

· 基础医学 ·

C5a 激活 Akt1-ERK1/2 通路促进 NSCLC 细胞的增殖和迁移

何庆玲¹, 赵晨卉², 王伟民¹, 葛文¹, 李雅¹, 张婧¹, 王迎伟¹, 邱文^{1*}

¹南京医科大学免疫学系, 江苏 南京 211166; ²南京医科大学第一附属医院肿瘤科, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探讨 C5a 对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)细胞增殖和迁移的影响及其潜在的分子机制。方法:RT-PCR 和 Western blot 检测人正常支气管上皮细胞系 BEAS-2B 和 3 种 NSCLC 细胞系(H1703、PC9、H1299)中 C5a 受体(C5aR)的表达;CCK-8 和划痕实验检测 C5a 对 PC9 细胞增殖和迁移的影响;Western blot 检查 C5a 刺激 PC9 细胞后蛋白激酶 Akt1、细胞外信号调节激酶 1/2(extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2)和蛋白激酶 C- α (protein kinase C- α , PKC- α)表达及磷酸化水平;用 Akt1 抑制剂 Perifosine 和 ERK1/2 抑制剂 U0126 分别处理 PC9 细胞后再给予 C5a 刺激, Western blot 检测 Akt1 和 ERK1/2 的表达和磷酸化及其上下游调控关系, CCK-8 和划痕实验检测 Perifosine 和 U0126 对细胞增殖和迁移的影响。结果:PC9 细胞 C5aR 的表达水平显著高于其他细胞;C5a 可明显促进 PC9 细胞的增殖和迁移能力;C5a 刺激 PC9 细胞后,可显著增强 Akt1 和 ERK1/2 的磷酸化;Akt1 和 ERK1/2 抑制剂均能明显降低 C5a 刺激 PC9 细胞后引起的细胞增殖和迁移,且 Akt1 抑制剂不仅能减弱 Akt1 的磷酸化,还能减弱 ERK1/2 的磷酸化,而 ERK1/2 抑制剂则仅能阻断其自身的磷酸化。结论:C5a 刺激 NSCLC 细胞后可能通过激活 Akt1-ERK1/2 通路促进细胞的增殖和迁移。

[关键词] 非小细胞肺癌;C5a;Akt1;ERK1/2;增殖;迁移

[中图分类号] R392.12

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2021)12-1721-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20211202

C5a induces the proliferation and migration of NSCLC cells through activation of Akt1-ERK1/2 pathway

HE Qingling¹, ZHAO Chenhui², WANG Weiming¹, GE Wen¹, LI Ya¹, ZHANG Jing¹, WANG Yingwei¹, QIU Wen^{1*}

¹Department of Immunology, Nanjing Medical University, Nanjing 211166; ²Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to investigate the effect of C5a on the proliferation and migration of non-small cell lung cancer (NSCLC) cells and its potential molecular mechanism. **Methods:** The C5a receptor (C5aR) expression in the human normal bronchial epithelial cell line BEAS-2B and three NSCLC cell lines (H1703, PC9, H1299) was examined by RT-PCR and Western blot (WB) analysis. PC9 cell were stimulated with various concentrations of C5a, and cell proliferation and migration were examined by CCK-8 and scratch test, respectively. The PC9 cells were treated with C5a, and then the expression and phosphorylation of Akt1, ERK1/2 and PKC- α were examined by WB. PC9 cells were treated with Akt1 inhibitor (Perifosine) and ERK1/2 inhibitor (U0126), respectively, followed by C5a stimulation, and then WB was used to examine the expression and phosphorylation levels of Akt1 and ERK1/2 and their upstream and downstream regulatory relationships. The effects of Perifosine and U0126 on PC9 cell proliferation and migration were determined by CCK-8 and scratch test, respectively. **Results:** The expression level of C5aR in PC9 cells was obviously higher than that of other cells. C5a could significantly promote the proliferation and migration of PC9 cells. In addition, the phosphorylation levels of both Akt1 and ERK1/2 were markedly enhanced in the PC9 cells induced by C5a, but the protein expression did not show significant change. Furthermore, Akt1 and ERK1/2 inhibitors markedly down-regulated the proliferation and migration of PC9 cells caused by C5a stimulation. Akt1 inhibitors not only attenuated Akt1 phosphorylation, but also attenuated ERK1/2 phosphorylation. ERK1/2 inhibitors only attenuated its own phosphorylation. **Conclusion:** C5a induces the proliferation and migration of NSCLC cells through activation of Akt1/ERK1/2 pathway.

