

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.07.009

Ghrelin 及其类似物 BIM-28131、BIM-28125 对大鼠心衰模型肌肉生长抑制素表达的影响 *

王 芳^{1,2} 栾 晓¹ 郭菲菲¹ 孙向荣¹ 韩晓华¹ 公衍玲³ 刘 虹⁴ 杨 南⁴ 徐 璐^{1Δ}

(1 青岛大学医学院病理生理学教研室 山东 青岛 266021; 2 菏泽医学专科学校 山东 菏泽 274031;

3 青岛科技大学化工学院 山东 青岛 266042; 4 青岛市立医院 山东 青岛 266011)

摘要 目的:探讨 Ghrelin 及其类似物对大鼠慢性心力衰竭(CHF)模型肌肉生长抑制素表达的影响。**方法:**实验组慢性心衰模型大鼠分别注射两种不同浓度的 ghrelin、ghrelin 类似物 BIM-28125 和 BIM-28131(50 和 500 nmol/kg/天)而对照组则注射等量的安慰剂。通过渗透微型泵给药,RT-PCR 和免疫印迹反应检测肌肉生长抑制素的表达,并且测定腓肠肌的重量以及血浆肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平。**结果:**与给予安慰剂的 CHF 大鼠相比,假手术组大鼠腓肠肌肌肉重量显著增加;高浓度的 ghrelin 类似物 BIM-28125 和 BIM-28131 可使肌肉生长抑制素 mRNA 的表达显著减少;两种浓度的 ghrelin、BIM-28131 及低浓度的 BIM-28125 可使肌肉生长抑制素蛋白表达明显减少。实验中使用的药物均能够缓解 CHF 动物模型血浆 TNF- α 水平的增加。**结论:**在 CHF 动物模型,应用 ghrelin 及类似物 BIM-28125 和 BIM-28131 后,肌肉生长抑制素的表达明显减少,这可能是由于抗炎作用导致的。

关键词:肌肉生长抑制素;Ghrelin;慢性心力衰竭;恶病质;肌肉萎缩;TNF- α

中图分类号:Q95-3;R541.61 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)07-1233-04

Effect of Ghrelin and its Analogues, BIM-28131 and BIM-28125, on the Expression of Myostatin in a Rat Heart Failure Model*

WANG Fang^{1,2}, LUAN Xiao¹, GUO Fei-fei¹, SUN Xiang-rong¹, HAN Xiao-hua¹, GONG Yan-ling³, LIU Hong⁴, YANG Nan⁴, XU Luo^{1Δ}

(1 Dept. of Pathophysiology, Medical College of Qingdao University, Qingdao, Shandong, 266021, China;

2 Heze Medical College, Heze, Shandong, 274031, China;

3 College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong, 266042, China;

4 Qingdao Municipal Hospital, Qingdao, Shandong, 266011, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the influence of ghrelin or its analogues on myostatin in chronic heart failure (CHF). **Methods:** In an animal model of CHF, Sprague-Dawley rats received either ghrelin or two ghrelin analogues BIM-28125 and BIM-28131 in two different concentrations (50 and 500 nmol/kg/day) compared to placebo. The compounds were delivered using osmotic mini pumps. The expression of myostatin was analyzed in skeletal muscle by RT-PCR and Western blot, and muscle mass of gastrocnemius muscle was measured. The plasma levels of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) were measured. **Results:** The relative weight of the gastrocnemius muscle of the sham-operated group was significantly increased compared to placebo-treated CHF rats. The application of ghrelin analogue BIM-28125 and BIM-28131 in their higher concentrations led to a significant reduction in myostatin mRNA expression in comparison to placebo. Myostatin protein expression was significantly reduced in both concentrations of ghrelin and BIM-28131 and in the lower concentration of BIM-28125. The increase of TNF- α plasma concentration in the CHF-animals could be abolished by all used substances. **Conclusions:** In an animal model of CHF, the expression of myostatin is significantly reduced in the skeletal muscle after application of ghrelin and most concentrations of its analogues BIM-28125 and BIM-28131 possibly due to anti-inflammatory effects.

