

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.31.004

β - 榄香烯对 RAW264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞作用的研究 *

段文丽¹ 白仁仁² 钟 颖¹ 徐进宜² 尚 靖^{1△}

(1 中国药科大学新药筛选中心 江苏 南京 210009; 2 中国药科大学药物化学教研室 江苏 南京 210009)

摘要 目的:研究 β - 榄香烯抗巨噬细胞源性泡沫细胞的形成及抑制巨噬细胞炎症因子分泌的作用。为探讨 β - 榄香烯抗动脉粥样硬化(AS)的作用提供依据。**方法:**采用氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导小鼠单核 / 巨噬细胞(RAW264.7)建立巨噬细胞源性泡沫细胞模型,采用油红 O 染色鉴定泡沫细胞形成。给予不同浓度(0.5, 5, 50 μ M) β - 榄香烯干预后,ELISA 方法检测巨噬细胞源性泡沫细胞内胆固醇含量和肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白介素-6(IL-6)分泌量的变化。**结果:** β - 榄香烯可降低巨噬细胞源性泡沫细胞内总胆固醇($P<0.05$ 或 $P<0.01$),胆固醇酯含量($P<0.01$),减少炎症因子 TNF- α , IL-6 的分泌($P<0.05$ 或 $P<0.01$),并且呈现出一定的浓度依赖性。**结论:** β - 榄香烯抑制巨噬细胞对 ox-LDL 的摄取,降低细胞内胆固醇的含量,抑制泡沫细胞的形成,同时改善巨噬细胞的炎症状态从而发挥抗动脉粥样硬化的作用。

关键词: 动脉粥样硬化; 巨噬细胞; 胆固醇; 胆固醇酯; IL-6; TNF- α

中图分类号: R-33; R543.5; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2014)31-6014-05

Study on the Effects of β -elemene on RAW264.7 Macrophage-derived Foam Cells*

DUAN Wen-li¹, BAI Ren-ren², ZHONG Ying¹, XU Jin-yi², SHANG Jing^{1△}

(1 New Drug Screening Center, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu, 210009, China;

2 Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu, 210009, China)

ABSTRACT Objective: The effects of β -elemene on the generation of and inflammatory cytokine production from RAW264.7 macrophage-derived foam cells were observed. **Methods:** RAW264.7 macrophages were incubated with oxidized low-density lipoproteins (ox-LDL) or with both ox-LDL and β -elemene (0.5, 5, or 50 μ M). Oil red O staining was used to observe the formation of foam cells and the contents of cellular cholesterol, TNF- α and IL-6 were determined by commercially available kits. **Results:** Compared with the control cells, RAW264.7 macrophage-derived foam cells showed significantly increased contents of total cholesterol, cholesterol ester, TNF- α and IL-6 ($P<0.01$ or $P<0.001$). However, β -elemene treatments significantly lowered the contents of total cholesterol, cholesterol ester and decreased secretion of TNF- α and IL-6 in a dose-dependent manner ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion:** β -elemene can be involved in the intake of ox-LDL, decrease the contents of total cholesterol and cholesterol esters, reduce the secretion of inflammatory cytokines in the macrophages, inhibit the formation of foam cell and produce the anti-atherosclerotic effect.

Key words: Atherosclerosis; Macrophage; Cholesterol; Cholesterol ester; IL-6; TNF- α

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R543.5; R392.11 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)31-6014-05

前言

心血管疾病是全球范围造成死亡的最主要原因,每年有一亿六千七百万人死于心血管疾病^[1,2],冠脉疾病和脑血管疾病是最常见的心血管疾病,它们共同的病理基础是动脉粥样硬化(AS)。AS 是一种以顽固性炎症和脂质代谢紊乱为特征的疾病^[3,4],巨噬细胞在 AS 的发生发展中起着关键的作用。一方面巨噬细胞吞噬大量的脂质形成泡沫细胞,引起 AS 的发生;另一方面脂质蓄积引起巨噬细胞释放大量的炎症因子,这些因子在

