

ER- α -ERK5 信号通路介导流体剪切力促进 MC3T3-E1 细胞增殖

孟会强^{1,2}, 姜金^{1,2}, 郭来威^{1,2}, 许田恩^{1,2}, 丁宁^{1,2}, 夏亚一^{1,2}

1. 兰州大学第二医院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省骨关节疾病研究重点实验室, 甘肃 兰州 730000

【摘要】目的:研究雌激素受体 α (ER- α) 在流体剪切力促进细胞外信号调节激酶5(ERK5) 活化以及 ER- α -ERK5 信号通路在成骨细胞增殖中的具体分子机制。**方法:**给予成骨 MC3T3-E1 细胞孵育特异性 ER- α 抑制剂 MPP(methyl-piperidino-pyrazole, 1 $\mu\text{mol/L}$), 孵育高选择性 ERK5 活性抑制剂 XMD8-92(5 $\mu\text{mol/L}$), 和/或加载 12 dyn/cm^2 流体剪切力处理。采用 MTT 实验检测成骨细胞的增殖活性, 采用蛋白免疫印记实验检测 ER- α 、P-ERK5、ERK5、Cyclin D1(细胞周期蛋白)和 CDK4(细胞周期蛋白依赖性激酶)蛋白的表达水平。**结果:**生理强度(12 dyn/cm^2) 的流体剪切力作用于成骨 MC3T3-E1 细胞 60 min 后能显著促进成骨细胞增殖, 促进 Cyclin D1 和 CDK4 的表达; 同时 ER- α 和 P-ERK5 的表达显著增加。成骨细胞孵育 MPP 抑制 ER- α 后, P-ERK5 的表达显著下降, Cyclin D1 和 CDK4 表达也显著降低。孵育 XMD8-92 抑制 ERK5 活性后, 流体剪切力促进成骨细胞中 Cyclin D1 和 CDK4 表达水平显著下降。**结论:**流体剪切力通过 ER- α -ERK5 信号通路上调 Cyclin D1 和 CDK4 的表达水平, 最终导致成骨 MC3T3-E1 细胞增殖。

【关键词】流体剪切力; MC3T3-E1 细胞; 细胞增殖; 细胞外信号调节激酶5; 雌激素受体 α ; 细胞周期蛋白; 细胞周期蛋白依赖性激酶

【中图分类号】 R35

【文献标志码】 A

【文章编号】 1005-202X(2017)03-0291-06

Proliferation of MC3T3-E1 cells promoted by fluid shear stress via ER- α -ERK5 signaling pathway

MENG Huiqiang^{1,2}, JIANG Jin^{1,2}, GUO Laiwei^{1,2}, XU Tian'en^{1,2}, DING Ning^{1,2}, XIA Yayi^{1,2}

1. Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu Key Laboratory of Orthopaedics, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To study on the effect of estrogen receptor-alpha (ER- α) on the activation of extracellular signal-regulated kinase 5 (ERK5) and the specific molecular mechanism of ER- α -ERK5 signaling pathway in the proliferation of osteoblasts promoted by fluid shear stress (FSS). **Methods** MC3T3-E1 cells were treated with specific ER- α antagonist MPP (methyl-piperidino-pyrazole, 1 $\mu\text{mol/L}$), highly selective ERK5 inhibitor XMD8-92 (5 $\mu\text{mol/L}$), and or loading FSS of 12 dyn/cm^2 . The proliferation activity of osteoblasts was detected by MTT assay, and the protein expression levels of ER- α , ERK5, phospho-ERK5 (P-ERK5), Cyclin D1 and cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) were detected by Western blotting. **Results** Physiological FSS (12 dyn/cm^2) exposure for 60 min promoted the proliferation of MC3T3-E1 cells significantly and increased the expression of Cyclin D1 and CDK4. Meanwhile, the expression of ER- α and P-ERK5 increased significantly. After being treated with ER- α antagonist MPP, the expression of P-ERK5 decreased significantly, so were the expression of Cyclin D1 and CDK4. After inhibiting the ERK5 activity by incubating with XMD8-92, the expression levels of Cyclin D1 and CDK4 in osteoblasts promoted by FSS were significantly decreased. **Conclusion** FSS up-regulates the expression levels of Cyclin D1 and CDK4 via ER- α -ERK5 signaling pathway, resulting in the proliferation of MC3T3-E1 cells.

