

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.28.007

MMP-16 与骨巨细胞瘤临床相关性的初步研究 *

喻盛杰¹ 倪海莱² 卜欣欣² 田 田² 石仁华^{2Δ}

(1 中国人民解放军总医院急诊科 北京 100853; 2 第二军医大学上海军职以上退休干部休养所卫生所 上海 200433)

摘要 目的: 研究复发与未复发骨细胞瘤细胞中 MMP-16 的变化, 初步探索 MMP-16 与骨巨细胞瘤复发之间的联系, 进而讨论 MMP-16 对于骨巨细胞瘤的临床意义。**方法:** 对临床中复发和未复发共 50 例骨巨细胞瘤患者切除的骨巨细胞瘤组织进行标本采集。首先应用免疫组化荧光染色直观观察复发组和未复发组骨巨细胞瘤组织中 MMP-16 的表达情况, 再运用 real-time PCR 技术检测 MMP-16 mRNA 的表达情况, 最后应用 western blot 技术测定 MMP-16 的含量。从形态、基因表达和蛋白三个方面全面比较复发组和未复发组骨巨细胞瘤组织中 MMP-16 的表达情况。**结果:** 免疫组化结果显示复发组中 MMP-16 的表达要明显高于未复发组; real-timePCR 结果显示复发组中的 MMP-16 mRNA 的表达量要明显高于未复发组; western blot 结果显示复发组中 MMP-16 蛋白的表达量要高于未复发组($P < 0.05$)。**结论:** MMP-16 与骨巨细胞瘤存在密切联系, MMP-16 的表达增强是骨巨细胞瘤的复发的重要标志, 通过对 MMP-16 的测定对骨巨细胞瘤的预后判断和治疗方法的选择具有指导意义。

关键词: 骨巨细胞瘤; MMP-16; 肿瘤复发

中图分类号: R738.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)28-5427-04

Preliminary Research of Clinical Relevance of MMP-16 and Giant Cell Tumor*

YU Sheng-jie¹, NI Hai-lai², PU Xin-xin², TIAN Tian², SHI Ren-hua^{2Δ}

(1 People's Liberation Army General Hospital, Beijing, 100853, China;

2 Second Military Medical University, Shanghai, 200433, China)

ABSTRACT Objective: To study the differences of MMP-16 expression in the giant cell tumor tissue of recurrent group and non-recurrent group, and then discuss the clinical significance relationship between MMP-16 and relapse status of giant-cell tumor of bone. **Methods:** First, made collection of specimens from 50 patients suffered from the giant cell tumor of bone and divided into recurrent group and non-recurrent group. Second, immunohistochemistry was used to observe the expression levels of MMP-16 in tissues of recurrent group and non-recurrent group. Third, used real-time PCR to measure the expression levels of MMP-16 mRNA. Then, applied western blot to measure the protein levels of MMP-16. Finally, compared the expression levels of MMP-16 between recurrence group and non-recurrence group of giant cell tumor of bone tissues in morphology, gene translation and protein expression, respectively. **Results:** The results of immunohistochemistry showed that the expression level of MMP-16 in the recurrence group is apparently higher than the non recurrent group. The results of real-time PCR showed that the expression level of MMP-16 mRNA in the recurrent group is apparently higher than the non recurrent group. The results of western blot revealed that the expression level of MMP-16 protein in recurrent group is significantly higher than the non-recurrent group ($P < 0.05$). **Conclusion:** There is a close relation between MMP-16 and giant cell tumor of bone, the increased expression level of MMP-16 is an important marker of recurrent giant cell tumor of bone. It is guiding significance on the prognosis estimation and the selection of treatment methods to giant cell tumor of bone through the measurement of MMP-16.

