DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.24.019
第26卷第24期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 24
2218 2004年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)24-2218-05

应用高密度基因芯片筛选中枢神经系统发育和损伤相关基因的研究

刘运来[1],黄明辉[2],姚忠祥[1],袁碧波[1],孙 榆[1],张彦琦[3],伍亚洲[3],杨梦苏[2],蔡文琴[1] (重庆第三军医大学:[1]基础医学部组织学与胚胎学教研室,重庆市神经科学研究所;[3]预防医学院卫生统计学教研室,重庆 400038;[2]香港城市大学生物化学系,香港)

提 要:目的 探讨中枢神经系统(CNS)发育、损伤相关基因,为基因工程治疗CNS损伤提供以一些可能的靶基因。方法 采用高密度的发育表达谱基因芯片,检测了在视神经发育、损伤共8个不同的时相点上视神经的第一级投射站——外侧膝状体的基因表达情况。结果 以正常成年小鼠作为对照,共找到差异表达基因2 041个:高表达(ratio≥2)的基因1 095个,其中在发育期间高表达的基因560个,在损伤后高表达的基因416个,在发育期间和损伤后均有高表达的基因119个;低表达(ratio≤0.5)的基因946个,其中在发育期间低表达的基因275个,在损伤后低表达的基因458个,在发育期间和损伤后均有低表达的基因213个。对高表达的1 095个基因进行了功能检索、分组,共分为转录调节、信号转导、代谢和物质转运等17组,其中在发育阶段数量最多的功能组是转录调节组和信号转导组,在损伤过程数量最多的功能组是代谢组和物质转运组。一些和轴突生长、导向、突触形成相关的基因 *Efnb*3、*Ptn*、*Nrp*、*Dbn*1只在发育期间表达,抑制轴突生长的基因Rtn4只在损伤后表达,一个和神经元的迁移、轴突的生长相关的基因——Mdk在发育和损伤过程中均有高表达。结论 上述这些基因可能是视神经发育以及损伤、修复过程中起关键作用的基因。

关键词:基因芯片;中枢神经系统;损伤;发育
中图法分类号:R322.81;R394-33;R394.8 文献标识码:A

Screening of the genes related to CNS development and injury by high density genechips

LIU Yun-lai[1], HUANG Ming-hui[2], YAO Zhong-xiang[1], YUAN Bi-bo[1], SUN Yu[1], ZHANG Yan-qi[3], WU Ya-zhou[3], YANG Meng-su[2], CAI Wen-qin[1] ([1]Department of Histology & Embryology, College of Medicine, [3]Department of Statistics, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]Department of Biochemistry, City University, Hong Kong, China)

Abstract: Objective To screen the genes related to the development and injury of central nervous system (CNS) for providing some suitable target genes applied for CNS injury repair by rational genetic engineering. Methods Gene expression was profiled by high density genechips in murine lateral geniculate bodies while optic nerves underwent 8 various stages of either development or injury. Results A total of 2 041 differentially expressed genes were found, including 1 095 highly expressed genes (ratio≥2) and 946 lowly expressed genes (ratio≤0.5). The 1095 highly expressed genes were classified into 17 groups according to their functions described by GENEBANK, GENEKARD, and SOURCE, such as transcription regulation, signal transduction, materials transporting, energy metablism, and so on. The largest two functional gene groups of development were transcript regulation and signal transduction, while the largest two of the injury were metabolism and material transduction. Some important genes facilitating to axon growth and guidance were only detected in the developmental period such as *Efnb*3, *Ptn*, *Nrp*, and *Dbn*1. Moreover, the expression of *Rtn*4, also called Nogo-A, which is the strongest blocking factor to axon extention of Nogo family, was found only in the injured groups. Nevertheless, Mdk, another key gene related to neuron migration and neurite growth, was found in both the developmental and injured groups. Conclusion These genes might be the key genes in the progression of optic nerve development and injury repair.

