

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.09.012

血管细胞黏附分子-1对卵巢癌细胞凋亡的影响及机制研究*

冯茜¹ 周汝¹ 余沈桐¹ 杨桐¹ 于舒鸿¹ 刘爽² 高继伟² 崔竹青¹ 张静^{1Δ}

(1 空军军医大学基础医学院病理学教研室暨西京医院病理科 陕西 西安 710032; 2 学员旅 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨过表达血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)对卵巢癌细胞凋亡的影响。**方法:**构建过表达 VCAM-1 的慢病毒载体 GV358-VCAM1+, 转染人类卵巢癌 IGROV1 细胞株, 利用嘌呤霉素筛选稳定表达 VCAM-1 的 IGROV1 细胞, 通过倒置荧光显微镜下观察绿色荧光, 确定细胞转染效率, Western blot 及 RT-PCR 法确定卵巢癌细胞 VCAM-1 蛋白和 mRNA 水平; 采用流式细胞仪检测过表达 VCAM-1 的 IGROV1 的细胞凋亡变化, western blot 法检测凋亡相关蛋白(Bcl-2、Bax、Casepase-3、Cleaved Casepase-3) 以及 STAT3、p-STAT3 蛋白表达水平的变化。**结果:**成功构建的慢病毒载体 GV358-VCAM1+ 在 IGROV1 细胞中的转染效率达到 85% 以上, 转染细胞的 VCAM-1 蛋白及 mRNA 水平均呈稳定表达; VCAM-1 过表达卵巢癌细胞的细胞凋亡显著高于空载体对照组($P=0.0149$); Bax、Casepase-3、Cleaved Casepase-3 表达水平均较对照组显著升高($P<0.01$), Bcl-2、p-STAT3 表达水平明显低于对照组($P<0.01$), 但 STAT3 表达水平无显著改变。**结论:**VCAM-1 可能通过下调 STAT3 的磷酸化水平诱导卵巢癌细胞凋亡。

关键词:血管细胞黏附分子-1; 卵巢癌; 细胞凋亡; STAT3

中图分类号:R-33; R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)09-1658-06

Effect and Mechanism of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 on Cell Apoptosis of Ovarian Carcinoma*

FENG Qian¹, ZHOU Ru¹, YU Shen-tong¹, YANG Tong¹, YU Shu-hong¹, LIU Shuang², GAO Ji-wei², CUI Zhu-qing¹, ZHANG Jing^{1Δ}

(1 Department of Pathology, School of Basic Medicine and Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Cadet brigade of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of the overexpression of vascular cell adhesion molecule-1 on the apoptosis of ovarian carcinoma cells. **Methods:** The lentiviral vector with full length VCAM-1 gene (GV358-VCAM1+) was constructed and transfected into human ovarian carcinoma cell line, IGROV1. The tumor cells with VCAM-1 stable overexpression were selected by puromycin. The transfection rate was determined via the observation of green fluorescence under an inverted fluorescence microscope. The levels of VCAM-1 protein and mRNA were identified by western blot and RT-PCR analysis, respectively. The cell apoptosis was analyzed by flow cytometry assay. Meanwhile, the expression level of apoptosis related proteins (Bcl-2, Bax, Casepase-3 and Cleaved Casepase-3), STAT3 and p-STAT3 protein, were detected by western blot analysis. **Results:** The transfection rate of GV358-VCAM1+ in IGROV1 cells was more than 85%. These cells had stable VCAM-1 expression not only at the protein but also mRNA level. Tumor cells with VCAM-1 overexpression had significantly higher apoptosis than those with empty vector control group ($P=0.0149$). Moreover, compared with the empty vector control group, there were significantly higher expression of Bax, Casepase-3 and Cleaved Casepase-3 ($P<0.01$), and lower expression of Bcl-2 and p-STAT3 in VCAM-1 overexpression group ($P<0.01$). However, the expression level of STAT3 was not significantly changed. **Conclusion:** VCAM-1 could induce the cell apoptosis of ovarian carcinoma through down-regulation of STAT3 phosphorylation.

Key words: Vascular cell adhesion molecule-1; Ovarian carcinoma; Apoptosis; STAT3

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)09-1658-06

前言

卵巢癌是常见的妇科恶性肿瘤之一,因肿瘤进展迅速且不易被早期发现,诊断时常常出现盆腹腔转移,患者预后较差^[1]。近年研究表明一些细胞黏附分子与卵巢癌的早期进展密切相

关。血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)通常在活化的内皮细胞、平滑肌细胞及巨噬细胞等细胞表面广泛表达,具有调节炎症、免疫应答等多种生物学特性,其主要生物学作用是在炎症反应中将白细胞从血管内招募

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81372783)

作者简介:冯茜(1986-),硕士研究生,主要研究方向:肿瘤病理研究,电话:18706911415, E-mail: 164520555@qq.com

Δ 通讯作者:张静(1970-),教授,博士生导师,主要研究方向:卵巢癌发病机制、泌尿及生殖系统病理研究, E-mail: jzhang@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2017-11-28 接受日期:2017-12-23)

