

· 基础研究 ·

复方斑蝥胶囊调控 RhoA/ROCK 信号通路抑制 MNNG 诱导的大鼠胃癌发生

廖山婴¹ 刘超² 王蓓蓓¹ 马娟¹ 沙卫红¹

摘要 **目的** 观察复方斑蝥胶囊对化学致癌剂 MNNG 诱导的大鼠胃癌组织中 RhoA/ROCK 信号通路的影响,探讨复方斑蝥胶囊防治胃癌的可能机制。**方法** 50 只 Wistar 大鼠,按随机数字表法分为空白对照组(空白组)10 只、模型组 20 只、复方斑蝥胶囊组 20 只。空白组予普通标准饲料喂养,自由饮用蒸馏水;模型组饮用含 N-甲基-N'-硝基-亚甲基胍(MNNG)100 mg/L 的蒸馏水 10 个月;复方斑蝥胶囊组除饮用含 MNNG 100 mg/L 蒸馏水和 10% NaCl 溶液灌胃外,并灌喂复方斑蝥胶囊(0.5 g/kg 生药量)1 次/日,给药 10 个月。比较各组动物胃癌发生率的差异,应用免疫组化及 Western blot 法检测胃癌组织 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1 α 蛋白表达。**结果** 空白组、模型组、复方斑蝥胶囊组胃癌的发生率分别为 0% (0/10)、70% (14/20) 和 30% (6/20),病理组织学证实为腺癌。与模型组比较,复方斑蝥胶囊组腺胃癌的发生率明显降低(30% vs.70%, $P=0.026$),肿瘤体积明显减小[(16.1 \pm 15.7) mm³ vs. (50.4 \pm 30.5) mm³, $P=0.004$],胃癌组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1 α 表达水平明显降低($P<0.05$)。**结论** 复方斑蝥胶囊能够降低 MNNG 诱导的大鼠胃腺癌发生率,其机制可能为抑制 RhoA/ROCK 信号通路及相关细胞因子的表达而影响胃癌的发生发展。

关键词 复方斑蝥胶囊; Ras 同源基因 A; Rho 激酶; 缺氧诱导因子; 磷脂酰肌醇(-3)激酶; 胃癌

Fufang Banmao Capsule Inhibited N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine Induced Gastric Carcinoma in Rats by Regulating RhoA/ROCK Signaling Pathway LIAO Shan-ying¹, LIU Chao², WANG Bei-bei¹, MA Juan¹, and SHA Wei-hong¹ 1 Department of Gastroenterology and Hepatology, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou (510080); 2 Department of Pathology, Guangdong Provincial People's Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), Guangzhou (510080)

ABSTRACT **Objective** To observe the effects of Fufang Banmao Capsule (FBC) on RhoA/ROCK signaling pathway in rats with gastric carcinoma induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), and to explore its possible mechanism. **Methods** Totally 50 male Wistar rats were randomly divided into the blank control group (abbreviated as the blank group, $n=10$), the model group ($n=20$), and FBC group ($n=20$). Rats in the blank group were fed with ordinary standard forage and drank distilled water. Rats in the model group drank distilled water containing 100 mg/L MNNG for 10 months. They were intragastrically administered with 1 mL 10% saturated NaCl solution once a week in the first 6 weeks. Rats in the FBC group were additionally intragastrically administered with FBC (0.5 g crude drugs/kg) based on the program for the model group, once daily for 10 successive months. The incidence of gastric carcinoma in each group and the expressions of RhoA, ROCK I, PI3K, and HIF-1 α in the gastric carcinoma tissues were detected by immunochemical stain (IHC) and Western blot. **Results** The incidence rates of gastric carcinoma were 0% (0/10), 70% (14/20), and 30% (6/20) in the blank group, the model group, and the FBC group, respectively. Adenocarcinoma was histopathologically poused. The incidence of gastric carcinoma and the mean tumor volume in the FBC group were signifi-

基金项目:广东省建设中医药强省科研课题(No. 20151016)

作者单位:1.广东省人民医院(广东医学科学院)消化内科(广州 510080);2.广东省人民医院(广东医学科学院)病理科(广州 510080)

通讯作者:廖山婴, Tel: 020-83827812, E-mail: docshanying@163.com

DOI:10.7661/j.cjim.20181031.321

cantly lower than those of the model group [30% vs.70%, $P=0.026$; $(16.1 \pm 15.7) \text{ mm}^3$ vs. $(50.4 \pm 30.5) \text{ mm}^3$, $P=0.004$]. And the expressions of RhoA, ROCK I, PI3K, and HIF-1 α in gastric cancer tissues were significantly decreased in the FBC group ($P<0.05$). Conclusions FBC could obviously reduce the incidence of MNNG induced gastric carcinoma rats. Its mechanism might be related to inhibiting the expressions of RhoA/ROCK signal pathways and their related cytokines.

