

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.20.006

IL-18 通过调节 TRPV4/Smad7 信号通路促进皮肤鳞状细胞癌的增殖 *

金 蝉 王万卷 李 静 吴惠林 房秀萍[△]

(西安医学院第二附属医院 皮肤科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨白介素 18(IL-18)对皮肤鳞状细胞癌(Cutaneous Squamous Cell Carcinoma, CSCC)增殖的影响及可能分子机制。**方法:**采用外源性 IL-18 刺激皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞和 Colo-16 细胞 24 h、48 h 和 72 h,通过 CCK-8 检测细胞的增殖能力;48 h 后 qRT-PCR 和 Western blot 检测刺激前后瞬时感受器电位离子通道家族蛋白 4(Transient Receptor Potential Vanilloid 4, TRPV4)和 Smad7 以及 p-Smad7 的表达。外源性 IL-18 刺激皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞和 Colo-16 细胞 12 h 后,采用 TRPV4 激动剂 G3 给药处理 A431 细胞和 Colo-16 细胞 36 h,通过 MMT 检测细胞增殖能力,qRT-PCR 和 Western blot 检测刺激前后 TRPV4 的表达和 Smad7 以及 p-Smad7 的表达。**结果:**外源性 IL-18 刺激 A431 细胞和 Colo-16 细胞可显著促进其增殖,抑制 TRPV4 的表达而激活 p-Smad7 的表达;TRPV4 激动剂 G3 可以部分抵消外源性 IL-18 对 A431 细胞和 Colo-16 细胞的增殖作用。**结论:**IL-18 可能通过下调 TRPV4 激活 Smad7 信号通路促进皮肤鳞状细胞癌增殖作用。

关键词:白介素 18;瞬时感受器电位离子通道家族蛋白 4;Smad7;皮肤鳞状细胞癌;增殖

中图分类号:R-33;R730.5;R739.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)20-3827-04

IL-18 Promotes Proliferation of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma by Regulating TRPV4/Smad7 Signaling Pathway*

JIN Chan, WANG Wan-juan, LI Jing, WU Hui-lin, FANG Xiu-ping[△]

(The Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Department of Obstetrics and Gynecology, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of interleukin-18 (IL-18) on the proliferation of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma (CSCC) and its possible molecular mechanism. **Methods:** Exogenous IL-18 was used to stimulate skin squamous cell carcinoma A431 cells and Colo-16 cells for 24 h, 48 h and 72 h. The proliferation of cells was detected by CCK-8. After 48 h stimulation by qRT-PCR and western blot, expression of transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) and Smad7, p-Smad7. After exogenous IL-18 stimulated squamous cell carcinoma A431 cells and Colo-16 cells for 12 h, A431 cells and Colo-16 cells were treated with TRPV4 agonist G3 for 36 h. Cell proliferation was detected by MMT, qRT-PCR. The expression of TRPV4 and the expression of Smad7 and p-Smad7 were detected by PCR and Western blot. **Results:** Exogenous IL-18 stimulated A431 cells and Colo-16 cells to significantly promote proliferation, inhibit TRPV4 expression and activate p-Smad7 expression. TRPV4 agonist G3 partially offsets exogenous IL-18, proliferation of A431 cells and Colo-16 cells. **Conclusion:** IL-18 promotes the proliferation of squamous cell carcinoma of the skin, it may be related to the down-regulation of TRPV4 and activation of Smad7 signaling pathway.

Key words: IL-18; TRPV4; Smad7; Cutaneous Squamous Cell Carcinoma; Proliferation

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R730.5; R739.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)20-3827-04

前言

皮肤鳞状细胞癌是皮肤最常见的恶性肿瘤之一,其发病机制尚不完全清楚,治疗手段有限^[7]。TRPV4 通道蛋白是瞬时受体电位通道家族(TRP)的成员,由 871 个氨基酸组成,氨基端和羧基端均位于胞质侧,其具有 6 个跨膜区(S1-6),在 S5 与 S6 区之间有一发卡通道结构,形成孔通道环,允许钙离子等阳离子通过^[1-3]。近年来研究显示 TRPV4 在多种恶性肿瘤中异常表达^[4]。研究显示 Smad7 在皮肤鳞状细胞癌中发挥重要作用,而 TRPV4 是否可以通过抑制 Smad7 发挥抑制皮肤鳞状细胞癌作用

