

论著·实验研究

脾酪氨酸激酶对大鼠肺血管平滑肌细胞增殖的作用

罗勤 高正祥 曹丽丽 余莉 王涛 刘瀚旻

(四川大学华西第二医院儿科,四川 成都 610041)

[摘要] 目的 研究脾酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, Syk)在血小板源性生长因子BB(platelet-derived growth factor-BB, PDGF-BB)诱导大鼠肺血管平滑肌细胞(PVSMCs)增殖中的作用。方法 体外培养雄性 Sprague-Dawley 大鼠 PVSMCs,经鉴定后选用3~5代细胞,经PDGF-BB诱导细胞增殖后,用3种不同剂量 Syk 选择性抑制剂 piceatannol 干预,以 MTT 比色法测定细胞增殖,³H-TdR 掺入法检测细胞 DNA 合成,流式细胞仪检测细胞周期,荧光定量 PCR、Western blot 分别检测细胞 Syk mRNA 和蛋白表达水平。结果 PDGF-BB 刺激后,Syk 蛋白表达水平明显增高,细胞显著增殖;经 Syk 抑制剂 piceatannol 干预后,随着 Syk mRNA 和蛋白表达水平的降低,细胞的增殖受到明显抑制,其抑制作用与剂量大小具有相关性。结论 在 PDGF-BB 诱导下的大鼠肺血管平滑肌细胞增殖中, Syk 可能起促进作用。 [中国当代儿科杂志,2010,12(11):886-890]

[关键词] 脾酪氨酸激酶;血管平滑肌细胞;细胞增殖;血小板源性生长因子;大鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)11-0886-05

Effect of spleen tyrosine kinase on the proliferation of pulmonary vascular smooth muscle cells in rats

LUO Qin, GAO Zheng-Xiang, CAO Li-Li, YU Li, WANG Tao, LIU Han-Min. Department of Pediatrics, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China (Liu H-M, Email: myuxuan@163.net)

Abstract: Objective To investigate the role of spleen tyrosine kinase (Syk) in rat pulmonary vascular smooth muscle cells (PVSMCs) proliferation induced by platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB). **Methods** PVSMCs from male Sprague-Dawley rats were cultured *in vitro* and the cells of passages 3-5 were used in the experiment. PVSMCs were stimulated by PDGF-BB and were treated with three different doses of piceatannol, a Syk selective inhibitor. Cell proliferation was assessed by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay. DNA synthesis was measured by ³H-thymidine incorporation (³H-TdR). Cellular cycle was observed by flow cytometry. Syk mRNA and protein expression were detected using real-time quantitative PCR and Western blot, respectively. **Results** The expression of Syk protein of PVSMCs was significantly up-regulated following PDGF-BB stimulation. PDGF-BB stimulation dramatically increased PVSMCs proliferation. After piceatannol treatment, both Syk mRNA and protein expression decreased and the proliferation of PVSMCs was inhibited in a dose-dependent manner. **Conclusions** Syk may promote PVSMCs proliferation induced by PDGF-BB. [Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (11):886-890]

Key words: Spleen tyrosine kinase; Vascular smooth muscle cell; Cell proliferation; Platelet-derived growth factor; Rats

大量左向右分流的先天性心脏病,肺血流增加,导致高动力性肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH),若不及早治疗,肺血管床将发生不可逆改变,严重影响预后。病理学研究表明,多种生长因子、细胞因子参与的肺血管重构(vascular remodeling)是PH一个基本的病理学特征^[1],而肺血管平滑肌细胞(pulmonary vascular smooth muscle cells, PVSMCs)的增殖是其中心环节。

在人体和动物模型中已被证实,血小板源性生

长因子BB(platelet-derived growth factor, PDGF-BB)在PH的PVSMCs增殖中起重要作用^[2],具体机制尚未阐明。脾酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, Syk)通路是近年来备受关注的蛋白激酶通路。已有研究者发现 Syk 参与了大鼠主动脉平滑肌细胞的迁移与增殖^[3-4],但在PVSMCs增殖中的作用尚不明了。本实验采用 Syk 的选择性抑制剂 piceatannol 干预经 PDGF-BB 刺激的大鼠 PVSMCs 增殖,探讨 Syk 在不同刺激条件下的表达,以及在 PVSMCs 增殖中