AS 病变部位起到多方面的作用,可以引起炎症反应、内皮细胞功能障碍、血栓形成、血管重构和斑块破裂,促进 AS 形成和发展^[5-8]。目前临床治疗 AS 的主要方案为降胆固醇药如他汀类。他汀类虽然能够减少炎症反应并增加斑块稳定性,但目前仍然没有直接有效的方法来抑制泡沫细胞形成,改善细胞炎症状态。因此寻找新的药物维持巨噬细胞内胆固醇含量的动态平衡并改善细胞炎症状态对防治 AS 有重大意义。

β - 榄香烯是从姜科植物温莪术中提取出来的倍半萜烯类化合物,是一种广谱、高效的抗肿瘤药物^[9-11]。近年来研究发现

* 基金项目: 国家科技重大专项“十二五重大新药创制”(2011ZX09401-007);“十二五”国家支撑项目(2012BAI30B01)

作者简介: 段文丽(1987-),女,硕士研究生,研究方向: 心血管疾病,电话: 15952001030, E-mail: duanwenlizuihao@163.com

△通讯作者: 尚靖,女,教授,博士生导师,研究方向: 糖脂代谢紊乱,电话: 025-83271142, E-mail: shangjing21cn@163.com

(收稿日期: 2014-03-11 接受日期: 2014-04-05)

β -榄香烯具有抑制血管生成,抗凝血,溶血栓,改善血液流变学,抗氧化损伤等作用^[12-15],因此 β -榄香烯具有良好的抗动脉粥样硬化的应用前景。但是 β -榄香烯对巨噬细胞源性泡沫细胞的作用尚无报道,本研究采用 ox-LDL 诱导 RAW264.7 建立巨噬细胞源性泡沫细胞模型,观察 β -榄香烯是否抑制泡沫细胞的形成和炎症因子的释放,为 β -榄香烯抗动脉粥样硬化的应用提供进一步的科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞系 小鼠单核/巨噬细胞系(RAW264.7)购自 American Type Culture Collection(ATCC)。

1.1.2 试剂 β -榄香烯由大连远大医药科技开发有限公司提供;ox-LDL 购自广州奕源生物科技有限公司;TNF- α ELISA 试剂盒购自南京伟沃生物科技有限公司;IL-6 ELISA 试剂盒购自北京四正柏生物科技有限公司;胆固醇试剂盒购自 Invitrogen;辛伐他汀,油红粉,四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)、青霉素、链霉素均为美国 Sigma 公司产品;碳酸氢钠、氯化钾、氯化钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠均为分析纯,购自南京化学试剂一厂;DMEM 培养基、胎牛血清、购自美国 GIBCO 公司。

1.1.3 仪器 CO₂ 培养箱(Hearous,德国);Safire 2 型微孔板测读仪(TECAN,瑞士);倒置显微镜(Olympus,日本);超净工作台(苏州艾可林净化设备有限公司);电子天平(Sartorius,德国);Milli-Q 自动纯水机(Millipore,美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 小鼠单核/巨噬细胞的培养 RAW264.7 复苏后,传至培养皿中,用含有 10%胎牛血清,青霉素(100 U/ml),链霉素(100 μ g/ml)的 DMEM 培养基于 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养,当细胞达到 80%融合时传代。正常培养 3 代后,接种于细胞培养板或培养皿中。待细胞融合至 70%时,按实验分组设计加入相应处理因素并检测相应指标。

1.2.2 β -榄香烯对 RAW264.7 活力的影响 取生长状态良好的 RAW264.7 传代,以 5×10^3 个/孔密度接种于 96 孔培养板中,正常培养 24 h 后,换用含有 0, 0.5, 5, 10, 50, 100, 200, 500 μ M 的 β -榄香烯的无血清培养基继续培养 24 h,MTT 法检测各组细胞活力。

1.2.3 泡沫细胞油红 O 染色 取生长状态良好的 RAW264.7 传代,以 5×10^5 个/ml 密度接种于 6 孔培养板中,正常培养 24 h 后,PBS 洗 1 遍,正常组和模型组分别换用无血清培养基和含有 60 μ g/ml ox-LDL 的无血清培养基继续培养 24 h 后,弃去原细胞培养液,用 PBS 洗 2 遍,用 4%多聚甲醛固定 30 min,弃去固定液后用 PBS 洗 2~3 遍,加入油红染色液 37℃染色 30 min,弃去染色液后用 PBS 洗 3 遍,在倒置显微镜下观察染色结果并进行拍照。

