

[文章编号] 1000-1182(2009)04-0361-05

# 肥大细胞、Clusterin/apoJ和转化生长因子- $\beta$ 在不同时期血管瘤中的表达及相关性

袁耐力<sup>1</sup> 秦兴军<sup>2</sup> 王绪凯<sup>2</sup>

(1.中国医科大学附属第四医院 口腔科, 辽宁 沈阳 110032;

2.中国医科大学口腔医院 口腔颌面外科, 辽宁 沈阳 110002)

**[摘要]** 目的 探讨肥大细胞、Clusterin/apoJ和转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )在不同时期血管瘤发生、发展过程中的表达及相关性。方法 采用免疫组织化学方法检测不同时期血管瘤中Clusterin/apoJ、TGF- $\beta$ 的表达水平以及采用甲苯胺蓝染色法对各期肥大细胞进行染色。结果 增生晚期肥大细胞计数明显多于增生早、中期( $P<0.01$ ), 退化早期肥大细胞计数明显多于退化中、晚期( $P<0.01$ )。Clusterin/apoJ和TGF- $\beta$ 在增生晚期的表达明显强于其在增生早、中期的表达( $P<0.01$ ), 在退化早期的表达明显强于其在退化中、晚期的表达( $P<0.01$ )。不同时期中肥大细胞计数与Clusterin/apoJ和TGF- $\beta$ 表达的平均阳性面积率间具有显著正相关性( $P<0.01$ ), 不同时期中Clusterin/apoJ和TGF- $\beta$ 表达的平均阳性面积率间具有显著正相关性( $P<0.01$ )。结论 肥大细胞可能对血管瘤的消退进程起促进作用。Clusterin/apoJ和TGF- $\beta$ 可能具有促进血管内皮细胞凋亡, 发挥促进血管瘤消退的作用; TGF- $\beta$ 可能通过正性调节Clusterin/apoJ的表达而发挥促进血管瘤自然消退的作用。

**[关键词]** 血管瘤; 血管内皮细胞; 肥大细胞; Clusterin/apoJ; 转化生长因子- $\beta$

**[中图分类号]** R 739.8 **[文献标志码]** A

**Expression and correlation of mast cell, Clusterin/apoJ and transforming growth factor- $\beta$  in the different stages of human dermal hemangioma** YUAN Wei-li<sup>1</sup>, QIN Xing-jun<sup>2</sup>, WANG Xu-kai<sup>2</sup>. (1. Dept. of Stomatology, The Fourth Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110032, China; 2. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Stomatology, China Medical University, Shenyang 110002, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression and correlation of mast cell, Clusterin/apoJ and transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ ) in the different stages of human dermal hemangioma. **Methods** Immunohistochemical stain technique(SABC) and toluidine blue(TB) stain technique were respectively used to detect the expression level of Clusterin/apoJ and TGF- $\beta$  and the number of mast cells in the different stages of human dermal hemangioma. **Results** There was remarkable statistical difference between the advanced stage of proliferative hemangioma and the other stages of proliferative hemangioma in the number of mast cell( $P<0.01$ ). There was also remarkable statistical difference between the early stage of involutinal hemangioma and the other stages of involutinal hemangioma in the number of mast cell( $P<0.01$ ). The expression of Clusterin/apoJ and TGF- $\beta$  in the advanced stage of proliferative hemangioma was significantly higher than the other stages in proliferative hemangioma( $P<0.01$ ). The expression of Clusterin/apoJ and TGF- $\beta$  in the early stage of involutinal hemangioma was significantly higher than the other stages in involutinal hemangioma( $P<0.01$ ). There was a significantly positive correlation between Clusterin/apoJ and TGF- $\beta$  in the different stages of human dermal hemangioma( $P<0.01$ ). The expression level of Clusterin/apoJ and TGF- $\beta$  was positively correlated with the number of mast cell in the different stages of human dermal hemangioma( $P<0.01$ ). **Conclusion** Mast cell may play a promotive role of apoptosis during the spontaneous regulate the expression of Clusterin/apoJ and promote the spontaneous involution of human dermal hemangioma.

