



电子、语音版

·论著·

血管结构蛋白、生成因子和基质蛋白酶在颅内动脉瘤破裂进程中的表达规律研究

白旭升¹, 冯志芳¹, 赵常发², 阿迪力江·艾则孜², 杨文娟¹, 杜郭佳^{1,2}

1. 新疆医科大学第一附属医院昌吉分院神经医学科, 新疆 昌吉 831100

2. 新疆医科大学第一附属医院神经外二科, 新疆 乌鲁木齐 830054

摘要:目的 拟通过同一患者的不同阶段的颅内动脉瘤(IA)血管结构蛋白、生长因子和基质蛋白酶的表达进行分析,探索动脉瘤破裂的分子机制,为IA的早期筛查和预防提供理论依据。方法 采集6名IA患者未破裂动脉瘤、破裂动脉瘤的动脉瘤壁和颞浅动脉血管壁样本。通过qRT-PCR和Western blotting检测3种结构蛋白(III型胶原、纤维连接蛋白和层粘连蛋白)、2种血管生成因子(血管内皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子)和2种基质蛋白酶的表达水平变化趋势。结果 正常血管壁样本(颞浅动脉)中III型胶原、层粘连蛋白、成纤维细胞生长因子和基质金属蛋白酶2呈现高水平表达;未破裂动脉瘤样本中,大多数蛋白趋于中度表达水平;动脉瘤破裂后III型胶原和层粘连蛋白表达水平降低,纤维连接蛋白和血管内皮生长因子表达水平升高。mRNA水平表达与蛋白表达水平基本一致。结论 正常血管壁、未破裂动脉瘤壁和破裂动脉瘤壁中结构蛋白和血管生成因子表现出不同的表达水平和模式。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(3): 14-20.]

关键词:颅内动脉瘤;结构蛋白;生成因子;基质蛋白酶

中图分类号:R7435

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.03.003

Expression of vascular structural proteins, growth factors, and matrix proteases during the course of ruptured intracranial aneurysms

BAI Xu-Sheng¹, FENG Zhi-Fang¹, ZHAO Chang-Fa², Aizezi Adilijiang², YANG Wen-Juan¹, DU Guo-Jia^{1,2}

1. Department of Neuroscience, Changji Branch, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Changji, Xinjiang 831100, China

2. Department of Neurosurgery II, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830054, China

Corresponding author: DU Guo-Jia, Email: dgrjav@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the molecular mechanism of rupture of aneurysm by analyzing the expression of vascular structural proteins, growth factors, and matrix proteases in one patient with intracranial aneurysm (IA) at different stages, and to provide a theoretical basis for the early screening and prevention of IA. **Methods** The samples of the unruptured aneurysms, the ruptured aneurysm wall, and the superficial temporal artery wall were collected from 6 patients with IA. Quantitative real-time PCR and Western blotting were used to measure the changing trends of the expression levels of three structural proteins (type III collagen, fibronectin and laminin), two growth factors [vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF)], and two matrix proteinases [JNK and matrix metalloproteinase 2 (MMP2)]. **Results** There were high expression levels of type III collagen, laminin, bFGF, and MMP2 in the normal vascular wall samples collected from the superficial temporal artery. Most proteins showed a moderate expression level in the samples of unruptured aneurysms. After rupture of aneurysms, there were reductions in the expression levels of type III col-

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(2019D01A87)。

收稿日期:2021-12-02;修回日期:2022-05-26

通信作者:杜郭佳,Email:dgrjav@163.com。

lagen and laminin and increases in the expression levels of fibronectin and VEGF. The mRNA expression levels were basically consistent with the protein expression levels. **Conclusions** Structural proteins and growth factors show different expression levels and patterns in normal vascular wall, unruptured aneurysm wall, and ruptured aneurysm wall.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(3): 14–20.]

Keywords: intracranial aneurysm; vascular structural protein; growth factor; matrix protease

脑卒中是危害我国国民健康的重大疾病之一,2019 年我国缺血性脑卒中发病率为 1 700/10 万、出血性脑卒中发病率为 306/10 万^[1],而且我国脑卒中发病人群中年龄<70 岁的患者比例持续增加,逐步呈年轻化的趋势。5%~15% 的脑卒中与颅内动脉瘤(intracranial aneurysm, IA)破裂有关^[2-3]。IA 破裂出血具有隐匿性强,死亡率和致残率高的特点。IA 破裂导致动脉瘤性蛛网膜下腔出血,多见于女性(男女比例为 1:2)^[4-6],高发年龄为 55~60 岁^[7]。动脉瘤性蛛网膜下腔出血后 30 d 死亡率为 45%,大约 30% 幸存者留有中度至严重的功能障碍^[8]。

