

RASSF6 与肿瘤研究进展 *

温玉刚 王 权 彭志海[△]

(上海交通大学附属第一人民医院普外科 上海 200080)

摘要 RAS 相关结构域家族(Ras Association Domain Family, RASSFs)由 10 个成员组成,参与不同的细胞内机制如凋亡、细胞周期控制、微管稳定性等,一些家族成员表现出肿瘤抑制功能。目前发现 RASSF6 在肺癌、宫颈癌等实体瘤中表达下调,可能与肿瘤形成有关,并可作为肿瘤治疗的潜在靶点。本文就 RASSF6 与肿瘤的研究进展进行综述。

关键词 RASSF6 恶性肿瘤 抑癌基因

中图分类号 R730.231 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2011)13-2590-04

Advancement of RASSF6 and Malignant Tumors*

WEN Yu-gang, WANG Quan, PENG Zhi-hai[△]

(Shanghai First People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China)

ABSTRACT: The RAS-association domain family (RASSFs), as a new Ras effector, consistant of 10 members. Some of the family members are thought to function as tumor suppressors for they have been shown to have a diverse range of functions including cell cycle regulation and the regulation of microtubule stability in addition to roles in the control of apoptosis and proliferation. RASSF6 expression was reduced in lung cancer, cervical cancer and might relate to tumorigenesis. Furthermore, it might be a potential target for tumor therapy. Here we review the current research progress on RASSFs, especially on RASSF6.

Key words: RASSF6; Malignant tumor; Tumor suppressor gene

Chinese Library Classification(CLC): R730.231 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2011)13-2590-04

前言

自 2000 年 Dammann 等^[1]采用酵母双杂交方法筛选、鉴定出一个与 DNA 剪切修复蛋白 XPA 相互作用的含有 RA 结构域的基因并命名为 RASSF1 以来,陆续有新的家族成员被鉴定出。该家族被命名为 RAS 相关结构域家族(Ras Association Domain Family, RASSFs),作为 RAS GTP 酶超家族的下游效应物之一,参与细胞凋亡、细胞周期控制、微管稳定性等细胞内机制,一些家族成员表现出肿瘤抑制功能^[2,3]。本文就相关进展进行综述。

1 RASSFs 概述

1.1 RASSFs 组成及分子特征

RASSFs 包括 10 个家族成员, RASSF1~RASSF10。RASSF1~6 含 C-末端 RAS 相关(RA,又称 RalGDS/AF6)结构域和一个 Sav/RASSF/Hpo(SARAH)结构域, RASSF7~10 含 N-末端 RA 结构域,因而得名^[2]。RA 结构域介导与 RAS 及其它小分子 GTP 酶相互作用, SARAH 结构域介导诱导细胞周期阻滞和凋亡的决定性通路中的蛋白-蛋白相互作用^[3]。RASSF1 位于染色体 3p21.3,含 8 个外显子,11 kb 大小,通过不同的启动子和剪切位点可产生 7 个异构体(RASSF1A~G),其中

RASSF1A 和 RASSF1C 广泛表达于正常组织,是最主要的 2 种异构体^[1,4]。RASSF2 位于染色体 20p13,有 3 个异构体(RASSF2A~C),仅 RASSF2A 含 5'CpG 岛和预示的启动子区域,可被转录、翻译;其 RA 结构域与 RASSF1A 28%同源^[5]。RASSF3 位于染色体 12q14.1,可因外显子的不同剪切产生 3 个转录本(RASSF3A,3B 和 3C),仅 RASSF3A 有文献报道^[6],其 RA、SARAH 结构域与 RASSF1A、1C C-末端有 44%一致性(59%同源性),N-末端蛋白序列与 RASSF1A 无相似性但与 RASSF1C N-末端共享高度同源性,这些蛋白 N-末端保守序列的性质尚不明。RASSF4 位于染色体 10p11.21,有多个转录本(RASSF4A~F,且预测有新的变体),仅 RASSF4A 有文献报道^[7],与 RASSF2 有 60%同源性,缺乏 RASSF1A 含有的富含半胱氨酸结构域,但跟其它家族成员一样含有 C-末端 RA、SARAH 结构域。RASSF5,又称 NORE1,位于染色体 1q32.1,与 RASSF1 同源性(50%蛋白序列一致),有数个异构体,其中 NORE1A、NORE1B 与 RASSF1 的两个主要异构体 RASSF1A 和 RASSF1C 结构同源,仅 N-末端各异^[6]。RASSF6 位于 4q13.3,含 13 个外显子,有 3 个转录本(RASSF6A~RASSF6C);与 RASSF6A 相比, RASSF6B N-末端多 32 个氨基酸,而 RASSF6C N-末端与 RASSF6A 和 6B 均不同^[8,9]。RASSF7 位于 11p15.5, H-RAS1 基因上游 32 kb 范围内,最初

