

本文引用:贾如江,侯丽艳,尹清臣,等.轴突诱导因子4D对人胰腺癌细胞增殖、迁移及血管生成的影响[J].新乡医学院学报,2017,34(12):1063-1067. DOI:10.7683/xyxyxb.2017.12.005.

【基础研究】

## 轴突诱导因子4D对人胰腺癌细胞增殖、迁移及血管生成的影响

贾如江<sup>1</sup>,侯丽艳<sup>1</sup>,尹清臣<sup>1</sup>,李丽芳<sup>2</sup>,杨庚武<sup>1</sup>

(1.邯郸市中心医院普外一科,河北 邯郸 056102;2.邯郸市丛台区人民医院外科,河北 邯郸 056102)

**摘要:** **目的** 探讨 siRNA 沉默轴突诱导因子4D(Sema4D)对人胰腺癌细胞增殖、迁移及血管生成的影响。**方法** 设计合成 Sema4D-siRNA,转染至人胰腺癌细胞系中,瞬时转染 48 h 后利用反转录-聚合酶链反应检测转染前后 Sema4D mRNA 表达的变化;瞬时转染 72 h 后利用 Western blot 法检测转染前后 Sema4D 蛋白表达的变化;采用四甲基偶氮唑蓝显色法观察转染后细胞生长变化;Transwell 迁移实验、划痕修复实验检测转染后人胰腺癌细胞迁移性的改变;小管形成实验观察转染后人胰腺癌细胞培养上清液对血管形成能力的影响。**结果** 转染 siRNA 后,人胰腺癌细胞中 Sema4D mRNA 和 Sema4D 蛋白表达、胰腺癌细胞的生长速度均较阴性对照组和空白对照组下降( $P < 0.05$ );Transwell 迁移实验和划痕修复实验显示,胰腺癌细胞穿膜细胞数和划痕修复率显著低于阴性对照组和空白对照组( $P < 0.05$ );小管形成实验显示,转染 siRNA 组、阴性对照组和空白对照组血管形成数目分别为  $0.50 \pm 0.02$ 、 $1.45 \pm 0.60$ 、 $1.37 \pm 0.52$ ,组间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** Sema4D-siRNA 能够在胰腺癌细胞中引发 RNA 干扰效应,下调 Sema4D 基因表达,抑制胰腺癌细胞增殖,使胰腺癌细胞迁移能力明显下降,抑制血管生成。

**关键词:** RNA 干扰;轴突诱导因子4D;胰腺癌细胞;增殖和迁移能力;血管生成

**中图分类号:** R735.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2017)12-1063-05

### Effect of semaphorin 4D on the proliferation, migration and angiogenic of human pancreatic carcinoma cells

JIA Ru-jiang<sup>1</sup>, HOU Li-yan<sup>1</sup>, YIN Qing-chen<sup>1</sup>, LI Li-fang<sup>2</sup>, YANG Geng-wu<sup>1</sup>

(1. Department of General Surgery, Handan Central Hospital, Handan 056102, Hebei Province, China; 2. Department of Surgery, People's Hospital of Handan city Congtai District, Handan 056102, Hebei Province, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of semaphorin 4D(Sema4D) on the proliferation, migration and angiogenic of human pancreatic carcinoma cells. **Methods** Sema4D-siRNA was designed and synthesized and transfected into human pancreatic carcinoma cells. After 48 hours of transient infection, the changes of expression of Sema4D mRNA before and after transfection were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction method. And after 72 hours of transient infection, the changes of expression of Sema4D protein before and after transfection were detected by Western blot method. The changes of growth of the transfected cells were observed by methyl thiazolyl tetrazolium assay. Using transwell migration test and scratch repair test to detect the changes of migration ability of human pancreatic carcinoma cells after transfection. Using tubule formation assay to observe the effect of supernatant of pancreatic carcinoma cell cultures on angiogenesis after transfection.

