

文章编号 1006-8147(2017)01-0021-06

论 著

HES1 在小梁网细胞中作用的初步研究

徐琳琪, 齐 艳, 郭如如, 汪建涛

(天津医科大学眼科医院青光眼科, 天津 300384)

摘要 目的:利用慢病毒包装系统使人眼小梁网细胞(HTMCs)稳定表达 HES1 shRNA 并初步探索 HES1 在 HTMCs 中的作用。方法:体外培养 HTMCs 和 HEK293FT 细胞并进行传代,同时应用 pLKO.1-puro shRNA 慢病毒载体构建 HES1 shRNA 质粒。Lipofectamine 2000 慢病毒包装法感染原代 HTMCs,使其稳定表达 HES1shRNA/Scramble 质粒。采用 q-PCR 和 Western blot 方法检测 HES1shRNA 的敲低效果及促纤维化细胞外基质蛋白(ECM)的表达变化;HTMCs 增殖和迁移能力分别通过 CCK-8 细胞活性分析和 Transwell 计数实验进行分析。**结果:**原代细胞经过培养后贴壁生长,呈长梭形,生长状态良好,形态符合 HTMCs 形态学特征。HES1 shRNA 有效下调 HES1 的 mRNA 和蛋白水平表达($P<0.05$)。同时,HES1 shRNA 组促纤维化 ECM(FN;COL1; α -SMA)的 mRNA 和蛋白表达水平较 Scramble 组显著降低($P<0.05$)。而 Transwell 计数实验显示 HES1 shRNA 组 HTMCs 的迁移数量较 Scramble 组增加($P<0.05$);CCK-8 细胞活性分析实验表明抑制 HES1 表达对 HTMCs 的增殖活性影响不大,差异不具有统计学意义($P>0.05$)。**结论:**成功建立了稳定表达 HES1 shRNA 的 HTMCs 细胞株。HES1 可以影响 HTMCs 中促纤维 ECM 的生成及 HTMCs 的增殖和迁移能力。

关键词 HES1;细胞外基质;小梁网;细胞迁移;细胞增殖

中图分类号 R775

文献标志码 A

Preliminary study on the role of HES1 in human trabecular meshwork cells

XU Lin-qi, QI Yan, GUO Ru-ru, WANG Jian-tao

(Department of Glaucoma, Eye Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300384, China)

Abstract Objective: To establish human trabecular meshwork cells (HTMCs) cell line with stable HES1 shRNA expression and explore the role of Hairy and enhancer of split-1(HES1) in HTMCs. **Methods:** Primary HTMCs and HEK293FT were cultured and passaged *in vitro*, and infected with HES1shRNA/Scramble lentivirus. The effects of HES1 knockdown on HES1 and profibrotic extracellular matrix (ECM) expression were analyzed through q-PCR and Western blot. Transwell and CCK-8 counting assay were used to examine the ability of migration and proliferation HTMCs. **Results:** The cultured primary HTMCs were in a fibrocyte-like form with long fusiform shape and grew well. HTMCs infected with HES1 shRNA exhibited a significant decrease in HES1 and profibrotic ECM (fibronectin, FN; collagen I, COL1; α -smooth muscle actin, α -SMA) expression. HES1 shRNA treatment also increased HTMCs migration and proliferation. **Conclusion:** HTMCs with stable HES1 shRNA expression can be successfully built. And HES1 could affect ECM expression and cellular functions in HTMCs.

Key words HES1; extracellular matrix; trabecular meshwork; migration; proliferation

青光眼是一类多因素、伴进行性视力丢失和视野缺损的不可逆性视神经致盲眼病^[1]。目前全球青光眼患者约为 7 000 万人^[2],到 2040 年将达到 11 180 万人^[3]。病理性眼压升高被认为是导致青光眼疾病发病过程中的一个重要危险因素,主要原因是眼内房水排出受阻所致^[4]。人眼 80% 的房水引流是从前房穿过小梁网间隙进入巩膜静脉窦,而房水引流的主要部位在小梁网,因此小梁网病变或发生阻塞,房水排出就会受到影响^[5]。HES1 是一类碱性-螺旋-环-

