

文章编号:1004-7220(2017)04-0325-06

淫羊藿苷对过载损伤后成骨细胞凋亡和骨架的影响

刘迎节^{1,2}, 侍才洪², 陈凡平³, 郝宝辉^{2,4}, 李昊², 李军², 徐云强¹, 李瑞欣², 张西正²

(1. 天津医科大学总医院 骨科, 天津 300052; 2. 军事医学科学院 卫生装备研究所, 天津 300161;
3. 石家庄市中医院 药剂科, 石家庄 050051; 4. 吉林大学白求恩第一医院 骨科, 长春 130000)

摘要: **目的** 研究淫羊藿苷对过载损伤后成骨细胞的凋亡和细胞骨架的影响。**方法** 应用4点弯曲加载装置模拟过载损伤力学环境,建立过载损伤模型,依据力学加载前后是否加入药物干预,实验分为空白对照组、单纯给药组、单纯损伤组、预防给药组和损伤治疗组。应用细胞流式术进行细胞凋亡检测。应用特异性荧光染料分别标记微丝蛋白和细胞核,在激光共聚焦显微镜下观察细胞骨架的变化。**结果** 与对照组比,过载损伤组的凋亡率最高,单纯给药组最低($P < 0.05$);在过载处理组中,与单纯过载损伤组比,预防给药组的凋亡率最低($P < 0.05$)。单纯过载损伤组的细胞皱缩变形,微丝排列紊乱,骨架排列疏松,轮廓模糊,骨架甚至出现破碎等现象。预防给药组细胞骨架形态变化不大,细胞核未见明显变化。**结论** 淫羊藿苷可以在一定程度上抑制过载损伤后成骨细胞的凋亡,维持细胞骨架稳定。

关键词: 过载; 成骨细胞; 淫羊藿苷; 凋亡; 细胞骨架

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2017.04.005

The influence of icariin on apoptosis and cytoskeleton of osteoblasts in response to overload damage

LIU Ying-jie^{1,2}, SHI Cai-hong², CHEN Fan-ping³, HAO Bao-hui^{2,4}, LI Hao², LI Jun², XU Yun-qiang¹, LI Rui-xin², ZHANG Xi-zheng² (1. Department of Orthopedics, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China; 2. Institute of Medical Equipment, Academy of Military Medical Sciences, Tianjin 300161, China; 3. Department of Pharmacy, Shijiazhuang Traditional Chinese Medicine Hospital, Shijiazhuang 050051, China; 4. Department of Orthopedics, First Hospital of Jinlin University, Changchun 130000, China)

Abstract: Objective To study the effect of icariin on apoptosis and cytoskeleton of osteoblasts in response to overload damage. **Methods** The four-point bending loading device was used to simulate the mechanical environment of overload damage and establish the cell overload damage model. According to whether the drugs were added before or after mechanical loading, the experiment was divided into blank control group, icariin group, damage group, damage prevention group and damage treatment group. Cell apoptosis was detected by flow cytometry. The specific fluorescent dyes were used to label the actin filament and the nucleus, and the changes of cytoskeleton were observed under laser scanning confocal microscope. **Results** Compared with the control group, the apoptosis rate of the damage group was the highest, and the icariin group was the lowest ($P < 0.05$). Compared with the damage group, the apoptosis rate of the damage prevention group was the lowest ($P < 0.05$). The damage group showed cell shrinkage deformation, microfilaments disorganization, loosely arranged skeleton with vague outline, even broken skeleton. The morphological changes of cytoskeleton in damage pre-

收稿日期:2016-08-24; 修回日期:2016-09-25

基金项目:国家自然科学基金项目(11432016,31370942,31470935)。

通信作者:李瑞欣,副研究员,E-mail:limxin@163.com;徐云强,副教授,E-mail:docxu@sina.com。

vention group were not significant, and there was no obvious change in cell nucleus. **Conclusions** Icariin can inhibit the apoptosis of osteoblasts after overload injury and maintain the stability of cytoskeleton to some extent.

