

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.03.0312

## 转录因子 Ets 差异基因 5 在血管平滑肌细胞表型转化中的作用

孙翔, 诸治栋, 曾光, 陈兵\*

解放军 117 医院心血管治疗中心, 杭州 310000

**[摘要]** **目的** 探讨转录因子 Ets 差异基因 5 (ETV5) 在血管平滑肌细胞 (VSMC) 表型转化中的作用。 **方法** 分别采用 ETV5 过表达腺病毒载体 (Ad-ETV5 组) 和绿色荧光蛋白 (GFP) 过表达腺病毒载体 (Ad-GFP 组) 转染 VSMC。人 ETV5 特异性小干扰 RNA [血小板源性生长因子 (PDGF)-BB + siRNA<sub>ETV5</sub> 组] 及其随机阴性序列 (PDGF-BB + siRNA<sub>scramble</sub> 组) 分别转染 VSMC 后采用 PDGF-BB 诱导 VSMC 表型转化。分别采用实时定量 PCR (qPCR) 和蛋白质印迹法检测各组细胞中 VSMC 表型标记物  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 和肌球蛋白重链 11 (MYH11) mRNA 和蛋白的表达水平。分别采用平板划痕实验和 CCK-8 试剂盒检测各组 VSMC 的迁移和增殖活性。 **结果** 与 Ad-GFP 组相比, Ad-ETV5 组 VSMC 中  $\alpha$ -SMA 和 MYH11 mRNA 和蛋白的表达均降低 ( $P < 0.05$ ), 迁移和增殖活性均升高 ( $P < 0.05$ )。与 PDGF-BB + siRNA<sub>scramble</sub> 组相比, PDGF-BB + siRNA<sub>ETV5</sub> 组 VSMC 中  $\alpha$ -SMA 和 MYH11 mRNA 和蛋白的表达均升高 ( $P < 0.05$ ), 而迁移和增殖活性降低 ( $P < 0.05$ )。 **结论** ETV5 参与了 VSMC 的表型转化。

**[关键词]** Ets 差异基因 5; 血管平滑肌细胞; 表型转化; 细胞增殖; 细胞迁移

**[中图分类号]** R 329.412 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)03-0312-06

### Effect of transcription factor Ets variant gene 5 on phenotypic switching of vascular smooth muscle cells

SUN Xiang, ZHU Zhi-dong, ZENG Guang, CHEN Bing\*

Cardiovascular Therapeutic Center, No. 117 Hospital of PLA, Hangzhou 310000, Zhejiang, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the effect of transcription factor E-twenty-six variant gene 5 (ETV5) on the phenotypic switching of vascular smooth muscle cells (VSMCs). **Methods** The VSMCs were transfected with adenovirus vector overexpressing ETV5 in Ad-ETV5 group and green fluorescent protein (GFP) in Ad-GFP group. The VSMCs were transfected with human ETV5-specific small interfering RNA (siRNA) in platelet-derived growth factor (PDGF)-BB + siRNA<sub>ETV5</sub> group and siRNA with random negative sequence in PDGF-BB + siRNA<sub>scramble</sub> group before inducing with PDGF-BB. The qPCR and Western blotting analysis were used to detect mRNA and protein levels of phenotypic switching markers of VSMC, including  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) and myosin heavy chain 11 (MYH11). Scratch wound assay and CCK-8 assay were performed to identify the proliferation and migration of VSMCs. **Results** Compared with the Ad-GFP group, the expressions of mRNA and protein of  $\alpha$ -SMA and MYH11 were significantly decreased in the Ad-ETV5 group ( $P < 0.05$ ), while the abilities of proliferation and migration were significantly improved ( $P < 0.05$ ). Compared with PDGF-BB + siRNA<sub>scramble</sub> group, the expressions of mRNA and protein of  $\alpha$ -SMA and MYH11 were significantly increased in the PDGF-BB + siRNA<sub>ETV5</sub> group ( $P < 0.05$ ), while the abilities of proliferation and migration were significantly inhibited ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** ETV5 may play an important role in the phenotypic switching of VSMCs.