Key words: Myostatin; Ghrelin; Chronic heart failure; Cachexia; Muscle wasting; TNF- α

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R541.61 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)07-1233-04

前言

在西方国家,慢性心力衰竭(CHF)是最常见的致死原因之一,确诊慢性心力衰竭的患者五年生存率为 50%。约有 15%的

慢性心力衰竭患者会并发心脏恶病质,这大幅度缩短了患者的生命,致使 50%的患者在 18 个月内死亡。恶病质是一种消耗性疾病,不仅仅影响了患者的脂肪含量,而且还能够影响患者的肌肉含量。恶病质的诊断标准为非水肿患者的体重在 3-12

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31071014;81100260;81270460;81300281);山东省医药卫生科技发展计划项目(2013WS0263);

青岛市科技局项目(13-1-4-170-jch)

作者简介:王芳(1983-),女,硕士研究生,主治医师,主要研究方向:心肌梗死,电话:0532-82991713,E-mail: wtb4412566@163.com

Δ 通讯作者:徐璐,E-mail: xu.luo@163.com

(收稿日期:2014-08-23 接受日期:2014-09-20)

个月内体重减轻超过 5 %^[1]。到目前为止,虽然对于的治疗心脏恶病质我们并没有找到有效的治疗方案,但是目前我们已经发现能够缓解恶病质的药物。

肌肉生长抑制素,属于骨骼肌质量和转化生长因子- β 家族的一员,研究表明并发恶病质时,肌肉生长抑制素会增加^[2]。研究表明,TNF- α 等促炎症因子浓度增加可能能够诱发CHF的,而通过耐力运动训练则能够使浓度恢复至正常水平^[3,4]。此外,给小鼠注射这种负生长调节剂会使小鼠的肌肉萎缩。这种肌肉萎缩不仅仅发生在骨骼,还发生在心脏肌肉。

Ghrelin是一种含有28个氨基酸的激素,它的发现是由于它能与下丘脑生长激素分泌素受体1A(GHSR-1a)结合,并且能够刺激下丘脑释放生长激素(GH)。生长激素和胰岛素样生长因子1(IGF-1)是调节心肌生长和功能的重要激素。CHF患者血清GH水平明显升高,而血浆IGF-1水平则明显下降,在骨骼肌血浆IGF-1水平下降尤为明显。这表明病理性的GH/IGF-1变化可能与恶病质综合征有关。目前已有研究表明,使用ghrelin治疗恶病质效果显著^[5,6]。在心脏恶病质患者应用ghrelin进行人体临床试验后,发现患者食欲、体重、心输出量明显增加,并且没有发现明显的毒副作用^[7]。已有研究表明,ghrelin及其类似物BIM-28125和BIM-28131(现称为RM-131)能够诱导CHF动物模型体重增加^[8]。体重增加时,BIM-28131似乎能更好的诱导脂肪和肌肉平衡增加。目前尚未发现ghrelin能否直接影响肌肉生长抑制素。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本研究选择体重为215-235 g的雄性SD大鼠220只。其中200只做为手术组,对其左冠状动脉(LAD)进行结扎,从而引起大鼠的心肌梗塞。我们采用剂量为90 mg/kg的氯胺酮和剂量为0.5 mg/kg美托咪啶腹腔注射联合麻醉大鼠,麻醉后的大鼠用聚乙烯管插管,保持呼吸道通畅。打开大鼠的左胸暴露大鼠的心脏,在肺动脉和左心房间距离LAD起源端2-3 mm的位置使用7号缝合线结扎缝合LAD。最后,将心脏归位于正常的生理位置,尽量排尽胸腔内的空气并关闭胸腔。剩下的20只大鼠做为假手术组,其手术方案同手术组大鼠,但是没有结扎LAD,仅轻触心脏。手术组大鼠24小时死亡率为35%而假手术组大鼠24小时死亡率为30%^[9]。将存活下来的老鼠安置在循环光照下,保持合适的室温和湿度,所有大鼠均能够自由饮食。手术后2周,饮用水中添加利尿剂(剂量为86 mg/l的速尿)。术后4周,将动物随机分成7治疗组(每组18只大鼠)。每天分别给予安慰剂,人类ghrelin, ghrelin类似物BIM-28125或BIM-28131。假手术组大鼠给予安慰剂(n=14)。连续给药42天。在第56天处死大鼠,排除左心室梗塞面积小于25%的样本(n=5)。对符合要求的大鼠的腓肠肌称重后立即快速用液氮冷冻,保存于-80℃。所有动物实验均符合“青岛大学实验动物保护和使用管理办法”。

