

· 论 著 ·

# 震荡流体剪切力通过 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖

张波<sup>1,2</sup> 杨利娟<sup>3</sup> 丁宁<sup>1,2</sup> 许田恩<sup>1,2</sup> 郭来威<sup>1,2</sup> 孟会强<sup>1,2</sup> 汪静<sup>2</sup> 王翠芳<sup>2</sup> 安丽萍<sup>2</sup> 马靖琳<sup>2</sup>  
夏亚一<sup>1\*</sup>

1. 兰州大学第二医院骨科, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省骨关节疾病研究重点实验室, 甘肃 兰州 730000

3. 焦作市第二人民医院妇科, 河南 焦作 454150

中图分类号: R312 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 10-1237-05

**摘要:** 目的 探讨震荡流体剪切力 (oscillatory shear stress, OSS) 通过 ERK5 信号通路在诱导成骨细胞增殖中发挥的作用。方法 对成骨 MC3T3-E1 细胞进行不同的处理, 分为正常组、OSS 组、XMD8-92 组和 OSS + XMD8-92 组。采用 MTT 实验分别测定 4 组细胞的增殖活性并绘制生长曲线; 蛋白免疫印迹法分别检测 P-ERK5、ERK5 和 Cyclin D1 等蛋白水平变化。结果 OSS 可显著增加成骨 MC3T3-E1 细胞增殖活性, 但此效应可被 ERK5 高选择性抑制剂 XMD8-92 阻断。OSS 可显著上调 Cyclin D1 的表达, 而 XMD8-92 可显著下调 OSS 诱导的 Cyclin D1 的表达。结论 OSS 通过激活 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖, Cyclin D1 是 ERK5 信号通路下游的重要靶点基因。

**关键词:** 震荡流体剪切力; Extracellular signal-regulated kinase 5; 成骨细胞; 增殖

## Oscillatory shear stress promotes MC3T3-E1 cells proliferation via ERK5 signaling pathway

ZHANG Bo<sup>1,2</sup>, YANG Lijuan<sup>3</sup>, DING Ning<sup>1,2</sup>, XU Tianen<sup>1,2</sup>, GUO Laiwei<sup>1,2</sup>, MENG Huiqiang<sup>1,2</sup>, WANG Jing<sup>2</sup>, WANG Cuifang<sup>2</sup>, AN Liping<sup>2</sup>, MA Jinglin<sup>2</sup>, XIA Yayi<sup>1\*</sup>

1. Institute of Orthopaedics, The Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2. Gansu Province Key Laboratory of Orthopedics, Lanzhou 730000, China

3. Department of Gynecological Oncology, The Second People's Hospital of Jiaozuo, Jiaozuo 454150, China

Corresponding author: XIA Yayi, Email: xiayayi1966@163.com

**Abstract:** **Objective** The effect of ERK5 pathway on oscillatory shear stress (OSS) increased MC3T3-E1 cells proliferation was explored. **Methods** MC3T3-E1 cells were treated with OSS, XMD8-92 alone, or in combination. The proliferation absorbance of osteoblasts was detected using MTT assay, the protein levels of Extracellular signal-regulated kinase 5 (ERK5), P-ERK5, and Cyclin D1 were evaluated with western blot analysis. **Results** OSS ( $0.6 \pm 12 \text{ dyn/cm}^2$ ) for 1h significantly enhanced osteoblasts proliferation, but the cellular proliferation was blocked by XMD8-92 (a highly selective inhibitor of ERK5 activity), suggesting that ERK5 is involved in OSS-induced osteoblasts proliferation. The protein levels of Cyclin D1 under OSS were elevated, but XMD8-92 markedly suppressed Cyclin D1 expression with exposure to OSS. **Conclusions** OSS promotes osteoblasts proliferation via ERK5 pathway, and Cyclin D1 is the crucial downstream target of ERK5 pathway.