并不清楚^[5]。有研究表明在肿瘤微环境中,IL-18 可以作为上游因子抑制 TRPV4 的生物活性,并参与调节肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡及迁移,在肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[5,6]。因此,本研究采用外源性 IL-18 刺激皮肤鳞状细胞癌细胞系 A431 和 Colo-16,主要探讨了 IL-18 与 TRPV4 对皮肤鳞状细胞癌(Cutaneous Squamous Cell Carcinoma, CSCC)增殖的影响及可能分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料

* 基金项目:陕西省自然科学基金研究一般项目(SZY-74322-233-98)

作者简介:金蝉(1985-),硕士,主要研究方向:皮肤癌及分子机制,E-mail: wsgsbei@126.com

[△] 通讯作者:房秀萍(1984-),博士,主要研究方向:肿瘤分子机制,E-mail: 2459811378@qq.com,电话:15829390120

(收稿日期:2019-03-21 接受日期:2019-04-17)

皮肤鳞状细胞癌 A431 和 Colo-16 以及正常皮肤细胞 HaCaT 购自中科院上海细胞典藏库。CCK-8 试剂盒购自武汉天根生物有限公司;蛋白定量试剂盒、SDS 凝胶、细胞裂解液、结晶紫均购自北京碧云天生物有限公司;DMEM、胎牛血清、胰蛋白酶消化液、青链霉素混合液购自美国 HyClone;Actin、IL-18、TRPV4、Smad7 和兔二抗抗体购自英国 Abcam。

1.2 方法

1.2.1 CCK-8 增殖实验 分别调整皮肤鳞状细胞癌细胞系 A431 和 Colo-16 细胞数 4×10^5 个/孔,对照组细胞直接铺板,实验组 IL-18(100 nm)处理两株细胞,37℃,5% CO₂ 培养箱内培养 24 h、48 h 和 72 h;TRPV4 激动剂 G3(10 nm)处理,重复上一步。培养结束后每孔加入 20 μ L 的 MTT,37℃,5% CO₂ 培养箱内培养避光孵育 4 h,室温于摇床震荡 10 min。酶标仪 490 nm 波长测出同一时间点 OD 值,用测得的 OD 值进行细胞增殖影响的分析。

1.2.2 qRT-PCR 分别调整皮肤鳞状细胞癌细胞系 A431 和 Colo-16 细胞数 4×10^5 个/孔,对照组细胞直接铺板,实验组 IL-18(100 nm)处理两株细胞;TRPV4 激动剂 G3(10 nm)处理 12 h,重复上一步。培养箱设定 37℃,5%CO₂ 进行培养细胞收集细胞,严格按照试剂盒步骤提取、定量、反转录和 PCR 反应。引物序列如下:Actin (Forward ACCCACTCTCCACCTTTG;Reverse CACCACCTGTGCTGTAG);TRPV4 (Forward ATCCTTTCCGGCGACACCCGAT;Reverse TCCAAGGCGTAGACCAA);Smad7 (Forward AGCCAATTTTAAGTGGAGGAGT;Reverse GGCAAGTTGATTGGAGGGA)。

1.2.3 Western Blot 分别调整皮肤鳞状细胞癌细胞系 A431 和 Colo-16 细胞数 4×10^5 个/孔,对照组细胞直接铺板,实验组 IL-18(100 nm)处理两株细胞;TRPV4 激动剂 G3(10 nm)处理 12 h,重复上一步。培养箱设定 37℃,5%CO₂ 进行培养细胞 36 h 后收集细胞,PBS 洗涤 1 min 后加含有蛋白酶抑制剂的裂解液放置冰上裂解,30 min 后高速离心吸抽蛋白。蛋白定量完成后加上样缓冲液,沸水煮 5 min。SDS-PAGE 电泳后进行转膜操作,转膜成功后用脱脂牛奶进行封闭,PBS-T 清洗,均为 1:1000 稀释 Actin、PI3K 及 Smad7,室温孵育 1 h 后 4 度过夜。次日反复清洗条带,加兔二抗室温孵育 90 min,PBS 反复冲洗,发光拍照。

1.3 统计学分析

所有数据应用 SPSS 16.0 软件进行统计,计量资料均以均值 + 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