Key words: Overload; Osteoblast; Icariin; Apoptosis; Cytoskeleton

作为维持人体生命的重要器官,骨是人体承担力学载荷的主要结构,对矿物代谢平衡起至关重要的作用。骨组织细胞主要包括破骨细胞、成骨细胞和骨细胞。正常骨骼生长代谢处于吸收与生长重建的持续过程,成骨细胞的骨形成作用和破骨细胞的骨吸收作用处于微妙的动态平衡,两者相互影响,相互协作完成。这种动态平衡状态常受到力学刺激、激素和营养等因素的影响^[1-3]。在生理条件下,骨处于最适力学环境中,骨形成与骨吸收处于一种动态平衡状态,骨组织处在静止期;随着骨力学环境发生变化,动态平衡发生相应改变,骨组织也随之发生变化,通过骨形成和骨吸收改变,最终在新的力学条件下达到新的平衡。Frost^[4]骨应变理论认为,骨生理应变水平为500~2 500 $\mu\epsilon$,但骨可以耐受10 000~30 000 $\mu\epsilon$,其中3 000~5 000 $\mu\epsilon$ 为生理性过载应变,过载力学环境是指应变水平大于5 000 $\mu\epsilon$,或生理性过载应变水平下长期循环加载的环境,亦即疲劳载荷。在很多情况下,骨组织常处于力学过载环境下,例如,负重训练的士兵、高强度训练的运动员和搬运工人等^[5-6],他们经常出现骨疼痛、骨炎症等疲劳性骨损伤症状。过载导致的疲劳性骨损伤已成为严重困扰高强度运动训练者和重体力劳动者正常工作的医学界难题。

细胞凋亡又称程序性细胞死亡,是细胞在体内外因素共同诱发下,受基因调控激活内源性DNA内切酶而引起细胞发生的一种主动的程序性死亡过程,它与细胞的增殖、分化一样,对维持机体内环境稳定具有重要的生物学意义。成骨细胞凋亡与骨组织生长、发育、损伤修复等生命活动密切相关,同时它在维持成骨细胞的数目和功能上发挥重要作用。

细胞骨架是处于细胞膜内侧面的蛋白质纤维网架结构。它由微丝、微管和中间纤维共同组成^[7],不仅在保持细胞形态、维持细胞内在结构有序性上发挥重要作用,而且与细胞能量转换、物质运输和信号传递等生物活动密切相关^[8]。细胞受到力学刺激后,只有将机械刺激转变成相应的化学信号传入细胞内,才能引起一系列细胞反应。在整个信号传

导过程中,细胞骨架在感应力学刺激和传递信号上发挥着重要的作用。

淫羊藿苷($C_{33}H_{40}O_{15}$;分子质量:676.67)是传统中药淫羊藿的有效药理成分,作为中药被用于治疗各种疾病已经有2 000多年的历史。现代药理学认为,淫羊藿苷具有很多药理学生物活性,例如预防骨质疏松、保护神经元、抗癌和抗抑郁等^[9-10]。目前,国内外大量研究报道认为,淫羊藿苷可以促进成骨细胞增殖和分化^[11]。

本文通过4点弯曲力学加载装置建立过载损伤模型,用淫羊藿苷干预治疗过载损伤的成骨细胞,并通过细胞流式技术和激光共聚焦显微镜检测细胞的凋亡水平和细胞骨架的改变。

1 材料与方法

1.1 材料

淫羊藿苷购自天津市药物检测所,细胞凋亡试剂盒、碱性磷酸酶(ALP)测试盒、总蛋白测定试剂盒、TRITC标记的鬼笔环肽购自南京凯基生物,MTT试剂购自Sigma公司(美国),MC3T3-E1细胞购自中国协和医科大学基础医学研究所。

1.2 细胞培养

MC3T3-E1细胞采用含L-谷氨酰胺、丙酮酸钠和Hepes配方的 α -MEM的培养基,加入100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素、100 U/L青霉素、10%胎牛血清。细胞的培养条件为37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 。待细胞长至90%后,用含EDTA的胰蛋白酶消化分离种植于细胞皿上,接种密度为 $2 \times 10^4/\text{cm}^2$ 。