[Key words] NSCLC; C5a; Akt1; ERK1/2; proliferation; migration

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(12): 1721-1727]

[基金项目] 国家自然科学基金(81902878)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: qiuwen@njmu.edu.cn

肺癌(亦称支气管肺癌)是一种发生于支气管黏膜上皮组织的恶性肿瘤,通常分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)两大类^[1]。由于绝大多数肺癌患者属于NSCLC(约为85%),加上近年来NSCLC的发病率和病死率呈逐年升高的趋势^[2],故深入探讨NSCLC的病因和发病机制具有十分重要的意义。

NSCLC的形成不仅与遗传和环境等因素有关^[3],而且还与肿瘤局部微环境中的某些促炎因子(如TNF- α 和IL-6)和补体(如C3a和C5a)的作用明显相关^[4-5]。研究发现,补体C5a不仅可由补体系统3条途径激活时产生,还可由肿瘤组织本身产生^[6]。肿瘤局部微环境中的补体C5a通过其C5a受体(C5aR)作用于靶细胞,既能调节免疫应答,又能促进肿瘤的生长和转移^[7]。NSCLC患者血浆和癌组织中C5a含量明显增多,并能促进NSCLC细胞的增殖^[5]。本课题前期研究发现,体外用C5a刺激NSCLC细胞不仅能促进细胞的增殖还能增强细胞的迁移,但有关C5a促NSCLC细胞增殖和迁移的分子机制,目前尚不清楚。

据报道,C5a诱导靶细胞的生物学效应通常与靶细胞内某些信号通路的活化有关,例如C5a可激活丝/苏氨酸蛋白激酶Akt1、细胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2)等^[8-9]。已知,Akt1活化与多种肿瘤细胞的增殖和活化密切相关。Akt1可通过激活其下游分子如mTOR等促进肿瘤细胞的增殖、迁移以及肿瘤血管的形成^[10]。此外,ERK1/2是MAPK家族中重要成员。作为高度保守的丝/苏氨酸蛋白激酶,ERK1/2可识别并磷酸化特定的底物蛋白,在细胞的增殖与分化等活动中发挥重要作用^[10]。文献报道C5a可通过活化Akt1促进乳腺癌细胞的增殖^[7]。此外,C5a还可通过激活ERK1/2增强肾癌细胞的增殖和侵袭能力^[12]。但是,有关C5a作用于NSCLC细胞后信号通路的激活情况尚未见文献报道。

本课题的前期研究已发现,用C5a刺激体外培养的NSCLC细胞后,NSCLC细胞的增殖和迁移能力均显著提高,且Akt1和ERK1/2的磷酸化水平也同步上调,故推测C5a刺激NSCLC细胞后,可能通过激活Akt1或ERK1/2信号分子促进细胞的增殖和迁移。鉴于此,本课题开展了以下实验,研究C5a激活Akt1和ERK1/2促进NSCLC细胞的增殖和迁移的作用与机制。

1 材料和方法

1.1 材料

人正常支气管上皮细胞系BEAS-2B和3种NSCLC细胞系(H1703、PC9、H1299)均由武汉大学中国典型培养物保藏中心提供。人C5a蛋白(R&D Systems公司,美国),抗C5aR抗体(武汉Abclonal公司),抗总Akt1(t-Akt1)、磷酸化Akt1(p-Akt1, Ser473)、总ERK1/2(t-ERK1/2)、磷酸化ERK1/2(p-ERK1/2, Thr202/Tyr204)、总PKC- α (t-PKC- α)、磷酸化p-PKC- α (p-PKC- α , Thr638)的抗体(Cell Signaling Technology公司,美国)。HRP标记山羊抗兔和山羊抗鼠二抗(合肥Biosharp公司)。Perifosine(Akt1抑制剂)和U0126(ERK1/2抑制剂)(上海MCE公司)。胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(Wisent公司,加拿大)。DMEM(Gibco公司,美国)。CCK-8试剂盒(上海MCE公司)。

