

普萘洛尔对人脐静脉内皮细胞生物学行为及SOX18、MMP-7、VEGFA表达的影响

周佩 谢思琴 钟礼立 丁小芳

(湖南省人民医院/湖南师范大学附属第一医院儿童医学中心
儿童呼吸病学湖南省重点实验室, 湖南长沙 410005)

[摘要] **目的** 探讨普萘洛尔对人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)增殖、凋亡、迁移及成管能力, 以及对性别决定区Y框18(sex determining region Y-box 18, SOX18)、基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase-7, MMP-7)和血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)表达的影响。**方法** 以不同浓度的普萘洛尔处理HUVEC, 采用CCK-8法检测细胞活力, 选出最佳浓度及时间。实验分为对照组, 普萘洛尔不同浓度(50、100、150 $\mu\text{mol/L}$)组, 采用流式细胞术、细胞划痕实验和成管实验观察HUVEC凋亡、迁移和管腔形成情况, Western blot和实时荧光定量PCR法检测SOX18、MMP-7、VEGFA蛋白及mRNA表达水平。**结果** 与对照组相比, 普萘洛尔不同浓度组细胞凋亡率升高($P<0.05$), 且随药物浓度增加显著升高($P<0.05$); 普萘洛尔不同浓度组伤口愈合率降低, 成管节点数和成管总长度减少, SOX18、MMP-7、VEGFA蛋白及mRNA表达下调($P<0.05$)。**结论** 普萘洛尔可抑制HUVEC的增殖、迁移、成管能力并促进细胞凋亡, 降低SOX18、MMP-7和VEGFA表达水平。**[中国当代儿科杂志, 2024, 26(10): 1115-1121]**

[关键词] 普萘洛尔; 婴幼儿血管瘤; 性别决定区Y框18; 基质金属蛋白酶-7; 血管内皮生长因子A; 人脐静脉内皮细胞

Effects of propranolol on the biological behavior of human umbilical vein endothelial cells and the expression of SOX18, MMP-7, and VEGFA

ZHOU Pei, XIE Si-Qing, ZHONG Li-Li, DING Xiao-Fang. Hunan Provincial Key Laboratory of Pediatric Respiratory Medicine, Children's Medical Center, Hunan Provincial People's Hospital/First Affiliated Hospital of Hunan Normal University, Changsha 410005, China (Ding X-F, Email: dz9751128@sina.com)

Abstract: Objective To investigate the effects of propranolol on the proliferation, apoptosis, migration, and tube formation ability of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC), as well as its impact on the expression of sex-determining region Y-box 18 (SOX18), matrix metalloproteinase-7 (MMP-7), and vascular endothelial growth factor A (VEGFA). **Methods** HUVEC were treated with different concentrations of propranolol, and cell viability was assessed using the CCK-8 method to determine the optimal concentration and treatment duration. The experiment consisted of a control group and groups treated with different concentrations of propranolol (50, 100, 150 $\mu\text{mol/L}$). Apoptosis, migration, and tube formation of HUVEC were observed using flow cytometry, wound healing assays, and tube formation assays. Western blot and real-time quantitative PCR were used to detect the expression levels of SOX18, MMP-7, and VEGFA proteins and mRNA. **Results** Compared to the control group, the apoptosis rate in the propranolol treatment groups increased significantly ($P<0.05$), and it rose significantly with increasing drug concentration ($P<0.05$). The wound healing rate decreased in the propranolol treatment groups, and both the number of tube formation nodes and total tube length were reduced ($P<0.05$). The expression levels of SOX18, MMP-7, and VEGFA proteins and mRNA were downregulated in the propranolol treatment groups ($P<0.05$). **Conclusions**

[收稿日期] 2024-07-15; [接受日期] 2024-09-13

[基金项目] 湖南省卫生健康委一般资助课题基金(202106011804)。

[作者简介] 周佩, 女, 硕士研究生, 医师。

[通信作者] 丁小芳, 女, 主任医师。Email: dz9751128@sina.com。

Propranolol can inhibit the proliferation, migration, and tube formation ability of HUVEC and promote cell apoptosis, resulting in decreased expression levels of SOX18, MMP-7, and VEGFA.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(10): 1115-1121]