**Results** Compared with the negative control group and blank control group, the expression of Sema4D mRNA and Sema4D protein and the growth rate of pancreatic carcinoma cells decreased significantly ( $P < 0.05$ ). In transwell migration test and scratch repair test, it was observed that Pancreatic cancer cells penetrating cell number and scratch repair rate were significantly lower than that in negative control group and blank control group ( $P < 0.05$ ). Tubule formation assay showed that there were significant differences in angiogenesis numbers among siRNA transfection group ( $0.5 \pm 0.02$ ), negative control group ( $1.45 \pm 0.60$ ) and blank control group ( $1.37 \pm 0.52$ ) ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Sema4D-siRNA can induce RNA interference in pancreatic carcinoma cells and down-regulate the expression of Sema4D gene, which can inhibit the proliferation of pancreatic carcinoma cells, significantly reduce the migration ability of pancreatic carcinoma cells and inhibit angiogenesis.

**Key words:** RNA interference; semaphorin 4D; pancreatic carcinoma cells; proliferation and migration ability; angiogenesis

DOI: 10.7683/xyxyxb.2017.12.005

收稿日期: 2017-06-02

基金项目: 河北省卫计委计划项目(编号: 20150457)。

作者简介: 贾如江(1974-), 男, 河北邯郸人, 博士, 副主任医师, 主要从事胰腺肿瘤的基础与临床研究。

通信作者: 尹清臣(1968-), 男, 河北邯郸人, 硕士, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事普通外科基础与临床研究; E-mail: jiaru-jiang@163.com。

胰腺癌是预后最差的消化系统恶性肿瘤之一, 患者 5 a 生存率低于 5%<sup>[1]</sup>。轴突诱导因子 4D (semaphorin 4D, Sema4D) 可以诱导轴突生长锥的定向生长, 对神经发育影响重大。Sema4D 及其受体与

肿瘤的发生、发展关系密切,多种肿瘤细胞如头颈鳞状细胞癌、乳腺癌、前列腺癌和结肠癌等均可表达 *Sema4D*<sup>[2]</sup>,*Sema4D* 表达上调可以促进恶性肿瘤细胞生长和肿瘤内部血管生成<sup>[3-4]</sup>。*Sema4D* 在胰腺癌细胞中高表达,可促进胰腺癌的增殖活力<sup>[5]</sup>。本研究采用 RNA 干扰技术,以化学合成的 siRNA 瞬时转染胰腺癌细胞,抑制 *Sema4D* 在胰腺癌细胞中的表达,探讨 *Sema4D* 对胰腺癌细胞增殖、迁移及血管生成的影响,以期胰腺癌患者的治疗提供新的靶向因子。

## 1 材料与方法

**1.1 主要仪器与试剂** 倒置相差显微镜(日本 OLYMPUS 公司),Biotech 酶联免疫检测仪、微量移液器(北京 Gilson 公司),IPP 图像分析系统(美国 Intel 公司),高速离心机(上海安亭仪器厂),一次性细胞培养瓶、96 孔细胞培养板、24 孔细胞培养板、Transwell 小室(美国 Corning 公司),CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱(美国 Thermo Forma 公司),可调波长式微孔板酶标仪(美国 Molecular Device 公司)。胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(杭州四季青生物制品有限公司),Medium 199(M199)和达尔伯克改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)(美国 Gibco 公司),基质胶(美国 Dickinson 公司),RNA 提取试剂盒(北京 TaKaRa 公司),琼脂糖凝胶回收试剂盒(上海生工生物工程有限责任公司),脂质体 Lipofectamine™ 2000(美国 Invitrogen 公司)。

### 1.2 细胞培养和处理

**1.2.1 细胞培养** 人胰腺癌细胞 Mia-PaCa-2 和人脐静脉内皮细胞(huvehuman umbilical vein endothelial cell, HUVEC)分别由美国菌种保藏中心和中国科学院上海细胞所提供,均置于含体积分数 10% FBS 的 DMEM 中,于体积分数 5% CO<sub>2</sub> 37℃ 恒温培养箱中培养,取对数生长期细胞进行实验。