Keywords: fluid shear stress; MC3T3-E1 cell; cell proliferation; extracellular signal-regulated kinase 5; estrogen receptor-alpha; Cyclin D1; cyclin-dependent kinase 4

【收稿日期】 2016-11-08

【基金项目】 国家自然科学基金(81450042, 81071478, 81672207); 甘肃省自然科学基金(1506RJZA240); 兰州市科技计划项目(2014-2-27)

【作者简介】 孟会强, 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 关节外科、细胞生物力学, E-mail: menghqy2014@163.com

【通信作者】 夏亚一, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 主要研究方向: 关节外科、生物材料、细胞生物力学, E-mail: xiayayi@126.com

引言

在骨重建和骨动态平衡的维持中,成骨细胞处于中心地位,成骨细胞增殖有利于骨重建和骨量维持^[1]。骨质疏松症是一种与年龄相关的全身性骨代谢障碍性疾病,好发于绝经后女性,与雌激素减少密切相关。雌激素受体 α (ER- α)是雌激素作用于成骨细胞的重要靶点,现已证实ER- α 既可以感受雌激素信号又可以感受流体剪切力(Fluid Shear Stress, FSS)信号。FSS可显著刺激成骨细胞增殖。细胞外信号调节激酶5(ERK5)是目前发现的丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)中的新型分子,是将细胞外信号传入细胞内的重要媒介。自1995年被发现以来,对其研究不断深入。研究表明ERK5是感受FSS的敏感分子之一,由外界的应力刺激而激活,有调节细胞增殖作用,FSS可通过ERK5信号通路显著促进成骨细胞增殖。本实验中,用自制的FSS加载装置(专利号:ZL201520637211.6)在体外对MC3T3-E1细胞施加12 dyn/cm²的FSS,同时在相应组别细胞加入特异性ER- α 抑制剂MPP、ERK5特异抑制剂XMD8-92,从而探讨FSS对成骨细胞增殖的影响,ER- α 和ERK5在这一过程中的作用及ER- α 和ERK5在信号通路的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

实验细胞:MC3T3-E1细胞(北京协和细胞中心,中国)。试剂:胰蛋白酶(Sigma公司,美国); α -MEM培养基(Hyclone公司,美国);胎牛血清(四季青,中国);青霉素-链霉素双抗(武汉博士德,中国);磷酸盐缓冲液PBS(中杉金桥,中国);MPP(Sigma,美国);XMD8-92(TOCRIS,美国);二甲基亚砜(DMSO)(Sigma,美国);MTT(Sigma,美国);RIPA强力细胞裂解液(碧云天生物技术有限公司,中国);鼠 β -actin一抗(Sigma,美国);兔ER- α 一抗(Sigma,美国);兔ERK5一抗(Bioworld,美国);兔抗p-ERK一抗(Cell Signaling Technology,美国);兔Cyclin D1一抗(Abcam,美国);兔CDK4一抗(Abcam,美国);山羊抗兔二抗(中杉金桥,中国);兔抗小鼠二抗(中杉金桥,中国)。实验用仪器:细胞培养箱(上海力申科学仪器有限公司,中国);平行平板流动小室(自制,实用新型专利号:ZL201520637211.6);FB-2精密蠕动泵(上海金达生化仪器有限公司,中国);垂直电泳仪(Bio-Rad,美国),电转仪(Bio-Rad,美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将MC3T3-E1细胞接种到无菌培养

瓶中,在温度37℃、CO₂饱和度5%的孵育箱中培养传代。用含10%胎牛血清、青霉素100 U/mL、链霉素100 U/mL的 α -MEM培养液培养,细胞每隔2~3 d换液1次,待细胞融合至80%~90%时,用0.25%胰酶消化,按 5×10^5 个细胞接种至25 cm²培养瓶中传代培养。