1.2 称量腓肠肌肌肉重量

通过超声波探测测量取胫骨长度,腓肠肌的计算采用胫骨的相对重量,以避免因为个体差异导致的影响因素。

1.3 测量肌肉生长抑制素 mRNA 的含量

使用RNeasy试剂盒分离腓肠肌肌肉组织中的RNA。使用随机引物和Sensiscript逆转录酶将RNA样本逆转录成cDNA。使用特异性引物和内部探针测定肌肉生长抑制素的含量。我们使用的引物有:18S rRNA (5'-ATACAGGACTCTTTC-GAGGCCC-3', 5'-CGGGACACTCA GCTAAGAGCAT-3'; 61℃退火), 肌肉生长抑制素 (5'-GTCTTCACATCAATACTCTGCCA-3', 5'-CATGCCTACCGAGTCTGACTT-3'; 55℃退火), 肌肉生长抑制素的探针 (5'-LC640-GTGCA AATCCTGAGACTCATCAAACCCATG-PH-3', 5'-GAGAGCCGTCAAGACT CCTA-CAACAG TGT-FL-3')。

1.4 肌肉生长抑制素蛋白表达的分析

冷冻的组织样品进行匀浆裂解^[10],并进行Western印迹分析^[11]。使用特异性抗体定量肌肉生长抑制素蛋白的表达。为了弥补blot-to-blot的变化,每个SDS-聚丙烯酰胺凝胶含有内部标准,在结果表示为样品与标准强度之间的比率。所有样品一式两份进行分析。

1.5 测量血浆中 TNF- α 的含量

大鼠的血浆TNF- α 水平通过高灵敏度的ELISA法测定。结果与标准曲线进行比较,并设定TNF- α 含量下限为<10 pg/mL。

1.6 统计学分析

所有的实验结果均以平均数 $\pm$ 平均数标准误差的形式表示。用Pearson's检验检验相关性。以ANOVA法对多样本数据进行分析,两样本均数的比较采用t检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 腓肠肌重量

接受安慰剂治疗的大鼠与其他应用药物治疗的大鼠相比,腓肠肌的重量没有明显差异(图1表1)。假手术组大鼠与CHF安慰剂治疗组大鼠相比,腓肠肌的重量显著增加(504.4 ± 32.9 mg vs. 470.9 ± 38.7 mg, $P < 0.05$,图1表1)。

2.2 肌肉生长抑制蛋白的 mRNA 的转录

应用高剂量的ghrelin类似物BIM-28125和BIM-28131治疗的大鼠,与CHF安慰剂治疗的动物相比,肌肉生长抑制素mRNA的转录显著降低(0.033 ± 0.007 and 0.038 ± 0.008 , vs. 0.106 ± 0.015 , $P < 0.05$,图2表1)。假手术大鼠与CHF安慰剂组大鼠相比,mRNA的水平显著降低(0.041 ± 0.008 vs. 0.106 ± 0.015 , $P < 0.05$)。