螺旋转录抑制因子,在肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭转移等病理过程起调控作用^[6]。HES1 还是 Notch 信号通路的主要靶基因之一,参与调节各种细胞类型的命运和分化^[7-8]。大量研究表明,HES1 在眼部组织的发育和疾病的发生发展过程起重要作用。HES1 的高表达可以维持角膜上皮干细胞和祖细胞处于未分化状态^[9];而在晶状体、色素上皮、视泡和视杯的发育阶段,HES1 对于促进这些组织形态的发生和分化必不可少^[10];HES1 的激活还参与角膜上皮创伤反应^[11]和视网膜色素上皮细胞的异常增殖和迁移过程^[12]。但 HES1 在小梁网组织中的研究则鲜有报道,因此,我们成功建立了稳定表达 HES1 shRNA 的人眼小梁网细胞 (human trabecular meshwork cells, HTMCs)

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81270994),天津市科技计划项目基金资助(10ZCKFSY08400)

作者简介 徐琳琪(1991-),女,硕士在读,研究方向:眼视光学,青光眼;通信作者:汪建涛,E-mail:wangjiantao65@126.com。

细胞株,并通过敲低 HTMCs 中 HES1 的表达,检测细胞外基质蛋白、HTMCs 增殖和迁移的变化,初步明确 HES1 在 HTMCs 中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 原代人眼小梁网细胞、胎牛血清、青霉素/链霉素、成纤维细胞生长因子(美国 Sciencell 实验室),抗兔 HES1 抗体、抗鼠 FN 抗体、抗兔 COL1 抗体(美国 Abcam 公司),抗鼠 α -SMA 抗体(瑞士 Sigma-Aldrich 公司),PVDF 膜、化学发光液(美国 Millipore 公司),慢病毒载体 pLKO.1-puro shRNA、pLKO.1-Scramble 质粒(美国 Addgene 公司),puromycin(美国 Gibco 公司),Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司),反转录试剂盒、2xSYBRGreen Mix(瑞士 Roche 公司),CCK-8 试剂(日本 DOJINNO 公司),Transwell 小室(美国 Corning 公司),Lipofectamine 2000(美国 Invitrogen 公司),opti-MEM 培养基(美国 Gibco 公司),HEK293FT 细胞、psPAX2 质粒、psVSVG 质粒、GFP 质粒均来自天津医科大学尹海芳教授实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养与实验分组 将 HTMCs 和 HEK293FT 细胞接种于 T25 细胞培养瓶中,接种前用 0.1% Gelatin 凝胶润洗瓶底,再加入含 10% 的胎牛血清 DMEM 培养基,将培养瓶置于 37 °C 含 5% CO₂ 的细胞孵箱中培养。本实验分为两组:Scramble 组和 HES1 shRNA 组。

1.2.2 HES1shRNA 质粒构建及慢病毒包装 (1) HES1shRNA 质粒构建:在 Thermo Fisher Scientific 网站上应用 BLOCK-iTTM RNAi Designer 设计出 HES1 干扰序列:GAGCACAGAAAGTCATCAAAG。加入相应茎环结构和酶切位点,并在北京华大基因合成 HES1 shRNA 的核苷酸序列。以 pLKO.1-puro shRNA vector 为载体进行 AgeI/EcoR1 双酶切,琼脂糖凝胶电泳跑胶并进行相应载体片段回收。将 HES1 shRNA 核苷酸序列与胶回收后的 pLKO.1 vector 相连接、再转化、测序鉴定,最后成功构建出 HES1 shRNA 质粒。应用 QIAGEN 大提试剂盒提取质粒。(2)慢病毒包装及感染:采用三质粒慢病毒包装系统,包装体系如下:HES1 shRNA/Scramble 质粒/GFP 质粒(2 μ g)、psPAX2 质粒(1.5 μ g)、psVSVG 质粒(0.5 μ g)、opti-MEM 培养基 1 mL 以及 Lipofectamine 2000 转染试剂 10 μ L,混合均匀并室温静置 20 min。将混好的包装体系加入到已经接种好 1×10^6 个 293FT 细胞的 6 孔板每孔中,每个孔再补充 1 mL opti-MEM 培养基。6 h 后吸出包装体系

液体,并更换新鲜培养基。以第一次转染时间为准,48 h 后收集 HEK293FT 培养基。此时培养基颜色大多呈金黄色,1 500 r/min 4 °C 离心 10 min,即可直接用于 HTMCs 病毒感染。