1.2.2 对细胞加载FSS 将细胞瓶内状态良好的MC3T3-E1细胞进行消化,并以 1×10^6 个细胞密度接种于20 mm \times 50 mm无菌盖玻片上,静置约1 h待细胞完全贴壁后加培养基继续培养。待细胞融合至80%~90%后,放置盖玻片到密闭加力小室中,组装层流流体小室,并将其连接到储液柱和蠕动泵上。向储液柱中加入200 mL预热(37℃)的 α -MEM基础培养基,以蠕动泵为动力,加载大小为12 dyn/cm²的FSS。在FSS时效试验时,分别加力0、5、15、30、45、60 min,在其他研究中加力60 min。按照干预措施不同分为6组:A组,空白组;B组,特异性ER- α 拮抗剂MPP组;C组,特异性ERK5抑制剂XMD8-92组;D组,FSS组;E组,MPP+FSS组;F组,XMD8-92+FSS组。

1.2.3 MTT法检测细胞增殖情况 为了测定各干预措施对成骨MC3T3-E1细胞增殖能力的影响,采用MTT法检测成骨MC3T3-E1细胞的增殖能力。每组设置5个复孔,按照每孔200 μ L(2×10^4 细胞密度)接种细胞悬液于96孔板。在不同时间点(0、24、36、72、96 h)加入20 μ L MTT溶液(5 mg/mL)孵育4 h,吸弃孔内培养上清液,每孔加150 μ L DMSO,在摇床上震荡10 min使结晶物充分溶解,选择490 nm波长,在酶联免疫检测仪上检测各孔的吸光度值(OD值)。

1.2.4 蛋白免疫印记实验分析 蛋白的表达采用化学裂解法提取不同干预措施处理后的各组细胞蛋白。将细胞用预冷(4℃)的PBS冲洗2~3遍,加入RIPA和PMSF的混合液(100:1比例混合),整个过程在冰上进行,每隔5 min震荡摇匀1次,裂解细胞20 min。然后用刮刀刮下,吸取所有液体离心:12 000 r/min,4℃,15 min,吸取上清,加1/3体积的蛋白上样缓冲液(4 \times),立即在沸水中煮沸5 min,然后放到-80℃冰箱冷藏备用。以 β -actin为内参。配制聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE凝胶),然后经过上样、电泳、电转、封闭、孵育一抗、洗膜、孵育二抗、洗膜、曝光等步骤可以得到相应的Western-blot条带图像。

1.3 统计学处理

每组实验均重复3次,所得实验数据用均数 \pm 标准差表示,采用SPSS 20.0软件进行统计学分析。本实验中所得均为计量资料,各组间比较采用单因素方差分析,方差齐时两组间比较采用LSD检验,方差

不齐则采用 Tamhane's T_2 检验。用 ImageJ 图像分析软件检测条带灰度值, 用 SigmaPlot 软件制作图表。

2 结果

2.1 FSS 对 MC3T3-E1 细胞增殖的影响

A、D 两组不同时间点的 OD 值见表 1。A 组为空白

对照组, D 组对 MC3T3-E1 细胞加载 12 dyn/cm² 的 FSS 60 min。无菌条件下培养, 在不同时间点进行 MTT 法检测细胞增殖活性, 除 0 h 时两组 OD 值无差异外 ($P>0.05$), 其余各时间点, D 组 OD 值均显著大于 A 组 ($P<0.001$)。OD 值反应的是细胞增殖情况, 这说明 FSS 促进了成骨 MC3T3-E1 细胞增殖。

表 1 A 组和 D 组不同时间点 OD 值比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.1 Comparison of OD value of group A and D at different time (Mean \pm SD)

Group	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
A	0.494 \pm 0.057	0.634 \pm 0.059	0.834 \pm 0.042	1.142 \pm 0.056	1.654 \pm 0.042
D	0.495 \pm 0.062	0.855 \pm 0.045***	1.260 \pm 0.0467***	1.669 \pm 0.058***	2.055 \pm 0.068***

Group A: Blank control; Group D: Fluid shear stress (FSS) group; OD: Optical density; *** $P<0.001$ vs group A.