Key words: Propranolol; Infantile hemangioma; Sex-determining region Y-box 18; Matrix metalloproteinase-7; Vascular endothelial growth factor A; Human umbilical vein endothelial cell

婴幼儿血管瘤 (infantile hemangioma, IH) 是儿童常见的良性肿瘤, 其形成主要源于胚胎发育阶段血管组织的异常增长, 其中以血管内皮细胞的异常增殖为主要特点。IH 通常出现在皮肤和软组织中, 部分血管瘤存在自行消退的趋势, 但重要器官周围生长的血管瘤可能对生命造成威胁。2008 年 Lèauté-Labrèze 等^[1]发现常用于治疗高血压等心血管疾病的 β 受体阻滞剂普萘洛尔可使 IH 瘤体表面颜色变浅、体积缩小, 随后有大量国内外临床病例报道普萘洛尔在 IH 治疗方面取得了良好的疗效, 现今普萘洛尔已取代皮质类固醇成为 IH 的一线治疗药物^[2-5], 但其确切机制尚不完全清楚。

性别决定区 Y 框 18 (sex determining region Y-box 18, SOX18) 是一种转录因子, 有研究显示其是血管发育的主要调节因子^[6]。同时, 研究发现 SOX18 可能作为上游因子调控肿瘤相关蛋白基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) -7^[7]。MMP-7 属于 MMP 系列中的一种, 其作用十分广泛, 可降解蛋白多糖、纤维连接蛋白、弹力纤维及 IV 型胶原纤维等, 从而促进细胞增殖分化、新血管形成、肿瘤转移等生物学过程^[8]。此外, MMP-7 能够与血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 协同表达, 而 VEGF 可改变内皮细胞的活化形式, 促进 MMP-7 分泌^[9]。本研究通过观察普萘洛尔对人脐静脉血管内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 增殖、凋亡、迁移能力、成管能力, 以及对 SOX18、MMP-7、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA) 表达的影响, 初步探讨普萘洛尔治疗 IH 的作用机制, 为临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

HUVEC 购于北京北纳创联生物科技有限公司, 内皮细胞培养基购于美国 ScienCell 公司, 胰酶消化液、凋亡试剂盒、ECL 发光液购于美国 Genview 公司, 盐酸普萘洛尔购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 无菌 PBS、CCK-8 试剂盒、BCA 蛋白

定量试剂盒、蛋白标准品购于长沙艾碧维生物科技有限公司, 基质胶购于美国 Corning 公司, RIPA 细胞裂解液购于北京鼎国昌盛生物技术有限公司, SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒购于中国白鲨生物技术有限公司, 电泳液、转膜液、TBS 缓冲液、脱脂奶粉购于武汉赛维尔生物科技有限公司, PVDF 转印膜购于美国 Millipore 公司, SOX18 兔抗购于杭州华安生物技术有限公司, MMP7、VEGFA、羊抗兔 IgG 二抗购于 ABclonal 公司, GAPDH 购于美国 Proteintech 公司, RNA 提取试剂盒购于湖南艾科瑞生物工程有限公司, 逆转录试剂盒、UltraSYBR Mixture 购于江苏康为世纪生物科技股份有限公司。

1.2 细胞培养

HUVEC 使用含 90% 内皮细胞培养基、10% 胎牛血清、1% 青链霉素及内皮细胞生长因子的专用培养基, 置于 37℃、5% CO₂ 的饱和湿度培养箱中培养, 每 2~3 d 更换 1 次培养基。待细胞生长达 80% 左右, 用胰酶消化传代。

1.3 CCK-8 法检测细胞增殖

取对数生长的 HUVEC 100 μ L (约 5×10^3 /孔) 均匀铺板于 96 孔板中, 置于 5% CO₂, 37℃ 培养箱中培养 24 h 后弃去旧培养基。加入 100 μ L 含有不同浓度普萘洛尔 (0、50、100、150、200 μ mol/L) 的培养基, 各组均设置 3 个复孔, 置于培养箱中继续培养 24 h、48 h。每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 溶液, 培养箱孵育 4 h, 酶标仪测定 450 nm 处的吸光度。细胞增殖活性 = (药物处理组吸光度 - 空白组吸光度) / (对照组吸光度 - 空白组吸光度)。实验独立重复 3 次。