IA 破裂的机制目前尚不清楚。普遍认为动脉瘤的发生、发展和最终破裂可能被归结为动脉血管壁功能的衰竭所引起^[9]。这种衰竭可能是直接血管壁应力导致结构损伤的结果,也可能是由于血管壁修复机制受损所造成^[10]。目前已知的血管结构蛋白主要有 III 型胶原蛋白 α 1 链(type III collagen α1, COL3α1)、纤维连接蛋白(Fibronectin)和层粘连蛋白(Laminin),而血管壁微环境中的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF),以及应激活化蛋白激酶(stress-activated protein kinase, JNK)和基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase 2, MMP2),负责发挥血管壁修复作用。研究发现,随着颅内动脉瘤的发展,颅内血管受损程度加重,血管壁结构蛋白将逐渐降解,而血管修复因子的表达不同程度的发生变化^[11]。目前尚不明确这些因子在同一患者中其动态变化趋势如何,明确这些因子的表达模式,对于

解析动脉瘤的破裂机制具有重要意义。

由于 IA 患者脑动脉活体样本收集困难,多数研究者从不同患者中手术采集不同时期的脑动脉样本开展分子机制的研究。从已知的基因表达数据来看^[12-13],不同研究者分析的数据重复性较差、一致性低,可能样本个体差异性导致了数据分析的不准确。因此,本研究拟选用同一患者不同阶段的 IA 样本,避免个体样本差异性,针对血管结构蛋白、血管生成因子和基质蛋白酶类基因表达规律进行分析,探索 IA 破裂的分子机制,为 IA 的早期筛查和预防提供理论依据。

1 资料和方法

1.1 资料

6 例囊性 IA 患者,年龄 45~55 岁,经 CTA 或/和全脑血管造影检查确诊为颅内多发动脉瘤,均选择前循环动脉分叉部附近,经同一手术入路分别获取两种动脉瘤组织标本[1 个未破裂动脉瘤(unruptured aneurysm, UIA)、另外 1 个破裂动脉瘤(ruptured aneurysm, RIA)]。所有患者无明显手术禁忌证和其他遗传性疾病(信息见表 1),部分患者 CTA 的图片见图 1。同时,翼点入路开颅获取同一患者术侧颞浅动脉(superficial temporal artery, STA)标本,长约 5 mm。用液氮固定,贮于-80 ℃冰柜内。暴露夹闭 IA 瘤颈后,显微镜下在确保完全和安全夹闭的前提下剪下动脉瘤瘤顶的三分之一部分(1~2 mm)(图 1)。用液氮固定,贮存于-80 ℃冰柜内。所有样本经新疆医科大学第一附属医院医学伦理委员会审批(审批号:20170214-73),并经患者签署知情同意书。

表 1 患者及标本采集情况

性别	年龄/岁	CTA 诊断	既往史	样本来源	采集部位
男	45	颅内多发动脉瘤	高血压、糖尿病	RIA、UIA 和 STA	Pcom+ MCA
男	50	颅内多发动脉瘤	高血压	RIA、UIA 和 STA	Acom+ MCA
男	53	颅内多发动脉瘤	糖尿病	RIA、UIA 和 STA	MCA
女	46	颅内多发动脉瘤	高血压、糖尿病	RIA、UIA 和 STA	Acom+ MCA
女	49	颅内多发动脉瘤	高血压	RIA、UIA 和 STA	Pcom+ MCA
女	55	颅内多发动脉瘤	糖尿病	RIA、UIA 和 STA	Acom+ MCA

RIA,破裂动脉瘤;UIA,未破裂动脉瘤;STA,颞浅动脉;Pcom,后交通动脉;MCA,大脑中动脉;Acom,前交通动脉。

1.2 酶及主要试剂

TRIzol 试剂购自美国英杰(Invitrogen)生命技术有限公司,RT-PCR 试剂盒购自大连宝生生物技术有限公司, QIA quick PCR 纯化试剂盒、定量 PCR 荧光染料(LightCy-

cler 480 SYBR Green I Master)购自瑞士 ROCHE 公司,上海罗氏制药有限公司, COL3α1 鼠抗(ab184993, 1: 500, 150 kD)、JNK 兔抗(ab199380, 1: 400, 44 kD)、MMP2 鼠抗(ab86607, 1: 500, 74 kD)购自艾博抗(Abcam 上海)贸易