KEYWORDS Fufang Banmao Capsule; RhoA; ROCK; HIF; PI3K; gastric carcinoma

胃癌是常见的恶性肿瘤之一,近年来胃癌患病率有逐年上升趋势,且发病日益年轻化,严重影响人民健康。目前胃癌的病因和发病机制尚未完全阐明,可能与遗传、环境、幽门螺杆菌及饮食等多种因素有关,临床一般采取手术、放疗、化疗、生物治疗、中药治疗以及综合治疗等方法^[1]。手术切除肿瘤仍是胃癌治疗最佳方法,但对于不可手术或术后复发、转移的晚期患者,尚缺乏有效的治疗方法。因此,深入了解胃癌的发生、发展机制,寻找新的治疗手段对胃癌患者临床治疗有极为重要的意义。前期研究表明 PPAR γ 等多种细胞因子基因多态性与胃癌的发生有关^[2],人胃癌组织中 PPAR γ 、PTEN、Akt、RhoA、ROCK I 存在异常表达且与胃癌的 TNM 分期、侵犯浆膜、淋巴结转移及远处转移密切相关^[3,4],动物实验结果显示,PPAR γ 配体 Rosiglitazone 能显著降低 N-甲基-N'-硝基-亚甲基胍 (N-methyl-N-nitro-N' nitrosoguanidine, MNNG) 诱导的大鼠腺胃癌发生率,其机制与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关^[5]。中西医结合治疗胃癌具有独特的优势,复方斑蝥胶囊是一种中药复方的抗肿瘤制剂,既能增强免疫,又有抗肿瘤的作用。一些研究已证实复方斑蝥胶囊联合化疗可以延长患者的中位生存期、改善患者的生活质量,但其抗肿瘤作用机制尚不明确^[6,7]。本研究采用复方斑蝥胶囊治疗 MNNG 诱导的大鼠腺胃癌,检测处理前后的大鼠腺胃癌组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、缺氧诱导因子-1 α (hypoxia induced factor-1 α , HIF-1 α) 表达,探讨 RhoA/ROCK 信号通路在胃癌发病过程中是否活化,以及 RhoA/ROCK 信号通路在复方斑蝥胶囊抗胃癌效应中的作用。

材料与方 法

1 动物 50 只 Wistar 大鼠,5 周龄,体重 60 ~ 80 g,雄性。由中山大学动物实验中心提供(动物合格证号 02A60),置于标准实验条件下 [室温 $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$;相对湿度 $(55 \pm 5)\%$;每 12 h 进行一次亮/暗循环] 用混合颗粒饲料饲养。本课题立项时已通过广东省人民医院伦理委员会审查 (No. 2015126A)。

2 药物 复方斑蝥胶囊:药物组成为斑蝥、刺五加、半枝莲、黄芪、女贞子、山茱萸、人参、三棱、莪术、熊胆粉、甘草,0.25 g/粒,西安仁仁药业有限公司生产(生产批号:010102)。

3 试剂 诱癌药物 MNNG,购自 Fleka 公司,纯度 $\geq 97\%$ (生产批号:M0527);NaCl 为分析纯(生产批号:20170711);RhoA 一抗(生产批号:Ab86297),ROCK I 一抗(生产批号:Ab97592),PI3K 一抗(生产批号:Ab151549),以上试剂均购自美国 Abcam 公司;HIF-1 α 一抗(生产批号:sc-53546),购自 Santa 公司;辣根过氧化物酶标记的 IgG 二抗(生产批号:RAB-0102),DAB 显色剂(生产批号:DAB-0031),Maxvision 试剂(生产批号:KIT-5001),以上试剂均购自福州迈新生物技术有限公司。