至损伤组织^[2]。有文献报道 VCAM-1 在乳腺癌^[3]、肾癌^[4]等肿瘤细胞表面也存在异常表达,可能参与了肿瘤的早期形成和转移过程。Slack-Davis 等研究发现,卵巢癌细胞能够通过其表面的整合素 $\alpha 4 \beta 1$ (又称 VLA-4) 与间皮细胞 VCAM-1 结合,参与细胞间黏附并突破间皮细胞,引发盆腔转移^[5],但目前国内外对 VCAM-1 对卵巢癌凋亡的研究鲜有报道,且 VCAM-1 对细胞凋亡作用的影响也存在争议,因此本研究拟通过构建 VCAM-1 过表达慢病毒载体,建立稳定表达 VCAM-1 的卵巢癌细胞株,研究过表达 VCAM-1 对卵巢癌细胞凋亡的影响并探讨其分子机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料及试剂

人类卵巢癌细胞株 IGROV1 由美国德州大学 MD 安德森癌症中心刘劲松教授惠赠。GV358 载体购自上海吉凯基因化学技术有限公司,RT-PCR 引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成,限制性内切酶 *AgeI* 购自美国 New England Biolabs (NEB) 公司,质粒抽提试剂盒购自美国 Promega 公司,琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒购自北京天根生化有限公司,MEM/EB-SS、RPMI-1640 购自美国 Hyclone 公司,胎牛血清购自杭州四季青公司,TRIZol 及逆转录试剂盒购自日本 Takara 公司,Annexin V-PE 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,兔抗人单克隆抗体 VCAM-1 购自美国 Abcam 公司,兔抗人单克隆抗体 Bax、Bcl-2、Caspase-3、Cleaved Caspase-3、p-STAT3、STAT3、鼠抗人单克隆抗体 β -actin 购自美国 Cell Signaling Technology (CST),山羊抗兔、山羊抗鼠抗体购自美国 Abbkine 公司。

1.2 慢病毒载体构建和鉴定

根据 GenBank 数据库 VCAM-1 mRNA 序列(NM_001078),设计具有 *AgeI* 酶切位点的 PCR 引物,扩增 VCAM-1 全长基因片段,共 2261 bp。上游引物:5'-GAGGATCCCCGGGTACCG-GTCGCCACCATGCCTGGGAAGATGGTCGTG-3';下游引物:5'-TCCTTGTAAGTCCATACCCACTTTTGACTTCTGTGCTTCTAC-3',反应条件为 98 °C 预变性 5 min;98 °C 变性 10 s,55 °C 退火 10 s,72 °C 延伸 90 s,共 30 个循环;72 °C 延长 5 min。将 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳,分离纯化后回收 VCAM-1 基因片段。将 GV538 载体(元件顺序为 Ubi-MCS-3FLAG-SV40-EGFP-IRES-puromycin)进行 *AgeI* 酶切,将 VCAM-1 的 PCR 产物与线性 GV538 载体进行重组。将重组产物转化感受态菌 DH5 α 后,均匀涂在含氨苄霉素的 LB 平板上,37 °C 培养过夜。挑取数个单克隆进行 PCR 鉴定,引物 KL20328-P1:5'-CTAGA GAACAAAAGTTTGGA-3',FLAG-R-1:5'-GCTAGCTCATTTGTCGTCATC-3',扩增长度为 924 bp。将鉴定出的阳性克隆接种于 LB 液体培养基中,37 °C 培养 12 h,取适量菌液提取质粒进行 DNA 测序。

1.3 慢病毒载体包装及病毒滴度测定

293T 细胞消化后重悬,按 $5 \times 10^6/20$ mL 密度接种于 10 cm 培养皿中,转染前 2 h 换无血清培养基培养,将 GV358-VCAM1+ 载体 20 μ g、pHelper1.0 载体 15 μ g 和

pHelper2.0 载体 10 μ g 制备成质粒混合物,室温孵育 15 min 后缓慢加入 293T 细胞的培养液中混匀,培养 6 h 后弃上清,PBS 清洗细胞一次,加入完全培养基继续培养 48 h。收集细胞上清液,超速离心收集病毒浓缩液,利用荧光法测定病毒滴度,病毒滴度 = 荧光细胞数 / 病毒原液量,-80 °C 保存备用。

1.4 慢病毒转染及筛选

取对数生长期的 IGROV1 细胞接种至 24 孔板中,待细胞铺满至 70% 时,换无血清培养液培养。将 GV358-VCAM1+ 慢病毒载体加入培养液中,同时加入 5 μ g/mL 聚凝胺继续培养,12 h 后更换完全培养液培养。72 h 加入 8 μ g/mL 嘌呤霉素筛选 48 h,倒置荧光显微镜(日本奥林巴斯公司)下观察荧光确定转染效率。

