

文章编号:1004-7220(2010)06-0422-06

牵张应力对人牙周膜细胞 MMP-13/TIMP-1 表达的影响及其信号转导途径研究

李永明, 唐林, 张晓东, 丁寅
(第四军医大学口腔医学院 正畸科, 西安 710032)

摘要:目的 研究不同强度机械牵张应力对人牙周膜细胞基质金属蛋白酶-13 (MMP-13) 及其组织抑制因子-1 (TIMP-1) 表达的影响, 并探讨机械牵张应力作用下人牙周膜细胞 MMP-13/TIMP-1 表达变化的信号转导途径。**方法** 通过细胞牵张应力加载系统对体外培养的人牙周膜细胞同时施加 0%、6%、12% 和 18% 形变率的机械牵张应力, 作用 24 h 后, 用 RT-PCR 方法检测细胞受力后 MMP-13/TIMP-1 mRNA 表达的变化, 用免疫印迹法检测其蛋白表达的变化。另外, 通过使用不同信号途径的特异性抑制剂, 用 RT-PCR 方法分别检测不同抑制剂对牵张应力作用下牙周膜细胞 MMP-13/TIMP-1 mRNA 表达的变化。**结果** 人牙周膜细胞受力后, MMP-13/TIMP-1 mRNA 及蛋白表达随牵张应力强度的增大明显增加。PD098059 可抑制机械牵张应力作用下牙周膜细胞 MMP-13 mRNA 表达的增加。放线菌酮可抑制机械牵张应力作用下 TIMP-1 mRNA 表达的增加。**结论** 不同强度机械牵张应力可以影响人牙周膜细胞 MMP-13/TIMP-1 的表达, 进而影响牙周组织细胞外基质代谢。机械牵张应力作用下 MMP-13 表达的增加是通过 ERK-MAPK 途径。机械牵张应力作用下 TIMP-1 表达的增加是通过新生蛋白途径。

关键词: 机械牵张应力; 人牙周膜细胞; 信号转导; 蛋白; 细胞培养

中图分类号: R318.01 **文献标志码:** A

Expression of MMP-13/TIMP-1 and signal transduction pathways in response to mechanical strain in human periodontal ligament cells

LI Yong-ming, TANG Lin, ZHANG Xiao-dong, DING Yin (Department of Orthodontics, College of Stomatology, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of different magnitudes of mechanical strain on the expression of MMP-13/TIMP-1 and try to determine the signal transduction pathways in response to mechanical strain in human periodontal ligament cells (HPDLCs) in vitro. **Method** HPDLCs were subjected to 0%, 6%, 12% or 18% elongation for 24 h by using cell stress loading system simultaneously. Then the MMP-13/TIMP-1 mRNA and protein expression in cells were tested by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and western blotting respectively. Furthermore, specific inhibitors were employed to examine the role of different signal transduction pathway on the expression of strain-induced MMP-13/TIMP-1 in HPDLCs. **Results** The expression of MMP-13/TIMP-1 in HPDLCs significantly increased in groups of 6%, 12%, 18% elongation in a magnitude-dependent manner compared with the control group (0%) after the mechanical strain treatment for 24 h. PD098059 and cycloheximide could inhibit the increase in MMP-13 and TIMP-1 mRNA expression in response to mechanical strain respectively. **Conclusions** Different magnitudes of mechanical strain can affect the expression of MMP-13/TIMP-1 in HPDLCs in a magnitude-dependent manner, and further affect the periodontium remodeling with the characteristics of degradation and synthesis of extracellular matrix in response to mechanical strain. The ERK-MAPK pathway is involved in strain-induced MMP-13 expression while the strain-induced TIMP-1 expression depends on de novo protein synthesis.

