

慢性阻塞性肺疾病的早期诊断生物标志物初筛

严琼¹, 黄忠辉², 朱卫华¹, 左斌¹, 蓝芬¹, 陈子谓¹,
王钊逸^{3,4}, 张艳利^{3,5*}, 王新明^{3,5}

(1.广州市第十二人民医院呼吸内科, 广东 广州 510620; 2.环境保护部华南环境科学研究所
国家环境保护环境污染健康风险评估重点实验室 广东省水与大气污染防治重点实验室;
3.中国科学院广州地球化学研究所 有机地球化学国家重点实验室 广东省环境资源
利用与保护重点实验室; 4.中国科学院大学; 5.中国科学院城市环境研究所
中国科学院区域大气环境研究卓越创新中心)

摘要: 快速准确的早期诊断技术是有效防治慢性阻塞性肺疾病(COPD)、改善患者生命质量、延长其寿命、降低死亡和减少医疗费用的重要途径,也是当前医学研究中重要前沿科学问题。本研究基于患者呼出气中挥发性有机物携带大量的生理、病理信息,利用质子转移反应-飞行时间质谱仪,分析了15例患者和50例健康对照组的呼出气中挥发性有机物的组分及浓度。初步筛选出18种COPD患者的特征性呼气化合物,其中5种化合物与前人的研究一致,可作为生物标志物应用于COPD的早期诊断。另外13种新发现的化合物,具备作为生物标志物应用于COPD早期诊断的前景,但仍需进一步的研究以证实。本研究丰富了COPD生物标志物库,对于建立非侵入性、快捷的COPD早期诊断方法具有重要支撑作用。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病; 呼气分析; 挥发性有机物; 生物标志物; 质子转移反应-飞行时间质谱仪

中图分类号:R563

文献标识码:A

Preliminary screening of biomarkers for early diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease

YAN Qiong, HUANG Zhonghui, ZHU Weihua, ZUO Bin, LAN Fen,
CHEN Ziwei, WANG Zhaoyi, ZHANG Yanli, WANG Xinming

(Department of Respiratory Diseases, Guangzhou No.12 People's Hospital, Guangzhou 510620,
Guangdong, China)

Abstract: The techniques for fast, accurate and early diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are the important access to effective prevention and cure of COPD, improving the quality of their life, extending their life span, decreasing their mortality and reduction in the treatment costs. Also they are the leading-edge issues in current medicine study in the world. In the present study, based on the large amount of physio-pathological information included in the volatile organic compounds (VOCs) from the exhaled air of the patients, the proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry was employed to determine the components and concentrations of VOCs in inhaled and exhaled air from 15 patients of COPD and 50 healthy controls. The results showed that 5 compounds, out of the 18 compounds which were preliminarily screened as the distinctive components of the exhaled air from COPD in the present study, are consent with the results of other research, and might be used as biomarkers for the early diagnosis of COPD. Additionally, the 13 novel compounds are perspective biomarkers for the early diagnosis of COPD, but needed further deep investigation. The data of this

收稿日期:2018-09-12;修回日期:2018-10-20

基金项目:国家自然科学基金委员会(编号:41571130031);广东省自然科学基金委员会(编号:2016A030313164);广州市卫生和计划生育委员会(编号:20161A010050).

* 通信作者, E-mail: zhang_yl86@gig.ac.cn.

study had enriched the biomarkers for COPD and will take an important role in the establishment of the fast-and-noninvasive early diagnosis of COPD in the future.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease (COPD); breath air analysis; volatile organic compounds (VOCs); biomarkers; proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometer (PTR-TOF-MS)

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是全世界的常见多发的呼吸系统疾病, 每年导致全球超过三百万人死亡, 其中我国占一百多万, 已成为全球 (特别是我国) 的重要公共健康问题^[1-7]。COPD 的早期诊断和治疗能显著改善患者的生命质量、降低死亡率, 并减少其医疗费用。然而, 当前 COPD 的诊断方法仍是传统的肺功能检查, 但该方法存在不适用于所有年龄段的患者和无法进行早期诊断等诸多的局限性^[8-10]。因此, 突破传统诊断方法的局限性, 发展新的 COPD 早期诊断方法则显得十分重要。