1.3 MTT法检测细胞增殖

将生长良好的MC3T3-E1细胞以 $2 \times 10^4/\text{cm}^2$ 密度接种于6孔板上,培养24 h后分别加入浓度为 $0, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}$ mol/L的淫羊藿苷,与药物共培养72 h后终止培养,检测细胞增殖。终止培养前4 h,加入浓度为5 g/L的MTT试剂,终止培养时弃上清液,加入DMSO,振荡摇匀5 min,用酶标仪检测波长为490 nm的OD值。

1.4 ALP 活性测定

将生长良好的 MC3T3-E1 细胞以 $2 \times 10^4/\text{cm}^2$ 密度接种于 6 孔板上,培养 24 h 后分别加入浓度为 0 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} mol/L 的淫羊藿苷,与药物共培养 72 h 后终止培养,测 OD 值。终止培养后,用胰蛋白酶消化提取细胞,将提取的细胞加入 0.1% Triton-100 放 4°C 冰箱过夜,细胞过夜处理后,再用超声碎波仪裂解细胞,收集上清液,然后用 BCA 试剂盒测蛋白浓度,再用 ALP 试剂盒测吸光值(520 nm),计算 ALP 活性。

1.5 过载力学加载及药物干预

细胞培养 24 h 后,采用 4 点弯曲力学加载装置,对 MC3T3-E1 细胞分别施加不同大小拉伸力学刺激,加载条件分别为 $3\ 000\ \mu\text{E}$ 、 $1.5\ \text{Hz}$ 、 $6\ \text{h/d}$ 和 $5\ 000\ \mu\text{E}$ 、 $0.5\ \text{Hz}$ 、 $0.5\ \text{h/d}$,并给予最适浓度的淫羊藿苷进行干预,连续加载 3 d。

1.6 实验分组

实验分为 8 组:空白组(无力学加载和无药物干预);单纯给药组(有药物干预无力学加载);单纯损伤组(无药物干预但有力学加载损伤,力学损伤条件分别为 $3\ 000\ \mu\text{E}$ 、 $1.5\ \text{Hz}$ 、 $6\ \text{h/d}$ 和 $5\ 000\ \mu\text{E}$ 、 $0.5\ \text{Hz}$ 、 $0.5\ \text{h/d}$);预防给药组(在力学加载损伤前给药干预);损伤给药组(在力学加载损伤后给药处理)。

1.7 流式细胞仪检测成骨细胞凋亡

在力学拉伸刺激和淫羊藿苷干预治疗后,用不含 EDTA 的胰蛋白酶消化收集细胞,然后运用 Annexin V-FITC/PI (BD Pharmingen 公司,美国) 双染色法和流式细胞技术检测成骨细胞的凋亡水平。

1.8 细胞骨架的激光共聚焦显微镜检测

在过载力学加载和淫羊藿苷干预治疗后,弃培养液,用 37°C 预热的 PBS 清洗 2 次,4% 多聚甲醛室温固定细胞 10 min, PBS 清洗 3 次,再用 0.5% Triton-100 溶液透化处理 5 min,然后加入配制好的 TRITC 标记的鬼笔环肽工作液室温避光孵育 30 min,最后再加入一定量的 DIPI 溶液孵育 1 min,处理完后直接在共聚焦显微镜下进行观察。

1.9 统计学分析

应用统计软件 SPSS 13.0 进行统计学处理,数据以均数 \pm 标准差表示,不同组间比较采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度淫羊藿苷对成骨细胞增殖的影响

如图 1 所示,淫羊藿苷能促进成骨细胞的增殖,并呈浓度依赖性。浓度为 $0.1\ \mu\text{mol/L}$ 的淫羊藿苷能显著促进成骨细胞的增殖,而浓度为 $0.1\ \text{mmol/L}$ 的淫羊藿苷明显抑制成骨细胞的增殖($P < 0.05$)。

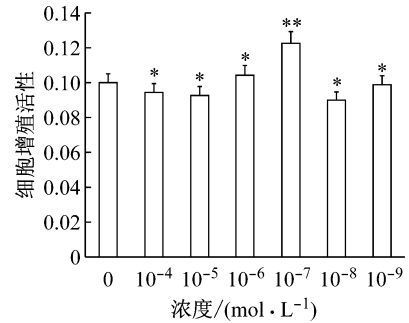


图 1 不同浓度淫羊藿苷对成骨细胞增殖的影响(与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Fig. 1 Effects of different icariin concentration on proliferation of osteoblasts