2.3 心衰大鼠肌肉生长抑制素的表达

每天给予大鼠剂量为500 nmol/kg的BIM-28125与接受安慰剂治疗的大鼠相比,肌肉生长抑制素蛋白的表达显著降低(BIM-28125 50 nmol/kg/d 0.72 ± 0.06 , $P < 0.001$; BIM-281231 50 nmol/kg/d 1.22 ± 0.12 , $P < 0.01$; BIM-28131 500 nmol/kg/d 1.26 ± 0.13 , $P < 0.05$; ghrelin 50 nmol/kg/d 1.15 ± 0.12 , $P < 0.01$; ghrelin 500 nmol/kg/d 1.24 ± 0.17 , $P < 0.05$; all vs. 2.03 ± 0.2 ;图3表1)。

2.4 大鼠心衰后血浆 TNF- α 水平变化

手术组大鼠血浆TNF- α 水平与假手术组动物相比显著升高(15.81 ± 0.93 vs. 5.69 ± 0.28 任意单位, $P < 0.001$)。任意治疗方案都能改变CHF对血浆TNF- α 水平的影响(图4表1)。

表 1 各组大鼠生理指标($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Physiological indexes of rats ($\bar{x} \pm s$)

	Sham placebo	CHF placebo	BIM28125 (nmole/kg/d)		BIM28131 (nmole/kg/d)		Ghrelin (nmole/kg/d)	
			50	500	50	500	50	500
Relative weight of gastrocnemius muscle(mg)	518± 140*	483± 122	489± 158	502± 168	491± 157	498± 146	478± 139	492± 143
Myo- statin-mRNA expression (arb.units)	0.039± 0.011*	0.112± 0.029	0.045± 0.009	0.032± 0.008*	0.061± 0.015	0.028± 0.008*	0.072± 0.019	0.041± 0.012
Myostatin-pro- tein expression (arb.units)	1.3± 0.39*	2± 0.6	0.7± 0.18***	2.3± 0.64	1.3± 0.38**	1.32± 0.41*	1.2± 0.37**	1.35± 0.42*
Plasma TNF- α (arb.units)	5.4± 1.67***	16.5± 4.8	7.5± 2.18***	7.6± 1.89***	7.4± 2.18***	7.55± 2.37***	7.9± 2.12***	8.9± 2.48***

Notes: * P<0.05 vs. sham-operated group. ** P<0.05 vs. sham-operated group. *** P<0.05 vs. sham-operated group.

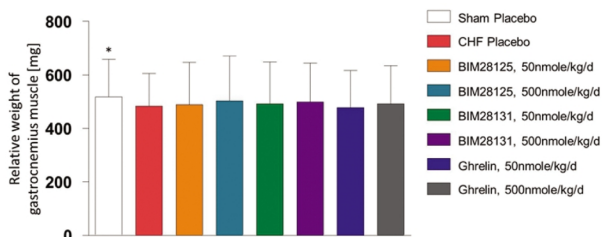


图 1 腓肠肌肌肉重量

Fig.1 Relative weights of the gastrocnemius muscle to the length of the tibia

注: *P≤ 0.05 与安慰剂治疗的心肌梗死大鼠相比。

Notes: *P≤ 0.05 vs. placebo-treated CHF rats.

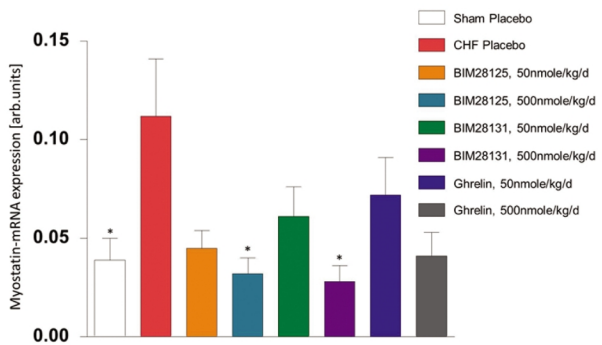


图 2 大鼠肌肉生成抑制素蛋白 -mRNA 的转录

Fig.2 Regulation of myostatin mRNA in gastrocnemius muscle after induction of CHF by myocardial infarction

注: *P≤ 0.05 与安慰剂治疗的心肌梗死大鼠相比。

Notes: *P≤ 0.05 vs. placebo-treated CHF rats.