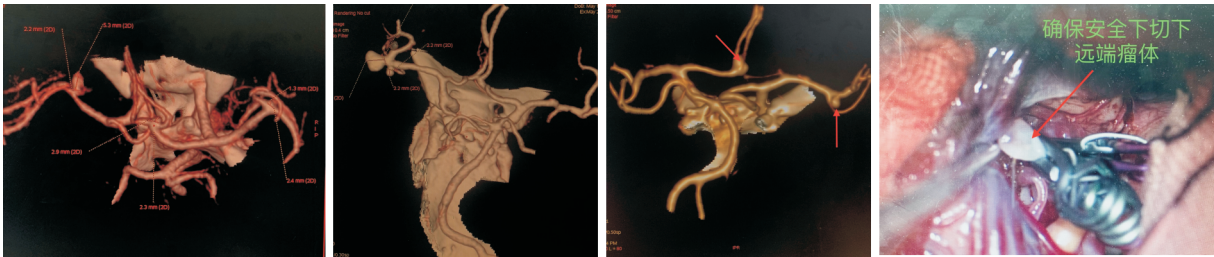


图1 部分患者的CTA和术中图片

有限公司, Fibronectin 兔抗(sc-8422, 1: 300, 230 kD)和 Laminin 鼠抗(sc-101517, 1: 500, 43 kD)购自圣克鲁斯(Santa Cruz)生物技术(上海)有限公司, VEGF 鼠抗(V4758, 1: 400, 55 kD)和 bFGF 兔抗(F3393, 1: 500, 17.5 kD)购自美国 Sigma 公司, Goat Anti-Mouse IgG 和 Goat Anti-Rabbit IgG 荧光二抗购自美国 LI-COR 公司。

1.3 实时荧光定量反转录聚合酶链反应(qRT-PCR)

用 TRIzol 试剂从动脉样本中提取总 RNA, 用 RT-PCR 试剂盒合成 cDNA, 用 QIA quick PCR 纯化试剂盒纯

化。用 LightCycler 480 实时 PCR 对 3 种结构蛋白(COL3α1、Fibronectin 和 Laminin)、2 种血管生成因子(VEGF 和 bFGF)和 2 种基质蛋白酶(JNK 和 MMP2)的 mRNA 水平的表达定量检测。使用 2^{-ΔΔCt} 相对定量法对 mRNA 水平的表达进行定量分析, 引物见表 2。β-actin 作为内参基因。反应程序: 95 ℃加热 15 min, 55 个循环: 95 ℃变性 10 s, 58 ℃退火 20 s, 72 ℃延伸 20 s。反应体系: 2×反应混合液 10 μL; 引物(10 pmol/L)混合物 1 μL; cDNA 2 μL; 无核酸酶水 7 μL。每个样本重复 3 次。内参基因为 GAPDH。

表2 qRT-PCR 引物序列

引物名称	引物序列(5'-3')	产物长度/bp	参考序列
Homo Sapiens-COL3α1-正向	CGCCCTCCTAATGGTCAAGG	161	NM_000090.4
Homo Sapiens-COL3α1-反向	TTCTGAGGACCACTAGGGCA		
Homo Sapiens-Fibronectin-正向	CTGGGTCTCTCCCAGAGAA	170	NM_212474.3
Homo Sapiens-Fibronectin-反向	GAGAGCTTCTTGCTCTGTCTT		
Homo Sapiens-Laminin-正向	AGCTGATGACTGTCTTGCC	176	NM_005559.4
Homo Sapiens-Laminin-反向	TGTGTAGCCTTGCGGACATT		
Homo Sapiens-VEGF-正向	AGGCCAGCACATAGGAGAGA	175	NM_001025368.3
Homo Sapiens-VEGF-反向	ACGCGAGTCTGTGTTTTGC		
Homo Sapiens-bFGF-正向	GGGTTTCCTGCTGTTCTCTCTG	188	J04513.1
Homo Sapiens-bFGF-反向	CTGCTGCATTAGCCAAGAACT		
Homo Sapiens-JNK 正向	TAAAGCCAGTCAGGCAAGGG	136	NM_001323326.2
Homo Sapiens-JNK-反向	TGGTGGAGCTTCTGCTTCAG		
Homo Sapiens-MMP2-正向	GCCAAGCGTCTAGCAATACC	190	NM_001302510.2
Homo Sapiens-MMP2-反向	GTAATTGGCCACATCTGGGT		
Homo Sapiens-GAPDH-2-正向	GACAGTCAGCCGATCTTCT	104	NM_002046.7
Homo Sapiens-GAPDH-2-反向	GCGCCAATACGACCAAATC		