Key words: Giant cell tumor; MMP-16; Tumor recurrence

Chinese Library Classification: R738.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)28-5427-04

前言

骨巨细胞瘤(bone giant-cell tumor)于 1940 年首次被发现, 是一种常见的良恶交界性骨肿瘤。好发于股骨下端和胫骨上端, 多见于中青年女性。该肿瘤细胞具有较强的侵袭性, 经常发生肺转移, 容易复发, 临床上多以疼痛和局部肿胀为主要表现, 具有一定的恶变倾向, 而其形态学却呈良性表现^[1]。金属基质

蛋白酶(Matrix Metallo Preteinases, MMP)是有关肿瘤转移与侵袭的研究热点, 现已发现金属基质蛋白酶与多种肿瘤都存在密切联系。目前关于金属基质蛋白酶与骨巨细胞瘤的报道层出不穷, 金属基质蛋白酶可以为骨巨细胞瘤生物行为和预后提供有效的判断。但是没有膜型金属基质蛋白酶(membrane-type matrix metalloproteinase, MT-MMP)与骨巨细胞瘤的相关报道。膜型金属基质蛋白酶与其他类型金属基质蛋白酶相比不但可以

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81301036)

作者简介: 喻盛杰(1985-), 男, 本科, 医师, 主要研究方向: 骨肿瘤, 电话: 18001176968

Δ 通讯作者: 石仁华, 电话: 13761177234, E-mail: xiaohua0920@163.com

(收稿日期: 2014-05-09 接受日期: 2014-05-30)

降解细胞外基质还可以激活其他类型金属基质蛋白酶^[2],目前对于骨巨细胞瘤预后的判断,仅应用组织形态分级法,不能正确的反应出肿瘤的良恶程度,而对于膜型金属基质蛋白酶的研究有望解决这个临床难题。本实验将对提取于患者的骨巨细胞瘤组织进行免疫组化、real-time PCR 和 western blot 检测从多个方面全面观察 MMP-16 与骨巨细胞瘤复发的相关性,并加以讨论。

1 材料与方法

1.1 实验材料

骨巨细胞瘤组织均取自第二军医大学附属长征医院骨科切除组织,男 25 例,女 25 例,年龄 15~60 岁,其中按 Jaffe 分级法^[3]:I 级 10 例,II 级 30 例,III 级 10 例。对搜集的所有病例进行随访,其中复发病例 23 例,占有所有病例的 46%,平均复发时间为 25.4 个月,其余 27 例随访超过 50 个月,均未发现复发。

1.2 试剂与仪器

All-in-One™First-Strand cDNA Synthesis Kit 和 All-in-One™miRNA qRT-PCR Detection Kit (GeneCopoeia, Rockville, MD, USA), SYBR Green realtime PCR master Mix (TOYOBO, Japan) 和 Mini Opticon 荧光定量 PCR 仪 (BioRad, Philadelphia, PA, USA), Trizol 液 (美国 Ambion 公司), 兔抗鼠 MMP-16 多克隆抗体 (美国 Abcam), HRP 标记山羊抗兔 IgG (北京中衫金桥公司), SDS-PAGE 凝胶试剂盒 (碧云天生物技术), RIPA 裂解液 (碧云天生物技术), 蛋白上样缓冲液 (碧云天生物技术), 免疫组化试剂盒 (碧云天生物技术), DAB 显色试剂盒 (北京中衫金桥公司), 硝酸纤维素 (NC) 膜 (美国 Invitrogen 公司), DAPI (北京中衫金桥公司), 枸橼酸缓冲液 (北京中衫金桥公司), 多聚甲醛 (天津红岩化学试剂厂), 蔗糖 (成都科龙化工试剂厂), H₂O₂ (北京中衫金桥公司)。

1.3 实验方法和步骤

1.3.1 免疫组化 切片:经取材后取得的骨巨细胞瘤组织置于多聚甲醛内固定 4 个小时后,后置于 30%蔗糖溶液浸泡大约一个星期左右,使组织沉至溶液底部。制作蜡块,应用蜡块切片机做正中矢状面切片,厚度为 10 μm。切片后室温放置 1 小时。第一步常规脱蜡、脱水。第二步用 0.3% H₂O₂ 灭活过氧化物酶 (15 分钟)。第三步用 PBS 水浸洗 (洗 3 次,每次 5 分钟)。第四步用 0.01 mol/L 枸橼酸缓冲液进行抗原修复 (95℃ 15-20 分钟)。第五步冷却 20 分钟,迅速用冷水冲洗,再用 PBS 浸洗 (洗 3 次,每次 5 分钟)。第六步 10%山羊血清封闭 (37℃ 30 分钟)。第七步加入专用一抗稀释液稀释后的一抗 (4℃ 过夜)。第八步 PBS 浸洗 (3 次每次 5 分钟)。第九步加入 DAB 显色液 (避光) 在显微镜下观察,严格控制显色程度,达到要求立刻用 PBS 水冲洗终止显色。第十步 DAPI 衬染细胞核,封片,干燥,激光共聚焦显微镜观察拍照。

