

本文引文格式:覃小珊,张彩灵,黄赞松.苦参素对肿瘤源性内皮细胞生物学行为的作用及其分子机制[J].右江民族医学院学报,2021,43(1):17-21.

【论著与临床报道】

苦参素对肿瘤源性内皮细胞生物学行为的作用及其分子机制

覃小珊^{1,2},张彩灵²,黄赞松^{1,3}

(1. 右江民族医学院附属医院消化内科,广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院研究生学院,广西 百色 533000;

3. 广西肝胆疾病临床医学研究中心,广西 百色 533000)

摘要:目的 研究苦参素对肿瘤源性内皮细胞(Td-EC)增殖、迁移及成管能力的作用及其可能的分子机制。方法 采用人肝癌 HepG2 细胞条件培养基将人脐静脉内皮细胞(HUVEC)诱导形成 Td-EC,CCK-8 法检测浓度分别为 0.375 mg/ml、0.75 mg/ml、1.5 mg/ml、3 mg/ml、6 mg/ml 的苦参素作用 Td-EC 24 h 的细胞增殖抑制率,选择 IC₅₀ 浓度(3.5 mg/ml)的苦参素作用 Td-EC 24 h,细胞划痕实验检测 Td-EC 的迁移能力及体外血管形成实验检测 Td-EC 的管形成能力,qRT-PCR 检测 Ets-1 mRNA 的表达变化。结果 CCK-8 结果显示,0.375 mg/ml、0.75 mg/ml、1.5 mg/ml、3 mg/ml、6 mg/ml 苦参素作用 Td-EC 24 h 后,各组细胞增殖均受到抑制。经 3.5 mg/ml 苦参素作用后,Td-EC 的迁移能力及管形成能力降低,Td-EC 中的 Ets-1 mRNA 表达降低,与阴性对照组相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 苦参素可抑制 Td-EC 的增殖、迁移及成管能力,其分子机制可能与抑制 Ets-1 mRNA 的表达有关。

关键词:苦参素;原发性肝肿瘤;肿瘤源性内皮细胞;血管生成;E26 转化特异性序列 1

中图分类号:R735.7

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2021)01-0017-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.01.004

Effect of oxymatrine on biological behavior of tumor-derived endothelial cells and its molecular mechanism

Qin Xiaoshan^{1,2}, Zhang Cailing², Huang Zansong^{1,3}

(1. Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 2. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 3. Guangxi Clinical Medical Research Center for Hepatobiliary Diseases, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: Objective To explore the effect of oxymatrine on the proliferation, migration and tube-forming ability of tumor-derived endothelial cells (Td-EC) and possible molecular mechanism. **Methods** Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were induced to form Td-EC in the conditioned medium of human liver cancer HepG2 cells. CCK-8 assay was used to detect proliferation inhibition rate of Td-EC treated for 24 h with oxymatrine at concentrations of 0.375 mg/ml, 0.75 mg/ml, 1.5 mg/ml, 3 mg/ml and 6 mg/ml, respectively. The oxymatrine with 50% inhibitory concentration (3.5 mg/ml) was selected to treat Td-EC for 24 h. The migration ability of Td-EC was detected by cell scratch test and the tube-forming ability by *in vitro* angiogenesis test. The change of Ets-1 mRNA expression was detected by qRT-PCR. **Results** The CCK-8 assay showed that the proliferation of Td-EC was inhibited after treatment for 24 h with oxymatrine at concentrations

基金项目:广西自然科学基金项目(2014GXNSFAA118143);广西科技基地和人才专项(广西肝胆疾病临床医学研究中心研究课题)(桂科 AD17129025);广西医药卫生计划课题(Z20170224);广西研究生教育创新计划项目(YCSW2020235)

第一作者简介:覃小珊(1987-),女,在读硕士研究生,主治医师,研究方向:肝癌基础与临床研究,E-mail:549536483@qq.com

通讯作者简介:黄赞松(1962-),男,医学硕士,三级教授,主任医师,硕士研究生导师,广西科协决策咨询专家库专家,广西高校优秀人才,研究方向:①肝癌基础与临床研究;②幽门螺杆菌致病与耐药机制研究,E-mail:1019846481@qq.com

of 0.375 mg/ml, 0.75 mg/ml, 1.5 mg/ml, 3 mg/ml, 6 mg/ml. After treated with 3.5 mg/ml oxymatrine, the migration ability and tube-forming ability of Td-EC decreased, and the expression of Ets-1 mRNA in Td-EC decreased, compared with the negative control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$).