1.4 血管结构蛋白、生成因子和基质蛋白酶的 Western blotting 检测

RIPA 法提取血管组织蛋白, 30 μg 总蛋白上样, PVDF 膜转印, 5%脱脂奶粉封闭 1 h, 血管结构蛋白、生成因子和基质蛋白酶一抗或 GAPDH 鼠抗(1: 500)4℃孵育过夜, 二抗(1: 5 000)室温作用 1 h, Odyssey 红外荧光扫描成像。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 计量数值以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间分析采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结构基质蛋白在不同动脉组织中的表达情况

COL3α1: NC 中可见清晰的表达条带, RIA 中表达水平最低(图 2-A)。Fibronectin: RIA 中显示高水平表达, 而在 UIA 和 NC 中表达水平较低(图 2-B)。Laminin: 与 Fibronectin 的表达水平相反, NC 中可见高水平表达。UIA 和 RIA 的动脉瘤壁标本中表达逐步降低(图 2-C)。mRNA 水平表达与蛋白表达趋势基本一致(表 3、4)。

2.2 血管内皮生长因子在不同动脉组织中的表达情况

VEGF: 在 RIA 中表达水平最高, NC 和 UIA 中表达极弱(图 3-A)。bFGF: 在 RIA 中的表达规律与 VEGF 相似。

表3 COL3α1、Fibronectin 和 Laminin 蛋白的表达情况
(n=6, $\bar{x} \pm s$)

蛋白	RIA	UIA	NC	F 值	P 值
COL3α1	0.36±0.04 ^{①②}	0.68±0.07 ^②	0.87±0.09	5.421	0.014
Fibronectin	1.01±0.01 ^{①②}	0.54±0.12	0.35±0.14	3.154	0.043
Laminin	0.16±0.01 ^{①②}	0.43±0.11 ^②	1.24±0.13	4.578	0.007

注:依据图1中蛋白条带,进行灰度值扫描,数值与GAPDH数值相比,即为目标蛋白表达量。①与UIA组比较,P<0.05;②与NC组比较,P<0.05。

表4 COL3α1、Fibronectin 和 Laminin 基因相对表达量
(n=6, $\bar{x} \pm s$)

基因	RIA	UIA	NC	F 值	P 值
COL3α1	7.52±2.47 ^{①②}	11.32±1.75	13.51±1.23	4.132	0.033
Fibronectin	12.31±1.33 ^{①②}	6.54±2.67	4.65±1.54	3.987	0.024
Laminin	10.78±1.79 ^{①②}	13.67±1.82 ^②	17.89±1.99	4.214	0.009