1.3.2 real-time PCR 第一步,提取 mRNA:将组织在液氮中研磨成粉,加入 Trizol 液研磨,离心沉淀,加入 Trizol 液后剧烈震荡,转入 EP 管中室温放置 5 分钟,剧烈震荡后 12000×g (2-8℃) 离心 15 分钟,取上清液加入新管中加入异丙醇后 12000×g (2-8℃) 离心 10 分钟,去上清液加入 75%乙醇 7500×g

(4℃) 离心 5 分钟,去上清液加入 Rnase-free water 60℃ 沉淀 10 分钟 (-70℃ 保存)。

第二步, RNA 完整性的测试:应用琼脂糖凝胶电泳法测试。首先配置好的 1%琼脂糖电泳凝胶,将 RNA 样品与缓冲液均匀混合后加入加样孔中。在 120V 电压下进行 25 分钟,然后观察有无 DNA 污染, RNA 是否完整。

第三步,实时定量 PCR 检测:应用 All-in-One™First-Strand cDNA Synthesis Kit 和 All-in-One™miRNA qRT-PCR Detection Kit 将经过提取的 RNA 进行反转录得到 cDNA。然后将得到的相应 cDNA 与 qPCR TaqMix、引物、ddH₂O 按照一定比例加入到薄壁 PCR 管中。运用 SYBR Green realtime PCR master Mix 和 Mini Opticon 荧光定量 PCR 仪进行扩增和定量检测。样本通过 94℃ 预变性 2 分钟、94℃ 变性 20 秒、58℃ 退火 20 秒、72℃ 延伸 30 秒、74℃ 读板、共 40 个循环后得到一个平均 ct 值,通过该数值来计算 mRNA 的相对含量。

1.3.3 western blot 从骨巨细胞瘤组织中提取蛋白,将切除的肿瘤组织置于预冷 0.9%NaCl 的器皿中。迅速将该组织剪碎并转移到匀浆器中,与此同时将加入 PMSF 的预冷裂解液也加入到匀浆器中,冰浴条件下充分研磨。之后将研磨液转移到 1.5 mL 的离心管中,14000 rpm, 4℃ 离心 10 分钟。离心后所得上清液即组织蛋白提取液。然后应用 Bradford 法 (考马斯亮蓝法) 进行蛋白浓度测定,再运用碧云天公司生产的 SDS-PAGE 凝胶配置试剂盒配胶。根据目的蛋白的大小选择上层胶的浓度。再经过电泳、转膜、封闭、孵育一抗、孵育二抗、曝光等步骤,最后图像分析取得结果。

1.4 统计学分析

各分组所得计量数据采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,用 SPSS10.0 软件处理数据,两组间均数比较用 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组化结果

复发组与未复发组中 MMP-16 形态学比较 免疫组化结果显示,我们首先通过免疫组化染色,运用 60 倍激光共聚焦直观的从形态学上进行观察,复发组与未复发组中 MMP-16 的表达情况,通过观察我们可以明显的发现,复发组中 MMP-16 的荧光强度和表达数量均高于未复发组 (图 1)。

2.2 real-time PCR 结果

我们运用双标准曲线法对复发组与未复发组中 50 个骨巨细胞瘤组织中 MMP-16 mRNA 表达的相对值进行分析,得到每一个标本中 MMP-16 的相对表达量 (目的基因 CT 值 / 内参基因 CT 值), real-time PCR 结果显示,未复发组中 MMP-16 mRNA 相对表达量为 0.332 ± 0.098 ,复发组中 MMP-16 mRNA 相对表达量为 0.541 ± 0.122 ,复发组中 MMP-16 mRNA 表达量高于未复发组 ($P<0.05$) (图 2)。