2.2 不同浓度淫羊藿苷对成骨细胞分化的影响

如图 2 所示,浓度为 $0.1\ \mu\text{mol/L}$ 的淫羊藿苷能明显提高成骨细胞的 ALP 活性($P < 0.05$)。因此,浓度为 $0.1\ \mu\text{mol/L}$ 是淫羊藿苷促进成骨细胞增殖和分化的最适浓度。

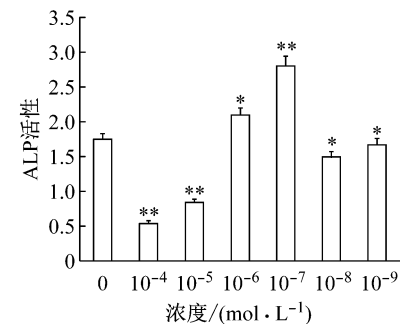


图 2 不同浓度淫羊藿苷对成骨细胞 ALP 活性的影响(与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Fig. 2 Effects of different icariin concentration on ALP activity in osteoblasts

2.3 淫羊藿苷对过载损伤后成骨细胞凋亡的影响

如图 3 所示,与对照组相比,过载损伤组的凋亡率最高,单纯给药组最低($P < 0.05$)。在过载处理

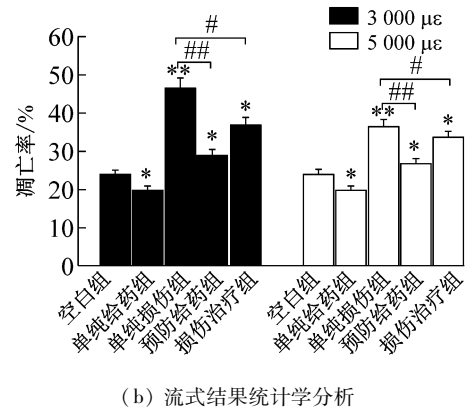
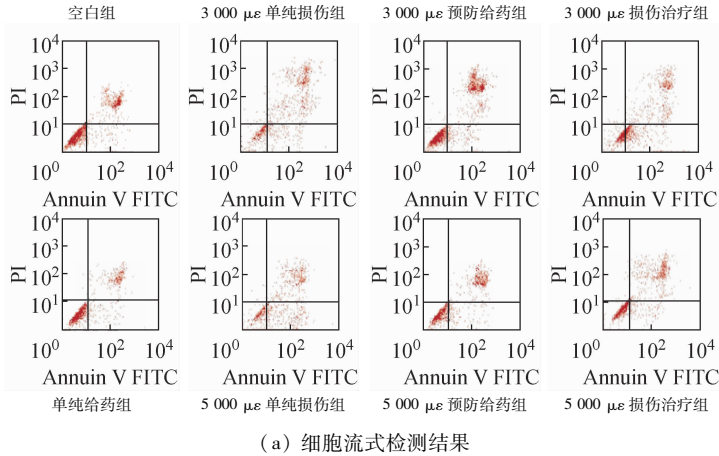


图3 淫羊藿苷对过载损伤后成骨细胞凋亡的影响 (与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与损伤组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$)

Fig. 3 Effects of icariin on apoptosis of osteoblasts after overload injury (a) Cell flow detection results, (b) Statistical analysis of the flow results

组中,与过载损伤组相比,预防给药组的凋亡率最低 ($P < 0.05$)。

2.4 淫羊藿苷对过载损伤后成骨细胞骨架的影响

如图4所示,未加其他因素处理时,成骨细胞大部分呈典型的梭形、三角形、多角形等不规则形态分

布。与空白对照组相比,单纯损伤组的细胞皱缩变形,伪足收缩变短,微丝排列紊乱,骨架排列疏松、方向性差,轮廓变得模糊,骨架甚至出现破碎等现象。预防给药组细胞骨架形态变化不大,细胞核未见明显变化。