* 基金项目:上海市科委基础研究重点项目(09JC1412400),上海市科委医学引导项目(10411967300)

作者简介:温玉刚(1973-)男,博士研究生,主要研究方向:胃肠道肿瘤分子机制。电话:021-63240090,

E-mail:wenyg1502@yahoo.cn

△通讯作者:彭志海 E-mail:pengpzh@hotmail.com

(收稿日期:2010-12-27 接受日期:2011-01-21)

命名为 HRC1/C11ORF13, 有 3 个异构体 RASSF7A、RASSF7B 和 RASSF7C, 主要差异在 C- 末端, N- 末端均含一个 RA 结构域, 尽管不清楚它们是否直接结合 Ras^[10] 与 RASSF1-6 家族成员不同, RASSF7 不含 SARAH 结构域。RASSF8 位于染色体 12p12.3, 邻近 KRAS2 基因 (相距 70.8 kb), 又称 HoJ-1、C12ORF2, 有 7 个转录本 (绝大多数仍有待实验证实), RASSF8A 和 RASSF8B 仅 C- 末端不同, 与 RASSF7A - C 类似, 也含一个 N- 末端 RA 结构域, 是否直接结合 Ras 尚不清楚, RASSF8C - E 是 RASSF8A 和 8B 的截短体, 仅含 RA 结构域, RASSF8F、RASSF8G 与 RASSF8A、8B 利用不同的外显子, 分别产生非常短小的仅含 24 个、40 个氨基酸的蛋白, 不含可识别的功能结构域, 其作用不清, RASSF8 各异构体也不含 SARAH 结构域^[11]。RASSF9 位于 12q21.31, RASSF10 位于 11p15.2 均含有 N- 末端 RA 结构域但不含 SARAH 结构域^[12]。

1.2 RASSFs 功能

RASSFs 参与不同的细胞内机制包括调节凋亡和增殖、细胞周期控制、调控微管稳定性等, 尽管其根本机制尚不清楚。一些家族成员表现出肿瘤抑制功能, 其中 RASSF1 研究较多。

1.2.1 RASSF1 RASSF1A 在超过 40 种散发性人类肿瘤中失活, 提示其在肿瘤预防中起重要作用, 不同肿瘤细胞系 (如非小细胞肺癌、前列腺癌、胶质瘤等) RASSF1A 过表达则可导致细胞活力下降、生长抑制、侵袭性降低, 体内外研究均表现为致瘤性显著降低^[4,13]。据报道, RASSF1 可调控凋亡和基因组不稳定性, 在细胞周期 / 有丝分裂过程中调节微管动力学, 并在控制一系列重要细胞功能的信号通路的整合中起重要作用^[2]。RASSF1A 还可调控肿瘤细胞迁移、粘附, 转染后过表达 RASSF1A 的 A549 非小细胞肺癌细胞迁移能力显著降低, 细胞 - 细胞粘附能力增强, 而敲除 RASSF1A 基因的裸鼠胚胎纤维母细胞和 RASSF1A 缺失的 Hela 细胞则丧失细胞间粘附能力, 迁移能力增强^[14]。

