doi:10.11659/jjssx.11E017018

·基础研究·

骨母细胞特异性因子2介导间充质干细胞调控瘢痕疙瘩样瘤体生长的研究

任章霞[1],李 凡[1],杨惠嘉[1],王雪莉[2],陈 卓[2],王珍祥[2] (1.四川大学华西广安医院烧伤整形科,四川 广安 638001;2.陆军军医大学第一附属医院整形美容外科,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 探讨骨母细胞特异性因子2(Periostin)调控瘢痕疙瘩间充质干细胞(KMLSCs)对体外及裸鼠体内瘢痕疙瘩样瘤体生长的影响。**方法** 从瘢痕疙瘩中分离培养KMLSCs,设置实验Periostin干扰组、空载体组和未转染组,根据干预目的构建Periostin慢病毒载体并转染对应组细胞。利用Western Blot技术体外检测各组细胞Periostin、α平滑肌肌动蛋白(α-SMA)和血管内皮生长因子(VEGF)的表达情况;制备丝素蛋白-壳聚糖支架复合体,与细胞共培养后,扫描电镜观察支架的结构、KMLSCs的生长情况。建立裸鼠皮下瘢痕疙瘩样瘤体移植模型,移植8周后取出瘤体,测量3组肿瘤体积,通过荧光共聚焦技术检测各组组织中Periostin、α-SMA、VEGF以及Western Blot技术评估Erk的表达情况。**结果** 体外培养的3组KMLSCs中Periostin在空载体组和未转染组有表达,而干扰组则表达微弱;同时3组细胞均不表达α-SMA和VEGF。制备的支架复合体呈多孔结构,KMLSCs在复合体支架中生长良好;各分组瘤体移植模型在体内裸鼠皮下成活良好。干扰组中Periostin表达下调后,瘤体体积显著减小,同时α-SMA、VEGF、Erk表达减弱,差异有统计学意义($P<0.05$),并呈现一致性。**结论** Periostin可能通过调控KMLSCs的功能,参与了模型中瘢痕疙瘩样肿块的生长。

[关键词] 骨母细胞特异性因子2;间质干细胞;瘢痕疙瘩;α-SMA;VEGF

[中图分类号] R364.3+1 [文献标识码] A [收稿日期] 2018-11-06

Study on keloid tumor growth affected by osteoblast-specific factor 2 interacting with mesenchymal stem cells

REN Zhang-xia[1], LI Fan[1], YANG Hui-jia[1], WANG Xue-li[2], CHEN Zhuo[2], WANG Zhen-xiang[2] (1. Department of Burns and Plastic Surgery, West China Guang'an Hospital, Sichuan University, Guang'an Sichuan 638001, China; 2. Department of Plastic Surgery, First Hospital Affiliated to Army Medical Untrersity, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of osteoblast-specific factor 2 (OSF-2, Periostin) on keloid mesenchymal stem cells (KMLSCs) growth in vitro through nude mice model. **Methods** KMLSCs was isolated from keloid. The experiments were divided into three groups: the Periostin group, the blank-vector group and the non-transfected group. The Periostin lentiviral vector were constructed and infected into the corresponding KMLSCs. The expression of Periostin, alpha smooth muscle actin (α-SMA), and vascular endothelial growth factor (VEGF) were determined in vitro by Western blotting. Chitosan-silk fibroin porpous scaffolds were made through freeze drying. The KMLSCs were co-cultured with the scaffolds, and the cell-scaffolds and the growth of cells were detected by scanning electron microscopy. The cell-scaffold complexes were subcutaneously implanted into the nude mices. After 8 weeeks the mices were killed to measure the volume of the keloid. The expression of Periostin, α-SMA, and VEGF in keloid were detected by immunofluorescent staining, and the expression of Erk was detected by Western blotting. **Results** In the blank-vector group and the non-transfected group, the Periostin were expressed normally in KMLSCs, but it was Weakly expressed in the Periostin group. And the α-SMA and VEGF were not expressed in KMLSCs cultured in vitro. The cells grew well on composite scaffolds. Tumor transplantation models of different groups survived well subcutaneously in vivo in nude mice. However, when the expression of Periostin were downregulated, the volume of keloid was statistically smaller ($P<0.05$), and the expression of α-SMA, VEGF and Erk siginificantly attenuated ($P<0.05$). **Conclusion** Periostin can regulate the functions of KMLSCs in vivo and promote the growth of keloid in nude mice.