**[Key words]** Ets variant gene 5; vascular smooth muscle cells; phenotypic switching; cell proliferation; cell migration

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(3): 312-317]

血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 是血管壁的重要组成部分, 其通过收缩和舒张调节正常发育成熟个体的血管内径及血压。

VSMC 不是一种终末分化的细胞, 其可受周围环境因素影响而发生表型转化<sup>[1]</sup>。正常成熟的 VSMC 以收缩型为主, 该型细胞中 VSMC 表型标记物——

**[收稿日期]** 2016-10-18 **[接受日期]** 2017-02-15

**[作者简介]** 孙翔, 住院医师。E-mail: sunx1171127@163.com

\* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 0571-87648701, E-mail: chenbing\_117@126.com

$\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)和肌球蛋白重链 11(myosin heavy chain 11, MYH11)表达丰富,且细胞增殖和迁移能力弱。在血管内膜损伤、炎症因子刺激等病理条件下,VSMC 会发生“去分化”,由收缩型向合成型转化。合成型 VSMC 中  $\alpha$ -SMA 和 MYH11 的表达减少,但细胞增殖和迁移能力强<sup>[2]</sup>。目前认为,VSMC 表型转化在动脉粥样硬化、高血压、血管成形或旁路移植术后再狭窄等多种心血管疾病中发挥重要作用<sup>[3-4]</sup>。

Ets 差异基因 5(E-twenty-six variant gene 5, ETV5)是 ETS 家族中 PEA3 亚家族的一种转录因子。ETV5 调控多种基因的表达,并在细胞的增殖、分化、迁移、凋亡和上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)等生物学过程中发挥作用<sup>[5-6]</sup>。Monge 等<sup>[7]</sup>研究发现 ETV5 能够激活基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)表达,促进子宫内膜癌的早期转移。Colas 等<sup>[5]</sup>研究报道 ETV5 能够诱导子宫内膜癌细胞 EMT,从而增强细胞的迁移和侵袭能力。

作为表型转化的一种常见方式,EMT 与 VSMC 的表型转化在分子调控机制、细胞生物学行为的改变等方面具有很大的相似性<sup>[8]</sup>,且 ETV5 下游因子 MMP-2 是调控 VSMC 增殖和迁移的关键因子之一<sup>[1]</sup>。但关于 ETV5 在 VSMC 表型转化中的作用研究目前未见报道。本研究采用过表达和敲低 VSMC 中 ETV5 的方法,观察 ETV5 在 VSMC 表型转化过程中的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞培养和处理

采用含有平滑肌细胞生长因子的 Medium 231 培养液(Invitrogen 公司)培养人 VSMC(Cascade Biologics 公司, C-007-5C)。待细胞生长融合后,用 0.25% 胰蛋白酶在 37 °C 下消化传代,取第 3~6 代 VSMC 用于实验。

当细胞生长融合至 60% 时,分别采用 ETV5 过表达腺病毒载体(Ad-ETV5 组)或绿色荧光蛋白(GFP)过表达腺病毒载体(Ad-GFP 组)转染 VSMC 48 h,后用于后续实验。

采用 Lipofectamine 2000 转染试剂盒(Invitrogen 公司)分别用人 ETV5 特异性小干扰 RNA(siRNA<sub>ETV5</sub>)及其随机阴性序列(siRNA<sub>scramble</sub>)按照

100 nmol/L 的终浓度转染 VSMC 6 h,更换培养液继续培养 24 h 后,加入血小板源性生长因子(PDGF)-BB (20 ng/mL)处理 24 h 诱导 VSMC 表型转化。

