

索拉菲尼对肾癌细胞的抑制作用与 STC - 1 调控细胞内钙稳态的关系研究

沈亚楠 谷 江 张永春 罗浩鸣

摘 要 **目的** 探讨索拉菲尼对肾癌细胞抑制效应与斯钙素蛋白 1 (STC - 1) 调控细胞内钙稳态之间的关系, 以期寻找逆转肾癌细胞耐药性的新途径。**方法** 分别以 0、1.25、2.5、5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 索拉菲尼干预肾癌细胞, 按浓度依次递增进行分组, MTT 法检测肾癌细胞增殖情况; RT - PCR 方法及 ELLSA 法检测各组细胞 STC - 1 的基因及蛋白表达; 荧光分光光度法检测各组细胞内钙离子含量; 化学比色法测定各组细胞 Ca^{2+} - ATP 酶活性。**结果** 随着索拉菲尼浓度的递增, 出现 10 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度转折点, 细胞抑制率及 Ca^{2+} 含量由逐渐升高趋向平稳, Ca^{2+} - ATP 酶活性由逐渐下降趋向平稳, STC - 1 基因及蛋白表达逐渐升高。**结论** STC - 1 可能是肾癌细胞恶性增殖的保护因素, 其可能通过调控 Ca^{2+} 水平, 降低 Ca^{2+} - ATP 酶活性, 使肾癌细胞内线粒体能量代谢活跃, 促进肾癌细胞适应缺氧环境, 从而对索拉菲尼产生抵抗作用。

关键词 索拉菲尼 肾癌 STC - 1 Ca^{2+}

中图分类号 R737.11

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.06.022

Relationship between the Inhibitory Effect of Sorafenib on Renal Cancer Cells and the Regulation of Intracellular Calcium Homeostasis by STC - 1. Shen Yanan, Gu Jiang, Zhang Yongchun, et al. The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guizhou 550000, China

Abstract Objective To explore the relationship between the inhibitory effect of sorafenib on renal cell carcinoma cells and the regulation of intracellular calcium homeostasis by STC - 1, so as to find a new way to reverse drug resistance of renal cell carcinoma cells.

Methods Sorafenib was used to intervene renal cancer cells at concentrations of 0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 and 40 $\mu\text{mol/L}$, and groups were grouped according to increasing concentrations. The proliferation of renal cancer cells was detected by MTT method. RT - PCR method and ELLSA method was used to detect the gene and protein expression of STC - 1 in each group of cells. Fluorescence spectrophotometry was used to detect the calcium ion content in each group of cells; chemical colorimetry was used to determine the activity of Ca^{2+} - ATPase in each group of cells. **Results** With the increasing concentration of sorafenib, a concentration turning point of 10 $\mu\text{mol/L}$ appeared. The cell inhibition rate and Ca^{2+} content gradually increased to stabilize, the Ca^{2+} - ATPase activity gradually decreased to stabilize, and the STC - 1 gene and Protein expression gradually increased. **Conclusion** STC - 1 may be a protective factor for the malignant proliferation of renal cancer cells. STC - 1 may regulate the level of Ca^{2+} , reduce the activity of Ca^{2+} - ATPase, activate the energy metabolism of mitochondria in renal cancer cells, and promote the adaptation of renal cancer cells to hypoxia, so as to produce resistance to Solafeni.

Key words Sorafenib; Kidney cancer; STC - 1; Ca^{2+}

靶向药物在靶向抑制肾癌细胞时, 肾癌细胞会产生一定的抵抗作用, 导致药物的抑制效果逐渐减弱, 但具体的抵抗机制尚未明确^[1]。研究发现肾癌细胞中有 STC - 1 蛋白的存在^[2]。STC - 1 即斯钙素蛋白 1, 是最早在鱼类体内发现的一种糖蛋白激素, 主

要调节体内钙磷代谢^[3]。STC - 1 以浓度依赖的方式刺激线粒体钙转运^[4]。有研究指出, STC - 1 调节钙稳态的过程可能参与肾癌细胞对靶向药物的抵抗^[5]。