Keywords: osteoblast-specific factor 2 (OSF-2, Periostin); mesenchymal stem cell; keloid; α-SMA; vascular endothelial growth factor

在机体损伤修复过程中,细胞外基质的分泌与重塑,以及毛细血管新生促肉芽组织的形成是关键过程[1-5]。异常修复时,肌成纤维细胞持续增殖,组织过度增生,形成瘢痕疙瘩。瘢痕疙瘩生物学行为类似良性肿瘤[6-8]。有研究发现,骨母细胞特异性因子2(Periostin)是肿瘤微环境的关键成分,与间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)相互作用,通过促进细胞增殖、细胞迁移、血管新生等介导肿瘤的恶性演变[9-12]。我们前期研究发现,瘢痕疙瘩组织中Periostin的表达显著升高,并可促进体外瘢痕疙瘩间充质干细

[基金项目] 重庆市科技计划项目(cstc2014yykfA110015)

[通信作者] 陈 卓,E-mail:175940@qq.com

胞(keloid mesenchymal stem cells, KMLSCs)增殖。Periostin 可促进瘢痕疙瘩成纤维细胞上调 VEGF,激活 Erk/VEGF 信号通路而促进体外血管形成,最后参与瘢痕疙瘩的形式[8]。此外,相关研究还发现,Periostin 可促进细胞阳性表达 α-SMA、肌成纤维细胞的形成,从而促进组织过度增生[1, 13-14]。Periostin 是否通过介导体内 KMLSCs 参与细胞外基质的形成和血管新生等促进瘢痕疙瘩的发展,目前未见相关文献报道。为此,我们拟通过制备裸鼠瘢痕疙瘩体内模型,利用 KMLSCs 体外培养、Periostin 载体构建等分子技术,研究体内 Periostin 与 KMLSCs 之间的相互作用及其对瘢痕疙瘩样瘤体形成的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究 5 例所需组织由陆军军医大学第一附属医院提供,患者年龄5~30岁。本研究经院伦理批准并获患者知情同意。Bbc 免疫缺陷小鼠由陆军军医大学动物中心提供,人骨髓间充质干细胞完全培养基和 FBS 购自于中国赛业公司,0.25% 胰蛋白酶 + 1 nmolEDTA 购自于美国 Gibco 公司,Dispase Ⅱ和Ⅳ型胶原酶购自于美国 Sigma 公司,鼠抗人 α-SMA、VEGF 和抗人 GAPDH 以及 Periostin 抗体购自于 Abcam 公司,胶回收试剂盒购自于美国 Qiagen 公司,倒置相差显微镜和扫描电镜购自于日本 OLYMPUS 公司,恒温培养箱、酶标仪购自于美国 Thermo 公司,共聚焦显微镜等由陆军军医大学公共实验平台提供。

1.2 KMLSCs 体外培养以及载体构建

KMLSCs 培养、Periostin 慢病毒干扰表达载体、空载体的构建以及慢病毒转染均由陆军军医大学第一附属医院烧伤科实验室完成,参照文献[15]中报道方法进行。

1.3 实验分组

根据细胞处理的不同将其分为 3 组,即干扰组、空载体组和未转染组。干扰组:构建 Periostin 慢病毒干扰载体,完成载体转染至 KMLSCs 内,实现 Periostin 基因干扰;空载体组:构建 Periostin 慢病毒空载体并转染细胞,Periostin 基因未被干扰;未转染组:常规培养,细胞不做处理,Periostin 基因未被干扰。

1.4 Western Blot

1.4.1 细胞蛋白 Western Blot 细胞体外培养时,分别收集处于对数生长期的 KMLSCs,PBS 溶液清洗,4 ℃下离心 8~10 min,加入细胞裂解液,冰上裂解 30 min,煮沸变性 10 min,冰上复性 5 min,超声粉碎 30 s,12 000 g离心 0.5 h,留上清。BSA 法测定蛋白质浓度。取 30 μg 总蛋白在 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后,转移至 NC 膜。稀释一抗(α-SMA 抗体 1∶300 稀释,VEGF 抗体 1∶50 稀释,GAPDH 抗体 1∶2 000稀释),与膜室温孵育 2 h,洗涤 3 次,稀释二抗(HRP 标记山羊抗兔 IgG 1∶2 000 稀释),与膜室温孵育 2 h 后洗涤,最后 ECL 法显色。