1.4 流式细胞术检测细胞凋亡

实验分为对照组、普萘洛尔不同浓度 (50、100、150 μ mol/L) 组。细胞接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁后, 加入不同浓度普萘洛尔干预 24 h, 消化收集细胞, PBS 洗涤 2 次, 1 000 r/min 离心 5 min, 收集约 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 个细胞, 加入 500 μ L 结合液悬浮细胞; 加入 5 μ L Annexin V-FITC, 5 μ L PI 染色液, 混匀; 室温避光反应 10 min。1 h 内用流式细胞仪检测。实验独立重复 3 次。

1.5 划痕实验检测细胞迁移能力

在 6 孔板背面用记号笔画出均匀横线。细胞接种于 6 孔板中（约 5.0×10^5 /孔），按 1.4 小节分组处理细胞，待细胞贴壁后，用 200 μL 无菌枪头在孔底部垂直于横线划痕。使用无菌 PBS 冲洗已划伤区域细胞 3 次，加入无血清培养基。记录 0 h、24 h、48 h 时划痕照片。应用 Image J 软件分析实验结果，伤口愈合率 = （初始细胞间距离均值 - 观察时刻细胞间距）/ 初始细胞间距离均值。实验独立重复 3 次。

1.6 成管实验检测细胞成管能力

提前 15 h 将基质胶、96 孔板和枪头置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱预冷。后续操作均在冰盒上进行，往预冷的 96 孔板每孔加入 60 μL 基质胶均匀铺满孔（避免产生气泡），4 $^{\circ}\text{C}$ 静置 10 min 后转至 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中静置 60 min 待基质胶凝固。按 1.4 小节分组处理细胞后，胰酶消化细胞，用细胞计数板计数细胞悬液，向带有凝固基质胶的 96 孔板中每孔加入 1×10^4 个细胞，各组均设置 3 个复孔，置于培养箱中再次培养 8 h。取出 96 孔板，在倒置显微镜下观察并拍照，采用 Image J 软件分析节点及成管总长度。实验独立重复 3 次。

1.7 Western blot 检测 SOX18、MMP-7、VEGFA 蛋白的表达

按 1.4 小节分组处理细胞。采用 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷 PBS

洗涤细胞 2 次后，加入 RIPA 裂解液裂解细胞，冰上裂解 30 min，收集细胞悬液，预冷后超声破碎 8 min；置于预冷离心机，14 000 r/min 离心 5 min，迅速将上清（蛋白提取液）转移至 EP 管中，即为细胞总蛋白。按照 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。经 12% SDS-PAGE 电泳分离，半干转至 PVDF 膜上，用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 溶液 4 $^{\circ}\text{C}$ 封闭 1.5 h。一抗（SOX18、MMP7、VEGFA 按 1 : 500 稀释，GAPDH 按 1 : 5 000 稀释）4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜，二抗室温孵育 1.5 h。TBST 清洗 3 次（每次 10 min），ECL 发光液处理后显影仪显影。Image J 软件分析灰度值，蛋白表达水平以目的蛋白与内参蛋白灰度值比值表示。实验独立重复 3 次。

1.8 实时荧光定量 PCR 检测 SOX18、MMP-7、VEGFA mRNA 的表达

按 1.4 小节分组处理细胞。收集各组细胞，按 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA，分光光度计检测 RNA 的浓度和纯度。采用逆转录试剂盒按说明书将 RNA 逆转录成 cDNA。PCR 引物由中国擎科生物公司合成（表 1）。取 1 μL cDNA 进行 PCR 扩增。PCR 扩增反应条件：95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min；95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s，共 40 个循环。以 GAPDH 作为内参基因，使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因 mRNA 相对表达水平。实验独立重复 3 次。

表 1 SOX18、MMP-7、VEGFA、GAPDH 基因引物序列

基因名称	序列 (5'→3')	片段长度 (bp)	基因号
SOX18	上游: AAGCGTCACTGTGGCAAAGA 下游: TTATTGTGGCCTCTCCGTCC	105	1520687852
MMP-7	上游: CATGATTGGCTTTGCGCGAG 下游: AGACTGCTACCATCCGTCCA	150	4316
VEGFA	上游: TGCTCTACTTCCCAAATCACT 下游: ACTCACTTTGCCCTGTCTG	154	7422
GAPDH	上游: ACAGCCTCAAGATCATCAGC 下游: GGTCATGAGTCCTTCCACGAT	104	2597

