

引用本文:席自中,宋彦,宋元贞,等.粒细胞集落刺激因子对脑小血管病大鼠神经元活性、血管超微结构及神经元核抗原阳性表达的影响[J].安徽医药,2022,26(9):1790-1794.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.09.022.

◇临床医学◇



## 粒细胞集落刺激因子对脑小血管病大鼠神经元活性、血管超微结构及神经元核抗原阳性表达的影响

席自中,宋彦,宋元贞,张依璐

作者单位:南阳市第二人民医院神经内科,河南 南阳 473000

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20191468)

**摘要:** **目的** 探究粒细胞集落刺激因子(G-CSF)对脑小血管病(CSVD)大鼠神经元活性、血管超微结构及神经元核抗原(NeuN)阳性表达的影响。**方法** 2020年1月至2021年1月,将40只SD雄性大鼠按随机数字表法分为假手术组10只和模型组大鼠30只;采用同种系微栓子体外注入法制备CSVD大鼠模型,最终20只造模成功,再平均分为CSVD模型组(CSVD组)和CSVD模型大鼠给予G-CSF干预治疗组(G-CSF组),每组10只。造模成功后,将G-CSF组大鼠经皮下注射G-CSF 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,1天1次;假手术组和CSVD组大鼠均经皮下注射等量的生理盐水干预,1天1次。三组大鼠均连续注射7 d。采用苏木精-伊红染色(HE染色)观察海马组织形态学变化,TUNEL检测神经元细胞凋亡情况,透射电镜观察微血管结构和内皮形态,免疫组织化学检测NeuN阳性表达,逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测NeuN和血管内皮生长因子(VEGF)mRNA表达。**结果** 假手术组大鼠脑组织结构没有出现异常;CSVD组大鼠脑组织结构异常,海马区病灶严重,海马组织结构无规则;神经组织大量坏死,神经元缩小;干预后的G-CSF组脑组织结构得到明显改善( $P<0.05$ )。TUNEL检测结果显示,与假手术组神经元细胞凋亡率( $21.34\pm 4.43\%$ )相比,CSVD组神经元细胞凋亡率( $50.31\pm 2.92\%$ )增多( $P<0.05$ ),G-CSF组神经元细胞凋亡率( $30.90\pm 8.10\%$ )较CSVD组明显减少( $P<0.05$ )。假手术组微血管结构正常,CSVD组微血管结构破坏及内皮细胞损伤明显,而G-CSF组较CSVD组微血管结构和内皮细胞损伤得到明显改善( $P<0.05$ )。免疫组织化学结果发现CSVD组大鼠NeuN阳性表达( $0.375\pm 0.020\%$ )明显低于假手术组( $0.572\pm 0.015\%$ )( $P<0.05$ );G-CSF组中NeuN阳性表达( $0.551\pm 0.012\%$ )较CSVD组明显升高( $P<0.05$ )。RT-PCR检测结果显示,CSVD组大鼠NeuN( $0.11\pm 0.04$ )mRNA和VEGF mRNA( $0.76\pm 0.31$ )表达均低于假手术组NeuN( $0.48\pm 0.13$ )mRNA和VEGF mRNA( $1.45\pm 0.21$ )表达( $P<0.05$ );G-CSF组NeuN( $0.32\pm 0.11$ )和VEGF mRNA( $1.31\pm 0.26$ )表达明显高于CSVD组( $P<0.05$ )。**结论** G-CSF可改善CSVD大鼠微血管内皮细胞形态、促进神经元存活而减少凋亡发生,同时有效促进NeuN的阳性表达,进而发挥脑保护作用。

**关键词:** 大脑小血管疾病; 粒细胞集落刺激因子; 神经元活性; 血管超微结构; 神经元核抗原阳性表达; 血管内皮生长因子类

### Effects of G-CSF on neuronal activity, vascular ultrastructure and positive expression of NeuN in rats with cerebral small vessel disease

XI Zizhong, SONG Yan, SONG Yuanzhen, ZHANG Yilu

Author Affiliation: Department of Neurology, The Second People's Hospital of Nanyang, Nanyang, Henan 473000, China