Key words: genechip; central nervous system; development; injury

胚胎时期神经分化、增殖、迁移、轴突的生长及其诱向均较活跃,很多发育相关基因的时空特异性表达,是CNS的结构和功能赖以正常形成的分子基础,这些基因在成年后往往不表达或者低表达,近年来的研究表明,部分发育相关基因如RBP-J k、HMG-1等在损伤后重新高表达,有理由相信,部分发育基因参与了CNS

基金项目:全军医学科学技术研究"十五"计划基金重点课题(01Z068)
Supported by the Key Research Project of the "Tenth Five-year Plan" of PLA (01Z068)
作者简介:刘运来(1971—),男,湖南省涟源市人,博士,讲师,主要从事神经发育、损伤以及无神经支配血管的调控机制方面的研究。电话:(023)68752229
通信作者:蔡文琴,电话:(023)68753460
收稿日期:2004-11-15;修回日期:2004-11-30

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

损伤以及自主修复过程[1,2]。我们设想如果一方面把部分发育中表达的、有利于再生的基因通过基因工程技术应用到再生修复中去,另外一方面阻碍一些不利于再生的基因的表达,将有助于 CNS 再生的进行,这两方面都要求我们对发育、损伤以及再生过程中发挥了重要作用的基因有更详尽的了解。基因芯片技术是功能基因组学催生的一种分子生物学新技术,利用基因芯片来检测发育以及损伤过程中的基因表达情况,相对于传统的基因检测手段如原位杂交、RT-PCT 等技术而言,将具有操作简单、自动化程度高、可操作的 mRNA 序列数量多、检测效率高等优点。一些在脑发育进程中起重要作用的基因,比如一些和神经细胞增殖、分化、轴突生长、诱导相关的基因,在成年后很多将会变得沉默,常规组织来源的表达谱芯片难以检测到这些基因。Tetsuya 等[3] 从小鼠植入期前后的胚体组织、胚 12.5 d 中肾、生殖腺、新生鼠的卵巢组织中构建了一个包含 15 264 个基因的发育 cDNA 文库,采用该文库制作的发育 cDNA 芯片,来研究发育和损伤中的相关基因将会更有效。本研究拟采用该发育基因芯片来检测小鼠在视神经发育不同阶段以及单侧眼球摘除后不同时期,视神经的第一级投射站外侧膝状体组织的基因表达情况,以期筛选到一些与神经发育、损伤相关基因和一些有利于 CNS 再生的基因,为 CNS 再生修复提供一些新的有价值的资料。

1　材料与方法

1.1　动物分组

纯种昆明小鼠由本校实验动物中心提供。胚胎(embryo, E)15、18 d、出生(postnatal, P)0、7 d、损伤(injury, I)1、7、14、21 d 昆明种小鼠各 20 只,对照组(control, C)为出生 35 d 的成年昆明种小鼠 150 只,雌雄各半。

1.2　取材

损伤组小鼠在乙醚麻醉下行左侧眼球摘除手术,术后继续饲养分别至术后 1、7、14、21 d 断颈处死,取双侧上丘;出生 0、7 d 小鼠分别在出生后相应的时间直接断颈处死取双侧上丘;胚鼠以检查到阴栓为胚胎 0 d,在胚胎 15、18 d 断颈处死母鼠取出胚鼠,此时的大体结构尚未形成明显的四叠体,在即将形成四叠体的部位取少许脑组织。

1.3　总 RNA 的提取

把组织块剪碎、匀浆,每克组织加 7 ml Tripure,静置 10 min 后每毫升 Tripure 加 0.2 ml 三氯甲烷,剧烈震荡 40 s,静置 15 min,4 ℃ 12 000× g 离心 15 min,取上清,每毫升 Tripure 加 0.5 ml 异丙醇,震荡摇匀后静置 15 min,4 ℃ 12 000× g 离心 15 min,去上清,沉淀用 75% 乙醇洗涤 3 次,稍干燥后溶解在 50 μl RNA 溶解液中。每组取 1 μl 进行紫外定量以及电泳检测。