1.9 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 普萘洛尔对细胞增殖的影响

CCK-8 法检测结果显示，与对照组相比，普萘洛尔不同浓度组细胞活性降低 ($P < 0.05$)，且呈浓度和时间依赖性（表 2）。后续实验选取浓度为 50、100、150 $\mu\text{mol/L}$ 的普萘洛尔处理细胞 24 h。

表2 不同浓度普萘洛尔对 HUVEC 细胞活性影响

($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	24 h	48 h	t值	P值
对照组	1.000 ± 0.011	1.000 ± 0.019	0.000	1.000
50 μmol/L 组	0.924 ± 0.011 ^a	0.870 ± 0.008 ^a	6.831	0.003
100 μmol/L 组	0.892 ± 0.014 ^{a,b}	0.850 ± 0.015 ^{a,b}	3.374	0.028
150 μmol/L 组	0.838 ± 0.011 ^{a,b,c}	0.810 ± 0.012 ^{a,b,c}	3.133	0.035
200 μmol/L 组	0.807 ± 0.008 ^{a,b,c,d}	0.715 ± 0.022 ^{a,b,c,d}	6.666	0.012
F值	133.606	100.702		
P值	<0.001	<0.001		

注：a 示与对照组比较， $P<0.05$ ；b 示与 50 μmol/L 组比较， $P<0.05$ ；c 示与 100 μmol/L 组比较， $P<0.05$ ；d 示与 100 μmol/L 组比较， $P<0.05$ 。

2.2 普萘洛尔对细胞凋亡的影响

流式细胞术检测结果显示，对照组（3.70% ± 0.93%）、50 μmol/L 组（7.68% ± 0.28%）、100 μmol/L 组（10.65% ± 0.61%）、150 μmol/L 组（13.68% ± 0.66%）细胞凋亡率比较差异有统计学意义（ $F=124.438$ ， $P<0.001$ ）；随药物浓度升高，细胞凋亡率升高（ $P<0.05$ ）。