[收稿日期]200-01-31;[修回日期]2010-03-30
[基金项目]国家自然科学基金项目资助(30872783)。
[作者简介]罗勤,男,硕士,医师。
[通信作者]刘瀚旻,教授。

的作用,为逆转肺血管重构、改善 PH 提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 PVSMCs 的培养和实验分组

选用体重 100 ~ 120 g 的雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠(由四川大学华西动物实验中心提供),断颈椎方法处死后,在无菌条件下分离肺动脉,剥除外膜,纵向剪开血管,再用消毒棉签轻轻刮去血管内膜后,将组织剪成小块。将含有 10% 胎牛血清的 m199 培养基 (Hyclone 公司,美国)作为培养液,采用组织块贴壁法收集 PVSMCs,37°C、5% CO₂ 条件下静置培养。实验选用生长状态良好的 3 ~ 5 代细胞,PVSMCs 由免疫组化和形态学证实。

细胞根据有否予 PDGF-BB 刺激和 piceatannol 干预随机分成 5 组。①对照组:无血清 m199 培养液培养;② PDGF-BB 组:予终浓度 10 ng/mL PDGF-BB (R&D 公司,美国);③ PDGF-BB + 低剂量 piceatannol 组(简称低剂量 piceatannol 组):予终浓度 10 ng/mL PDGF-BB 和 1 μmol/L piceatannol (Alexis 公司,德国);④ PDGF-BB + 中剂量 piceatannol 组(简称中剂量 piceatannol 组):予终浓度 10 ng/mL PDGF-BB 和 10 μmol/L piceatannol;⑤ PDGF-BB + 高剂量 piceatannol 组(简称高剂量 piceatannol 组):予终浓度 10 ng/mL PDGF-BB 和 30 μmol/L piceatannol。

1.2 四甲基偶氮唑盐 (MTT) 比色测定细胞增殖

细胞以每孔 200 μL、3 ~ 5 × 10⁵/mL 的密度接种于 96 孔培养板,继续培养至细胞融合约 60% ~ 70%,弃去原培养液,加入无血清 m199 培养基 24 h 后按分组加药,分别于 24 h、48 h、72 h 终止,每孔加入 MTT (Sigma 公司,美国)溶液 (5 mg/mL) 20 μL,继续孵育 4 h 后终止,弃去培养基,每孔加入 150 μL DMSO,振荡 10 min 后,选择 492 nm 波长在酶联免疫检测仪上测定各孔吸光度 (A) 值。

1.3 ³H-TdR 掺入测定细胞 DNA 合成水平

细胞以每孔 500 μL、3 ~ 5 × 10⁵/mL 的密度接种于 24 孔培养板,继续培养至细胞融合达 60% ~ 70%,弃去原培养液,加无血清 m199 培养基 24 h 后按分组加药,分别于 24 h、48 h 和 72 h 终止,加入氚标记的胸腺嘧啶 (³H-TdR),继续孵育 5 h 后,闪烁计数,测定各孔脉冲数 (cpm) 即氚掺入值。

1.4 流式细胞仪检测细胞周期

细胞以每孔 2 mL、3 ~ 5 × 10⁵/mL 的密度接种于 6 孔板,继续培养至细胞融合至 70% 左右,加入

无血清 m199 培养基 24 h 后分组加药,并于 24 h、48 h、72 h 后终止,以酶消化法收集细胞,冷的磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤细胞沉淀 3 次后,吸干液体,加入 70% 冰乙醇固定,吹打成单细胞悬液,调整细胞浓度为 10⁶/mL,0.5 mL/L 碘化丙啶 (PI) 染色后,流式细胞仪 (EPICS ELITE ESP, Coulter Company, 美国) 进行细胞周期测定,重复 3 次。