Conclusion Oxymatrine can inhibit the proliferation, migration and tube-forming ability of Td-EC, and the molecular mechanism may be related to the inhibition of Ets-1 mRNA expression.

Key words: oxymatrine; primary liver cancer; tumor-derived endothelial cells; angiogenesis; E26 transformation-specific sequence 1

在全球范围内,原发性肝癌(简称肝癌)在肿瘤死亡率中排名第 3 位^[1],而在我国,肝癌死亡率在主要恶性肿瘤中排名第 2 位,仅次于肺癌^[2]。尽管近几年来肝癌的预防、检测和治疗方面取得了显著进展,但由于肝癌早期无明显症状,导致诊断时已处于晚期,治疗效果差,预后欠佳^[3-4]。肝癌作为一种高度异质性的恶性肿瘤,其组织血供丰富,因此抗肝癌血管生成的治疗具有重大意义。

苦参素是从豆科植物苦参、苦豆子、山豆根中提取的一种生物活性成分,以氧化苦参碱为主,具有抑制肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤细胞侵袭迁移、抑制肿瘤血管生成等抗肿瘤特性,通过多种不同作用机制它也可以发挥一定的抗肝癌作用^[5-6]。转录因子 E26 转化特异性序列 1 (E26 transformation-specific sequence 1, Ets-1) 是一种 54 kDa 的核蛋白,是内皮细胞基因转录的主要调控因子,研究表明^[7] VEGF 可以通过刺激 Ets-1 的乙酰化来刺激 RNA 聚合酶 II 暂停释放以驱动内皮细胞的血管生成反应。有研究发现^[8] 通过上调人脐静脉内皮细胞(HUVEC)中的 Ets-1 转录来提高 VEGFR1 表达,可能抑制 VEGFR2 介导的促血管生成反应,但大量证据表明^[9] Ets-1 在肿瘤细胞及肿瘤相关基质细胞中表达增高。肿瘤血管生成历经血管内皮基底膜降解、内皮细胞增殖及迁移等过程,是肿瘤发生发展的关键步骤,目前对于苦参素如何抑制肿瘤血管生成的作用及机制仍不十分明确。本研究通过肝癌细胞条件培养基将 HUVEC 诱导形成肿瘤源性内皮细胞(tumor-derived endothelial cells, Td-EC),观察苦参素对 Td-EC 增殖、迁移及血管形成等肿瘤细胞生物学行为及 Ets-1 表达的影响,探讨其作用的可能分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料 HUVEC 购自中国科学院昆明细胞库,人肝癌 HepG2 细胞由右江民族医学院廖长秀博士惠赠,苦参素注射液购自郑州卓峰制药有限公司(批号:国号准字 H20033744,规格:2 ml,0.2 g×10 支/盒),胎牛血清购自 Gemini 公司(批号:A24G00J),DMEM 高糖培养基购自 Gibco 公司(批号:8119272),内皮细胞培养基 ECM(包含 500ml 基础培养基、25 ml 胎牛