1.4　高密度基因芯片杂交、检测

高密度发育基因芯片由香港城市大学生物化学系提供,每片含小鼠发育文库 cDNA 7 680 条,每个样本重复做 3 张芯片,芯片的处理过程如下。

1.4.1　逆转录反应　　每张芯片取样品总 RNA 及对照总 RNA 各 100 μg,分别加入 Oligo dT 6 μl, RNA ase Inhibitor 0.75 μl,加 DEPC 水调整体积到 30 μl。70 ℃孵育 10 min,冰浴 10 min。依次加入 5× buffer 12 μl, 10× lowT dNTP 6 μl, DTT 6 μl, SS-Ⅱ逆转录酶 3 μl,然后分别在实验组样品中加 3 μl Cy5 标记的 dUTP,对照样品加 3 μl Cy3 标记的 dUTP,42 ℃孵育 2 h 进行逆转录反应,同时进行标记。然后每个样品加 15 μl 0.5 mol/L NaOH 和 0.1 mol/L EDTA, 65 ℃孵育 10 min 水解残余的 RNA,再加入等量 0.5 mol/L HCl 和 1 mol/L Tris 中和。

1.4.2　洗涤　　把实验样品和对照样品混合,转入 YM-30 离心柱中,12 000× g 离心 4 min;加 450 μl TE buffer, 12 000× g 离心 12 min,重复 3 次,充分洗涤。1 000 r/min 离心 3 min,收集标记好的 cDNA,真空干燥法调整总体积到 31.5 μl。

1.4.3　杂交　　混合样品中加 13.5 μl 封闭液,0.45 μl 10% SDS,100 ℃变性 2 min,冰浴快速降温后,点片、封片,65 ℃湿盒中孵育 16 h。杂交结束后在 37 ℃的 2× SSC 和 0.1% SDS、0.2× SSC 中分别洗涤 15 min× 2 次,干燥玻片后用激光共聚焦扫描杂交结果。

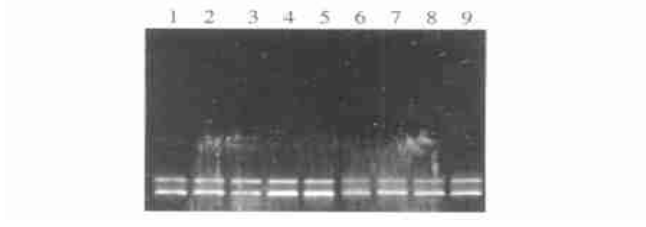
1.5　数据处理、筛选

①扫描的图像经 GenePix 4.0 软件处理,得到各个杂交点的荧光强弱数据,数据经标准化处理。② 筛选差异基因:筛选出至少在一个时相点上 ratio≥2 或者≤0.5 的所有基因。③采用 RT-PCR 的方法验证基因芯片数据的可靠性,RT-PCR 方法参见《分子克隆》(第 3 版)。④ 对高表达的差异基因进行综合的功能分类。

2　结果

2.1　各组样本提取总 RNA 后的电泳检测及定量结果

总 RNA 电泳结果如图 1 所示,各样本的 28 S、18 S 两条带均较清晰,28 S 带的亮度大致是 18 S 带的 2 倍左右,基本没有 DNA 和蛋白质污染带。紫外定量各样本总 RNA 的量,见表 1。



1: Embryo at 15 d; 2: Embryo at 18 d; 3: Postnatal at 0 d; 4: Postnatal at 7 d; 5: Control; 6: Injury at 1 d; 7: Injury at 7 d; 8: Injury at 14 d; 9: Injury at 21 d

图 1　各样本总 RNA 电泳图

Fig 1　Electrophoretic diagram of RNA samples

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 1 各样本总 RNA 的浓度及 $A_{260/280}$ 比值

Tab 1 Concentrations and ratios of $A_{260/280}$ of RNA samples

Sample	Concentration($\mu g/\mu l$)	Volume(μl)	Ratio of $A_{260/280}$
Control	6.00	420	1.97
E15	7.05	50	1.94
E18	8.27	50	1.96
P0	12.60	50	1.90
P7	6.61	50	1.90
I1	7.25	50	2.02
I7	8.30	50	1.93
I14	6.04	50	1.92
I21	10.04	50	1.89