**Key words:** Oscillatory shear stress; Extracellular signal-regulated kinase 5; Osteoblast; Proliferation

机械负荷作为一种普遍存在的生理性刺激, 对

骨重建非常重要。如果长期缺乏机械负荷刺激, 骨重建和骨吸收平衡将被打破, 最终导致骨质疏松, 例如长期卧床、关节制动或暴露于微重力环境下。成骨细胞能感受机械刺激并对其作出相应的反应: 增殖<sup>[1]</sup>、分化<sup>[2]</sup>和抑制凋亡<sup>[3]</sup>, 尤其对震荡流体剪切力 (oscillatory shear stress, OSS) 非常敏感<sup>[4]</sup>。目前,

基金项目: 国家自然科学基金 (81560361); 甘肃省自然科学基金 (1506RJZA240); 兰州大学第二医院院内博士科研基金 (ynbskyjj2015-2-9)

\* 通讯作者: 夏亚一, Email: xiayayi1966@163.com

杨利娟与张波具有同等贡献, 为并列第一作者

OSS 促进成骨细胞增殖的具体机制研究十分有限。ERK5 信号通路是 MAPK 信号家族新成员,广泛参与到细胞增殖、分化和抑制凋亡等生理过程中<sup>[5]</sup>。XMD8-92 是最新发现的高选择性 ERK5 活性抑制剂,它通过抑制 ERK5 活性抑制肿瘤细胞的增殖<sup>[6]</sup>。但是,ERK5 信号通路是否参与到 OSS 诱导的成骨细胞增殖还不清楚。我们实验室已经证实:ERK5 信号通路可被循环流体剪切力激活,从而参与促进成骨细胞增殖<sup>[1]</sup>、分化<sup>[2]</sup>和抑制凋亡<sup>[3]</sup>。但是 XMD8-92 是否能抑制 OSS 诱导的成骨细胞增殖还有待进一步证实。本实验将首次研究 OSS 是否通过激活 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖,而且我们将进一步探讨 Cyclin D1(细胞周期 G1/S 期转换关键调控点)表达上调是否参与到 OSS 诱导的 ERK5 信号通路,即是否 OSS 通过激活 ERK5 信号通路调控成骨细胞周期 G1/S 期的转换,从而促进成骨细胞增殖。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞培养和加载 OSS

小鼠成骨 MC3T3-E1 细胞来自中国医学科学院(北京)。α-MEM(Life Technologies, 美国)添加 10% 胎牛血清(PAN-Biotech, 德国)和 100 U/mL 青链霉素制成完全培养基。在含 5% CO<sub>2</sub> 的恒温箱中 37℃ 孵育细胞。流体力加载装置如前所述<sup>[3, 7]</sup>。种到 20 × 50 mm 盖玻片上培养的细胞在血清中静置 8 h 后,给予加载震荡流体力(0.6 ± 12 dyn/cm<sup>2</sup>)处理。

### 1.2 材料和方法

抗体:兔抗磷酸化 ERK5 Thr218/Tyr220 (1:1000, Cell Signaling Technology, 美国),兔抗 ERK5 (1:1000, Abcam, 英国),兔抗 Cyclin D1 (1:500, Abcam, 英国),兔抗 β-actin (1:800, Sigma, 美国),二抗山羊抗兔抗体 (1:5000, Invitrogen, 英国)。试剂:XMD8-92 (R&D Systems, 美国)。

### 1.3 MTT 实验

MC3T3-E1 细胞从盖玻片上消化下来并种植到 96 孔板里(20000 个细胞/孔)。接着用完全培养基培养 1、24、48、72 h。MTT (Sigma, 美国)溶液加入到每孔中在 37℃ 孵育 4 h。弃掉培养基并向每孔添加 0.2% 二甲基亚砜(DMSO)来溶解沉淀。增殖吸光度使用 ELx800UV reader (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, 美国)测量 490 nm 波长处吸收值。