2 结果

2.1 外源性 IL-18 促进皮肤鳞状细胞癌 A431 和 Colo-16 细胞的增殖

首先,两株皮肤鳞状细胞癌细胞 A431 和 Colo-16 分别给予外源性 IL-18 刺激 24、48 和 72 h,再通过 CCK-8 实验检测刺激后不同时间点细胞的增殖情况,结果显示 IL-18 刺激 A431 和 Colo-16 细胞不同时间,细胞增殖能力均增强,24 h(A431 vs. A431+IL-18= 0.427 ± 0.02 vs. 0.589 ± 0.16 ;Colo-16 vs. Colo-16+IL-18= 0.303 ± 0.07 vs. 0.43 ± 0.16);48 h (A431 vs. A431+IL-18= 0.644 ± 0.36 vs. 0.853 ± 0.41 ; Colo-16 vs. Co-

lo-16+IL-18= 0.464 ± 0.37 vs. 0.732 ± 0.28);72 h (A431 vs. A431+IL-18= 0.778 ± 0.32 vs. 1.113 ± 0.66 ;Colo-16 vs. Colo-16+IL-18= 0.71 ± 0.52 vs. 0.866 ± 0.44),差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

2.2 外源性 IL-18 抑制皮肤鳞状细胞癌 TRPV4 的表达并激活 Smad7

与正常皮肤细胞系 HaCaT 相比,两株皮肤鳞状细胞癌 A431 和 Colo-16 癌细胞内 TRPV4 的 mRNA 和蛋白表达较低,Smad7 的 mRNA 和蛋白表达较高;外源性 IL-18 刺激 48 h 后,两株细胞内 TRPV4 的 mRNA 和蛋白表达进一步降低,而 p-Smad7 的 mRNA 和蛋白表达明显升高,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。

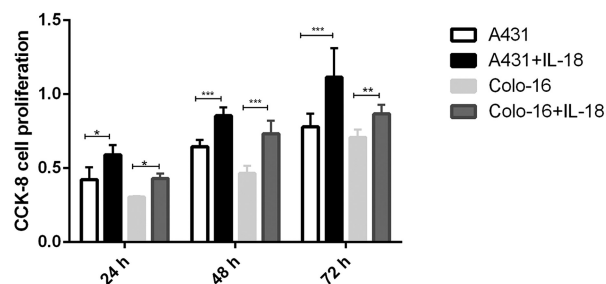


图 1 IL-18 给药不同时间对 A431 和 Colo-16 细胞增殖的影响

Fig.1 Effect of IL-18 administration for different time on the Proliferation of A431 and Colo-16 cells

2.3 TRPV4 激动剂 G3 抵消外源性 IL-18 促进皮肤鳞状细胞癌细胞增殖作用

IL-18 刺激 12 h 后,给予 TRPV4 激动剂 G3 处理 12 h、36 h 和 60 h,结果显示 G3 给药处理后部分抵消了 IL-18 对 A431 和 Colo-16 细胞增殖的促进作用,24 h (A431+IL-18 vs A431+IL-18+G3= 0.502 ± 0.23 vs 0.32 ± 0.07 ; Colo-16+IL-18 vs Colo-16+IL-18+G3= 0.43 ± 0.16 vs 0.28 ± 0.05);48 h(A431+IL-18 vs A431+IL-18+G3= 0.812 ± 0.26 vs 0.591 ± 0.21 ; Colo-16+IL-18 vs Colo-16+IL-18+G3= 0.692 ± 0.13 vs 0.483 ± 0.17);72 h (A431+IL-18 vs A431+IL-18+G3= 1.105 ± 0.36 vs 0.763 ± 0.41 ; Colo-16+IL-18 vs Colo-16+IL-18+G3= 0.824 ± 0.32 vs 0.617 ± 0.12),差异具有统计学意义($P < 0.05$)。以上结果提示 TRPV4 可以抑制皮肤鳞状细胞癌细胞的增殖。

2.4 TRPV4 激动剂 G3 抵消外源性 IL-18 对皮肤鳞状细胞癌 TRPV4 和 Smad7 的作用

在外源性 IL-18 刺激 12 h 后,TRPV4 激动剂 G3 给药处理 36 h,结果显示:G3 给药处理后 TRPV4 表达有所增加,而 p-Smad7 表达降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),提示 TRPV4 和 Smad7 在皮肤鳞状细胞癌增殖过程中起到重要作用。

3 讨论

皮肤鳞状细胞癌(CSCC)是皮肤科最常见的肿瘤之一,是仅次于黑素细胞来源的皮肤恶性肿瘤^[9]。皮肤鳞状细胞癌具有侵袭性强、易复发、治疗效果差等特性,导致其治疗难度增加。近些年研究显示 PI3K/Smad7 信号通路与皮肤鳞癌的发生发展、转移和侵袭密切相关^[10,11]。皮肤鳞状细胞癌病变来源于皮肤表