从电泳及定量检查的结果看，各样本的含量、纯度均符合做芯片杂交的要求。

2.2 高密度芯片杂交结果

Cy5 标记的各处理组和 Cy3 标记的对照组的 cDNA 和芯片上的探针阵列进行竞争性杂交，在激光共聚焦扫描的图像上，如果某一基因在处理组中的表达高于对照样本，则芯片上该点上结合的 Cy5 的量多于 Cy3，在扫描结果中显示为红色，反之则显示为绿色，如果大致相等则显示为黄色。本研究的部分基因芯片扫描结果见图 2，3。

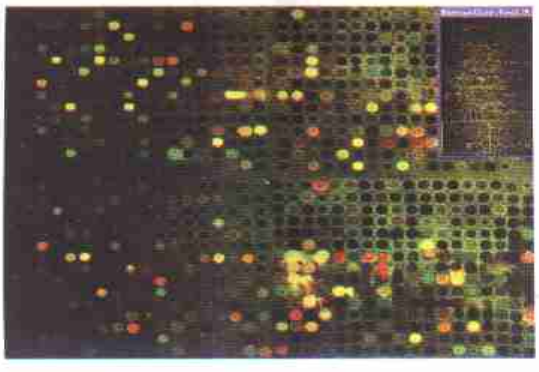


图 2 E18 基因芯片扫描结果图

Fig 2 Genechip hybridization digram of E18

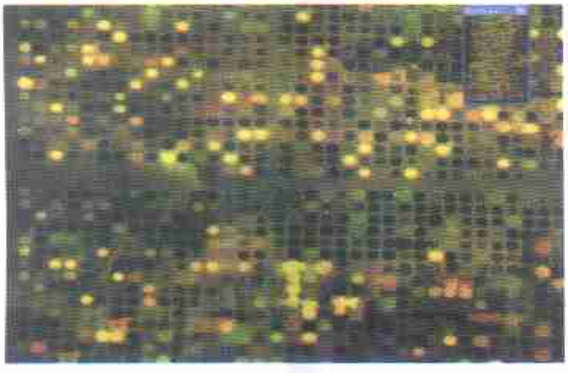


图 3 I21 基因芯片扫描结果图

Fig 3 Genechip hybridization digram of I21

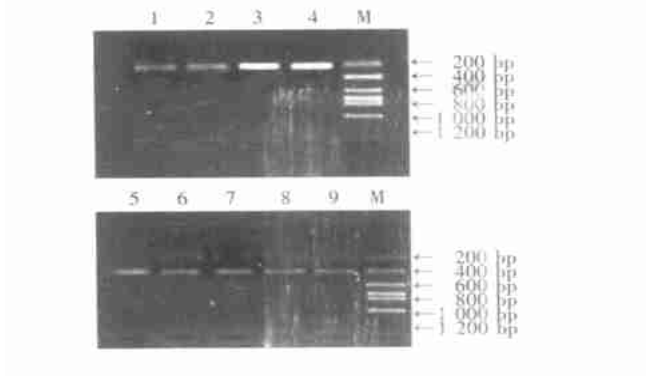
2.3 数据处理、筛选结果

扫描图像经 GenePix 4.0 分析软件转换成数据，即背景值以及每个杂交点上 Cy3、Cy5 的荧光光密度值。8 个样本各重复 3 张芯片，每张芯片有 7 680 个杂交点，单个点上 Cy3、Cy5 的光密度值均大于 200，两者或者其中一个值大于 800 的基因标记为有效数据，同一样本的 3 张芯片上的同一个点的光密度比值（Cy5/Cy3，ratio 值）取平均值。其中 3 604 个点至少在一个时相上能获得有效数据。