1.2.2 RASSF2 RASSF2 通过 RA 结构域以 GTP 依赖模式直接结合 K-RAS, 过表达 RASSF2 的人肺癌 A549 细胞和 RKO 结肠癌细胞生长受到明显抑制^[15]。RASSF2 介导的生长抑制机制包括凋亡 (caspase-3 激活、FACS 分析和 TUNEL 实验证实)、细胞周期阻滞 (表达 RASSF2 的细胞表现为 G2/M 期细胞减少 20 %, 提示细胞倾向于阻滞于 G0/G1 期)。

1.2.3 RASSF4 RASSF4 过表达可诱导 293-T 细胞死亡, 并可被激活的 K-RAS 增强; 其诱导细胞死亡是通过激活 caspases, 从而促进细胞凋亡。过表达的 RASSF4 还可抑制 MCF-7 乳腺癌细胞和 A549 肺癌细胞克隆形成^[7]。

1.2.4 RASSF5 重新导入 RASSF5A 或 RASSF5B 可抑制 RASSF5 缺陷的 A549 肺癌细胞和 G361 黑色素瘤细胞生长, 但对 RASSF5 缺陷的 NCI-H460 肺癌细胞和 M14 黑色素瘤细胞的克隆形成则没有影响, 其具体机制目前尚不清楚^[16]。另有研究表明瞬时表达的 RASSF5 可诱导 293T 细胞和 PC12 兔嗜铬细胞瘤细胞凋亡, RASSF5 可通过 SARAH 结构域结合促凋亡蛋白激酶 MST1, 二者结合后表现出更强的促凋亡效应^[17]。

1.2.5 RASSF8 Favella 等^[11]发现与正常肺组织相比, 肺癌组织中 RASSF8A 转录物丰度降低; 另外, 与转染空载体细胞相比, 转染 RASSF8A 的 A549 肺癌细胞在软琼脂中非停泊性生

长显著受抑, 提示该基因可能在肿瘤生长中起负性调控作用。

RASSF3、RASSF7、RASSF9、RASSF10 功能目前尚不明确, RASSF6 功能详见下文。

1.3 RASSFs 失活机制

1.3.1 启动子甲基化 DNA 甲基化导致基因沉默是人类肿瘤的一种普遍现象, 在一些抑癌基因功能丢失中起非常重要的作用^[18]。RASSF1A 甲基化是人类肿瘤中最常见的事件之一, 至少见于 37 种肿瘤类型, 包括膀胱癌、胶质母细胞瘤、乳腺癌、宫颈癌、胃癌、结肠癌、食道癌、肺癌等^[19,20]。RASSF1A 启动子甲基化可见于乳腺上皮细胞增生、导管内乳头状瘤以及癌变上皮细胞, 提示 RASSF1A 甲基化是乳腺癌形成过程中的早期事件; RASSF1A 甲基化也是甲状腺癌变、子宫内膜癌变的早期事件^[21]。鉴于 RASSF1A 启动子甲基化是肿瘤形成的早期的、常见的分子事件, 故可能做为癌症筛查的诊断标记物。70 % 的原发性结直肠癌可观察到 RASSF2 启动子甲基化, 这种甲基化是肿瘤特异性的, 配对的正常粘膜 DNA 则未检出; 且 RASSF2 启动子甲基化在所有 RASSFs 基因中发生频率最高。RASSF2A 启动子甲基化在结直肠癌腺瘤中占较高比例, 配对的正常粘膜 DNA 则未检出, 提示 RASSF2A 启动子甲基化可能是结直肠癌变发展的早期事件^[5,15]。RASSF2A 启动子甲基化还可见于肺癌细胞株和原发性非小细胞肺癌^[22], 也是胃癌、鼻咽癌中的常见事件, 且与淋巴结转移正相关^[23,24]。RASSF4 CpG 岛过度甲基化常见于乳腺癌细胞、肺癌细胞、结直肠癌细胞、肾癌细胞及原发性肺癌和乳腺癌组织, 而正常组织则未检测到甲基化^[7]。A549 和 H345 肺癌细胞株中存在 RASSF5 启动子甲基化, 用去甲基化药物 5-乙酰唑胺 -2- 脱氧胞苷处理后 RASSF5 表达增加, 证实肺癌细胞 RASSF5 表达下调的机制是甲基化所致的启动子沉默而不是乙酰化或基因缺失。RASSF5 启动子甲基化还可见于乳腺癌、肾癌细胞株及原发性肿瘤。RASSF5A 异常甲基化仅见于预后不佳的肝细胞癌, 提示其可能参与肝细胞癌进展^[25]; RASSF5B 启动子甲基化则发生于 62 % 的肝细胞癌组织和肝细胞癌细胞株^[26]。