**[Key words]** hemangioma; vascular endothelial cells; mast cell; Clusterin/apoJ; transforming growth factor- $\beta$

[收稿日期] 2008-12-11; [修回日期] 2009-03-02

[作者简介] 袁耐力(1982—), 男, 吉林人, 住院医师, 硕士

[通讯作者] 王绪凯, Tel: 024-22891113

血管瘤是婴幼儿时期常见的良性肿瘤, 是以血管内皮细胞异常增殖、大量血管增生为主要病理学特征的良性血管病变。目前对血管瘤发生、发展和

自然消退的机制仍不清楚<sup>[1]</sup>。在血管瘤自行退化过程中，无炎症反应和组织坏死，非常符合凋亡的过程，因此有人推测是由于血管内皮细胞凋亡导致血管瘤自然消退<sup>[2]</sup>。迄今为止，已发现肥大细胞分泌的许多细胞因子可以调控血管内皮细胞的凋亡，如碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)等，而其中一些细胞因子如bFGF、TGF-β等在血管瘤组织中的表达明显高于正常皮肤组织<sup>[3-4]</sup>。

Clusterin/apoJ被认为是凋亡性细胞死亡的重要标志物<sup>[5]</sup>。近年来国内外学者对该因子在其他肿瘤方面的研究较多，但对不同时期血管瘤内皮细胞表达Clusterin/apoJ抗原还缺乏专门的研究。

目前尚缺乏肥大细胞、Clusterin/apoJ和TGF-β在血管瘤病程中相互关系的研究。本实验对血管瘤不同时期(增生早、中、晚期，退化早、中、晚期)的肥大细胞进行计数分析，采用免疫组织化学法检测Clusterin/apoJ和TGF-β在不同时期血管瘤中的表达及相关性，以初步探讨血管瘤自然消退的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本

收集中国医科大学盛京医院病理科2005—2007年皮肤毛细血管瘤(又称草莓样血管瘤，为真性血管瘤)存档蜡块56例，均为手术切除标本，病变部位为颌面部皮肤，所有患儿术前未经过激素或其他药物治疗，所选标本术后均由2名病理科医师证明是真性血管瘤。按照Mulliken分类标准并且结合增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)表达情况进行分组。其中PCNA是以血管瘤内皮细胞核内出现棕黄色颗粒为阳性反应，用以区分血管瘤增生期和退化期，增生期血管瘤内皮细胞核肥大，核内弥漫分布棕黄色颗粒，PCNA表达强；退化期血管瘤内皮细胞核扁平，少数胞核内有少量棕黄色颗粒，PCNA为弱表达。正常皮肤内PCNA为弱表达。具体分组情况如下：增生期30例，退化期26例，另取血管瘤周围正常皮肤组织6例作为对照。同时根据患儿的年龄将所有标本分为6个阶段<sup>[6]</sup>：增生早期(1~3月)4例，增生中期(4~6月)9例，增生晚期(7~12月)17例，退化早期(1~3岁)10例，退化中期(3~5岁)9例和退化晚期(5岁以上)7例。

### 1.2 试剂和仪器

甲苯胺蓝(toluidine blue, TB)(由中国医科大学组织胚胎教研室提供，配制成0.5%甲苯胺蓝溶液)，

即用型兔抗人TGF-β单克隆抗体、即用型鼠抗人Clusterin/apoJ单克隆抗体、即用型鼠抗人PCNA单克隆抗体、SABC通用型免疫组织化学试剂盒、DAB显色试剂盒及多聚赖氨酸(北京中杉金桥生物技术开发公司)。烘片箱(上海华岩仪器设备有限公司)，组织切片机(YL3-A型，上海医用仪表厂)，恒温水箱式摊片仪(BS2-1型，北京医疗设备厂)，医用型格兰仕微波炉(佛山格兰仕微波炉电器有限公司)，光学显微镜(Olympus公司，日本)。