1.5 荧光定量 PCR 检测 Syk mRNA 的表达

细胞经上述不同分组条件处理后分别于 6 h、12 h 和 24 h 后收集,Trizol (TIANGEN 公司,北京) 提取总 RNA,紫外分光光度仪测定总 RNA 浓度和纯度,A260 和 A280 比值均大于 1.8。参照 TOYOBO 公司的逆转录试剂盒说明书进行操作。Syk 基因和内参 GAPDH 基因引物用 Primer Express 2.0 软件设计。Syk 基因上游序列:5'-GAGCTTCGGAGTCCCTGATGTG-3',下游序列:5'-GCAGTC ACTTCGCTCCCTTT-3',Syk 探针 5'-fam + CCTACGGGCAGAAGCCATACAGAG GGAT + tamra-3';GAPDH 基因上游序列:5'-TGGAGTCTACT-GGCGTCTT-3'下游序列:5'-TGTCATATTTCTCGTGGT-TCA-3',GAPDH 探针:5'-fam + CTGA AGGGTGGGGC-CAAAAG + tamra-3'。反应体系为 50 μL。扩增条件:93°C、4 min,93°C、20 s,60°C、30 s,循环 40 次。荧光定量 PCR 在 FTC-2000 荧光定量 PCR 仪 (FUNGLYN 公司,加拿大) 上进行,软件分析,重复 3 次。

1.6 Western blot 检测 Syk 蛋白的表达

细胞在药物刺激 24 h 后终止,以酶消化法收集,冷 PBS 洗涤 3 次,冰上加 NP-40 裂解液 (碧云天公司) 至各组细胞,振荡 15 min,4°C、14 000 r/min 离心 15 min 后,取上清液用 BCA (碧云天公司) 法测定蛋白浓度。蛋白以 50 μg/孔上样,在 10% SDS-PAGE 凝胶中进行电泳分离,用湿转法将蛋白质从凝胶中转至 PVDF 膜 (Milipore 公司,美国),脱脂奶粉封闭 2 h 后,加一抗 (兔多克隆抗 Syk 抗体,1:200 稀释;小鼠单克隆抗 β-actin 抗体,1:2 000 稀释,Santa Cruz 公司,美国) 4°C 孵育过夜,及二抗 (辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG、抗小鼠 IgG,1:3 000 稀释,北京中杉金桥公司) 室温 2 h 后,加 ECL 发光试剂 (Santa Cruz 公司,美国),用凝胶成像仪 (Bio-Rad 公司,美国) 采图,以 Quantity One 软件分析,测定各组 Syk 与 β-actin 的灰度值比值做为 Syk 蛋白的相对表达量,重复 3 次。

1.7 统计学分析

荧光定量 PCR 原始数据值 (Ct 值) 换算为基因的相对表达量 (2^{-ΔΔCt})。各组结果以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间资料方差齐时采用方差分析和 *q*

检验;方差不齐时采用秩和检验。用 SPSS 13.0 软件分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PDGF-BB 及 piceatannol 对 PVMSCs 增殖的影响

2.1.1 MTT 比色法 24 h、48 h PDGF-BB 组 PVMSCs 的 A 值较对照组增高,差异有统计学意义

($P < 0.05$)。24 h 组中,随着 piceatannol 剂量的增高,PVMSCs 的 A 值逐渐降低($P < 0.05$),其中中、高剂量的 piceatannol 组 A 值明显低于 PDGF-BB 组和低剂量组($P < 0.01$; $P < 0.05$)。48 h 组中,中、低剂量 piceatannol 组与 PDGF-BB 组比较,差异无统计学意义,高剂量 piceatannol 组 A 值明显低于 PDGF-BB 组和中、低剂量 piceatannol 组,差异有统计学意义($P < 0.01$; $P < 0.05$);72 h 各组 A 值差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 1)。

表 1 PDGF-BB 及 piceatannol 对 PVMSCs 增殖的影响 ($n = 6, \bar{x} \pm s, A$ 值)