1.2 方法

1.2.1 BEAS-2B、H1703、PC9和H1299细胞系的培养

将前述细胞系接种于含10% FBS的DMEM完全培养液中,置于37℃、5% CO₂孵箱中培养48 h。当细胞融合度达到90%时,按1:3比例进行细胞传代,并继续培养。

1.2.2 BEAS-2B、H1703、PC9和H1299细胞系C5aR表达的检查

RT-PCR:根据NCBI数据库找到目的基因CDS区,利用Premier 5软件进行引物设计,并交由通用生物系统有限公司合成。序列如下:C5aR(上游5'-ACTACAGCCACGACAAACG-3';下游5'-CCCTAAC-CACGGACTCTTC-3'), GAPDH(上游5'-CAAGGT-CATCCATGACAACCTTTG-3';下游5'-GTCCAC-CACCCTGTTGCTGTAG-3')。提取前述细胞总RNA,逆转录为cDNA,以此cDNA为模板,用Prime STAR@ Max DNA Polymerase进行PCR反应,最终扩增产物行琼脂糖凝胶电泳,并拍照成像。

Western blot:将上述细胞裂解物离心3 min,取30 μ g蛋白行SDS-PAGE电泳,先用45 V恒压浓缩,再用120 V电泳2 h,接着用0.3 A湿转120 min,待蛋白转印到PVDF膜上后再用脱脂奶粉溶液封闭2 h,加入抗C5aR抗体4℃孵育过夜。漂洗后用HRP标记的二抗室温孵育1 h,最后行ECL化学发光试剂检测。

1.2.3 Western blot实验检测PC9细胞中Akt1、ERK1/2、PKC- α 磷酸化水平

收集C5a刺激PC9细胞后不同时间点的细胞蛋

白,行 Western blot 检测 Akt1、ERK1/2、PKC-α的表达和磷酸化水平,方法同前。用 10 μmol/L Perifosine 或 U0126 分别处理 PC9 细胞 30 min,然后加入 50 ng/mL C5a 共同孵育 3 h,行 Western blot 检测 Akt1 和 ERK1/2 的表达和磷酸化。

1.2.4 CCK-8 实验检测 PC9 细胞的增殖

将 PC9 细胞种植于 96 孔板,24 h 后换成无血清 DMEM 培养 24 h,接着用不同浓度的 C5a 刺激细胞 48 h,每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液,在 37 ℃孵育 40~50 min,用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度。同上将细胞接种至 96 孔板,分别用 10 μmol/L Perifosine 和 U0126 处理细胞 30 min,再用 50 ng/mL C5a 刺激细胞 48 h,开展 CCK-8 实验检测细胞增殖水平。

1.2.5 细胞划痕实验检测 PC9 细胞的迁移

将 PC9 细胞接种于 6 孔板,24 h 后换成无血清 DMEM 培养 12 h。通过 200 μL 移液器吸头产生细胞单层的线性伤口,用 PBS 清洗脱落的细胞,加入含 1% FBS 的 DMEM,同时加入不同浓度的 C5a 继续培养,并于 24 h 和 48 h 时观察细胞的迁移情况。同上将细胞接种至 6 孔板,进行细胞划痕,用 10 μmol/L 浓度的 Perifosine 和 U0126 分别处理细胞,30 min 后再用 50 ng/mL 的 C5a 处理细胞 24 h 和 48 h,观察其迁移情况。

1.3 统计学方法

所有实验均独立重复 3 次,所得定量数据以均值±标准误($\bar{x} \pm s_x$)表示。采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析,多组间比较则采用单因素方差分析,Bonfferoni 法进行两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 NSCLC 细胞系中 C5aR 的表达情况

首先检测了正常支气管上皮细胞(BEAS-2B)以及 3 种常见的 NSCLC 细胞系(H1703、PC9 和 H1299)中 C5aR 的表达情况。结果显示,C5aR 在 PC9 和 H1703 细胞中均有明显的表达,但以 PC9 细胞的表达水平最高(图 1),故后续实验选择了 PC9 细胞系进行相关实验。