4 造模及分组 参照前期研究建立胃癌动物模型^[5],50 只 Wistar 大鼠适应性喂养 1 周之后,按随机数字表法分为空白组 10 只,模型组 20 只,复方斑蝥组 20 只。空白组自由饮用蒸馏水不做特殊处理,模型组自由饮用含 MNNG 100 mg/L 的蒸馏水,复方斑蝥组除饮用含 MNNG 100 mg/L 的蒸馏水外,并给予复方斑蝥胶囊 1 粒溶于蒸馏水 1 mL 灌胃,每日 1 次^[8]。实验前 6 周,模型组和复方斑蝥组大鼠每周 1 次用 10%NaCl 溶液 1 mL 灌胃。以上处理连续 10 个月,在第 12 个月处死动物。

5 动物处理 每周测量大鼠的体重,每天观察大鼠的活动情况,实验期间动物自行死亡者均予尸检,以确定死因。实验终点禁食 12 h,乙醚麻醉处死动物,打开腹腔、胸腔心脏取血。沿大弯切开胃,用生理盐水清洗干净,肉眼或解剖显微镜观察胃黏膜有无糜烂、溃疡、肿块等。留取空白组大鼠的胃组织、模型组和复方斑蝥组大鼠的胃肿瘤组织以及未发生肿瘤的大鼠胃组织,固定于 10% 甲醛及置液氮中,以供病理组织学及分子生物学检查。胃肿瘤测量长(L)、宽(W)、高(D),按公式 $V = L \times W \times D \times \pi/6$ 确定肿瘤体积。

6 病理组织学检查 标本置于 10% 中性甲醛中固定 24 ~ 72 h 后,常规石蜡包埋,切片厚度 4 ~

6 μm, HE 染色, 组织切片由广东省人民医院的病理科医师盲法阅片。

7 免疫组织化学染色 石蜡切片常规脱蜡至水, 每张切片滴加 50 μL 一抗 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1α, 一抗浓度分别为 RhoA 1:100, ROCK I 1:150, PI3K 1:200, HIF-1 1:250, 37 °C 孵育 1 h, PBS 冲洗, 滴加 50 μL 辣根过氧化物酶标记的 IgG 二抗, PBS 冲洗, 滴加 50 μL Maxvision 试剂, 室温下孵育 10 min; PBS 冲洗, 滴加 50 μL 新鲜配制的 DAB, 室温下孵育 10 min; 苏木精对比染色, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封固。DAB 显色阳性表达为棕色。每份标本随机选取 5 个高倍视野(200 ×), 采用 Image-pro Plus Version 6.0 软件进行图像分析, 结果以平均光密度(MOD)表示。

8 Western Blot 法检测 常规提取蛋白, 考马斯亮蓝 G-250 染色法进行蛋白定量。经 120 g/L 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 转膜, 5% 脱脂奶粉封固, 加入一抗抗体 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1α, 4 °C 过夜; 去一抗, PBS 冲洗 4 次, 再加入辣根过氧化物酶标记二抗, 室温孵育 2 h, 加入电化学发光试剂显影、定影。扫描成像, 计算各个条带的灰度值, 以累积吸光度(IA)比值表示表达量(目的蛋白条带/内参蛋白条带)。

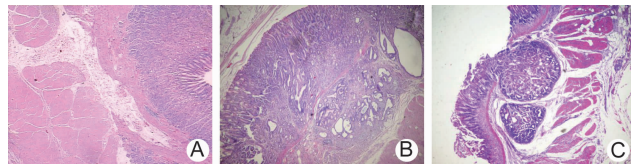
9 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件包进行统计学分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用双侧 *t* 检验, 计数资料及率的比较采用 χ^2 检验或精确概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 一般行为学观察 模型建构过程中, 各组未发生意外死亡情况。空白组大鼠被毛紧密贴身, 色白光泽, 尾色淡红, 两眼有神, 活动敏捷, 大便呈颗粒状。模型组和复方斑蝥组大鼠被毛松散蓬乱, 毛色偏黄无光泽, 尾色苍白, 眼珠无神, 可出现便溏现象。

2 各组大鼠肿瘤生长状况及 HE 染色(图 1) 空白组大鼠胃黏膜肉眼及镜下观察均未见明显病变。模型组和复方斑蝥组大鼠的胃癌大多发生在胃窦部小弯侧, 肉眼观呈隆起型或溃疡型肿物, 组织学类型均为腺癌, 以高分化腺癌为主, 极少数为中分化癌及低分化腺癌。镜下多侵入黏膜下层或肌层, 少数为黏膜内癌。空白组、模型组和复方斑蝥组大鼠胃癌的发生率分别为 0%(0/10)、70%(14/20)和 30%(6/20), 与模型组比较, 复方斑蝥组大鼠腺胃癌的发生率明显降低