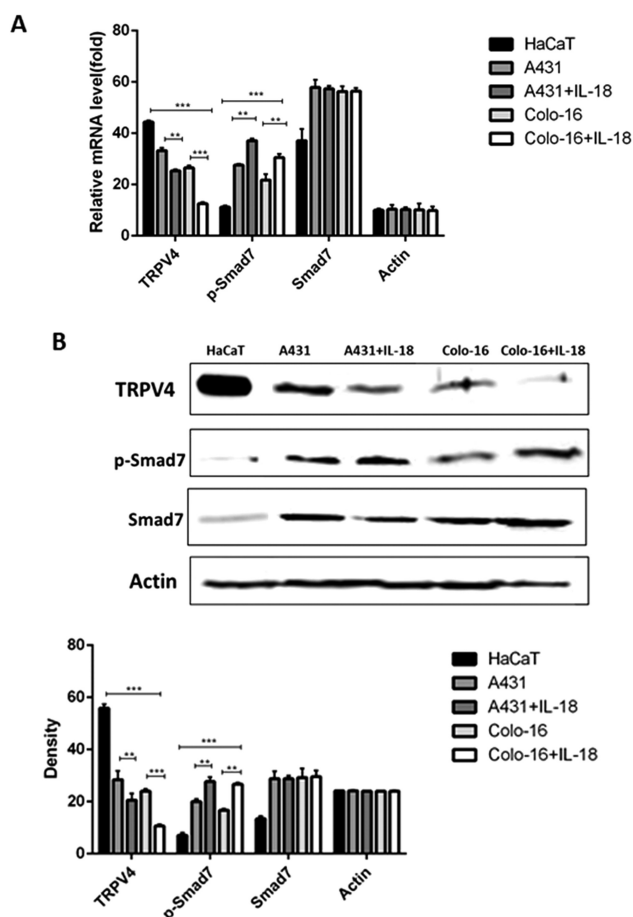


图 2 A:qRT-PCR 检测外源性 IL-18 刺激 48 h 后两株细胞 TRPV4, p-Smad7 和 Smad7 的表达情况;

B: Western blotting 检测外源性 IL-18 刺激 48 h 后两株细胞 TRPV4, p-Smad7 和 Smad7 的表达情况。

Fig. 2 A: qRT-PCR was used to detect the expression of TRPV4, p-Smad7 and Smad7 in the two cells after 48 hours of exogenous IL-18 stimulation.

B: Western blotting was used to detect TRPV4, p-Smad7 and Smad7 in the two cells after 48 hours of exogenous IL-18 stimulation.

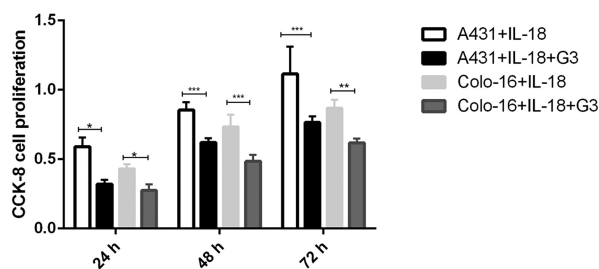


图 3 G3 处理后 IL-18 刺激不同时间点 A431 和 Colo-16 细胞增殖情况

Fig. 3 Proliferation of A431 and Colo-16 cells stimulated by IL-18 at different time points after G3 treatment

层以及其附属组织等角质形成细胞,常见于手足和面颈部等部位。皮肤鳞状细胞癌早期症状多呈溃疡状,病变部位溃疡长期不愈而导致癌变,并且会导致炎症浸润和区域淋巴结转移^[12-14]。

IL-18 是具有炎性趋化和促进血管生长的细胞因子^[15]。目前已有研究表明 IL-18 在恶性肿瘤、肿瘤相关巨噬细胞以及中性粒细胞浸润过程中均表达增高^[16]。在肺癌细胞中,IL-18 高表达诱导中性粒细胞趋化,在肿瘤微环境中促进肿瘤相关巨噬细