2.2 C5a 刺激 PC9 细胞后诱导细胞增殖和迁移及其刺激剂量的确定

2.2.1 不同浓度 C5a 刺激 PC9 细胞后细胞增殖能力的变化

在证实了 PC9 细胞高表达 C5aR 后,分别用 0、0.05、0.50、5.00、50.00、500.00 ng/mL 的 C5a 刺激 PC9

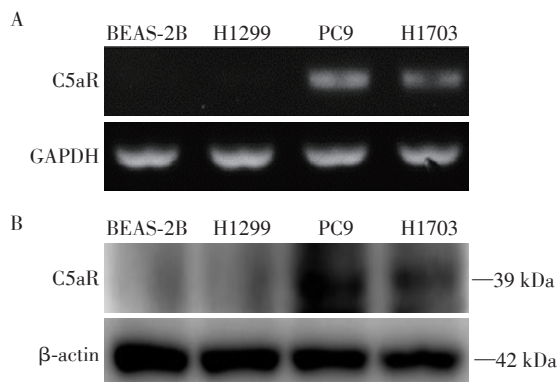
细胞,48 h 后行 CCK-8 实验检测细胞的增殖情况。结果发现,PC9 细胞的增殖随着 C5a 刺激剂量的加大逐渐增强,当刺激剂量为 50.00 和 500.00 ng/mL 时,细胞增殖最为显著(图 2)。

2.2.2 不同浓度 C5a 刺激 PC9 细胞后细胞迁移能力的改变

分别用 0、0.05、0.50、5.00、50.00、500.00 ng/mL C5a 刺激 PC9 细胞 48 h 后,行划痕实验检测细胞的迁移情况。结果显示,C5a 以剂量依赖性的方式促进细胞的迁移,其中以 50.00 和 500.00 ng/mL 剂量的效果最为显著(图 3)。由于 50.00 ng/mL 和 500.00 ng/mL C5a 刺激剂量之间细胞增殖和迁移水平无显著差异,故选择用 50.00 ng/mL 剂量开展后续的实验。

2.2.3 C5a 促进 PC9 细胞 Akt1 和 ERK1/2 的磷酸化

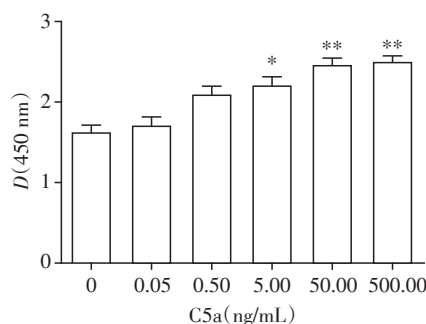
为了探讨 C5a 诱导 PC9 增殖和迁移的潜在机



A: RT-PCR 测定 C5aR mRNA 表达;B: Western blot 检测 C5aR 蛋白表达($n=3$)。

图 1 正常支气管上皮细胞 BEAS-2B 和 NSCLC 细胞系 H1703、PC9 和 H1299 中 C5aR 的表达情况

Figure 1 The C5aR expression in the human normal bronchial epithelial cell line BEAS - 2B and three NSCLC cell lines (H1703, PC9 and H1299)