1.2.4 β -榄香烯对 RAW264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞内总胆固醇,胆固醇酯的检测 取生长状态良好的 RAW264.7 传代,以 5×10^5 个/ml 密度接种于 6 孔培养板中,于 37℃、5%CO₂

培养箱中培养。正常培养 24 h 后,换用无血清的培养基继续培养 12 h,使细胞同步化后。实验分为以下几组:正常对照组;模型组(ox-LDL 损伤组);辛伐他汀组(ox-LDL+辛伐他汀 1 μ M); β -榄香烯低剂量组(ox-LDL+ β -榄香烯 0.5 μ M); β -榄香烯中剂量组(ox-LDL+ β -榄香烯 5 μ M); β -榄香烯高剂量组(ox-LDL+ β -榄香烯 50 μ M)。正常组换用无血清的培养基,ox-LDL 损伤组换为含 60 μ g/ml ox-LDL 的无血清培养基,辛伐他汀组换为含 1 μ M 辛伐他汀和 60 μ g/ml ox-LDL 的无血清培养基, β -榄香烯组换为含相应浓度的 β -榄香烯和 60 μ g/ml ox-LDL 无血清培养基继续培养 24 小时。收集细胞,按照试剂盒说明书所述方法测定总胆固醇,胆固醇酯的含量。

1.2.5 β -榄香烯对 RAW264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞 TNF- α , IL-6 分泌的影响 将 RAW264.7 接种于 6 孔培养板中,按“1.2.4”方法分组处理后,收集培养液,按照试剂盒说明书所述方法测定 TNF- α , IL-6 的含量。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism 5 统计软件进行分析,所有数据均采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较进行 t 检验。P<0.05 表示差异有统计意义。

2 结果

2.1 β -榄香烯对 RAW264.7 活力的影响

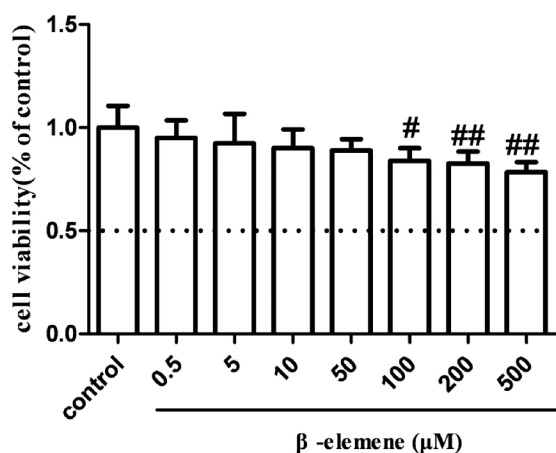


图 1 β -榄香烯对 RAW264.7 细胞活力的影响($\bar{x} \pm s$, n=6)

Fig. 1 The effect of β -elemene on the viability of normal RAW264.7

($\bar{x} \pm s$, n=6)

*注:与正常组比较, #P<0.05, ##P<0.01。

*Note: #P < 0.05 vs. control group, ##P < 0.01 vs. control group.

由图 1 可知,RAW264.7 用不同浓度的 β -榄香烯孵育 24 h 后,随着给药浓度的增加,细胞活力剂量依赖性的降低,但是即使 β -榄香烯浓度达到 500 μ M 时,细胞活力仍在 70%以上。提示 β -榄香烯对 RAW264.7 细胞毒性作用较弱。

2.2 β -榄香烯对 RAW264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞形成进程的影响

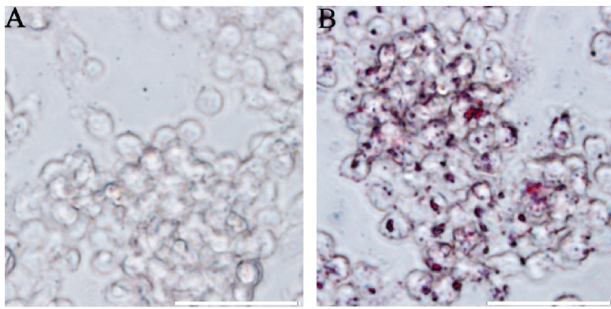


图2 ox-LDL对RAW264.7脂滴含量的影响(油红O染色×400)

Fig. 2 The effect of ox-LDL on RAW264.7 lipid content (Oil Red O staining×400)

*注:A空白对照组,B泡沫细胞组,标尺代表100 μm。

*Note: A control group, B foam cells, Scale bar represents 100 μm.