### 1.2 蛋白质印迹法检测 ETV5、 $\alpha$ -SMA 和 MYH11 蛋白表达

PBS 洗涤细胞 3 次后,采用含有 1 mmol/L 蛋白酶抑制剂的 SDS 细胞裂解液(上海碧云天生物技术有限公司)裂解细胞。裂解充分后,4 °C 12 000 × g 离心 5 min,收集上清。采用 BCA 法检测蛋白浓度,根据测得的蛋白浓度调整样品的上样体积,使每个 SDS 聚丙烯酰胺凝胶孔道中的蛋白总含量为 50  $\mu$ g。凝胶中的蛋白依次经过电泳分离、转膜(PVDF 膜)、5% 脱脂奶粉溶液封闭 1 h 后,4 °C 过夜分别标记抗 ETV5 一抗(Proteintech 公司, 13011-1-AP)、抗  $\alpha$ -SMA 一抗(Boster 公司, BM0002)、抗 MYH11 一抗(Santa Cruz 公司, sc-6956)和抗  $\beta$ -actin 一抗(Proteintech 公司, 60008-1-Ig)。次日室温标记二抗 1 h。采用 ECL 化学发光仪显像拍照,采用 Image J 软件计算灰度值。

### 1.3 qPCR 检测 ETV5、 $\alpha$ -SMA 和 MYH11 mRNA 表达

采用 TRIzol 法抽提各组 VSMC 的总 RNA。按照 TaKaRa 公司反转录试剂盒操作说明进行反转录反应,获得 cDNA。按照 TaKaRa 公司染料法荧光定量试剂盒进行 qPCR 反应。GAPDH 为内参照基因。实验所用的引物序列:ETV5 上游 5'-CAG TCA ACT TCA AGA GGC TTG G-3', 下游 5'-TGC TCA TGG CTA CAA GAC GAC-3';  $\alpha$ -SMA 上游 5'-GTG TTG CCC CTG AAG AGC AT-3', 下游 5'-GCT GGG ACA TTG AAA GTC TCA-3'; MYH11 上游 5'-CGC CAA GAG ACT CGT CTG G-3', 下游 5'-TCT TTC CCA ACC GTG ACC TTC-3'; GAPDH 上游 5'-CTG GGC TAC ACT GAG CAC C-3', 下游 5'-AAG TGG TCG TTG AGG GCA AT-3'。

### 1.4 平板划痕实验检测 VSMC 的迁移能力

将灭菌直尺置于 6 孔板上方,用 200  $\mu$ L 移液器枪头紧贴直尺,在板底中央划痕,PBS 洗板底 3 次去除划掉的细胞残渣,于镜下随机选取 3 个视野拍照,孵育 24 h 再次拍照。计数 24 h 时两条直线之间的细胞个数,将其作为迁移能力的定量指标。

### 1.5 CCK-8 法检测 VSMC 的增殖能力

将 VSMC 消化、重悬、计数后,以  $2 \times 10^4$  /mL 的细胞密度接种到

96孔板中,每孔100  $\mu$ L,每组设3个复孔。待细胞贴壁后,每孔加入10  $\mu$ L CCK-8溶液,孵育2 h。酶标仪检测450 nm波长处的光密度( $D$ )值。实验重复3次。  
1.6 统计学处理 采用SPSS 19.0软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 $t$ 检验或方差分析(ANOVA)进行组间比较。检验水准( $\alpha$ )为0.05。

## 2 结果

### 2.1 过表达 ETV5 下调 VSMC 中 $\alpha$ -SMA 和

MYH11 的表达 如图1A所示,光镜下可见体外培养的VSMC融合度约80%,相同视野下观察到Ad-ETV5转染细胞后,超过70% VSMC发出绿色荧光;此外,蛋白质印迹结果显示VSMC转染Ad-ETV5后ETV5蛋白的表达增加( $0.64 \pm 0.02$  vs  $0.13 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ ;图1B),提示ETV5在VSMC中成功过表达。qPCR和蛋白质印迹结果均显示ETV5过表达能够抑制VSMC中 $\alpha$ -SMA和MYH11的表达( $P < 0.05$ ,图1B、1C)。