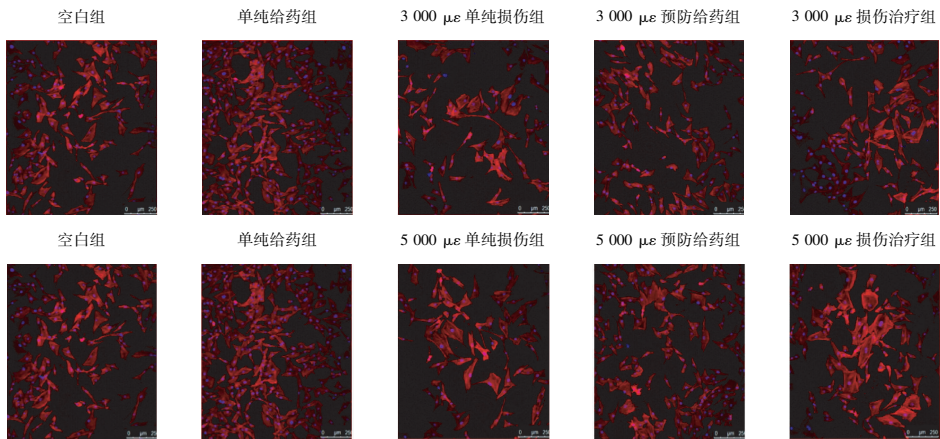


图4 淫羊藿苷对过载损伤后成骨细胞骨架的影响

Fig. 4 Effects of icariin on cytoskeleton of osteoblasts after overload injury

3 讨论

众所周知,骨通过改变其自身的结构和功能以适应不同机械力学载荷的刺激^[12]。体外实验表明,周期性拉伸刺激可导致细胞外基质和成骨细胞生物活性发生改变。例如,力学刺激可影响成骨细胞的增殖和分化能力^[13]。目前,过载力学载荷环境下骨

的力学生物学研究被广泛重视。大量研究表明,当力学载荷过高时,骨组织产生较大应变,可使骨骼产生微裂缝,且成骨作用难以及时修补这些破坏,从而导致骨再吸收产生,伴随编织骨形成^[14]。本课题组前期研究表明,5 000 $\mu\epsilon$ 过载力抑制成骨细胞的增殖^[15]。本研究通过4点弯曲装置模拟过载力学环境,采用药物淫羊藿苷干预成骨细胞,并通过检测细

细胞的凋亡情况和细胞骨架的变化,观察过载力学刺激对成骨细胞生物活性的影响和药物对受损细胞的修复作用。

淫羊藿苷是一种中药单体,具有雌激素样的作用且副作用小。大量研究表明,淫羊藿苷能促进雌激素的生物合成、提高 ALP 活性^[16],拮抗自由基诱导的氧化损伤作用^[17],而且能够促进间充质干细胞的成骨分化^[18]和成骨细胞的形成^[19]。淫羊藿苷还能够保护体外脂多糖诱导小鼠软骨细胞的炎症反应^[20]和体内脂多糖诱导的小鼠急性炎症反应^[21]。因此,淫羊藿苷干预治疗促进成骨细胞分化和骨形成,同时抑制自由基-炎症反应,可能成为对抗过载力学环境所致骨损伤的重要措施之一。本研究关于不同浓度淫羊藿苷对正常成骨细胞的增殖和分化的影响的结果表明,0.1 $\mu\text{mol/L}$ 是其促进成骨细胞增殖分化的最佳浓度,并采用最适浓度的淫羊藿苷干预过载损伤的成骨细胞。

细胞凋亡是由多因素调控的正常生理现象,和细胞的增殖、分化一样,都是生命活动的正常组成部分,其在机体内环境稳定与疾病发生中起着重要的调控作用。目前,国内外研究认为,骨中各细胞的生命周期是骨重建过程中一个至关重要的决定因素,其成骨细胞的凋亡可能是骨形成率的决定因素。成骨细胞的数量决定了骨形成率,而其数量又是由成骨细胞前体细胞的增殖率和成骨细胞的生命周期共同决定的^[22]。因此,促进成骨细胞的增殖,减少成骨细胞的凋亡率,在对抗过载力学环境引起的骨损伤研究中有重要意义。本实验研究结果显示,与空白对照组相比,单纯过载损伤组的凋亡率最高,单纯加药组的凋亡率明显低于对照组($P < 0.05$)。在两种过载损伤方式上,与单纯过载损伤组相比,预防给药组的凋亡率最低($P < 0.05$)。由此提示,在过载力学环境下,成骨细胞的凋亡率显著升高。其次,在药物淫羊藿苷的干预下,可以降低过载损伤后成骨细胞的凋亡率,预防给药的方式效果好于损伤后给药。