**Abstract:** **Objective** To explore the effect of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on neuronal activity, vascular ultrastructure and positive expression of neuronal nuclear antigen (NeuN) in rats with cerebral small vessel disease (CSVD). **Methods** From January 2020 to January 2021, 40 SD male rats were divided into 10 rats in the sham operation group and 30 rats in the model group according to the random number table method. Finally, 20 rats were successfully modeled, and then they were equally divided into the CSVD model group (CSVD group) and CSVD model rats given the G-CSF intervention treatment group (G-CSF group), with 10 rats in each group. After successful modeling, the rats in the G-CSF group were subcutaneously injected with G-CSF 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , once a day; the rats in the sham-operated group and the CSVD group were treated by subcutaneous injection of the same amount of normal saline once per day. All three groups of rats were continuously injected for 7 days. Hematoxylin-eosin staining (HE staining) was used to observe the morphological changes of hippocampus, TUNEL to detect neuronal apoptosis, transmission electron microscopy to observe the microvascular structure and endothelial morphology, immunohistochemistry to detect the positive expression of NeuN, reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) detection of NeuN and human vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA expression. **Results** The brain tissue structure of the rats in the sham operation group was not abnormal; the brain tissue structure of the rats

in the CSVD group was abnormal, with severe lesions and irregular tissue structure in the hippocampus. The nerve tissue was massively necrotic, and the neurons were shrunken; the brain tissue structure was significantly improved in the G-CSF group after intervention ( $P < 0.05$ ). The results of TUNEL showed that compared with the sham operation group (21.34±4.43)%, the neuron apoptosis rate in the CSVD group (50.31±2.92)% increased ( $P < 0.05$ ), and the neuron apoptosis rate in the G-CSF group (30.90±8.10)% was significantly lower than that in the CSVD group ( $P < 0.05$ ). The microvascular structure was normal in the sham operation group, and the microvascular structure and endothelial cell damage in the CSVD group were significantly improved, while those in the G-CSF group were significantly improved compared with those in the CSVD group ( $P < 0.05$ ). Immunohistochemical results showed that the positive expression of NeuN in the CSVD group was (0.375±0.020)% significantly lower than that in the sham operation group (0.572±0.015)% ( $P < 0.05$ ), while the positive expression of NeuN in the G-CSF group (0.551±0.012)% was significantly higher than that in the CSVD group ( $P < 0.05$ ). The RT-PCR results showed that the expression levels of NeuN (0.11±0.04) mRNA and VEGF (0.76±0.31) mRNA in the CSVD group were lower than those in the sham operation group (0.48±0.13) mRNA and VEGF (1.45±0.21) mRNA ( $P < 0.05$ ); the expression levels of NeuN (0.32±0.11) and VEGF mRNA (1.31±0.26) in the G-CSF group were significantly higher than those in the CSVD group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** G-CSF can improve the morphology of microvascular endothelial cells in CSVD rats, promote the survival of neurons, reduce the occurrence of apoptosis, and effectively promote the positive expression of NeuN, thereby exerting a protective effect on the brain.

**Key words:** Cerebral small vessel diseases; Granulocyte colony-stimulating factor; Neuronal activity; Vascular ultrastructure; NeuN positive expression; Vascular endothelial growth factors