### 1.3 甲苯胺蓝快速染色和结果判定

将病理标本蜡块切成4 μm厚切片，二甲苯脱蜡至水化，流水洗5 min；0.5%甲苯胺蓝染色10~15 s，流水洗3 min；丙酮( )脱水各2 min，风干；二甲苯( )透明各15 min，DPX封片。染色后背景为淡蓝色，肥大细胞胞浆内含紫红色粗大颗粒者为甲苯胺蓝染色阳性。

### 1.4 免疫组织化学法染色和结果判定

将石蜡标本制备成4 μm厚切片，参照SABC免疫组化试剂盒说明书进行染色。步骤为：1)载玻片防脱片剂处理：选用1%多聚-L-赖氨酸，捞片后于58~60℃烤箱中30~60 min使切片紧密黏附；2)切片脱蜡至水；3)新鲜配制3%过氧化氢室温孵育5~10 min以灭活内源性酶，蒸馏水洗3次；4)微波修复抗原：将切片浸入0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液中，微波炉加热至96~100℃，持续20~30 min，室温冷却；5)滴加抗原修复液，室温10 min，蒸馏水洗3次；6)滴加正常工作血清封闭液，室温10 min，甩去多余液体不洗；7)滴加即用型一抗PCNA、Clusterin/apoJ或TGF-β，37℃孵育2 h，0.01 mol/L PBS洗2 min×3次；8)滴加生物素山羊抗兔IgG或兔抗鼠IgG，37℃孵育20 min，0.01 mol/L PBS洗2 min×3次；9)滴加试剂SABC，37℃孵育20 min，0.01 mol/L PBS洗5 min×4次；10)DAB显色：取1 mL蒸馏水，加DAB试剂盒中A、B试剂各1滴，混匀后加至切片，室温显色，镜下控制反应时间，一般为20~30 min；11)苏木素轻度复染，脱水，透明，中性树胶封片，显微镜下观察。Clusterin/apoJ和TGF-β以细胞浆和细胞膜出现棕黄色颗粒为阳性反应。阴性对照组除细胞核染成蓝色外，无棕黄色反应物。

### 1.5 图像分析

采用显微图像分析系统Metamorph/Evolution MP5.0/BX51(US/JP, UIC/Olympus)对进行甲苯胺蓝染色的肥大细胞进行定量分析，每张切片随机选取5个镜下视野(×200)，测定每个高倍视野(high power field, HPF)下肥大细胞的数目，以每5个视野(×200)下肥大细胞计数的平均值作为每张切片的肥大细胞

平均计数值。同法对TGF-β和Clusterin/apoJ的表达进行定量分析,计算每5个视野(×200)下的平均阳性面积率(阳性面积率=单位面积中阳性反应的总面积/单位面积中细胞的总面积)。

### 1.6 统计学分析

采用SPSS 11.0统计软件对不同时期血管瘤组织中肥大细胞的数目、Clusterin/apoJ和TGF-β免疫组织化学反应阳性颗粒的平均阳性面积率行单因素方差分析和*t*检验,检验水准α为0.05。采用Pearson相关分析法对不同时期血管瘤中肥大细胞数目与Clusterin/apoJ和TGF-β表达的平均阳性面积率分别进行相关性分析;对不同时期血管瘤中Clusterin/apoJ和TGF-β表达的平均阳性面积率作相关性分析。

## 2 结果

### 2.1 肥大细胞计数

各期肥大细胞计数见表1。在血管瘤增生早期肥大细胞较少,增生中期渐多,进入增生晚期肥大细胞数目骤增;退化早期数目也较多,随后进入退化中期数目开始回落,退化晚期数目较退化早、中期明显减少(图1、2)。每高倍视野下,增生期肥大细胞平均计数值为(20.022 2±15.355 6)个,退化期肥大细胞平均计数值为(20.200 0±14.093 2)个,正常皮肤内肥大细胞平均计数值为(3.1±1.3)个。统计学分析表明,增生期与退化期肥大细胞平均计数值相比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。但各期肥大细胞平均计数值却有较大差异,增生晚期与增生早、中期相比差异有统计学意义( $P<0.01$ ),增生晚期与退化早期相比差异无统计学意义( $P>0.05$ ),退化早期与退化中、晚期相比差异有统计学意义( $P<0.01$ )。正常皮肤内肥大细胞平均计数值与增生各期、退化各期肥大细胞平均计数值相比差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。