### 1.4 蛋白免疫印迹实验

蛋白提取操作步骤如前所述<sup>[2, 8]</sup>。蛋白质浓度采用 BCA 定量试剂盒(碧云天公司)测量。每孔上样量约 50 μg,使用 8% ~ 12% SDS-PAGE 凝胶分离,并在低温条件下转移到 PVDF 膜上。然后在 5% 的牛血清白蛋白和脱脂奶粉中室温封闭 2 h,孵育一抗 4℃ 过夜。使用 TBST 漂洗 3 遍后孵育二抗室温 2 h。最后用 TBST 漂洗并滴加化学发光液(Super Signal West Pico Chemiluminescent Substrate, Thermo Fisher Scientific Inc., 美国)后使用 Versa Doc Imaging System (伯乐实验室,美国)拍照。采用 Image pro-Plus 6.0 软件测量灰度值。

### 1.5 统计学处理

所有数据采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。结果用均值 ± 标准差表示。MTT 实验采用双因素方差分析并选择 Sidak 检验。其余资料采用单因素方差分析并选择 Bonferroni 检验。 $P < 0.05$  表示有显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 OSS 促进 MC3T3-E1 细胞增殖

成骨 MC3T3-E1 细胞加载 OSS(0.6 ± 12 dyn/cm<sup>2</sup>)作用 1 h 后,增殖活性与正常组相比明显升高(图 1,  $P < 0.001$ )。

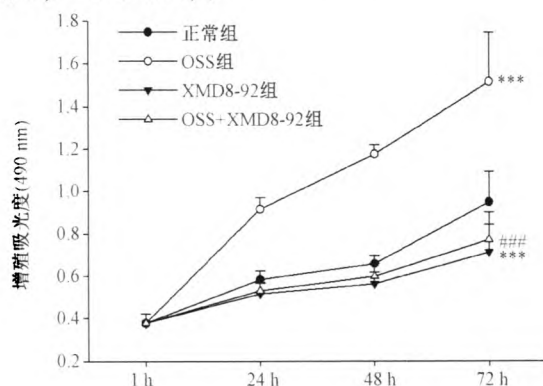


图 1 OSS、XMD8-92 或两者联合对成骨 MC3T3-E1 细胞增殖活性的影响

成骨细胞分别给予 OSS(0.6 ± 12 dyn/cm<sup>2</sup>)、5 μM XMD8-92 作用 1 h 或两者联合处理。6 次独立重复实验的结果用均值 ± 标准差表示

与正常组比较,\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ ;与 OSS 组比较,\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$

Fig. 1 Effects of OSS, XMD8-92 alone, or in combination on MC3T3-E1 cells proliferative viability

Osteoblasts were treated with OSS (0.6 ± 12 dyn/cm<sup>2</sup>), 5 μM XMD8-92 alone for 1 hour, or in combination. All data represent are the means ± SD of six independent experiments

## 2.2 OSS 激活 MC3T3-E1 细胞中的 ERK5 信号通路

成骨 MC3T3-E1 细胞加载 OSS ( $0.6 \pm 12 \text{ dyn/cm}^2$ ) 分别作用 0、5、15、30、45、60 min 后,磷酸化的

ERK5 变化呈现时间依赖性(图 2 A、B)。磷酸化的 ERK5 从 15 min 开始增加,在 45 min 达到高峰。据我们所知,本研究首次证实 OSS 可以激活成骨细胞中的 ERK5 信号通路。

