015, 26(3): 442-445
- [4] Ying Z, Li Y, Wu J, et al. loss of miR-204 expression enhances glioma migration and stem cell-like phenotype[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(2): 990-999.
- [5] Yi M, Li M, Long X, et al. miR-520e regulates cell proliferation, apoptosis and migration in breast cancer[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 3543-3548.
- [6] Ambros V. The functions of animal microRNAs[J]. *Nature*, 2004, 431(7006): 350-355
- [7] Rana TM. Illuminating the silence: understanding the structure and function of small RNAs[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(1): 23-36.
- [8] Mikhaylova O, Stratton Y, Hall D, et al. VHL-regulated MiR-204 suppresses tumor growth through inhibition of LC3B-mediated autophagy in renal clear cell carcinoma [J]. *Cancer Cell*, 2012, 21(4): 532-546.
- [9] Vimalraj S, Miranda PJ, Ramyakrishna B, et al. Regulation of breast cancer and bone metastasis by microRNAs[J]. *Dis Markers*, 2013, 35(5): 369-387.

- [10] Ryan J, Tivnan A, Fay J, et al. MicroRNA-204 increases sensitivity of neuroblastoma cells to cisplatin and is associated with a favourable clinical outcome[J]. *Br J Cancer*, 2012, 107(6): 967-976.
- [11] Zeng L, Yu J, Huang T, et al. Differential combinatorial regulatory network analysis related to venous metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13 Suppl 8: S14.
- [12] Kovaleva V, Mora R, Park YJ, et al. miRNA-130a targets ATG2B and DICER1 to inhibit autophagy and trigger killing of chronic lymphocytic leukemia cells[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(7): 1763-1772.
- [13] Boll K, Reiche K, Kasack K, et al. MiR-130a, miR-203 and miR-205 jointly repress key oncogenic pathways and are downregulated in prostate carcinoma[J]. *Oncogene*, 2013, 32(3): 277-285.
- [14] Wang X, Qiu W, Zhang G, et al. MicroRNA-204 targets JAK2 in breast cancer and induces cell apoptosis through the STAT3/BCI-2/survivin pathway[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 5017-5025.
- [15] Xiong F, Liu K, Zhang F, et al. MiR-204 inhibits the proliferation and invasion of renal cell carcinoma by inhibiting RAB22A expression [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(5): 3000-3008.
- [16] Imam JS, Plyler JR, Bansal H, et al. Genomic loss of tumor suppressor miRNA-204 promotes cancer cell migration and invasion by activating AKT/mTOR/Rac1 signaling and actin reorganization[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52397.

(收稿日期:2016-11-23 修回日期:2017-01-11)

(上接第 1880 页)

- [3] 马戈甲,易成刚,孙智勇,等. 不同剂量雌激素对裸鼠血管瘤模型的影响[J]. 中国美容医学, 2010, 9(2): 200-203.
- [4] Caiazza F, Ryan EJ, Doherty G, et al. Estrogen receptors and their implications in colorectal carcinogenesis [J]. *Front Oncol*, 2015(5): 19.
- [5] Gebhart JB, Rickard DJ, Barrett TJ, et al. Expression of estrogen receptor isoforms alpha and beta messenger RNA in vaginal tissue of premenopausal and postmenopausal women [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 185(6): 1325-1330.
- [6] Chang EC, Frasier J, Komm B, et al. Impact of estrogen receptor beta on gene networks regulated by estrogen receptor alpha in breast cancer cells [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(10): 4831-4842.
- [7] 周迪炜,范军,刘丽江. 17 $\beta$ -雌二醇和他莫西芬对人胃癌细胞株 BGC-823 活力及 ER- $\alpha$ 36 蛋白表达的影响[J]. 广东医学, 2015, 36(13): 2001-2004.
- [8] 于正洪,王新星,陈龙邦,等. 雌二醇和胰岛素样生长因子- I 诱导的胰岛素样生长因子- I 受体和雌激素受体间

的作用研究[J]. 医学研究生学报, 2013, 26(9): 907-911.

- [9] 连艳,杨鹰,谢荣凯. 戊酸雌二醇对去势大鼠子宫雌激素受体亚型表达的影响[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(21): 3643-3645.
- [10] 刘江斌,肖现民,盛国立. 雌激素和血管内皮细胞生长因子促进血管瘤增殖的体外实验研究[J]. 中华小儿外科杂志, 2004, 25(3): 231-234.
- [11] 江成鸿,庄福连,许东坡,等. 雌激素受体、血管内皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子在小儿血管瘤中的表达及意义[J]. 中华医学美容美容杂志, 2006, 12(5): 290-292.
- [12] 刘丽青,刘轼初. 小儿血管瘤 ER、VEGF、bFGF 的表达及其相关性[J]. 中国民康医学, 2015, 27(10): 67-69.
- [13] Hyder SM, Nawaz Z, Chiappetta C, et al. Identification of functional estrogen response elements in the gene coding for the potent angiogenic factor vascular endothelial growth factor[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(12): 3183-3190.

(收稿日期:2016-11-24 修回日期:2017-01-12)