3 讨论

心脏恶病质是慢性心力衰竭并发症,具有极高的发病率和死亡率。肌肉生长抑制素,能够抑制肌肉的生长,恶病质时肌肉生长抑制素的水平上升^[2-4]。Ghrelin,是一种强效生长激素刺激素,已经证明在恶病质时对机体具有积极影响^[5-8]。然而,ghrelin

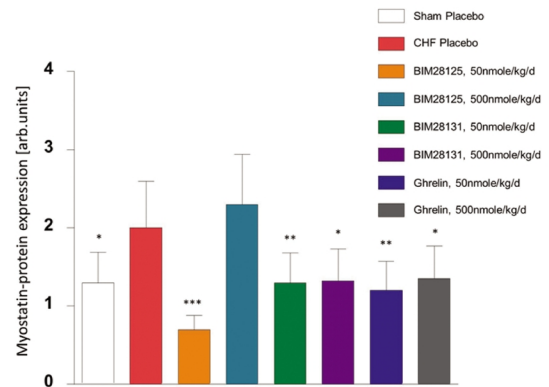
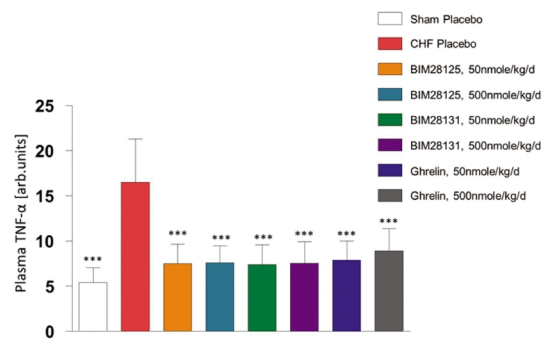


图 3 大鼠肌肉生成抑制蛋白的表达

Fig.3 Regulation of myostatin protein in gastrocnemius muscle after induction of CHF by myocardial infarction

注: ***P<0.001 与安慰剂治疗的心肌梗死大鼠相比, **P<0.01 与安慰剂治疗的心肌梗死大鼠相比, *P<0.05 与安慰剂治疗的心肌梗死大鼠相比。

Notes: ***P<0.001, **P<0.01, and *P<0.05 vs. placebo-treated CHF rats.

图 4 心衰大鼠血浆 TNF- α 水平变化Fig.4 Concentration of TNF- α in the plasma of sham and CHF animals

注: ***P<0.001 与安慰剂治疗的心肌梗死大鼠相比。

Notes: ***P<0.001 vs. placebo-treated CHF rats.

对肌肉生长抑制素的影响是未知的。本研究中我们三个重要

发现:首先,我们证明心肌梗死动物模型 8 周后就能够检测到肌肉萎缩。第二,ghrelin 及其类似物 BIM-28125 和 BIM-28131 能够显著降低肌肉生长抑制素的表达。第三,慢性心力衰竭动物经过治疗,其血浆 TNF- α 水平显著降低。

慢性心力衰竭并发恶病质时肌肉生长抑制素对骨骼肌的作用。

大鼠后肢半膜肌的横截面面积的评估表明,8 只慢性心力衰竭大鼠中有 5 只骨骼肌出现了不同程度的肌肉横截面面积减少^[12]。有趣的是,这种影响可以通过为期 4 周的运动训练逆转^[3]。最近,临床试验证实,晚期心力衰竭患者经过为期 4 周的耐力训练后肌肉生长抑制素水平显著降低^[4]。