1.4.2 组织蛋白 Western Blot 体内瘢痕疙瘩模型制备后,取下各组瘤体组织,液氮冷冻,提取组织蛋白,测量总蛋白浓度,后续步骤同 1.4.1(一抗稀释:Periostin 抗体 1∶500 稀释,α-SMA 抗体 1∶300 稀释,VEGF 抗体 1∶50 稀释,Erk 抗体 1∶500 稀释,GAPDH 抗体 1∶2 000稀释)。

1.5 复合支架与细胞共培养

称取适量冻干法制备壳聚糖-丝素蛋白复合支架,紫外光照射消毒。将无菌的复合支架随机分为 2 组,即支架-细胞共培养组和支架组(每组重复 3 次),分别将支架置于 24 孔板中,共培养组将浓度为 2×10^6/mL的 KMLSCs 沿支架中心加入 1 mL 细胞悬液,而同时支架组对应加入无细胞培养基 1 mL,分别在 37 ℃、5% CO_2 培养箱中静置 3 h,随后各组加入培养基 2 mL,共培养 4 d。取样清洗,戊二醛固定,锇酸固定,梯度酒精脱水,醋酸戊酯置换,六甲基二硅胺烷 HMDS 干燥,表面喷镀,电镜扫描仪扫描。

1.6 裸鼠体内瘢痕疙瘩样瘤体模型制备

移植前,将支架分为 3 组,每组 12 个,置于 24 孔板中,分别标记为干扰组、空载体组和未转染组,各组对应加入 KMLSCs 1 mL(2×10^6/mL),细胞培养箱中静置 3 h 后,沿孔壁加入 2 mL 细胞培养基,共培养 4 d,进行裸鼠皮下移植。

将 4~5 周龄裸鼠随机分为 3 组,雌雄不限,每组 3 只,裸鼠背部碘伏消毒,6% 水合氯醛按照 0.3 mg/g 的剂量进行腹腔麻醉,用手术刀在脊柱两侧上下各制备 1 个长约 5~10 mm 的切口,共 4 个,分离裸鼠皮下组织,对应将支架复合体植入皮下,7-0 尼龙线缝合皮肤,最后在每只裸鼠背中部做一个相同切口,单纯移植支架复合体作为空白对照组,空白对照组小鼠皮下植入仅含等量培养基的支架复合体,不含细胞,术后裸鼠进行 SPF 级喂养,随后 3 d 在各移植点分别进行对应组细胞的注射,注射体积为 0.1 mL(1×10^6cells),监测瘤体的形成情况,8 周后脊髓断裂法处死裸鼠,游标卡尺测量瘤体长径和短径,体积(Volume)=(长径×短径 2)/2,取下瘤体组织进行下一步实验。

1.7 激光共聚焦检测 α-SMA 和 VEGF

切取下的组织用浓度为 30% 的蔗糖溶液进行脱水,4% 多聚甲醛溶液固定,OCT 包埋剂包埋组织,-80 ℃速冻,冰冻切片机切片(厚度为 4 μm),制备组织切片,-20 ℃保存备用。取出切片室温回温,PBS 清洗,血清封闭液封闭,孵育一抗(α-SMA 抗体 1∶50 稀释,VEGF 抗体 1∶25 稀释),PBS 溶液清洗,室温避光孵育二抗,封片剂封片,激光共聚焦显微镜下观察。

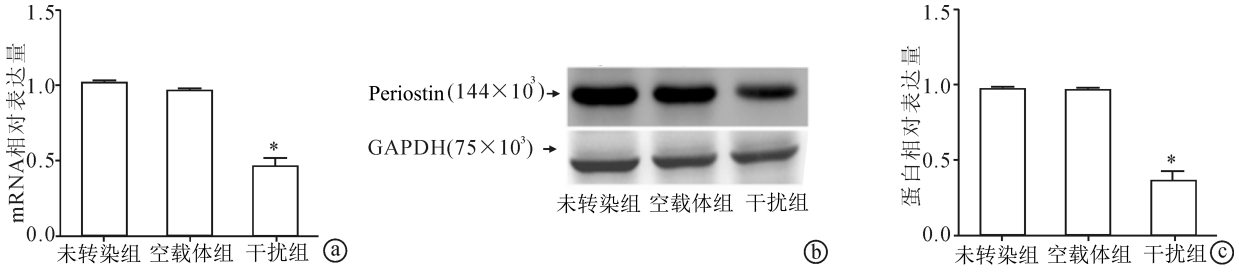
1.8 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异采用单因素方差分析,组内两两比较采用 t 检验分析,检验水准为 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体外培养 KMLSCs 表达 Periostin 的变化