组别	24 h	48 h	72 h
对照	0.117 ± 0.034	0.102 ± 0.026	0.036 ± 0.017
PDGF-BB	0.175 ± 0.028 ^a	0.155 ± 0.039 ^a	0.089 ± 0.018
低剂量 piceatannol	0.152 ± 0.032 ^a	0.135 ± 0.048	0.106 ± 0.034
中剂量 piceatannol	0.115 ± 0.020 ^{c,e}	0.147 ± 0.057	0.087 ± 0.021
高剂量 piceatannol	0.029 ± 0.013 ^{b,c,e,f}	0.072 ± 0.025 ^{d,e,g}	0.064 ± 0.026
F 值	41.432	4.43	2.842
P 值	0.000	0.015	0.064

与对照组相比,a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$;与 PDGF-BB 组相比,c: $P < 0.01$, d: $P < 0.05$;与同时点低剂量 piceatannol 组相比,e: $P < 0.05$;与同时点中剂量 piceatannol 组相比,f: $P < 0.05$,g: $P < 0.01$

2.1.2 ³H-TdR 掺入 PDGF-BB 组 24 h、48 h 和 72 h 3 个时间点的氚掺入值均高于对照组($P < 0.01$);同时 3 个时间点的低、中剂量 piceatannol 组的氚掺入值明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.01$)。24 h 高剂量 piceatannol 组、48 h 3 个不同剂量 piceatannol 组和 72 h 3 个不同剂

量 piceatannol 组的氚掺入值均较 PDGF-BB 组降低($P < 0.05$; $P < 0.01$);24 h 和 48 h 的 3 个不同剂量 piceatannol 组的氚掺入值随着干预剂量增高而逐渐降低($P < 0.01$);72 h 的高剂量 piceatannol 组的氚掺入值明显低于中剂量组($P < 0.05$)(表 2)。

表 2 PDGF-BB 及 piceatannol 对 PVMSCs DNA 合成的影响 ($n = 4, \bar{x} \pm s, \text{cpm}$ 值)

组别	24 h	48 h	72 h
对照	243 ± 29	575 ± 85	143 ± 49
PDGF-BB	2 429 ± 507 ^a	9 635 ± 1 005 ^a	5 775 ± 1 788 ^a
低剂量 piceatannol	2 130 ± 764 ^a	8 618 ± 758 ^{a,d}	1 471 ± 540 ^{b,c}
中剂量 piceatannol	1 887 ± 293 ^{a,e}	6 301 ± 285 ^{a,c,e}	2 500 ± 134 ^{a,c}
高剂量 piceatannol	527 ± 28 ^{c,e,f}	475 ± 69 ^{c,e,f}	509 ± 99 ^{c,f}
F 值	12.194	161.008	23.861
P 值	0.001	0.000	0.000

与对照组相比,a: $P < 0.01$,b: $P < 0.05$;与 PDGF-BB 组相比,c: $P < 0.01$,d: $P < 0.05$;与同时点低剂量 piceatannol 组相比,e: $P < 0.01$;与同时点中剂量 piceatannol 组相比,f: $P < 0.05$

2.2 PDGF-BB 及 piceatannol 对 PVMSCs 周期的影响

PDGF-BB 及 piceatannol 干预后,细胞增殖周期中各期细胞构成比发生了变化。48 h、72 h PDGF-BB 组 S 期细胞比例较对照组增多,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.01$);48 h、72 h 3 个不同剂量的 piceatannol 干预组和 24 h 的中、高剂量 piceatannol 干预组 S 期细胞比例均较 PDGF-BB 组减少,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.01$);48 h 中、高剂量 piceatannol 干预组 S 期细胞比例均较低剂量组减少(均 $P < 0.05$)(图 1 ~ 3)。

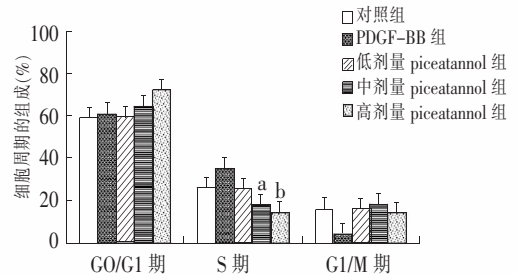


图 1 药物干预 24 h 后各期细胞构成 与 PDGF-BB 组相比, a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$