2.2 MC3T3-E1 细胞孵育 MPP 或 XMD8-92 对 MC3T3-E1 细胞增殖活性的影响

A 组为空白对照组, B 组对成骨 MC3T3-E1 细胞孵育 MPP, C 组孵育 XMD8-92。除 0 h 时 A、B、C 组 OD 值无差异外 ($P>0.05$), 24、36、72、96 h 时两组 OD 值相比, B 组和 C 组均小于 A 组 ($P<0.001$, 表 2)。MPP 或 XMD8-92 抑制成骨 MC3T3-E1 细胞的增殖活性。

D 组仅对 MC3T3-E1 细胞加载 FSS, E 组和 F 组

除加载相同 FSS 外, 分别孵育了 ER- α 特异性抑制剂 MPP 和 ERK5 特异性抑制剂 XMD8-92, 可以看出 0 h 时 D、E、F 组 OD 值无显著差异 ($P>0.05$), 24、48、72、96 h 时 OD 值 E 组和 F 组均低于 D 组 ($P<0.001$, 表 3), 说明 MPP 和 XMD8-92 明显降低了 FSS 促进的 MC3T3-E1 细胞 OD 值的增加, 即阻断了 FSS 促进细胞增殖的作用。

表 2 A、B、C 组不同时间点 OD 值比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Comparison of OD value of group A, B, and C at different time (Mean \pm SD)

Group	0 h	48 h	24 h	72 h	96 h
A	0.464 \pm 0.040	0.952 \pm 0.072	0.691 \pm 0.078	1.136 \pm 0.057	1.310 \pm 0.079
B	0.464 \pm 0.046	0.623 \pm 0.046***	0.556 \pm 0.042***	0.915 \pm 0.087***	0.954 \pm 0.052***
C	0.464 \pm 0.049	0.637 \pm 0.047***	0.560 \pm 0.040***	0.952 \pm 0.084***	0.946 \pm 0.093***

Group B: Methyl-piperidino-pyrazole (MPP) group; Group C: XMD8-92 group; *** $P<0.001$ vs group A.

表 3 D、E、F 组不同时间点 OD 值比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Comparison of OD value of group D, E, and F at different time (Mean \pm SD)

Group	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
D	0.455 \pm 0.034	0.857 \pm 0.051	1.268 \pm 0.081	1.714 \pm 0.082	2.283 \pm 0.099
E	0.461 \pm 0.030	0.646 \pm 0.049***	0.658 \pm 0.048***	1.213 \pm 0.091***	1.297 \pm 0.081***
F	0.456 \pm 0.043	0.676 \pm 0.053***	0.697 \pm 0.091***	1.291 \pm 0.074***	1.337 \pm 0.121***

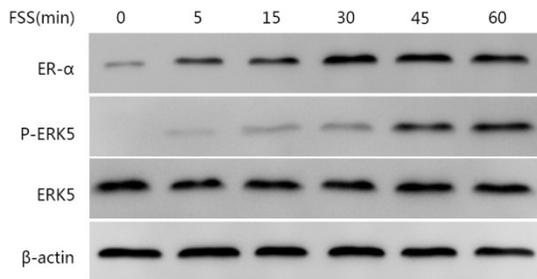
Group E: FSS+MPP group; Group F: FSS+XMD8-92 group; *** $P<0.001$ vs group D.

2.3 FSS 对 ER- α 和磷酸化-ERK5 (p-ERK5) 表达的影响

为检测 FSS 对 ER- α 和 ERK5 的影响, 对成骨 MC3T3-E1 细胞加载 12 dyn/cm² FSS 分别处理 0、5、

15、30、45、60 min, 采用蛋白免疫印记方法检测细胞 ER- α 和 p-ERK5 蛋白的变化情况。以 β -actin 为内参。如图 1~图 3 所示, 5 min 时 ER- α 开始上调, 差异