收稿日期:2010-11-06; 修回日期:2010-11-22

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30300393,30970697)。

作者简介:李永明(1968-),男,副教授,研究方向:口腔正畸生物力学。

通讯作者:丁寅,教授,博士研究生导师,E-mail:dingyin@fmmu.edu.cn。

Key words : Mechanical strain; Human periodontal ligament cells (HPDLCs); Signal transduction; Proteins; Cell culture

机械力是启动牙周膜细胞生理反应,引起正畸牙齿移动的直接原因,而牙周膜细胞外基质的改建是正畸牙齿移动的基础。牙周膜细胞在机械应力作用下其形态和功能状态发生变化,从而降解、合成细胞外基质(extracellular matrix, ECM),实现正畸牙齿移动。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)及其组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)与牙周膜 ECM 代谢关系密切,作为参与 ECM 蛋白代谢的主要蛋白水解酶, MMPs/TIMPs 系统在牙周组织修复重建过程中发挥着重要的调节作用^[1-3]。其中基质金属蛋白酶-13(MMP-13)属于基质金属蛋白酶超家族成员中胶原酶的一种,其主要功能是分解细胞外基质,能够裂解胶原分子中三维螺旋结构^[4,5]。研究发现^[6-7]:在正畸牙齿移动过程中,牙周膜细胞高度表达 MMP-13。但体外牙周膜细胞在不同强度牵张应力状态下表达 MMP-13 及 TIMP-1 状况如何以及牵张应力对牙周膜细胞 MMP-13/TIMP-1 表达影响的可能信号转导途径目前尚不清楚。因此,本研究通过体外人牙周膜细胞(human periodontal ligament cells, HPDLCs)培养,观察不同强度牵张应力对人牙周膜细胞 MMP-13 及 TIMP-1 基因和蛋白表达的影响,并通过给予可能信号途径的特异性抑制剂,在基因水平上了解牵张应力对牙周膜细胞 MMP-13/TIMP-1 表达影响的信号转导途径。

1 材料和方法

1.1 主要试剂与仪器

多通道细胞牵张应力加载系统(第四军医大学口腔医学院正畸科与第四军医大学医学电子工程系合作研制);六孔弹性基底膜培养板(Flexcell, 美国);RNA 抽提试剂盒, MMLV 逆转录酶(MBL 公司,日本);Taq DNA 聚合酶、琼脂糖、dNTPs 和引物合成(上海生物工程公司,中国);MMP-13 抗体(NeoMarkers 公司,美国);TIMP-1 抗体(北京中彬公司分装, Santa Cruz 公司,美国);多功能电泳检测仪(上海电子仪器厂,中国);PCR 扩增仪(Biometra, 德国);二抗(武汉博士德公司,中国);Protein Marker(华美公司,中国);Mini-protein II 蛋白电泳仪(Bio-

Rad 公司,美国);硝酸纤维素膜(Amersham Biosciences 公司,美国)。放线菌酮(cycloheximide, Sigma 公司,美国),吲哚美辛(indomethacin, Sigma 公司,美国),染料木黄酮(genistein, Sigma 公司,美国), PD098059(Sigma 公司,美国)。

1.2 HPDLCs 的体外培养与鉴定

收集 11~13 岁因正畸矫治需要而拔除的健康牙齿,按胶原酶消化法培养人牙周膜细胞,取第 4~6 代细胞进行实验。利用 SABC 免疫细胞化学技术,进行抗波形丝蛋白抗体和细胞角蛋白抗体染色,作细胞来源鉴定。

1.3 细胞应力加载

生长良好的第 4 代 HPDLCs,胰酶消化后吹散,细胞计数后调整浓度至 2×10^5 /mL,加入 6 孔弹性基底膜培养板(Flexcell, 美国),标准环境下以 10% FBS 的 DMEM 培养液孵育 24 h 后,按实验要求分组,利用自行研制的多通道细胞牵张应力加载仪,对培养在 6 孔弹性基底膜培养板上的 HPDLCs 进行加载。实验共分为 4 组:对照组、6%、12%、18% 张力组。细胞的加载作用时间 24 h。所有加力组细胞的力学刺激频率为 6 周/min,即 5 s 拉伸,5 s 松弛。