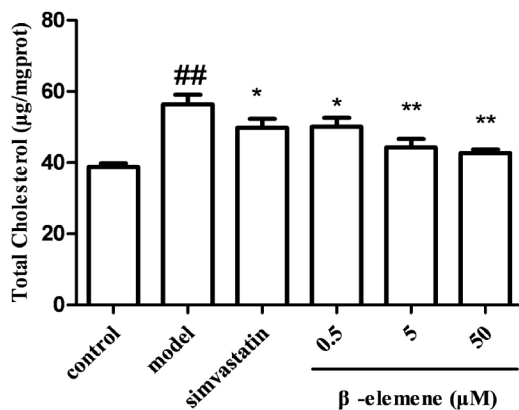


图3 β-榄香烯对RAW264.7巨噬细胞源性泡沫细胞内总胆固醇含量的影响($\bar{x} \pm s$, n=3)

Fig. 3 The effect of β-elemene on total cholesterol level in RAW264.7 induced by ox-LDL ($\bar{x} \pm s$, n=3)

注:与正常组比较^{###}P<0.01,与模型组比较^{}P<0.05,^{**}P<0.01。

Note: ^{###}P<0.01 vs. control group, ^{}P<0.05 vs. model group, ^{**}P<0.01 vs. model group.

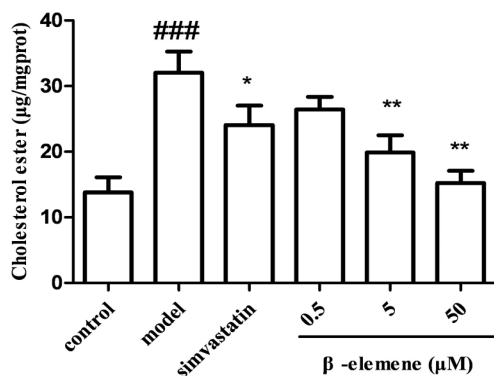


图4 β-榄香烯对RAW264.7巨噬细胞源性泡沫细胞内胆固醇酯的含量的影响($\bar{x} \pm s$, n=3)

Fig. 4 The effect of β-elemene on cholesterol ester level in RAW264.7 induced by ox-LDL ($\bar{x} \pm s$, n=3)

注:与正常组比较^{###}P<0.001,与模型组比较^{}P<0.05,^{**}P<0.01。

Note: ^{###}P<0.001 vs. control group, ^{}P<0.05 vs. model group, ^{**}P<0.01 vs. model group.

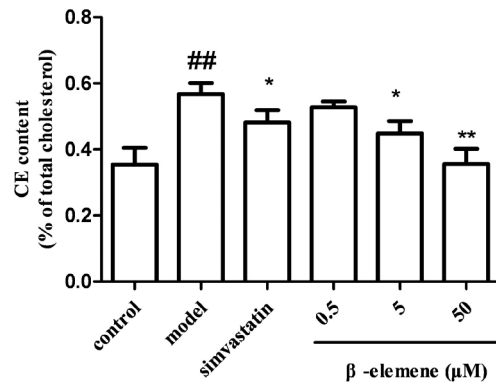


图5 β-榄香烯对RAW264.7巨噬细胞源性泡沫细胞内胆固醇酯与胆固醇的含量比值的影响($\bar{x} \pm s$, n=3)*

Fig. 5 The effect of β-elemene on the ratio of cholesterol ester level and total cholesterol level in RAW264.7 induced by ox-LDL ($\bar{x} \pm s$, n=3)

注:与正常组比较^{###}P<0.01,与模型组比较^{*}P<0.05,^{**}P<0.01。

Note: ^{###}P<0.01 vs. control group, ^{}P<0.05 vs. model group, ^{**}P<0.01 vs. model group.