**1.2.2 siRNA 的合成和转染** 参考文献[6]方法,采用靶向 *Sema4D* 基因 siRNA 靶序列和阴性对照序列。正义链:5'-GGCCUGAGGACCUUGCGAAGATT-3',反义链:5'-UCUUCUGCAAGGUCCUCAGGCCTT-3';siRNA 由上海生工生物工程有限责任公司合成。Mia-PaCa-2 细胞置于含体积分数 10% FBS 的 DMEM 中于含体积分数 5% CO<sub>2</sub> 的 37℃ 恒温培养箱中培养,每 3 d 更换培养液,细胞长满时消化传代。将生长良好、处于对数生长期的细胞以 1 ×

10<sup>9</sup> L<sup>-1</sup> 接种于 6 孔培养板,细胞融合达 80% ~ 90% 时,参照脂质体 Lipofectamine™ 2000 使用说明进行转染,转染浓度为 100 nmol · L<sup>-1</sup>。实验分为转染 siRNA 组(*Sema4D*-siRNA 组)、阴性对照组(*Sema4D*-NC 组)和空白对照组。

### 1.3 反转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测 *Sema4D* mRNA 表达

于转染 48 h 后,收获各组细胞 1 × 10<sup>6</sup> 个,按 TRIzol 的操作说明提取总 RNA,按反转录试剂盒操作方法获得单链 cDNA,以此为底物用 PCR 检测 *Sema4D* 基因的表达,参考文献[7]并根据 GenBank 中报道的 *Sema4D* 核苷酸序列设计 *Sema4D* 基因的引物序列:上游引物为 5'-TGTCTGTGAGTATGAGTTTGTGTT-3',下游引物为 3'-GGGTGTAGTTCA-CATCTTTCTTGAT-5',产物片段长度 552 bp。内参照  $\beta$ -actin 基因的引物序列:上游引物为 5'-CCAAGGC-CAACCGCGAGAAGATGAC-3',下游引物为 3'-AGG-TACATGTGTGCCGCCAGAC-5',扩增片段长度为 587 bp,PCR 引物均由捷瑞生物工程(上海)有限公司合成。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳, YLN-2000 凝胶成像分析系统,测定各条带的积分吸光度,每个条带测定 10 次。

### 1.4 Western blot 检测各组细胞中 *Sema4D* 蛋白表达

收集转染 72 h 后的各组细胞,放射免疫沉淀测定(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解后收集各组细胞的总蛋白,二辛可酸(bicinchoninic acid, BCA)法测定总蛋白水平。取 50  $\mu$ g 蛋白进行质量分数为 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,湿转法将蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜并用质量分数 5% 的脱脂牛奶封闭。分别加入 1 : 1 000 稀释的 *Sema4D* 多克隆抗体, 1 : 1 000 稀释的  $\beta$ -actin 抗体, Tris-HCl 缓冲液漂洗 3 次,每次 10 min, 4℃ 冰箱内摇床孵育过夜,次日加入辣根过氧化物酶标记的二抗孵育 1 h,增强型化学发光试剂显影、定影, Image-Pro-Plus 软件分析条带灰度值。

### 1.5 四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)法检测转染后人胰腺癌细胞的增殖抑制率

取各组对数生长期细胞,按每孔 2 000 个接种于 96 孔板中,每孔加入 100  $\mu$ L 培养基,细胞融合达 80% ~ 90% 时,进行转染,转染浓度为 100 nmol · L<sup>-1</sup>。收获细胞前 4 h,每孔加入 MTT 液 20  $\mu$ L,继续培养 4 h 后弃培养液,每孔加入二甲基亚砷 150  $\mu$ L,室温

下振荡 10 min。应用酶标仪在 570 nm 波长下检测转染后第 12、24、48、72、96 h 细胞的吸光度值,每组计数 3 孔,取平均值,以不加血清的 RPIM 1640 为空白调零。分别检测人胰腺癌细胞在 0、24、48、72、96 h 的吸光度值,并绘制生长曲线图。