血清、5 ml 内皮细胞生长补充剂、5 ml 青霉素/链霉素溶液)购自 Sciencell 公司(批号:No. 28094),CCK-8 试剂盒购自 MCE 公司(批号:No. 42830),Matrigel Basement Membrane Matrix(基质胶)购自 BD 公司(货号:356234,批号:9246010),0.25% 胰蛋白酶-ED-TA 消化液、二甲基亚砜购自北京索莱宝科技有限公司,RNAiso Plus、逆转录试剂盒、TB Green[®] Premix Ex Taq[™] 试剂盒及引物购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HUVEC 采用含 5% 胎牛血清、内皮细胞生长补充剂(ECGS)的 ECM 培养,置于 37℃、含 5% CO₂ 培养箱中贴壁培养,细胞密度达 70%~80% 时可进行传代,每 2~3 d 传代 1 次,所有实验均采用对数生长期细胞。HepG2 细胞在含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中培养,置于 37℃、含 5% CO₂ 培养箱中贴壁培养,所有实验均采用对数生长期细胞。当细胞密度达 70% 时,更换为无血清的 DMEM 培养基继续培养 48 h 后收集细胞上清液,1000 r/min 离心 5 min,用 0.22 μm 过滤器过滤,并在 -80℃ 下储存作为条件培养基。将 HUVEC 与含有 50% HepG2 细胞条件培养基的内皮细胞培养基一起培养 48 h,以变成 Td-EC,检测肿瘤内皮标志物 1(TEM1)和肿瘤内皮标志物 8(TEM8)来验证 Td-EC 的身份,可以有助于与 HUVEC 区分^[10]。通过检测 TEM1、TEM8 的表达升高确认 HUVEC 已向 Td-EC 转变,表明 Td-EC 细胞模型成功,应用于后续实验。

1.2.2 CCK-8 法检测苦参素对 Td-EC 的抑制作用 收集 Td-EC,胰酶消化重悬成单细胞悬液,计数,调整细胞密度为 5×10^4 个/毫升,100 微升/孔接种于 96 孔板中。设实验组(苦参素组)、阴性对照组(含等量完全培养基)、空白对照组(只含完全培养基,不含苦参素、细胞),每组设 4 个复孔。预培养 24 h 后,弃旧培养基,分别向实验组加入含苦参素浓度为 0.375 mg/ml、0.75 mg/ml、1.5 mg/ml、3 mg/ml、6 mg/ml 的完全培养基,100 微升/孔;向阴性对照组及空白对照组加入等量完全培养基。继续培养 24 h 后,每组分别加入 10 微升/孔 CCK-8 溶液,继续孵育 3 h,用酶标仪测

定在 450 nm 波长处各组吸光度值(A 值),计算苦参素对细胞作用 24 h 后的抑制率。实验非同日重复 3 次。计算公式:抑制率(%)=[1-(实验组 A 值-空白对照组 A 值)-(阴性对照组 A 值-空白对照组 A 值)]×100%。选择半数抑制率(50% inhibitory concentration, IC₅₀)的药物浓度作为后续实验干预条件。

1.2.3 细胞划痕实验检测苦参素对 Td-EC 迁移的影响 在 6 孔板孔底部背面画 5 条平行的直线做标记。胰酶消化 HUVEC 重悬成单细胞悬液,计数,调整细胞密度为 5×10⁴ 个/毫升,2 毫升/孔接种到 6 孔板中,诱导 HUVEC 变成 Td-EC 后当细胞密度至 80%~90%时,用无菌的 10 μl 枪头垂直所画标记直线方向在每孔内划 2 条痕。用无血清的 ECM 基础培养基轻洗 2 遍。实验分为 2 组,实验组加入含 IC₅₀ 浓度(经计算为 3.5 mg/ml)苦参素的低血清浓度培养基(含 0.5%胎牛血清、含 50% HepG2 细胞条件培养基),阴性对照组加入等量低血清浓度培养基,于不同时间点(0 h、24 h)在划痕的同一位置观察拍照,每孔随机 4 个拍照点,每组细胞设 3 个复孔。实验非同日重复 3 次。用 Image J 软件统计划痕面积,计算各组细胞划痕愈合率。计算公式:划痕愈合率(%)=(0 h 的划痕面积-24 h 的划痕面积)/0 h 的划痕面积×100%。