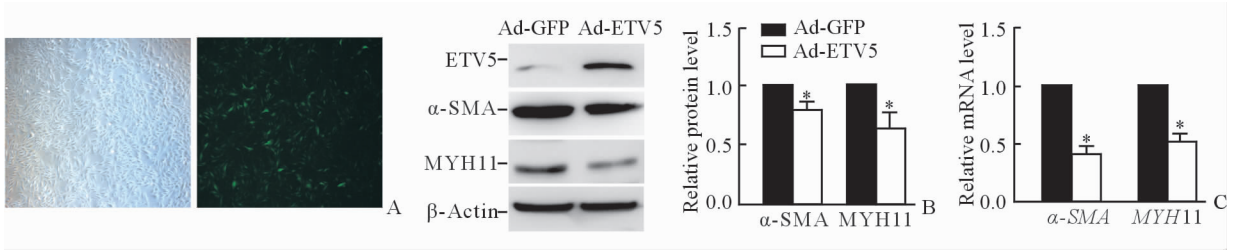


图1 ETV5过表达抑制VSMC中 $\alpha$ -SMA和MYH11的表达

Fig 1 Overexpression of ETV5 inhibits expressions of  $\alpha$ -SMA and MYH11 in VSMCs

A: VSMCs transfected with Ad-ETV5 emitting green fluorescence; B: The results of Western blotting analysis showed that the protein expressions of  $\alpha$ -SMA and MYH11 in Ad-ETV5 group were lower than those in Ad-GFP group; C: The results of qPCR showed that the mRNA levels of  $\alpha$ -SMA and MYH11 in Ad-ETV5 group were lower than those in Ad-GFP group. ETV5: E-twenty-six variant gene 5; GFP: Green fluorescent protein; VSMC: Vascular smooth muscle cell;  $\alpha$ -SMA:  $\alpha$ -Smooth muscle actin; MYH11: Myosin heavy chain 11. \*  $P < 0.05$  vs Ad-GFP group.  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm s$ . Original magnification:  $\times 100$  (A)

2.2 过表达 ETV5 促进 VSMC 的迁移和增殖 平板划痕实验结果显示,与Ad-GFP组相比,过表达ETV5能促进VSMC的迁移(迁移细胞数: $57.0 \pm 5.2$  vs  $29.7 \pm 5.2$ ,  $P < 0.05$ ;图2A、2B)。

CCK-8法检测结果显示,Ad-ETV5组VSMC在24、48和72 h 3个时间点的 $D$ 值均高于Ad-GFP组( $P < 0.05$ ,图2C),提示ETV5能够增强VSMC的增殖能力。

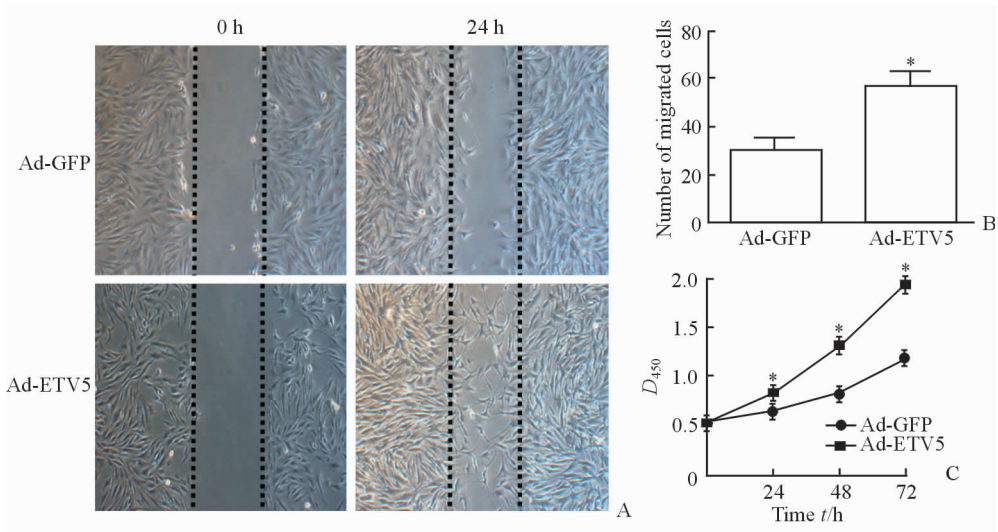


图2 ETV5过表达促进VSMC的迁移和增殖

Fig 2 Overexpression of ETV5 promotes proliferation and migration of VSMCs

A, B: Compared with Ad-GFP group, overexpression of ETV5 promotes the migration of VSMCs by scratch-wound assay; C: Compared with Ad-GFP group, overexpression of ETV5 promotes the proliferation of VSMCs by CCK-8 assay. ETV5: E-twenty-six variant gene 5; GFP: Green fluorescent protein; VSMC: Vascular smooth muscle cell. \*  $P < 0.05$  vs Ad-GFP group.  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm s$ . Original magnification:  $\times 100$  (A)