人体呼出气体中的挥发性有机物 (volatile organic compounds, VOCs) 携带大量的生理和病理信息, 因此, 基于呼出气 VOCs 分析将可为 COPD 的诊断提供有效的生物标志物, 从而为快速评估疾病状态提供新的方法学支持^[11]。但目前有关于 COPD 呼吸气诊断方面的研究相对较少, 且存在: (1) 主要采用离线采样和离线分析, 无法满足快速诊断的要求; (2) 前期研究结果千差万别, 至今没有获得普适性的生物标志物等局限性^[9, 12-18]。因此, 本研究利用在线分析仪器质子转移反应-飞行时间质谱仪 (proton transfer reaction-time of flight-mass spectrometer, PTR-TOF-MS) 对比检测与分析 15 例 COPD 患者和 50 位与之匹配的健康者的吸入气和呼出气中 VOCs 的组分及浓度, 期望获得更多的 COPD 的生物标记物, 丰富生物标记物库, 为建立 COPD 呼吸气早期诊断的方法提供基础科学数据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究招募了 65 名志愿者: 15 例 COPD 患者和 50 位与之匹配的对照健康者。15 例患者为广州市第十二人民医院呼吸内科收治的 COPD 患者。所有受试患者均经临床诊断确认患有 COPD, 符合慢性阻塞性肺疾病全球倡议 (global initiative for chronic obstructive lung disease, GOLD) 标准^[19]。根据 GOLD 指导方针, 受试患者中 5 例被诊断为轻度或中度 COPD (GOLD 阶段 I/II), 10 例被诊断为重度或极重度 COPD (GOLD 阶段 III/IV)。在呼吸气样品采集前, 所有受试者依据国际 GOLD

指南推荐的呼吸量测定法, 进行肺功能检查来确定患者的 COPD 发展阶段, 主要的分析参数包括一秒用力呼气量 (forced expiratory volume in 1 second, FEV1)、FEV1% 预测值、用力肺活量 (forced vital capacity, FVC) 和 FEV1/FVC。本研究获得广州市第十二人民医院伦理委员会批准。所有受试者均自愿签署知情同意书和填写个人信息表, 具体包括性别、年龄、身高、体重、身体质量指数 (body mass index, BMI)、吸烟喝酒状况和个人及家族的过去病史。COPD 患者和健康对照组的基础数据见表 1。

表 1 COPD 患者和健康对照组的基础数据

	重度与极重度患者 (10)	轻度与中度患者 (5)	健康对照组 (50)
吸烟状态	-	-	-
从不吸烟	2	2	50
已戒烟	6	2	0
吸烟	2	1	0
烟龄 (年)	26.0±17.9	19.0±24.1	0
BMI (kg/m ²)	16.8±1.0	22.8±3.8	21.4±2.7
FEV1% 预测值	25.0±4.2	62.0±10.9	98.0±3.6
FEV1	0.6±0.1	1.4±0.2	4.1±0.7
FEV1/FVC (%)	55.6±14.6	66.4±6.0	95.1±3.8

1.2 主要仪器与装置 肺功能测定仪 (型号: MICRO QUARK; 厂家: COSMED the Metabolic Company, 罗马, 意大利); 2L 泰德龙采气袋 (厂家: 大连德霖气体包装有限公司, 大连, 中国); 质子转移反应-飞行时间质谱仪 (型号: PTR-TOF 2000; 厂家: Ionicon Analytik GmbH, 因斯布鲁克, 奥地利)。

1.3 呼吸气采集和分析 在采集呼吸气样品之前, 所有受试者被要求在采样前至少一个小时内不能吸烟、吃食物、喝饮料 (除水以外) 和刷牙, 并用纯净水漱口。其中, 受试患者还须在采样前 24 小时停止使用长效支气管扩张剂或 12 小时停止吸入短效支气管扩张剂和糖皮质激素。

使用 2L 泰德龙采气袋采集每位受试者的一个吸入气 (即周围环境空气) 样品和两个呼出气样品。吸入气采集是使用玻璃注射器将受试者周围环境空气注入气袋中; 而呼出气采集则是通过一段特氟龙管由受试者将肺部气体经口腔多次吹入采气袋,