3.1 Ghrelin 在慢性心力衰竭和恶病质的作用

恶病质时内源性 ghrelin 水平上升,使用 ghrelin 和其它 GHSR-1a 治疗后,能够显著改善恶病质患者的食欲,并且增加患者体重^[13]。Ghrelin 能够影响 GH 的释放表明,ghrelin 对患者的影响比 GH 更有效。正如其他能够并发恶病质的疾病那样,心衰动物模型应用 ghrelin 和 ghrelin 受体激动剂能够增加机体肌肉、脂肪的含量^[14]。还有研究报告称,连续给药 3 周能够使慢性心力衰竭患者左心室射血分数增加^[5]。

3.2 肌肉生长抑制素,ghrelin,GH 和 IGF 之间可能存在的关系

患有慢性心力衰竭时,循环的激素水平增加,IGF-1 水平降低^[15],骨骼肌肌肉生长抑制素水平升高^[4]。这种异化的状况出现在骨骼肌内,目前我们只能采取干预措施,比如通过运动训练逆转^[4,16]。这表明长期注射 ghrelin 能够影响血浆循环 IGF-1 水平。但对 GH-IGF-1 系统,ghrelin 或 ghrelin 受体激动剂的刺激效应不会持续很长时间。Ghrelin 生理功能并不包括调节生长激素,因为 ghrelin 的循环浓度与疾病状况相关。我们考虑这种差异出现的原因是由于缺血再灌注损伤导致的。

Ghrelin 和 ghrelin 受体激动剂的另一个作用是影响抗炎性细胞因子^[17]。我们已经通过细胞培养实验证实,这种抗炎作用不依赖于垂体 GH 分泌^[18,19],ghrelin 或 ghrelin 受体激动剂能够减少细胞因子的产生。但是,GH 能够提高细胞因子的活性^[20]。

在本研究中,我们证明 ghrelin 或 ghrelin 类似物能够使肌肉生长抑制素减少。在 mRNA 水平,两种 ghrelin 类似物只有在最高浓度时能够显著降低肌肉生长抑制素水平,说明这两种 ghrelin 类似物具有强烈的剂量依赖效应。

Ghrelin 及其类似物 BIM-28125 和 BIM-28131 的对肌肉生长抑制素的影响似乎是 ghrelin 的另一个作用。慢性心力衰竭动物的腓肠肌内 TNF- α mRNA 水平明显高于对照组^[21]。

总之,慢性心力衰竭导致腓肠肌重量明显降低,以及肌肉生长抑制素蛋白表达明显增高。给予 ghrelin 及其类似物 BIM-28125 和 BIM-28131 后能够缓解这种改变。这说明 ghrelin 及其类似物 BIM-28125 和 BIM-28131 的抗代谢效应可能与 ghrelin 的抗炎潜力有关,但是这仍然需要进一步的研究证实。

参考文献(References)