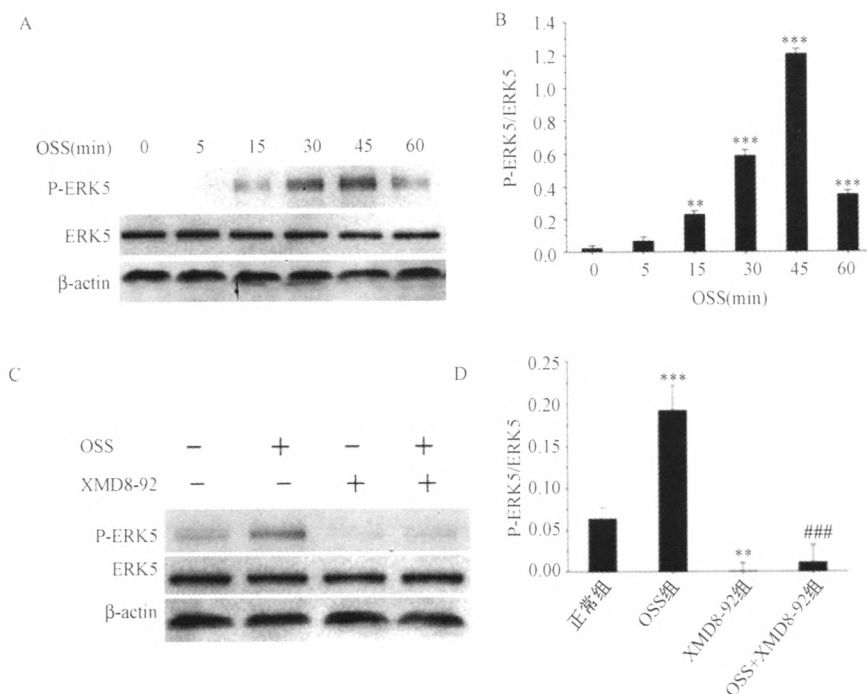


图 2 XMD8-92 抑制 OSS 激活的 ERK5 活性

A OSS 激活 MC3T3-E1 细胞中的 ERK5。成骨细胞给予 OSS( $0.6 \pm 12 \text{ dyn/cm}^2$ ) 分别作用 0 min、5 min、15 min、30 min、45 min、60 min。

C OSS、XMD8-92 或两者联合对 MC3T3-E1 细胞中的 ERK5 激活的影响。成骨细胞分别给予 OSS( $0.6 \pm 12 \text{ dyn/cm}^2$ )、5  $\mu\text{M}$  XMD8-92 作用 1 h 或两者联合处理

B、D 定量分析 P-ERK5/ERK5。3 次独立重复实验结果用均值  $\pm$  标准差表示

与正常组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P < 0.001$ ;与 OSS 组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P < 0.001$

Fig.2 XMD8-92 inhibits OSS-induced ERK5 activity

A, ERK5 was activated by OSS in MC3T3-E1 cells. Cells were treated with OSS ( $0.6 \pm 12 \text{ dyn/cm}^2$ ) for 0 min, 5 min, 15 min, 30 min, 45 min, 60 min

C, Effects of OSS, XMD8-92 alone, or in combination on phosphorylation of ERK5. Osteoblasts were treated with OSS ( $0.6 \pm 12 \text{ dyn/cm}^2$ ), 5  $\mu\text{M}$  XMD8-92 alone, or in combination

B, D, The ratios of P-ERK5/ERK5 in different groups were measured by quantitative analysis. All data represent as the means  $\pm$  SD of three independent experiments

## 2.3 XMD8-92 抑制 OSS 诱导的 MC3T3-E1 细胞增殖

此前,我们报道过 5  $\mu\text{M}$  XMD8-92 可以特异性抑制 EGF 诱导的 ERK5 激活<sup>[3]</sup>。为了研究 XMD8-92 对 OSS 诱导的 ERK5 激活有无抑制作用,我们给予 MC3T3-E1 细胞预处理 5  $\mu\text{M}$  XMD8-92 1 h 后再加载 OSS 作用 1 h。检测蛋白免疫印迹结果发现 XMD8-92 不仅能抑制正常 MC3T3-E1 细胞中的 ERK5 磷酸化,而且能显著抑制 OSS 诱导的 ERK5 磷酸化(图 2 C、D)。此外,与正常细胞相比,XMD8-92 显著抑制 MC3T3-E1 细胞增殖;与 OSS 组相比,

OSS + XMD8-92 组的成骨细胞增殖活性显著降低(图 1, $P < 0.001$ )。

## 2.4 XMD8-92 通过下调 Cyclin D1 的表达抑制 OSS 诱导的 MC3T3-E1 细胞增殖

为了进一步研究 XMD8-92 抑制 OSS 诱导的 MC3T3-E1 细胞增殖的具体机制,我们检测蛋白免疫印迹结果表明:与正常细胞相比,OSS 能显著上调 Cyclin D1 的表达(图 3 A、B, $P < 0.001$ )。采用 5  $\mu\text{M}$  XMD8-92 预处理 1 h 后再加载 OSS( $0.6 \pm 12 \text{ dyn/cm}^2$ , 1 h) 处理结果证实:与正常细胞相比,XMD8-92 显著下调 Cyclin D1 的表达;与 OSS 组相