且选择采集呼出潮气末期的气体样品。所有样品均在室温下保存,样品采集后 2 h 内完成分析。

1.4 质量保证和质量控制 本研究应用 PTR-TOF Data Analyzer (version 4.49) 软件处理实验数据^[20], 选用水合氢离子同位素($H_3^{18}O^+$, m/z 21.022)、水团簇离子同位素($H_5^{18}O^{16}O^+$; m/z 39.033)、质子化的丙酮($(C_3H_6O)H^+$; m/z 59.049)和质子化的 1,2,4-三氯苯($(C_6H_3Cl_3)H^+$, m/z 180.937) 进行质量校准。标准曲线的线性相关系数 R^2 均大于 0.997。各化合物的灵敏度,即标准化的信号响应(normalized counts per second, ncps)与其对应浓度水平(part per billion by volume, ppbv),在 10.51~40.08 ncps/ppbv 之间。本研究中标准曲线的斜率即为灵敏度,也是校正因子^[21]。方法检测限在 0.039~0.086 ppbv 之间,分析仪器的精密度(相对标准偏差)小于 7%,准确度在 $\pm 13\%$ 之间。

考虑吸入气和呼出气中湿度的巨大差异对目标化合物信号响应的影响,本研究应用 de Gouw 等^[22] 建议的方法计算生成物离子信号标准化响应。根据 Stockwell 等^[21] 和 Sarkar 等^[23] 提议的质量相关的灵敏度算法,对本研究报道的但标气不含有化合物进行定量计算。

1.5 统计学分析 实验数据应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料均以均数 \pm 标准差表示。当数据通过正态性检验($P>0.05$)时, t 检验被用于检验两类独立样本的统计性差异。而当正态分布、方差齐性不能达到 t 检验的要求时,则使用非参数检验方法:曼-惠特尼 U 检验。双尾显著性检验被用于检验研究结果, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 COPD 患者与健康对照组呼出气对比 本研究从质谱图中共提取出 285 个质量峰。首先,筛选出内源 VOCs,当某化合物在呼出气中浓度高于吸入气中浓度,则该化合物可能是内源化合物,会被选为候选生物标记物。然后,为了消除环境影响,候选标志物显示的浓度均是呼出气浓度减去吸入气浓度的结果。最后,通过统计分析 COPD 患者与健康对照组呼出气 VOCs 浓度,发现 18 种 VOCs 在这两类人群中差异具有显著性($P<0.05$,表 2)。因此,这 18 种 VOCs 被确定为 COPD 呼出气的生物标志物,它们分别是丙炔、丙烯、乙醛、乙醇、乙酸、甲基乙烯基酮(methyl vinyl ketone, MVK)/甲基丙

烯醛(methylacrolein, MACR)/丁烯醛、丁酮/正丁醛、丁胺、丙酸、环己二烯、戊烯醛、2-甲基丁醛、乙酸乙酯、丁酸、苯酚、二甲基苯甲醛、3,7-二甲基-1,3,6-辛三烯(罗勒烯)和松油醇。

表 2 COPD 患者与健康对照组呼出气 VOCs 标志物的浓度及 P 值统计

标志物	COPD 患者 (ppbv)	健康对照组 (ppbv)	P 值
丙炔	16.61 \pm 5.79	2.17 \pm 0.91	0.000
丙烯	32.54 \pm 15.91	4.44 \pm 2.51	0.012
乙醛	63.74 \pm 25.27	1.94 \pm 1.03	0.000
乙醇	1.99 \pm 1.03	11.14 \pm 1.03	0.023
乙酸	23.06 \pm 13.93	2.96 \pm 1.79	0.031
MVK/MACR/丁烯醛	0.76 \pm 0.85	0.04 \pm 0.03	0.028
丁酮/丁醛	12.81 \pm 9.38	0.29 \pm 0.17	0.000
丁胺	1.27 \pm 0.42	0.06 \pm 0.04	0.000
丙酸	5.16 \pm 3.01	1.11 \pm 0.45	0.036
环己二烯	16.22 \pm 24.05	0.06 \pm 0.06	0.001
戊烯醛	0.70 \pm 0.79	0.04 \pm 0.02	0.019
2-甲基丁醛	2.14 \pm 0.77	0.05 \pm 0.04	0.000
乙酸乙酯	7.91 \pm 3.45	0.70 \pm 0.41	0.000
丁酸	14.64 \pm 3.88	1.83 \pm 0.89	0.000
苯酚	83.47 \pm 32.47	12.04 \pm 5.93	0.022
二甲基苯甲醛	0.53 \pm 0.58	0.03 \pm 0.02	0.001
罗勒烯	87.70 \pm 99.00	0.22 \pm 0.18	0.001
松油醇	0.83 \pm 0.98	0.02 \pm 0.01	0.001