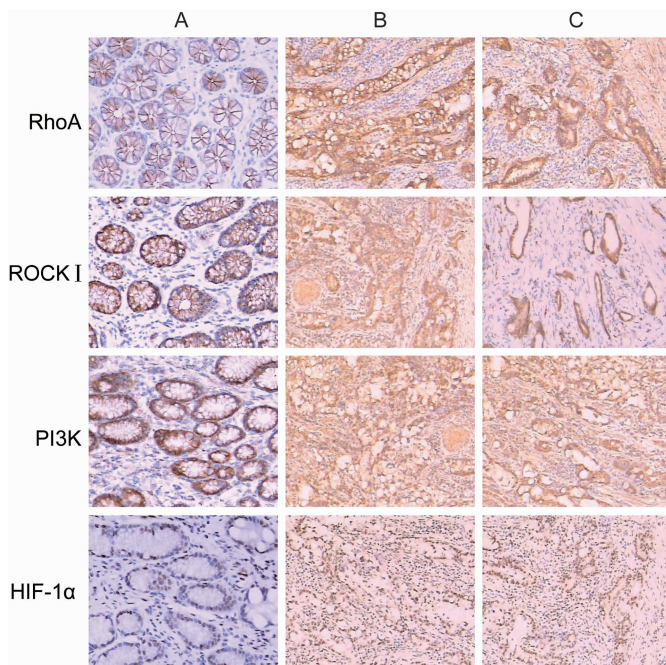
($P < 0.05$), 肿瘤体积明显减小[(16.1 ± 15.7) mm³ vs. (50.4 ± 30.5) mm³, $P < 0.05$]。



注:A 为空白组;B 为模型组;C 为复方斑蝥组

图 1 各组大鼠胃黏膜组织病理学比较 (×200)

3 各组大鼠正常胃组织及胃癌组织 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1α 的表达(图 2, 表 1、2) 模型组和复方斑蝥组大鼠胃癌组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1α 蛋白表达水平明显高于空白组大鼠的正常胃组织($P < 0.05$), 与模型组比较, 复方斑蝥组大鼠胃癌组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1α 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$)。



注:A 为空白组;B 为模型组;C 为复方斑蝥组

图 2 各组大鼠正常胃组织及胃癌组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1α 蛋白的表达 (免疫组化, ×200)

讨 论

10 号染色体缺失张力蛋白同源的磷酸酶基因 (phosphatase and tensin homology deleted on chromosome 10, PTEN)-磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K)-Akt 信号转导通路是细胞增殖和凋亡最为密切的通路之一, 与多种肿瘤的发病及预后密切相关^[9]。其作用机制可能是

表 1 免疫组化法检测各组大鼠正常胃组织及胃癌组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1 α 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RhoA	ROCK I	PI3K	HIF-1 α
空白	10	0.019 \pm 0.007	0.024 \pm 0.005	0.020 \pm 0.007	0.030 \pm 0.012
模型	20	0.118 \pm 0.021 *	0.124 \pm 0.018 *	0.113 \pm 0.019	0.150 \pm 0.037 *
复方斑蝥	20	0.072 \pm 0.012 * Δ	0.069 \pm 0.010 * Δ	0.061 \pm 0.012 * Δ	0.081 \pm 0.021 * Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 Western Blot 法检测各组大鼠正常胃组织及胃癌组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1 α 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RhoA	ROCK I	PI3K	HIF-1 α
空白	10	0.52 \pm 0.08	0.71 \pm 0.08	0.39 \pm 0.07	0.91 \pm 0.07
模型	20	2.05 \pm 0.36 *	2.46 \pm 0.44 *	1.64 \pm 0.26 *	2.67 \pm 0.45 *
复方斑蝥	20	1.48 \pm 0.34 * Δ	1.66 \pm 0.30 * Δ	0.91 \pm 0.12 * Δ	1.56 \pm 0.31 * Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

通过 Akt 磷酸化活化,促进细胞色素 C 从线粒体的释放及 Caspase-9 和 Caspase-3 的激活,从而抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡,此外 Akt 可通过下游调控因子哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)这一信号通路,调控 HIF-1 α 的活性,促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,进而促进肿瘤发展和新生血管形成^[10]。