比, OSS + XMD8-92 组 Cyclin D1 基因的表达显著下调(图 3 A、B)。以上结果表明: ERK5 信号通路可

通过上调 Cyclin D1 的表达促进 OSS 诱导的 MC3T3-E1 细胞增殖。

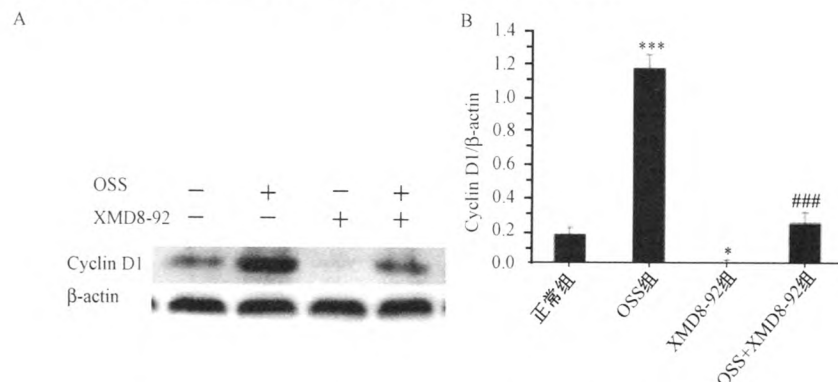


图 3 OSS、XMD8-92 或两者联合对 Cyclin D1 表达的影响

成骨细胞分别给予 OSS ( $0.6 \pm 12 \text{ dyn/cm}^2$ )、 $5 \mu\text{M}$  XMD8-92 作用 1 h 或两者联合处理。定量分析 P-ERK5/ERK5。3 次独立重复实验结果用均值  $\pm$  标准差表示

与正常组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ ; 与 OSS 组比较, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , ###  $P < 0.001$

Fig. 3 Effects of OSS, XMD8-92 alone, or in combination on Cyclin D1 expression

Osteoblasts were treated with OSS ( $0.6 \pm 12 \text{ dyn/cm}^2$ ),  $5 \mu\text{M}$  XMD8-92 alone, or in combination. The ratios of P-ERK5/ERK5 in different groups were measured using quantitative analysis. All data represent as the means  $\pm$  SD of three independent experiments

### 3 讨论

机械负荷在调控成骨细胞生理功能中发挥重要作用,因此可预防或治疗骨质疏松。我们通过研究发现: OSS 通过激活 ERK5 信号通路促进成骨 MC3T3-E1 细胞增殖活性增加, Cyclin D1 是 OSS 诱导的 ERK5 信号通路下游的重要靶点基因。据我们所知,本篇实验首次证实 OSS 通过激活 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖,细胞周期 G1/S 期转换的关键调控点 Cyclin D1 是其作用的靶点基因。

此前,我们报道了循环流体剪切力通过 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖。为了证实 OSS 是否通过激活 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖,我们使用 XMD8-92 抑制成骨细胞中 ERK5 的活性,结果发现 OSS 诱导的成骨细胞增殖活性明显下降。为了进一步阐明 OSS 促进的成骨细胞增殖机制,我们深入研究发现 OSS 可显著上调 Cyclin D1 基因的表达,而此过程可被 XMD8-92 阻断。因此,本篇研究证实 OSS 通过激活 ERK5 信号通路上调 Cyclin D1 基因表达,促进 G1/S 期转换,从而增加成骨细胞增殖活性。综合我们之前的研究分析, ERK5 可能是机械刺激诱导的细胞增殖的关键调控分子。此外,有报道表明 OSS 通过激活 ERK1/2 信号通路促进成骨 MG63 细胞增殖<sup>[9]</sup>。然而, OSS 诱导成骨细胞增殖的具体机制还需进一步研究。