1.5 RT-PCR 实验

取新鲜细胞用 TRIzol 试剂提取 mRNA 并测定其浓度,通过逆转录获得 cDNA 并进行 PCR 扩增,VCAM-1 上游引物:5-AGTTCTTGTGTTGCCGAGC-3,下游引物:5-GAAAGGTGCTGTAGATTC-3,扩增长度为 240 bp; β -actin 上游引物:5-GGACTTCGAGCAAGAGATGG-3,下游引物:5-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3,扩增长度为 235 bp。PCR 反应条件为 95 °C 预变性 8 min;95 °C 变性 30 s,58 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,共 35 个循环;72 °C 延长 8 min。琼脂糖凝胶电泳检测 VCAM-1 mRNA 表达水平。

1.6 流式细胞仪检测细胞凋亡

将细胞分为 GV358 空载体组(Con 组)和 GV358-VCAM1+ 转染组(VCAM-1 组)分别接种至六孔板培养 48 h,待细胞铺满至 85% 后,胰酶消化,收集细胞并计数。取 5×10^5 重悬的细胞,1000 r/min 离心 5 min,加入 195 μ L Annexin V-PE 结合液重悬后,加 5 μ L Annexin V-PE 混匀,室温避光孵育 20 min,流式细胞仪(美国 Beckman 公司)检测分析,重复 3 次实验进行统计学分析。

1.7 western blot 实验

将细胞接种至 60 mm 培养皿内,待细胞铺满至 85% 以上,胰酶消化,收集细胞,加入 150 μ L RIPA 裂解液(含 10% 蛋白酶抑制剂和 10% 磷酸酶抑制剂),超声破碎细胞后,4 °C 离心(12000 r/min)15 min,取上清进行蛋白定量。用 SDS-PAGE 凝胶试剂盒配制凝胶,按 20 μ g/每孔蛋白浓度上样,恒压 100V 电泳 90 min,恒流 300 mA 转膜 100 min,5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,4 °C 一抗孵育摇床过夜。次日用 TBST 缓冲液洗膜,二抗(1:4000)室温孵育 1 h,TBST 清洗,ECL 显影,用 Image J 软件进行灰度分析。

1.8 统计学分析

实验数据利用统计软件 SPSS19.0 进行分析,计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)。

2 结果

2.1 VCAM-1 载体构建和鉴定

VCAM-1 全长基因片段为 2261 bp (图 1A),测序结果与 GenBank 数据库的 VCAM-1 序列比对一致;将片段回收、限制性内切酶酶切后与线性化的 GV538 载体交换重组后转化,

PCR 法鉴定阳性克隆证实 GV358-VCAM1+ 慢病毒载体构建 成功(图 1B)。

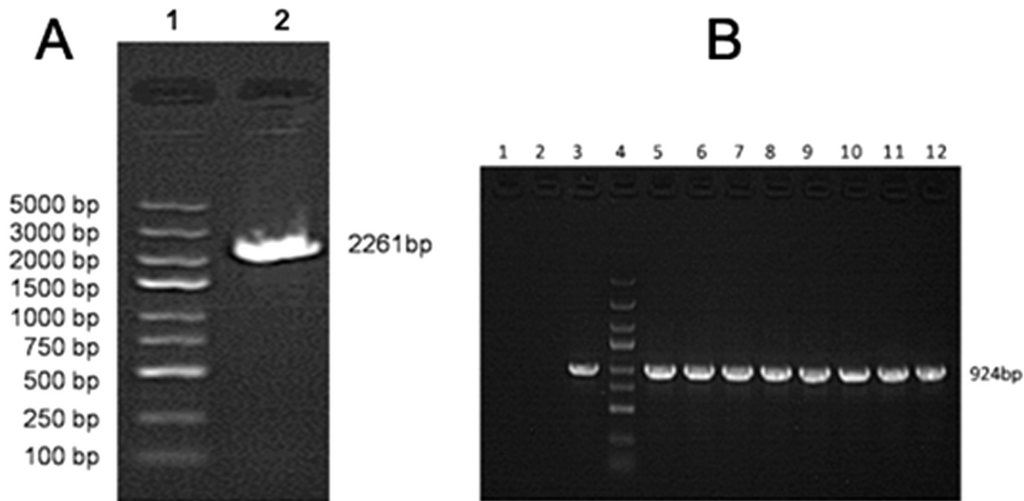


图 1 VCAM-1 基因 PCR 扩增产物及 GV358-VCAM1+ 慢病毒载体阳性克隆鉴定

Fig.1 VCAM-1 gene PCR amplification product and identification of positive clones with GV358-VCAM1+ lentiviral vector

Note: A. 1, DNA ladder marker; 2, VCAM-1 amplification product. B. 1, negative control group (ddH₂O); 2, empty vector control group; 3, positive control group (GAPDH); 4, DNA ladder marker; 5-12, GV358-VCAM1+ positive clones.