由图2可知,60 μg/ml ox-LDL处理RAW264.7 24 h,油红O染色后,在倒置显微镜下观察,胞浆内可见红色脂滴,符合泡沫细胞形态学特点。由图3,图4和图5总结可知,60 μg/ml ox-LDL处理RAW264.7 24 h后,与正常组细胞相比,细胞内的总胆固醇含量显著增加(P<0.01),胆固醇酯的含量急剧增加(P<0.001),总胆固醇中胆固醇酯占有的比例也明显增加(P<0.01),且比值超过了50%,说明ox-LDL成功诱导RAW264.7为泡沫细胞。给予阳性对照药辛伐他汀和β-榄香烯干预后,辛伐他汀降低RAW264.7巨噬细胞源性泡沫细胞内总胆固醇(P<0.05),胆固醇酯的含量(P<0.05)和胆固醇酯与总胆固醇的含量比值(P<0.05)。β-榄香烯剂量依赖性的降低总胆固醇的含量(P<0.05或P<0.01),并且中高剂量组显著降低了胆固醇酯的含量(P<0.01),同时,辛伐他汀和β-榄香烯中,高剂量组的胆固醇酯与总胆固醇的含量比值<50%,提示辛伐他汀和β-榄香烯中高剂量组抑制了巨噬细胞源性泡沫细胞的形成。

2.3 β-榄香烯对RAW264.7巨噬细胞源性泡沫细胞TNF-α、IL-6的分泌影响

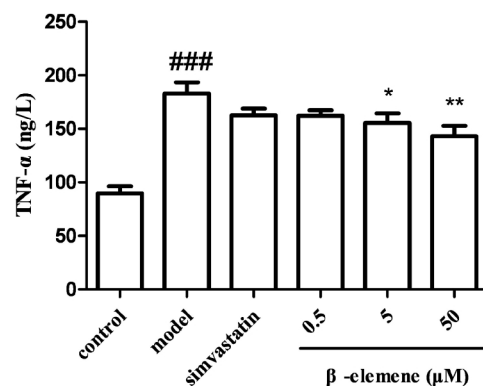


图6 β-榄香烯对RAW264.7巨噬细胞源性泡沫细胞TNF-α分泌的影响($\bar{x} \pm s$, n=3)

Fig. 6 The effect of β-elemene on the TNF-α level in RAW264.7 induced by ox-LDL ($\bar{x} \pm s$, n=3)

注:与正常组比较^{###}P<0.001,与模型组比较^{}P<0.05,^{**}P<0.01。

Note: ^{###}P<0.001 vs. control group, ^{}P<0.05 vs. model group, ^{**}P<0.01 vs. model group.

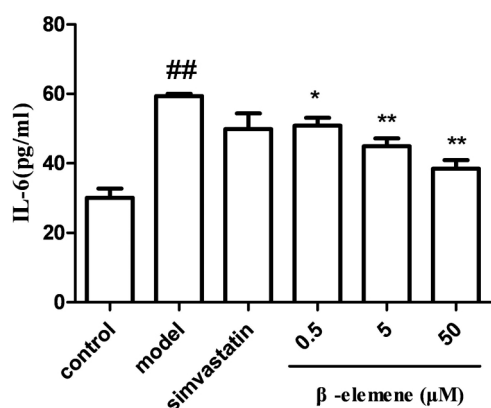


图 7 β- 榄香烯对巨噬细胞源性泡沫细胞 IL-6 分泌的影响($\bar{x} \pm s$, n=3)

*注:与正常组比较 ##P<0.01,与模型组比较 *P<0.05, **P<0.01

Fig. 7 The effect of β-elemene on the IL-6 level in RAW264.7 induced by ox-LDL($\bar{x} \pm s$, n=3)