所谓钙稳态是指细胞内液和细胞外液的离子钙水平稳定^[6]。钙稳态是影响肿瘤细胞增殖和存活的重要因素^[7]。索拉菲尼能够抑制肿瘤血管生成, 引起肿瘤细胞缺氧, 容易导致细胞内 Ca^{2+} 超载, 造成细胞损伤, 而 STC - 1 可能是一种抗凋亡和致癌因子, 所以创新性地将 STC - 1 调控钙稳态引入到肾癌细胞抵抗靶向药物的研究中, 观察这种抵抗作用是否与

基金项目: 贵州省科技厅社会攻关计划项目[黔科合 sy 字(2011) 3060]

作者单位: 550000 贵阳, 贵州医科大学附属医院泌尿外科(沈亚楠、谷江); 550000 贵阳, 贵州省武警总队医院(张永春); 562400 兴义市人民医院(罗浩鸣)

通讯作者: 谷江, 电子信箱: 18985009566@189.cn

STC-1 调节钙稳态相关,或能为逆转肾癌细胞的耐药性提供新的思路^[4,8]。

材料与方法

1. 主要材料与仪器:1640 培养基、青链霉素混合液、PBS(磷酸缓冲盐溶液)购自美国 Hyclone 公司;胎牛血清、0.25% 胰蛋白酶 + 0.02% EDTA 购自美国 Gibco 公司;MTT 试剂盒购自凯基生物;DMSO(二甲基亚砷)购自美国 AMRESCO 公司;索拉菲尼购自德国拜耳公司;总 RNA 提取试剂盒购自美国 Fermentas 公司;ELLSA 试剂盒购自美国 R&D 公司;9 孔板、15ml 及 50ml 离心管购自康宁公司;酶标仪(elx808)购自美国 Thermo 公司;低速离心机(SC-3612 型)购自中佳公司;Fura-2 AM 钙离子探针购自碧云天生物技术研究所;人肾癌 GRC-1 细胞购自上海弗雷堡生物公司。

2. 培养液的配制:在 50ml 的离心管中加入 500 μ l 的青霉素、链霉素混合物、5ml 的胎牛血清以及 1640 培养基,制备含有 1% 青霉素链霉素和 10% 胎牛血清的 1640 培养液。

3. 细胞培养:在 1640 培养基中培养人肾癌 GRC-1 细胞,置于 37℃ 和 5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中,细胞附壁后,每 2 天传代 1 次,培养至对数生长期进行实验。

4. MTT 法检测索拉菲尼对肾癌细胞增殖的影响:取对数生长期的肾癌细胞,以 5×10^3 个/孔的密度接种于 96 孔板中,培养 24h 并加入药物。实验分为:索拉菲尼(1.25、2.5、5、10、20、40 μ mol/L)用药组和不加药的对照组。为每个剂量设置 5 个重复孔,添加药物后培养 24h,然后向每个孔中添加 20 μ l MTT (5mg/ml),继续培养 4h,然后终止培养,弃上清液,向每孔加入 DMSO 150 μ l,低速振荡 10min 以完全溶解晶体。最后,使用酶标仪在 490nm 处测量每个孔吸光度(A)值,并计算每组药物对细胞增殖的抑制率,抑制率(%) = $(1 - \text{实验组 A 值} / \text{对照组 A 值}) \times 100\%$ 。

5. 反转录 PCR 测定 STC-1 基因表达:采用 RT-PCR 法测定各组细胞的 STC-1 基因表达水平,用试剂盒提取各组细胞的总 RNA,取 1 μ g RNA 进行反转录并合成 cDNA。引物序列 β -actin,正向 5'-CCCTGGACTTCGAGCAAGAGAT-3',反向 5'-GTTTTCTGCGCAAGTTAGG-3',片段长度 531bp;STC-1,正向 5'-TGAGGTCGTCCAGCTCCCAATC-3',反向 5'-GGCACAGTGCTGTCTGCAGGATG-3',

片段长度 142bp。RT-PCR 反应条件:预变性 94℃ 3min,变性 94℃ 30s,退火 53℃ 30s,延伸 72℃ 1min,35 个循环后,终止反应 72℃ 5min;以 β -actin 作为内部参照,PCR 产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳,并用凝胶成像仪照相。