1.2.4 体外血管形成实验检测苦参素对 Td-EC 管形成的影响 取预冷的融解基质胶 50 微升/孔均匀涂布 96 孔板,置于 37℃ 培养箱中 1 h。实验组分为 2 组,实验组加入含 IC₅₀ 浓度(经计算为 3.5 mg/ml)苦参素的 ECM,阴性对照组加入等量培养基,胰酶消化 Td-EC 后用对应组别的培养基重悬成单细胞悬液,计数,调整细胞密度为 2×10⁵ 个/毫升,100 微升/孔接种于基质胶表面。于不同时间点(3 h、24 h)用倒置显微镜观察每孔管形成变化,每孔随机 4 个拍照点,每组细胞设 3 个复孔。实验非同日重复 3 次。用 Image J 软件统计管形成的数量。

1.2.5 实时定量逆转录 PCR(real-time quantitative reverse transcription PCR, real-time qRT-PCR)检测 Ets-1 mRNA 的表达 设 HUVEC 组、Td-EC 组,同时将 Td-EC 作为实验对象分为 2 组,实验组加入含 IC₅₀ 浓度(经计算为 3.5 mg/ml)苦参素的 ECM,阴性对照组加入等量培养基。药物干预 24 h 后,采用 RNA iso Plus 提取细胞总 RNA,按 PrimeScript TMRT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)试剂盒说明书制备 cDNA。以 cDNA 为模板,GAPDH 为内参进行实时荧光定量 PCR。Ets-1 引物序列:上游引物 5'-GTCATTCCCTGCTGCTGCCCTA-3',下游引物 5'-AGTTTGAATTCCCAGCCATCTCC-3',产物长度 137 bp,TEM1 引物序列:上游引物 5'-GTG-

GACACAGATGAGTGCCAGA-3',下游引物 5'-CCCTCGCTACAATAAACTCGAAG-3',产物长度 89 bp,TEM8 引物序列:上游引物 5'-CAAGATGCGGAGCAGGAATA-3',下游引物 5'-AGGACCCA-CAAGGCATCGAG-3',产物长度 126 bp,GAPDH 引物序列:上游引物 5'-GCACCGTCAAGGCT-GAGAAC-3',下游引物 5'-TGGTGAAGACGC-CAGTGGGA-3',产物长度 138 bp。反应条件:预变性 95℃ 30 s;PCR 反应 95℃ 5 s,60℃ 30 s,共 40 个循环。采用 2^{-ΔΔCt} 方法计算目的基因的相对表达量,其中 ΔΔCt=(实验组目的基因 Ct 值-实验组内参基因 Ct 值)-(对照组目的基因 Ct 值-对照组内参基因 Ct 值)。

1.2.6 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间均数比较采用 *t* 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析,以双侧 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度苦参素对 Td-EC 增殖的影响 苦参素作用 Td-EC 24 h 后,各组 A 值总体比较差异有统计学意义(*F* = 152.49, *P* < 0.05),各浓度苦参素组对 Td-EC 增殖均有不同程度抑制作用,与阴性对照组相比差异有统计学意义(*P* < 0.05),见表 1。作用 24 h 的 IC₅₀ 为(3.58±0.37) mg/ml,故选择 3.5 mg/ml 的苦参素浓度作为后续实验干预条件。

表 1 不同浓度苦参素作用 Td-EC 24 h 后 A 值及细胞抑制率 (*n* = 12)

组别	A 值	抑制率/%
阴性对照组	0.728±0.063	—
苦参素组/(mg·ml ⁻¹)		
0.375	0.676±0.068 ^a	7.55
0.75	0.629±0.064 ^a	14.19
1.5	0.558±0.049 ^a	24.38
3	0.424±0.045 ^a	43.45
6	0.192±0.039 ^a	76.72

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与阴性对照组比较,a: *P* < 0.05。

2.2 苦参素对 Td-EC 迁移能力的影响 细胞划痕实验显示,3.5 mg/ml 浓度的苦参素作用 Td-EC 24 h 后划痕愈合率明显下降,与阴性对照组相比差异有统计学意义(*t* = -12.656, *P* < 0.001),见图 1。

2.3 苦参素对 Td-EC 管形成的影响 体外血管形成实验显示,Td-EC 在 3 h 后逐渐出现管形成,3.5 mg/ml 浓度的苦参素作用 Td-EC 3 h 后管形成数量与阴