为了检测基因被干扰后 KMLSCs 中 Periostin 的表达是否下降,利用 qPCR 和 Westrn Blot 进行检测,结果显示,未转染组和空载体组 Periostin 基因和蛋白的表达无差异,干扰组的表达较前 2 组显著减弱,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 Periostin 基因干扰成功(图 1)。



a:qPCR 检测各组 Perisotin mRNA 水平的表达;b:Westen Blot 检测各组 Perisotin 蛋白表达;c:Perisotin 表达的半定量分析 *:与未转染组和空载体组比较,$P < 0.05$

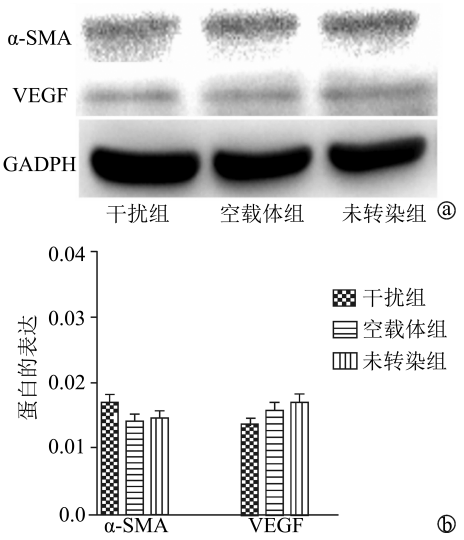
图 1 体外培养的各组 KMLSCs 中 Perisotin 的表达

2.2 体外培养 KMLSCs 表达 α-SMA 和 VEGF 的情况

Western Blot 检测体外培养条件下 3 组 KMLSCs 中 α-SMA 和 VEGF 的表达情况,结果显示,各组细胞内 α-SMA 和 VEGF 2 种蛋白的表达强度均较弱,且表达差异均无统计学意义($P > 0.05$),见图 2。

2.3 KMLSCs 在壳聚糖-丝素蛋白复合支架上的生长情况

大体观察可见支架为圆柱体,呈乳白色,具有一定的弹性,边缘整齐,大小约为 5 mm × 3 mm(图 3a)。在扫描电镜下观察可见,复合支架为三维网状的多孔立体结构,空隙边缘相互连接贯通,紧密结合(图 3b),当与 KMLSCs 共同培养时,可见细胞的结构为三维结构,紧密依附于网状结构上,胞体朝向孔内,早期胞体皱缩,逐渐延伸,生长良好(图 3c)。



a:Western Blot 检测 α-SMA 和 VEGF 的表达;b:α-SMA 和 VEGF 两种蛋白的半定量分析

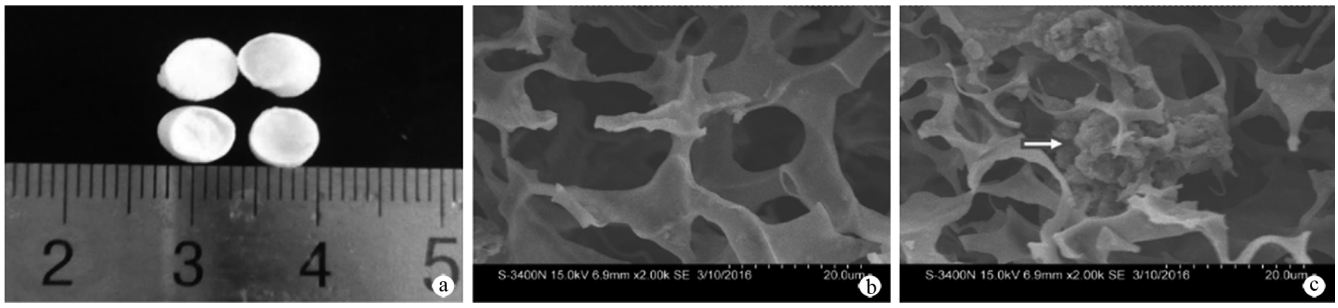
图 2 体外培养的各组 KMLSCs 中 α-SMA 和 VEGF 的表达

2.4 裸鼠体内瘤体组织 KMLSCs 中 Periostin、Erk、α-SMA和 VEGF 的表达情况

体外通过慢病毒载体干预 KMLSCs 中 Periostin 基因的表达后,依据不同的干预处理,分别移植到裸鼠皮下。喂养 8 周后取出瘤体组织,将提取的组织蛋白进行 Western Blot 检测,发现干扰组中 Periostin 蛋白、Erk、α-SMA 和 VEGF 的表达水平显著低于未转染组和空载体组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 4。