此外,丙炔、乙醛、丁酮/丁醛、丁胺、2-甲基丁醛、乙酸乙酯和丁酸在 COPD 患者和健康志愿者之间具有更高水平的显著性差异($P<0.001$),它们的浓度在 COPD 患者和健康对照组之间没有重叠交集。因此,上述 7 种 VOCs 被认为是显著的 COPD 生物标志物。

2.2 COPD 早期与晚期患者呼出气对比 统计分析显示 COPD 早期(包括轻度和中度)与晚期(包括重度和极重度)患者的呼出气标志物浓度差异无显著性($P>0.05$,表 3)。

3 讨 论

COPD 是全世界的常见多发的呼吸系统疾病,每年导致全球超过三百万人死亡^[24]。尤其是在我国,COPD 更为盛行,从 1990 年~2013 年它一直高居全国第三大致死病因,每年大约一百万人死于该

表 3 COPD 早期与晚期患者呼出气 VOCs 标志物的浓度及 P 值统计

标志物	轻度与中度患者 (ppbv)	重度与极重度患者 (ppbv)	P 值
丙炔	17.10±8.22	16.38±4.44	0.752
丙烯	37.69±13.54	30.09±16.67	0.220
乙醛	53.15±16.59	69.06±19.49	0.121
乙醇	1.87±1.35	2.04±0.86	0.673
乙酸	20.63±8.97	24.21±15.83	0.430
MVK/MACR/丁烯醛	0.65±0.37	0.96±0.94	0.258
丁酮/丁醛	11.33±5.42	13.52±10.82	0.554
丁胺	1.17±0.36	1.32±0.45	0.345
丙酸	5.61±2.65	4.95±3.22	0.555
环己二烯	15.24±9.8	21.45±26.25	0.348
戊烯醛	0.45±0.46	0.83±0.89	0.126
2-甲基丁醛	2.06±0.62	2.18±0.84	0.676
乙酸乙酯	6.46±4.04	8.60±2.99	0.106
丁酸	14.46±2.22	16.30±3.08	0.104
苯酚	80.95±18.61	96.10±23.49	0.085
二甲基苯甲醛	0.36±0.43	0.61±0.63	0.272
罗勒烯	62.19±82.57	99.85±105.61	0.291
松油醇	0.50±0.54	0.99±1.11	0.107

病,约占全球 COPD 死亡人数的三分之一^[3-4]。早期诊断和治疗是改善 COPD 患者的生命质量、延长寿命、降低死亡和降低医疗费用的关键。然而早期 COPD 呼吸症状在临床表现不明显,现行的肺功能检查不能对该阶段疾病做出全面准确的诊断^[9]。因此,发展一种非侵入性且快捷的 COPD 早期诊断方法,则具有十分重要的实际应用意义。基于呼出气 VOCs 生物标志物分析的 COPD 诊断方法具备上述的优点,将是一种全新的评估 COPD 手段,从而为 COPD 的早期诊断提供新的思路。

本研究通过对比分析获得 18 种 COPD 的特征性呼气生物标志物,其中有 5 种化合物与前人的研究一致:罗勒烯和松油醇与 Van Berkel 等^[12]研究发现一致;2-甲基丁醛则被 Cristescu 等^[13]认为是肺气肿(COPD 晚期症状)的生物标志物;乙酸和苯酚则分别为 Phillips 等^[14]及 Gaida 等^[15]提出为 COPD 呼出气生物标志物;Allers 等^[16]在两种检测仪器中均发现的生物标志物:2-戊酮与本研究现的生物标志物 2-甲基丁醛是同分异构体,它们分子质量均为 86 amu。上述 5 种化合物可确定为 COPD 患者呼出气的特征性生物标志物,应用于 COPD 的诊断。