细胞骨架是细胞中的蛋白质纤维网架结构,在维持细胞运动和细胞形态等方面起了至关重要的作用。另外,细胞骨架也是细胞中发现最晚的组成部分,但其在生物学功能的研究进展上十分迅速。目前,国内外大量研究发现,细胞骨架与遗传物质的传

递、遗传信息的表达,即与细胞的分化、凋亡和癌变等细胞生理功能改变紧密相关^[23-24]。因此,细胞骨架结构是细胞生命活动信号调节的中介体。另一方面,在细胞发生凋亡的进程中,细胞在形态结构方面上可发生一系列变化,例如细胞与周围细胞群脱离,表面原有的细胞间桥接消失,染色质固缩,核糖体逐渐从粗面内质网上脱离,凋亡小体形成。研究表明,这些形态学改变与细胞骨架的重排密切相关^[25]。本文研究结果表明,与空白对照组相比,单纯损伤组的细胞皱缩变形,伪足收缩变短,微丝排列紊乱,骨架排列疏松、方向性差,轮廓变得模糊,骨架甚至出现破碎等现象。其次,在两种过载损伤方式上,与单纯过载损伤组相比,预防给药组细胞骨架形态变化不大,大部分呈梭形、多角形等不规则形态分布,细胞核未见明显改变。对细胞骨架的影响与上述细胞凋亡结果相一致,由此可见,过载力学刺激使细胞骨架系统发生紊乱,而在药物淫羊藿苷干预治疗下,维持了细胞骨架稳定,降低了成骨细胞的凋亡率,说明淫羊藿苷可能通过影响成骨细胞骨架重排,将药物作用信号通过骨架系统传递到细胞内,从而引起细胞凋亡率的改变。其中的生物学机制还需进一步实验研究阐明,这将有助于充分认识临床上骨重建的过程和指导过载骨损伤的综合治疗。

4 结语

综上所述,过载力学刺激诱导了成骨细胞的凋亡,并且使细胞骨架系统发生紊乱,如骨架排列疏松、细胞轮廓变得模糊,甚至引起细胞破裂等变化;同时,在药物淫羊藿苷干预治疗下,降低了成骨细胞的凋亡率,并且使过载刺激后细胞骨架系统未发生明显紊乱改变。研究淫羊藿苷对过载成骨细胞的影响,能进一步揭示淫羊藿苷对过载骨损伤的预防及治疗机制,对未来传统中药(如淫羊藿苷)治疗极端过载力学环境下骨损伤具有重要的现实意义。

参考文献:

- [1] SIMS NA, GOOI JH. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2008, 19(5): 444-451.
- [2] KIKUTA J, KAWAMURA S, OKIJI F, et al. Sphingosine-1-phosphate-mediated osteoclast precursor monocyte migra-