表 1 不同时期血管瘤中肥大细胞计数、Clusterin/apoJ和TGF-β表达的平均阳性面积率

Tab 1 Mast cell count and average positive area rate of the expression of Clusterin/apoJ and TGF-β in the different stages of hemangioma

分期	肥大细胞/个	Clusterin/apoJ/%	TGF-β/%
增生早期	11.800 0±6.816 0	0.933 9±0.623 8	1.234 9±0.500 7
增生中期	12.333 3±3.518 7	2.060 3±0.590 8	1.433 7±0.493 5
增生晚期	30.133 3±11.764 8	7.867 2±1.598 9	2.893 1±0.928 7
退化早期	35.933 3±16.589 5	10.021 0±2.630 5	4.035 0±1.359 6
退化中期	18.933 3±15.530 9	8.756 0±1.749 0	3.532 7±1.315 7
退化晚期	11.533 3±7.529 6	5.549 5±3.261 4	2.762 5±1.337 4

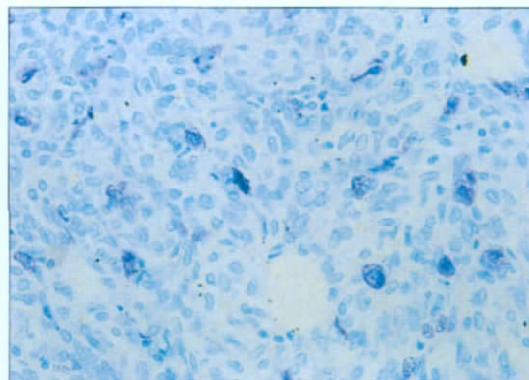


图 1 增生晚期血管瘤组织中可见大量肥大细胞 TB ×200  
Fig 1 There were a large amount of mast cells among the hemangioma tissues during the advanced stage of proliferating hemangioma TB ×200



图 2 退化晚期血管瘤组织中可见大量脂肪细胞取代血管瘤组织,纤维结缔组织中可见散在分布肥大细胞 TB ×200  
Fig 2 The hemangioma tissues can be seen to substitute with a large amount of fat cells during the advanced stage of involuting hemangioma. Small amounts of mast cells spread among the fibrous connective tissues TB ×200

### 2.2 Clusterin/apoJ的表达

由表1可见,Clusterin/apoJ在增生晚期的表达与增生早、中期相比差异有统计学意义( $P<0.01$ ),在退化早期的表达与退化中、晚期相比差异有统计学意义( $P<0.01$ ),Clusterin/apoJ在增生晚期的表达与退化早期相比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。增生早、中期血管瘤内皮细胞膜或细胞浆内无或有少量的棕黄色颗粒,增生晚期棕黄色颗粒明显增多(图3);退化早期血管瘤内皮细胞浆或细胞膜内可见大量棕黄色颗粒沉积,但是随着血管瘤进入退化中、晚期,表达逐渐减弱(图4)。

### 2.3 TGF-β的表达

由表1可见,TGF-β在增生晚期的表达与增生早、中期相比差异有统计学意义( $P<0.01$ ),在退化早期的表达与退化中、晚期相比差异有统计学意义( $P<0.01$ ),TGF-β在增生晚期的表达与退化早期相比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。增生早期、中期血管瘤内皮细胞浆内无或有极少量棕黄色颗粒,增生

晚期棕黄色颗粒明显增多(图5);退化早期内皮细胞胞浆或部分细胞外基质中见较多棕黄色颗粒,随血管瘤进入退化中、晚期,表达逐渐减弱(图6)。

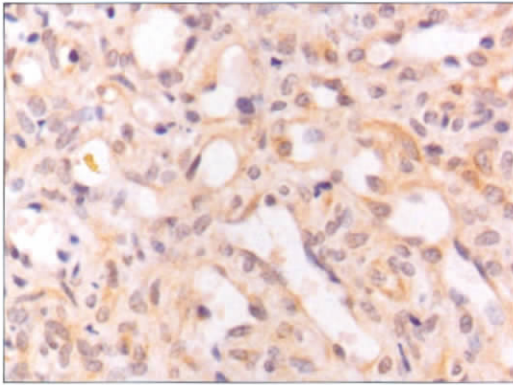


图 3 增生晚期血管瘤内皮细胞胞浆内可见大量Clusterin/apoJ强阳性颗粒表达 SABC × 200  
Fig 3 Clusterin/apoJ strong positive expression in the vascular endothelial cells during the advanced stage of proliferating hemangioma SABC × 200