2.3 普萘洛尔对细胞迁移能力的影响

细胞划痕实验结果显示，与对照组相比，24 h、48 h 时普萘洛尔不同浓度组伤口愈合率降低（ $P<0.05$ ）。见图 1、表 3。

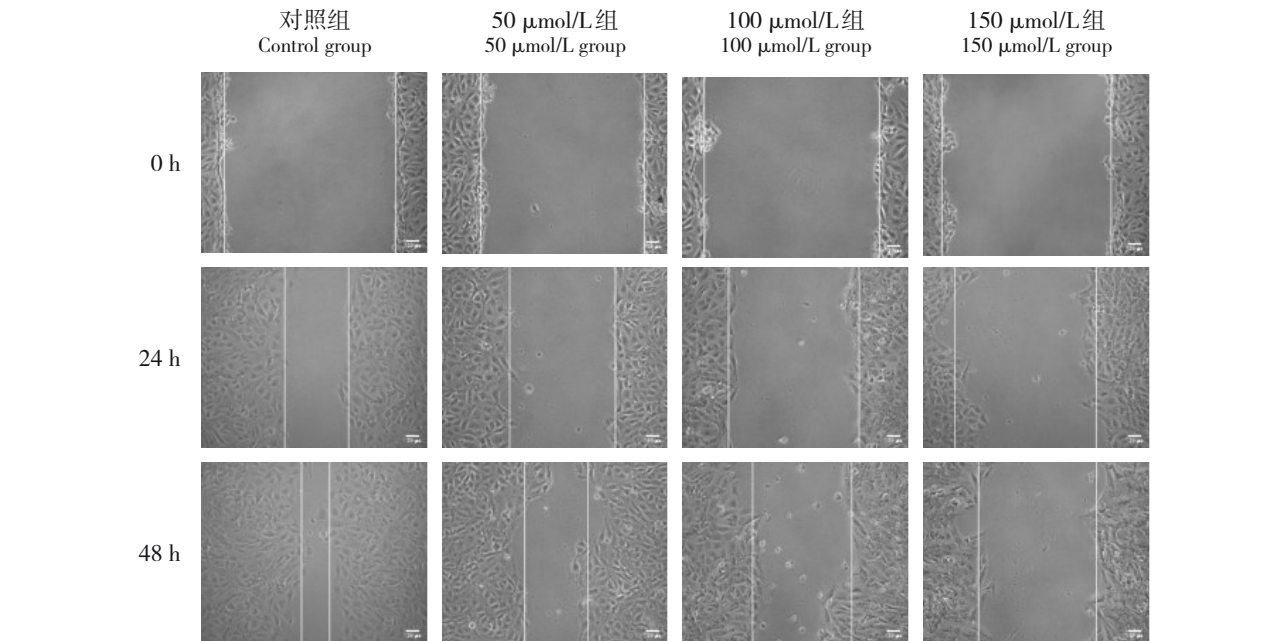


图1 普萘洛尔对 HUVEC 迁移能力的影响（倒置显微镜，×100） 0 h、24 h、48 h 时观察划痕情况，随着时间延长，各组划痕面积均逐渐减小。普萘洛尔不同浓度组 HUVEC 迁移能力较对照组减弱。

表3 普萘洛尔不同浓度组 HUVEC 伤口愈合率比较

($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	24 h	48 h
对照组	0.633 ± 0.015	0.861 ± 0.015
50 μmol/L 组	0.371 ± 0.011 ^a	0.607 ± 0.019 ^a
100 μmol/L 组	0.278 ± 0.030 ^a	0.428 ± 0.007 ^{a,b}
150 μmol/L 组	0.147 ± 0.019 ^{a,b,c}	0.304 ± 0.040 ^{a,b}
F值	313.177	316.217
P值	<0.001	<0.001

注：a 示与对照组比较， $P<0.05$ ；b 示与 50 μmol/L 组比较， $P<0.05$ ；c 示与 100 μmol/L 组比较， $P<0.05$ 。

2.4 普萘洛尔对细胞成管能力的影响

成管实验结果显示，与对照组相比，普萘洛尔不同浓度组成管节点数和成管总长度均减少（ $P<0.05$ ）。见图 2、表 4。

2.5 普萘洛尔对 HUVEC 中 SOX18、MMP-7、VEGFA mRNA 和蛋白表达水平的影响

实时荧光定量 PCR 结果显示，与对照组相比，普萘洛尔不同浓度组 SOX18、MMP-7、VEGFA mRNA 表达水平降低（ $P<0.05$ ）。Western blot 结果显示，与对照组相比，普萘洛尔不同浓度组 SOX18、MMP-7、VEGFA 蛋白表达水平降低（ $P<0.05$ ）。见表 5、图 3。

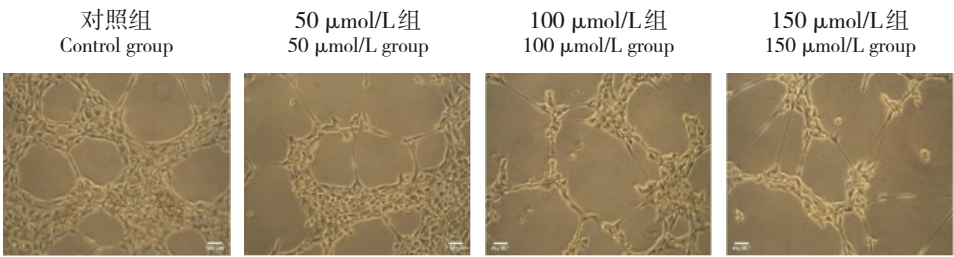


图2 普萘洛尔对HUVEC成管能力的影响（倒置显微镜，×100） 与对照组相比，普萘洛尔不同浓度组药物浓度愈大，成管愈少。

表4 普萘洛尔不同浓度组HUVEC成管能力指标比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	成管节点数	成管总长度
对照组	2 779 ± 36	1 368 ± 57
50 μmol/L组	2 085 ± 4 ^a	1 090 ± 54 ^a
100 μmol/L组	1 440 ± 78 ^{a,b}	716 ± 83 ^{a,b}
150 μmol/L组	1 022 ± 57 ^{a,b,c}	464 ± 24 ^{a,b}
F值	668.530	137.744
P值	<0.001	<0.001