1.3.2 基因突变 RASSF1A 突变不常见, 在超过 200 例肺癌、乳腺癌、肾癌、鼻咽癌肿瘤样本和细胞株中仅检测到 1 例移码突变 (位于 RA 结构域 277 密码子), 1 例错义突变 (位于 RA 结构域 201 密码子)^[14,27]。RASSF4 编码序列测定未检出潜在的失活突变^[7]。染色体 1q32.1-2 区带 RASSF5 基因附近缺失或突变除了肾集合尿管癌 (一种起源于远侧肾单位的罕见恶性肿瘤) 检测到外, 在其它人类肿瘤中并不常见^[28]。

RASSF3、RASSF7、RASSF8、RASSF9、RASSF10 失活机制目前尚不明确。

2 RASSF6 的分子生物学特征

RASSF6 位于 4q13.3, 含 13 个外显子, 有 3 个转录本 (RASSF6A~RASSF6C), 与 RASSF6A 相比, RASSF6B N- 末端多 32 个氨基酸, 而 RASSF6C N- 末端与 RASSF6A 和 6B 均不同^[2], 但 3 个异构体均含 RASSF 家族特征性的保守的 RA 和 SARAH 结构域。RASSF6 的 RA 结构域与 RASSF1A 30 % 同一性, 与 RASSF2 和 RASSF4 则接近 50 % 同一性, 而其 SARAH 结构域与其它家族成员同源性较低 (与 RASSF2 和 RASSF4 同

一性约 40 % ,与 RASSF1A 和 NORE1 同一性约 20 %)^[8]。尽管象 RASSF1 一样拥有 RA 结构域,但 RASSF6 是否直接或间接结合 Ras 蛋白尚存争议^[23]。Allen 等^[9]报道 RASSF6 以 GTP 依赖模式直接与 K-Ras 相互作用,且亲和力与其它已知的 Ras 效应物类似,而 Ikeda 等^[8]研究发现在 NORE1 结合 Ras 蛋白的条件下 RASSF6 并不结合 K-Ras、H-Ras、N-Ras、M-Ras 或 TC21。

3 RASSF6 与肿瘤

RASSF6 转录本可在 HeLa、MCF-7、U373、A549、HepG2 等细胞株中检测到,但在 30-60 %原发性乳腺癌、结肠癌、肾癌、肝癌、胰腺癌、胃癌、甲状腺癌组织中表达减少^[8,9],然而仅在 1/7 的肿瘤细胞株中证实存在部分启动子甲基化;鉴于有报道 4q21.21 区带在肿瘤发展过程中发生缺失,因而推测原发性肿瘤中 RASSF6 失表达机制可能包括基因缺失和表观遗传学沉默^[9]。Hesson 等^[29]则发现与实体瘤不同,RASSF6 在 94 %的儿童 B-ALL 和 41 %的 T-ALL 中存在甲基化。事实上,一些生物信息学项目预测了 RASSF6 启动子 CpG 岛定位,另外一些研究则未在 RASSF6 外显子近端发现 CpG 岛^[30],因此其下调机制可能与其它家族成员不同,有待进一步研究明确。