1.4 RT-PCR 测定 MMP-13、TIMP-1 mRNA 表达

力学刺激 24 h 后,细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化,离心 800 r/min \times 6 min, PBS 清洗,再次离心后,用 Trizol (Gibicol 公司,美国)按操作说明抽提总 RNA,在 Gene Amp 2400 PCR 扩增仪上(Perkin Elmer 公司,美国)进行半定量 RT-PCR。首先取总 RNA 1.0 μ g,用逆转录试剂盒(Promega 公司,美国)按操作说明合成 cDNA。再取 cDNA 行 PCR 扩增。另取 cDNA 行 PCR 扩增 MMP-13、TIMP-1 及 GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 基因, GAPDH 基因的扩增产物为内对照。基因引物序列如表 1 所示。扩增条件如下:cDNA 1 μ L, 25 mmol \cdot L⁻¹ MgCl₂ 2 μ L, dNTP 1 μ L, 正向引物 2.5 μ L, 反向引物 2.5 μ L, 10 \times PCR 反应缓冲液 5 μ L, Taq 酶 0.5 μ L, 加去离子水至终体积 50 μ L, 94 $^{\circ}$ C 40 s, 58 $^{\circ}$ C 60 s, 72 $^{\circ}$ C 60 s, 循环数 30 次, 72 $^{\circ}$ C, 延伸 7 min。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电

泳后拍照。

表1 RT-PCR 基因引物序列

Tab.1 Primer sequences used in semi-quantitative RT-PCR

MMP-13(445bp)	Forward 5'-GGTCCCAAACGAACTTAACCTACA-3'
	Reverse 5'-CCTTGAACGTCATCATCAGGAAGC-3'
TIMP-1(346bp)	Forward 5'-CCTTATACCAGCCGTTATAAGAT-CAAGAT-3'
	Reverse 5'-GTCCACAAACAGTGAGTGTCACTC-3'
GAPDH(983bp)	Forward 5'-GGTCGCTCTGAACGGATTGG-3'
	Reverse 5'-ATCTAGGCCATGAGCTCCACC-3'

1.5 Western Blotting 检测 MMP-13、TIMP-1 蛋白表达

力学刺激 24 h 后,冷 PBS 冲洗贴壁生长的细胞 2 mL/次 × 3 次;将裂解液直接加在弹性膜上,冰上原位裂解细胞 30 min;用细胞刮将细胞刮离弹性膜,收集此混悬液入 EP 管;4 °C 低温离心 14 000 r/min × 15 min,收集上清液。取 40 μg 细胞总蛋白点样于 8% SDS- PAGE 胶电泳分离,电转至硝酸纤维素膜,再用 MMP-13 (NeoMarkers 公司,美国)、TIMP-1 (Santa Cruz 公司,美国) 抗体杂交,检测 MMP-13、TIMP-1 蛋白质表达,ECL 法显示免疫复合物。

1.6 抑制剂对机械牵张应力作用下人牙周膜细胞 MMP-13/TIMP-1 mRNA 表达的影响

采用 12% 拉伸应变率,实验组细胞分别加入可

能信号转导途径的特异性抑制剂,本实验中选用的特异性抑制剂分别为放线菌酮 (cycloheximide)、吲哚美辛 (indomethacin)、染料木黄酮 (genistein) 及 PD098059,其最终浓度分别为 10、10、20、10 μmol/L^[8]。细胞加载作用 24 h 后,采用 RT-PCR 测定 MMP-13、TIMP-1 mRNA 的表达情况。

1.7 统计学分析

用 Bandscan 5.0 对结果进行灰度值分析。以样品的 MMP-13 及 TIMP-1 的灰度值与同一样品 GAPDH 的灰度值之比作为评价 MMP-13 及 TIMP-1 表达量指标,所有的数据均来自 5 次实验结果的灰度分析值,取其平均数值,表示为 ($\bar{x} \pm sd$)。统计分析采用 SPSS 10.0 软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 不同强度牵张应力对人牙周膜细胞 MMP-13 mRNA 及蛋白表达的影响