2.3 敲低 *ETV5* 抑制 PDGF-BB 介导的  $\alpha$ -SMA 和 MYH11 下调 与 PDGF-BB+siRNA<sub>scramble</sub> 组相比, PDGF-BB+siRNA<sub>ETV5</sub> 组 VSMC 中 *ETV5* mRNA (图 3A)和蛋白(图 3B)表达降低( $P<0.05$ )。敲低 VSMC 中 *ETV5* 的表达后  $\alpha$ -SMA 和 MYH11 的

mRNA 和蛋白表达较 PDGF-BB+siRNA<sub>scramble</sub> 组均增加( $P<0.05$ ;图 3B,3C),提示敲低 *ETV5* 能够抑制 PDGF-BB 对 VSMC 表型标记物  $\alpha$ -SMA 和 MYH11 的下调作用。

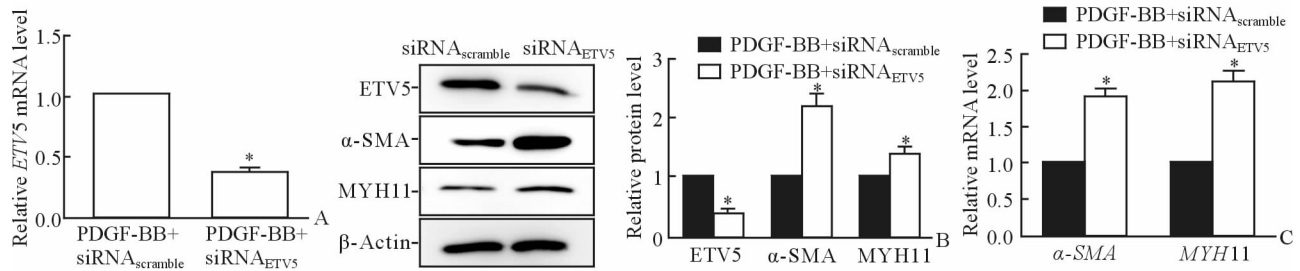


图 3 *ETV5* 敲低抑制 PDGF-BB 引起的 VSMC 中  $\alpha$ -SMA 和 MYH11 表达下调

Fig 3 Knockdown of *ETV5* inhibits the down-regulation of  $\alpha$ -SMA and MYH11 of VSMCs induced by PDGF-BB

A: Compared with PDGF-BB+siRNA<sub>scramble</sub> group, mRNA level of *ETV5* of VSMCs was reduced in PDGF-BB+siRNA<sub>ETV5</sub> group by qPCR; B: Knockdown of *ETV5* upregulated protein expressions of  $\alpha$ -SMA and MYH11 by Western blotting analysis; C: Knockdown of *ETV5* upregulated mRNA expressions of  $\alpha$ -SMA and *MYH11* by qPCR. *ETV5*: E-twenty-six variant gene 5; GFP: Green fluorescent protein; PDGF: Platelet-derived growth factor; VSMC: Vascular smooth muscle cell;  $\alpha$ -SMA:  $\alpha$ -Smooth muscle actin; MYH11: Myosin heavy chain 11. \* $P<0.05$  vs PDGF-BB+siRNA<sub>scramble</sub> group.  $n=3$ ,  $\bar{x}\pm s$

2.4 敲低 *ETV5* 抑制 PDGF-BB 对 VSMC 增殖和迁移的促进作用 平板划痕实验结果显示,与 PDGF-BB+siRNA<sub>scramble</sub> 组相比,敲低 *ETV5* 能够抑制 PDGF-BB 对 VSMC 迁移能力的促进作用(迁移