注：a示与对照组比较， $P<0.05$ ；b示与50 μmol/L组比较， $P<0.05$ ；c示与100 μmol/L组比较， $P<0.05$ 。

表5 各组SOX18、MMP-7、VEGFA mRNA及蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	mRNA			蛋白		
	SOX18	MMP-7	VEGFA	SOX18	MMP-7	VEGFA
对照组	1.00 ± 0.04	1.002 ± 0.078	1.048 ± 0.038	0.55 ± 0.05	0.471 ± 0.029	0.550 ± 0.020
50 μmol/L组	0.62 ± 0.07 ^a	0.717 ± 0.059 ^a	0.724 ± 0.033 ^a	0.33 ± 0.04 ^a	0.220 ± 0.017 ^a	0.330 ± 0.026 ^a
100 μmol/L组	0.26 ± 0.05 ^{a,b}	0.319 ± 0.021 ^{a,b}	0.463 ± 0.021 ^{a,b}	0.10 ± 0.05 ^{a,b}	0.101 ± 0.030 ^{a,b}	0.153 ± 0.021 ^{a,b}
150 μmol/L组	0.17 ± 0.05 ^{a,b}	0.176 ± 0.011 ^{a,b,c}	0.314 ± 0.007 ^{a,b,c}	0.04 ± 0.04 ^{a,b}	0.033 ± 0.012 ^{a,b}	0.030 ± 0.026 ^{a,b,c}
F值	163.466	165.628	416.946	58.083	28.586	274.284
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：[SOX18] 性别决定区Y框18；[MMP-7] 基质金属蛋白酶-7；[VEGFA] 血管内皮生长因子A。a示与对照组比较， $P<0.05$ ；b示与50 μmol/L组比较， $P<0.05$ ；c示与100 μmol/L组比较， $P<0.05$ 。

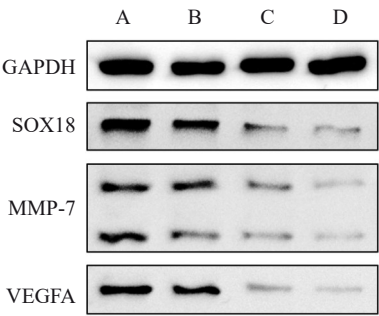


图3 Western blot法检测各组SOX18、MMP-7、VEGFA蛋白表达电泳图 A：对照组；B：50 μmol/L组；C：100 μmol/L组；D：150 μmol/L组。

3 讨论

IH作为儿童最常见的良性肿瘤，发病率为

4%~5%^[10-11]，具有特征性的增生期及消退期，增生期IH呈现内皮细胞大量异常增生，而HUVEC也表现出显著的增殖特性，且该细胞在成管能力上与IH内皮细胞具有相似性^[12]，选择HUVEC作为本研究的细胞模型。在20世纪60年代，普萘洛尔的出现为心血管疾病治疗带来了革命性突破，是最早应用于医学治疗的非选择性的β受体阻滞剂，目前广泛用于治疗高血压和心律失常等疾病。

研究报道IH异常增殖的血管内皮细胞来源于不完全分化、失调的胎盘源性内皮祖细胞，血管内皮祖细胞在母亲妊娠期间可能受到化学物质、重金属、病原体和电离辐射等致畸因素的影响，导致其发育异常，而不良的子宫环境也可能引起免疫反应，从而诱发IH的发生^[13]。胎盘源性内皮

祖细胞由于缺氧、胎盘组织栓塞、梗死或绒毛膜穿刺术等原因,可能随血流进入胎儿体内,在某些部位形成异位定植^[14]。国内外已有大量研究表明普萘洛尔在IH治疗中的疗效显著,其机制可能与抑制血管生成有关^[12, 15]。而在IH增殖生长的过程中,内皮细胞的增殖、凋亡、迁移及成管是关键步骤。本研究结果表明,普萘洛尔可抑制HUVEC的增殖、迁移及成管能力,同时促进细胞的凋亡。