注:①与UIA组比较,P<0.05;②与NC组比较,P<0.05。

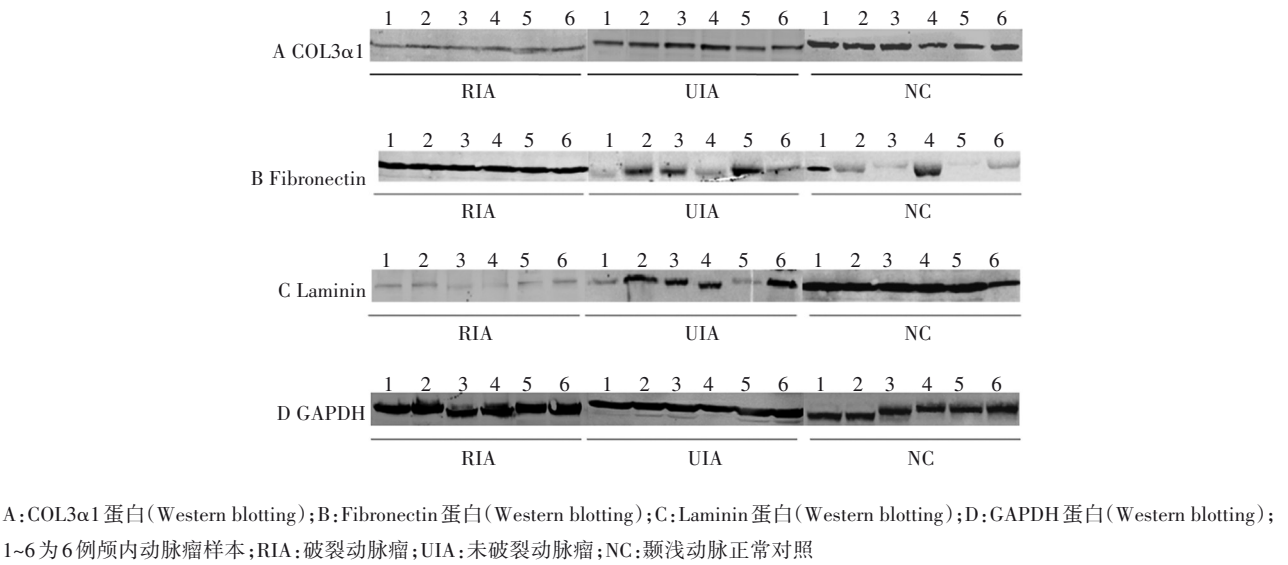


图2 结构蛋白在动脉瘤破裂进程中的表达变化

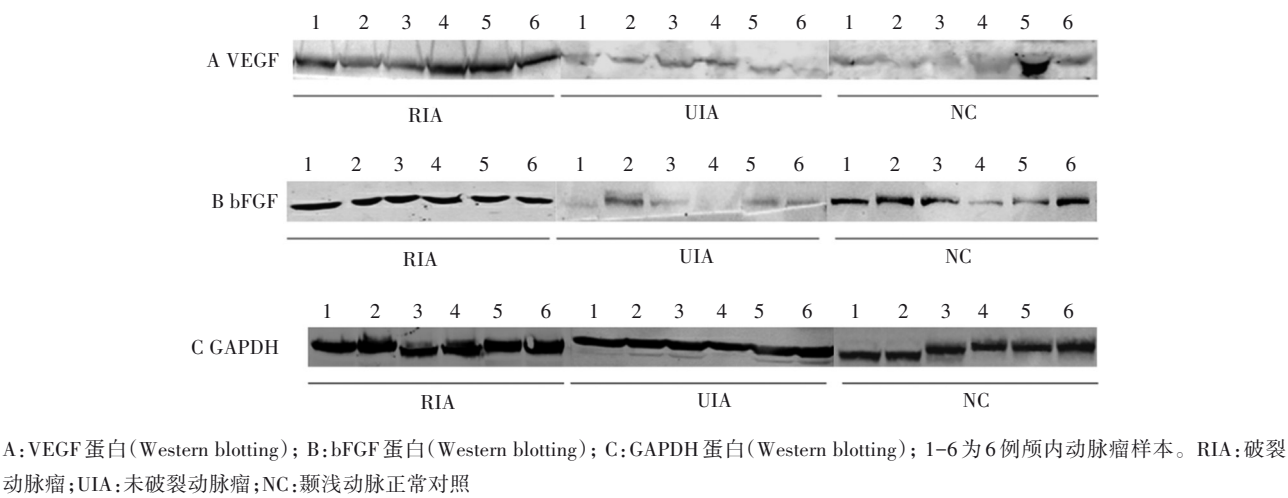


图3 血管生成生长因子在动脉瘤破裂进程中的表达变化

UIA 表达水平最低(图3-B)。mRNA 水平表达与蛋白表达趋势一致(表5、6)。

2.3 基质蛋白酶在不同动脉组织中的表达情况

JNK:在RIA 中的表达水平最高,NC 和UIA 中的表达水平低,仅可见微弱表达(图4-A)。MMP2:在RIA 和NC 中的表达水平较高,UIA 中表达水平较低(图4-B)。mRNA 水平表达与蛋白表达趋势基本相符(表7、8)。

表5 VEGF与bFGF 蛋白表达情况 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

蛋白	RIA	UIA	NC	F 值	P 值
VEGF	0.56±0.12 ^{①②}	0.10±0.01 ^②	0.21±0.05	4.645	0.009
bFGF	0.84±0.11 ^①	0.11±0.02 ^②	0.55±0.18	3.575	0.028

注:依据图1中蛋白条带,进行灰度值扫描,数值与GAPDH数值相比,即为目标蛋白表达量。①与UIA组比较,P<0.05;②与NC组比较,P<0.05。

表6 VEGF与bFGF的相对表达情况 (n=6, $\bar{x} \pm s$)					
基因	RIA	UIA	NC	F值	P值
VEGF	25.14±4.41 ^{①②}	7.82±1.81 ^②	4.61±2.37	4.511	0.008
bFGF	30.31±6.31 ^{①②}	8.11±2.33 ^②	14.33±2.71	4.017	0.012