对上述有效数据进行标准化处理后，ratio≥2 或者 ratio≤0.5 的基因定义为差异基因，其中 ratio≥2 的称为高表达基因，ratio≤0.5 的基因称为低表达基因；0.5< ratio< 2 的基因称作无差异基因。在 3 604 个基因中，至少在一个时相点上高表达的有 1 095 个，其中在发育期间高表达的基因 560 个，在损伤后高表达的基因 406 个，在发育期间和损伤后均有高表达的基因 119 个。其余的 2 513 个基因中至少在一个时相点低表达的基因共 946 个，在发育期间低表达的基因 275 个，在损伤后低表达的基因 458 个，在发育及损伤后均低表达的 213 个。在损伤和发育过程中均无差异表达的基因共 1 563 个。

差异基因的表达情况以 Blot1808（*Rp*15 基因）为代表，经 RT-PCR 方法验证，结果见图 4。

从 RT-PCR 的电泳图形对比起来看，E15、E18 的扩增带明显亮于其它带，其它各带的亮度大致接近，和芯片扫描结果的数据（表 2）基本吻合，说明我们本实验的基因芯片的实验数据是比较可靠的，其他差异基因的验证工作正在进行中。



M: Marker; 1: Postnatal at 7 d; 2: Postnatal at 0 d; 3: Embryo at 18 d; 4: Embryo at 15 d; 5: Injury at 21 d; 6: Injury at 14 d; 7: Injury at 7 d; 8: Injury at 1 d; 9: Control

图 4 Rp15 基因 RT-PCT 电泳图

Fig 4 RT-PCR result of *Rp*15 gene

表 2 基因芯片检测 Rp15 在各个时相点 ratio 的平均值

Tab 2 Average ratio of *Rp*15 at every time point measured by genechips

Sample	E18	E15	P0	P7	I1	I7	I14	I21
Ratio	2.15	2.41	0.99	1.349	0.88	1.038	1.198	0.788

根据检索 GENECARD、NCBI、SOURCE 等几个基因资料库的功能描述对所有 1 095 个高表达基因（ratio≥2），进行基因的综合功能分类。其中功能完全未知的基因 561 个（51.19%），其余 534 个（48.81%）功能已知或者部分已知的基因共分为转录调节、信号转导、蛋白质合成、物质转运、RNA 加工、代谢相关、细胞周期或者凋亡相关、细胞外基质、蛋白质的折叠与降解、细胞

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

骨架、组蛋白代谢、神经系统特异性功能基因、肿瘤相关基因、DNA 复制修复、轴突生长诱导、免疫反应、细胞粘附分子 17 个功能组。

和轴突的生长、诱导、突触形成过程相关的基因的表达情况, 见表 3。

表 3　轴突生长诱导相关基因在各时相点的表达情况

Tab 3　Expressions of genes related to axon growth and guidance at different time points

BLOT	Genbank accession number	Abbreviation of gene name	E15	E18	P0	P7	I1	I7	I14	I21
2 045	BG073268	*Efnb*3		1.02	4.97			1.61	0.88	0.33
2 520	BG073550	*Ptn*	0.65		5.78	1.49	0.43		0.69	0.31
3 742	BG073453	*Nrp*			4.74					
3 981	BG073710	*Dbn*1	6.45	7.19	4.96	3.42				
758	BG070989	*Rtn*4			0.87				3.47	
3 225	BG070989	*Mdk*	5.48	1.83					2.57	