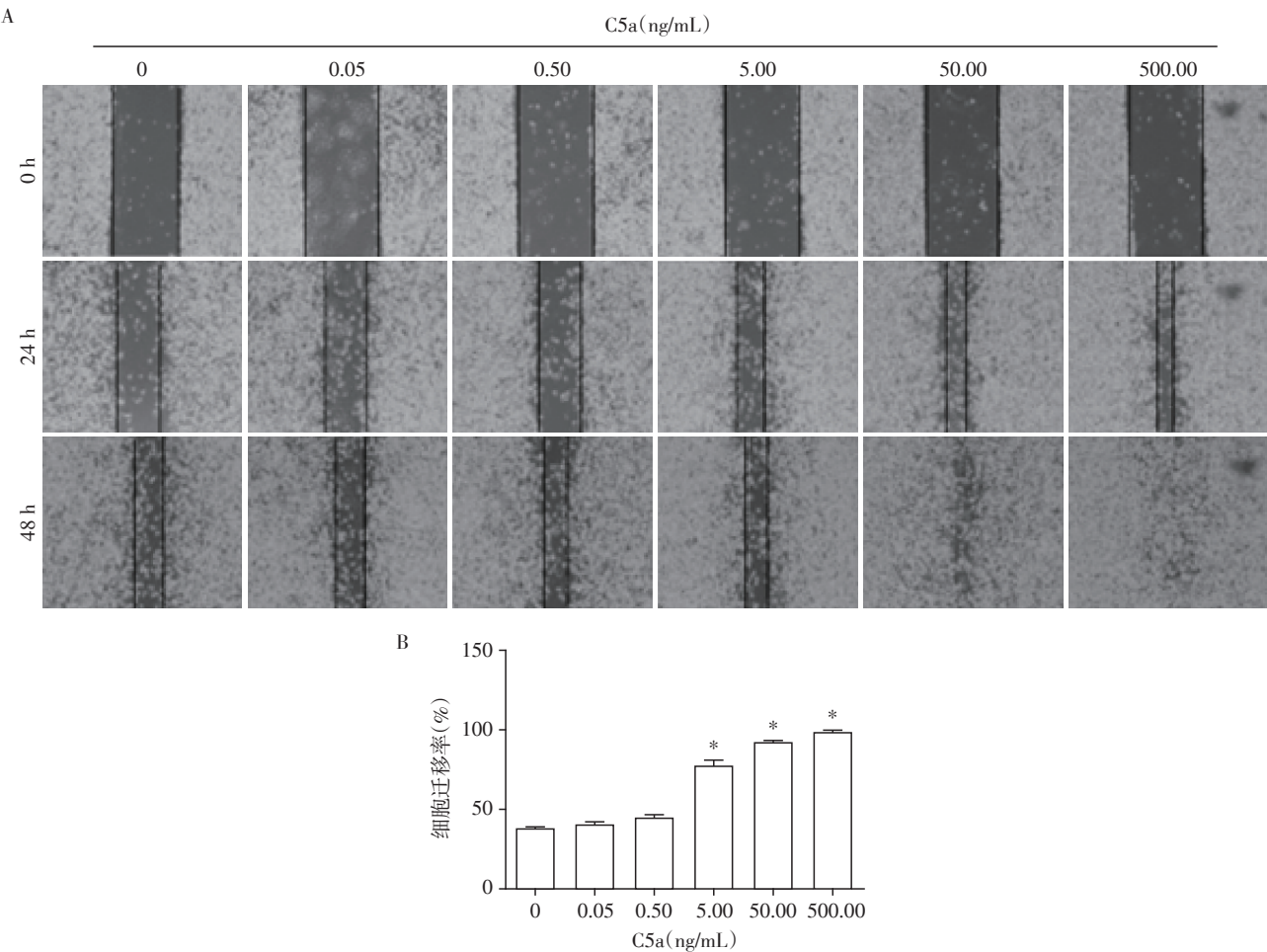
与 0 ng/mL 组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ ($n=3$)。

图 2 CCK-8 实验检测 C5a 刺激 PC9 细胞的增殖情况

Figure 2 C5a stimulates the proliferation of PC9 cells by CCK-8 experiment

制,用C5a刺激PC9细胞,在不同时间点(0 h、1 h、2 h、3 h、6 h、12 h)检测增殖和迁移相关的信号分子Akt1、ERK1/2和PKC-α的表达与磷酸化情况。结果显示,C5a刺激PC9细胞后,显著增强Akt1和ERK1/2的磷酸化水平,且其峰值在3 h左右,而PKC-α的表