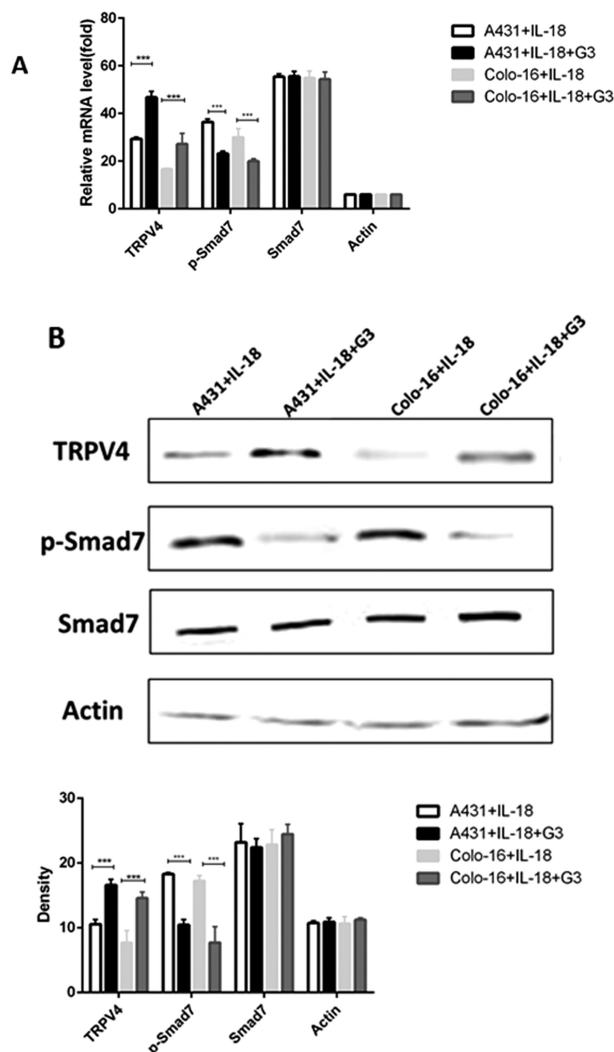


图 4 A:qRT-PCR 检测外源性 IL-18 刺激 12 h 后 G3 给药两株细胞 TRPV4, p-Smad7 和 Smad7 的表达情况; B: Western blotting 检测外源性 IL-18 刺激 12 h 后 G3 给药两株细胞 TRPV4, p-Smad7 和 Smad7 的表达情况。

Fig. 4 A: qRT-PCR detection of TRPV4, p-Smad7 and Smad7 expression in two cells of G3 administration after exogenous IL-18 stimulation for 12 h; B: Western blotting detection of exogenous IL-18 stimulation for 12 h after G3 administration expression of TRPV4, p-Smad7 and Smad7 in strain cells

胞分泌肝细胞生长因子(Hepatocyte Growth Factor, HGF)和骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)等肿瘤相关生长因子,从而促进肿瘤的生长和体内病灶的转移^[17]。有研究表明在结肠癌等多种肿瘤细胞中 IL-18 抑制了 TRPV4 的表达^[18]。

TRPV4 通道蛋白是瞬时感受器电位离子通道家族(TRP)亚家族成员,是一种非选择性阳离子通道,参与机体众多生理及病理生理过程^[19]。TRPV4 广泛存在与心血管系统中,主要调节血管张力以及通透性,参与血管机械信号的传导过程。目前已知的 TRPV4 的异常表达与高血压、肺水肿以及心肌缺血再灌注损伤等疾病相关^[20]。有研究证实在肿瘤的发生发展过程中,TRPV4 参与了 PI3K 的信号传导通路,其发挥生物功能的主要机制是通过抑制丝/苏氨酸蛋白激酶(Protein kinase, AKT)的磷酸化^[21]。AKT 磷酸化减少可以激活 MAK 信号通路导致

Smad7 活性降低,从而抑制肿瘤细胞增殖能力。

Smad7 作为一种促癌基因,其具有类脂激酶和蛋白激酶的双重生物活性,可以活化 AKT,参与肿瘤细胞的增殖、凋亡、分化和转移等一系列生物学行为^[21]。Smad7 也是 TGF- β 信号通路的负调控蛋白,能够有效阻断 TGF- β 信号转导。在肝癌中,Smad7 可以促进肝星状细胞转化为肿瘤相关成纤维细胞,促进肝肿瘤细胞的增殖和转移^[23]。活化的肿瘤相关成纤维细胞,TGF- β 诱导 Smad2/3 磷酸化的同时也诱导 Smad7 的过表达,过表达的 Smad7 可以负向调节 Smad2/3 的活性使肿瘤相关成纤维细胞内 TGF- β /Smads 信号转导通路的正负调节处于平衡状态,导致胶原蛋白大量合成。Smad7 作为 Smad 蛋白家族新发现的一种信号转导蛋白,其在 PIK3-MAPK 信号通路中起到重要作用^[21,24]。作为一种信号的细胞内转导蛋白,Smad7 在骨形态发生蛋白等信号转导过程中起到非常重要的作用^[25]。研究表明在口腔鳞癌患者组织中,Smad7 在癌组织中的表达明显高于正常组织,发生淋巴结转移高于无淋巴结转移患者,提示 Smad7 的异常表达与口腔鳞癌密不可分^[22,26]。Kiyve 等研究表明 Smad7 高表达后阻止了 TGF 信号通路的传导,使其失去抑癌作用,从而增加肿瘤细胞的增殖和转移能力^[27]。Kleeff 等研究发现,在人胰腺癌中 Smad7 mRNA 水平高于正常胰腺癌,同时 Smad7 作为抑制型 Smad 蛋白,抑制 TGF- β /Smad 信号通路在胰腺癌中的转导,阻碍细胞对 TGF- β 的应答,从而促进细胞的恶性化进展^[28]。