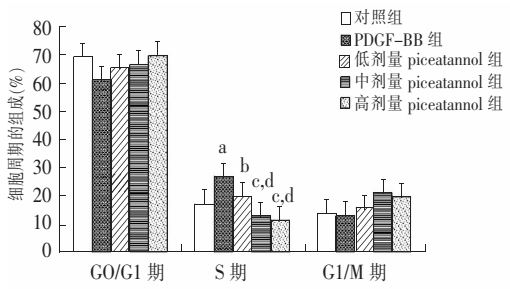


图2 药物干预48 h后各期细胞构成 与对照组相比, a: $P < 0.05$; 与PDGF-BB组相比, b: $P < 0.05$, c: $P < 0.01$; 与低剂量piceatannol组相比, d: $P < 0.05$

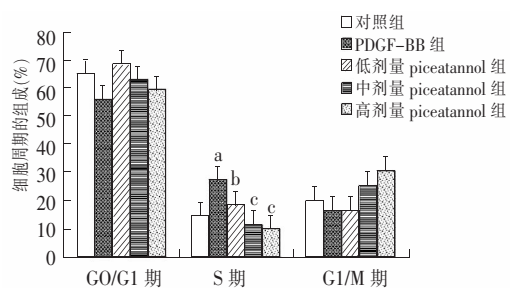


图3 药物干预72 h后各期细胞构成 与对照组相比, a: $P < 0.01$; 与PDGF-BB组相比, b: $P < 0.05$, c: $P < 0.01$

2.3 PDGF-BB及piceatannol对PVSMCs的Syk mRNA表达的影响

PDGF-BB组3个时间点的Syk mRNA表达与对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);而6 h和24 h的3个不同剂量piceatannol干预组和12 h中、高剂量piceatannol干预组的Syk mRNA表达较对照组减少,差异有统计学意义(均 $P < 0.01$)。12 h中、高剂量piceatannol组的Syk mRNA表达较PDGF-BB组减少,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。6 h及24 h两个时间点的3个剂量piceatannol干预组的Syk mRNA表达均较PDGF-BB组减少,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.01$)。6 h低剂量piceatannol组Syk mRNA表达明显高于中、高剂量piceatannol组(均 $P < 0.05$),而中、高剂量组的Syk mRNA表达差异无统计学意义。

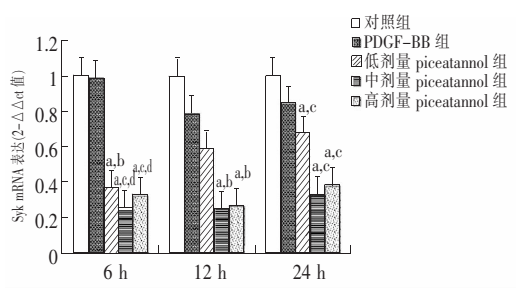


图4 Syk mRNA表达 与对照组相比, a: $P < 0.01$; 与PDGF-BB组相比, b: $P < 0.05$, c: $P < 0.01$; 与同时间点低剂量piceatannol组相比, d: $P < 0.05$

2.4 PDGF-BB及piceatannol对PVSMCs的Syk蛋白表达的影响

PDGF-BB组Syk蛋白表达较对照组明显增多,差异有统计学意义($P < 0.01$),3个不同剂量piceatannol干预组Syk蛋白表达较对照组减少,差异亦有统计学意义($P < 0.01$)。3个不同剂量piceatannol干预组Syk蛋白表达较PDGF-BB组减少,差异有统计学意义($P < 0.01$)。低剂量piceatannol组Syk蛋白表达明显高于中、高剂量piceatannol组($P < 0.01$),而中、高剂量组的Syk蛋白表达差异无统计学意义(图5)。