OSS 还可能通过其他机制促进成骨细胞增殖。Lee 等<sup>[9]</sup>通过研究表明  $4 \text{ dyn/cm}^2$  OSS 通过激活 ERK 和 Akt/mTOR/p70S6K 信号通路诱导成骨 MG63 细胞增殖。Riddle 等<sup>[10]</sup>研究证实:  $5\text{-}20 \text{ dyn/cm}^2$  OSS 通过迅速增加细胞内钙离子浓度来激活 ERK1/2 和钙调磷酸酶蛋白,从而显著促进骨髓间充质干细胞增殖。可见 OSS 促进成骨细胞增殖可能存在很多机制,而具体的机制还需要深入的研究证实。

综上所述,本篇研究认为 OSS 通过激活 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖活性增加, Cyclin D1 是 ERK5 信号通路下游的重要靶点基因。以上研究结果可以帮助阐明机械负荷诱导的成骨细胞增殖机制,从而为预防或治疗骨质疏松和其他骨代谢疾病提供新的药物治疗靶点。

### 【参 考 文 献】

- [1] Li P, Ma YC, Sheng XY, et al. Cyclic fluid shear stress promotes osteoblastic cells proliferation through ERK5 signaling pathway [J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2012, 364 (1-2): 321-327.
- [2] Zhao LG, Chen SL, Teng YJ, et al. The MEK5/ERK5 pathway mediates fluid shear stress promoted osteoblast differentiation [J]. Connective Tissue Research, 2014, 55 (2): 96-102.
- [3] Bin G, Cuifang W, Bo Z, et al. Fluid shear stress inhibits TNF- $\alpha$ -induced osteoblast apoptosis via ERK5 signaling pathway [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 466 (1): 117-123.

(下转第 1256 页)

- [ 7 ] Shridhar R, Zhang J, Song J, et al. Cystatin M suppresses the malignant phenotype of human MDA-MB-435S cells [ J ]. *Oncogene*, 2004, 23 ( 12 ) : 2206-2215.
- [ 8 ] Zhang J, Shridhar R, Dai Q, et al. Cystatin M: a novel candidate tumor suppressor gene for breast cancer [ J ]. *Cancer Res*, 2004, 64 ( 19 ) : 6957-6964.
- [ 9 ] Song J, Jie C, Polk P, et al. The candidate tumor suppressor CST6 alters the gene expression profile of human breast carcinoma cells: downregulation of the potent mitogenic, monogenic, and angiogenic factor autotaxin [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340 ( 1 ) : 175-182.
- [ 10 ] 白毅.分泌蛋白 CST6 在乳腺癌骨转移中发挥重要作用. *中国医药报*, 2012-11-20 ( 6 ).  
Bai Y. Secreted protein CST6 play an important role in breast cancer bone metastasis, *China Pharmaceutical News*, 2012-11-20 ( 6 ).
- [ 11 ] Jeroen T, Bui JS, G Abri, et al. Osteotropic cancers: From primary tumor to bone [ J ]. *Cancer Letters*, 2009, 273 : 177-193.
- [ 12 ] 陈慧,沈赞.乳腺癌骨转移机制研究进展 [ J ]. *中国癌症杂志*, 2009, 19 ( 12 ) : 963-969.  
Chen H, Shen Z. Progress in research on mechanisms of bone metastasis in breast cancer [ J ]. *China Oncology*, 2009, 19 ( 12 ) : 963-969.
- [ 13 ] 闫敏,宋三泰.乳腺癌骨转移的临床病程 [ J ]. *中国骨肿瘤骨病*, 2003, 2 ( 4 ) : 221-224.  
Yan M, Song ST. The clinical course of bone metastases of breast cancer [ J ]. *China J Bone Tumor & Bone disease*, 2003, 2 ( 4 ) : 221-224.
- [ 14 ] Thibaudeau L, Quent VM, Holzapfel BM, et al. Mimicking breast cancer-induced bone metastasis in vivo: current transplantation models and advanced humanized strategy [ J ]. *Cancer Metastasis Rev*, 2014, 33 ( 2-3 ) : 721-735.
- [ 15 ] Vigneswaran N, Wu J, Muller S, et al. Expression analysis of cystatin C and M in laser-capture microdissected human breast cancer cells—a preliminary study [ J ]. *Pathol Res Pract*, 2005, 200 ( 11-12 ) : 753-762.
- [ 16 ] Taupin P, Ray J, Fischer WH, et al. FGF-2-responsive neural stem cell proliferation requires CCg, a novel autocrine paracrine cofactor [ J ]. *Neuron*, 2000, 28 ( 2 ) : 385-397.
- [ 17 ] Liu C, Sun C, Huang H, et al. Overexpression of legumain in tumors is significant for invasion metastasis and a candidate enzymatic target for prodrug therapy [ J ]. *Cancer Res*, 2003, 63 ( 11 ) : 2957-2964.
- [ 18 ] Jagodic M, Vrhovec I, Borstnar S, et al. Prognostic and predictive value of cathepsins D and L in operable breast cancer patients [ J ]. *Neoplasma*, 2005, 52 ( 1 ) : 1-9.
- [ 19 ] Maguire TM, Shering SG, Duggan CM, et al. High levels of cathepsin B predict poor outcome in patients with breast cancer [ J ]. *J Biol Markers*, 1998, 13 ( 3 ) : 139-144.
- [ 20 ] Zheng Y, Zhou H, Modzelewski JR, et al. Accelerated bone resorption, due to dietary calcium deficiency, promotes breast cancer tumor growth in bone. *Cancer Res*, 2007, 67 ( 19 ) : 9542-9548.
- [ 21 ] Grady D, Cauley JA, Geiger MJ, et al. Reduced incidence of invasive breast cancer with raloxifene among women at increased coronary risk [ J ]. *Natl Cancer Inst*, 2008, 100 ( 12 ) : 854-861.