6. 采用 ELLSA 法测定各组细胞 STC-1 蛋白表达:使用 PMSF 和细胞裂解液裂解每组细胞,以 12000 r/min 转速离心 5min,取上清液,并以 50 微升/孔滴加到酶标板中,设置空白孔、标准孔和样品孔分别进行测试。按试剂盒说明书(美国 R&D 公司)操作,并使用酶标仪进行检测,根据获得的标准曲线计算 STC-1 蛋白表达水平。

7. 荧光分光光度法测各组细胞内 Ca²⁺ 含量:不同浓度索拉菲尼干扰肾癌细胞 24h 并消化成细胞悬液,以 1000r/min 离心 5min,弃上清液,将细胞重悬于含 0.2% 小牛血清白蛋白的 D-Hanks 溶液中,调整细胞数约为 8×10^5 /ml。加入 Fura-2/AM,37℃ 避光孵育 45min。用 D-Hanks 溶液洗涤细胞 2 次,再将细胞重悬于 3ml D-Hanks 溶液中,双波长荧光分光光度计测量细胞荧光强度。

8. 化学比色法测定 Ca²⁺-ATP 酶活性:ATPase 可以分解 ATP 产生 ADP 和无机磷,通过测试无机磷的含量来确定 ATPase 的活性水平,以 1mg/h 的 ATP 酶分解 ATP 产生 1 μ mol 的 Pi 量为 1 个 ATP 酶活力单位,即 1 μ mol/(mg·h)。严格按照试剂盒说明书进行检测。

9. 统计学方法:所有实验重复 3 次。采用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 索拉菲尼对肾癌细胞增殖的影响:MTT 法的结果表明,随着药物浓度的增加,抑制率逐渐增加,但以药物浓度 10 μ mol/L 为转折点,抑制率趋于稳定,但均高于中低浓度组,中低浓度组之间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。肾癌细胞抑制率呈逐渐上升趋势,但以 10 μ mol/L 为浓度转折点,细胞抑制率逐渐趋向平稳。

2. RT-PCR 检测肾癌细胞内 STC-1 mRNA 表达水平:各组细胞中 STC-1 mRNA 的表达逐渐增加,从 10 μ mol/L 药物浓度开始增加更为明显,差异有统计学意义($P < 0.05$,图 1,表 2)。

表 1 不同浓度索拉菲尼对肾癌细胞增殖的抑制作用($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>A</i> 值	细胞抑制率(%)	细胞存活率(%)
对照组	3	0.322 ± 0.005	0	100
1.25 μmol/L	3	0.199 ± 0.007 *	35.09 ± 3.077 *	64.91 ± 3.077 *
2.5 μmol/L	3	0.156 ± 0.005 #	53.12 ± 0.824 #	46.88 ± 0.824 #
5 μmol/L	3	0.113 ± 0.006 Δ	64.61 ± 1.013 Δ	35.39 ± 1.013 Δ
10 μmol/L	3	0.075 ± 0.005 ▲	76.73 ± 1.193 ▲	23.27 ± 1.193 ▲
20 μmol/L	3	0.056 ± 0.006	82.90 ± 1.901	17.10 ± 1.901
40 μmol/L	3	0.039 ± 0.005	87.90 ± 1.402	12.10 ± 1.402

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 1.25 μmol/L 浓度组比较, # $P < 0.05$; 与 2.5 μmol/L 浓度组比较, Δ $P < 0.05$; 与 5 μmol/L 浓度组比较, ▲ $P < 0.05$