细胞数:  $38.0\pm 4.4$  vs  $20.0\pm 2.6$ ,  $P<0.05$ ;图 4A、4B)。此外,CCK-8 法检测结果显示,敲低 *ETV5* 还能抑制 PDGF-BB 对 VSMC 的促增殖作用( $P<0.05$ ,图 4C)。

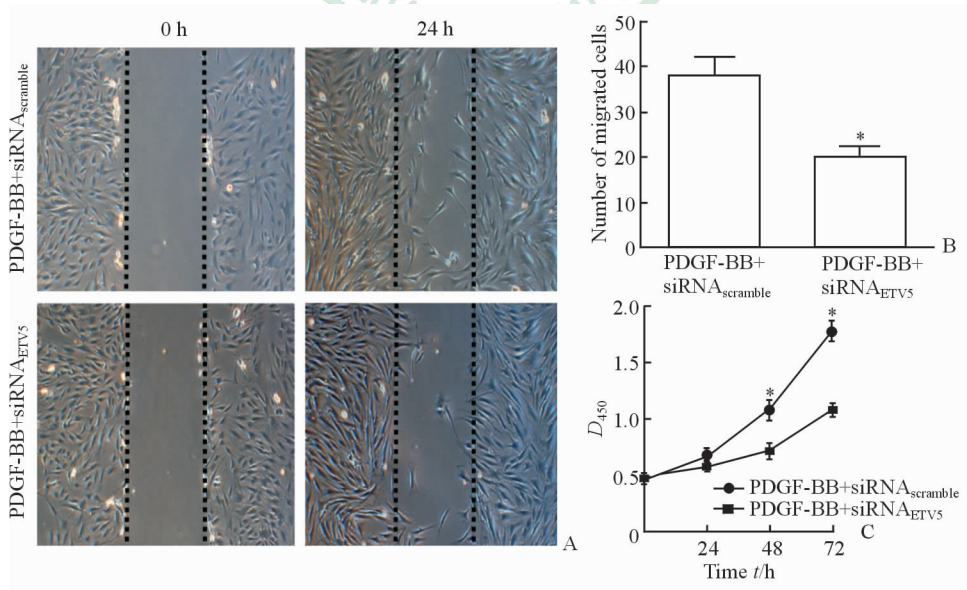


图 4 *ETV5* 敲低抑制 PDGF-BB 的促 VSMC 迁移和增殖作用

Fig 4 Knockdown of *ETV5* inhibits proliferation and migration of VSMCs induced by PDGF-BB

A, B: Knockdown of *ETV5* inhibited the migration of VSMCs by scratch-wound assay; C: Knockdown of *ETV5* inhibited the proliferation of VSMCs by CCK-8 assay. *ETV5*: E-twenty-six variant gene 5; GFP: Green fluorescent protein; PDGF: Platelet-derived growth factor; VSMC: Vascular smooth muscle cell. \* $P<0.05$  vs PDGF-BB+siRNA<sub>scramble</sub> group.  $n=3$ ,  $\bar{x}\pm s$ . Original magnification:  $\times 100$  (A)

### 3 讨论

与骨骼肌和心肌等终末分化的肌细胞不同, VSMC具有很强的表型可塑性,其表型可受到动脉粥样硬化、高血压、血管损伤等多种病理因素的影响而发生转化<sup>[9]</sup>。近年来,对 VSMC 的表型转化有了新的研究进展。Shankman 等<sup>[10]</sup>研究发现, VSMC 表型转化在动脉粥样硬化损伤进展、斑块形成以及调节斑块稳定性等方面具有关键作用,抑制 VSMC 的表型转化能够提高动脉粥样硬化斑块的稳定性。O'Brien 等<sup>[11]</sup>研究发现, VSMC 增殖和迁移能力的增强在血管内膜增生形成过程中发挥着重要作用,而内膜增生是动脉粥样硬化、支架内狭窄和冠脉动脉旁路移植术后静脉桥狭窄等疾病的关键病理学过程。因此,研究 VSMC 表型转化的调控机制对于明确多种心血管疾病的分子生物学机制,进而对提供新的潜在治疗靶点具有重要意义。