最近的几项研究表明 Smad7 信号通路在肿瘤发生发展过程中起到重要作用,PI3K 可以正向调控 Smad7 使其发生磷酸化,而 TRPV4 可以抑制 PI3K 信号通路^[29]。有研究发现 TRPV4 在结直肠癌中的表达降低但是 P-Smad7 表达在增高,其激活下游分子 Twist 结合导致癌细胞迁移和侵袭能力的显著增加^[30]。此外,Smad7 信号通路通过负性调控 Twist 表达来抑制癌症转移。有研究证明 Smad7 信号通路通过上调 N-cadherin 诱导连环蛋白基因和抑制 E-cadherin 从细胞质转移至细胞膜来促进胃癌细胞的侵袭^[31]。Smad7 信号通路通过促进 N-cadherin 翻译间接上调其下游效应基质金属蛋白酶 9,从而促进肝癌转移。所有这些研究表明 Smad7/TRPV4 信号通路在肿瘤迁移和侵袭以及 EMT 发生发展过程中起重要的作用^[32]。但 Smad7/TRPV4 信号通路对皮肤鳞状细胞癌的影响及对皮肤鳞状细胞癌细胞增殖能力影响如何尚不完全明确。

本研究以皮肤鳞状细胞癌 A431 和 Colo-16 细胞为研究对象,用外源性 IL-18 给药刺激,发现 IL-18 可以促进皮肤鳞状细胞癌的增殖。同时,IL-18 抑制皮肤鳞状细胞癌细胞 TRPV4 的表达而促进 Smad7 的表达。用 TRPV4 激动剂 G3 给药处理可抵消外源性 IL-18 促进皮肤鳞状细胞癌细胞增殖作用,使 TRPV4 表达有所增加,而 Smad7 表达降低,挽回效应明显,进一步提示 TRPV4 和 Smad7 在皮肤鳞状细胞癌增殖过程中起到重要作用,TRPV4 的失活和 Smad7 的激活可以增强皮肤鳞状细胞癌的增殖和形成远端病灶能力。

综上所述,TRPV4 及 Smad7 在皮肤鳞状细胞癌的异常表达,从而促进皮肤鳞状细胞癌形成转移病灶。而 TRPV4/Smad7 信号通路上游如何,除了 IL-18 是否还有其他分子调控 TRPV4/Smad7 信号通路有待于进一步的研究证实。

参考文献(References)