脑小血管病(CSVD)是由颅内小血管(包括小动脉、微动脉、毛细血管、小静脉和微静脉)发生病理改变而引起的一组疾病。CSVD的病理生理改变包括血管壁改变、血-脑脊液屏障功能受损、脑灌注下降、血管运动反应性降低、水肿、缺血、神经纤维脱髓鞘和小胶质增生等<sup>[1-2]</sup>。在影像学上,CSVD可表现为腔隙性脑梗死、脑白质病变及脑微出血。卒中、痴呆、老龄化被认为是最常见的CSVD发病危险因素,CSVD会对血管壁造成一定的损伤,在脑室周围有大量的血浆蛋白进入,血-脑屏障发生障碍,进而导致腔隙性脑梗死等疾病的发生<sup>[3]</sup>。和其他类型的脑卒中相比,CSVD所致的脑卒中虽然较轻,但长期的预后效果较其他类型的脑卒中相对较差。目前CSVD的发病率逐年增加,但治疗CSVD还没有更为有效的办法,因此治疗CSVD的有效方法是当今临床上研究的热点。粒细胞集落刺激因子(G-CSF)是一种调节骨髓粒系造血细胞的细胞因子,其造血功能在中枢神经系统内尤为重要,G-CSF及其受体在脑组织中大量存在<sup>[4-5]</sup>。有文献证实G-CSF对缺血再灌注损伤大鼠的脑组织具有一定的保护作用,其作用机制是通过对血管内皮增生修复的有效促进来实现<sup>[6]</sup>。神经元核抗原(NeuN)是一种特异性蛋白质,存在脊椎动物神经系统中,主要表达于神经与细胞核和细胞浆中<sup>[7]</sup>。有学者研究发现,NeuN存在人早期胚胎的中枢神经系统中,在神经元大部分NeuN呈高表达,少部分为低表达和阴性表达<sup>[8]</sup>。有关NeuN在CSVD中的分布未见报道,因此本研究于2020年1月至2021年1月探究G-CSF对CSVD大鼠神经元活性、血管超微结构和NeuN阳性表达的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 本实验所用大鼠均从北京斯贝福实验动物有限公司购买,许可证号SCXK(京)2016-0002。SD雄性大鼠40只,24周龄,清洁级,体质量范围为300~350 g。所有大鼠饲养在20~25 °C的环境中,相对湿度保持在50%~65%,保持环境相对安静,12 h光照昼夜交替,大鼠自由进食饮水。本研究符合一般动物实验伦理学原则。

**1.2 试剂和仪器** 本实验所有试剂和仪器分别为杭州九源基因工程有限公司生产的G-CSF注射液;美国Vector公司生产的小鼠抗大鼠NeuN单克隆抗体;武汉塞维尔生物科技有限公司生产的兔抗GAPDH抗体;艾比玛特德国LEICA公司生产的LEICA CRYCUT1800型冰冻切片机;日本奥林巴斯公司生产的FV1000型荧光显微镜;武汉博士德生物公司生产的免疫组织化学试剂盒和苏木精-伊红染色(HE染色)试剂盒。

**1.3 动物分组和CSVD模型的制备** 采用随机数字表法将40只大鼠分为假手术组10只和模型组大鼠30只。将模型组大鼠制备CSVD大鼠模型。制备自体血浆:采取大鼠左心室血液,将血液经80 °C高温干燥后研磨,在200 μm的筛孔中过滤,制备成栓子,在造模时将栓子和盐水混合为混悬液。麻醉大鼠后,大鼠仰卧位固定于手术台,剔除颈部毛发后消毒,在正中位置切一小口,将左侧颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉钝性分离后暴露在外,在颈总动脉的近心端用动脉夹暂时夹闭,把颈外动脉远心端的位置结扎,将制备好的栓子混悬液由颈外动脉逆近心端逆向推注0.3 mL。将颈总动脉处夹子打开,恢复颈部血流让栓子从颈内动脉通过,进入到大脑前

动脉、中动脉及大脑侧枝,将颈外动脉近心端结扎后缝合切口、消毒。造模成功标准:利用激光散斑成像技术检测假手术组和模型组脑血流量,模型组脑血流量较假手术组明显减少,表示造模成功<sup>[9]</sup>,同时记录大鼠死亡数量。在造模过程中模型组大鼠在手术过程中死亡6只,在术后有4只大鼠死亡,剩余20只造模成功。假手术组大鼠仅分离颈总、颈内和颈外动脉,不进行结扎,其余手术步骤同模型组相同。将20只CSVD造模成功大鼠平均分为CSVD模型组(CSVD组)和CSVD模型大鼠给予G-CSF干预治疗组(G-CSF组),每组10只。造模成功后,将G-CSF组大鼠经皮下注射G-CSF 50 μg/kg,1天1次;假手术组和CSVD组大鼠均经皮下注射等量的生理盐水干预,1天1次,三组大鼠均连续注射7 d。