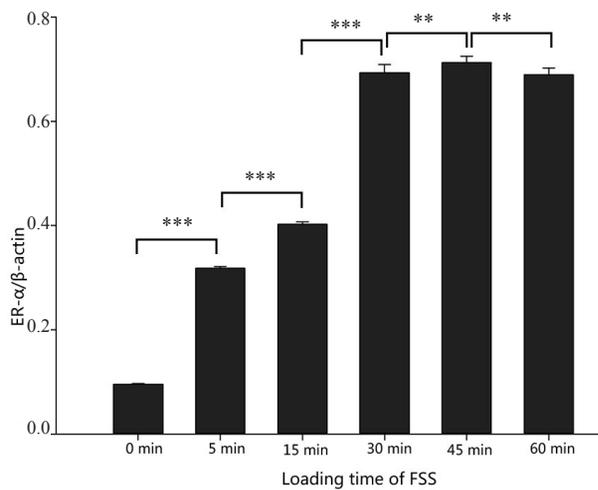
有统计学意义($P<0.001$),总体上随着FSS加载时间的延长其表达增加,在45 min时达到高峰,60 min与45 min相比已经开始降低,差异有统计学意义($P<0.01$);p-ERK5的表达量逐渐增加,p-ERK5占ERK5的比例也随之增加,这说明FSS促进了ER- α 的表达,同时也促进了ERK5的磷酸化(即ERK5的活化)。



ER- α : Estrogen receptor-alpha; ERK5: Extracellular signal-regulated kinase 5; p-ERK5: Phospho-ERK5

图1 Western blotting 检测FSS对ER- α 和p-ERK5表达的影响

Fig.1 Effect of FSS on the expression of ER- α and p-ERK5 detected by Western blotting



** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图2 FSS对ER- α 表达的影响

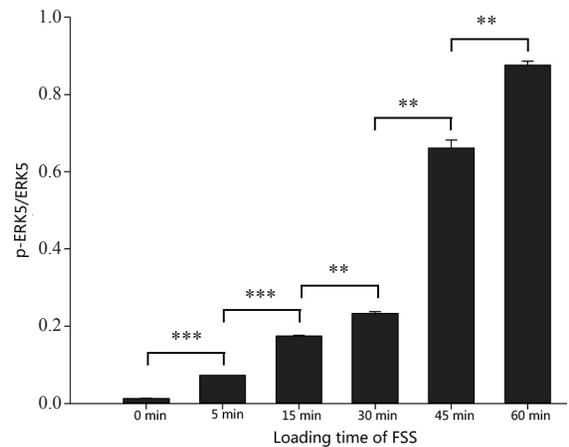
Fig.2 Effect of FSS on the expression of ER- α

2.4 孵育ER- α 特异性抑制剂MPP对p-ERK5的影响

在正常MC3T3-E1细胞和FSS处理过的MC3T3-E1细胞,ER- α 特异性抑制剂MPP处理均可以显著降低p-ERK5表达($P<0.001$,图4和图5),说明ER- α 对ERK5的磷酸化具有调节作用,可能在信号传导通路中ER- α 是ERK5的上游分子。

2.5 MPP或XMD8-92及FSS对Cyclin D1和CDK4表达的影响

孵育ER- α 特异性抑制剂MPP或ERK5特异性抑



** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图3 FSS对p-ERK5表达的影响

Fig.3 Effect of FSS on the expression of p-ERK5

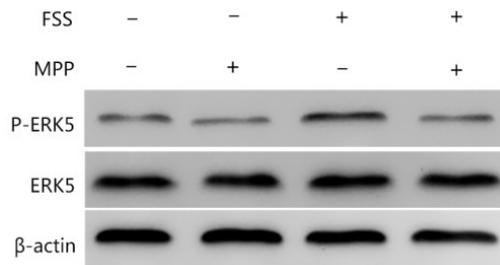
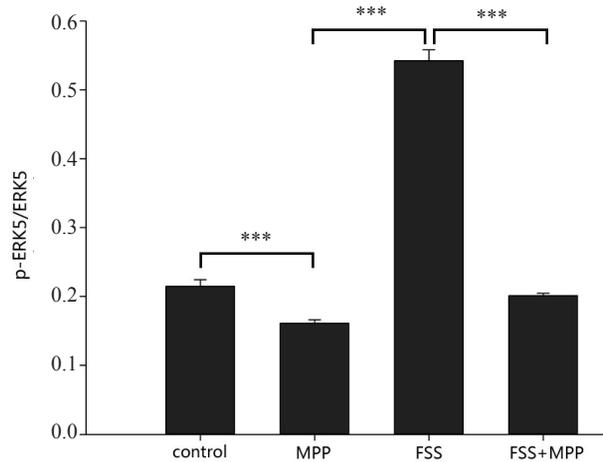