RhoA 是 Ras 超家族中具有 GTP 酶活性的一种小 G 蛋白分子,与 GTP 结合时活化,又称 Rho GTP 酶,在细胞内起到分子开关的作用。ROCK I 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员,是 RhoA 的主要下游效应分子,接受 Rho 转导的活化信号,发生多个氨基酸位点的磷酸化而激活,并介导其下游一系列磷酸化/脱磷酸化反应。RhoA/ROCK 信号通路参与了多种细胞生物学过程,包括细胞周期、细胞骨架的调控、细胞生长和凋亡等^[11],RhoA/ROCK 蛋白在多种肿瘤组织如乳腺癌、膀胱癌、卵巢癌和胃癌中呈高表达并与肿瘤的恶性程度密切相关^[12]。

关于 RhoA/ROCK 信号通路与 PI3K/Akt 信号通路关系的研究不多,Del Re DP 等^[13]对心肌细胞的研究发现机械牵张可通过 RhoA/ROCK 信号通路活化导致 FAK 的磷酸化,进而活化 PI3K/Akt 信号通路介导心肌细胞的保护作用。Ghosh PM 等^[14]研究发现 RhoA 通过 PI3K/Akt 通路促进小鼠前列腺癌细胞的增生。Hamamura K 等^[15]对成骨细胞的研究也发现机械刺激可通过 RhoA/ROCK 信号通路介导 PI3K/Akt 信号的活化。对滋养层细胞、人胃癌细胞株的研究均发现,缺氧可通过 RhoA 的活化上调 HIF-1 α 的表达,进而增加 VEGF 的表达^[16,17]。以上研究均提示 RhoA/ROCK 是 PI3K/Akt 的上游信号通路,通过 PI3K/Akt 信号的活化发挥作用。

本研究采用 MNNG 诱导 Wistar 大鼠腺胃癌这一经典的实验性胃癌动物模型。MNNG 是一种很强的诱癌剂,在胃内的转化失活能力差,易渗透胃幽门部和胃底部黏膜,因而能较特异的诱发胃癌。类似前期研究^[5],本实验选用纯系 5 周龄雄性 Wistar 大鼠,自由饮用 MNNG,在实验前 6 周加用高渗氯化钠溶液每周 1 次 1 mL 灌胃,以破坏胃黏膜屏障,增加 MNNG 穿透作用,促进胃癌发生。本实验 MNNG 组中有 70% 大鼠诱发出胃癌,胃癌的组织学形态与人类胃癌相似,再次证实 MNNG 可作为建立实验性胃癌动物模型的理想方法。

笔者前期研究表明 PPAR γ 等多种细胞因子基因多态性与胃癌的发生有关^[2],体内研究表明人胃癌组织中 PPAR γ 、PTEN、Akt、RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1 α 存在异常表达且与胃癌的 TNM 分期、侵犯浆膜、淋巴结转移及远处转移密切相关^[3,4],动物实验结果显示 PPAR γ 配体 Rosiglitazone 能显著降低 MNNG 诱导的大鼠腺胃癌发生率,其机制与抑制 PTEN/PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关^[5]。因此,我们认为,PPAR γ /PI3K/Akt/mTOR 信号通路与胃癌的发生有关,进一步探索其上游调控机制,RhoA/ROCK 可能作为 PI3K/Akt 的上游调控分子,通过影响下游 HIF-1 α 、VEGF 的表达,促进肿瘤新生血管形成,参与肿瘤的发生、发展、转移。

进一步在动物水平检测 MNNG 诱导的大鼠腺胃癌组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1 α 表达,结果显示,胃癌组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1 α 蛋白水平明显升高,复方斑蝥胶囊能显著降低 MNNG 诱导的大鼠腺胃癌发生率,缩小肿瘤体积,明显降低肿瘤组织中 RhoA、ROCK I、PI3K、HIF-1 α 蛋白水平。

因此,笔者认为,RhoA、ROCK I 在胃癌中的高表达与胃癌的生物学行为密切相关,RhoA/ROCK 可能通过调控 PI3K/Akt 信号通路,进而影响 HIF-1 α 的表