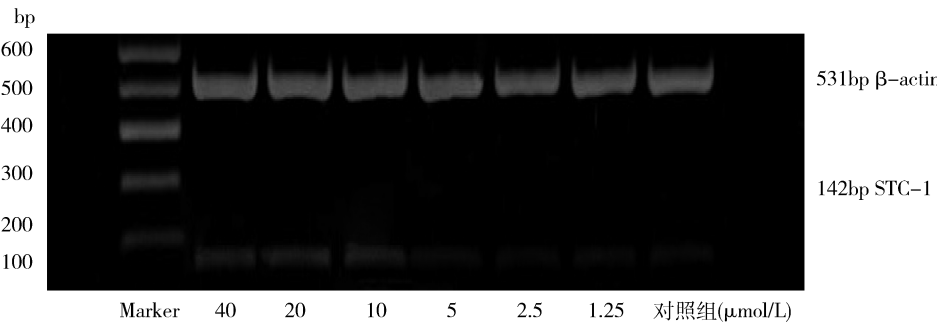


图 1 索拉菲尼干预肾癌细胞后 STC - 1 的基因表达

表 2 各组细胞内 STC - 1mRNA 与 STC - 1 蛋白表达水平($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	STC - 1 mRNA	STC - 1 蛋白 (pg/ml)
对照组	3	0.23 ± 0.04	8.5 ± 0.4
1.25 μmol/L	3	0.31 ± 0.03 *	9.7 ± 0.3 *
2.5 μmol/L	3	0.37 ± 0.04	10.2 ± 0.4
5 μmol/L	3	0.42 ± 0.05	11.3 ± 0.3
10 μmol/L	3	0.59 ± 0.08 #	13.6 ± 0.2 #
20 μmol/L	3	0.65 ± 0.06 Δ	15.3 ± 0.3 Δ
40 μmol/L	3	0.76 ± 0.07 ▲	17.1 ± 0.5 ▲

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 5 μmol/L 浓度组比较, # $P < 0.05$; 与 10 μmol/L 浓度组比较, Δ $P < 0.05$; 与 20 μmol/L 浓度组比较, ▲ $P < 0.05$

3. ELISA 法检测 STC - 1 蛋白表达量:各组细胞内 STC - 1 表达量逐渐增高,并在 10 μmol/L 药物浓度时增量较明显,差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 2)。

4. 荧光分光光度法测各组细胞内 Ca^{2+} 含量:各组细胞内 Ca^{2+} 逐渐增加,从 10 μmol/L 的药物浓度开始趋于稳定,中低浓度组两两比较后差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 3)。

5. 化学比色法测定各组细胞内 Ca^{2+} - ATPase 活性:各组细胞内钙酶活性逐渐下降,从 10 μmol/L 药物浓度开始趋于稳定,中低浓度组两两比较后差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 3)。

表 3 各组细胞内 Ca^{2+} 含量与 Ca^{2+} - ATPase 活性($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Ca^{2+} 含量 (nmol/L)	Ca^{2+} - ATP μmol/(mg · h)
对照组	3	95.2	6.891 ± 0.101
1.25 μmol/L	3	100.2 ± 4.2 *	6.241 ± 0.041 *
2.5 μmol/L	3	106.5 ± 3.6 #	5.623 ± 0.035 #
5 μmol/L	3	114.3 ± 4.6 Δ	5.086 ± 0.052 Δ
10 μmol/L	3	119.4 ± 3.3 ▲	4.752 ± 0.032 ▲
20 μmol/L	3	122.3 ± 4.5	4.532 ± 0.041
40 μmol/L	3	125.1 ± 3.4	4.282 ± 0.047

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 1.25 μmol/L 浓度组比较, # $P < 0.05$; 与 2.5 μmol/L 浓度组比较, Δ $P < 0.05$; 与 5 μmol/L 浓度组比较, ▲ $P < 0.05$

讨 论

目前,靶向治疗可显著延长晚期肾癌患者的无进展生存期和总体生存期,并显著改善患者的预后^[9]。索拉菲尼因其自身在抗肿瘤活性及药物耐受性上表现优异,是晚期肾癌靶向治疗的一线用药,但相关研究发现,索拉菲尼的长期使用会伴随耐药性的出现,严重影响治疗效果^[10,11]。结合索拉菲尼在抑制肾癌细胞时出现 STC - 1 异常变化及钙稳态改变的相关报道,本实验以 STC - 1 作为切入点,研究索拉菲尼抑制肾癌细胞时 STC - 1 与细胞钙稳态变化之间的关系,并探讨对肾癌细胞增殖的影响。