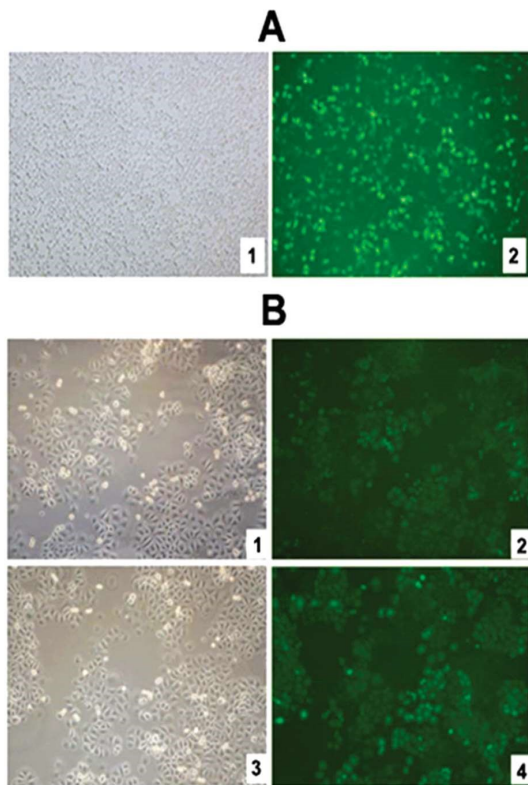


图 2 倒置荧光显微镜观察 GV358-VCAM1+ 慢病毒载体转染 293T 及 IGROV1 细胞

Fig.2 Fluorescence of 293T and IGROV1 cells with GV358-VCAM1+ lentiviral vector transfection.

Note: A. Fluorescence of 293T cells with GV358-VCAM1+ lentiviral vector transfection (magnification: 100×): 1, visible image; 2, fluorescence image.

B. Fluorescence of IGROV1 cells with GV358 or GV358-VCAM1+ lentiviral vector transfection (magnification: 100×): 1, visible image of cells with GV358; 2, fluorescence image of cells with GV358; 3, visible image of cells with GV358-VCAM1+; 4, fluorescence image of cells with GV358-VCAM1+.

2.2 慢病毒载体包装及滴度测定

慢病毒载体和包装载体共同转染 293T 细胞 72 h 后倒置荧光显微镜下观察荧光(图 2A),证实 VCAM-1 过表达载体转染成功,荧光法测定病毒滴度为 2E+8 TU/mL。

2.3 VCAM-1 慢病毒载体转染、筛选及鉴定

将 GV358-VCAM1+ 慢病毒转染卵巢癌细胞株 IGROV1, 72 h 后加入 8 μg/mL 嘌呤霉素进行筛选,48 h 后倒置荧光显微镜下观察绿色荧光,结果显示 IGROV1 细胞转染效率达到 85% 以上(图 2B)。western blot 及 RT-PCR 检测结果证实转染细胞 VCAM-1 蛋白及 mRNA 水平均呈稳定表达(图 3),表明过表达 VCAM-1 的 IGROV1 细胞株建立成功。

2.4 流式细胞仪检测凋亡结果

利用流式细胞仪检测表达 VCAM-1 的 IGROV1 细胞的凋亡,结果显示 GV358-VCAM1+ 转染组的细胞凋亡较 GV358 空载体组明显增多($P=0.0149$,图 4),证实 VCAM-1 促进卵巢癌细胞的凋亡。

2.5 Western blot 检测凋亡相关蛋白和 STAT3、p-STAT3 表达水平

为进一步证实 VCAM-1 过表达促进卵巢癌细胞凋亡并探讨其作用机制,我们利用 western blot 法检测稳定表达 VCAM-1 的卵巢癌细胞的凋亡相关蛋白(Bcl-2、Bax、Caspase-3、Cleaved Caspase-3)以及 STAT3、p-STAT3 的蛋白水平变化。结果显示与正常对照组相比,VCAM-1 转染组 Bax、Caspase-3、Cleaved Caspase-3 的表达水平显著升高,Bcl-2、p-STAT3 表达水平明显下降,但 STAT3 表达水平无显著改变(图 5),这一结果提示 VCAM-1 可能通过下调 STAT3 的磷酸化水平促进卵巢癌细胞 IGROV1 的凋亡。