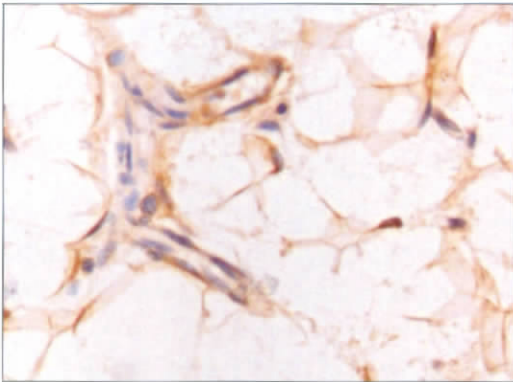


图 4 退化晚期可见少量血管瘤内皮细胞的存在,其细胞浆内可见Clusterin/apoJ阳性颗粒表达,周围间质内可见大量脂肪细胞存在 SABC × 200  
Fig 4 Clusterin/apoJ positive expression in the vascular endothelial cells during the advanced stage of involuting hemangioma. Numerous fat cells could be seen in the interstitial tissue of hemangioma SABC × 200

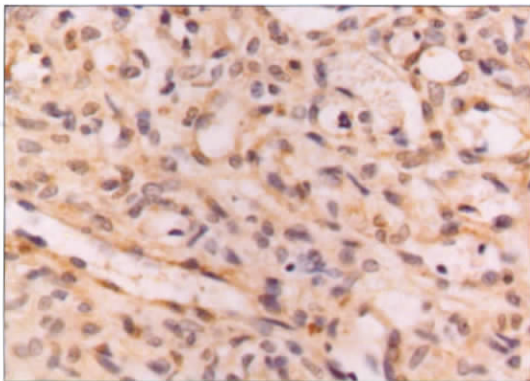


图 5 增生晚期血管瘤内皮细胞胞浆内可见大量TGF-β强阳性颗粒表达 SABC × 200  
Fig 5 TGF-β strong positive expression in the vascular endothelial cells during the advanced stage of proliferating hemangioma SABC × 200

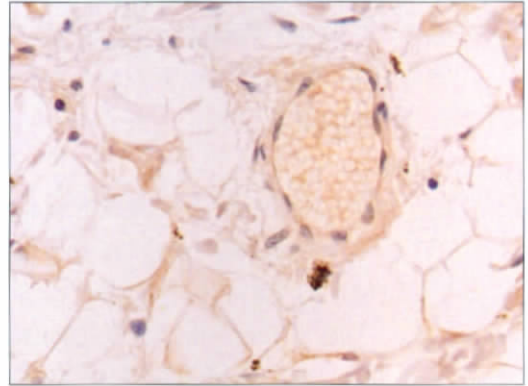


图 6 退化晚期可见大量脂肪细胞取代血管瘤组织,血管内皮细胞胞浆内可见少量TGF-β阳性颗粒表达 SABC × 200  
Fig 6 TGF-β positive expression in the vascular endothelial cells, the hemangioma tissues can be seen to substitute with a large amount of fat cells during the advanced stage of involuting hemangioma SABC × 200

### 2.4 相关性分析

不同时期中肥大细胞计数与Clusterin/apoJ和TGF-β表达的平均阳性面积率间具有显著正相关性( $P < 0.01$ ),不同时期中Clusterin/apoJ和TGF-β表达的平均阳性面积率间具有显著正相关性( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 血管瘤分类方法的探讨