**1.4 标本取材** 麻醉各组大鼠,将大鼠仰卧位固定手术台,打开胸腔将心脏充分暴露在外,将灌注针头经心尖缓慢插入到主动脉,止血钳夹紧后用生理盐水灌注,将大鼠右心耳剪开,发现流出的液体呈清凉时停止灌注;停止后将多聚甲醛注入,当发现大鼠的四肢变白、身体僵硬时断头处死大鼠,立即取出大鼠脑组织,分离额叶皮质脑组织用于电镜观察;剩下的脑组织用于HE染色、NeuN免疫组织化学染色及TUNEL染色。

**1.5 HE染色观察海马组织形态变化** 将三组大鼠分别麻醉致死,取出大鼠视交叉前后2 mm冠状切片组织块,将其固定于甲醛溶液中,用石蜡将组织包埋制成4 μm石蜡切片,对切片进行HE染色处理,用中性树胶对切片进行封片,显微镜下观察大鼠海马组织的病理学变化。

**1.6 TUNEL检测神经元细胞凋亡** 分别麻醉三组大鼠,断头处死后将大鼠的脑组织取出,用多聚甲醛将脑组织固定,经脱水、透明、包埋处理后,制成5 μm的冠状切面,实验操作均按照TUNEL试剂盒说明严格进行。细胞核中凋亡细胞为棕黄色,在显微镜下随机选取基底节不同区的3个视野,计算细胞的凋亡率。凋亡率=凋亡细胞数/细胞总数×100%。

**1.7 透射电镜观察微血管结构和内皮形态** 将额叶脑皮质制备成1 mm<sup>3</sup>的组织块,将组织固定后漂洗组织,经乙醇脱水、石蜡包埋后制成50~60 nm的薄片;用醋酸铀-枸橼酸铅双染色,用透射电镜对切片组织进行观察。

**1.8 免疫荧光染色检测NeuN表达水平** 分别麻醉三组大鼠,打开大鼠胸腔,将右心耳剪开后,将生理盐水从左心室缓慢灌注,当右心耳流出的液体为清凉时停止灌注,用250 mL多聚甲醛继续灌注,灌注后取出大鼠脑组织,将海马区进行冰冻并切片。对

切片进行高温抗原修复,常规画圈,把打孔液加入其中,15 min后用山羊血液进行封闭,1 h后将NeuN一抗加入,4 °C环境孵育过夜,对组织进行清洗,将山羊抗兔TgG二抗加入,在室温下孵育2 h,磷酸缓冲盐溶液(PBS)对组织再次清洗,用4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)对切片组织进行复染,15 min后用甘油将组织封边。每只大鼠各随机选取1张切片进行观察,对阳性细胞数计数。

**1.9 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测NeuN和VEGF mRNA表达** 分别麻醉三组大鼠,断头处死后将海马组织取出,用Trizol裂解液对总的RNA进行提取,用逆转录酶将mRNA逆转录为互补DNA(cDNA)。引物序列:NeuN正向引物:5'CACGGCATGACCCTCTACAC 3',反向引物:5'GTCTGTGCTGCTTCATCTGC 3';β肌动蛋白(β-actin)正向引物:5'GTCGTACCACTGGCATTGTG 3',反向引物:5'TCTCAGCTGTGGTGGTGAAG 3';VEGF正向引物:5'TGCCCTAATGCGGTGT3',反向引物:5'TGCTGGCTTTGGTGAGGTT3'。反应条件:预热94 °C 20 s,预热72 °C 30 s,共40个循环。通过2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算目的基因的相对表达水平。

**1.10 统计学方法** 采用SPSS 20.0软件进行统计。计量数据符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,多组间的两两比较采用SNK-*q*检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠海马组织病理学变化比较** 假手术组大鼠脑组织未见结构异常。CSVD组大鼠脑组织结果紊乱,海马区齿状回病灶严重,神经组织大量坏死,脑皮质神经元变小,尼氏小体大量消失;干预后的G-CSF组大鼠海马区较CSVD组大鼠有明显改善,神经组织坏死数量减少。见图1。