### 1.6 体外迁移实验检测人胰腺癌细胞迁移能力

收集各组转染 72 h 的细胞,采用 Transwell 上下室之间的滤膜孔径为直径 8  $\mu\text{m}$ ,上室接种细胞每孔  $5 \times 10^4$  个,培养 12 h,100 倍光镜下计数各组 Transwell 小室上室细胞穿过滤膜到下室面的细胞数。随机计数 5 个视野内的细胞数,取平均值。用 Transwell 小室上室细胞穿过滤膜到下室面的细胞数表示胰腺癌细胞迁移能力。

### 1.7 划痕修复实验检测人胰腺癌细胞迁移能力

收集各组转染 48 h 的细胞,每孔  $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$  个细胞接种于 6 孔培养板,继续培养 24 h,细胞融合达到 80% 时,采用 200  $\mu\text{L}$  枪头在 6 孔板中划 3 条平行线,用磷酸盐缓冲液漂洗 2 次去除划下的悬浮细胞,继续培养 24 h 后,倒置显微镜下分别观察划痕后 0 h 和 48 h 时划痕中细胞的迁移情况。采用 Image-Pro-Plus 软件分析划痕宽度,以划痕修复率反应细胞的横向迁移能力。划痕修复率(%) = (0 h 划痕宽度 - 48 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度。实验重复 3 次。

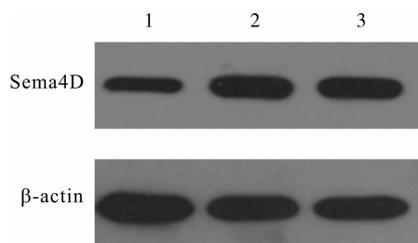
**1.8 体外 HUVEC 小管形成实验** 收集各组转染 72 h 的人胰腺癌细胞上清液,基质胶 4 $^{\circ}\text{C}$  过夜冻融,在预冷的 96 孔板中每孔加入 50  $\mu\text{L}$  基质胶,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 45 min。HUVEC 经胰蛋白酶消化后计数,调整 HUVEC 浓度为  $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ ,在各孔分别加入 20  $\mu\text{L}$  HUVEC 悬液并使其分布均匀,之后在孔中分别加入细胞上清液 20  $\mu\text{L}$ ,孵育 12 h 后镜下观察并拍照。每孔取 3 个视野计数小管形成数。

**1.9 统计学处理** 应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验; $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 siRNA 对人胰腺癌细胞中 Sema4D mRNA 和 Sema4D 蛋白表达的影响** 转染 Sema4D-siRNA 48 h 后,转染 siRNA 组、阴性对照组和空白对照组人胰腺癌细胞中 Sema4D mRNA 的相对表达量分别为  $0.535 \pm 0.008$ 、 $1.277 \pm 0.921$ 、 $1.297 \pm 0.010$ ,转

染 siRNA 组人胰腺癌细胞中 Sema4D mRNA 相对表达量显著低于阴性对照组和空白对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );阴性对照组人胰腺癌细胞中 Sema4D mRNA 的相对表达量与空白对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。Western blot 检测转染 Sema4D-siRNA 72 h 后 Sema4D 蛋白在胰腺癌细胞中的表达,结果显示,转染 siRNA 组、阴性对照组和空白对照组人胰腺癌细胞中 Sema4D 蛋白相对表达量分别为  $2.21 \pm 0.30$ 、 $3.45 \pm 0.25$ 、 $3.28 \pm 0.30$ ,转染 siRNA 组人胰腺癌细胞中 Sema4D 蛋白水平显著低于阴性对照组和空白对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );阴性对照组人胰腺癌细胞中 Sema4D 蛋白水平与空白对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(图 1)。