1.2.3 细胞感染和稳定细胞系筛选 用 3 个 6 孔板孔产生的 HES1 shRNA/Scramble 病毒感染 2×10^5 个 HTMCs,以同时产生的 GFP 病毒感染 HEK293FT 细胞为对照。感染时加 0.1% polybrene,12 h 后更换新鲜培养基。以感染时间为准,48 h 后倒置荧光显微镜观察 HEK293FT 中 GFP 蛋白的表达,若呈阳性,则进行感染 HES1 shRNA/Scramble 病毒后 HTMCs 的 puromycin 抗性筛选(2 μ g/mL)。待未转染病毒的对照 HTMCs 死亡率达 80% 以上,停止筛选,时间约为 2~3 d,此时留下来的即为稳定表达 HES1 shRNA/Scramble 质粒的 HTMCs。

1.2.4 Real-time PCR 检测 HES1 及细胞外基质蛋白基因表达变化 参考 Trizol 试剂说明书进行 HTMCs 总 RNA 的提取,并按照反转录试剂盒要求,进而相应 RNA 反转录。应用美国 ABI 公司的 7500Fast Real-time PCR 仪器,按照 2xSYBRGreenMix 说明书进行 Real-time PCR 反应。反应条件:95 °C 变性 15 s,60 °C 退火和延伸 1 min;扩增后,以 GAPDH 为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析所得数据。 ΔCt =目的 Ct-内参 Ct, $\Delta\Delta Ct$ =目的 ΔCt -对照 ΔCt 。引物设计如下:GAPDH 上游引物:5'-CGAGATCCCTC CAAAATCAA-3',下游引物:5'-GTCCTTCTGGGTGG CAGTGAT-3';FN 上游引物:5'-GAGAATAAGCTGT ACCATCGCAA-3',下游引物:5'-CGACCACATAGG AAGTCCCAG-3';COL1 上游引物:5'-ATCAACCGG AGGAATTTCCGT-3',COL1 下游引物:5'-CACCAGG ACACCAGGTTTTTC-3'; α -SMA 上游引物:5'-ACC CAGCACCATGAAGATCA-3', α -SMA 下游引物:5'-AGAGACAGAGAGGAGCAGGA-3';HES1 上游引物:5'-TCAACACGACACCGGATAAA-3',HES1 下游引物:5'-CCGCGAGCTATCTTTCTTCA-3'。

1.2.5 Western blot 方法检测 HES1 及细胞外基质蛋白表达变化 将经过 puromycin 抗性筛选后已经稳定表达 Scramble/HES1 shRNA 的 HTMCs 进行培养,3~5 d 收细胞提取总蛋白,Bradford 法测定蛋白浓度,并置于-80 °C超低温冰箱保存。将两组蛋白调整好浓度,制备样品进行 SDS 凝胶电泳实验,待蛋白跑到所需位置后停止电泳,300 mA 恒流转膜 3 h,用脱脂牛奶配制的封闭液进行室温封闭 1 h。加入 HES1 抗体、FN 抗体、COL1 抗体、 α -SMA 抗体过夜孵育后,PBST 室温洗 3 次,每次 10 min。4 °C 孵育

二抗 2 h, PBST 洗 3 次, 每次 15 min。最后进行暗室化学发光, 胶片曝光。

1.2.6 细胞迁移实验 将经过 puromycin 抗性筛选后已经稳定表达 Scramble/HES1 shRNA 的 HTMCs 分别进行消化, 并用台盼蓝染色计数。用无血清培养基以 1.5×10^5 个细胞接种于 Transwell 小室上室内, 下室加 100% FBS, 37 °C 细胞培养箱 10 h。吸出小室和 24 孔板内液体, 用棉签将小室上表面的细胞轻轻擦掉。用 4% 多聚甲醛固定 Transwell 小室下表面细胞 15 min, DPBS 洗 3 次。0.1% 结晶紫染色液 (0.9% NaCl 稀释) 染色 25 min。DPBS 洗 3 次。将小室晾干, 用无菌尖刀片将小室表面切下, 进行中性树胶封片。倒置显微镜拍照计数: 随机选取 6~8 个视野。

1.2.7 细胞增殖实验 将经过 puromycin 抗性筛选后已经稳定表达 Scramble/HES1 shRNA 的 HTMCs 分别进行消化, 并用台盼蓝染色计数。用新鲜培养基以 5×10^3 个 HTMCs 接种到 96 孔板每孔, 每组 4~6 个复孔, 37 °C 培养箱分别培养 24 h 和 48 h 后, 每孔加 10 μ L CCK-8 试剂和 100 μ L 新鲜培养基混合液共 110 μ L, 37 °C 孵箱培养 2 h。密封 96 孔板, 酶标仪测各孔 OD 值并根据公式: 细胞生存率 (%) = (A 实验组 - A 空白组) / (A 对照组 - A 空白组), 进行计算。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计分析。数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 行独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人小梁网细胞形态学特点 倒置显微镜观察, 镜下可见 HTMCs 贴壁生长, 呈长梭形, 生长状态良好, 形态符合小梁网细胞形态特征。3 d 后可见培养瓶爬满梭形细胞, 传代后可见细胞均匀贴壁生长。培养至第 3 代, 可见 HTMCs 生长状态及形态稳定 (图 1)。