本研究首次报道的 13 种 COPD 患者呼出气特

征性化合物:丙炔、丙烯、乙醛、乙醇、甲基乙烯基酮(methyl vinyl ketone, MVK)/甲基丙烯醛(methylacrolein, MACR)/丁烯醛、丁酮/正丁醛、丁胺、丙酸、环己二烯、戊烯醛、乙酸乙酯、丁酸和二甲基苯甲醛,特别是其中的丙炔、乙醛、丁酮/丁醛、丁胺、2-甲基丁醛、乙酸乙酯和丁酸在 COPD 患者与健康者之间具有极显著性差异($P < 0.001$,表 2),具有作为 COPD 诊断生物标志物的潜在价值,但由于本研究招募到的 COPD 患者数不多,尚需进一步的深入研究。

此外,本研究获得的 18 种 COPD 生物标志物在 COPD 早期与晚期阶段浓度无显著性差异,表明这些标志物的浓度不会随着 COPD 的恶化程度而发生变化,但与健康者比较具有显著性的差异。因此,它们具有应用于 COPD 早期诊断的价值。

本研究的不足之处:实验中患病受试者数目相对较少,仅有 15 名受试者。后续我们将招募更多的 COPD 患者与健康对照者,从而提供更加可靠的统计分析结果。

综上所述,本研究初步筛选得到 18 种 COPD 患者的呼气特征性化合物,丰富了 COPD 呼出气的生物标志物库,其中 5 种与不同研究者基于不同国家或地区人群数据分析的结果一致,具有应用于 COPD 早期诊断的价值。13 种新报道的化合物具有应用于 COPD 早期诊断的潜在价值,尚需后续进一步的研究证实。

参考文献:

- [1] FANG LW, GAO P, BAO HL, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in China: a nationwide prevalence study [J]. *Lancet Respir Med*, 2018, 6 (6): 421-30.
- [2] FOROUZANFAR MH, AFSHIN A, ALEXANDER LT, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 [J]. *Lancet*, 2017, 388 (10053): 1659-724.
- [3] ZHOU MG, WANG HD, ZHU J, et al. Cause-specific mortality for 240 causes in China during 1990-2013: a systematic subnational analysis for the global burden of disease study 2013 [J]. *Lancet*, 2016, 387 (10015): 251-72.
- [4] YANG GH, WANG Y, ZENG YX, et al. Rapid health transition in China, 1990-2010: findings from the global burden of disease study 2010 [J]. *Lancet*, 2013, 381 (9882): 1987-2015.
- [5] ZHONG NS, WANG C, YAO WZ, et al. Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease in China: a large, population-based survey [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 176 (8): 753-60.
- [6] 王菲菲,赵永东,聂静,等.大气细颗粒物对动脉粥样硬化影响