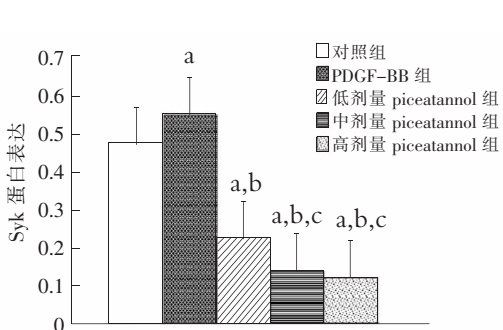


图5 Syk蛋白的表达 a: 与对照组相比, $P < 0.01$; b: 与PDGF-BB组相比, $P < 0.01$; c: 与低剂量piceatannol组相比, $P < 0.01$

3 讨论

PH是一种以肺血管收缩、肺血管重构以及肺小血管内微血栓形成为基本病理改变的临床综合征,可继发于多种心肺疾病,少数不明原因的PH称为原发性肺动脉高压(primary pulmonary hypertension)。儿童时期,以继发于先天性心脏病的PH最为常见。左向右分流先天性心脏病分流量大者,若不及时手术,则可渐发展为不可逆的阻力性PH,预后极差。目前,PH的发病机制未能完全阐明,PDGF介导的PVSMCs增殖可能起重要作用^[2],但其具体信号通路尚不清楚。

Syk是近来研究的热点,它是一种非受体型蛋白酪氨酸激酶,广泛表达于各类造血细胞,并发挥着各自的生物学功能^[5-6]。值得注意的是,近年来Syk亦被证实在介导大鼠主动脉平滑肌细胞迁移和增殖中起着重要作用,其可能的通路是做为p38MAPK、ERK1/2和Hsp27的上游信号分子参与调控平滑肌细胞的迁移^[3],或是依赖于花生四烯酸的代谢产物对Syk本身的启动来刺激平滑肌细胞的蛋白合成和细胞增殖^[4]。但是各类有关于Syk在细胞迁移、增

殖中的作用的研究的结论并不一致^[3,4,7-9]。Syk 在大鼠主动脉平滑肌细胞^[3,4]、人脐静脉血管内皮细胞^[7]、豚鼠呼吸道平滑肌细胞^[8]等细胞中均被证实促进了细胞的增殖与迁移,而在大多数肿瘤细胞^[9-11]中 Syk 的作用却是抑制细胞的增殖与迁移。

本研究发现,PDGF-BB 能够明显地促进细胞的增殖,干预 24 h、48 h 和 72 h 的 PDGF-BB 组的 A 值和氩掺入值均高于对照组,而 piceatannol 处理后,PDGF-BB 诱导的细胞增殖受到抑制,表现为 piceatannol 干预组的 A 值、氩掺入值较 PDGF-BB 刺激组降低,这种抑制效应以最大剂量 piceatannol 最为明显,呈剂量效应依赖关系,说明 Syk 的选择性抑制剂 piceatannol 能够抑制 PVSMSCs 的增殖。同时,对于 Syk 表达的研究发现,细胞在 PDGF-BB 刺激后 Syk 蛋白明显增高,加入 piceatannol 干预后,随着细胞的 Syk 转录水平和蛋白表达的下降,PDGF-BB 诱导的细胞增殖受到 piceatannol 剂量相关性抑制。本研究显示 Syk 转录水平和蛋白水平与细胞增殖水平呈同向表达,提示 PDGF-BB 可能通过其下游的 Syk 来促进 PVSMSCs 的增殖。

另外,有关细胞周期的研究显示 PDGF-BB 刺激后,S 期的细胞比例显著增加,而 piceatannol 干预后,明显降低了 S 期的细胞比例,且随着 piceatannol 剂量的增加,这一抑制作用更明显,而各组 G0/G1 期的细胞比例没有明显差异。