( 收稿日期: 2016-08-04 )

## ( 上接第 1240 页 )

- [ 4 ] Aryaei A, Jayasuriya AC. The effect of oscillatory mechanical stimulation on osteoblast attachment and proliferation [ J ]. *Materials Science & Engineering C, Materials for Biological Applications*, 2015, 52 : 129-134.
- [ 5 ] Nithianandarajah-Jones GN, Wilm B, Goldring CE, et al. ERK5: structure, regulation and function [ J ]. *Cellular Signalling*, 2012, 24 ( 11 ) : 2187-2196.
- [ 6 ] Yang Q, Deng X, Lu B, et al. Pharmacological inhibition of BMK1 suppresses tumor growth through promyelocytic leukemia protein [ J ]. *Cancer Cell*, 2010, 18 ( 3 ) : 258-267.
- [ 7 ] Li P, Ma YC, Shen HL, et al. Cytoskeletal reorganization mediates fluid shear stress-induced ERK5 activation in osteoblastic cells [ J ]. *Cell Biology International*, 2012, 36 ( 3 ) : 229-236.
- [ 8 ] Jiang J, Zhao LG, Teng YJ, et al. ERK5 signalling pathway is essential for fluid shear stress-induced COX-2 gene expression in MC3T3-E1 osteoblast [ J ]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2015, 406 ( 1-2 ) : 237-243.
- [ 9 ] Lee DY, Li YS, Chang SF, et al. Oscillatory flow-induced proliferation of osteoblast-like cells is mediated by alphavbeta3 and beta1 integrins through synergistic interactions of focal adhesion kinase and Shc with phosphatidylinositol 3-kinase and the Akt/mTOR/p70S6K pathway [ J ]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285 ( 1 ) : 30-42.
- [ 10 ] Riddle RC, Taylor AF, Genetos DC, et al. MAP kinase and calcium signaling mediate fluid flow-induced human mesenchymal stem cell proliferation [ J ]. *American Journal of Physiology Cell Physiology*, 2006, 290 ( 3 ) : C776-784.

( 收稿日期: 2016-01-04; 修回日期: 2016-02-28 )