*Note: ##P<0.01 vs. control group, *P<0.05 vs. model group,

**P<0.01 vs. model group

由图 6, 图 7 可见, 用 60 $\mu\text{g/mL}$ ox-LDL 处理 RAW264.7 24 h 后, 与正常组比较, 模型组炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的分泌量显著增加 ($P<0.001$ 或 $P<0.01$), 给予相应的药物干预后, β - 榄香烯中高剂量组减少 TNF- α 的分泌量 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), β - 榄香烯低剂量组虽有减少 TNF- α 分泌量的趋势, 但是尚未有统计学意义 ($P>0.05$)。 β - 榄香烯剂量依赖性的降低 IL-6 的分泌量且都具有统计学意义 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。 辛伐他汀与模型组比较虽有降低 TNF- α 和 IL-6 分泌量的趋势, 但是并没有统计学意义 ($P>0.05$), 提示 β - 榄香烯的抗炎作用可能优于辛伐他汀。

3 讨论

巨噬细胞内胆固醇平衡与 AS 的发生息息相关, 巨噬细胞内一旦出现胆固醇大量堆积, 即可引起胆固醇代谢失衡, 胆固醇酯含量增加, 细胞内脂滴大量聚集, 当细胞内胆固醇酯含量超过总胆固醇含量的 50%, 可形成巨噬细胞源性泡沫细胞, 随着泡沫细胞的不断堆积, 最终形成动脉粥样硬化斑块^[6]。

在本研究中, 用 60 $\mu\text{g/mL}$ ox-LDL 处理 RAW264.7 24 h 后, ox-LDL 增加 RAW264.7 细胞内总胆固醇和胆固醇酯的含量, 且胆固醇酯与总胆固醇的比值超过 50%, 说明 ox-LDL 诱导了巨噬细胞源性泡沫细胞的形成。 而加入不同浓度的 β - 榄香烯后, 可剂量依赖性的降低总胆固醇, 胆固醇酯的含量和胆固醇酯与总胆固醇的比值, 提示 β - 榄香烯可能通过抑制巨噬细胞对 ox-LDL 的摄取, 加速巨噬细胞内的胆固醇酯水解, 从而抑制了泡沫细胞的形成。

在 AS 的发生发展过程中, 巨噬细胞也分泌一系列炎症因子参与其中, 如 TNF- α 和 IL-6。 TNF- α 作为促炎因子可直接引起内皮细胞损伤^[17,18]; 破坏血管表面凝血与抗凝系统平衡, 易致血栓形成^[19]; 促进新生血管形成; 促进血管平滑肌细胞的增殖及平滑肌源性泡沫细胞的形成。 IL-6 可以促进巨噬细胞表面

LDL 受体的合成, 使巨噬细胞对 LDL 的摄取增加; 刺激血管平滑肌细胞增生^[20]; 调节粘附分子及其他细胞因子如 IL-1、TNF- α 的表达, 促进炎症反应; 刺激基质降解酶的合成, 侵蚀斑块内的基质, 从而导致斑块不稳定破裂^[21]。 有很多研究已表明抗 TNF- α 和 IL-6 的治疗虽然没有显著降低血浆脂质水平, 但是有效的抑制了 AS 的发展^[22-24]。 在本研究中, ox-LDL 显著增加 RAW264.7 细胞 TNF- α 和 IL-6 的分泌, 而加入不同浓度的 β - 榄香烯后, 可剂量依赖性的降低这两种炎症因子的分泌。 提示 β - 榄香烯可以改善 RAW264.7 巨噬细胞的炎症状态, 抑制炎症反应。

综上所述, β - 榄香烯可以剂量依赖性的减少巨噬细胞内脂质的含量, 抑制泡沫细胞的形成, 减少炎症因子分泌, 改善细胞炎症状态, 提示 β - 榄香烯有抗动脉粥样硬化的潜在作用, 对防治心血管疾病有重要的意义, 但其具体作用机制还有待于进一步的实验研究。

参考文献 (References)