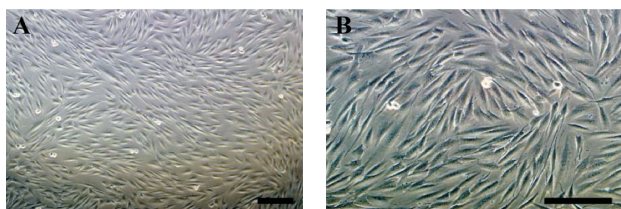
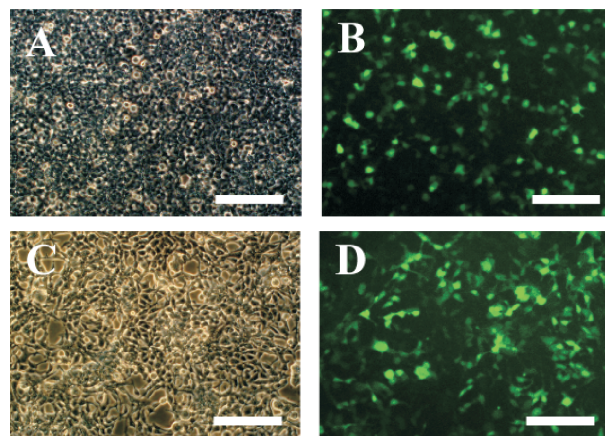


图 1 原代小梁网细胞形态学观察 (A: $\times 100$; B: $\times 200$)

Fig 1 Images of the culture of primary HTMCs (A: $\times 100$; B: $\times 200$)

2.2 慢病毒包装体系的有效性鉴定 应用 Lipofectamine 2000 病毒包装法包装 HES1 shRNA/Scramble 病毒时, 以 GFP 病毒为阳性对照, 验证整个病毒包装体系和包装过程的有效性。Lipofectamine 2000 慢病毒包装法将 GFP 质粒转染到

HEK293FT 细胞 (图 2A) 24 h 后, 荧光显微镜可观察到 293FT 细胞中 GFP 表达阳性 (图 2B), 说明转染成功, 病毒包装试剂无问题。在使用 HES1 shRNA/Scramble 病毒颗粒感染 HTMCs 的同时, 用同一批产生的 GFP 病毒平行感染正常的 HEK293FT 细胞, 48 h 后荧光倒置显微镜观察可见 HEK293FT 细胞 (图 2C) 中 GFP 表达阳性 (图 2D), 实验结果显示 GFP 蛋白成功整合到 HEK293FT 细胞, 说明慢病毒包装操作过程及辅助质粒 psPAX2 和 psVSVG 均无问题, 此时即可用 2 μ g/mL puromycin 筛选平行感染了 HES1 shRNA/Scramble 病毒的 HTMCs。



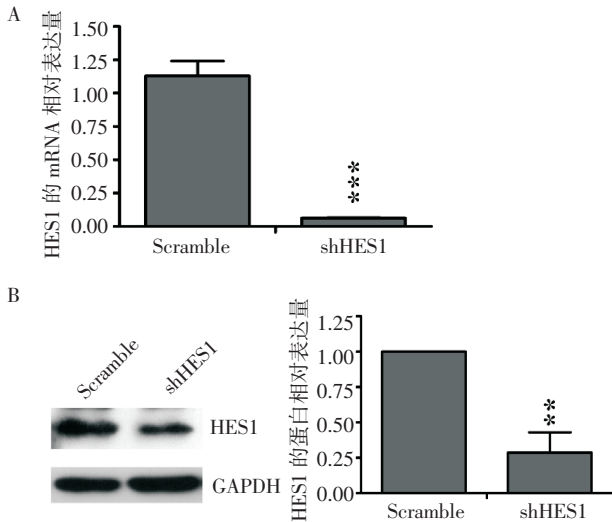
A. Lipofectamine 2000 转染过的 HEK293FT 细胞; B. Lipofectamine 2000 转染 HEK293FT 细胞后, GFP 表达阳性; C. GFP 病毒感染过的 HEK293FT 细胞; D. GFP 病毒感染 HEK293FT 细胞后, 细胞中 GFP 表达阳性