- [1] 黄媛媛. Claudin7 丝氨酸磷酸化对结肠上皮细胞屏障的影响以及 TRPV4 对其调节作用的实验研究[J].安徽医科大学学报,2018,5(21): 120-123
- [2] 吴静,程全艺,杨梦成,等. TRPV4 通道及其与疾病关系的研究进展[J].西南医科大学学报,2018,8(12): 140-144
- [3] 王璐,张艳. TRPV4 在肿瘤增殖迁移中作用的研究进展[J].生理科学进展,2018,23(18): 21-25
- [4] 冯泽宇,卞卫和,姚昶. 瞬时受体电位香草酸受体 4 与乳腺癌转移、血管新生的关系研究进展[J].山东医药,2018,04(21): 109-112
- [5] 薛林霞,郑希院,赵志敏. TRPV4 受体阻断剂对脑缺血再灌注损伤的保护作用[J].武警后勤学院学报(医学版),2018,03(15): 113-116
- [6] Hiroshi Mihara, Nobuhiro Suzuki, Ammar Abdulkader Boudaka, et al. Transient receptor potential vanilloid 4-dependent calcium influx and ATP release in mouse and rat gastric epithelia [J]. World Journal of Gastroenterology, 2016, 06(25): 1098-1103
- [7] 齐淑贞,李静,刘滢,等. 皮肤鳞状细胞癌组织中 p16 及 14-3-3 σ 基因启动子甲基化检测及其相关性分析[J].临床皮肤科杂志,2017,10(12): 835-839
- [8] 张佳音,钟咪,饶美荣,等. 皮肤鳞状细胞癌细胞中 TRPV 表达变化对细胞增殖、凋亡的影响及机制[J].山东医药,2018,31(45): 9-12
- [9] Eid A H, Gad A M, Fikry E M, et al. Venlafaxine and carvedilol ameliorate testicular impairment and disrupted spermatogenesis in rheumatoid arthritis by targeting AMPK/ERK and PI3K/AKT/mTOR pathways[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2018, 16(9): 234-238
- [10] 汪思桦,许锐,何诗敏,等. CD133⁺ 皮肤鳞状细胞癌细胞的增殖与自我更新和转移能力[J].中山大学学报(医学版),2018,43(02): 220-226
- [11] 姜彬,陈办成,于波,等. ALA-PDT 对皮肤鳞状细胞癌 SCL-1 细胞体外活性的影响[J].中国皮肤性病杂志,2018,21(12): 1-6
- [12] 李小静,李志锋,李显平,等. ALA-PDT 对皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞甲基化及 Gadd45a 表达的影响 [J]. 中国皮肤性病杂志,2018,18(06): 615-619
- [13] 高瑞瑞,周良,丁振华. ABT-263 诱导 A431 细胞凋亡及其对 AKT 下游信号通路影响[J].中国职业医学,2018,31(01): 19-23
- [14] Metcalfe E, Arik D, Oge T, et al. CD105 (endoglin) expression as a prognostic marker of angiogenesis in squamous cell cervical cancer treated with radical radiotherapy [J]. J Cancer Res Ther, 2018, 14(6): 1373-1378
- [15] 沈小波,任汉强,陈伟. 甲状腺癌患者外周血及肿瘤组织中 IL-8 的表达及其作用的初步研究[J].中国免疫学杂志,2018,31(16): 52-54
- [16] 陈亚楠. IL-18 过表达对人结肠癌 HCT-116 细胞增殖的影响及诱导奥沙利铂原发耐药机制的探究 [J]. 新乡医学院学报,2018,31(16): 52-54
- [17] 程天军,宋杨英. 转染 IL-18 基因的大鼠肺癌细胞疫苗 9L/IL-18 对肺癌大鼠中 TGF- β 和 Fgf2 水平的影响[J].现代肿瘤医学,2016,11(26): 33-35
- [18] 何海华,杨志奇,孙振纲. IL-10、IL-17 及 IL-18 在结肠癌中的表达特点及其临床意义 [J]. 标记免疫分析与临床杂志,2016,15(21): 102-105
- [19] 贾淑青,方锐华,莫金雪. 干扰 HDAC1 通过调控 STAT3 信号通路影响皮肤鳞癌细胞凋亡 [J]. 中国病理生理杂志,2018,34(03): 452-457

- [18] Thevathasan W, Debu B, Aziz T, et al. Pedunculo pontine nucleus deep brain stimulation in Parkinson's disease: a clinical review[J]. *Mov Disord*, 2018, 33: 10-20
- [19] Shinto L, Quinn J, Montine T, et al. A randomized placebo-controlled pilot trial of omega3 fatty acids and alpha lipoic acid in Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dis*, 2014, 38(1): 111-20
- [20] Choi KH, Park MS, Kim JT, et al. Lipoic Acid Use and Functional Outcomes after Thrombolysis in Patients with Acute Ischemic Stroke and Diabetes[J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0163484
- [21] Salinthon S, Yadav V, Bourdette D, et al. Lipoic Acid: A Novel Therapeutic Approach for Multiple Sclerosis and Other Chronic Inflammatory Diseases of the CNS [J]. *Endocrine Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 2008, 8(2): 132-142
- [22] de Sousa CNS, da Silva Leite CMG, da Silva Medeiros I, et al. Alpha-lipoic acid in the treatment of psychiatric and neurological disorders: a systematic review [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(1): 39-52
- [23] Dong K, Hao P, Xu S, et al. Alpha-Lipoic Acid Alleviates High Glucose Suppressed Osteogenic Differentiation of MC3T3-E1 Cells via Antioxidant Effect and PI3K/Akt Signaling Pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(5): 1897-1906
- [24] Coles LD, Tuite PJ, Öz G, et al. Repeated-Dose Oral N-Acetylcysteine in Parkinson's Disease: Pharmacokinetics and Effect on Brain Glutathione and Oxidative Stress [J]. *Clin Pharmacol*, 2018, 58(2): 158-167
- [25] Ahmadinejad F, Geir MS, Hashemzadeh-Chaleshtori M, et al. Molecular Mechanisms behind Free Radical Scavengers Function against Oxidative Stress[J]. *Antioxidants*, 2017, 6(3): 59-66
- [26] Czlonkowska A, Kohuknika M, Kurkowska-Jastrzebska I. Microglial reaction in MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) induced Parkinson's disease mice model[J]. *Neurodegeneration*, 1996, 5: 137-143
- [27] Hayes MT. Parkinson's Disease and Parkinsonism [J]. *Am J Med*, 2019, (19): 235-239
- [28] Hu M, Li F, Wang W. Vitexin protects dopaminergic neurons in MPTP-induced Parkinson's disease through PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 565-573
- [29] Dong K, Hao P, Xu S, et al. Alpha-Lipoic Acid Alleviates High Glucose Suppressed Osteogenic Differentiation of MC3T3-E1 Cells via Antioxidant Effect and PI3K/Akt Signaling Pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(5): 1897-1906
- [30] Wang X, Zhang X, Cheng Y, et al. Alpha-lipoic acid prevents bupivacaine-induced neuron injury in vitro through a PI3K/Akt-dependent mechanism[J]. *Neurotoxicology*, 2010, 31(1): 101-112
- [31] Ali T, Kim T, Rehman S U, et al. Natural Dietary Supplementation of Anthocyanins via PI3K/Akt/Nrf2/HO-1 Pathways Mitigate Oxidative Stress, Neurodegeneration, and Memory Impairment in a Mouse Model of Alzheimer's Disease [J]. *Molecular Neurobiology*, 2018, 55(7): 6076-6093