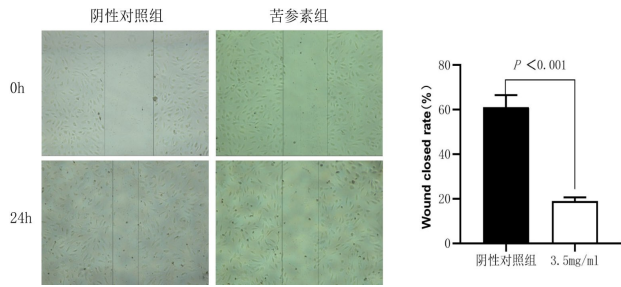
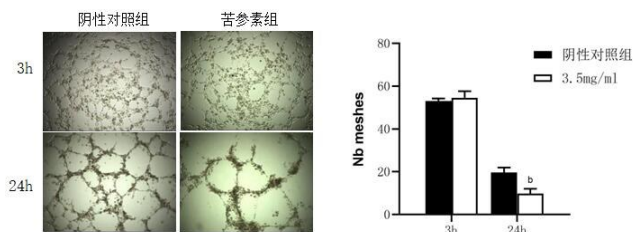


图 1 苦参素对 Td-EC 迁移能力的影响 (×40)

性对照组相比差异无统计学意义 ($t = 0.781$, $P = 0.479$), 3.5 mg/ml 浓度的苦参素作用 Td-EC 24 h 后的管形成数量明显减少, 与阴性对照组相比差异有统计学意义 ($t = -5.276$, $P < 0.05$), 见图 2。



注: 与阴性对照组比较, b: $P < 0.05$ 。

图 2 苦参素对 Td-EC 管形成能力的影响 (×40)

2.4 Ets-1、TEM1、TEM8 在 Td-EC 中的表达水平及苦参素对 Td-EC 中 Ets-1 mRNA 表达的影响 实时定量逆转录 PCR 显示, Ets-1 在 Td-EC 中的相对表达量增高, 与 HUVEC 相比, Ets-1 mRNA 表达量差异有统计学意义 ($t = -5.556$, $P < 0.05$), 见图 3A。同时 3.5 mg/ml 浓度的苦参素对 Td-EC 中 Ets-1 mRNA 的表达有抑制作用, 与阴性对照组相比差异有统计学意义 ($t = 28.960$, $P < 0.001$), 见图 3B。与 HUVEC 相比, TEM1、TEM8 在 Td-EC 中的相对表达量均增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3C、3D。