**2.2 各组大鼠神经元细胞凋亡率比较** 假手术组、CSVD组、G-CSF组细胞凋亡率分别为(21.34±4.43)%、(50.31±2.92)%、(30.90±8.10)%( $F=69.72, P<0.001$ )。与假手术组相比,CSVD组增多( $P<0.05$ ),G-CSF组明显低于CSVD组( $P<0.05$ )。见图2。

**2.3 额皮质区微血管内皮细胞形态学变化** 假手术组微血管没有明显异常;CSVD组可见血管管周结构溶解,血管内壁粗糙,血管基膜和基质之间的间隙增宽,细胞核大量固缩,线粒体内空泡严重;和CSVD组相比,G-CSF组大鼠脑组织微血管得到了明显改善,管周完整程度较CSVD组也改善明显,内皮细胞核固缩现象也明显减轻。见图3。

**2.4 各组NeuN阳性表达比较** 假手术组、CSVD组、G-CSF组海马组织中NeuN阳性细胞率分别为



图3 各组大鼠微血管内皮细胞形态情况(透射电镜 $\times 12\,000$ ):A为假手术组;B为脑小血管病(CSVD)组;C为粒细胞集落刺激因子(G-CSF)组

( $0.572\pm 0.015$ )%、( $0.375\pm 0.020$ )%、( $0.551\pm 0.012$ )% ( $F=456.60, P<0.001$ )。与假手术组相比较,CSVD组明显降低( $P<0.05$ );G-CSF组明显高于CSVD组( $P<0.05$ )。见图4。

**2.5 各组大鼠 NeuN 和 VEGF mRNA 表达水平比较** 与假手术组相比,CSVD组大鼠海马齿状回 NeuN 和 VEGF mRNA 表达降低( $P<0.05$ );与 CSVD 组相比,干预后的 G-CSF 组大鼠 NeuN 和 VEGF mRNA 表明明显升高( $P<0.05$ )。见表1。

表1 各组大鼠 NeuN 和 VEGF mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	NeuN mRNA	VEGF mRNA
假手术组	10	$0.48\pm 0.13$	$1.45\pm 0.21$
CSVD组	10	$0.11\pm 0.04$ <sup>①</sup>	$0.76\pm 0.31$ <sup>①</sup>
G-CSF组	10	$0.32\pm 0.11$ <sup>①②</sup>	$1.31\pm 0.26$ <sup>①②</sup>
F值		33.76	19.21
P值		<0.001	<0.001

注:NeuN为神经元核抗原,VEGF为血管内皮生长因子。

①与假手术组相比, $P<0.05$ 。②与CSVD组相比, $P<0.05$ 。

### 3 讨论

CSVD主要累及直径为30~800  $\mu\text{m}$ 没有侧肢吻合的解剖终末动脉,包括颅内小动脉、微动脉、小静脉和毛细血管等,占全部缺血性脑卒中病因的25%~30%,有供血区域主要在脑深部白质及脑干,80岁以上的老年人脑白质信号基本都高,其中脑微出血发病率占36%以上<sup>[9]</sup>。CSVD的发病相对隐蔽,在临床上以缺血性/出血性卒中、认知功能障碍等症状为主,但其具体的发病机制目前还不是十分明确,因此对CSVD的早期预防和治疗是未来临床研究的主要方向,也能为临床治疗提供可靠依据。有研究发现,CSVD发病率主要集中于老年人,其发生发展极有可能有外周血内皮细胞的参与<sup>[10]</sup>。文献研究显示,脑小血管内皮损伤介导CSVD的发病,CSVD的早期病理生理变化很可能是脑小血管内皮损伤<sup>[11]</sup>。因此,促进脑小血管内皮细胞修复新生以减轻脑血管损伤可能是治疗CSVD的途径之一。

G-CSF是一种刺激髓系造血细胞增殖、分化的生长因子,在临床上广泛应用,主要常用于中性粒细胞减少症<sup>[12]</sup>。研究证实,G-CSF会透过血-脑屏障