(上接第 3830 页)

- [20] Garcia-Diez I, Hernandez-Munoz I, Hernandez-Ruiz E, et al. Transcriptome and cytogenetic profiling analysis of matched in situ/invasive cutaneous squamous cell carcinomas from immunocompetent patients[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2018, 23(12): 189-192
- [21] Peng C, Fuchao C, Benhong Z. The risk of dermatological toxicities of combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *Cutan Ocul Toxicol*, 2018, 18(23): 1-17
- [22] Lee V, Yang X, Prouty S, et al. Srcasm Regulates Tyrosine Kinases in Skin Cancer: Implications for Precision Medicine [J]. *J Investig Dermatol Symp Proc*, 2018, 19(2): S103-S105
- [23] Abd E A, Sadik N, Shaker O G, et al. Single Nucleotide Polymorphism in SMAD7 and CHI3L1 and Colorectal Cancer Risk [J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 9(11): 985-987
- [24] Zhou P, Xie W, Luo Y, et al. Protective Effects of Total Saponins of *Aralia elata* (Miq.) on Endothelial Cell Injury Induced by TNF-alpha via Modulation of the PI3K/Akt and NF-kappaB Signalling Pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20(1): 109-112
- [25] 金迎迎, 包兴, 柯悦, 等. 辛伐他汀通过调控 PI3K/AKT 通路介导的 EMT 参与放疗诱导的食管癌细胞耐受 [J]. *西安交通大学学报 (医学版)*, 2018, 8(21): 1-6
- [26] 刘韵, 展望, 游文健, 等. 下调 miR-21 通过 PTEN/PI3K/Akt 信号转导抑制人增生性瘢痕成纤维细胞增殖的实验研究[J]. *西安交通大学学报 (医学版)*, 2018, 12(21): 1-6
- [27] Li X, Wu X. MiR-21-5p promotes the progression of non-small-cell lung cancer by regulating the expression of SMAD7[J]. *Oncotargets Ther*, 2018, 11(14): 8445-8454
- [28] 单晓民, 张文芳, 幸宇. 敲低 SPP1 通过 PI3K/AKT 信号通路促进 HSC-3 细胞凋亡[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 17(7): 1-5
- [29] 和义敏, 姚鹏, 梁小芳, 等. USP15 及 Smad7 在皮肤鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. *华中科技大学学报 (医学版)*, 2018, 8(05): 599-602
- [30] Ryu T Y, Kim K, Kim S K, et al. SETDB1 regulates SMAD7 expression for breast cancer metastasis [J]. *BMB Rep*, 2018, 21(13): 863-867
- [31] Sun M, Shinoda Y, Fukunaga K. KY-226 protects blood-brain barrier function through the Akt/FoxO1 signaling pathway in brain ischemia [J]. *Neuroscience*, 2018, 31(15): 213-217
- [32] Bai Y, Liu Y, Jin S, et al. Expression of microRNA27a in a rat model of osteonecrosis of the femoral head and its association with TGFbeta/Smad7 signalling in osteoblasts[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 28(12): 678-681