- tion is a critical point of control in antbone-resorptive action of active vitamin D [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(17): 7009-7013.
- [3] 姚晓琳, 李良. 雌激素受体在骨生长、代谢及其力学响应中的作用和机制 [J]. 医用生物力学, 2013, 28(3): 357-362. YAO XL, LI L. The role and mechanism of estrogen receptor in bone growth, metabolism and mechano-responsiveness [J]. J Med Biomech, 2013, 28(3): 357-362.
- [4] FROST HM. Bone "mass" and the "mechanostat": A proposal [J]. Anat Rec, 1987, 219(1): 1-9.
- [5] EDWARDS WB, TAYLOR D, RUDOLPHI TJ, *et al.* Effects of running speed on a probabilistic stress fracture model [J]. Clin Biomech, 2010, 25(4): 372-377.
- [6] BURR DB, MILGROM C, FYHRIE D, *et al.* *In vivo* measurement of human tibial strains during vigorous activity [J]. Bone, 1996, 18(5): 405-410.
- [7] 张鹏, 房兵, 江凌勇. 机械刺激对成骨细胞骨架的影响 [J]. 医用生物力学, 2011, 26(1): 87-91. ZHANG P, FANG B, JIANG LY. Effect of mechanical stimulation on osteoblast cytoskeleton [J]. J Med Biomech, 2011, 26(1): 87-91.
- [8] 袁聿军. 细胞骨架的基本成分与功能 [J]. 生物学教学, 2006, 31(4): 5-8.
- [9] PAN Y, ZHANG WY, XIA X, *et al.* Effects of icariin on hypothalamic-pituitary-adrenal axis action and cytokine levels in stressed Sprague-Dawley rats [J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(12): 2399-2403.
- [10] LI F, GONG QH, WU Q, *et al.* Icariin isolated from epimedium brevicornum maxim attenuates learning and memory deficits induced by d-galactose in rats [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2010, 96(3): 301-305.
- [11] 王强松, 李昊, 李瑞欣, 等. 力学刺激与淫羊藿苷在骨重建耦合作用机制的研究 [J]. 医用生物力学, 2015, 30(S): 16.
- [12] OZCIVICI E, LUU YK, ADLER B, *et al.* Mechanical signals as anabolic agents in bone [J]. Nat Rev Rheumatol, 2010, 6(1): 50-59.
- [13] TANG LL, XIAN CY, WANG YL. The MGF expression of osteoblasts in response to mechanical overload [J]. Arch Oral Biol, 2006, 51(12): 1080-1085.
- [14] UTHGENANNT BA, SILVA MJ. Use of the rat forelimb compression model to create discrete levels of bone damage *in vivo* [J]. J Biomech, 2007, 40(2): 317-324.
- [15] YAN YX, GONG YW, GUO Y, *et al.* Mechanical strain regulates osteoblast proliferation through integrin-mediated ERK activation [J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35709.
- [16] YANG L, LU D, GUO J, *et al.* Icariin from epimedium brevicornum maxim promotes the biosynthesis of estrogen by aromatase (CYP19) [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 145(3): 715-721.
- [17] LI WW, GAO XM, WANG XM, *et al.* Icariin inhibits hydrogen peroxide-induced toxicity through inhibition of phosphorylation of JNK/p38 MAPK and p53 activity [J]. Mutat Res, 2011, 708(1-2): 1-10.
- [18] CHEN KM, GE BF, MA HP, *et al.* Icariin, a flavonoid from the herb epimedium enhances the osteogenic differentiation of rat primary bone marrow stromal cells [J]. Pharmazie, 2005, 60(12): 939-942.
- [19] HSIEH TP, SHEU SY, SUN JS, *et al.* Icariin isolated from Epimedium pubescens regulates osteoblasts anabolism through BMP-2, SMAD4, and Cbfa1 expression [J]. Phytomedicine, 2010, 17(6): 414-423.
- [20] LIU MH, SUN JS, TSAI SW, *et al.* Icariin protects murine chondrocytes from lipopolysaccharide-induced inflammatory responses and extracellular matrix degradation [J]. Nutr Res, 2010, 30(1): 57-65.
- [21] XU CQ, LIU BJ, WU JF, *et al.* Icariin attenuates LPS-induced acute inflammatory responses: Involvement of PI3K/Akt and NF-kappaB signaling pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 642(1-3): 146-153.
- [22] YUDOH K, MATSUNO H. The role of telomerase in joint deterioration in rheumatoid arthritis [J]. Drugs Today (Barc), 2001, 37(9): 595-606.
- [23] WHITE SR, WILLIAMS P, WOJCIK KR, *et al.* Initiation of apoptosis by actin cytoskeletal derangement in human airway epithelial cells [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2001, 24(3): 282-294.
- [24] MYKKANEN OM, GRONHOLM M, RONTY M, *et al.* Characterization of human palladin. A microfilament-associated protein [J]. Mol Biol Cell, 2001, 12(10): 3060-3073.
- [25] JANMEY PA. The cytoskeleton and cell signaling: Component localization and mechanical coupling [J]. Physiol Rev, 1998, 78(3): 763-781.