图4 Western blotting 检测MPP对p-ERK5的影响

Fig.4 Effect of MPP on p-ERK5 detected by Western blotting

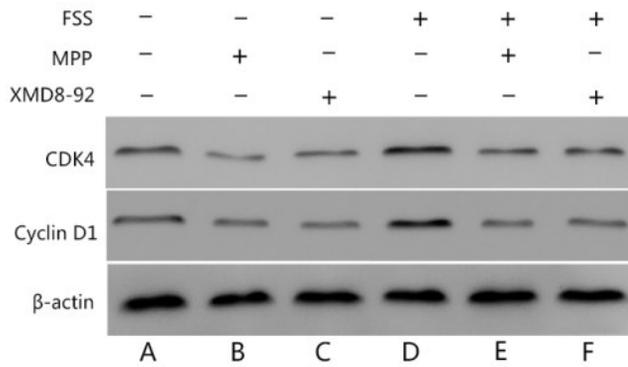


*** $P<0.001$

图5 MPP对p-ERK5的影响

Fig.5 Effect of MPP on p-ERK5

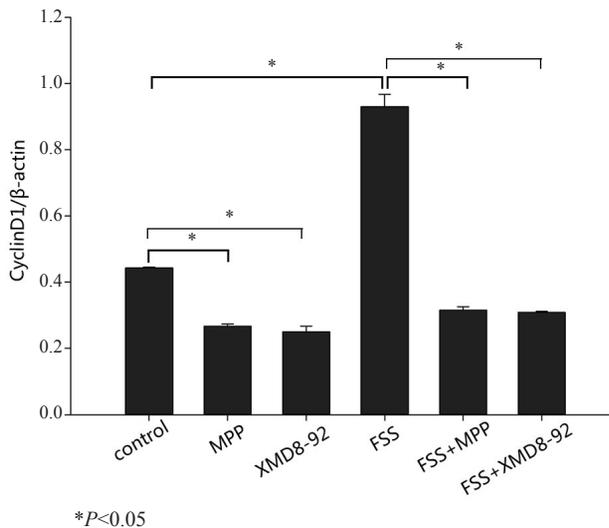
制剂XMD8-92,细胞周期蛋白Cyclin D1和细胞周期蛋白依赖性激酶CDK4的表达显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$,图6~图8);FSS能够显著促进Cyclin D1和CDK4的表达,而这种促进作用可以被MPP或XMD8-92所阻断,差异有统计学意义($P<0.01$,图6~图8)。



CDK4: Cyclin-dependent kinase 4

图6 Western blotting 检测 MPP 或 XMD8-92 及 FSS 对 Cyclin D1 和 CDK4 表达的影响

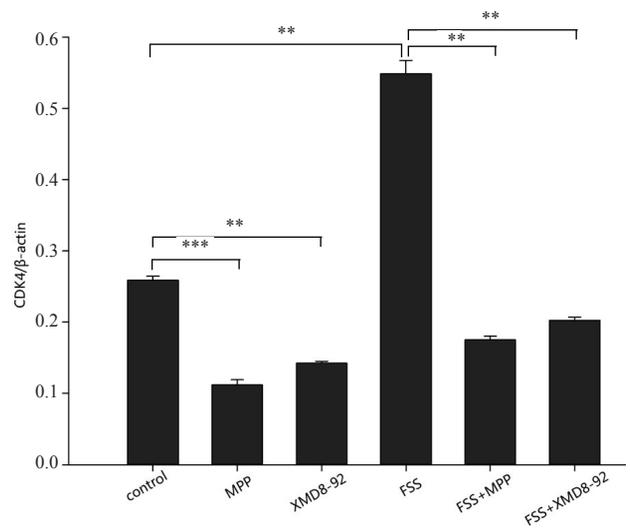
Fig.6 Effect of MPP, XMD8-92 and FSS on the expression of Cyclin D1 and CDK4 detected by Western blotting