3　讨论

本研究中, 我们检测了在视神经发育不同阶段以及损伤后不同时期的视神经的第一级投射站——外侧膝状体的基因表达情况。在总共 7 680 个基因中, 找到2 041 个差异基因, 其中高表达基因 1 095 个, 低表达基因946 个。对高表达基因进行功能检索、分组, 发现其中 51.19%的基因的功能完全未知, 这些功能未知基因在损伤和发育中表达的意义均不清楚。其余功能已知或者部分已知的基因共分为 17 个功能组, 根据组内基因数量多少进行排序, 发育期间高表达的基因组排在前两位的是调节转录如 *Pcbp*4、*Ruvbl*2、*Hmga*2、*RasGAP*、*Tcfubf*、*Zfp*238、*Fstl*、*Tcfl*1、*Tcea*1、*Usf*1、*E*2*f*6、*Idb*3、*Trim*28、*Csda*、*Mkrn*1、*Nasp*、*Trp*53、*Nfix*、*D*6*Wsu*147*e*、*Hmgb*1、*Bzw*1、*BG*074358、*Bcap*37 等, 以及信号转导相关的基因如 *Macs*、*Meis*1、*Ptprs*、*RasGAP*、*Ulk*2、*Basp*2、*Ddah*2、*Nr*2*f*2、*Cdkn*1*c*、*Anxa*2、*Ran*、*Rab*11*b*、*Avpr*1*a*、*Bcap*37、*Apbb*2 等。发育期间正是依靠这些高丰度基因的精确传导信号、调控转录, 神经细胞的分化、增殖、迁移以及轴突的生长、突触的形成等过程才得以顺利的进行, 这些基因在成年后大部分不再表达。而在损伤期间高表达的基因排在前两位的是和代谢、物质转运相关的基因, 这和损伤后的炎症反应期间以及再生修复期间需要大量物质和能量相符合。在发育和损伤期间均升高的基因中, 和蛋白质合成、代谢、物质转运相关的基因几乎占总数的 50%, 这提示在发育过程和损伤、修复过程均需要合成大量的新的蛋白质, 需要大量的能量供应, 也离不开活跃的物质运输。我们也注意到一些和细胞周期、增殖、转录调控、信号转导过程相关的基因在发育和损伤过程中均有高表达, 这些基因包括转录调节的基因 *HMG*-2、*Smt*3*h*2、*Nr*2*f*1、*ZFP*36*L*1、*Hmgn*1, 和信号转导相关的 *Cd*24*a*、*Cdk*4、*Ran*、*Anxa*6、*Ptdsr*, 和细胞周期调控相关的 *Rps*4*x*、*Mdk* 等。这部分基因是在发育期间曾经起重要作用的, 随着发育的完成而变得沉默, 又被损伤修复过程激活而重新表达, 可能是 CNS 自身修复机制中起重要作用的基因。

CNS 再生障碍的重要机制是轴突的再生难以穿越损伤区到达靶区形成正确的突触联系, 究其原因是 CNS 中有一个复杂而精确的轴突的生长、靶向诱导和阻碍机制, 现有资料对这一机制的了解还远远不够。本研究中我们也注意到一些和轴突的生长、诱导或者阻碍相关的基因的差异表达(表 3), 如 *Efnb*3、*Ptn*、*Nrp*、*Dbn*1 只在发育期间高表达, *Efnb*3 是近年来发现的EPH 家族受体的配体之一, 在轴突诱导、神经元迁移等方面起重要的作用, 在发育早期的神经管正中线、视网膜母细胞瘤等高表达[4]; *Ptn* 是发育早期广泛表达的一个基因, 在部分肿瘤、子宫内膜异位等组织中高表达, 有促进血管生成、细胞分化、轴突生长等作用[5]; Nrp(neuropilin)是一个能和多种配体(如 VEGF、SEMAPHORINS)连接的受体, 在血管生成和神经的发育过程中其重要作用[6]; *Dbn*1 是新发现的一个神经丝结合蛋白, 只在脑组织中特异性的表达, 能调节细胞骨架重排、树突棘的结构的形成[7], 我们的研究发现其在各个发育期均有非常高水平的表达, 推测其在视神经的突触发育过程中可能起非常关键的作用, 发育完成后不再表达。上述 4 个基因可能是视神经轴突生长、诱导、突触形成的重要调节基因。没有发现仅在损伤期间升高的能促进、诱导轴突生长的基因, 却找到一个阻碍轴突生长的基因 *Rtn*4(Nogo-A), 该基因在损伤 14 d 时表达增高。*Rtn*4 是网状内皮细胞瘤家族蛋白的成员, 蛋白分子中有两个疏水的跨膜区, 有强烈的抑制轴突再生的作用[8], 其在视神经损伤后的高表达可能也是视神经轴突再生的重要障碍。*Mdk* (midkine)是一个 13×10^3的蛋白质, 在发育早期广泛表达于神经系统、肾、肺、血管等多个组织器官, 在神经系统的发育过程中, 有促进细胞存活、神经元的迁移、轴突的生长的作用, 在肾脏的缺血再灌注、视网膜缺血损伤后有高表达[9], 少见在 CNS 创伤后高表达的文献报道。在我们的研究中发现 Mdk 在损伤和发育中均高表达, 推测 Mdk 可能在视神经发育过程中起轴突生长诱导、调节神经元的迁移等作用, 发育完成后基本不再表达, 而在损伤后重新高表达, 可能在机体自发性的修复过程中起促进神经元的存活、诱导轴突再生的作用。