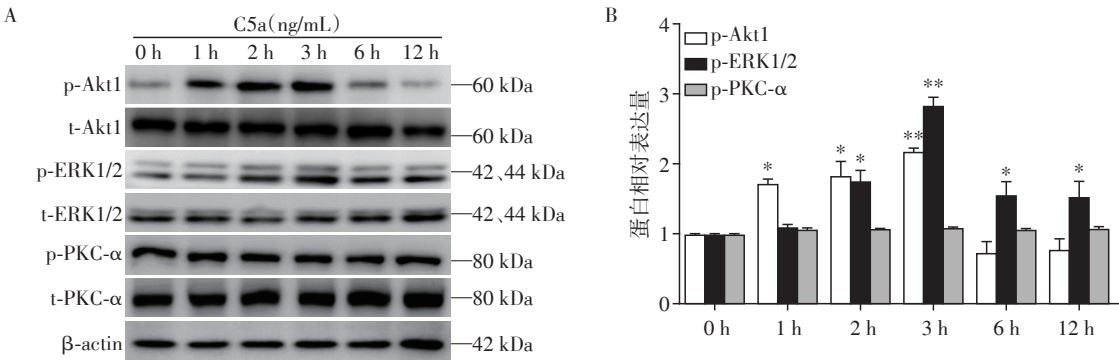
达和磷酸化均未见明显变化(图4)。
2.2.4 C5a通过Akt1-ERK1/2通路诱导PC9细胞增殖和迁移
进一步探讨了Akt1和ERK1/2在C5a诱导PC9细胞增殖和迁移的作用。用Akt1抑制剂Perifosine



A:细胞划痕代表图片(×40);B:半定量柱形图(与0 ng/mL组比较,* $P < 0.01$, $n=3$)。

图3 细胞划痕实验检测C5a刺激PC9细胞的迁移情况

Figure 3 C5a stimulates the migration of PC9 cells by cell scratch test



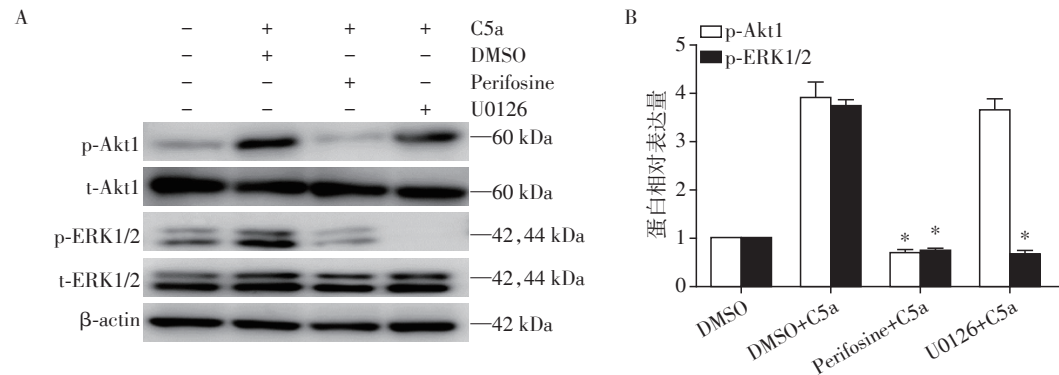
A: Western blot 电泳条带;B:半定量分析柱形图(与0 h时间点比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$, $n=3$)。

图4 C5a刺激PC9细胞后Akt1、ERK1/2和PKC-α的表达与磷酸化情况

Figure 4 The expression and phosphorylation of Akt1, ERK1/2 and PKC-α in PC9 cells treated with C5a

和 ERK1/2 抑制剂 U0126 分别处理 PC9 细胞 30 min (设 DMSO 溶剂对照),接着用 C5a 刺激 3 h 后,行 Western blot 检测 Akt1 和 ERK1/2 的表达和磷酸化。结果显示,Perifosine 和 U0126 可分别阻断 Akt1 和 ERK1/2 的磷酸化,且均不影响其蛋白表达。此外,Perifosine 能下调 ERK1/2 的磷酸化,而 U0126 对 Akt1 的磷酸化没有明显影响(图 5),提示 C5a 刺激