- [1] Dahlöf B. Cardiovascular disease risk factors: epidemiology and risk assessment[J]. The American journal of cardiology, 2010, 105(1): 3A-9A
- [2] Lloyd-Jones D M. Cardiovascular risk prediction basic concepts, current status, and future directions[J]. Circulation, 2010, 121(15): 1768-1777
- [3] Libby P, Okamoto Y, Rocha V Z, et al. Inflammation in atherosclerosis [J]. Circ J, 2010, 74: 213-220
- [4] Moore K J, Sheedy F J, Fisher E A. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance[J]. Nature Reviews Immunology, 2013, 13(10): 709-721
- [5] Maria F V, Silvia G R, Lisardo B. Involvement of monocytes/macrophages as key factors in the development and progression of cardiovascular diseases[J]. Biochemical Journal, 2014, 458(2): 187-93
- [6] Wolf D, Stachon P, Bode C, et al. Inflammatory mechanisms in atherosclerosis[J]. Hämostaseologie, 2014, 34(1): 63-71
- [7] Zhang H, Park Y, Wu J, et al. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction[J]. Clinical Science, 2009, 116: 219-230
- [8] Suzuki H, Kusuyama T, Sato R, et al. Elevation of matrix metalloproteinases and interleukin-6 in the culprit coronary artery of myocardial infarction [J]. European journal of clinical investigation, 2008, 38(3): 166-173
- [9] 汤秀红, 秦叔逵, 谢恬. 榄香烯注射液抗肿瘤作用基础研究的现状和进展[J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(3): 266-273
Tang Xiu-hong, Qin Shu-kui, Xie Tian. Status and progress of basic researches of elemene injection for anti-tumor [J]. Chinese Clinical Oncology, 2010, 15(3): 266-273
- [10] Sun Y, Liu G, Zhang Y, et al. Synthesis and in vitro anti-proliferative activity of β -elemene monosubstituted derivatives in HeLa cells mediated through arrest of cell cycle at the G1 phase[J]. Bioorganic & medicinal chemistry, 2009, 17(3): 1118-1124
- [11] Li Q Q, Wang G, Huang F, et al. Antineoplastic effect of β -elemene on prostate cancer cells and other types of solid tumour cells [J].

- Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2010, 62(8): 1018-1027
- [12] 曹薇, 李丹, 杨向红. 榄香烯在抑制肿瘤血管生成中的作用 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2011, 38(6): 430-432
- Cao Wei, Li Dan, Yang Xiang-hong. Role of elemene in inhibiting tumor angiogenesis [J]. Journal of International Oncology, 2011, 38(6): 430-432
- [13] 霍伟敏, 段文丽, 柳军, 等. β -榄香烯抗凝血血栓活性研究[J]. 亚太传统医药, 2013, 9(008): 30-33
- Huo Wei-min, Duan Wen-li, Liu Jun, et al. Study on effects of β -elemene on activity of anticoagulant and thrombolysis [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2013, 9(008): 30-33
- [14] Wu L, Wang G, Tang S, et al. Protection of endothelial cells, inhibition of neointimal hyperplasia by β -elemene in an injured artery[J]. Cardiovascular drugs and therapy, 2011, 25(3): 233-242
- [15] 毛利飞, 霍伟敏, 柳军, 等. β -榄香烯抗氧化损伤作用的实验研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2012, 17(7): 727-731
- Mao Li-fei, Huo Wei-min, Liu Jun, et al. Study on the antioxidant effects of β -elemene[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2012, 17(7): 727-731
- [16] Chernobelsky A, Ashen M D, Blumenthal R S, et al. High Density Lipoprotein Cholesterol: A Potential Therapeutic Target for Prevention of Coronary Artery Disease [J]. Preventive cardiology, 2007, 10(1): 26-30
- [17] Zheng X K, Liu C X, Zhai Y Y, et al. Protection effect of amentoflavone in Selaginella tamariscina against TNF- α -induced vascular injury of endothelial cells [J]. Acta pharmaceutica Sinica, 2013, 48(9): 1503-1509
- [18] Mouco O M C C, Nicolau J C, Souza T R, et al. Inflammatory markers of atherosclerotic plaque stabilization after acute coronary event-temporal trends [J]. Arquivos brasileiros de cardiologia, 2006, 87(1): 28-36
- [19] Lwaleed B A, Cooper A J, Voegeli D, et al. Tissue factor: a critical role in inflammation and cancer [J]. Biological research for nursing, 2007, 9(2): 97-107
- [20] Ikeda U, Ikeda M, Oohara T, et al. Interleukin 6 stimulates growth of vascular smooth muscle cells in a PDGF-dependent manner [J]. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 1991, 260(5): H1713-H1717
- [21] Shibata M, Ueshima K, Harada M, et al. Effect of magnesium sulfate pretreatment and significance of matrix metalloproteinase-1 and interleukin-6 levels in coronary reperfusion therapy for patients with acute myocardial infarction[J]. Angiology, 1999, 50(7): 573-582
- [22] Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice[J]. Cardiovascular research, 2008, 79(3): 360-376
- [23] Ridker P M, Rifai N, Stampfer M J, et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men[J]. Circulation, 2000, 101(15): 1767-1772
- [24] Schuett H, Oestreich R, Waetzig G H, et al. Transsignaling of interleukin-6 crucially contributes to atherosclerosis in mice [J]. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2012, 32(2): 281-290