* $P < 0.05$

图7 MPP 或 XMD8-92 及 FSS 对 Cyclin D1 表达的影响

Fig.7 Effect of MPP, XMD8-92 and FSS on the expression of Cyclin D1



** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

图8 MPP 或 XMD8-92 及 FSS 对 CDK4 表达的影响

Fig.8 Effect of MPP, XMD8-92 and FSS on the expression of CDK4

3 讨论

病人长期卧床及航天员长时间处于失重状态下, 将使其罹患骨质疏松的几率大大增加, 因为长期卧床或失重状态下失去机械应力刺激, 对其骨骼将产生不利影响, 机械应力对骨量的维持和骨骼机械性能的维持具有不可替代的作用^[1-2]。通常机体能感受到的机械应力有牵张应力、压应力、FSS 等^[3-5]。FSS 是一种广泛存在、研究较为充分的机械应力, 体内血液、淋巴液流动等都会对机体产生 FSS, 而在骨骼系统中, 组织间隙液体的流动会对骨组织细胞产生 FSS^[6-7]。骨组织细胞可以感受这种机械应力并发生一系列的信号转导^[2], 进而产生相应的生物学效应, 如促进成骨细胞增殖。骨平衡的维持和骨修复重建

主要靠成骨细胞和破骨细胞之间的动态平衡, 成骨细胞的增值在骨形成和重塑中起重要作用。大量研究表明生理性 FSS 能够显著促进成骨细胞增殖^[8-10]。

MAPK 家族是真核生物细胞内广泛存在的一类介导细胞反应的重要信号传导系统, 是最重要的细胞内应力相关信号传导分子之一^[11], 它受到很多信号分子刺激后发生磷酸化而活化, 活化的 MAPK 参与细胞增殖、分化、迁移、凋亡及应激反应等生理过程^[12]。MAPK 家族主要包括 ERK1/2、JNK、P38 以及 ERK5^[13]。ERK5 是该家族中近些年被发现的一个新成员^[6, 14-15]。本实验室前期研究发现, ERK5 在 FSS 调节的成骨细胞增殖中发挥重要作用, 然而 FSS 通过激活 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖的具体机制还不十分清楚。

ER 水平下降与骨质疏松发生发展关系密切。激

素替代治疗是绝经后骨质疏松的重要治疗方案,而ER- α 除能感受ER对成骨细胞产生一系列影响外,还能感受机械应力(包括FSS)的刺激^[16],从而发挥一系列生物学效应,如促进成骨细胞增殖。

本研究结果表明,12 dyn/cm²的FSS能够促进成功细胞增殖,促进ER- α 表达以及ERK5的磷酸化,二者均与成骨细胞增殖有关,而p-ERK5才是ERK5发挥生物学活性的有效形式。FSS同时促进了细胞周期蛋白Cyclin D1和细胞周期蛋白依赖性激酶CDK4的表达,进一步验证了FSS促进成骨细胞增殖作用。

MC3T3-E1细胞孵育ER- α 特异性抑制剂MPP或ERK5特异性抑制剂XMD8-92后减弱了FSS促进MC3T3-E1细胞增殖的作用,同时使Cyclin D1和CDK4的表达降低,说明ER- α 和ERK5在FSS促进MC3T3-E1细胞增殖过程中起着重要作用;MPP抑制ER- α 后,FSS促进p-ERK5表达的作用减弱,说明MPP阻断了FSS对ERK5的活化作用,即ER- α 的存在在FSS激活ERK5促进成骨细胞增殖过程中是必要的,ER- α 在力学信号传导通路中是ERK5的上游分子。

综上所述,ER- α 在FSS激活ERK5的过程中起重要作用;ER- α -ERK5信号通路介导FSS促进MC3T3-E1细胞增殖。本研究结果为骨质疏松药物研制提供了新靶点,但ER- α -ERK5信号通路相对复杂,有待进一步研究,信号通路中ER- α 和ERK5的上下游分子有待进一步探索和完善。