注:①与UIA组比较,P<0.05;②与NC组比较,P<0.05。

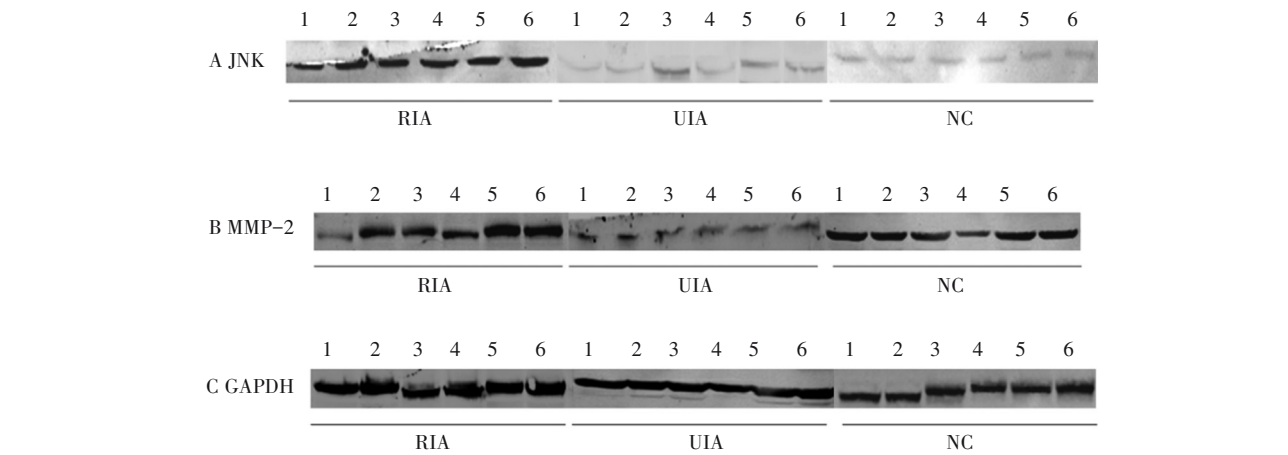
表8 JNK和MMP2的相对表达情况 (n=6, $\bar{x} \pm s$)					
基因	RIA	UIA	NC	F值	P值
JNK	22.33±3.66 ^{①②}	8.55±2.45	6.41±1.13	4.632	0.007
MMP2	22.17±2.93 ^①	5.15±1.96 ^②	24.15±6.78	4.843	0.005

注:①与UIA组比较,P<0.05;②与NC组比较,P<0.05。

表7 JNK和MMP2的蛋白表达情况 (n=6, $\bar{x} \pm s$)					
蛋白	RIA	UIA	NC	F值	P值
JNK	0.84±0.08 ^{①②}	0.21±0.06 ^②	0.11±0.03	4.513	0.006
MMP2	0.91±0.11 ^①	0.24±0.03 ^②	0.88±0.12	4.546	0.009

注:依据图1中蛋白条带,进行灰度值扫描,数值与GAPDH数值相比,即为目标蛋白表达量。①与UIA组比较,P<0.05;②与NC组比较,P<0.05。

研究表明,血管重塑过程的破坏导致动脉瘤的形成,负责调节血管重塑进程的主效基因是VEGF和bFGF^[23-24]。VEGF是血管通透性的重要调节因子,它的激活导致成纤维细胞和平滑肌细胞释放出bFGF,bFGF与



A:JNK蛋白(Western blotting);B:MMP2蛋白(Western blotting);C:GAPDH蛋白(Western blotting);1-6为6例颅内动脉瘤样本。RIA:破裂动脉瘤;UIA:未破裂动脉瘤;NC:颞浅动脉正常对照

图4 基质蛋白酶在动脉瘤破裂进程中的表达情况

3 讨论

研究发现,COL3α1的变异可能是IA的遗传危险因素^[14],COL3α1维持血管的结构和功能完整性至关重要^[15-16]。随着IA发展、破裂,血管壁组织学结构发生改变。在本研究中,COL3α1在正常-未破裂-破裂血管壁中的表达逐渐减弱,提示COL3α1减少反映了动脉瘤发展和血管壁损伤的严重程度,可能作为一个IA发展的潜在标志物。

Fibronectin和Laminin表达于血管壁的基底膜中^[17-18],这些蛋白质通过将内皮细胞锚定在底层弹性膜和平滑肌层来维持血管壁结构的完整性^[19-20]。Fibronectin在血管生成的初始阶段占主导地位,而Laminin在成熟阶段占主导地位。研究表明,Laminin是动静脉畸形的重要基质蛋白之一,而Fibronectin是海绵状畸形的主要基质蛋白^[21]。Laminin/Fibronectin比例的异常可能是导致颅内动脉病变的原因之一^[22]。本研究显示,正常血管壁、未破裂和破裂动脉瘤壁之间,Laminin表达量逐步减少,而Fibronectin表达量增加,且两者表达趋势相反,提示Laminin/Fibronectin比例的降低,可能介导了IA的破裂。