本实验按Mulliken分类标准并结合PCNA表达情况将血管瘤组织分为增生期和退化期,再按患儿年龄将标本分6个阶段<sup>[6]</sup>。采用这种分类方法可获得各种细胞或细胞因子相对动态的表达变化情况,实现对血管瘤发生、发展病理演变过程的动态分析。

#### 3.2 肥大细胞与血管瘤

Takahashi等<sup>[7]</sup>对38例血管瘤标本进行研究,结果发现肥大细胞可能是促进血管瘤消退的因素。Hasan等<sup>[8]</sup>报道了以糖皮质激素促消退治疗的血管瘤中肥大细胞数较未进行治疗的血管瘤高4倍。

本研究中肥大细胞在增生晚期数量骤增直至退化中期数目开始减少,此过程是血管瘤内皮细胞由增生转入退化的关键时期,表明其与血管瘤内皮细胞的凋亡消退密切相关,肥大细胞可能通过分泌其他细胞因子诱导血管瘤内皮细胞的凋亡,至于肥大细胞计数在退化中、晚期逐渐减少,可能是血管瘤组织已大部分被纤维结缔组织和脂肪组织取代,血管瘤内皮细胞已消亡殆尽,进而肥大细胞诱导血管瘤内皮细胞凋亡的活性也减弱,数量也逐渐减少。

#### 3.3 Clusterin/apoJ与血管瘤

Clusterin/apoJ是一个异二聚体的硫酸糖蛋白。它最早是在鼠睾丸液中分离出来的<sup>[9]</sup>。有研究者认为Clusterin/apoJ与小鼠阉割后导致前列腺细胞的程

序性死亡有关<sup>[10]</sup>。Clusterin/apoJ在体内调节细胞凋亡的方式与其在细胞中的表达形式有关，Clusterin/apoJ全长mRNA在应激刺激下产生的nCLU是一种促凋亡信号，抑制细胞生长和生存<sup>[11]</sup>。

免疫组化染色发现Clusterin/apoJ在血管瘤增生早期、中期无表达或表达水平极低，而在增生晚期中表达逐渐增强，与Hasan等<sup>[12]</sup>的研究结果不同，其认为血管瘤增生期不表达Clusterin/apoJ<sup>[12]</sup>。结合图像分析结果，推测在血管瘤发展过程中Clusterin/apoJ可能具有促进血管瘤内皮细胞凋亡的作用，在血管瘤的自发消退过程中起重要作用。

### 3.4 TGF-β与血管瘤

以往文献对TGF-β及其受体在血管瘤组织中的表达仅仅停留于增生期和退化期等较粗略的分期研究。Hasan等<sup>[8]</sup>认为增生期血管瘤组织中不表达TGF-β。Chang等<sup>[13]</sup>发现增生期血管瘤组织中表达TGF-β，但程度较低。免疫组化染色发现TGF-β在血管瘤增生早、中期的血管内皮细胞中表达水平极低，而在增生晚期的血管内皮细胞中表达增强。随血管瘤进入退化早期，TGF-β在血管瘤内皮细胞中的表达进一步增强，但进入退化中、晚期表达逐渐减弱。结合图像分析结果，认为TGF-β可能具有强大的促进血管内皮细胞凋亡的作用，抑制血管内皮细胞的增殖，从而达到促进血管瘤消退的作用，其在血管瘤的自发性消退过程中可能扮演着极其关键的角色。

### 3.5 肥大细胞、Clusterin/apoJ和TGF-β在血管瘤中表达的相关性

不同时期中肥大细胞计数与各个时期Clusterin/apoJ表达的阳性面积率间具有显著正相关性，在一定程度上证明肥大细胞与Clusterin/apoJ在血管瘤的增生消退中具有密切关系。肥大细胞在增生早期至退化晚期的数量变化与Clusterin/apoJ在血管瘤增生早期至退化晚期表达基本一致。