图 2 应用表达 GFP 的质粒验证慢病毒系统的有效性 ($\times 200$)

Fig 2 Identify the lentivirus packaging and transfection system by using plasmid expressing GFP ($\times 200$)

2.3 HES1 shRNA 敲低效果鉴定 感染 Scramble/HES1 shRNA 病毒并经过 puromycin 抗性筛选后, q-PCR 检测 HTMCs 中 HES1 的基因表达变化, 结果显示, HTMCs 中 HES1 基因表达相对量为 0.063 ± 0.004 , 较 Scramble 组显著下调 (图 3A); Western blot 检测结果进一步说明 HES1 shRNA 组 HES1 蛋白水平较 Scramble 组也呈显著降低 (图 3B), 为 0.287 ± 0.144 , 具有统计学差异。说明 HES1 shRNA 质粒构建成功, 且敲低效果明显。

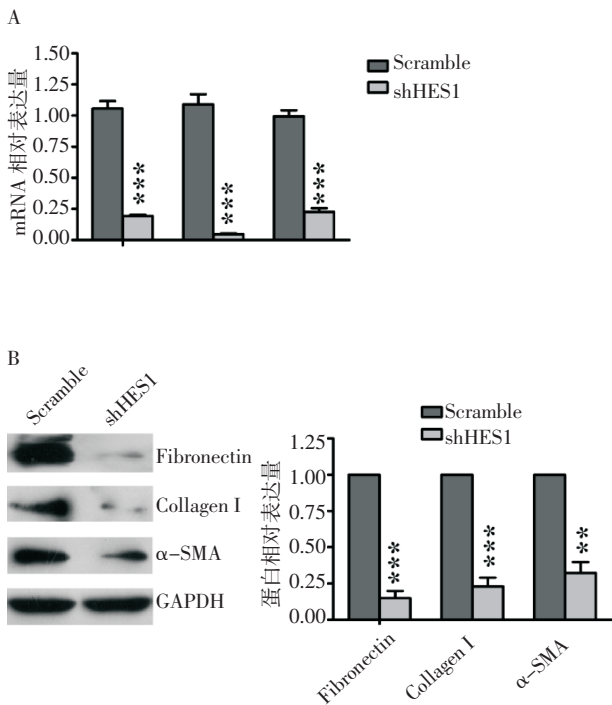
2.4 HES1 shRNA 对 HTMCs 细胞外基质蛋白的影响 q-PCR 结果显示, HES1 shRNA 组促纤维化 ECM 的基因相对表达量为 0.225 ± 0.03 、 0.194 ± 0.008 、 0.047 ± 0.007 4, 较 Scramble 组呈明显下调趋势 (图 4A); 同时 Western blot 结果显示, HES1 shRNA 对细胞外基质蛋白表达也具有抑制作用 (图 4B), 下调水平分别为 0.15 ± 0.05 、 0.23 ± 0.061 、 0.323 ± 0.075 , 均具有显著统计学差异。



A. 转染 Scramble/HES1 shRNA lentivirus 后, HES1 mRNA 表达变化;
B. 转染 Scramble/HES1 shRNA lentivirus 后, HES1 蛋白表达变化
** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

图 3 HES1 shRNA 敲低效果检测

Fig 3 The effects of HES1 shRNA treatment on HES1 in HTMCs



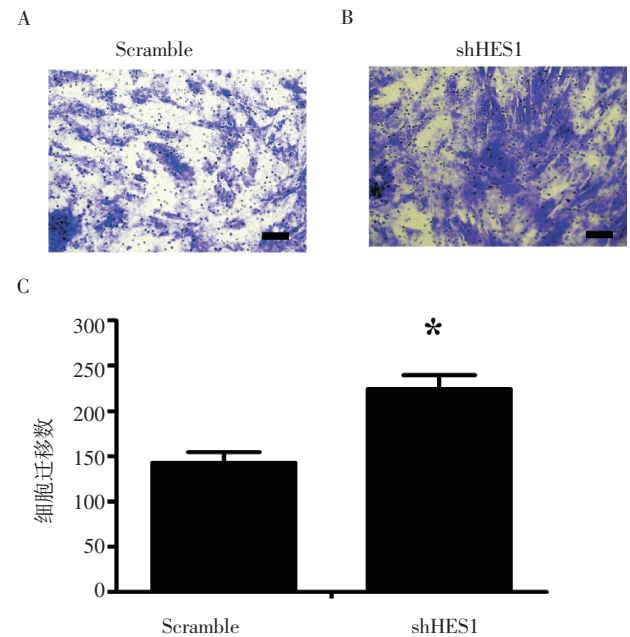
A. 转染 Scramble/HES1 shRNA lentivirus 后, 促纤维化 ECM mRNA 表达变化; B. 转染 Scramble/HES1 shRNA lentivirus 后, 促纤维化 ECM 蛋白表达变化
** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