研究显示,在IH增殖过程中存在多种细胞因子、信号通路及基因的异常表达^[16]。VEGF是最重要的促血管生成因子,不仅参与原始血管的形成,还在血管的后期萌芽、重塑等生成过程中发挥作用^[17]。SOX基因在血管细胞生成、骨骼发育及神经系统等多种早期胚胎发育过程中发挥重要作用^[6]。近年来,SOX18的异常表达引起了广泛关注,其与多种肿瘤的发生和发展有着密切联系^[7, 18-19],但关于其在IH中的研究较少。2018年钱世宁等^[20]构建了含人SOX18基因真核表达载体并将其转染到HUVEC中,发现SOX18能够显著促进血管内皮细胞的增殖,并上调VEGF的表达,表明SOX18可能通过上调VEGF来促进HUVEC的增殖。本研究发现,普萘洛尔可以下调SOX18及VEGFA mRNA及蛋白表达。

研究发现,SOX18在多种肿瘤中高表达,其作为上游因子,能够直接调节MMP-7的表达^[7, 21]。MMP是细胞外蛋白酶的一个主要家族,靶向多种细胞外分子,如细胞外基质成分、细胞因子和受体^[22]。MMP通常在出现伴随血管生成的情况上调,例如伤口愈合、月经、癌症、微生物感染和其他炎症性疾病等^[23-24]。有研究发现MMP-7在HUVEC中可以通过降解内源性VEGF抑制剂(可溶性VEGF受体-1)促进VEGF的表达,从而促进HUVEC的成管、迁移能力^[9]。本研究结果显示,普萘洛尔可以显著下调MMP-7、VEGFA的mRNA及蛋白表达水平,提示可能与抑制血管生成有关。

综上,普萘洛尔对HUVEC的增殖、迁移、成管能力有明显抑制作用,并可以促进其凋亡,与临床观察结果相互印证。同时,普萘洛尔负向调节HUVEC中SOX18、MMP-7、VEGFA的mRNA及蛋白质表达水平,可能通过SOX18/MMP-7信号通路抑制IH增殖生长,这一发现为普萘洛尔治疗IH的作用机制提供了分子层面的解释。

作者贡献声明:周佩负责实验、数据统计分析以及初稿撰写;谢思琴负责实验及数据统计;钟礼立、丁小芳负责研究设计及指导。

利益冲突声明:所有作者声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Léauté-Labrèze C, Dumas de la Roque E, Hubiche T, et al. Propranolol for severe hemangiomas of infancy[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(24): 2649-2651. PMID: 18550886. DOI: 10.1056/NEJMc0708819.
- [2] Krowchuk DP, Frieden IJ, Mancini AJ, et al. Clinical practice guideline for the management of infantile hemangiomas[J]. *Pediatrics*, 2019, 143(1): e20183475. PMID: 30584062. DOI: 10.1542/peds.2018-3475.
- [3] Smithson SL, Rademaker M, Adams S, et al. Consensus statement for the treatment of infantile haemangiomas with propranolol[J]. *Australas J Dermatol*, 2017, 58(2): 155-159. PMID: 28251611. DOI: 10.1111/ajd.12600.
- [4] Solman L, Glover M, Beattie PE, et al. Oral propranolol in the treatment of proliferating infantile haemangiomas: British Society for Paediatric Dermatology consensus guidelines[J]. *Br J Dermatol*, 2018, 179(3): 582-589. PMID: 29774538. DOI: 10.1111/bjd.16779.
- [5] 郑家伟,王绪凯,秦中平,等.口服普萘洛尔治疗婴幼儿血管瘤中国专家共识(2022版)[J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2022, 20(4): 313-319. DOI: 10.19438/j.cjoms.2022.04.001.
- [6] Grimm D, Bauer J, Wise P, et al. The role of SOX family members in solid tumours and metastasis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 67(Pt 1): 122-153. PMID: 30914279. DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.03.004.
- [7] Olbromski M, Podhorska-Okołów M, Dzięciel P. Role of the SOX18 protein in neoplastic processes[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(2): 1383-1389. PMID: 30008814. PMCID: PMC6036441. DOI: 10.3892/ol.2018.8819.
- [8] Chen Q, Jin M, Yang F, et al. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 928315. PMID: 23840100. PMCID: PMC3694547. DOI: 10.1155/2013/928315.
- [9] Ito TK, Ishii G, Saito S, et al. Degradation of soluble VEGF receptor-1 by MMP-7 allows VEGF access to endothelial cells[J]. *Blood*, 2009, 113(10): 2363-2369. PMID: 18974372. DOI: 10.1182/blood-2008-08-172742.
- [10] Kileline C, Frieden IJ. Infantile hemangiomas: how common are they? A systematic review of the medical literature[J]. *Pediatr Dermatol*, 2008, 25(2): 168-173. PMID: 18429772. DOI: 10.1111/j.1525-1470.2008.00626.x.
- [11] Munden A, Butschek R, Tom WL, et al. Prospective study of infantile haemangiomas: incidence, clinical characteristics and