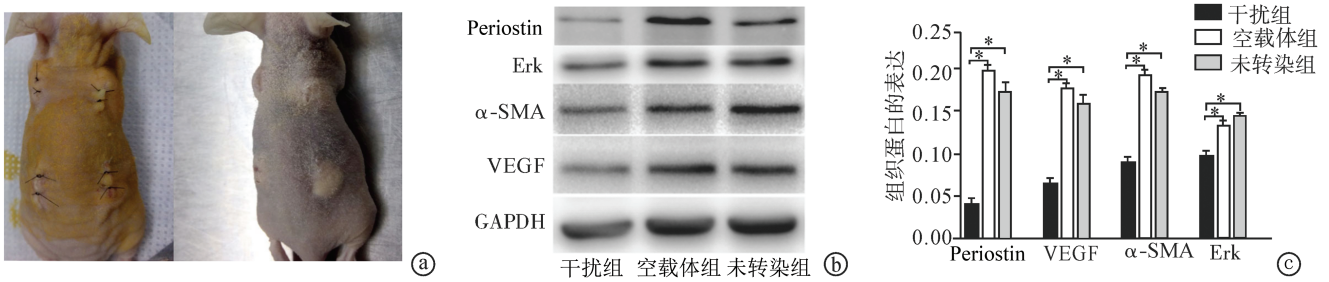
2.5 移植裸鼠体内瘤体情况

裸鼠皮下植入 8 周后,可见每只裸鼠背部皮下的空白对照点所植入的细胞支架共培养复合体均降解,未见任何瘤体。手术取下瘤体,肉眼可见局部瘤体内形成血管网,形态较规则,通过测量瘤体长径和短径进行大小分析,干扰组瘤体体积明显小于未转染组和空载体组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 5。



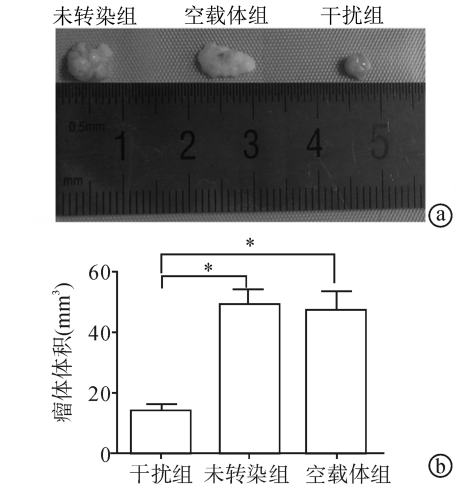
a:丝素蛋白-壳聚糖支架复合体大体观察;b:扫描电镜下单纯支架复合体的结构;c:扫描电镜下细胞与支架共培养下细胞的形态(箭头所指为细胞)

图3 丝壳聚糖-丝素蛋白支架复合体形态和结构观察(×800)



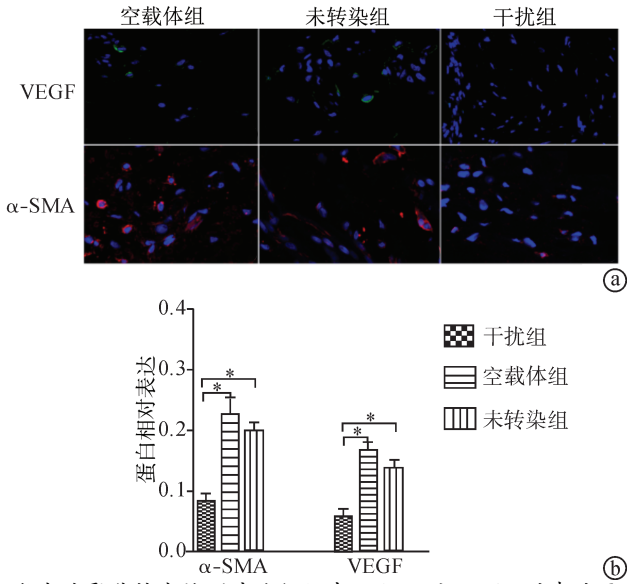
a:移植后裸鼠大体照片;b:裸鼠体内瘤体组织 Periostin、Erk、α-SMA 和 VEGF 的表达;c:Periostin、Erk、α-SMA 和 VEGF 蛋白的半定量分析 *:$P<0.05$