和其受体相结合而发生系列作用,例如动员造血干细胞、抗细胞凋亡、抗炎等<sup>[13]</sup>。近年来发现国内外已经应用G-CSF治疗多种神经损伤性疾病,目前已经进入I、II期临床试验阶段;另外,G-CSF在多种缺氧缺血性脑损伤新生动物模型中被证明在神经保护方面拥有巨大前景<sup>[14]</sup>。本研究采用同种系微栓子体外注入法制备CSVD大鼠模型,造模成功后CSVD组大鼠海马组织发生病理性改变,且大鼠的神经元细胞也出现了大量的凋亡,经过G-CSF干预后的G-CSF组和CSVD组相比,大鼠海马组织得到明显改善,神经元细胞凋亡也得到了明显抑制,可见G-CSF可有效改善CSVD大鼠海马组织的病理学改变及抑制神经元细胞的凋亡。肖云月等<sup>[15]</sup>研究发现,G-CSF可能通过增加VEGF表达水平,促进脑小血管内皮细胞修复,减少神经元凋亡,从而减轻原发性高血压大鼠CSVD损伤。

临床研究发现,G-CSF可激活血管内皮细胞,动员内皮祖细胞,对血管的新生进行促进,改善大脑中动脉闭塞;其还会和神经元和神经胶质细胞上的相应受体结合,刺激细胞内信号转导通路促进神经发生,进而对神经进行保护<sup>[16]</sup>。本研究发现,CSVD组大鼠微血管损伤严重,给予G-CSF后血管内皮损伤和血管周围水肿明显减轻,进而证实了G-CSF对血管内皮能进行有效地保护。何晓英等<sup>[17]</sup>通过动物实验研究发现,G-CSF可上调ICH后VEGF表达,增加血肿周围新生血管生成,改善神经功能。NeuN是一种可溶性核蛋白,在体外能与DNA结合,识别神经元特异的核蛋白单克隆抗体的产生,已成为中枢神经系统成熟神经元的常用标志物,在大鼠大部分神经元有明显的表达<sup>[18]</sup>。VEGF是一种高度特异性的促血管内皮细胞生长因子,可促进血管内皮细胞迁移、增殖及血管形成。本研究发现CSVD组大鼠中NeuN和VEGF mRNA表达降低,G-CSF干预后大鼠的NeuN和VEGF mRNA表达得到了明显回升,进而推测G-CSF通过提高NeuN和VEGF表达发挥神经保护作用。有研究证实,G-CSF能增强脑组织中VEGF表达,从而发挥脑组织的保护作用<sup>[19]</sup>。

综上所述,G-CSF可促进内皮细胞增生修复、促

进神经元存活而减少凋亡发生,同时有效促进NeuN的阳性表达,进而发挥脑保护作用。

(本文图1,2,4见插图9-3)

### 参考文献

[1] LI Q, YANG Y, REIS C, et al. Cerebral small vessel disease[J]. Cell Transplant, 2018, 27(12): 1711-1722.

[2] SU JB, XI SD, ZHOU SY, et al. Microstructural damage pattern of vascular cognitive impairment: a comparison between moyamoya disease and cerebrovascular atherosclerotic disease[J]. Neural Regen Res, 2019, 14(5):858-867.

[3] 郑浩涛,王建军,赖雯雯,等.脑小血管病致认知障碍的中医辨析及脑髓康治疗作用探讨[J].新中医,2018,50(7):220-222.

[4] MICALLEF IN, STIFF PJ, NADEMANEE AP, et al. Plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor for patients with Non-Hodgkin lymphoma and multiple myeloma: long-term follow-up report [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2018, 24(6): 1187-1195.

[5] SHIMAMOTO H, HIROTA Y, KASHIMA Y, et al. Granulocyte colony-stimulating factor-producing squamous cell carcinoma of the tongue exhibiting characteristic fluorine-18 deoxyglucose accumulation on positron emission tomography-computed tomography: a case report [J]. World J Clin Cases, 2020, 8(9): 1666-1673.

[6] 全中平. G-CSF对外伤性颅脑损伤患者神经功能的保护作用[J].西南国防医药, 2016, 26(12):1451-1453.