图 4 抑制 HES1 表达可有效减少 HTMCs 中促纤维化 ECM 的生成

Fig 4 HES1 knockdown decreases the profibrotic ECM expression in HTMCs

2.5 HES1 shRNA 对 HTMCs 迁移能力的影响 感染 Scramble/HES1 shRNA 病毒并经过 puromycin 抗性筛选后, Transwell 迁移计数结果显示, Scramble

组细胞迁移数为 143 ± 33 , 而 HES1 shRNA 组细胞迁移数明显增多, 为 224 ± 44 , 具有显著统计学差异, 说明沉默 HES1 表达可以提高 HTMCs 的迁移能力(图 5)。



A. Scramble 组 HTMCs 迁移细胞数; B. HES1 shRNA 组 HTMCs 迁移细胞数; C. 转染 Scramble/HES1 shRNA lentivirus 后, 两组 HTMCs 迁移细胞数比较
* $P < 0.05$

图 5 敲低 HES1 表达对 HTMCs 迁移能力的影响 ($\times 100$)

Fig 5 Effect of HES1 knockdown on cell migration in HTMCs ($\times 100$)

2.6 HES1 shRNA 对 HTMCs 增殖活性的影响 CCK-8 检测感染 Scramble/HES1 shRNA 病毒后 HTMCs 生长增殖活性的变化, 见图 6。其中 HES1 shRNA 组 HTMCs 增殖速度在培养 24 h 和 48 h 时生长较快, Scramble 组则相对缓慢, 两组整体数据比较差异并不具有统计学意义, 说明敲低 HES1 对 HTMCs 增殖活性无显著影响。

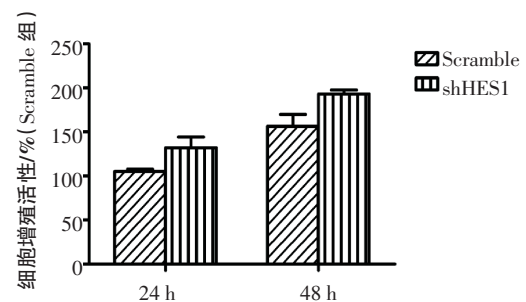


图 6 敲低 HES1 表达对 HTMCs 增殖活性的影响

Fig 6 The effect of HES1 knockdown on cell viability in HTMCs

3 讨论

在基因工程中, 良好的感染效率和基因表达稳定性, 使得慢病毒载体应用最为广泛。在前期实验

中,本课题组曾尝试使用 Lipofectamine 2000 法瞬时转染 HES1 siRNA,但转染过程中出现细胞大量死亡、HTMCs 数量需求大、实验样品收集困难等现象,且 siRNA 抑制效果不佳。因此,改用 shRNA 慢病毒载体构建 HES1 shRNA 质粒,通过 Lipofectamine 2000 慢病毒包装法包装慢病毒并感染 HTMCs。本研究结果发现,与瞬时转染法相比,HES1 shRNA/Scramble 慢病毒对 HTMCs 的损伤性较小,同时还节省了原代 HTMCs 的使用数量,提高了实验效率,使得 HES1 shRNA 干扰序列长期、稳定地整合到 HTMCs 基因组中,敲低效果良好,方便后续实验研究。

作为 Notch 信号通路发挥作用的靶基因之一,HES1 在 Notch 信号通路参与的 ECM 沉积导致的纤维化疾病过程中高表达已经被报道,如肾纤维化^[18]和肺纤维化疾病^[19],但 HES1 是否在该过程中起到作用鲜有研究。本研究发现,通过感染 HES1 shRNA 病毒进而特异性抑制 HES1 表达,可以有效减少促纤维化 ECM (FN、COL1 和 α -SMA) 的产生,说明 HES1 在 HTMCs 促纤维化 ECM 蛋白的产生过程中起到一个重要作用,提示 HES1 可能会参与 ECM 异常沉积的病理过程,但该假设有待进一步验证。小梁网中 ECM 的产生增多和沉积,会影响到小梁网微环境,并造成小梁网堵塞,进而增加房水流出阻力,导致眼内压升高,是目前研究的热点^[13-14]。而在 HTMCs 中,基因蛋白和信号通路调控 ECM 蛋白的产生已经被广泛研究,如经典的 TGF- β /smad 通路^[15]、Wnt 信号通路^[16]、Hic5 焦点粘附蛋白^[17],但是 ECM 异常沉积的原因仍有待进一步探索,而本实验结果为研究 HTMCs 中 ECM 异常沉积的可能作用机制提供了新思路。