3 讨论

VCAM-1 是一种表达在细胞膜表面的糖蛋白,隶属于免疫

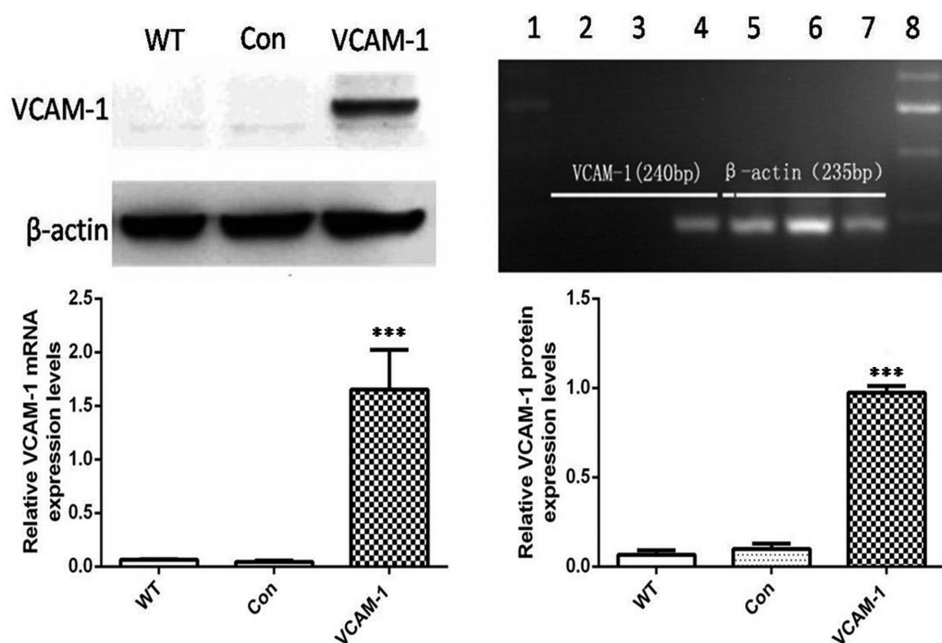


图3 Western blot 及 RT-PCR 检测 IGROV1 细胞 VCAM-1 表达

Fig. 3 VCAM-1 expression in IGROV1 cells by western blot and RT-PCR analysis

Note: Left, the result of western blot: WT, parent cells; Con, GV358 transfection group; VCAM-1, GV358-VCAM1+ transfection group. Right, the result of RT-PCR: 1 and 8, DNA ladder marker; 2 and 5, parent cells; 3 and 6, GV358 transfection group; 4 and 7, GV358-VCAM1+ transfection group. *** $P < 0.001$ vs WT and Con groups.

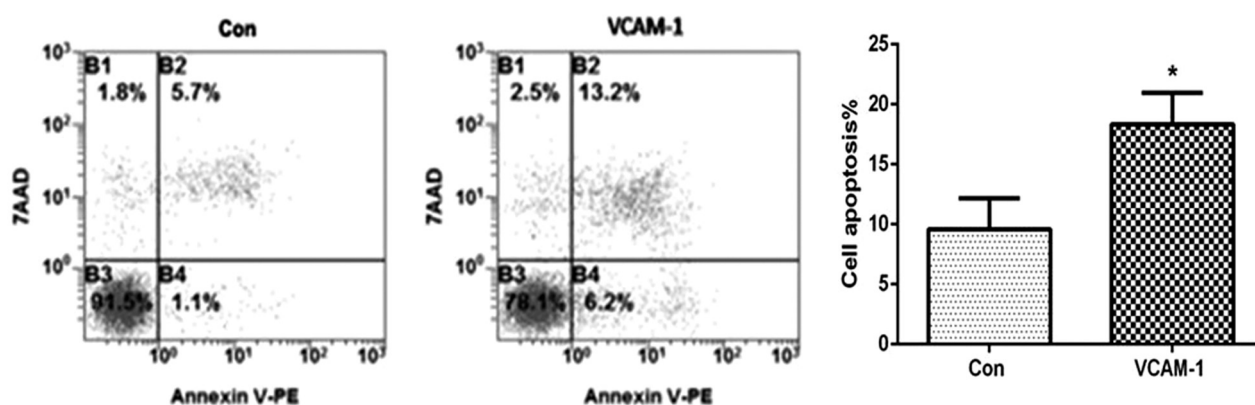


图4 流式细胞仪检测凋亡结果

Fig.4 Analysis of apoptosis by flow cytometry

Note: Con, GV358 transfection group; VCAM-1, GV358-VCAM1+ transfection group. * $P < 0.05$ vs Con group.

球蛋白超家族成员, 能够与多种单个核细胞表面的整合素 $\alpha 4 \beta 1$ 结合, 促进单个核白细胞的黏附, 参与包括肾功能受损、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、冠状动脉疾病等炎症过程^[6]。此外, 脱落的肿瘤细胞既可以诱导间皮细胞表达 VCAM-1 并招募单核 / 巨噬细胞, 形成肿瘤微环境促进肿瘤生长^[7], 也可通过表面配体 VLA-4 与血管内皮细胞表面的 VCAM-1 结合, 介导血行转移^[8]。

细胞凋亡是一种细胞的程序性死亡, 无论在细胞应激损伤, 还是在正常分化发育中, 均参与了细胞死亡的调控, VCAM-1 对细胞凋亡的影响目前尚存在争议。有研究表明 VCAM-1 可以抑制细胞发生凋亡: 利用 siRNA 阻断胶质瘤 U87 和 U251 细胞 VCAM-1 表达, 可以激活 caspase-3、caspase-8 和 caspase-9、抑制 MMP-2、MMP-9 和 Akt 信号通路, 进而促进细胞凋亡、抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭^[9]; 环氧合酶-2