一些肿瘤相关的基因在发育、损伤过程中呈现差异表达, 其中在发育期间高表达的基因有 putative oral cancer suppressor、breast cancer suppressor candidate 1、

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

*Magel*2、*BG*075630、*Trp*53、*Pten*、*Lag*，在损伤后高表达的基因有 *BG*075908、*BG*074692，在发育和损伤均升高的基因有 *Tpt*1。虽然目前这些基因的功能尚不清楚，但从文献资料上看，大多数的从肿瘤中首先发现的基因，后来的研究证实是一些细胞周期控制、细胞增生、分化、转录调控、信号转导等方面相关的基因，如 *NOV* 家族（肾母细胞瘤过度表达基因）、*Rb* 家族（视母细胞瘤过度表达基因）的基因等[10]。这些基因可能在发育和/或损伤过程中的细胞周期控制、细胞增生、分化、转录调控、信号转导等方面起作用。另外一些 CNS 特异性高表达的基因也在该研究中被发现，其中在发育过程中高表达的基因有和脑的发育以及神经分化相关的 Pafaha/Lis1 exon 3、脑发育过程中的特异性的转录因子 Meis1、信号转导相关的 Basp2、和髓鞘形成过程关系密切的 *PLM-like protein*、以及功能不详的 *Hn*1、*Cpd*2、*LL*5 *protein* 等。在损伤期间高表达的基因有和细胞粘附分子 *BAI*1-*associated protein* 1、和少突胶质细胞的迁移以及髓鞘形成相关的 *Tm*4*sf*8 以及一些未知功能的基因如 *neuronal protein* 15.6、*Ehd*3、*Brp*44*l*、*BG*075937 等。未找到在发育和损伤均高表达的该类基因。CNS 特异性高表达的基因多数有 CNS 特异性的功能，虽然部分这类基因的功能还不清楚，但是推测他们在发育和损伤过程中有各自独特的作用。

如上所述，该实验对处于视神经发育、损伤不同时期的外侧膝状体的基因表达情况进行了对比研究，筛选到了一些发育和损伤的异同基因，并对部分异同基因进行了功能归类。揭示了一些在视神经的发育以及损伤过程中起重要作用的基因在发育、损伤过程中的表达模式，为进一步研究 CNS 的发育、损伤的分子机制打下了初步的基础。大部分差异基因的体内表达模式、在体的功能也还需要更多的工作来验证。

参考文献：

[1] Murray M. Cellular transplants: steps toward restoration of function in spinal injured animals[J]. Prog Brain Res, 2004, 143: 133-146.

[2] Kobori N, Clifton G L, Dash P. Altered expression of novel genes in the cerebral cortex following experimental brain injury[J]. Brain Res Mol Brain Res, 2002, 104(2): 148-158.

[3] Tetsuya S, Tanaka, Saied A, *et al*. Genome-wide expression profiling of mid-gestation placenta and embryo using a 15 000 mouse developmental cDNA microarray[J]. PNAS, 2000, 97(16): 9127-9132.

[4] Flanagan J G, Vanderhaeghen P. The ephrins and Eph receptors in neural development[J]. Annu Rev Neurosci, 1998, 21: 309-345.