索拉菲尼抑制肾癌细胞时,会引起细胞内钙离子的变化,钙离子受到 STC - 1 的调控^[12]。STC - 1 在促进肾癌的发生和发展中起着重要作用,但尚未明确^[13]。STC - 1 调节钙稳态机制是否参与了索拉菲尼对肾癌细胞的抵抗作用亦不清楚,因此通过本次实验进行了研究,笔者研究发现随着索拉菲尼浓度的依次递增,细胞内 Ca^{2+} 含量、钙酶活性及 STC - 1 围绕浓度转折点发生规律性变化。这表明,STC - 1 可能通过调控 Ca^{2+} 水平,避免钙超载引起的细胞凋亡。

作为储存 Ca^{2+} 的主要场所,线粒体支持的生物学功能通常由 Ca^{2+} 控制, Ca^{2+} 水平紊乱可能会加剧线粒体功能障碍和能量衰竭,从而促进细胞死亡^[14]。作为细胞中重要的第二信使, Ca^{2+} 参与调节细胞增殖、凋亡、基因转录、细胞分泌,并能调节血管内皮细胞功能^[15,16]。 Ca^{2+} 通过启动内皮细胞中信号,对控制血管张力和内皮通透性有重要作用^[17]。血管内皮细胞通过质膜 Ca^{2+} - ATPase 和 $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ 交换将细胞质中过量的 Ca^{2+} 移至细胞外,从而维持细胞的钙稳态^[18]。 Ca^{2+} - ATPase (PMCA) 活性的降低导致钙离子在细胞质中积累,而肾细胞中 PMCA 是主要的钙输出蛋白,因此可以测定肾癌细胞 PMCA 活性反映钙稳态情况^[19]。

钙离子水平增高可能会引起 STC - 1 的变化。STC - 1 被证明在肾脏中高表达,并关键性地调节细胞生长、增殖和分化,以及调节钙稳态^[20]。STC - 1 可以下调钙离子水平,维持钙离子稳定,促进细胞生长^[21]。因此,随着索拉菲尼浓度的递增,可能会引起 STC - 1 升高以拮抗过多的 Ca^{2+} 水平,使钙离子代谢趋向稳定,因为钙离子代谢可以影响细胞能量代谢,而能量代谢也可能是 STC - 1 直接影响所致,这种影响会反映到对细胞的抑制作用逐渐趋向平稳甚至减弱,这也可能是肾癌细胞对索拉菲尼产生抵抗的原因之一。

本实验研究提示肾癌细胞对靶向药物产生的抵抗作用可能与 STC - 1 调控钙离子稳态有关,也可能直接与 STC - 1 相关,故 STC - 1 可能是肾癌治疗的有效靶点,抑制 STC - 1 可能会逆转肾癌细胞对靶向药物的耐药性。然而本实验仅是针对基因进行检测,而没有进行干预,而且细胞实验脱离了全机体的综合调控,因此只是提供一个依据;而其中深层机制的确定,可能需要培养耐药细胞进行更细致的检测和验证,因此后续尚需开展深入的研究予以进一步证实。