RT-PCR 及 Western Blotting 结果显示,人牙周膜细胞 MMP-13 mRNA 及蛋白表达随着机械牵张应力的增大(0%、6%、12%、18%)而明显增加(见图 1A、C)。以 GAPDH 为参照,加力 24 h 后,MMP-13 / GAPDH 的相对光密度值,随加载形变率的增大而明显增大,各组间比较有显著性差异($P < 0.01$) (见图 1B、D)。

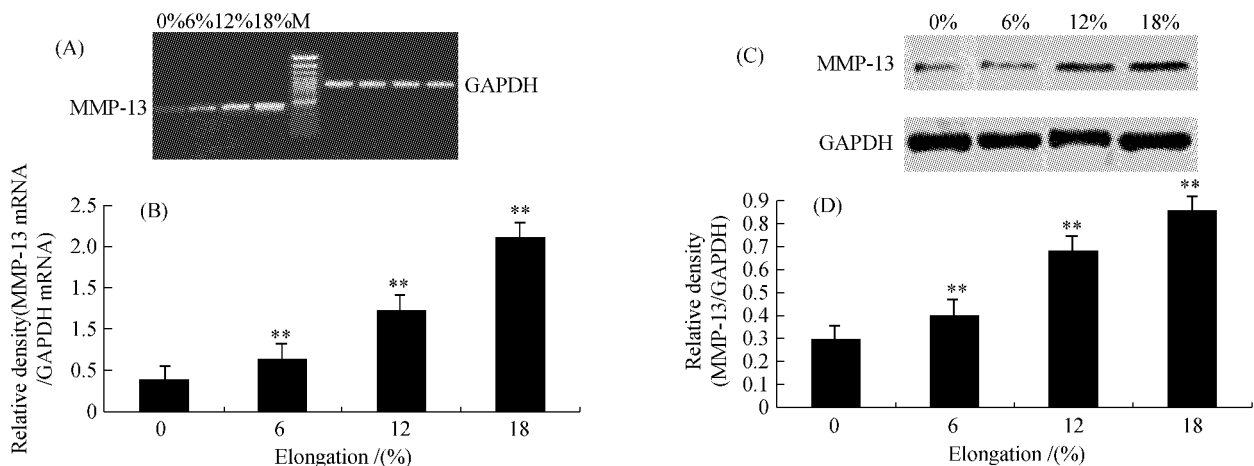


图1 不同强度牵张应力对人牙周膜细胞 MMP-13mRNA 及蛋白表达的影响 (A) RT-PCR 琼脂糖凝胶电泳结果,(B) MMP-13mRNA 相对光密度值(MMP-13 mRNA /GAPDH mRNA), (C) Western Blotting 蛋白电泳结果, (D) MMP-13 相对光密度值(MMP-13/GAPDH)。单因素方差对数进行分析。各组间比较有显著性差异(** $P < 0.01$)

Fig.1 Effect of different magnitudes of mechanical strain on MMP-13 mRNA and protein levels in human periodontal ligament cells (A) Agarose gel electrophoresis of the RT-PCR products using specific primers for MMP-13 or GAPDH, (B) MMP-13 mRNA expression levels normalized to GAPDH, (C) Immunoblot analysis of MMP-13 and GAPDH, (D) MMP-13 protein expression levels normalized to GAPDH. Significant differences from the 0% culture are shown by ANOVA and *t* test (** $P < 0.01$)

2.2 不同强度牵张应力对人牙周膜细胞 TIMP-1 mRNA 及蛋白表达的影响

RT-PCR 及 Western Blotting 结果显示,人牙周膜细胞 TIMP-1 mRNA 及蛋白表达随着机械牵张应力的增大(0%、6%、12%、18%)而明显增加(见图

2A、C)。以 GAPDH 为参照,加力 24 h 后,TIMP-1 / GAPDH 的相对光密度值,随加载形变率的增大而明显增大,各组间比较有显著性差异($P < 0.01$)(见图 2B、D)。