HES1 在不同肿瘤细胞的增殖和转移过程中作用也不同:在结肠癌中,HES1 可以促进肿瘤细胞的增殖和转移能力进而导致患者预后不良^[20-21];而在急性骨髓性白血病细胞、类癌肿瘤细胞、成神经管细胞瘤和胶质母细胞瘤细胞中则发现 HES1 对增殖和迁移的抑制作用^[22-24]。在眼部角膜组织创伤过程中,抑制 Notch 信号可以减弱 HES1 的表达,并促进角膜上皮细胞的迁移和愈合,但对细胞增殖能力却无任何影响^[25]。我们研究同样发现,抑制 HES1 表达可以促进 HTMCs 的迁移,却不影响细胞的增殖活性,与报道一致,同时还便于后续实验操作,这也为研究 HES1 在青光眼细胞模型中的进一步作用提供了方向。

综上所述,本实验成功构建了 HES1 shRNA 质粒,使其在 HTMCs 中稳定表达,并初步研究 HES1

在 HTMCs 中的作用。本研究发现,HES1 可以调节 HTMCs 中促纤维化 ECM 蛋白的生成,HES1 的表达变化还可以影响 HTMCs 的增殖和迁移能力。本实验为进一步研究 HES1 在小梁网病变或阻塞的病理过程中的作用奠定了基础。

参考文献:

- [1] Musch D C, Gillespie B W, Lichter P R. Visual field progression in the collaborative initial glaucoma treatment study the impact of treatment and other baseline factors[J]. *Ophthalmology*, 2009, 116(2):200
- [2] Quigley H A, Broman A T. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020[J]. *Br J Ophthalmol*, 2006, 90(3):262
- [3] Tham Y C, Cheng C Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis[J]. *Ophthalmology*, 2015, 122(7):E41
- [4] Caprioli J, Coleman A L. Intraocular pressure fluctuation – A risk factor for visual field progression at low intraocular pressures in the advanced glaucoma intervention study[J]. *Ophthalmology*, 2008, 115(7):1123
- [5] Wiederholt M, Bielka S, Schweig F. Regulation of outflow rate and resistance in the perfused anterior segment of the bovine eye[J]. *Exp Eye Res*, 1995, 61(2):223
- [6] Iso T, Kedes L, Hamamori Y. HES and HERP families: multiple effectors of the Notch signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2003, 194(3):237
- [7] Lai E C. Notch signaling: control of cell communication and cell fate[J]. *Development*, 2004, 131(5):965
- [8] Kageyama R, Ohtsuka T, Kobayashi T. The Hes gene family: repressors and oscillators that orchestrate embryogenesis[J]. *Development*, 2007, 134(7):1243
- [9] Nakamura T, Ohtsuka T, Sekiyama E. Hes1 regulates corneal development and the function of corneal epithelial stem/progenitor cells[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(5):1265
- [10] Lee H Y, Wroblewski E, Philips G T. Multiple requirements for Hes1 during early eye formation[J]. *Dev Biol*, 2005, 284(2):464
- [11] Lu H, Lu Q, Zheng Y. Notch signaling promotes the corneal epithelium wound healing[J]. *Mol Vis*, 2012, 18:403
- [12] Liu W, Jin G, Long C. Blockage of Notch signaling inhibits the migration and proliferation of retinal pigment epithelial cells[J]. *Sci World J*, 2013, 2013:178
- [13] Hill L J, Mead B, Blanch R J. Decorin reduces intraocular pressure and retinal ganglion cell loss in rodents through fibrolysis of the scarred trabecular meshwork[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(6):3743
- [14] Vranka J A, Kelley M J, Acott T S. Extracellular matrix in the trabecular meshwork: intraocular pressure regulation and dysregulation in glaucoma[J]. *Exp Eye Res*, 2015, 133:112
- [15] Swaminathan S S, Oh D J, Kang M H. TGF- β 2-mediated ocular hypertension is attenuated in SPARC-null mice[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(7):4084
- [16] Villarreal G Jr, Chatterjee A, Oh S S. Canonical wnt signaling regulates extracellular matrix expression in the trabecular meshwork[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(11):7433