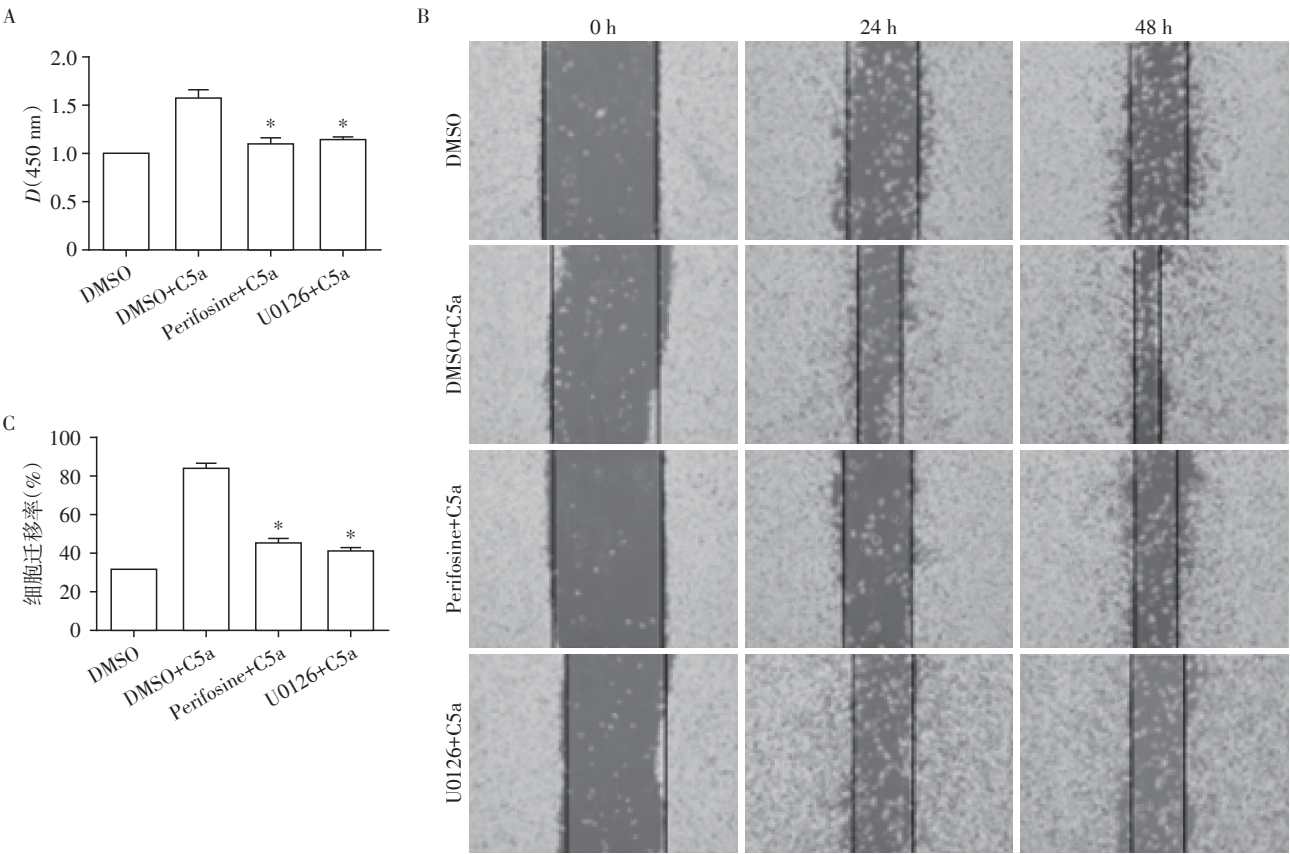
PC9 细胞后 Akt1 和 ERK1/2 的活化可能存在一定的上下游关系,即 C5a 刺激 PC9 细胞后通过激活 Akt1 诱导 ERK1/2 的活化。CCK-8 和细胞划痕实验进一步表明,抑制 Akt1 和 ERK1/2 可以显著减弱 C5a 上调的 PC9 细胞增殖和迁移(图 6)。上述结果表明,C5a 刺激 PC9 细胞后可通过激活 Akt1-ERK1/2 通路促进 PC9 细胞的增殖和迁移。



A: Western blot 电泳条带;B:半定量分析柱形图(与 DMSO+C5a 组比较,* $P < 0.01, n = 3$)。

图 5 Akt1 和 ERK1/2 抑制剂对 C5a 诱导 PC9 细胞中 Akt1 和 ERK1/2 表达和磷酸化的影响

Figure 5 Effects of Akt1 and ERK1/2 inhibitors on the expression and phosphorylation of Akt1 and ERK1/2 in PC9 cells induced by C5a