选择性抑制剂塞来昔布能够下调结肠癌 HT29 细胞 VCAM-1 表达并促进细胞凋亡^[10]; 利用 VCAM-1 抗体和 VLA-4 抗体阻断 VCAM-1/VLA-4 通路可促进 T 细胞的凋亡^[11]。但也有许多研究表明 VCAM-1 能够促进细胞凋亡: 用辐照处理胸腺组织后, 胸腺细胞发生显著凋亡, 且凋亡细胞表面的 VCAM-1 表达明显升高; 糖皮质激素能够诱导小鼠 T 细胞淋巴瘤 EL4 细胞和骨髓瘤 P3 细胞的凋亡, 细胞凋亡时会一过性高表达 VCAM-1, 且 VCAM-1 能够促进细胞凋亡^[12]; 在脂多糖诱导的急性肾损伤发病模型中, 肿瘤坏死因子- α 诱导体外培养的肾小球内皮细胞凋亡并伴随 VCAM-1 及 caspase-3 的高表达^[13]; 血浆同型半胱氨酸能诱导人脐静脉内皮细胞细胞凋亡及上调 VCAM-1 表达^[14]; 大鼠神经元细胞高表达 VCAM-1 且与 Bcl-2、活化的 Caspase3 免疫荧光共定位, 推测 VCAM-1 参与了脑出血神经元细胞的凋亡^[15]。

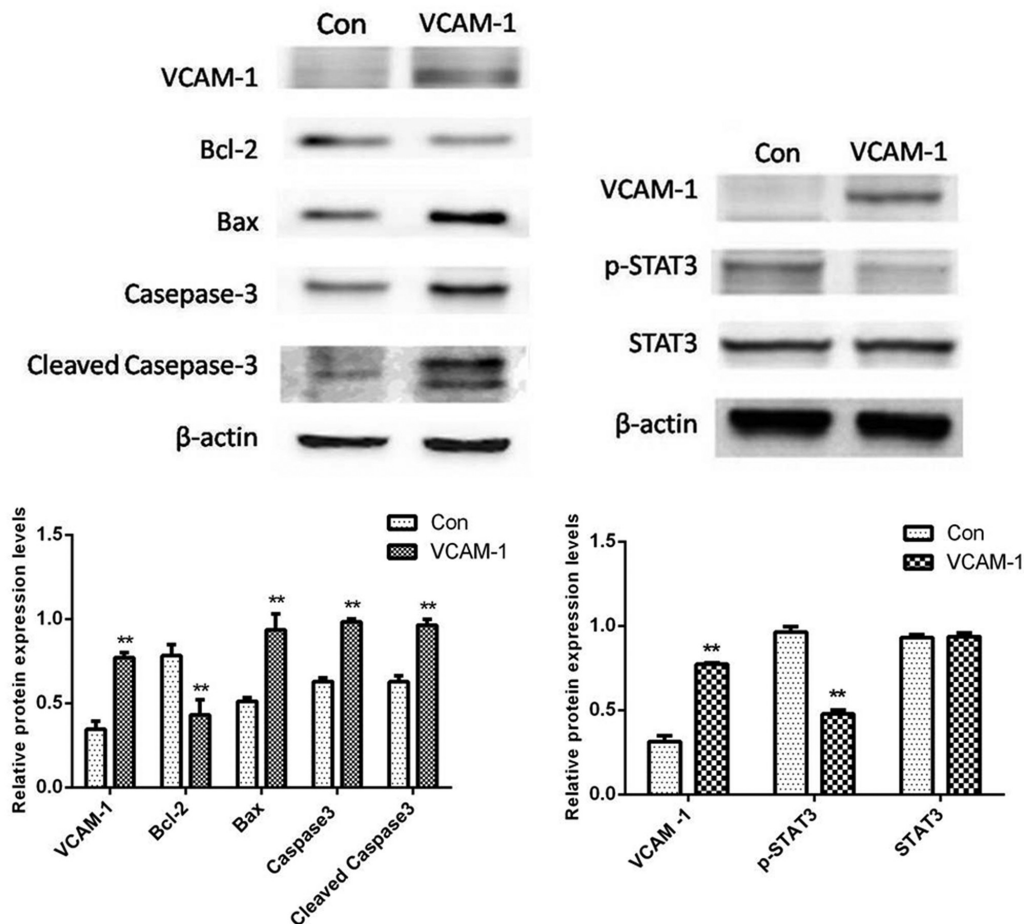


图5 Western blot 检测凋亡相关蛋白和 STAT3、p-STAT3 表达

Fig.5 The expression of apoptosis related proteins, STAT3 and p-STAT3 by western blot

Note: Con, GV358 transfection group; VCAM-1, GV358-VCAM1+ transfection group. **P<0.01 vs Con group.