RASSF6 在一系列癌株中抑制生长、促进凋亡,可能在肿瘤形成中起作用^[8,9]。过表达 RASSF6 可抑制 MCF-7 人乳腺癌细胞生长,对 A549 肺癌细胞生长和生存也有抑制作用,但对人肺癌细胞株 H1299 生长则无影响^[9]。RASSFs 与原癌基因 Ras 家族相互作用,作为负性 Ras 效应物对抗癌症进展的角色支持将它们归类为抑癌基因。突变的 Ras 蛋白在超过 30 %的人类肿瘤发生发展过程中起至关重要的作用,但激活的 Ras 蛋白也有生长抑制功能^[2,3]。RASSF1、2、4、5 作为下游靶基因与 Ras 相互作用已有较多报道,但 RASSF6 与 Ras 结合与否则需进一步研究,因为已有的报道互相矛盾^[5]。Allen 等^[9]研究发现外源性表达的 RASSF6 促进凋亡,与活化的 K-Ras 协同诱导细胞死亡、抑制 NF- κ B 通路、抑制特异肿瘤细胞株的生存、抑制 RASSF6 则增强了人类肺肿瘤细胞株的致瘤表型。另外,RASSF6 可与 MOAP-1(凋亡调节器-1)免疫共沉淀,这种结合可被激活的 K-Ras 增强,提示这可能是 Ras 激活 RASSF6 预凋亡效应的机制。Ikeda 等^[8]发现在 MCF-7 细胞和人宫颈癌 Hela 细胞中过表达 RASSF6 可活化 Bax,诱导细胞色素 C 释放,激活 caspase 依赖和非依赖的通路引起凋亡,该过程并不需要 K-Ras 参与,在 Hela 细胞中敲除 RASSF6 也能部分阻止 TNF- α 诱导的细胞死亡。大量证据表明 RASSF6 在肿瘤形成和调节凋亡中起作用,SiRNA 介导敲除 RASSF6 增强了 H1792 非小细胞肺癌细胞株软琼脂致瘤性生长能力,而 RASSF6 过表达则在一系列癌株中降低了肿瘤生长,RASSF6 的生长抑制特性主要是诱导凋亡的结果^[8,9,29]。

4 小结

综上所述,RASSF 家族参与细胞凋亡、细胞周期控制、微管稳定性等细胞内机制,在肿瘤发生发展过程中起重要作用。RASSF6 在实体瘤中可能具有抗增殖、诱导细胞周期阻滞、促分化等功能,因而在致瘤性转化过程中起作用。深入研究 RASSF6 及其与其他转录因子之间的交叉信号传导关系,对揭

示乳腺癌、子宫内膜癌、前列腺癌、胃肠道癌等疾病发生发展的分子机制具有重要意义,同时寻找鉴定新的抗肿瘤作用靶点以及对 RASSF6 配体的探索也将为开发更为特异的抗肿瘤药物提供理论依据,以期提高恶性肿瘤综合治疗效果、改善预后。

参考文献(References)