ETS 家族是一个由高度保守基因组成的群体,在不同组织细胞的增殖、分化、迁移以及侵袭过程中发挥着极其重要的作用。Kumar-Sinha 等<sup>[12]</sup>研究表明,过表达 ETV5 可使前列腺癌细胞更具有侵袭性。Colas 等<sup>[5]</sup>发现 ETV5 可以促进子宫内膜癌 EMT,且通过调节 ZEB1 和 E-钙黏蛋白促进子宫内膜癌细胞-细胞和细胞-基底接触的重组。此外,ETV5 在 EMT 和促进子宫内膜肿瘤细胞的迁移、侵袭能力增强过程中发挥重要作用<sup>[13]</sup>。

既往研究证实 PDGF-BB 能够抑制 VSMC 表型标记物的表达,并且能够增强 VSMC 的增殖和迁移能力<sup>[1,4]</sup>。本研究采用 PDGF-BB 刺激 VSMC 构建 VSMC 表型转化细胞模型。经研究发现,ETV5 过表达能导致人 VSMC 分化表型标记物下调,并促进 VSMC 的迁移和增殖。通过 siRNA 敲低 ETV5 在 VSMC 中的表达,结果发现 ETV5 的敲低能够抑制 PDGF-BB 诱导的分化表型标记物的表达下调,还能抑制 PDGF-BB 诱导的 VSMC 的增殖和迁移。本研究提示 ETV5 是有效抑制 VSMC 表型转化的潜在靶点,为动脉粥样硬化及血管支架内狭窄等疾病提供了新的治疗靶点。

Akagi 等<sup>[14]</sup>研究发现,ETV5 是转录因子 OCT4 的重要下游因子之一。Cherepanova 等<sup>[15]</sup>证实了 OCT4 介导的 VSMC 由中膜向内膜迁移在动

脉粥样硬化斑块形成过程中发挥了重要作用。Mak 等<sup>[16]</sup>的研究结果提示, microRNA-145 能够抑制 ETV5 的表达;而 microRNA-145 是调控 VSMC 表型转化的关键因子,其在 VSMC 中的表达会因动脉粥样硬化、血管损伤等多种血管疾病而出现显著下调,进而引起 VSMC 表型标记物的降低和细胞增殖能力的提高<sup>[17]</sup>。以上研究提示,在病理条件下 ETV5 可能会受到多种分子机制的调控,上调其在 VSMC 中的表达,进而导致 VSMC 向合成型转变,但具体调控机制仍有待进一步研究。

吴素慧等<sup>[18]</sup>在宫颈癌组织中发现 ETV5 与 MMP-7 的表达呈正相关。此外, Monge 等<sup>[7]</sup>在肿瘤研究中发现,转录因子 ETV5 可直接结合 MMP-2 的启动子区而激活 MMP-2 的转录表达。过表达 ETV5 能够上调 MMP-2 在宫颈癌和软骨肉瘤细胞中的表达,从而增强癌细胞的侵袭转移和增殖能力<sup>[7,19]</sup>。鉴于 MMP-2 已被证实是多种血管疾病中促进平滑肌细胞增殖和迁移的关键因子,我们推测 ETV5 可能部分通过上调 VSMC 中 MMP-2 的表达发挥其促增殖和迁移的生物学作用,未来需进一步验证。

综上所述,ETV5 在病理条件下,可能会受到多种分子机制的调控,上调其在 VSMC 中的表达,进而导致 VSMC 向合成型表型转变,并调节 VSMC 的增殖和迁移。然而,ETV5 介导 VSMC 表型转化的更深入的分子生物学机制仍有待今后的进一步研究。

### [参考文献]

- [1] OWENS G K, KUMAR M S, WAMHOFF B R. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease[J]. *Physiol Rev*, 2004, 84: 767-801.
- [2] ALEXANDER M R, OWENS G K. Epigenetic control of smooth muscle cell differentiation and phenotypic switching in vascular development and disease [J]. *Annu Rev Physiol*, 2012, 74: 13-40.
- [3] RZUCIDLO E M, MARTIN K A, POWELL R J. Regulation of vascular smooth muscle cell differentiation[J]. *J Vasc Surg*, 2007, 45 (Suppl A): A25-A32.
- [4] LIU R, JIN Y, TANG W H, QIN L, ZHANG X,