- [17] Pattabiraman P P, Rao P V. Hic-5 regulates actin cytoskeletal reorganization and expression of fibrogenic markers and myocilin in trabecular meshwork cells[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(9): 5656
- [18] Xiao Z, Zhang J, Peng X. The Notch gamma-secretase inhibitor ameliorates kidney fibrosis via inhibition of TGF-beta/Smad2/3 signaling pathway activation[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2014, 55:65
- [19] Plantier L, Crestani B, Wert S E, et al. Ectopic respiratory epithelial cell differentiation in bronchiolised distal airspaces in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Thorax, 2011, 66(8):651
- [20] Yuan R, Ke J, Sun L. HES1 promotes metastasis and predicts poor survival in patients with colorectal cancer[J]. Clin Exp Metastasis, 2015, 32(2):169
- [21] Gao F, Huang W, Zhang Y Q. Hes1 promotes cell proliferation and migration by activating Bmi-1 and PTEN/Akt/GSK3 beta pathway in human colon cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(36):38667
- [22] Tian C, You M J, Yu Y. MicroRNA-9 promotes proliferation of leukemia cells in adult CD34-positive acute myeloid leukemia with normal karyotype by downregulation of Hes1[J]. Tumour Biol, 2015, 37(6):7461
- [23] Tian C, Yu Y, Jia Y. HES1 activation suppresses proliferation of leukemia cells in acute myeloid leukemia[J]. Ann Hematol, 2015, 94(9):1477
- [24] Kunnimalaiyaan M, Yan S, Wong F. Hairy Enhancer of Split-1 (HES-1) a Notch1 effector, inhibits the growth of carcinoid tumor cells[J]. Surgery, 2005, 138(6):1137
- [25] Movahedan A, Majidi M, Afsharkhamseh N. Notch inhibition during corneal epithelial wound healing promotes migration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(12):7476

(2016-05-03 收稿)

文章编号 1006-8147(2017)01-0026-02

个例报道

肾脏混合性上皮间质瘤超声造影表现 1 例

田晶,徐娜,王岳芝,张晖

(天津医科大学第二医院超声科,天津 300211)

关键词 肾脏;混合性上皮间质瘤;超声造影

中图分类号 R445.1

文献标志码 B

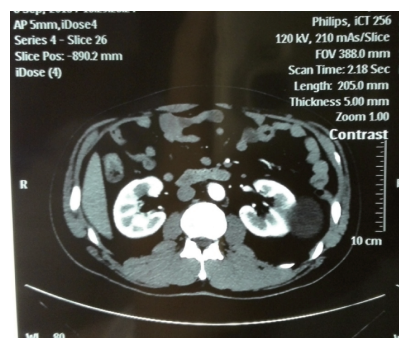
近年,超声造影在肝脏以外的应用领域越来越广泛。由于超声造影血流显示的高敏感性及非角度依赖性,在检查肾脏较小的少血供病灶血流方面,超声造影明显优于多普勒技术,甚至优于增强CT。因此超声造影对肾脏复杂性囊肿的鉴别诊断具有重要的临床应用价值。本文报道肾脏混合性上皮间质瘤(mixed epithelial stromal tumor of the kidney, MESTK)超声造影表现 1 例。

1 病例简介

患者男,53岁,体检发现左肾囊肿1月。自述平时无背部疼痛,无尿频、尿急、尿痛及肉眼血尿。否认激素类药物长期应用史。外院超声示:左肾中外侧可见囊肿,大小75 mm×64 mm,边界清楚,凸向肾外生长,与肾窦相邻处囊肿内可见分隔形成,分隔较局限,累及范围约65 mm×28 mm,整个囊肿内未见血流信号。另左肾下极可见小囊肿,大小为10 mm。

作者简介 田晶(1977-),女,副主任医师,博士,研究方向:超声在泌尿系统中的应用;E-mail: 13821777622@163.com。

诊断:左肾多发囊肿,最大者位于左肾中上外侧(部分区域含分隔)。外院肾脏CT平扫+增强示:左肾实质内可见多发无强化低密度影,最大72 mm×60 mm(图1)。CT诊断:左肾多发囊肿。



左肾囊肿动脉期未被强化

图1 强化CT

患者为进一步诊治就诊于我院。复查常规超声显示:左肾中上部可见70 mm×63 mm无回声区,向