- [1] Evans WJ, Morley JE, Argiles J, et al. Cachexia: a new definition [J]. Clin Nutr, 2008, 27(6): 793-799
- [2] Costelli P, Muscaritoli M, Bonetto A, et al. Muscle myostatin signalling is enhanced in experimental cancer cachexia[J]. Eur J Clin Invest, 2008, 38(7): 531-538
- [3] Lenk K, Schur R, Linke A, et al. Impact of exercise training on myostatin expression in the myocardium and skeletal muscle in a chronic heart failure model [J]. Eur J Heart Fail, 2009, 11(4): 342-348
- [4] Lenk K, Erbs S, Höllriegel R, et al. Exercise training leads to a reduction of elevated myostatin levels in patients with chronic heart failure [J]. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2012, 19(3): 404-411
- [5] Nagaya N, Moriya J, Yasumura Y, et al. Effects of ghrelin administration on left ventricular function, exercise capacity, and muscle wasting in patients with chronic heart failure [J]. Circulation, 2004, 110(24): 3674-3679
- [6] Rodríguez A, Gómez-Ambrosi J, Catalán V, et al. Association of plasma acylated ghrelin with blood pressure and left ventricular mass in patients with metabolic syndrome [J]. J Hypertens, 2010, 28(3): 560-567
- [7] Akamizu T, Kangawa K. Ghrelin for cachexia[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2010, 1(2):169-176
- [8] Ashby DR, Ford HE, Wynne KJ, et al. Sustained appetite improvement in malnourished dialysis patients by daily ghrelin treatment[J]. Kidney Int, 2009, 76(2): 199-206
- [9] Strasser F, Lutz TA, Maeder MT, et al. Safety, tolerability and pharmacokinetics of intravenous ghrelin for cancer-related anorexia/cachexia: a randomised, placebo-controlled, double-blind, double-crossover study[J]. Br J Cancer, 2008, 98(2): 300-308
- [10] Palus S, Schur R, Akashi YJ, et al. Ghrelin and its analogues, BIM-28131 and BIM-28125, improve body weight and regulate the expression of MuRF-1 and MAFbx in a rat heart failure model [J]. PLoS ONE, 2011, 6(11): e26865
- [11] Abd El-Aziz TA, Mohamed RH, Rezk NA. Association of angiotensin II type I and type II receptor genes polymorphisms with the presence of premature coronary disease and metabolic syndrome [J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(2): 1027-1033
- [12] Daiber A, Münzel T. Characterization of the antioxidant properties of pentaerythrityl tetranitrate (PETN)-induction of the intrinsic antioxidant system heme oxygenase-1(HO-1)[J]. Methods Mol Biol, 2010, 594: 311-326
- [13] Breitbart A, Auger-Messier M, Molkentin JD, et al. Myostatin from the heart: local and systemic actions in cardiac failure and muscle wasting[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 300(6): H1973-1982
- [14] Ali S, Chen JA, Garcia JM. Clinical development of ghrelin axis-derived molecules for cancer cachexia treatment [J]. Curr Opin Support Palliat Care, 2013, 7(4): 368-375
- [15] Akashi YJ, Palus S, Datta R, et al. No effects of human ghrelin on cardiac function despite profound effects on body composition in a rat model of heart failure [J]. Int J Cardiol, 2009, 137(3): 267-275
- [16] Schulze PC, Gielen S, Adams V, et al. Muscular levels of proinflammatory cytokines correlate with a reduced expression of insulinlike growth factor-I in chronic heart failure [J]. Basic Res Cardiol, 2003, 98(4): 267-274
- [17] Hambrecht R, Schulze PC, Gielen S, et al. Effects of exercise training on insulin-like growth factor-I expression in the skeletal muscle of non-cachectic patients with chronic heart failure[J]. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2005, 12(4): 401-406

成和愈合有正面调节作用,这和其他作者使用生物活性透明质酸或类似物治疗炎症性皮肤粘膜疾病的研究结果基本相同^[11-16]。以上研究结果提示生物活性透明质酸片段治疗皮肤创口可能有类似激素的抗炎效果和防止伤口感染的作用,且无激素的副作用。未来,我们可尝试使用对人无严重皮肤过敏反应的重组人透明质酸酶取代对人有严重皮肤过敏反应的牛透明质酸酶^[4,17]制造生物活性透明质酸片段凝胶或液体创口贴用于控制皮肤创口的炎症反应。

综上所述,细胞外基质大分子透明质酸可以被透明质酸酶解活化,生成生物活性透明质酸片段,是快速有效、安全、方便的抑制皮肤创口炎症和预防感染的物质,值得进一步尝试使用安全的重组人透明质酸酶生产的凝胶或液体创口贴制剂。

参考文献(References)