【参考文献】

- [1] 郭来威,许田恩,孟会强,等.机械应力对成骨细胞影响的研究进展[J].中国医学物理学杂志,2015,32(6):785-789.
GUO L W, XU T E, MENG H Q, et al. Effects of mechanical stress on osteoblasts [J]. Chinese Journal of Medical Physics, 2015, 32 (6): 785-789.
- [2] KIM C H, YOO Y M. Fluid shear stress and melatonin in combination activate anabolic proteins in MC3T3-E1 osteoblast cells [J]. J Pineal Res, 2013, 54(4): 453-461.
- [3] 李欣,刘珩,孙惠强.机械应力作用下的成骨细胞及其早期反应调节[J].国际口腔医学杂志,2013,40(4):550-552.
LI X, LIU H, SUN H Q, et al. Osteoblast and the regulations of early responses to stress [J]. International Journal of Stomatology, 2013, 40(4): 550-552.
- [4] 张超,夏亚一,李鹏.流体剪切力对MC3T3-E1细胞OPG、RANKL蛋白表达的实验研究[J].中国微创外科杂志,2010,10(9):840-844.
ZHANG C, XIA Y Y, LI P, et al. Effect of fluid shear stress on the protein expression of OPG and RANKL in MC3T3-E1 cells [J]. Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery, 2010, 10(9): 840-844.
- [5] WANG H, YOUNG S R, GERARD-O'RILEY R, et al. Blockade of TNFR1 signaling: role of oscillatory fluid shear stress in osteoblasts [J]. J Cell Physiol, 2011, 226(4): 1044-1051.
- [6] 董海涛,盛晓赞,李鹏,等.周期性流体剪切力对成骨细胞增殖影响机制的实验研究[J].中国矫形外科杂志,2012,20(3):255-258.
DONG H T, SHENG X Y, LI P, et al. Experimental study on the effects of cyclic fluid shear stress on osteoblast proliferation and its mechanism [J]. Orthopedic Journal of China, 2012, 20(3): 255-258.
- [7] HA C H, KIM S, CHUNG J, et al. Extracorporeal shock wave stimulates expression of the angiogenic genes via mechanosensory complex in endothelial cells: mimetic effect of fluid shear stress in endothelial cells [J]. Int J Cardiol, 2013, 168(4): 4168-4177.
- [8] 王常德,夏亚一.流体剪切力对成骨细胞影响的研究进展[J].临床骨科杂志,2009,12(3):339-342.
WANG C D, XIA Y Y. The research progress of the fluid shear stress on the osteoblast cell [J]. Journal of Clinical Orthopaedics, 2009, 12(3): 339-342.
- [9] BO Z, BIN G, JING W, et al. Fluid shear stress promotes osteoblast proliferation via the galphaq-ERK5 signaling pathway [J]. Connect Tissue Res, 2016, 54(7): 299-306.
- [10] LI P, MA Y C, SHENG X Y, et al. Cyclic fluid shear stress promotes osteoblastic cells proliferation through ERK5 signaling pathway [J]. Mol Cell Biochem, 2012, 364(1-2): 321-327.
- [11] WANG Z, ZHANG J, LI B, et al. Resveratrol ameliorates low shear stress induced oxidative stress by suppressing ERK/ENOSTHR495 in endothelial cells [J]. Mol Med Rep, 2014, 10(4): 1964-1972.
- [12] CARRISOZA-GAYTAN R, LIU Y, FLORES D, et al. Effects of biomechanical forces on signaling in the cortical collecting duct (CCD) [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 307(2): F195-F204.
- [13] IWATSUKI M, MATSUOKA M. Fluoride-induced c-fos expression in MC3T3-E1 osteoblastic cells [J]. Toxicol Mech Methods, 2016, 26(2): 132-138.
- [14] 程群,朱汉民,甘洁民,等.ERK5调节成骨细胞功能的研究[J].中国骨质疏松杂志,2008,14(12):845-848.
CHENG Q, ZHU H M, GAN J M, et al. Study of ERK5 regulating osteoblast function [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2008, 14 (12): 845-848.
- [15] ZHAO Z, GENG J, GE Z, et al. Activation of ERK5 in angiotensin II-induced hypertrophy of human aortic smooth muscle cells [J]. Mol Cell Biochem, 2009, 322(1-2): 171-178.
- [16] YURDAGUL A J, KLEINEDLER J J, MCINNIS M C, et al. Resveratrol promotes endothelial cell wound healing under laminar shear stress through an estrogen receptor-alpha-dependent pathway [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2014, 306(6): H797-H806.

(编辑:黄开颜)