参考文献

- D'Costa NM, Lowerison MR, Raven PA, *et al.* Y - box binding protein - 1 is crucial in acquired drug resistance development in metastatic clear - cell renal cell carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 33 - 48
- 苏世强, 刘丽哲, 陈延, 等. 斯钙素 1 表达与肾细胞癌临床预后的关系[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(3): 339 - 343
- Yang K, Yang Y, Qi C, *et al.* Effects of porcine STC - 1 on cell metabolism and mitochondrial function[J]. *General Comparat Endocrinol*, 2020, 286(1): 1 - 23
- 刁宗礼, 韩雪, 刘文虎. 钙代谢调控机制研究进展[J]. *兰州大学学报: 医学版*, 2017, 5(43): 63 - 67
- Ma X, Gu L, Li H, *et al.* Hypoxia - induced overexpression of stanniocalcin - 1 is associated with the metastasis of early stage clear cell renal cell carcinoma[J]. *J Translat Med*, 2015, 13(1): 56 - 69
- Batista - Silva H, Dambrós BF, Rodrigues K, *et al.* Acute exposure to bis(2 - ethylhexyl)phthalate disrupts calcium homeostasis, energy metabolism and induces oxidative stress in the testis of Danio rerio [J]. *Biochimie*, 2020, 175: 23 - 33
- Wang M, Tan J, Miao Y, *et al.* Role of Ca^{2+} and ion channels in the regulation of apoptosis under hypoxia[J]. *Histol Histopathol*, 2018, 33(3): 237 - 246
- Zhao F, Yang G, Feng Mat, *et al.* Expression, function and clinical application of stanniocalcin - 1 in cancer[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(14): 7686 - 7696
- Vano YA, Tartour E, Fournier LS, *et al.* Prognostic factors in patients with advanced renal cell carcinoma treated with VEGF - targeted agents[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2014, 14(5): 523 - 542
- Swarm RA, Paice JA, Anghelescu DL, *et al.* NCCN clinical practice guidelines in oncology [J]. *J National Comprehensive Cancer NetWork: JNCCN*, 2019, 17(8): 977 - 1007
- Barata PC, Ornstein MC, Garcia JA. The evolving treatment landscape of advanced renal cell carcinoma in patients progressing after VEGF inhibition[J]. *J Kidney Cancer VHL*, 2017, 4(2): 10 - 18
- Chou MY, Lin CH, Chao PL, *et al.* Stanniocalcin - 1 controls ion regulation functions of ion - transporting epithelium other than calcium balance[J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(2): 122 - 132
- Yang QT, Gu J, Zhang YC, *et al.* Influence of STC - 1 and HIF - 1 α on growth balance in renal carcinoma cells[J]. *Chinese J Cancer Prev Treat*, 2014, 14(21): 1078 - 1083
- Magi S, Piccirillo S, Preziuso A, *et al.* Mitochondrial localization of NCXs: balancing calcium and energy homeostasis[J]. *Cell Calcium*, 2020, 86: 102162 - 102169
- 王连友, 杨杰, 黄岚. 钙库操纵性钙内流参与调节血管内皮细胞增殖与迁移[J]. *第三军医大学学报*, 2019, 41(5): 424 - 429
- Chen W, Xu C, Wang L, *et al.* K15 protein of kaposi's sarcoma herpesviruses increases endothelial cell proliferation and migration through store - operated calcium entry[J]. *Viruses*, 2018, 10(6): 282 - 293