- [1] Dammann R, Li C, Yoon JH, et al. Epigenetic inactivation of a RAS association domain family protein from the lung tumour suppressor locus 3p21.3 [J]. Nat Genet, 2000, 25(3):315-319
- [2] Weyden LVD, Adams DJ. The Ras-association domain family (RASSF) members and their role in human tumorigenesis [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1776(1): 58-85
- [3] Richter AM, Pfeifer GP, Dammann RH. The RASSF proteins in cancer; from epigenetic silencing to functional characterization [J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1796(2): 114-128
- [4] Burbee DG, Forgacs E, Muller SZ, et al. Epigenetic inactivation of RASSF1A in lung and breast cancers and malignant phenotype suppression [J]. J Natl Cancer Inst, 2001, 93(9): 691-699
- [5] Hesson LB, Wilson R, Morton D, et al. CpG island promoter hypermethylation of a novel Ras-effector gene RASSF2A is an early event in colon carcinogenesis and correlates inversely with K-ras mutations [J]. Oncogene, 2005, 24(24): 3987-3994
- [6] Tommasi S, Dammann R, Jin SG, et al. RASSF3 and NORE1: identification and cloning of two human homologues of the putative tumor suppressor gene RASSF1 [J]. Oncogene, 2002, 21(17): 2713-2720
- [7] Eckfeld K, Hesson L, Vos MD, et al. RASSF4/AD037 is a potential ras effector/tumor suppressor of the RASSF family [J]. Cancer Res, 2004, 64(23): 8688-8693
- [8] Ikeda M, Hirabayashi S, Fujiwara N, et al. Ras-association domain family protein 6 induces apoptosis via both caspase-dependent and caspase-independent pathways [J]. Exp Cell Res, 2007, 313(7): 1484-1495
- [9] Allen NP, Donniger H, Vos MD, et al. RASSF6 is a novel member of the RASSF family of tumor suppressors [J]. Oncogene, 2007, 26(42): 6203-6211
- [10] Wohlgemuth S, Kiel C, Kramer A, et al. Recognizing and defining true Ras binding domains I: biochemical analysis [J]. J Mol Biol, 2005, 348(3):741-758
- [11] Falvella FS, Manenti G, Spinola M, et al. Identification of RASSF8 as a candidate lung tumor suppressor gene [J]. Oncogene, 2006, 25(28):3934-3938
- [12] Sherwood V, Manbodi R, Sheppard C, et al. RASSF7 is a member of a new family of RAS association domain-containing proteins and is required for completing mitosis [J]. Mol Biol Cell, 2008, 19(4):1772-1782
- [13] Chow LS, Lo KW, Kwong J, et al. RASSF1A is a target tumor suppressor from 3p21.3 in nasopharyngeal carcinoma [J]. Int J Cancer, 2004, 109(6): 839-847
- [14] Dallol A, Agathangelou A, Tommasi S, et al. Involvement of the RASSF1A tumor suppressor gene in controlling cell migration [J]. Cancer Res, 2005, 65(17):7653-7659
- [15] Akino K, Toyota M, Suzuki H, et al. The Ras effector RASSF2 is a novel tumor-suppressor gene in human colorectal cancer [J]. Gastroenterology, 2005, 129(1): 156-169
- [16] Aoyama Y, Avruch J, Zhang XF. Nore1 inhibits tumor cell growth

- independent of Ras or the MST1/2 kinases [J]. *Oncogene*, 2004, 23 (19):3426-3433
- [17] Li J, El-Naggar A, Mao L. Promoter methylation of p16INK4a, RASSF1A, and DAPK is frequent in salivary adenoid cystic carcinoma [J]. *Cancer*, 2005, 104(4):771-776
- [18] Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer [J]. *Cell*, 2007, 128 (4):683-692
- [19] Hesson LB, Cooper WN, Latif F. The role of RASSF1A methylation in cancer [J]. *Dis Markers*, 2007, 23(1-2):73-87
- [20] Targosz HZ, Kunnev D, Hawthorn L, et al. Transformation of MCF-10A cells by random mutagenesis with frameshift mutagen ICR191: A model for identifying candidate breast-tumor suppressors [J]. *Mol Cancer*, 2008, 7:51
- [21] Pijnenborg J, Dam-de Veen G, Kisters N, et al. RASSF1A methylation and K-ras and B-raf mutations and recurrent endometrial cancer [J]. *Ann Oncol*, 2007, 18(3):491-497
- [22] Kaira K, Sunaga N, Tomizawa Y, et al. Epigenetic inactivation of the RAS-effector gene RASSF2 in lung cancers [J]. *Int J Oncol*, 2007, 31 (1):169-173
- [23] Endoh M, Tamura G, Honda T, et al. RASSF2, a potential tumour suppressor, is silenced by CpG island hypermethylation in gastric cancer [J]. *Br J Cancer*, 2005, 93(12):1395-1399
- [24] Zhang Z, Sun D, Van do N, et al. Inactivation of RASSF2A by promoter methylation correlates with lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2007, 120(1):32-38
- [25] Calvisi DF, Ladu S, Gorden A, et al. Ubiquitous activation of Ras and Jak/Stat pathways in human HCC [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130 (4):1117-1128
- [26] Macheiner D, Heller G, Kappel S, et al. NORE1B, a candidate tumor suppressor, is epigenetically silenced in human hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2006, 45(1):81-89
- [27] Dreijerink K, Braga E, Kuzmin I, et al. The candidate tumor suppressor gene, RASSF1A, from human chromosome 3p21.3 is involved in kidney tumorigenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(13): 7504-7509
- [28] Steiner G, Cairns P, Polascik TJ, et al. High-density mapping of chromosomal arm 1q in renal collecting duct carcinoma: region of minimal deletion at 1q32.1-32.2 [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(21): 5044-5046
- [29] Hesson LB, Dunwell TL, Cooper WN, et al. The novel RASSF6 and RASSF10 candidate tumor suppressor genes are frequently epigenetically inactivated in childhood leukaemias [J]. *Mol Cancer*, 2009, 8:42
- [30] Hubbard TJ, Aken BL, Beal K, et al. Ensembl 2007. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(Database issue): D610-D617