[7] 刘学红,张泳,陈健尔.神经元核心抗原和神经元特异性烯醇化酶在人胚胎脊髓发育阶段的表达[J].解剖学报, 2013, 44(5):694-698.

[8] 陈宏,梁艳,金颖莉,等.褪黑素对精神分裂症模型大鼠海马神经元氧化应激损伤的保护作用[J].温州医科大学学报, 2020, 50(3):227-231.

[9] 王茹,刘楠,赵弘轶,等.有氧运动对脑小血管病大鼠血脑屏障

损伤的改善作用[J].中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(5): 417-421.

[10] 王欢,吴云,梁庆成.脑小血管病研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(8):990-993.

[11] 刘国荣,潘晓华,刘秀珍,等.炎症小体NLRP3相关炎症因子IL-1 $\beta$ ,IL-18与脑小血管病相关性研究[J].脑与神经疾病杂志, 2019, 27(3):153-157.

[12] MODI J, MENZIE-SUDERAM J, XU H, et al. Mode of action of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) as a novel therapy for stroke in a mouse model[J]. J Biomed Sci, 2020, 27(1): 19.

[13] ZHANG L, XU WH, FU XH, et al. Therapeutic role of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) for infertile women under in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) treatment: a meta-analysis[J]. Arch Gynecol Obstet, 2018, 298(5): 861-871.

[14] XU X, ASAI K, KATO D, et al. Honey isomaltose contributes to the induction of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) secretion in the intestinal epithelial cells following honey heating [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 15178.

[15] 肖云月,徐艳,魏欣,等.粒细胞集落刺激因子对脑小血管病大鼠神经保护机制的研究[J].中国临床神经科学, 2016, 24(1):1-6.

[16] 白丽萍,赵志红,陈冲,等.正常成人粒细胞集落刺激因子动员外周血内皮祖细胞的生物学特性[J].中国组织工程研究, 2014, 18(32):5190-5196.

[17] 何晓英,付华,刘永刚,等. G-CSF对脑出血大鼠血肿周围血管新生的作用机制研究[J].中风与神经疾病杂志, 2014, 31(7):590-593.

[18] 陈潞婷,彭姣姣,黄晓琳,等.电针通过调控NGF/TrkA信号通路改善脑缺血大鼠学习记忆障碍的研究[J].中国康复医学杂志, 2020, 35(2):129-134.

[19] 陈向东,王东. G-CSF对大鼠脑缺血再灌注模型脑组织内VEGF表达的影响及脑保护作用[J].内蒙古医学杂志, 2011, 43(5):535-538.

(收稿日期:2021-01-14,修回日期:2021-02-25)

引用本文:梅娟,马新义,张金莲,等.乳腺癌组织中基质金属蛋白酶-2、基质金属蛋白酶-9表达与人乳头状瘤病毒16/18感染的关系及其临床病理意义[J].安徽医药, 2022, 26(9): 1794-1798. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.09.023.



◇临床医学◇

## 乳腺癌组织中基质金属蛋白酶-2、基质金属蛋白酶-9表达与人乳头状瘤病毒16/18感染的关系及其临床病理意义

梅娟<sup>1</sup>,马新义<sup>2</sup>,张金莲<sup>1</sup>,张正<sup>1</sup>

作者单位:<sup>1</sup>蚌埠医学院第二附属医院病理科,安徽 蚌埠 233000;

<sup>2</sup>杭州迪安医学检验中心有限公司病理实验室,浙江 杭州 310030

**摘要:** 目的 探讨乳腺癌组织中基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)表达与人乳头状瘤病毒(HPV)16/18感染的关系及其临床病理意义。方法 回顾性选取2015年3月至2018年5月蚌埠医学院第二附属医院收治的90例乳腺癌病人乳腺癌组织为研究对象(乳腺癌组),同时选取同期该院85例良性乳腺疾病切除病变周围正常乳腺组织作为对照(对照组)。实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测组织中MMP-2、MMP-9 mRNA表达水平;免疫组织化学法检测组织中