图4 移植后裸鼠图片及各组组织中 Periostin、Erk、α-SMA 和 VEGF 的表达



a:瘤体大体观;b:瘤体大小比较 *:$P<0.05$

图5 瘤体观察和大小比较



a:激光共聚焦技术检测瘤体组织中 α-SMA 和 VEGF 的表达;b:α-SMA 和 VEGF 蛋白表达的半定量分析 *:$P<0.05$

图6 下调 Periostin 后各组组织中 α-SMA 和 VEGF 的表达

2.6 下调 Periostin 后组织中 α-SMA 和 VEGF 的表达情况

下调 Periostin 后,利用激光共聚焦技术检测裸鼠瘤体组织中 α-SMA 和 VEGF 的表达情况,结果显示,未转染组和空载体组出现2种蛋白的表达,而干扰组中2种蛋白的表达减弱,使用 Image Plus 软件进行进一步的分析,Image Plus 是一款强大的医学影像处理软件,现已被广泛用于测量各种细胞、组织染色面积、强度测定、计数阳性率等。结果显示干扰组 α-SMA 和 VEGF 明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图6。

3 讨论

瘢痕疙瘩形成的病理生理过程是细胞外基质(ECM)的过度沉积与异常,肌成纤维细胞以及血管再生在该过程中发挥重要作用[16-18]。已有研究发现,在瘢痕疙瘩成纤维细胞以及相关肿瘤细胞的体外培养中,可发现细胞高表达 α-SMA[17,19-20]。我们通过 Western Blot 技术,检测体外 KMLSCs 中 α-SMA 的表

达情况,结果显示,各组细胞中 α-SMA 的表达均很弱,3 组细胞未见明显差异,这说明 Periostin 的表达变化与体外 KMLSCs 中 α-SMA 的表达可能无关,该结果与 Moon 等[21]认为通过血管再生为瘤体组织提供营养一致。本研究通过检测 Periostin 的表达变化来确定其是否会引起体外 KMLSCs 参与血管再生的调节, Western Blot 结果显示,在体外条件下,干扰组、空载体组和未转染组细胞均弱表达 VEGF。这个发现初步证明了在体外条件下,Periostin 单独调控 KMLSCs 参与瘤体血管再生的作用较弱,需要特定微环境的协同作用。

为了更好地研究 Periostin 介导 KMLSCs 的生物学行为和调控瘢痕疙瘩浸润性生长的病理生理学过程,我们实验小组制备了体外的壳聚糖-丝素蛋白支架可降解复合体,与细胞进行共培养后再移植到裸鼠皮下,最大程度地模拟人瘢痕疙瘩的体内环境[8, 22]。在体外检测的过程中,我们制备了多孔立体结构的细胞支架,与细胞三维共培养后,细胞可在复合支架上良好生长[23-24]。随后建立裸鼠瘢痕疙瘩模型,研究 Periostin 对 KMLSCs 参与瘢痕疙瘩形成的机制。通过观察瘤体形成情况以及测量并分析瘤体体积大小,结果显示,3 组瘤体大小差异具有统计学意义,干扰组的瘤体体积显著小于未转染组和空载体组,而未转染组和空载体组瘤体体积未见明显变化。该结果表明,下调 KMLSCs 中 Periostin 的表达后裸鼠体内瘤体的形成能力显著减弱,提供了 Periostin 与瘢痕疙瘩样瘤体形成有关的证据。