- association with placental anomalies[J]. Br J Dermatol, 2014, 170(4): 907-913. PMID: 24641194. PMCID: PMC4410180. DOI: 10.1111/bjd.12804.
- [12] Lamy S, Lachambre MP, Lord-Dufour S, et al. Propranolol suppresses angiogenesis *in vitro*: inhibition of proliferation, migration, and differentiation of endothelial cells[J]. Vascu Pharmacol, 2010, 53(5-6): 200-208. PMID: 20732454. DOI: 10.1016/j.vph.2010.08.002.
- [13] Ford JR, Gonzalez-Barlatay J, Valenzuela AA. Early orbital infantile hemangioma that emphasizes the importance of glucose-transporter-1 (GLUT-1)[J]. Can J Ophthalmol, 2018, 53(2): e58-e60. PMID: 29631842. DOI: 10.1016/j.cjco.2017.07.003.
- [14] Harbi S, Park H, Gregory M, et al. Arrested development: infantile hemangioma and the stem cell teratogenic hypothesis[J]. Lymphat Res Biol, 2017, 15(2): 153-165. PMID: 28520518. DOI: 10.1089/lrb.2016.0030.
- [15] 罗勇奇, 曾迎红, 胡梦叶, 等. 普萘洛尔对体外培养血管瘤内皮细胞的影响及其分子机制[J]. 中华皮肤科杂志, 2017, 50(11): 800-805. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4030.2017.11.006.
- [16] Liu ZL, Chen HH, Zheng LL, et al. Angiogenic signaling pathways and anti-angiogenic therapy for cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 198. PMID: 37169756. PMCID: PMC10175505. DOI: 10.1038/s41392-023-01460-1.
- [17] Eelen G, Treps L, Li X, et al. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis updated[J]. Circ Res, 2020, 127(2): 310-329. PMID: 32833569. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.316851.
- [18] Villani R, Sim SL, Roy E, et al. Ectopic expression of SOX18 in basal cell carcinoma negatively regulates tumour progression[J]. J Dermatol Sci, 2020, 98(3): 179-185. PMID: 32444239. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2020.04.006.
- [19] Chen J, Feng W, Sun M, et al. TGF- β 1-induced SOX18 elevation promotes hepatocellular carcinoma progression and metastasis through transcriptionally upregulating PD-L1 and CXCL12[J]. Gastroenterology, 2024, 167(2): 264-280. PMID: 38417530. DOI: 10.1053/j.gastro.2024.02.025.
- [20] 钱世宁, 朱小飞, 季明德, 等. 含人SOX18基因真核表达载体的构建及其重组蛋白诱导血管内皮细胞增殖的研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2018, 38(2): 166-170. DOI: 10.7655/NYDXBNS20180205.
- [21] 石俊强, 王建礼, 王国芳, 等. 转录因子性别决定区Y框18对子宫颈癌HeLa细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 肿瘤研究与临床, 2017, 29(6): 370-373. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2017.06.003.
- [22] Laronha H, Caldeira J. Structure and function of human matrix metalloproteinases[J]. Cells, 2020, 9(5): 1076. PMID: 32357580. PMCID: PMC7290392. DOI: 10.3390/cells9051076.
- [23] Greenlee KJ, Werb Z, Kheradmand F. Matrix metalloproteinases in lung: multiple, multifarious, and multifaceted[J]. Physiol Rev, 2007, 87(1): 69-98. PMID: 17237343. PMCID: PMC2656382. DOI: 10.1152/physrev.00022.2006.
- [24] Raffetto JD, Khalil RA. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 75(2): 346-359. PMID: 17678629. PMCID: PMC2254136. DOI: 10.1016/j.bcp.2007.07.004.

(本文编辑: 杨丹)

(版权所有©2024中国当代儿科杂志)