2.3 western blot 结果

通过复发组与未复发组中所有 50 个所得标本进行 MMP-16 蛋白表达量比较 通过对 western blot 所取得的结果进行灰度值分析发现,未复发组中 MMP-16 蛋白表达量为 0.51 ± 0.12 ,复发组中 MMP-16 蛋白表达量为 1.32 ± 0.14 ,复发组中

MMP-16 蛋白表达量高于未复发组($P < 0.05$)(图 3)。

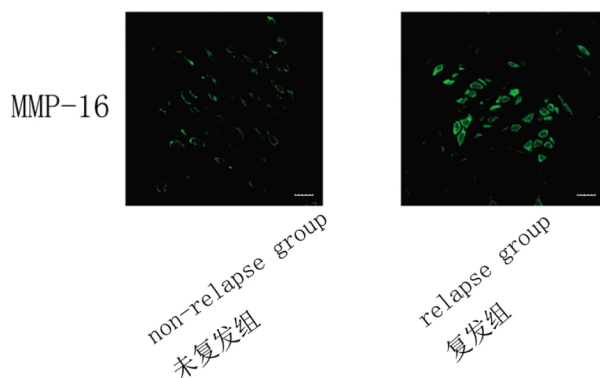


图 1 MMP-16 免疫组化染色(20 μ m)

Fig.1 MMP-16 immunohistochemical staining(20 μ m)

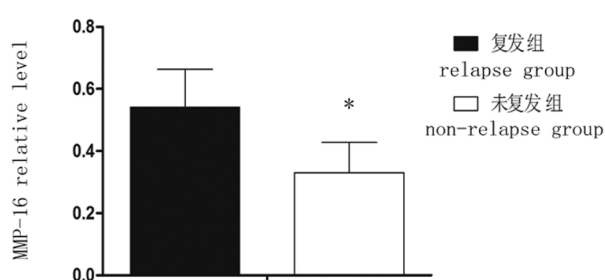


图 2 复发组中 MMP-16 mRNA 表达增强

Fig. 2 MMP-16 mRNA expression enhanced in recurrent group

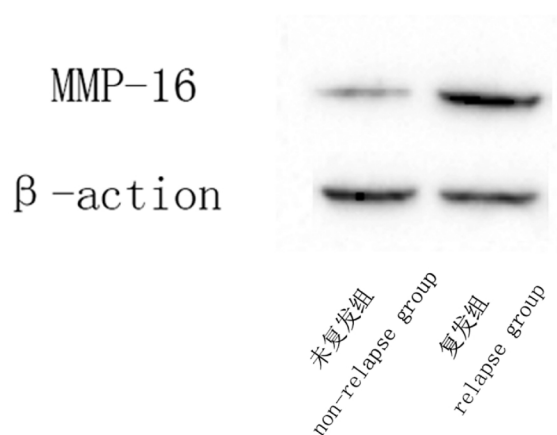


图 3 复发组中 MMP-16 蛋白表达量增加

Fig.3 MMP-16 protein expression enhanced in recurrent group

3 讨论

骨巨细胞瘤的复发一直都是一个很棘手的问题,多年来始终未被解决。导致复发的因素很多,其中包括发病部位、手术术式和肿瘤的良恶程度。但是其中最为主要的就是对于肿瘤良恶性质的判断,因为手术的术式和手术的范围都是肿瘤良恶程度所决定的。传统的 Jaffe 分级法是根据肿瘤的组织学特点进行分级,临床证实这种分级方法并不准确,常常引起错误判断良恶性。针对该问题,目前有很多关于骨巨细胞瘤良恶程度和预后判定的研究。现有研究包括根据影像学资料、根据相关基因或者根据综合考虑影像学资料和组织学分型^[46],但这些方法都不能准确的判断骨巨细胞瘤的良恶程度。金属基质蛋白是肿瘤