本研究还发现,PDGF-BB 刺激 PVSMSCs 后,Syk 蛋白表达明显增高,而 Syk mRNA 的表达却没有明显变化,一个可能的原因是药物刺激 Syk mRNA 的改变需要一定的时间^[7,12],或者是因为 Syk mRNA 在某些外在条件干预下并不发生明显改变,受影响发生变化的主要是 Syk 蛋白^[13],而这种 Syk 蛋白水平的改变可能是由于一种依赖于蛋白酶体的转录后的机制而发生的^[13-14]。既往实验研究主要集中于 Syk 磷酸化蛋白表达水平的变化,多数研究者认为药物在短时间(小于 2 h)内刺激 Syk 磷酸化蛋白的改变足以影响下游的分子通路^[3,4],但同时有少数研究表明 Syk 磷酸化蛋白在药物刺激更长时间内(12~48 h)的变化更有意义^[12],亦有研究发现判定 Syk 在特殊分子通路中所起的作用时,似乎 Syk 总蛋白表达水平在长时间(24 h 以上)药物干预后的变化比仅用短时间内 Syk 磷酸化蛋白的变化更有说服力^[14]。

PH 中 PVSMSCs 增殖和肺血管重构的机制错综

复杂,本研究结果表明 PDGF 可通过 Syk 通路来促进 PVSMSCs 的增殖,但是下游的信号通路仍未完全阐明,不足以揭示 PVSMSCs 增殖过程的全貌。如何早期干预 PVSMSCs 的异常增殖,逆转肺血管重构,改善 PH 患儿的预后,已是科研、临床工作中亟需解决的问题之一。

[参 考 文 献]

- [1] Jeffery TK, Morrell NW. Molecular and cellular basis of vascular remodeling in pulmonary hypertension[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2002, 45(3): 173-202.
- [2] Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine[J]. Genes Dev, 2008, 22(10): 1276-1312.
- [3] Lee CK, Lee HM, Kim HJ, Park HJ, Won KJ, Roh HY, et al. Syk contributes to PDGF-BB-mediated migration of rat aortic smooth muscle cells via MAPK pathways[J]. Cardio Res, 2007, 74(1): 159-168.
- [4] Yaghini FA, Li F, Malik KU. Expression and mechanism of spleen tyrosine kinase activation by angiotensin ii and its implication in protein synthesis in rat vascular smooth muscle cells[J]. J Biol Chem, 2007, 282(23): 16878-16890.
- [5] Sada K, Takano T, Yanagi S, Yamamura H. Structure and function of Syk protein-tyrosine kinase[J]. J Biochem, 2001, 130(2): 177-186.
- [6] Yanagi S, Inatome R, Takano T, Yamamura H. Syk expression and novel function in a wide variety of tissues[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 288(3): 495-498.
- [7] Inatome R, Yanagi S, Takano T, Yamamura H. A critical role for Syk in endothelial cell proliferation and migration[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 286(1): 195-199.
- [8] Tsang F, Choo HH, Dawe GS, Wong WS. Inhibitors of the tyrosine kinase signaling cascade attenuated thrombin-induced guinea pig airway smooth muscle cell proliferation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 293(1): 72-78.
- [9] Moroni M, Soldatenkov V, Zhang L, Zhang Y, Stoica G, Gehan E, et al. Progressive loss of Syk and abnormal proliferation in breast cancer cells[J]. Cancer Res, 2004, 64(10): 7346-7354.
- [10] Toyama T, Iwase H, Yamashita H, Hara Y, Omoto Y, Sugiura H, et al. Reduced expression of the Syk gene is correlated with poor prognosis in human breast cancer[J]. Cancer Lett, 2003, 189(1): 97-102.
- [11] Coopman PJ, Do MT, Barth M, Bowden ET, Hayes AJ, Basyuk E, et al. The Syk tyrosine kinase suppresses malignant growth of human breast cancer cells[J]. Nature, 2000, 406(6797): 742-747.
- [12] Wang H, Malbon CC. G(s) alpha repression of adipogenesis via Syk[J]. J Biol Chem, 1999, 274(45): 32159-32166.
- [13] Youssef LA, Wilson BS, Oliver JM. Proteasome-dependent regulation of Syk tyrosine kinase levels in human basophils[J]. J Allergy Clin Immunol, 2002, 110(3): 366-373.
- [14] Kopley CL. Antigen-induced reduction in mast cell and basophil functional responses due to reduced Syk protein levels[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2005, 138(1): 29-39.

(本文编辑:王庆红)