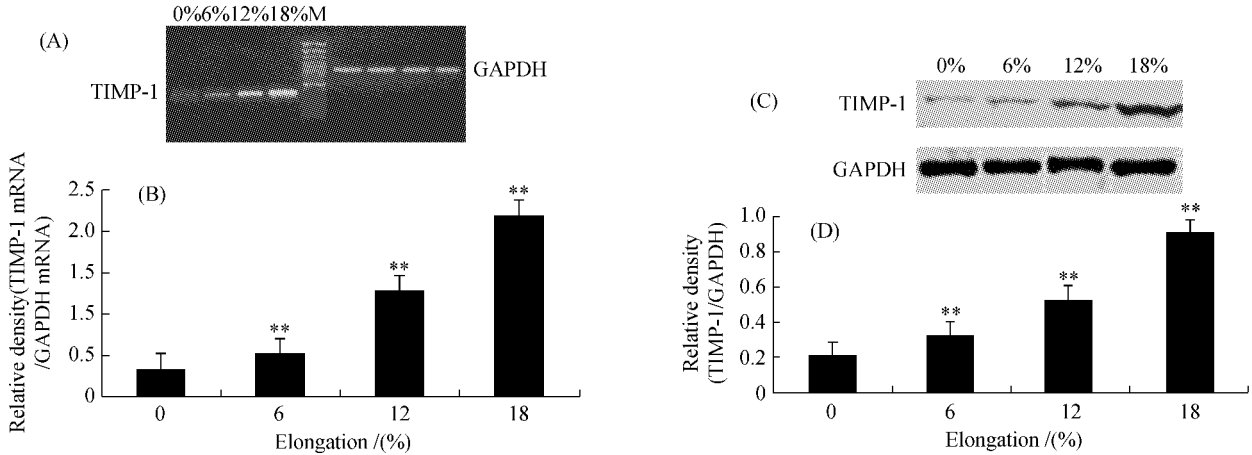


图2 不同强度牵张应力对人牙周膜细胞 TIMP-1 mRNA 及蛋白表达的影响 (A) RT-PCR 琼脂糖凝胶电泳结果,(B)TIMP-1 mRNA 相对光密度值(TIMP-1 mRNA /GAPDH mRNA),(C) Western Blotting 蛋白电泳结果,(D) TIMP-1 相对光密度值(TIMP-1 /GAPDH)。单因素方差对数据进行分析。各组间比较有显著性差异(** $P < 0.01$)

Fig.2 Effect of different magnitudes of mechanical strain on TIMP-1 mRNA and protein levels in human periodontal ligament cells (A) Agarose gel electrophoresis of the RT-PCR products using specific primers for TIMP-1 or GAPDH, (B) TIMP-1 mRNA expression levels normalized to GAPDH, (C) Immunoblot analysis of TIMP-1 and GAPDH, (D) TIMP-1 protein expression levels normalized to GAPDH. Significant differences from the 0% culture are shown by ANOVA and *t* test (** $P < 0.01$)

2.3 抑制剂对机械牵张应力作用下人牙周膜细胞 MMP-13 mRNA 表达的影响

RT-PCR 结果显示(见图 3),PD098059 可明显

抑制机械牵张力作用下 MMP-13 mRNA 表达的增加。PD098059 是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)中细胞外信号调节激