1. 转染 siRNA 组;2. 阴性对照组;3. 空白对照组。

**图 1 Western blot 检测 siRNA 对人胰腺癌细胞中 Sema4D 蛋白表达的影响**

**Fig.1 Effect of siRNA on the expression of Sema4D protein detected by Western blot**

**2.2 siRNA 对人胰腺癌细胞增殖能力的影响** 结果见表 1。转染 siRNA 组转染后第 48、72、96 h 人胰腺癌细胞的生长速度显著低于阴性对照组和空白对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );阴性对照组人胰腺癌细胞的生长速度与空白对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )

**2.3 siRNA 对人胰腺癌细胞迁移能力的影响** Transwell 迁移实验结果显示,转染 siRNA 组、阴性对照组和空白对照组穿膜细胞个数分别为  $96.00 \pm 5.90$ 、 $145.00 \pm 7.60$ 、 $137.00 \pm 9.60$ ;转染 siRNA 组穿膜细胞个数显著低于阴性对照组和空白对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );见图 2A。细胞划痕修复实验结果显示,转染 siRNA 组、阴性对照组和空白对照组划痕修复率分别为  $(40.16 \pm 3.60)\%$ 、 $(66.12 \pm 4.70)\%$ 、 $(70.01 \pm 5.01)\%$ ,转染 siRNA 组划痕修复率显著低于阴性对照组和空白对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );见图 2B。

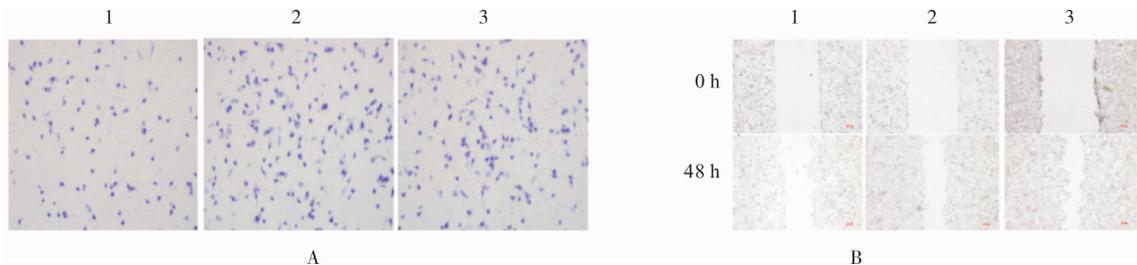
表1 siRNA 对人胰腺癌细胞增殖能力的影响

Tab.1 Effect of siRNA on the proliferation of human pancreatic cancer cell

( $\bar{x} \pm s$ )

组别	吸光度				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
转染 siRNA 组	0.503 ± 0.033	0.855 ± 0.037	1.094 ± 0.029 <sup>a</sup>	1.125 ± 0.501 <sup>a</sup>	1.247 ± 0.039 <sup>a</sup>
阴性对照组	0.508 ± 0.029	0.860 ± 0.045	1.212 ± 0.029	1.411 ± 0.041	1.780 ± 0.033
空白对照组	0.490 ± 0.040	0.871 ± 0.031	1.220 ± 0.043	1.390 ± 0.037	1.790 ± 0.041

注:与阴性对照组和空白对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。



A:Transwell 迁移实验;B:细胞划痕修复实验。1:转染 siRNA 组;2:阴性对照组;3:空白对照组。

图2 siRNA 对胰腺癌细胞迁移能力的影响

Fig.2 Effect of siRNA on the migration of human pancreatic cancer cell

2.4 siRNA 对体外 HUVEC 小管形成的影响 转染 siRNA 组、阴性对照组和空白对照组血管形成数

目分别为  $0.50 \pm 0.02$ 、 $1.45 \pm 0.60$ 、 $1.37 \pm 0.52$ , 组间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) (图3)。



A:转染 siRNA 组;B:阴性对照组;C:空白对照组。

图3 转染 Sema4D-siRNA 后对体外 HUVEC 小管形成的影响

Fig.3 Effect of transfection of Sema4D-siRNA on the formation of HUVEC tubules in vitro