[5] Bernard P J, Heroult M, Lemaitre G, *et al*. Glycosaminoglycans promote HARP/PTN dimerization[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 266(2): 437-442.

[6] Gu C, Rodriguez E R, Reimert D V, *et al*. Neuropilin-1 conveys semaphorin and VEGF signaling during neural and cardiovascular development[J]. Dev Cell, 2003, 5(1): 45-57.

[7] Jin M, Tanaka S, Sekino Y, *et al*. A novel, brain-specific mouse drebrin: cDNA cloning, chromosomal mapping, genomic structure, expression, and functional characterization[J]. Genomics, 2002, 79(5): 686-692.

[8] Watari A, Yutsudo M. Multi-functional gene ASY/Nogo/RTN-X/RTN4: apoptosis, tumor suppression, and inhibition of neuronal regeneration[J]. Apoptosis, 2003, 8(1): 5-9.

[9] Sato W, Kadomatsu K, Yuzawa Y, *et al*. Midkine is involved in neutrophil infiltration into the tubulointerstitium in ischemic renal injury[J]. J Immunol, 2001, 167(6): 3463-3469.

[10] Su, B Y, Cai W Q, Zhang C G, *et al*. The expression of ccn3 (nov) RNA and protein in the rat central nervous system is developmentally regulated[J]. Mol Pathol, 2001, 54(3): 184-911.

（编辑 张大春）

（上接2214页）

同时表达；据文献[4]报道，滑膜肉瘤有 t(x, 18)染色体易位，而 MPNST 无此特征，因此，可用荧光原位杂交加以鉴别。原发于骨的 MPNST 较难与粘液样软骨肉瘤鉴别，有研究认为[5]上皮型钙粘连素（ECAD）和中枢神经钙粘连素（NCAD）有调节上皮型和间叶型细胞在胚胎期的转化作用，也有助于保持上皮样结构的显型，运用此二者并结合其它免疫标记有助于鉴别。发生于胸膜、腹膜的 MPNST 易误诊为恶性间皮瘤，后者 CK、Calaritin 呈阳性表达。上皮型与神经束膜型 MPNST 的区别在于后者来源于神经束膜上皮细胞，不表达 S-100。尽管人们提出了很多鉴别诊断方法，但是由于 MPNST 具有趋异性分化潜能，与其它一些软组织恶性肿瘤不但在组织像上极其相似，而且在免疫组化表达上也有重叠。因此，在仔细阅读 HE 切片的基础上，灵活应用多种免疫标记联合评估，以兹鉴别。MPNST 的预后，浅表型较深部型为佳，这与肿瘤部位浅表，易早发现，早切除有关，如切除不干净易复发。深部型预后较差，易复发和转移，以转移至肺多见。

关键词：恶性神经鞘瘤；软组织肿瘤
中图法分类号：R730.264 文献标识码：B

参考文献：

[1] 谭郁彬，张乃鑫. 外科诊断病理学[M]. 天津：天津科学技术出版社，2000. 957.

[2] 武忠弼，杨光华. 中结外科病理学[M]. 北京：人民卫生出版社，2002. 2531.

[3] Smith T A, Machen S K, Fisher C, *et al*. usefulness of cytokeratin subsets for distinguishing monophsic synovial sarcoma from malignant peripheral nerve sheath tumor[J]. Am J Clin Pathol, 1999, 1215: 614-618.

[4] Nagao K, Ito H, Yoshida H. Chromosomal translocation t(x; 18)in human synovial sarcomas analyzed by fluorescence *in situ* hybridization using paraffin-embedded tissues[J]. Am J Pathol, 1996, 148(2): 601-609.

[5] Laskin William B, Mettinen Markkn. Epithelial type and neural type cadherin expression in malignant noncarcinomatous neoplasms with epithelioid features that involve the soft tissues[J]. Arch Pathol Lab Med, 2002, 126(4): 425-431.

（编辑 王 红）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net