VEGF协同作用,进一步降解血管结构蛋白。这2个血管生成因子的正常表达是血管重塑和维持结构完整性的重要原因^[25]。在本研究中,所有6例IA患者破裂动脉中VEGF和bFGF表达量均表现出升高趋势。VEGF在破裂的动脉瘤壁中表达量最高。与VEGF的情况不同,未破裂的动脉瘤壁bFGF的表达明显弱于正常血管壁,这与作者预期的相反,可能是bFGF晚于VEGF作用于动脉瘤血管壁的重塑,当动脉瘤破裂后重塑作用增加bFGF才上升。

JNK属于MAPK信号转导级联反应中的一类蛋白激酶家族,参与调节细胞凋亡等生理活动。Laukeviciene等^[26]报道在人类脑动脉瘤中动脉肌层细胞的凋亡中也伴有磷酸化JNK的过度表达。选择性的抑制JNK通路不但在体外防止了腹主动脉瘤的形成,而且在小鼠腹主动脉瘤的模型中导致形成的动脉瘤消失^[27]。MMP2属于明胶酶,包括成纤维细胞、巨噬细胞、白细胞、平滑肌细胞和内皮细胞等在内的多种不同类型的细胞都可分泌明胶酶,参与了正常或病理性ECM的重塑和血管生成过程。已证实MMP2参与了动脉瘤的病理学过程^[28]。动脉局部MMP2过度表达可抑制大鼠动脉壁结构的破坏和动脉瘤

形成^[29]。有意思的是,作者发现JNK的表达量随着动脉瘤的进展,呈现明显的逐渐增加规律,类似于VEGF和Fibronectin表达模式,提示JNK可能通过调控VEGF影响Fibronectin的表达,促进动脉瘤的破裂。而MMP2在正常血管壁中表达最高,动脉瘤形成后降低,破裂后增高,与之前在大鼠上的报道相似^[30]。

为了降低IA发病率和死亡率,在分子水平理解颅内动脉瘤破裂的机制将有助于实现颅内动脉瘤的早期筛查和预防。本研究从颅内动脉结构蛋白-血管内皮生长因子-基质蛋白酶这一信号轴,比较分析颅内动脉瘤破裂进程中的分子变化规律,期望为颅内动脉瘤的早期诊断和预防研究奠定分子基础。