本研究利用激光共聚焦技术检测组织中 α-SMA 和 VEGF 的表达情况,进一步评估瘢痕疙瘩组织内血管和细胞外基质的形成情况,结果显示,与干扰组比较,空载体组和未转染组组织中均阳性表达 α-SMA 和 VEGF,差异具有统计学意义。随后 Western Blot 技术进一步判断 α-SMA 和 VEGF 的表达,结果与激光共聚焦检测一致,说明体内 Periostin 对 KMLSCs 的生物学调控异于体外。α-SMA 和 VEGF 分别是肌成纤维细胞标志物和新生血管的形成标志,我们的实验均在瘤体内检测到 α-SMA 和 VEGF 的表达,而体外培养时并未检测到两者的表达,说明未转染组和空载体组组织内可能出现了肌成纤维细胞,并可能促进血管的形成;而干扰组则未见该现象,分析出现该种情况的原因可能是 KMLSCs 移植到皮下后,未转染组和空载体组中 Periostin 仍然呈现高表达状态,形成了一个干细胞的支持环境,可保障该环境中干细胞的分化能力,启动相关信号通路,始动 KMLSCs 参与瘢痕疙瘩的生长,刺激 KMLSCs 转化成阳性表达 α-SMA 的肌成纤维细胞,并维持肌成纤维细胞的高活性状态,导致大量基质纤维的形成与分泌;同时肌成纤维细胞发生收缩,促使组织重塑,变强变硬;此外,不断升高的 Periostin 进一步刺激微环境,使基质不断更新、异化和沉积,导致局部缺氧,低氧环境刺激局部大量分泌 VEGF,促使 KMLSCs 向血管内皮细胞转化,促进毛细血管形成[6, 25-26]。高 Periostin 环境又正反馈刺激肌成纤维细胞的活化,最终导致瘤体的形成。一旦 Periostin 的表达下调,这种正向刺激和不断被放大的信号中断,则该效应被抑制。

有研究显示,Periostin 引起的促肿瘤血管再生与 VEGF/Erk 信号通路激活有关[22]。为了验证这一点,我们利用 Western Blot 实验进一步评估瘤体中 Erk 的表达,结果显示,3 组中均发现 Erk 的表达,但 Periostin 的表达下调后 Erk 的表达显著减弱,这说明在体内,Periostin 作用于 KMLSCs 介导的瘢痕疙瘩样肿瘤的形成可能涉及 VEGF/Erk 信号通路。

瘢痕疙瘩中 Periostin 的表达升高与瘢痕疙瘩的 ECM 重塑以及血管再生密切相关,需要我们更深入地研究,进一步揭示在瘢痕疙瘩内 Periostin 调控 KMLSCs 引起的血管再生和 ECM 重塑的具体机制,为瘢痕疙瘩的临床治疗提供理论依据。

[参考文献]

[1] Marcela O. The role of the myofibroblast in tumor stroma remodeling[J]. Cell Adh Migr, 2012,6(3):203-219. doi: 10.4161/cam.20377.

[2] Elliott CG, Wang J, Guo X, et al. Periostin modulates myofibroblast differentiation during full-thickness cutaneous wound repair[J]. J Cell Sci, 2012,125(Pt 1):121-132. doi: 10.1242/jcs.087841.

[3] Yang L, Serada S, Fujimoto M, et al. Periostin facilitates skin sclerosis via PI3K/Akt dependent mechanism in a mouse model of scleroderma [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41994. doi: 10.1371/journal.pone.0041994.

[4] Bozyk PD, Bentley JK, Popova AP, et al. Neonatal periostin knockout mice are protected from hyperoxia-induced alveolar simplication[J]. PLoS One, 2012, 7(2): e31336. doi: 10.1371/journal.pone.0031336.

[5] Tamaoki M, Imanaka-Yoshida K, Yokoyama K, et al. Tenascin-C regulates recruitment of myofibroblasts during tissue repair after myocardial Injury[J]. Am J Pathol, 2005, 167(1): 71-80. doi: 10.1016/S0002-9440(10)62954-9.

[6] Hu F, Shang XF, Wang W, et al. High-level expression of periostin is significantly correlated with tumour angiogenesis and poor prognosis in osteosarcoma[J]. Int J Exp Pathol, 2016, 97(1): 86-92. doi: 10.1111/iep.12171.

[7] Shao R, Bao S, Bai X, et al. Acquired expression of periostin by human breast cancers promotes tumor angiogenesis through up-regulation of vascular endothelial growth factor receptor 2 expression[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(9): 3992-4003.

[8] Zhang Z, Nie F, Chen X, et al. Upregulated periostin promotes angio-

genesis in keloids through activation of the ERK 1/2 and focal adhesion kinase pathways, as well as the upregulated expression of VEGF and angiopoietin1[J]. Mol Med Rep, 2015,11(2):857 - 864.