(上接第 6013 页)

- [6] Hirata, Dai, Nakano, et al. Genes that cause aberrant cell morphology by overexpression in fission yeast: A role of a small GTP-binding protein Rho2 in cell morphogenesis[J]. Journal of Cell Science, 1998, 111(2): 149-159
- [7] Visvikis O, Maddugoda M P, Lemichez E. Direct modifications of Rho proteins: deconstructing GTPase regulation [J]. Biology of the Cell, 2010, 102(7): 377-389
- [8] Bishop A L, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins[J]. Biochem J, 2000, 348(2): 241-255
- [9] McKenzie J A, Ridley A J. Roles of Rho/ROCK and MLCK in TNF-induced changes in endothelial morphology and permeability[J]. J Cell Physiol, 2007, 213(1): 221-228
- [10] Nakagawa O., Fujisawa K., Ishizaki T., et al. ROCK-I and ROCK-II, two isoforms of Rho-associated coiled-coil forming protein serine/threonine kinase in mice[J]. FEBS Lett, 1996, 392(2): 189-193
- [11] Yoneda A, Ushakov D, Multhaupt H A B, et al. Fibronectin matrix assembly requires distinct contributions from Rho kinases I and-II[J]. Molecular biology of the cell, 2007, 18(1): 66-75
- [12] Fan L, Mellor H. The small Rho GTPase Rif and actin cytoskeletal remodelling[J]. Biochemical Society Transactions, 2012, 40(1): 268-272
- [13] Smith P G, Roy C, Zhang Y N, et al. Increases RhoA Activation in Airway Smooth Muscle Cells [J]. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 2003, 28(4): 436-442
- [14] 贺佩兰, 莫静, 黄晓青, 等. ROCK 信号通路在流体剪切力诱导的成骨细胞的[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(16): 2940-2942
- He Pei-lan, Mo Jing, Huang Xiao-qing, et al. ROCK signaling pathway in fluid shear stress-induced osteoblast [J]. The Journal of Practical Medicine, 2011, 27(16): 2940-2942
- [15] Brand R A, Stanford C M, Nicoletta DP. Primary adult human bone cells do not respond to tissue (continuum) level strains [J]. J Orthop Sci, 2001, 6(3): 295-301
- [16] 李菲菲, 丁寅, 冯雪, 等. 机械牵张应力对成骨细胞增殖和分化影响的初步研究[J]. 口腔医学研究, 2010, 25(6): 406-411
- Li Fei-fei, Ding Yin, Feng Xue, et al. Differential proteomic analysis on osteoblasts stimulated by mechanical [J]. Journal of Medical Biomechanics, 2010, 25(6): 406-411
- [17] 邵静. 肝癌细胞粘附和收缩调节对 Rho 蛋白表达影响的实验研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2008: 49-51
- Shao Jing. Experimental Study on Expression of Rho proteins regulate liver cancer cell adhesion and contraction [D]. Chong Qing: Chong Qing University, 2008: 49-51
- [18] Nobes C D, Hall A. Rho GTPases control polarity, protrusion, and adhesion during cell movement[J]. The Journal of cell biology, 1999, 144(6): 1235-1244
- [19] Wang Y, Li Y. Early proliferation alteration and differential gene expression in human periodontal ligament cells subjected to cyclic tensile stress[J]. Archives of oral biology, 2011, 56: 177-186
- [20] Stanford C M, Morcuende J A, Brand R A. Proliferative and phenotypic responses of bone-like cells to mechanical deformation[J]. J Orthop Res, 1995, 13(5): 664-670