参考文献

- McInnes IB, Schett G. Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Lancet*, 2017, 389(10086): 2328–2337
- 李凡, 张升校, 李媛, 等. CD4⁺T 细胞亚群在类风湿关节炎发病机制中的研究进展[J]. *中国药物与临床*, 2018, 18(10): 1721–1723
- Raza K, Schwenzer A, Juarez M, *et al.* Detection of antibodies to citrullinated tenascin – C in patients with early synovitis is associated with the development of rheumatoid arthritis[J]. *RMD Open*, 2016, 2(2): e000318
- Abbadì D, Laroumanie F, Bizou M, *et al.* Local production of tenascin – C acts as a trigger for monocyte/macrophage recruitment that provokes cardiac dysfunction[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(1): 123–137
- Kawamura T, Yamamoto M, Suzuki K, *et al.* Tenascin – C produced by intestinal myofibroblasts promotes colitis – associated cancer development through angiogenesis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2019, 25(4): 732–741
- 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊断及治疗指南[J]. *中华风湿病学杂志*, 2010, 14(4): 265–270
- 袁钰荔, 尹玉月, 范惠珍. DAS28 – CRP 与 DAS28 – ESR 评分在类风湿关节炎中的比较[J]. *实用中西医结合临床*, 2018, 18(11): 5–6, 9
- Niu HQ, Li ZH, Zhao WP, *et al.* Sirolimus selectively increases circulating Treg cell numbers and restores the Th17/Treg balance in rheumatoid arthritis patients with low disease activity or in DAS28 remission who previously received conventional disease – modifying anti – rheumatic drugs[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2020, 38(1): 58–66
- Midwood KS, Chiquet M, Tucker RP, *et al.* Tenascin – C at a glance[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(23): 4321–4327
- Marzeda AM, Midwood KS. Internal affairs: tenascin – c as a clinically relevant, endogenous driver of innate immunity[J]. *J Histochem Cytochem*, 2018, 66(4): 289–304
- Hasegawa M, Nakoshi Y, Muraki M, *et al.* Expression of large tenascin – C splice variants in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis[J]. *J Orthopaed Res*, 2007, 25(5): 563–568
- Goh FG, Piccinini AM, Krausgruber T, *et al.* Transcriptional regulation of the endogenous danger signal tenascin – C: a novel autocrine loop in inflammation[J]. *J Immunol*, 2010, 184(5): 2655–2662
- Midwood K, Sacre S, Piccinini AM, *et al.* Tenascin – C is an endogenous activator of Toll – like receptor 4 that is essential for maintaining inflammation in arthritic joint disease[J]. *Nat Med*, 2009, 15(7): 774–780
- Zuliani – Alvarez L, Marzeda AM, Deligne C, *et al.* Mapping tenascin – C interaction with toll – like receptor 4 reveals a new subset of endogenous inflammatory triggers[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1595
- Cutolo M, Soldano S, Paolino S. Potential roles for tenascin in (very) early diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheumat Dis*, 2020, 79(4): e42
- Hasegawa M, Yoshida T, Sudo A. Role of tenascin – C in articular cartilage[J]. *Modern Rheumatology*, 2018, 28(2): 215–220
- Nidhi S, Saralili DR, Monika H, *et al.* Tenascin – C fragments are endogenous inducers of cartilage matrix degradation[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(9): 2809–2817
- 谢戡芳, 白云强, 赵向聪, 等. 类风湿关节炎患者血清腱糖蛋白 C 的表达及不同改善病情抗风湿药联合用药对其水平的影响[J]. *中国药物与临床*, 2016, 16(2): 219–222
- Matthias C. Tenascin – C: from discovery to structure – function relationships[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 611789
- Ruhmann M, Piccinini AM, Kong PL, *et al.* Endogenous activation of adaptive immunity: tenascin – C drives interleukin – 17 synthesis in murine arthritic joint disease[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(7): 2179–2190
- Machino – Ohtsuka T, Tajiri K, Kimura T, *et al.* Tenascin – C aggravates autoimmune myocarditis via dendritic cell activation and Th17 cell differentiation[J]. *J Am Heart Assoc*, 2014, 3(6): e001052
- Mina Y, Norihiro H, Sonoko H, *et al.* Characterization of tenascin – C as a novel biomarker for asthma: utility of tenascin – C in combination with periostin or immunoglobulin E[J]. *AllergyAsthma Clin Immunol*, 2018, 14(1): 72

(收稿日期: 2020 – 12 – 29)

(修回日期: 2021 – 01 – 18)

(接第 101 页)

- Suresh K, Shimoda LA. Endothelial cell reactive oxygen species and Ca²⁺ signaling in pulmonary hypertension[J]. *Aav Exp Med Biol*, 2017, 967: 299–314
- 张琳, 乔虹. 血管内皮细胞钙稳态的调节机制[J]. *心血管康复医学杂志*, 2019, 28(5): 688–690
- 任真, 赵金凤, 张瑶, 等. 钙离子在镉诱导的肾毒性中的作用机理[J]. *生物技术进展*, 2019, 9(5): 476–482
- Yamagishi T, Kawashima H, Ogose A, *et al.* Stanniocalcin – 1 mRNA expression in soft – tissue tumors[J]. *Nagoya Journal of Medical Science*, 2020, 82(1): 85–92
- Zhu ZH, Gu J, Zhang YC, *et al.* STC – 1 is involved in anti – hypoxia proliferative balance of renal cancer cells by down – regulation of intracellular Ca²⁺ and HIF – 1 α levels[J]. *Zhejiang Daxue Xuebao Yixueban*, 2014, 43(5): 528–534

(收稿日期: 2020 – 12 – 12)

(修回日期: 2021 – 01 – 17)