Clusterin/apoJ基因启动子包括一个保守的转录因子活化蛋白-1位点，能对TGF-β作出反应。在TGF-β缺乏时，极早基因c-fos蛋白的存在可抑制Clusterin/apoJ表达；而TGF-β存在时，其干扰c-fos的功能而允许Clusterin/apoJ的表达<sup>[14]</sup>。本研究发现Clusterin/apoJ和TGF-β在不同时期血管瘤组织中表达的平均阳性面积率呈显著正相关。由此推测，血管瘤从增生期进入消退期，由于内皮细胞中TGF-β（主要是TGF-β1）表达上升<sup>[13]</sup>，影响c-fos的功能，从而促使Clusterin/apoJ表达，与其他凋亡相关的蛋白共同作用促使血管内皮细胞凋亡，而凋亡的内皮细胞可能又产生一些和凋亡相关的蛋白，最终导致血管瘤的消退。

## 【参考文献】

- [1] Liekens S, Verbeke E, Vandeputte M, et al. A novel animal model for hemangiomas: Inhibition of hemangioma development by the angiogenesis inhibitor TNP-470[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(10): 2376-2383.
- [2] Razon MJ, Kråling BM, Mulliken JB, et al. Increased apoptosis coincides with onset of involution in infantile hemangioma[J]. *Microcirculation*, 1998, 5(2/3): 189-195.
- [3] 江成鸿, 庄福连, 许东坡, 等. 雌激素受体、血管内皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子在小儿血管瘤中的表达及意义[J]. *中华医学美容美容杂志*, 2006, 12(5): 290-292.
- [4] JIANG Cheng-hong, ZHUANG Fu-lian, XU Dong-po, et al. Expression of estrogen receptor, VEGF and bFGF in infantile hemangioma[J]. *Chin J Medical Aesthetics Cosmetology*, 2006, 12(5): 290-292.
- [5] Maiuri F, Cappabianca P, Gangemi M, et al. Clinical progression and familial occurrence of cerebral cavernous angiomas: The role of angiogenic and growth factors[J]. *Neurosurg Focus*, 2006, 21(1): 3.
- [6] Singh RK, Gutman M, Bucana CD, et al. Interferons alpha and beta down-regulate the expression of basic fibroblast growth factor in human carcinomas[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92(10): 4562-4566.
- [7] 邢新, 袁斯明, 欧阳天祥, 等. Fas/FasL在各阶段婴幼儿血管瘤中的表达及意义[J]. *中华整形外科杂志*, 2006, 22(2): 116-120.
- [8] XING Xin, YUAN Si-ming, OUYANG Tian-xiang, et al. The expression and role of Fas/FasL in infantile hemangioma[J]. *Chin J Plastic Surgery*, 2006, 22(2): 116-120.
- [9] Takahashi K, Mulliken JB, Kozakewich HP, et al. Cellular markers that distinguish the phases of hemangioma during infancy and childhood[J]. *J Clin Invest*, 1994, 93(6): 2357-2364.
- [10] Hasan Q, Tan ST, Gush J, et al. Steroid therapy of a proliferating hemangioma: Histochemical and molecular changes[J]. *Pediatrics*, 2000, 105(1 Pt 1): 117-120.
- [11] Blaschuk O, Burdzy K, Fritz IB. Purification and characterization of a cell-aggregating factor(clusterin), the major glycoprotein in ram rete testis fluid[J]. *J Biol Chem*, 1983, 258(12): 7714-7720.
- [12] Leskov KS, Klokov DY, Li J, et al. Synthesis and functional analyses of nuclear clusterin, a cell death protein[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(13): 11590-11600.
- [13] July LV, Akbari M, Zellweger T, et al. Clusterin expression is significantly enhanced in prostate cancer cells following androgen withdrawal therapy[J]. *Prostate*, 2002, 50(3): 179-188.
- [14] Hasan Q, Rüger BM, Tan ST, et al. Clusterin/apoJ expression during the development of hemangioma[J]. *Hum Pathol*, 2000, 31(6): 691-697.
- [15] Chang J, Most D, Bresnick S, et al. Proliferative hemangiomas: Analysis of cytokine gene expression and angiogenesis[J]. *Plast Reconstr Surg*, 1999, 103(1): 1-9.
- [16] Jin G, Howe PH. Transforming growth factor beta regulates clusterin gene expression via modulation of transcription factor c-Fos[J]. *Eur J Biochem*, 1999, 263(2): 534-542.