参 考 文 献

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告2020概要[J]. 中国循环杂志, 2021, 36(6): 521-545.
- [2] BEDERSON JB, AWAD IA, WIEBERS DO, et al. Recommendations for the management of patients with unruptured intracranial aneurysms: a statement for healthcare professionals from the Stroke Council of the American Heart Association[J]. Stroke, 2000, 31(11): 2742-2750.
- [3] WIEBERS DO, WHISNANT JP, HUSTON J 3rd, et al. Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment[J]. Lancet, 2003, 362(9378): 103-110.
- [4] CONNOLLY ES, SOLOMON RA. Management of unruptured aneurysms[M]//LE ROUX PD, WINN HR, NEWELL DW. Management of cerebral aneurysms. Philadelphia: Saunders, 2004: 271-285.
- [5] SCHIEVINK WI. Intracranial aneurysms[J]. N Engl J Med, 1997, 336(1): 28-40.
- [6] STAPF C, MOHR JP. Aneurysms and subarachnoid hemorrhage - epidemiology[M]//LE ROUX PD, WINN HR, NEWELL DW. Management of cerebral aneurysms. Philadelphia: Saunders, 2004: 183-187.
- [7] GREENBERG MS. SAH and aneurysms[M]//GREENBERG MS. Handbook of neurosurgery. 5th ed. New York: Thieme Medical, 2000: 754-803.
- [8] JOHNSTON SC, SELVIN S, GRESS DR. The burden, trends, and demographics of mortality from subarachnoid hemorrhage [J]. Neurology, 1998, 50(5): 1413-1418.
- [9] HALLORAN BG, BAXTER BT. Pathogenesis of aneurysms[J]. Semin Vasc Surg, 1995, 8(2): 85-92.
- [10] KASSAM AB, HOROWITZ M, CHANG YF, et al. Altered arterial homeostasis and cerebral aneurysms: a molecular epidemiology study[J]. Neurosurgery, 2004, 54(6): 1450-1460.
- [11] KATAOKA K, TANEDA M, ASAI T, et al. Structural fragility and inflammatory response of ruptured cerebral aneurysms. A comparative study between ruptured and unruptured cerebral aneurysms[J]. Stroke, 1999, 30(7): 1396-1401.
- [12] KASSAM A, HOROWITZ M, CHANG YF, et al. Altered arterial homeostasis and cerebral aneurysms: a review of the literature and justification for a search of molecular biomarkers[J]. Neurosurgery, 2004, 54(5): 1199-1212.
- [13] VIÑUELA F, MURAYAMA Y. Experimental aneurysms[J]. J Neurosurg, 1997, 86(5): 914-916.
- [14] YONEYAMA T, KASUYA H, ONDA H, et al. Collagen type I alpha2 (*COL1A2*) is the susceptible gene for intracranial aneurysms[J]. Stroke, 2004, 35(2): 443-448.
- [15] HAN SC, WANG Z, LIU JN, et al. miR-29a-3p-dependent *COL3A1* and *COL5A1* expression reduction assists sulforaphane to inhibit gastric cancer progression[J]. Biochem Pharmacol, 2021, 188: 114539.
- [16] HU PF, WANG TJ, LIU HM, et al. Full-length transcriptome and microRNA sequencing reveal the specific gene-regulation network of velvet antler in sika deer with extremely different velvet antler weight[J]. Mol Genet Genomics, 2019, 294(2): 431-443.
- [17] CARMELIET P, FERREIRA V, BREIER G, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele[J]. Nature, 1996, 380(6573): 435-439.
- [18] KILIÇ T, PAMIR MN, KÜLLÜ S, et al. Expression of structural proteins and angiogenic factors in cerebrovascular anomalies[J]. Neurosurgery, 2000, 46(5): 1179-1191.
- [19] DOLHIKH HV, MASLAK HS, DIDENKO VI, et al. Levels of isoforms of fibronectin and $\alpha 5/\text{CD}49\text{e}$ integrin on lymphocytes and in blood plasma in the conditions of chronic diffuse liver diseases[J]. Regul Mech Biosyst, 2020, 11(4): 475-482.
- [20] ZHANG K, YANG PP, HE PP, et al. Peptide-Based nanoparticles mimic fibrillogenesis of laminin in tumor vessels for precise embolization[J]. ACS Nano, 2020, 14(6): 7170-7180.
- [21] POLLARD SM, PARSONS MJ, KAMEI M, et al. Essential and overlapping roles for laminin alpha chains in notochord and blood vessel formation[J]. Dev Biol, 2006, 289(1): 64-76.
- [22] SATALA D, SATALA G, KARKOWSKA-KULETA J, et al. Structural insights into the interactions of candidal enolase with human vitronectin, fibronectin and plasminogen[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 7843.
- [23] GVOZDEV NS, VYKHOVANETS EP, LUNEVA SN, et al. Specific dynamics in vascular endothelial growth factors (VEGF) in blood of patients with vitamin D-resistant rickets during correction of multiplanar deformities of lower limbs[J]. Genij Ortopedii, 2020, 26(1): 37-43.
- [24] YAMAMOTO N, OYAIZU T, ENOMOTO M, et al. VEGF and bFGF induction by nitric oxide is associated with hyperbaric oxygen-induced angiogenesis and muscle regeneration[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 2744.
- [25] AZARPIRA N, KAVIANI M, SARVESTANI FS. Incorporation of VEGF-and bFGF-loaded alginate oxide particles in acellular collagen-alginate composite hydrogel to promote angiogenesis[J]. Tissue Cell, 2021, 72: 101539.

- [26] LAUKEVICIENE A, BRECHT S, KEVELAITIS E, et al. Enhanced contractility of small blood vessels in JNK knockout mice [J]. Eur J Pharm Sci, 2006, 29(5): 335-339.
- [27] GE XB, YANG QF, LIU ZB, et al. Mechanism of fisetin inhibiting oxidative stress to alleviate the damage of blood brain barrier, around the intracerebral hemorrhag lesions[J]. J Biomater Tissue Eng, 2020, 10(6): 862-867.
- [28] ANDREUCCI M, PROVENZANO M, FAGA T, et al. Aortic aneurysms, chronic kidney disease and metalloproteinases[J]. Bio-molecules, 2021, 11(2): 194.
- [29] LI K, CUI MZ, ZHANG KW, et al. Effect of miR-21 on rat thoracic aortic aneurysm model by regulating the expressions of MMP2 and MMP-9[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(2): 878-884.
- [30] XU T, WANG SS, LI X, et al. Lithium chloride represses abdominal aortic aneurysm via regulating GSK3 β /SIRT1/NF- κ B signaling pathway[J]. Free Radic Biol Med, 2021, 166: 1-10.

责任编辑:王荣兵