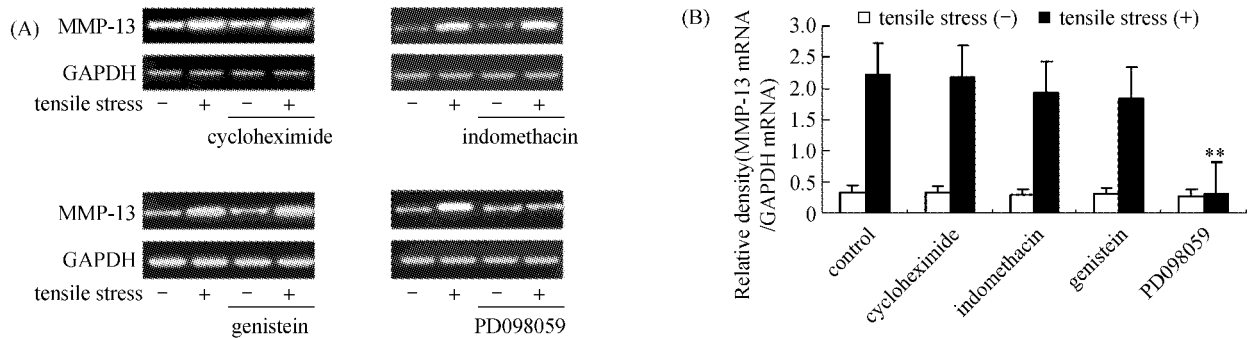
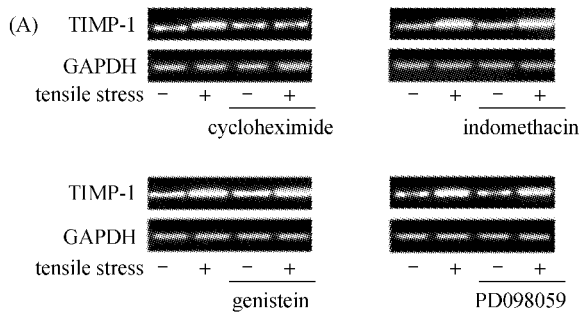


图3 抑制剂对机械牵张应力作用下人牙周膜细胞 MMP-13mRNA 表达的影响 (A)人牙周膜细胞在加载(+)和非加载(-)状态下,不同抑制剂对 MMP-13mRNA 表达影响的 RT-PCR 琼脂糖凝胶电泳结果,(B)MMP-13mRNA 相对光密度值(MMP-13 mRNA /GAPDH mRNA)。方差分析,PD098059 组与其他加载组间比较有显著性差异(** $P < 0.01$)

Fig.3 Effects of inhibitors on tensile strain-induced expression of MMP-13 mRNA in human periodontal ligament cells (A) Agarose gel electrophoresis of MMP-13 and GAPDH RT-PCR products when the cells were cultured with (+) or without (-) loading with tensile stress, (B) MMP-13 mRNA expression levels normalized to GAPDH. ** Indicates a significant difference from the stress (+) culture ($P < 0.01$) as determined by *t* test

酶(extracellular-signal regulated kinase, ERK1/2)途径的特异性抑制剂,实验结果表明,机械牵张力诱导人牙周膜细胞 MMP-13 表达增加是通过细胞外信号调节激酶-丝裂原活化蛋白激酶(ERK-MAPK)途径。



2.4 抑制剂对机械牵张应力作用下人牙周膜细胞 TIMP-1 mRNA 表达的影响

RT-PCR 结果显示(见图4),放线菌酮(cycloheximide)可明显抑制机械牵张力诱导的人牙周膜

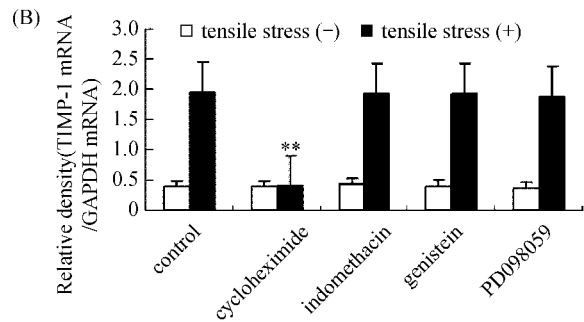


图4 抑制剂对机械牵张应力作用下人牙周膜细胞 TIMP-1 mRNA 表达的影响 (A)人牙周膜细胞在加载(+)和非加载(-)状态下,不同抑制剂对 TIMP-1 mRNA 表达影响的 RT-PCR 琼脂糖凝胶电泳结果。(B)TIMP-1 mRNA 相对光密度值(TIMP-1 mRNA /GAPDH mRNA)。方差分析,放线菌酮(cycloheximide)组与其他加载组间比较有显著性差异(** $P < 0.01$)