侵袭、转移的关键因素,还参与肿瘤血管生成的调节。因此,选择金属基质蛋白酶作为判定的参考指标具有深远的临床意义。金属基质蛋白酶是一类几乎可以降解一切人类细胞外基质的蛋白,目前发现的有 20 多种,主要包括胶原酶、明胶酶、基质溶解素和膜型金属蛋白酶^[7]。由于金属基质蛋白酶能降解细胞外框架结构细胞外基质所以对于肿瘤细胞的转移、侵袭、分化和生长均具有重要意义。现在有关于金属基质蛋白酶与骨巨细胞瘤的研究多集中在明胶酶 MMP-2、MMP-9 和基质溶解素 MMP-7,现有研究可以证明金属基质蛋白酶与骨巨细胞瘤的复发与转移具有密切联系^[8-10],但是目前有关于膜型金属基质蛋白酶与骨巨细胞瘤的研究仍处于空白。膜型金属基质蛋白酶是金属基质蛋白酶家族中新发现的一类,其主要在细胞膜上表达,相对于其他金属基质蛋白酶,膜型金属基质蛋白酶除了具有其他家族成员的特征外,还可以对其他类型的金属基质蛋白酶的活性进行调节,所以一经发现就成为了当今研究的热点。

膜型金属基质蛋白酶在分子结构上与之之前发现的家族成员相比具有显著的特点,并具有特殊的功能。膜型金属基质蛋白酶可以降解细胞外基质,如纤粘连蛋白、玻璃粘连蛋白、软骨蛋白多糖和多种胶原蛋白^[11]。不仅如此,膜型金属基质蛋白还具有激活和调节 MMP-2 的作用。MMP-2 受多种因素的调节,但是其中最为主要的是 MMP-2 前体的激活调节,现在比较公认的结论是膜型金属基质蛋白酶是 MMP-2 膜的激活因子^[12]。因此膜型金属基质蛋白酶可作为调节细胞外基质的关键物质,也因此对肿瘤的侵袭与转移有重要的作用。现有研究可以表明膜型金属基质蛋白酶对于多种肿瘤的转移和侵袭均具有重要意义^[13],但是目前没有关于膜型金属基质蛋白酶与骨巨细胞瘤相关的报道,本次研究是第一次在骨巨细胞瘤中发现 MMP-16 的表达,MMP-16 是膜型金属基质蛋白酶的一种,本次实验的结果对于判断骨巨细胞瘤的预后具有重要意义。目前对于骨巨细胞瘤良恶性的判断,很不准确该病复发率较高。一种有效的判断指标具有十分重要的临床意义。本次试验发现 MMP-16 对于骨巨细胞瘤的复发具有指导意义。可以通过对 MMP-16 表达的情况,有效的选择治疗方法和预后判断。而且还可以对该项发现做进一步研究,对于肿瘤细胞外基质的降解,究竟是 MMP-16 直接降解的作用还是 MMP-16 经过 MMP-2 的活性进而产生降解效果,还是两者共同作用的结果,还有待于进一步研究。

骨巨细胞瘤肿瘤组织呈灰红色,质软而脆,较大的肿瘤常伴随出血及坏死,并伴有囊性变而形成大小不等的空腔,囊腔内含有浆液性或血性液体。晚期病例骨性包壳如果被破坏,则可侵犯软组织形成肿块。其典型组织形态特征为弥漫增生的单核基质细胞中出现大量的单核巨细胞,但是仅通过这些特征是无法准确诊断骨巨细胞瘤的,还需要有破骨细胞样巨细胞的存在才能加以确定^[14],所以破骨细胞样巨细胞的存在对于骨巨细胞瘤具有重要意义,而且有学者发现在单核基质细胞和破骨细胞样巨细胞中均有金属基质蛋白酶的表达^[15]。对于金属基质蛋白酶的研究对骨巨细胞瘤的来源与诊断具有重要意义。骨巨细胞瘤的生长过程中,存在大量新生血管向外浸润生长的现象,有研究表明这与血管生长因子 VEGF 存在密切联系。而 VEGF 同样也是金属基质蛋白酶的重要调控因子之一,而且有研究已经发现 VEGF 与 MMP-9 的表达对于骨巨细胞瘤的良恶性以