- [1] Gariboldi S, Palazzo M, Zanobbio L, et al. Low molecular weight hyaluronic acid increases the self-defense of skin epithelium by induction of defensin 2 via TLR2 and TLR4 [J]. The Journal of Immunology, 2008,181:2103-2110
- [2] Hill DR, Rho HK, Kessler SP, et al. Human milk hyaluronan enhances innate defense of the intestinal epithelium[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(40):29090-29104
- [3] Muto J, Morioka Y, Yamasaki Ke, et al. Hyaluronan digestion controls DC migration from the skin [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2014,124(3):1309-1319
- [4] Huang ZD, Zhao CM, Chen YL, et al. Recombinant Human Hyaluronidase PH20 Does Not Stimulate an Acute Inflammatory Response and Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Neutrophil Recruitment in the Air Pouch Model of Inflammation [J]. Journal of Immunology, 2014,192(11): 5285-5295
- [5] Khan AI, Kerfoot SM, Heit B, et al. Role of CD44 and hyaluronan in neutrophil recruitment [J]. Journal of Immunology, 2004,173 (12): 7594-601
- [6] Kim MY, Muto J, Gallo RL. Hyaluronic Acid Oligosaccharides Suppress TLR3- Dependent Cytokine Expression in a TLR4-Dependent Manner[J]. PLOS ONE, 2013, 8(8):e72421(page1-6)
- [7] Hoque R, Farooq A, Mehal WZ. Sterile inflammation in the liver and pancreas [J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2013,28: 61-67
- [8] Muto J, Yamasaki K, Taylor KR, et al. Engagement of CD44 by hyaluronan suppresses TLR4 signaling and the septic response to LPS [J]. Mol Immunol, 2009,47(2-3): 449-456
- [9] Suzuki M, Kobayashi H, Kanayama N, et al. CD44 stimulation by fragmented hyaluronic acid induces upregulation and tyrosine phosphorylation of c-Met receptor protein in human chondrosarcoma cells [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2002,1591:37-44
- [10] Buchanan MM, Hutchinson M, Watkins LR, et al. Toll-like receptor 4 in CNS pathologies[J]. Journal of Neurochemistry, 2010,114:12-27
- [11] Ghazi K, Deng-Pichon U, Warnet JM, et al. Hyaluronan fragment improve wound healing on in vitro cutaneous model through P2X7 purinoreceptor basal activation: role of molecular weight[J]. Plos One, 7(11):e48351
- [12] Weind G, Schaller M, Schaefer-Korting M, et al. Hyaluronic acid in the treatment and prevention of skin diseases: molecular, biological, pharmaceutical and clinical aspects[J]. Skin Pharmacology and Physiology, 2004,17:207-213
- [13] Kapoor P, Sachdeva S, Sachdeva S. Topical hyaluronic acid in the management of oral ulcers [J]. Indian Journal of Dermatology, 2011,56(3): 300-302
- [14] Rodrigues SV, Acharya AB, Bhadbhade S, et al. Hyaluronan-containing mouthwash as an adjunctive plaque-control agent [J]. Oral Health & Preventive Dentistry,2010,8(4):389-394
- [15] Zhao HD, Hui MZ. Topical application of bioactive hyaluronic acid fragments for treatment of chronic Laryngopharyngitis [J]. Clinical Journal of Medical Officers, 2014,42(8):864-867
- [16] Hui MZ, Guo Q, Xi LY. Application of bioactive hyaluronic acid fragments for treatment of skin and mucosal diseases of aged population [J]. Journal of Diagnosis and Therapy on Dermato-venereology, 2014,21(4):346-354
- [17] Hui MZ. Matters of bioactive hyaluronic acid fragments, its manufacture method, its applications and formulations containing the bioactive hyaluronic acid fragments[J]. Patent number 2014101553593.5
- (上接第 1236 页)
- [18] Granado M, Priego T, Martí n AI, et al. Anti-inflammatory effect of the ghrelin agonist growth hormone-releasing peptide-2 (GHRP-2) in arthritic rats [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005, 288 (3): E486-492
- [19] Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, et al. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells [J]. J Clin Invest, 2004, 114(1): 57-66
- [20] Li WG, Gavrilu D, Liu X, et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor- κ B activation in human endothelial cells [J]. Circulation, 2004, 109(18): 2221-2226
- [21] Uronen-Hansson H, Allen ML, Lichtarowicz-Krynska E, et al. Growth hormone enhances proinflammatory cytokine production by monocytes in whole blood[J]. Growth Horm IGF Res, 2003, 13(5): 282-286