VCAM-1 对卵巢癌细胞凋亡的作用鲜有文献报道。为此我们构建了 VCAM-1 过表达的慢病毒载体 GV358-VCAM1+, 建立了稳定表达 VCAM-1 的卵巢癌细胞株 IGROV1, 并进行了细胞凋亡研究, 结果显示与空载体 GV358 对照组相比, 表达 VCAM-1 的卵巢癌细胞凋亡显著增多 ($P<0.05$), Bax、Caspase-3、Cleaved Caspase-3 表达水平均显著升高, 而 Bcl-2 表达水平明显下降。由于细胞凋亡受 Bcl-2、Bax、Caspase-3 等多种基因的调控, Bcl-2 属于凋亡抑制基因, Bax 则促进细胞凋亡^[16], Caspase-3 是调控细胞凋亡的 Caspase 家族中的主要蛋白水解酶, 在活化过程中会催化酶解下游效应分子, 诱导细胞发生凋亡^[17], 因此我们的研究结果表明 VCAM-1 能够促进卵巢癌细胞的凋亡。

STAT 蛋白家族是一组信号转导和转录激活因子, 能够将胞外信号转导至胞内, 使下游靶基因的转录被激活, 参与细胞的生长分化、凋亡、免疫应答等过程, 其中 STAT3 在肿瘤进展中起到关键作用^[18], 其活化需要经过磷酸化修饰, 活化的 STAT3 可促进肿瘤发生。研究发现 p-STAT3 水平升高可抑制细胞凋亡, 促进肿瘤细胞的增殖^[19]。卵巢癌患者腹水中的癌细胞 p-STAT3 表达显著上调, 并能导致裸鼠的腹腔成瘤及腹膜广泛转移^[20]; STAT3 抑制剂 HO-3867 尽管对 STAT3 蛋白表达水平没有影响, 但能够显著抑制卵巢透明细胞癌细胞 p-STAT3 表达水平, 通过抑制 Bcl-2、促进 Cleaved Caspase 3、Caspase 7

的表达, 诱导细胞凋亡^[21]。我们的实验结果发现与空载体对照组相比, 过表达 VCAM-1 的细胞 p-STAT3 表达水平明显下降, 但 STAT3 表达水平无明显改变, 据此推测 VCAM-1 可能通过抑制 STAT3 磷酸化促进卵巢癌细胞的凋亡。

参考文献 (References)

- [1] Zhang M, He Y, Sun X, et al. A high M1/M2 ratio of tumor-associated macrophages is associated with extended survival in ovarian cancer patients[J]. Journal of Ovarian Research, 2014, 7(1): 19
- [2] Schlesinger M, Bendas G. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)-An increasing insight into its role in tumorigenicity and metastasis [J]. International Journal of Cancer, 2015, 136 (11): 2504-2514
- [3] Chen Q, Zhang X H, Massague J. Macrophage binding to receptor VCAM-1 transmits survival signals in breast cancer cells that invade the lungs[J]. Cancer Cell, 2011, 20(4): 538-549
- [4] Wu T. The Role of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 in Tumor Immune Evasion[J]. Cancer Research, 2007, 67(13): 6003-6006
- [5] Slack-Davis J K, Atkins K A, Harrer C, et al. Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Is a Regulator of Ovarian Cancer Peritoneal Metastasis[J]. Cancer Research, 2009, 69(4): 1469-1476
- [6] Cook-Mills J M, Marchese M E, Abdala-Valencia H. Vascular cell adhesion molecule-1 expression and signaling during disease: regulation by reactive oxygen species and antioxidants[J]. Antioxid Redox Signal,