及预后评估具有重要意义^[6]。

目前对于骨巨细胞瘤的基因调控逐渐成为热点, 现在的研究主要集中在 RECK 基因、PTEN 基因这两个方面。RECK 基因(逆转录富含半胱氨酸蛋白基因), 含 21 个外显子, 20 个内含子, 共有 13 个单核苷酸多态性(SNP), 其主要功能就是参与金属基质蛋白酶的调控^[7]。国内学者发现 RECK 基因在骨巨细胞瘤中低表达, 而 MMP-2 高表达, 实验中还发现 RECK 基因对于骨巨细胞瘤的愈后具有指导意义^[8]。PTEN 基因定位于染色体 10q23.3, 由 9 个外显子组成, 编码由 403 个氨基酸组成的蛋白质, 具有磷酸酯酶的活性, PTEN 蛋白主要通过拮抗酪氨酸激酶 FAK 的活性而抑制肿瘤细胞的生长、侵袭能力^[19,20]。目前有发现表明在骨巨细胞瘤中 PTEN 基因低表达, 而且与 MMP-7 成负相关的关系, 所以推测 PTEN 基因可能通过对于 MMP-7 的调控来影响骨巨细胞瘤的侵袭、转移和复发^[21]。不仅如此, 有学者发现 microRNA 与骨巨细胞瘤的复发存在相关性, 但缺少深入研究^[22]。由此可见对于骨巨细胞瘤的基因调控研究与金属基质蛋白酶也存在着密切的联系。本次试验发现的 MMP-16 现已有报道证实受 miR-155 的调控^[23], 这为骨巨细胞瘤转移与复发的基因层面研究提供新的方向。

综上所述, 我们可以发现膜型金属蛋白酶 MMP-16 与骨巨细胞瘤存在密切的联系, MMP-16 的研究对于骨巨细胞瘤的发生、基因调控、转移与复发以及良恶程度的判断都具有重要意义。本次实验是首次在骨巨细胞瘤中发现 MMP-16 的表达, 而且发现与骨巨细胞瘤的复发存在密切联系。这为今后骨巨细胞瘤与膜型金属蛋白酶的研究奠定了基础。这也为骨巨细胞瘤病因学及诊断学提供了一个崭新的方向。

参考文献(References)