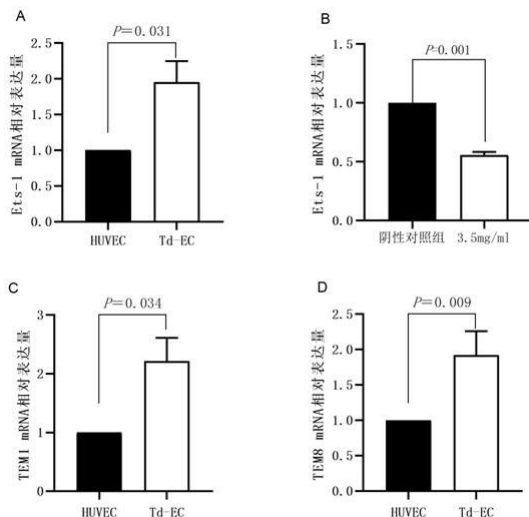


图 3 各组细胞 Ets-1、TEM1、TEM8 mRNA 相对表达量比较

3 讨论

肿瘤可以诱导血管生成, 肿瘤血管可以为肿瘤组织输送氧气及营养、促进代谢等, 以利于肿瘤生长、转移, Td-EC 是肿瘤血管生成的重要参与者, 但 Td-EC 的分离应用研究仍存在困难^[11]。大量研究表明, 通过条件培养基共培养、三维细胞共培养等体外共培养模式, 可以构建与肝癌^[10]、肺癌^[12]、乳腺癌^[13]等多种肿瘤相关的 Td-EC。肝癌是一种血管高度异质性的实体肿瘤, 血管生成模式多样, 机制复杂, 使得抗肝癌血管生成治疗效果欠佳^[14]。目前苦参素作用肝癌血管内皮细胞方面的研究少有报道, 本研究通过构建肝癌细胞条件培养基共培养体系以了解苦参素有无抗肝癌血管生成作用奠定基础。Croix BS 等^[15]采用基因序列分析表达技术比较来源正常和恶性结直肠组织的血管内皮细胞的基因表达模式, 发现了 9 个在肿瘤血管内皮细胞特异性表达的基因 (TEM1-TEM9), 并命名为肿瘤内皮标志物 (tumor endothelial markers, TEM)。其中肿瘤内皮标志物 1 (TEM1, 又称内皮唾液酸蛋白) 是由 757 个氨基酸组成的 I 型跨膜糖蛋白, 肿瘤内皮标志物 8 (TEM8, 又称炭疽毒素受体-1) 是由 564 个氨基酸组成的 I 型跨膜糖蛋白, 已有研究表明, 它们在正常组织及其血管中不表达或少量表达, 但在肿瘤血管内皮细胞中表达明显增高, TEM1、TEM8 高表达的血管内皮细胞具有肿瘤特异性^[10, 16-17]。本实验 qRT-PCR 结果显示, 与 HUVEC 相比, Td-EC 中 TEM1 及 TEM8 mRNA 表达量明显增高, 从基因表达水平上验证了在 HepG2 细胞条件培养基作用下 HUVEC 向 Td-EC 的转变。

苦参素能影响肿瘤的血管生成, 有研究发现, 苦参素可抑制人肝癌 SMMC-7721 细胞条件培养基诱导的血管内皮细胞增殖, 可能通过抑制 MAPK/ERK 信号传导通路来抑制肺腺癌 A549 细胞条件培养基诱导的 HUVECs 增殖与迁移, 同时其联合化疗药物对肝癌、胃癌等移植瘤的血管生成有协同抗血管生成作用^[12, 18-20]。本研究结果显示, Td-EC 增殖的抑制作用随着苦参素作用浓度增加而增强, 同时, 经 IC₅₀ 浓度苦参素作用 24 h 后的 Td-EC 与对照组相比, 细胞迁移能力及小管形成能力明显下降, 说明苦参素能抑制 Td-EC 的细胞增殖、细胞迁移及成管能力, 这些数据表明苦参素可能有抗肝癌血管生成的作用, 与前述文献^[12, 18-20]中的研究结果是一致的。Ets 转录因子家族是一类含有高度保守 DNA 结合结构域的转录因子, 调控着机体许多正常发育及病理过程, 在实体肿瘤中通过驱动癌细胞自我更新、调节染色质表观遗传学等方式调控肿瘤生长, Ets-1 是最早被发现的 Ets 转录因子, 主要作为转录激活因子调节生理和病理条件下的

血管生成^[21]。有研究表明^[22] Ets-1 在非小细胞肺癌组织中过表达并且与肿瘤组织中的微血管密度呈正相关,它可以诱导非小细胞肺癌细胞向内皮样细胞分化以促进肿瘤肝转移。Furlan A 等^[13] 研究发现乳腺癌细胞中过表达的 Ets-1 促进肿瘤细胞对内皮细胞黏附而利于肿瘤毛细血管形成,并且内皮细胞也通过募集肿瘤细胞分泌的基质金属蛋白酶-9(MMP-9)而诱发血管生成。本研究通过 qRT-PCR 检测结果发现,经 HepG2 细胞条件培养基诱导获得的 Td-EC 中 Ets-1 mRNA 表达高于 HUVEC,经过苦参素作用后,Td-EC 中 Ets-1 mRNA 表达降低,提示苦参素可能通过抑制 Td-EC 中 Ets-1 mRNA 的表达,从而抑制 Td-EC 的细胞增殖、细胞迁移及成管能力。

综上所述,本实验研究证实,HepG2 细胞条件培养基能促使 HUVEC 向 Td-EC 转变,苦参素能抑制 Td-EC 增殖、迁移及成管能力,其分子机制可能与抑制 Ets-1 mRNA 表达有关。

参考文献:

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.