Fig. 4 Effects of inhibitors on tensile strain-induced expression of TIMP mRNA in human periodontal ligament cells (A) Agarose gel electrophoresis of TIMP-1 and GAPDH RT-PCR products when the cells were cultured with (+) or without (-) loading with tensile stress. (B) TIMP-1 mRNA expression levels normalized to GAPDH. ** Indicates a significant difference from the stress (+) culture ($P < 0.01$) as determined by *t* test

细胞 TIMP-1 mRNA 表达的增加。放线菌酮是新生蛋白的抑制剂,实验结果表明,机械牵张力诱导人牙周膜细胞 TIMP-1 表达的增加是通过新生蛋白途径。

3 讨论

牙周膜细胞形态、增殖、分化以及细胞因子和细胞外基质代谢等诸多因素都存在着机械力调控机制以适应牙周组织力学刺激下修复重建的动态平衡。牙周膜细胞和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是牙周膜的主要成分,牙周膜 ECM 主要包括胶原、非胶原蛋白、蛋白多糖等物质。在牙周膜发育、牙齿移动、牙周组织创伤修复过程中,牙周膜细胞构成一个精密的更新体系;在一定条件下,这些细胞分裂、增殖、迁移、分化,通过对 ECM 新陈代谢的影响,从而保证牙周膜内环境的稳定,实现牙周组织的正常改建。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一组依赖二价金属阳离子的内肽酶,是机体内调控 ECM 代谢的重要蛋白酶之一。机体内 MMPs 活性至少受 5 种形式的调节,包括转录水平的调节、潜酶活化、特异性组织抑制因子、其他抑制因子和负反馈调节。其中 MMPs 特异性组织抑

制剂 TIMPs 是其活性的重要内源性调节因子^[1-3]。ECM 的正常生理代谢依赖于 MMPs 及 TIMPs 两者之间的动态平衡关系,一旦平衡破坏,会引发各种病理过程。基质金属蛋白酶-13 是人体内最重要的蛋白酶之一,属于基质金属蛋白酶超家族成员中胶原酶的一种。其主要功能是分解细胞外基质,参与人体多种生理和病理过程。大量研究表明^[2-3,9-10], MMP-13 与牙周病的发生、发展及转归密切相关,是目前牙周病研究较多的胶原酶指标,可作为判断牙周炎活动进展的标志之一。体外研究亦发现^[3],在炎性细胞因子白介素 1 α (IL-1 α)与肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的作用下人牙周膜细胞表达 MMP-13 水平增加。文献[6,7]中的研究表明,在正畸牙齿移动过程中牙周膜细胞高度表达 MMP-13,说明 MMP-13 在牙周组织应力改建过程中发挥着重要作用。然而应力作为调节牙周组织改建的重要影响因素,体外牙周膜细胞在不同强度牵张应力状态下表达 MMP-13 及 TIMP-1 状况如何,以及牵张应力对牙周膜细胞 MMP-13/TIMP-1 表达影响的信号转导途径并不清楚。本研究发现:当给体外人牙周膜细胞施加 6%、12%、18% 形变率牵张应力作用下, MMP-13 与

TIMP-1 mRNA 及蛋白的表达显著增强,且其表达和力的大小密切相关,随着机械牵张应力的增大,其表达明显增加。表明不同强度的机械应力可以通过对牙周膜细胞 MMP-13/TIMP-1 表达的影响,调节牙周膜细胞外基质的代谢,从而影响牙周组织在应力状态下的修复重建过程。