(上接第 2589 页)

- [30] 张海元,刘鲁川. 氧自由基与牙周炎关系研究进展 [J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2009, 19(1): 46-49
- Zhang Hai-yuan, Liu Lu-chuan. Progress on the relationship between oxygen-derived free radical and periodontitis [J]. *Chin J Conserv Dent*, 2009, 19(1): 46-49(In Chinese)
- [31] Ojaniemi M, Glumoff V, Harju K, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase is involved in Toll-like receptor 4-mediated cytokine expression in mouse macrophages [J]. *European journal of immunology*, 2003, 33(3): 597-605
- [32] Madrid LV, Wang CY, Guttridge DC, et al. Akt suppresses apoptosis by stimulating the transactivation potential of the RelA/p65 subunit of NF-kappaB [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(5): 1626-1638
- [33] Fortunato A, San Jose G, Moreno M, et al. Oxidative stress and vascular remodelling [J]. *Exp Physiol*, 2005, 90(4): 457-462
- [34] Ao L, Song Y, Fullerton D, et al. The interaction between myocardial depressant factors in endotoxemic cardiac dysfunction: role of TNF-alpha in TLR4-mediated ICAM-1 expression [J]. *Cytokine*, 2007, 38 (3): 124-129
- [35] Teles RP, Sakellari D, Konstantinidis A, et al. Application of the checkerboard immunoblotting technique to the quantification of host biomarkers in gingival crevicular fluid [J]. *J Periodontol*, 2009, 80 (3): 447-456
- [36] Vidal F, Figueredo CM, Cordovil I, et al. Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension [J]. *J Periodontol*, 2009, 80(5): 786-791
- [37] 刘冰,李淑娟,黄香河,等. 牙周炎大鼠血清和牙龈组织中白细胞介素-6 含量比较分析 [J]. *中国实用口腔杂志*, 2010, 3(2): 100-102
- Liu Bin, Li Shu-juan, Huang Xiang-he, et al. Comparative analysis of the levels of IL-6 in blood serum and gingival tissue of experimental periodontitis rats [J]. *Chin J Practical Stomatology*, 2010, 3 (2): 100-102(In Chinese)
- [38] Tomofuji T, Sanbe T, Ekuni D, et al. Oxidative damage of rat liver induced by ligature-induced periodontitis and chronic ethanol consumption [J]. *Arch Oral Biol*, 2008, 53(12): 1113-1118
- [39] 孔耀, 刘鲁川, 周霞, 等. 模拟高原缺氧对慢性牙周炎大鼠血清中 MMP-2 表达的影响 [J]. *第三军医大学学报*, 2010, (4): 324-326
- Kong Yao, Liu Lu-chuan, Zhou Xia, et al. Effect of simulated high altitude hypoxia on matrix metalloproteinase-2 expression in serum of rats with chronic periodontitis [J]. *Academiae Medicinae Militaris Tertiae*, 2010, (4): 324-326(In Chinese)
- [40] 高钰琪. 高原军事医学. [M]. 重庆, 重庆出版社, 2005:6-8
- Gao Yu-qi. *Military Medicine at plateau*, [M]. Chongqing, Chongqing Publishing Company, 2005:6-8