- [1] Balke M, Schremper L, Gebert C, et al. Giant cell tumor of bone: treatment and outcome of 214 cases [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2008, 134(9): 969-978
- [2] 方磊. 膜型金属蛋白酶[J]. 国外医学(生理、病理科学与临床分册), 1998, 18(04): 302-306
Fang Lei. Type membrane matrix metalloproteinases [J]. Foreign medical (physiological, pathological and clinical pathol science), 1998, 17 (4) : 302-306
- [3] Jaffe H L, Lichtenstein L. Benign Chondroblastoma of Bone: A Reinterpretation of the So-Called Calcifying or Chondromatous Giant Cell Tumor[J]. Am J Pathol, 1942, 18(6): 969-991
- [4] 李翀, 李海, 冯一中. 骨巨细胞瘤中 Skp2, p27 及 E2F-1 的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(11): 1202-1205
Li Chong, Li Hai, Feng Yi-zhong. Expression and significance of Skp2, p27 and E2F-1 in bone giant cell tumors[J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2011, 27(11): 1202-1205
- [5] 杜联军, 丁晓毅, 陆勇, 等. 骨巨细胞瘤复发的影像学表现及影响因素[J]. 放射学实践, 2006, 21 (12): 1261-1265
Du Lian-jun, Ding Xiao-yi, Lu Yong, et al. The imaging findings of recurrent giant cell tumor of bone and the influencing factors [J]. Radiologic Practice, 2006, 21(12): 1261-1265
- [6] 袁一方, 张明华, 杨彤涛, 等. 长骨骨巨细胞瘤复发相关因素分析及外科治疗[J]. 医疗卫生装备, 2013, 34(09): 57-59
Yuan Yi-fang, Zhang Ming-hua, Yang Tong-tao, et al. Long bone giant cell tumor recurrence and surgical treatment related factors [J]. Chinese Medical Equipment Journal, 2013, 34(09): 57-59
- [7] Clark I M, Parker A E. Metalloproteinases: their role in arthritis and potential as therapeutic targets [J]. Expert Opin Ther Targets, 2003, 7 (1): 19-34
- [8] 李颖智, 金海鸿, 秦悦洋, 等. VEGF、MMP-9 表达水平与骨巨细胞瘤侵袭性相关性[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(11): 1989-1991
Li Ying-zhi, Jin Hai-hong, Qin Yue-yang, et al. VEGF, MMP-9 expression and giant cell tumor invasiveness correlation [J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2013, 17(11): 1989-1991
- [9] 汪义, 欧云生, 权正学, 等. 基质金属蛋白酶 7 和基质金属蛋白酶抑制剂 3 在骨巨细胞瘤中的表达 [J]. 中国肿瘤临床与康复, 2012, 19 (02): 109-112
Wang Yi, Ou Yun-sheng, Quan Zheng-xue, et al. Matrix metalloproteinase-7 and matrix metalloproteinase inhibitor 3 expression in giant cell tumor of bone [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology and Rehabilitation, 2012, 19 (02): 109-112
- [10] 刘焕彩, 刘金兰, 孟晓光, 等. 骨巨细胞瘤组织中 MMP-2、E-cadherin 的表达变化及意义[J]. 山东医药, 2011, 51(42): 93-94
Liu Huan-chai, Liu Jin-lan, Meng Xiao-guang, et al. MMP-2 in giant cell tumor of bone tissue, Expression and significance of E-cadherin [J]. Shandong Medical Journal, 2011, 51(42): 93-94
- [11] D'Ortho M P, Will H, Atkinson S, et al. Membrane-type matrix metalloproteinases 1 and 2 exhibit broad-spectrum proteolytic capacities comparable to many matrix metalloproteinases [J]. Eur J Biochem, 1997, 250(3): 751-757
- [12] Yu A E, Hewitt R E, Kleiner D E, et al. Molecular regulation of cellular invasion--role of gelatinase A and TIMP-2[J]. Biochem Cell Biol, 1996, 74(6): 823-831
- [13] Ohtani H, Motohashi H, Sato H, et al. Dual over-expression pattern of membrane-type metalloproteinase-1 in cancer and stromal cells in human gastrointestinal carcinoma revealed by in situ hybridization and immunoelectron microscopy[J]. Int J Cancer, 1996, 68(5): 565-570
- [14] 张品南. 骨巨细胞瘤 42 例临床病理分析 [J]. 浙江医学, 1994, 16 (05): 269-270
Zhang Pin-nan. Giant cell tumor of bone clinicopathologic analysis of 42 cases[J]. Zhejiang Medical Journal, 1994, 16(05): 269-270
- [15] 杨宣涛. 骨巨细胞瘤病理与基础研究进展 [J]. 诊断病理学杂志, 2001, 8(06): 361-363
Yang Xuan-tao. Giant cell tumor of bone pathology and basic research progress [J]. Chinese Journal of Diagnostic Pathology, 2001, 8 (06): 361-363
- [16] 黄永惠, 叶顶琼, 王运飞. 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子和血管内皮生长因子在骨巨细胞瘤中的表达及临床意义简[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(6): 773-775
Huang Yong-hui, Ye Ding-qiong, Wang Yun-fei. Extracellular matrix metalloproteinases induced factor and vascular endothelial growth factor expression and clinical significance in the giant cell tumor[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2014, 11(6): 773-775
- [17] Takahashi C, Sheng Z, Horan T P, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-9 and inhibition of tumor invasion by the membrane-anchored glycoprotein RECK [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95 (22): 13221-13226
- [18] 张金陵, 马先文, 李家华, 等. RECK 在骨巨细胞瘤中的表达及与 MMP-2 的关系[J]. 中国骨肿瘤骨病, 2011, 10(2): 171-174