### 3 讨论

胰腺癌起病隐匿,发展较快,易发生转移,手术切除率低,预后极差,已成为危害人类健康的“癌中之王”。随着基因治疗技术的发展,分子靶向治疗有望为胰腺癌的治疗提供新的希望。当前针对胰腺癌的治疗方法不断发展和进步,但总体疗效仍较差,需要进一步深入探索其发生、发展的机制,从而施行靶向治疗。RNA 干扰技术作为一种高度特异的基因沉默方法被广泛应用,本研究以化学合成的 siRNA 瞬时转染胰腺癌细胞,抑制 Sema4D 在人胰腺癌细胞中的表达,转染后 48 h Sema4D mRNA 表达明显下降,转染 Sema4D-siRNA 72 h 后,Sema4D 蛋白表达明显下降,抑制效率明显。

有文献报道,Sema4D 与神经丛素-B1 结合后,激活小分子三磷酸鸟苷酶结合蛋白癌基因(Rat sar-

coma,Ras)的同源基因家族 A-Ras,导致有丝分裂原活化蛋白激酶和丝氨酸苏氨酸蛋白激酶的磷酸化,从而增强胰腺癌细胞的侵袭力<sup>[5]</sup>。Sema4D 的表达与胰腺癌分期、淋巴结转移、脉管内瘤栓及血管生成等相关<sup>[8]</sup>。本研究结果亦表明,采用 RNA 干扰技术抑制胰腺癌中 Sema4D 的表达后,胰腺癌细胞生长速度、迁移能力均明显降低。

有研究证明,Sema4D 在许多肿瘤中高表达<sup>[9]</sup>,并且还能通过其受体神经丛素-B1 诱导血管生成<sup>[10]</sup>。而实体瘤的生长和转移依赖新生血管形成,肿瘤生长所需的氧气和营养均需要靠血管生成来维持相应的血液循环和物质交换,因此,抑制新血管生成是近年来治疗肿瘤的新策略<sup>[11]</sup>。血管生成在肿瘤发展、侵袭及转移过程中的作用举足轻重,Sema4D 表达与肿瘤内皮细胞迁移和肿瘤血管形成有关<sup>[12]</sup>。本研究结果亦表明,采用 RNA 干扰技术抑

制胰腺癌中Sema4D的表达后,HUVEC小管形成试验未见血管生成,而对照组均有血管生成,表明抑制Sema4D的表达后,胰腺肿瘤血管形成能力明显下降。

综上所述,Sema4D的表达在胰腺癌细胞的增殖、生长、迁移及血管生成中具有重要作用,而采用RNA干扰技术可以明显抑制Sema4D在胰腺癌细胞中的表达,抑制胰腺癌细胞的生长、迁移和血管生成,有望成为胰腺癌的新治疗靶点。

### 参考文献:

- [1] SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2013 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63(1): 11-30.
- [2] YOUNIS R H, HAN K L, WEBB T J. Human head and neck squamous cell carcinoma-associated semaphorin 4D induces expansion of myeloid-derived suppressor cells [J]. *J Immunol*, 2016, 196(3): 1419-1429.
- [3] SUN Q, ZHOU H, BINMADI N O, et al. Hypoxia-inducible factor-1-mediated regulation of semaphorin 4D affects tumor growth and vascularity [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(46): 32066-32074.
- [4] BASIKE J R, HOLMBECK K, BUGGE T H, et al. MT1-MMP controls tumor-induced angiogenesis through the release of semaphorin 4D [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(9): 6899-6905.
- [5] KATO S, KUBOTA K, SHIMAMURA T, et al. Semaphorin 4D: a lymphocyte semaphorin, enhances tumor cell motility through binding its receptor, plexinB1, in pancreatic cancer [J]. *Cancer Sci*,

2011, 102(11): 2029-2037.