[2] 曹毛毛,陈万青. 中国恶性肿瘤流行情况及防控现状[J]. 中国肿瘤临床, 2019, 46(3):145-149.

[3] Pahwa A, Becktt K, Channual S, et al. Efficacy of the American Association for the Study of Liver Disease and Barcelona criteria for the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Abdom Imaging, 2014, 39(4):753-760.

[4] 梁寻杰,覃小珊,黄赞松. 肝癌预后影响因素研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2020, 42(5):642-645.

[5] 韩华,曹菟恺,殷鑫,等. 氧化苦参碱抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2017, 31(2):78-81.

[6] 向发良,黄赞松. 苦参素抗肝癌作用研究[J]. 医学综述, 2011, 17(19):2992-2995.

[7] Chen J, Fu Y, Day DS, et al. VEGF amplifies transcription through ETS1 acetylation to enable angiogenesis[J]. Nat Commun, 2017, 8(1):383.

[8] Niu N, Yu C, Li L, et al. Dihydroartemisinin enhances VEGFR1 expression through up-regulation of ETS-1 transcription factor [J]. J Cancer, 2018, 9(18):3366-3372.

[9] Dittmer J. The role of the transcription factor Ets1 in carcinoma[J]. Seminars in Cancer Biology, 2015, 35:20-38.

[10] Li Z, Zhu C, An B, et al. Indirubin inhibits cell proliferation, migration, invasion and angiogenesis in tumor-derived endothelial cells[J]. 2018, 11:2937-2944.

[11] Hida K, Maishi N, Annan DA, et al. Contribution of Tumor Endothelial Cells in Cancer Progression[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(5):1272.

[12] 卢进昌,罗强,程萍,等. 苦参碱和 MAPK/ERK 信号通路在抑制肺癌细胞诱导人脐静脉内皮细胞增殖和迁移中的作用[J]. 中国肺癌杂志, 2009, 12(7):747-752.

[13] Furlan A, Vercamer C, Heliot L, et al. Ets-1 drives breast cancer cell angiogenic potential and interactions between breast cancer and endothelial cells[J]. Int J Oncol, 2019, 54(1):29-40.

[14] 覃小珊,张彩灵,黄赞松. 肿瘤微环境对肝细胞癌血管生成的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2020, 28(12):493-500.

[15] Croix BS. Genes Expressed in Human Tumor Endothelium[J]. Science, 2000, 289(5482):1197-1202.

[16] Hong Y, Lee Y, Cheng T, et al. Tumor Endothelial Marker 1 (TEM1/Endosialin/CD248) Enhances Wound Healing by Interacting with Platelet-Derived Growth Factor Receptors[J]. J Invest Dermatol, 2019, 139(10):2204-2214.

[17] 杨艺. 二甲双胍抑制食管鳞状细胞癌微环境诱导的肿瘤血管生成及其机制的研究[D]. 河南:郑州大学, 2019.

[18] 王兵,王国俊,蔡雄,等. 氧化苦参碱抑制肝癌细胞诱导血管内皮细胞增殖作用的研究[J]. 肿瘤防治杂志, 2003(7):707-709.

[19] 杨勤,张亚声,杨德全. 复方苦参注射液联合低剂量 5-Fu 对人胃癌裸鼠移植瘤血管生成的影响[J]. 重庆医学, 2011, 40(32):3239-3241.

[20] 钱晓萍,孙永臣,胡静,等. 小剂量奥沙利铂联合复方苦参注射液抗肿瘤血管生成的实验研究[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(8):1494-1498.

[21] Sizemore GM, Pitarresi JR, Balakrishnan S, et al. The ETS family of oncogenic transcription factors in solid tumours[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(6):337-351.

[22] Xiaoshu Z, Rui Z, Hongxia Z, et al. ETS-1 Induces Endothelial-Like Differentiation and Promotes Metastasis in Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 45(5):1827-1839.

收稿日期:2020-11-20;修回日期:2021-01-05