[9] Lambert AW. Tumor Cell-derived periostin regulates cytokines that maintain breast cancer stem cells[J]. Mol Med Rep, 2016,14(1): 103 - 113. doi: 10.1158/1541 - 7786. MCR - 15 - 0079.

[10] Malanchi I, Santamaria-Martinez A, Susanto E, et al. Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization [J]. Nature, 2011, 481 (7379): 85 - 89. doi: 10.1038/nature10694.

[11] Conley S. Antiangiogenic agents increase breast cancer stem cells via the generation of tumor hypoxia[J]. PANS, 2012,109(8):2784 - 2789. doi: 10.1073/pnas.1018866109.

[12] Incardona F, Doroudchi MM, Ismail N, et al. Registered report: Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization[J]. Elife, 2015,4:e6938. doi: 10.7554/eLife.06938.

[13] Crawford J, Nygard K, Gan BS, et al. Periostin induces fibroblast proliferation and myofibroblast persistence in hypertrophic scarring [J]. Exp Dermatol, 2015,24:120 - 126. doi: 10.1111/exd.12601.

[14] Kuhn B, Del MF, Hajjar RJ, et al. Periostin induces proliferation of differentiated cardiomyocytes and promotes cardiac repair[J]. Nat Med, 2007,13(8):962 - 969. doi: 10.1038/nm1619.

[15] 王雪丽,马 昕,李 乐,等.骨母特异性因子2促进瘢痕疙瘩间充质干细胞体外增殖的研究[J].第三军医大学学报,2017,39(3):236 - 242. doi:10.16016/j.1000 - 5404.201609102.

[16] Li S, Liu W, Lei Y, et al. Regulatory effects of electronic beam irradiation on mir-21/smad7-mediated collagen I synthesis in keloid-derived fibroblasts[J]. Biol Open, 2016,5(11):1567 - 1574. doi: 10.1242/bio.018770.

[17] Rang Z, Wang ZY, Pang QY, et al. MiR-181a targets PHLPP2 to augment AKT signaling and regulate proliferation and apoptosis in human keloid fibroblasts[J]. Cell Physiol Biochem, 2016,40(3 - 4): 796 - 806. doi: 10.1159/000453139.

[18] Yan L, Cao R, Liu Y, et al. MiR-21-5p links epithelial-mesenchymal transition phenotype with stem-like cell signatures via AKT signaling in keloid keratinocytes[J]. Sci Rep, 2016,6:28281. doi: 10.1038/srep28281.

[19] Jiang Z, Yu Q, Xia L, et al. Growth differentiation factor-9 promotes fibroblast proliferation and migration in keloids through the smad2/3 pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2016,40(1 - 2):207 - 218. doi: 10.1159/000452538.

[20] Heo SC, Lee KO, Shin SH, et al. Periostin mediates human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell-stimulated tumor growth in a xenograft lung adenocarcinoma model[J]. Biochim Biophys Acta, 2011,1813(12):2061 - 2070.

[21] Moon JH, Kwak SS, Park G, et al. Isolation and characterization of multipotent human keloid-derived mesenchymal-like stem cells[J]. Stem Cells Dev, 2008, 17 (4): 713 - 724. doi: 10.1089/scd.2007.0210.

[22] Liu Y, Li F, Gao F, et al. Periostin promotes tumor angiogenesis in pancreatic cancer via Erk/VEGF signaling[J]. Oncotarget, 2016,7(26):40148 - 40159. doi: 10.18632/oncotarget.9512.

[23] 张文元,杨亚冬,房国坚.壳聚糖-丝素复合支架材料与骨髓间充质干细胞相容性的研究[J].中国卫生检验杂志,2010,20(12): 3084 - 3086.

[24] 杨亚冬,张文元,房国坚.丝素-壳聚糖复合制作的三维可降解多孔支架[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(51):10074 - 10078. doi:10.3969/j.issn.1673 - 8225.2009.51.014.

[25] Zhang Z, Kang C, Chen B, et al. The effects of conditioned medium from keloid fibroblasts under hypoxia on angiogenesis[J]. Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi, 2014,30(4):283 - 288.

[26] Shao R, Bao S, Bai X, et al. Acquired expression of periostin by human breast cancers promotes tumor angiogenesis through up-regulation of vascular endothelial growth factor receptor 2 expression[J]. Mol Cell Biol, 2004,24(9):3992 - 4003.

(编辑:陈庆利)