达,参与肿瘤的发生、发展、转移。我国传统中医药治疗肿瘤具有独特的优势,中医药治疗进展期胃癌的指导思想是攻其实,补其虚,通过对患者机体的综合调理,使患者的身体机能保持在一个比较稳定的状态,从而能够达到延缓肿瘤细胞的生长和扩散,延长患者生存期。研究表明,中医药治疗能提高患者生活质量,延长患者生存期,不良反应小^[18]。复方斑蝥胶囊作为一种中药复方的抗肿瘤制剂,既能增强免疫,又有抗肿瘤的作用,已广泛应用于临床,其抗肿瘤效应可能与抑制 RhoA/ROCK 信号通路及相关细胞因子的表达有关。明确 RhoA/ROCK 信号通路在胃癌发病过程中的作用,有助于从分子水平进一步阐明的胃癌发病机制,为胃癌的临床治疗提供新的靶点。

利益冲突:无。

参 考 文 献

[1] Piazuolo MB, Epplein M, Correa P. Gastric cancer: an infectious disease[J]. Infect Dis Clin North Am, 2010, 24(4): 853-869.

[2] Liao SY, Zeng ZR, Leung WK, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma Pro12Ala polymorphism, *Helicobacter pylori* infection and non-cardia gastric carcinoma in Chinese[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2006, 23(2): 289-294.

[3] 廖山婴,朱小波,王蓓蓓,等. PPAR γ 、PTEN、Akt 在胃癌中的表达及其与胃癌生物学行为的关系 [J]. 新医学, 2014, 45(6): 394-398.

[4] 廖山婴,刘超,王蓓蓓,等. RhoA/ROCK 信号通路在胃癌中的表达及其与胃癌生物学行为的关系 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2017, 26(3): 251-255.

[5] 陈白莉,廖山婴,曾志荣,等. PPAR γ 配体罗格列酮预防 MNNG 诱导的大鼠胃癌发生的实验研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(8): 1522-1527.

[6] 谭扬,赵福友,吴穷. 复方斑蝥胶囊联合化疗治疗老年晚期胃癌的疗效 [J]. 重庆医学, 2013, 42(4): 393-395.

[7] 夏环玲. 复方斑蝥胶囊联合化疗治疗晚期食管癌的疗效观察 [J]. 中国肿瘤临床与康复, 2012, 19(2): 167-168.

[8] 谢俊大,赵奎君,钟萌. 复方斑蝥胶囊的药理与临床研究概况 [J]. 国际中医中药杂志, 2011, 33(10): 954-955.

[9] Carnero A, Blanco-Aparicio C, Renner O, et al. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer,

therapeutic implications [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2008, 8: 187-198.

[10] Li L, Qu Y, Mao M, et al. The involvement of phosphoinositid 3-kinase/Akt pathway in the activation of hypoxia-inducible factor-1alpha in the developing rat brain after hypoxia-ischemia [J]. Brain Res, 2008, 1197: 152-158.

[11] Sorokina EM, Chernoff J. Rho-GTPases: new members, new pathways [J]. J Cell Biochem, 2005, 94(2): 225-231.

[12] Kamai T, Tsujii T, Arai K, et al. Significant association of Rho/ROCK pathway with invasion and metastasis of bladder cancer [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(7): 2632-2641.

[13] Del Re DP, Miyamoto S, Brown JH. Focal adhesion kinase as a RhoA-activable signaling scaffold mediating Akt activation and cardiomyocyte protection [J]. J Biol Chem, 2008, 283(51): 35622-35629.

[14] Ghosh PM, Bedolla R, Mikhailova M, et al. RhoA-dependent murine prostate cancer cell proliferation and apoptosis: Role of protein kinase Czeta [J]. Cancer Res, 2002, 62(9): 2630-2636.

[15] Hamamura K, Swarnkar G, Tanjung N, et al. RhoA-mediated signaling in echanotransduction of osteoblasts [J]. Connect Tissue Res, 2012, 53(5): 398-406.

[16] Hayashi M, Sakata M, Takeda T, et al. Hypoxia up-regulates hypoxia-inducible factor-1alpha expression through RhoA activation in trophoblast cells [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2005, 90(3): 1712-1719.

[17] Xue Y, Li NL, Yang JY, et al. Phosphatidylinositol 3'-kinase signaling pathway is essential for Rac1-induced hypoxia-inducible factor-1 (alpha) and vascular endothelial growth factor expression [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 300(6): H2169-2176.

[18] 刘昕,花宝金. 中医药治疗对进展期胃癌患者生活质量和生存期的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(2): 105-107.

(收稿: 2017-10-27 在线: 2019-05-29)

责任编辑: 李焕荣
英文责编: 张晶晶