- TELLIDES G, et al. Ten-eleven translocation-2 (TET2) is a master regulator of smooth muscle cell plasticity[J]. *Circulation*, 2013, 128: 2047-2057.
- [5] COLAS E, MUINELO-ROMAY L, ALONSO-ALCONADA L, LLAURADO M, MONGE M, BARBAZAN J, et al. ETV5 cooperates with LPP as a sensor of extracellular signals and promotes EMT in endometrial carcinomas [J]. *Oncogene*, 2012, 31: 4778-4788.
- [6] SHARROCKS A D. The ETS-domain transcription factor family[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2: 827-837.
- [7] MONGE M, COLAS E, DOLL A, GONZALE M, GIL-MORENO A, PLANAGUMA J, et al. ERM/ETV5 up-regulation plays a role during myometrial infiltration through matrix metalloproteinase-2 activation in endometrial cancer[J]. *Cancer Res*, 2007, 67: 6753-6759.
- [8] SAITO A. EMT and EndMT: regulated in similar ways? [J]. *J Biochem*, 2013, 153: 493-495.
- [9] YOSHIDA T, OWENS G K. Molecular determinants of vascular smooth muscle cell diversity[J]. *Circ Res*, 2005, 96: 280-291.
- [10] SHANKMAN L S, GOMEZ D, CHEREPANOVA O A, SALMON M, ALENCAR G F, HASKINS R M, et al. KLF4-dependent phenotypic modulation of smooth muscle cells has a key role in atherosclerotic plaque pathogenesis[J]. *Nat Med*, 2015, 21: 628-637.
- [11] O'BRIEN E R, MA X, SIMARD T, POURDJABBAR A, HIBBERT B. Pathogenesis of neointima formation following vascular injury [J]. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*, 2011, 11: 30-39.
- [12] KUMAR-SINHA C, TOMLINS S A, CHINNAIYAN A M. Recurrent gene fusions in prostate cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8: 497-511.
- [13] ALONSO-ALCONADA L, ERITJA N, MUINELO-ROMAY L, BARBAZAN J, LOPEZ-LOPEZ R, MATIAS-GUIU X, et al. ETV5 transcription program links BDNF and promotion of EMT at invasive front of endometrial carcinomas[J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35: 2679-2686.
- [14] AKAGI T, KUURE S, URANISHI K, KOIDE H, COSTANTINI F, YOKOTA T. ETS-related transcription factors ETV4 and ETV5 are involved in proliferation and induction of differentiation-associated genes in embryonic stem (ES) cells[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290: 22460-22473.
- [15] CHEREPANOVA O A, GOMEZ D, SHANKMAN L S, SWIATLOWSKA P, WILLIAMS J, SARMENTO O F, et al. Activation of the pluripotency factor OCT4 in smooth muscle cells is atheroprotective [J]. *Nat Med*, 2016, 22: 657-665.
- [16] MAK I W, SINGH S, TURCOTTE R, GHERT M. The epigenetic regulation of SOX9 by miR-145 in human chondrosarcoma [J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116: 37-44.
- [17] CHENG Y, LIU X, YANG J, LIN Y, XU D Z, LU Q, et al. MicroRNA-145, a novel smooth muscle cell phenotypic marker and modulator, controls vascular neointimal lesion formation[J]. *Circ Res*, 2009, 105: 158-166.
- [18] 吴素慧,张静,李颖,李建民. ETV5 与 MMP-7 在早期宫颈癌组织中的表达及其在转移中的作用[J]. *癌症*, 2006, 25: 315-319.
- [19] POWER P F, MAK I W, SINGH S, POPOVIC S, GLADDY R, GHERT M. ETV5 as a regulator of matrix metalloproteinase 2 in human chondrosarcoma [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31: 493-501.

[本文编辑] 杨亚红