- [6] Yun C S, Choi Y G, Jeong M Y, et al. Moutan Cortex Radicis inhibits inflammatory changes of gene expression in lipopolysaccharide-stimulated gingival fibroblasts[J]. J Nat Med, 2013, 67(3): 576-589
- [7] Pabst A M, Happe A, Callaway A, et al. In vitro and in vivo characterization of porcine acellular dermal matrix for gingival augmentation procedures[J]. J Periodontal Res, 2013
- [8] Wang Y Q, Dai M, Zhong J C, et al. Paeonol inhibits oxidized low density lipoprotein-induced monocyte adhesion to vascular endothelial cells by inhibiting the mitogen activated protein kinase pathway[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(5): 767-772
- [9] Zhang N, Li L, Wang P, et al. Pharmacokinetics of the main compounds absorbed into blood after oral administration of Liu Wei Di Huang Wan, a typical combinatorial intervention of Chinese medical formula[J]. J Nat Med, 2013, 67(1): 36-41
- [10] Li H, Wang S W, Zhang B L, et al. Simultaneous quantitative determination of 9 active components in traditional Chinese medicinal preparation ShuangDan oral liquid by RP-HPLC coupled with photodiode array detection [J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 56(4): 820-824
- [11] Bansal M, Rastogi S, Vineeth N. Influence of periodontal disease on systemic disease: inversion of a paradigm: a review [J]. J Med Life, 2013,6(2): 126-130
- [12] Chakraborty D S, Tewari D S, Sharma D R, et al. Effect of non-Surgical Periodontal Therapy on Serum Ferritin Levels: an Interventional Study[J]. J Periodontol, 2013
- [13] Andriankaja O M, Galicia J, Dong G, et al. Gene expression dynamics during diabetic periodontitis [J]. J Dent Res, 2012, 91 (12): 1160-1165
- [14] Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, et al. Oncostatin M synergistically induces CXCL10 and ICAM-1 expression in IL-1beta-stimulated-human gingival fibroblasts[J]. J Cell Biochem, 2010,111(1):40-48
- [15] Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, et al. Proinflammatory effects of tumour necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) on human gingival fibroblasts [J]. Clin Exp Immunol, 2006, 146 (3): 540-549
- [16] Chang L C, Kuo H C, Chang S F, et al. Regulation of ICAM-1 expression in gingival fibroblasts infected with high-glucose-treated P. gingivalis[J]. Cell Microbiol, 2013
- [17] Naim R, Braun T, Sauter A, et al. VCAM-1 increases levels of HGF in eosinophilic chronic rhinosinusitis cell culture [J]. In Vivo, 2008, 22(1): 77-81
- [18] Chatterjee A, Singh N, Saluja M. Gene therapy in periodontics [J]. J Indian Soc Periodontol, 2013, 17(2): 156-161
- [19] Herrera D, Matesanz P, Bascones-Martinez A, et al. Local and systemic antimicrobial therapy in periodontics[J]. J Evid Based Dent Pract, 2012, 12(3 Suppl): 50-60
- [20] Tu H P, Fu M M, Kuo P J, et al. Berberine's effect on periodontal tissue degradation by matrix metalloproteinases: an in vitro and in vivo experiment[J]. Phytomedicine, 2013
- [21] Xu Y Z, Zou H R, Wang X L, et al. Effects of Shuanghuangbu on the total protein content and ultrastructure in cultured human periodontal ligament cells[J]. Chin Med J (Engl), 2004, 117(11): 1693-1696

(上接第 5430 页)

- Zhang Jin-ling, Ma Xian-wen, Li Jia-hua, et al. RECK expression in giant cell tumor and its relationship with MMP-2[J]. J bone tumors of bone China, 2011, 10(2): 171-174
- [19] Steck P A, Pershouse M A, Jasser S A, et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers [J]. Nat Genet,1997,15(4): 356-362
- [20] Chu E C, Tarnawski A S. PTEN regulatory functions in tumor suppression and cell biology[J]. Med Sci Monit,2004,10(10):A235-A241
- [21] 陈述伟,杨述华,张劲松,等. PTEN、MMP-7、VEGF 在骨巨细胞瘤中的表达[J]. 肿瘤防治研究,2007, 34(4): 290-292
- Chen Shu-wei, Yang Shu-hua, Zhang Jin-song, et al. PTEN, MMP - 7, the expression of VEGF in giant cell tumor [J]. Journal of cancer prevention and control research, 2007, 34(4): 290-292
- [22] Mosakhani N, Pazzaglia L, Benassi M S, et al. MicroRNA expression profiles in metastatic and non-metastatic giant cell tumor of bone[J]. Histol Histopathol, 2013, 28(5): 671-678
- [23] Liu J, van Mil A, Agur E N, et al. MiR-155 inhibits cell migration of human cardiomyocyte progenitor cells (hCMPCs) via targeting of MMP-16[J]. J Cell Mol Med, 2012, 16(10): 2379-2386