- 的研究进展[J].中国动脉硬化杂志,2016,24(8):850-4.
- [7] 王俊,唐琳梅,梅永,等.高龄胆胰疾病患者治疗性内镜逆行胰胆管造影的临床特点及并发症分析[J].中国内镜杂志,2018,24(5):7-11.
- [8] 邵长周.慢性阻塞性肺疾病的临床表型个体化治疗[J].中南医学科学杂志,2017,45(6):541-3.
- [9] JARENO-ESTEBAN JJ, MUNOZ-LUCAS MA, GOMEZ-MARTIN O, et al. Study of 5 volatile organic compounds in exhaled breath in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Arch Bronconeumol, 2017, 53 (5): 251-6.
- [10] BESA V, TESCHLER H, KURTH I, et al. Exhaled volatile organic compounds discriminate patients with chronic obstructive pulmonary disease from healthy subjects [J]. Int J Chronic Obstr Pulm Dis, 2015, 10: 399-406.
- [11] ANDERS C, JESPER RD, INGRID T, et al. A systematic review of breath analysis and detection of volatile organic compounds in COPD [J]. J Breath Res, 2016, 10 (3): 034002.
- [12] VAN BERKEL J, DALLINGA JW, MOLLER GM, et al. A profile of volatile organic compounds in breath discriminates COPD patients from controls [J]. Respir Med, 2010, 104 (4): 557-63.
- [13] CRISTESCU SM, GIETEMA HA, BLANCHET L, et al. Screening for emphysema via exhaled volatile organic compounds [J]. J Breath Res, 2011, 5 (4): 046009.
- [14] PHILLIPS CO, SYED Y, MAC PARTHALAIN N, et al. Machine learning methods on exhaled volatile organic compounds for distinguishing COPD patients from healthy controls [J]. J Breath Res, 2012, 6 (3): 036003.
- [15] GAIDA A, HOLZ O, NELL C, et al. A dual center study to compare breath volatile organic compounds from smokers and non-smokers with and without COPD [J]. J Breath Res, 2016, 10 (2): 026006.
- [16] ALLERS M, LANGEJUERGEN J, GAIDA A, et al. Measurement of exhaled volatile organic compounds from patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) using closed gas loop GC-IMS and GC-APCI-MS [J]. J Breath Res, 2016, 10 (2): 026004.
- [17] SINUES PML, MEIER L, BERCHTOLD C, et al. Breath analysis in real time by mass spectrometry in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Respiration, 2014, 87 (4): 301-10.
- [18] BASANTA M, IBRAHIM B, DOCKRY R, et al. Exhaled volatile organic compounds for phenotyping chronic obstructive pulmonary disease: a cross-sectional study [J]. Respir Res, 2012, 13 (72): 1-9.
- [19] RABE KF, HURD S, ANZUETO A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 176 (6): 532-55.
- [20] MUELLER M, MIKOVINY T, JUD W, et al. A new software tool for the analysis of high resolution PTR-TOF mass spectra [J]. Chemom Intell Lab Syst, 2013, 127: 158-65.
- [21] STOCKWELL CE, VERES PR, WILLIAMS J, et al. Characterization of biomass burning emissions from cooking fires, peat, crop residue, and other fuels with high-resolution proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometry [J]. Atmos Chem Phys, 2015, 15 (2): 845-65.
- [22] DE GOUW JA, GOLDAN PD, WARNEKE C, et al. Validation of proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS) measurements of gas-phase organic compounds in the atmosphere during the New England Air Quality Study (NEAQS) in 2002 [J]. J Geophys Res Atmos, 2003, 108 (D21): 4682.
- [23] SARKAR C, SINHA V, KUMAR V, et al. Overview of VOC emissions and chemistry from PTR-TOF-MS measurements during the SusKat-ABC campaign: high acetaldehyde, isoprene and isocyanic acid in wintertime air of the Kathmandu Valley [J]. Atmos Chem Phys, 2016, 16 (6): 3979-4003.
- [24] RABE KF, WATZ H. Chronic obstructive pulmonary disease [J]. Lancet, 2017, 389 (10082): 1931-40.

(本文编辑:蒋湘莲)

(上接第 596 页)

- [9] ANSEN TM, MOSSA J, BRINDLEN P. Vascular endothelial growth factor and angiopoietins in neurovascular regeneration and Protection following stroke[J]. Curr Neurovasc Res, 2008, 5(4): 236-45.
- [10] PARK SS, MOISSEIEV E, BAUER G, et al. Advances in bone marrow stem cell therapy for retinal dysfunction [J]. Prog Retin Eye Res, 2016, 56(1): 148-65.
- [11] XIANG BX, LIU TT, SUN FL, et al. Advances in research on VEGF-related signaling pathways in angiogenesis [J]. Chin J Comp Med, 2015, 25(12): 81-5.
- [12] FUNAHSSHI Y, SHAWBER CJ, SHARMA A, et al. Notch modulates VEGF action in endothelial cells by inducing Matrix Metalloprotease activity[J]. Vascular Cell, 2011, 3(1): 2-8.
- [13] TSAI JL, LEE YM, PAN CY, et al. The novel VEGF121-VEGF165 fusion attenuates angiogenesis and drug resistance via targeting VEGFR2-HIF-1 α -VEGF165/L on signaling through PI3K-AKT-m TOR pathway[J]. Curr Cancer Drug Targ, 2016, 16(3): 275-86.
- [14] YE X, ABOU-RAYYAH Y, BISCHOFF J, et al. Altered ratios of pro- and anti-angiogenic VEGF-A variants and pericyte expression of DLL4 disrupt vascular maturation in infantile haemangioma [J]. Journal of Pathology, 2016, 239(2): 139-51.
- [15] NEDVETSKY PI, ZHAO X, MATHIVET T, et al. cAMP-dependent protein kinaseA (PKA) regulates angiogenesis by modulating tip cell behavior in aNotch-independent manner[J]. Development, 2016, 143(19): 3582-90.

(本文编辑:蒋湘莲)