应力作为细胞分子调控的一种刺激因子,是影响细胞结构和功能的重要的外界信息,而引起细胞机械——生物信号转导的复杂通路,不是单一的信息分子与单一受体的简单作用,而是多种因素通过细胞膜表面的多种通道综合作用的结果^[11]。牙周膜细胞作为应力敏感细胞是通过什么途径将机械信号转化为生物信号,影响 MMP-13 与 TIMP-1 的表达,从而调节 ECM 代谢的,人们还并不清楚。Yang 等^[12]研究发现:机械力可诱导成骨细胞(MC3T3-E1)MMP-13 的表达增加,并且认为机械牵张力作用下成骨细胞 MMP-13 表达的变化是通过 MAPK 细胞外信号调节激酶途径实现的。牙周膜细胞具有成骨细胞样特性,本研究发现,机械牵张应力作用下 MMP-13 表达的增加可被 PD098059 所抑制。PD098059 是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)中细胞外信号调节激酶(extracellular-signal regulated kinase, ERK1/2)途径的特异性抑制剂,因此本研究认为:机械牵张应力作用于牙周膜细胞,通过丝裂原活化蛋白激酶中的细胞外信号调节激酶(ERK-MAPK)途径引起 MMP-13 表达的改变。这和 Yang 等的实验结果相似。本研究还发现机械牵张应力作用下 TIMP-1 表达的增加可被放线菌酮(cycloheximide)抑制,而放线菌酮是新生蛋白合成的抑制剂,说明机械牵张应力作用下 TIMP-1 表达的增加与细胞内某新生蛋白的合成有关,涉及复杂的通路,仍需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry [J]. *Circ Res*, 2003, 92(8):827-839.
- [2] Nishikawa M, Yamaguchi Y, Yoshitake K, *et al.* Effects of TNF α and prostaglandin E2 on the expression of MMPs in human periodontal ligament fibroblasts [J]. *J Periodontol Res*, 2002, 37(3):167-176.
- [3] Rossa Jr C, Liu M, Patil C, *et al.* MKK3/6-p38 MAPK negatively regulates murine MMP-13 gene expression induced by IL-1 β and TNF- α in immortalized periodontal ligament fibroblasts [J]. *Matrix Biol*, 2005, 24(7):478-888.
- [4] Kili M, Cox SW, Chen HY, *et al.* Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue [J]. *J Clin Periodontol*, 2002, 29(3):224-232.
- [5] Takaishi H, Kimura T, Dalal S, *et al.* Joint diseases and matrix metalloproteinases: a role for MMP-13 [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2008, 9(1): 47-54.
- [6] Leonardi R, Talic NF, Loreto C. MMP-13 (collagenase 3) immunolocalisation during initial orthodontic tooth movement in rats [J]. *Acta histochemica*, 2007, 109:215-220.
- [7] Takahashi I, Nishimura M, Onodera K, *et al.* Expression of MMP-8 and MMP-13 genes in the periodontal ligament during tooth movement in rats [J]. *J Dent Res*, 2003, 82(8):646-51.
- [8] Tang L, Lin Z, Li Y. Effects of different magnitudes of mechanical strain on Osteoblasts in vitro [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 344: 122-128.
- [9] Leivonen SK, Chantry A, Hakkinen L, *et al.* Smad3 mediates transforming growth factor- β -induced collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) expression in human gingival fibroblasts. Evidence for cross-talk between Smad3 and p38 signaling pathways [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(48): 46338-46346.
- [10] Hernandez M, Valenzuela MA, Lopez-Otin C, *et al.* Matrix metalloproteinase-13 is highly expressed in destructive periodontal disease activity [J]. *J Periodontol*, 2006, 77(11): 1863-1870.
- [11] 成敏,陈槐卿,李毅,等. 流体低剪切力上调内皮细胞 IL-8 基因表达的细胞内信号转导途径分析 [J]. *医用生物力学*, 2007, 22(1): 8-14.
- [12] Yang CM, Chien CS, Yao CC, *et al.* Mechanical strain induces collagenase-3 (MMP-13) expression in MC3T3-E1 osteoblastic cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(21):22158-22165.