- 2011, 15(6): 1607-1638
- [7] Ferjancic S, Gil-Bernabe A M, Hill S A, et al. VCAM-1 and VAP-1 recruit myeloid cells that promote pulmonary metastasis in mice [J]. Blood, 2013, 121(16): 3289-3297
- [8] Song K, Zhu F, Zhang H, et al. Tumor necrosis factor- α enhanced fusions between oral squamous cell carcinoma cells and endothelial cells via VCAM-1/VLA-4 pathway [J]. Experimental Cell Research, 2012, 318(14): 1707-1715
- [9] Hu Y, Lin X, Wang P, et al. CRM197 in Combination With shRNA Interference of VCAM-1 Displays Enhanced Inhibitory Effects on Human Glioblastoma Cells[J]. Journal of Cellular Physiology, 2015, 230(8): 1713-1728
- [10] Gallicchio M, Rosa A C, Dianzani C, et al. Celecoxib decreases expression of the adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in a colon cancer cell line (HT29)[J]. British Journal of Pharmacology, 2008, 153(5): 870-878
- [11] Leussink V I, Zettl U K, Jander S, et al. Blockade of signaling via the very late antigen (VLA-4) and its counterligand vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) causes increased T cell apoptosis in experimental autoimmune neuritis [J]. Acta Neuropathol, 2002, 103(2): 131-136
- [12] Ishiyama N, Kitagawa M, Takahashi H, et al. Expression of VCAM-1 in lymphocytes during the process of apoptosis [J]. Pathobiology, 1998, 66(6): 274-283
- [13] Wu X, Guo R, Chen P, et al. TNF induces caspase-dependent inflammation in renal endothelial cells through a Rho- and myosin light chain kinase-dependent mechanism[J]. AJP: Renal Physiology, 2009, 297(2): F316-F326
- [14] Tian X, Zhao L, Song X, et al. HSP27 Inhibits Homocysteine-Induced Endothelial Apoptosis by Modulation of ROS Production and Mitochondrial Caspase-Dependent Apoptotic Pathway [J]. BioMed Research International, 2016, 2016: 1-9
- [15] Zhang D, Yuan D, Shen J, et al. Up-regulation of VCAM1 Relates to Neuronal Apoptosis After Intracerebral Hemorrhage in Adult Rats[J]. Neurochemical Research, 2015, 40(5): 1042-1052
- [16] Liu F, Jiang Y, Zhao H, et al. Electroacupuncture ameliorates cognitive impairment and regulates the expression of apoptosis-related genes Bcl-2 and Bax in rats with cerebral ischaemia-reperfusion injury [J]. Acupuncture in Medicine, 2015, 33(6): 478-484
- [17] Chen H, Zhang J, Gao Y, et al. Sensitive cell apoptosis assay based on caspase-3 activity detection with graphene oxide-assisted electrochemical signal amplification [J]. Biosens Bioelectron, 2015, 68: 777-782
- [18] Furtek S L, Backos D S, Matheson C J, et al. Strategies and Approaches of Targeting STAT3 for Cancer Treatment [J]. ACS Chemical Biology, 2016, 11(2): 308-318
- [19] Lin L, Hutzen B, Li P K, et al. A novel small molecule, LLL12, inhibits STAT3 phosphorylation and activities and exhibits potent growth-suppressive activity in human cancer cells [J]. Neoplasia, 2010, 12(1): 39-50
- [20] Saini U, Naidu S, ElNaggar A C, et al. Elevated STAT3 expression in ovarian cancer ascites promotes invasion and metastasis: a potential therapeutic target[J]. Oncogene, 2017, 36(2): 168-181
- [21] Bixel K, Saini U, Kumar Bid H, et al. Targeting STAT3 by HO3867 induces apoptosis in ovarian clear cell carcinoma [J]. International Journal of Cancer, 2017, 141(9): 1856-1866

(上接第 1632 页)

- [16] Berryman C, Stanton TR, Jane BK, et al. Evidence for working memory deficits in chronic pain: a systematic review and meta-analysis[J]. Pain, 2013, 154(8): 1181-1196
- [17] Lin X, Wang M, Zhang J, et al. p38 MAPK: a potential target of chronic pain[J]. Curr Med Chem, 2014, 21(38): 4405-4418
- [18] Zhuang ZY, Gerner P, Woolf CJ, et al. ERK is sequentially activated in neurons, microglia, and astrocytes by spinal nerve ligation and contributes to mechanical allodynia in this neuropathic pain model[J]. Pain, 2005, 114(1-2): 149-159
- [19] Crisuolo C, Fabiani C, Bonadonna C, et al. BDNF prevents amyloid-dependent impairment of LTP in the entorhinal cortex by attenuating p38 MAPK phosphorylation [J]. Neurobiol Aging, 2015, 36(3): 1303-1309
- [20] Nicoll RA. A Brief History of Long-Term Potentiation [J]. Neuron, 2017, 93(2): 281-290
- [21] Shonesy BC, Jalan-Sakrikar N, Cavener VS, et al. CaMKII: a molecular substrate for synaptic plasticity and memory [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2014, 122: 61-87
- [22] Lisman J, Yasuda R, Raghavachari S. Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation[J]. Nat Rev Neurosci, 2012, 13(3): 169-182
- [23] Lisman J, Raghavachari S. Biochemical principles underlying the stable maintenance of LTP by the CaMKII/NMDAR complex [J]. Brain Res, 2015, 1621: 51-61
- [24] Stern P. Glial cells contribute to pain [J]. Science, 2016, 354(6316): 1114-1115
- [25] Barinov A, Luo L, Gasse P, et al. Essential role of immobilized chemokine CXCL12 in the regulation of the humoral immune response[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(9): 2319-2324
- [26] Li M, Ransohoff RM. Multiple roles of chemokine CXCL12 in the central nervous system: a migration from immunology to neurobiology [J]. Prog Neurobiol, 2008, 84(2): 116-131
- [27] Li XQ, Zhang ZL, Tan WF, et al. Down-Regulation of CXCL12/CXCR4 Expression Alleviates Ischemia-Reperfusion-Induced Inflammatory Pain via Inhibiting Glial TLR4 Activation in the Spinal Cord[J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0163807
- [28] Yang L, Wang M, Guo YY, et al. Systemic inflammation induces anxiety disorder through CXCL12/CXCR4 pathway [J]. Brain Behav Immun, 2016, 56: 352-362
- [29] Spalek K, Coynel D, Freytag V, et al. A common NTRK2 variant is associated with emotional arousal and brain white-matter integrity in healthy young subjects[J]. Transl Psychiatry, 2016, 6: e758
- [30] Li Z, Zhang Y, Wang Z, et al. The role of BDNF, NTRK2 gene and their interaction in development of treatment-resistant depression: data from multicenter, prospective, longitudinal clinic practice [J]. J Psychiatr Res, 2013, 47(1): 8-14