- [6] 陈武桂,沈伟伟,胡旭,等. siRNA沉默Sema4D对乳腺癌MDA-MB-231细胞增殖及迁移的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015, 22(4): 454-458.
- [7] XU X D, YANG L, ZHENG LY, et al. Suberoylanilide hydroxamic acid, an inhibitor of histone deacetylase, suppresses vasculogenic mimicry and proliferation of highly aggressive pancreatic cancer PaTu8988 cells [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 374.
- [8] 贾如江,侯丽艳,尹清臣,等. 轴突诱导因子4D和血管内皮生长因子在胰腺癌组织中的表达[J]. *新乡医学院学报*, 2016, 33(11): 950-953.
- [9] YOUNIS R H, HAN K L, WEBB T. Semaphorin 4D produced by human head and neck squamous cell carcinoma induces myeloid derived suppressor cells expansion from peripheral blood monocytes [J]. *J Immunother Cancer*, 2015, 3(Suppl 2): 280.
- [10] DING X, QIU L, ZHANG L, et al. The role of semaphorin 4D as a potential biomarker for antiangiogenic therapy in colorectal cancer [J]. *Oncotargets Ther*, 2016, 8(9): 1189-1204.
- [11] BELLOU S, PENTHEROUDAKIS G, MURPHY C, et al. Anti-angiogenesis in cancer therapy: hercules and hydra [J]. *Cancer Lett*, 2013, 338(2): 219-228.
- [12] ZHOU H, YANG Y H, BASILE J R. The Semaphorin 4D-Plexin-B1-RhoA signaling axis recruits pericytes and regulates vascular permeability through endothelial production of PDGF-B and ANGPTL4 [J]. *Angiogenesis*, 2014, 17(1): 261-274.

(本文编辑:杨博 英文编辑:杨博)

## 《中华实用儿科临床杂志》2018年征订启事

《中华实用儿科临床杂志》(原《实用儿科临床杂志》)是由中国科学技术协会主管、中华医学会主办的中华医学会系列杂志,是以儿科临床与基础研究为主要报道内容的儿科学类核心期刊。本刊为中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊、儿科学类核心期刊、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)、RCCSE中国核心学术期刊、中国科学技术协会精品科技期刊;被中国生物医学文献数据库(CBMdisc)、Quick全文资料管理系统(FTME)、中文科技期刊数据库、万方数据、《中国学术期刊文摘》、美国《化学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、波兰《哥白尼文摘》、WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)、美国《乌利希斯期刊指南》等国内外数十家权威数据库收录。本刊以贯彻党和国家的卫生工作方针、政策,贯彻理论与实践、普及与提高相结合的方针,反映国内外儿科医疗、科研等方面的新理论、新技术、新成果、新进展,促进学术交流为办刊宗旨。辟有述评、专家论坛、学术争鸣、热点、论著、小儿神经基础与临床、中西医结合、实验研究、儿童保健、误诊分析、药物与临床、综述、小儿外科、病例报告、临床应用研究、儿科查房、标准·方案·指南、指南解读、国际期刊快通道、医学人文等栏目。以各级医院儿科医务工作者,各高等医学院校、科研院所儿科医教研人员,各级图书馆(室)、科技情报研究院(所)研究人员等为读者对象。欢迎广大儿科医务工作者和医学科教人员踊跃投稿。本刊为半月刊,A4开本,80页,无光铜版纸印刷,每月5日、20日出版。CN 10-1070/R,ISSN 2095-428X,CODEN SELZBJ,Dewey #:618.92。国内外公开发行,国内邮发代号:36-102,国外邮发代号:SM 1763。可通过全国各地邮局订阅,也可与本刊编辑部直接联系订阅邮购。国内定价:12.00元/期,288.00元/年;国外定价:12.00美元/期,288.00美元/年。

欲浏览本刊或有投稿意向,请登录本刊网站(<http://www.zhshykelczz.com>)注册,网站提供免费全文下载。联系地址:453003河南省新乡市金穗大道601号新乡医学院《中华实用儿科临床杂志》编辑部。联系电话:0373-3029144,0373-3831456;传真:0373-3029144;电子邮箱:zhshykelczz@163.com,syqk@chinajournal.net.cn。请优先登录中华医学会杂志社网站(<http://www.medline.org.cn>)首页的“稿件远程管理系统”投稿。