A: CCK-8 实验;B:细胞划痕代表图片($\times 40$);C:划痕实验的半定量分析柱形图。与 DMSO+C5a 组比较,* $P < 0.01 (n = 3)$ 。

图 6 Akt1 和 ERK1/2 抑制剂对 C5a 诱导 PC9 细胞增殖和迁移的影响

Figure 6 Effects of Akt1 and ERK1/2 inhibitors on the proliferation and migration of PC9 cells induced by C5a

3 讨论

NSCLC是最常见的肺部原发性恶性肿瘤。在我国,NSCLC已成为发病率和死亡率均排在首位的恶性肿瘤^[1],但截至目前,有关NSCLC的病因和发病机制尚未完全明了,其可能与NSCLC肿瘤微环境中的某些促炎因子或补体成分(如C5a)的上调有一定关系^[3,12]。

已知C5a是补体系统通过3条途径激活时形成的C5裂解片段。对于肿瘤生长而言,C5a既能作为趋化因子招募中性粒细胞和单核巨噬细胞等入侵肿瘤局部,释放更多的促炎因子,又能作为刺激物直接诱导肿瘤细胞的增殖^[4]。NSCLC患者体内可检测到C5a水平显著升高,且患者体内升高的C5a不仅与其补体系统的活化相关,而且还可来源于NSCLC细胞本身^[14]。本研究发现,体外用C5a刺激NSCLC细胞不仅能促进细胞的增殖,还能增强细胞的迁移,因此又进一步研究C5a刺激NSCLC细胞增殖和迁移可能涉及的分子机制。

众所周知,肿瘤细胞的增殖和迁移与其胞内的信号通路的活化密切相关,但有关C5a刺激NSCLC细胞后能否开启某些信号通路,目前尚不清楚。据此,本实验用Western blot检测了一些信号分子的磷酸化(即活化)情况。结果发现,C5a刺激PC9细胞后其Akt1和ERK1/2的磷酸化显著增加。Akt1和ERK1/2抑制剂可明显下调由C5a刺激PC9细胞后诱导的细胞增殖和迁移,提示Akt1和ERK1/2均参与调控C5a诱导PC9细胞的增殖和迁移作用。值得一提的是,文献报道C5a也可作用于其他肿瘤细胞,并激活Akt1或ERK1/2。例如,Lu等^[7]报道C5a可通过活化Akt1调控补体应答基因-32(complement response gene-32, RGC-32)基因的表达,促进乳腺癌细胞的增殖;Maeda等^[12]研究发现,C5a在转移性肾细胞癌中高表达,并可通过激活ERK1/2促进癌细胞的侵袭。由此可见,多种肿瘤组织的肿瘤微环境中C5a含量均显著上调,上调的C5a可通过活化Akt1或ERK1/2促进肿瘤细胞的增殖和迁移。

已有文献报道,生物碱Cyclovirobuxine D(CVB D)可以通过Akt1-ERK1/2信号通路抑制结直肠癌肿瘤发生^[15],但C5a活化Akt1或ERK1/2是否存在相互作用,目前尚不知晓。因此又开展相应的实验,研究Akt1和ERK1/2之间是否存在上下游调控的关系。结果显示,在受C5a刺激的PC9细胞中,Perifosine能同时下调Akt1和ERK1/2的磷酸化,而

U0126仅能抑制ERK1/2磷酸化,却对Akt1磷酸化水平没有明显的影响,提示C5a刺激PC9细胞后或许能通过激活Akt1诱导ERK1/2的活化。

综上所述,本研究提示,C5a刺激NSCLC细胞后可能通过活化Akt1-ERK1/2通路促进NSCLC细胞的增殖和迁移,这为探究NSCLC的发病机制提供了新的思路和实验根据。

[参考文献]

- [1] O'DWYER E, HALPENNY D F, GINSBERG M S. Lung cancer screening in patients with previous malignancy: is this cohort at increased risk for malignancy? [J]. *Eur Radiol*, 2021, 31(1): 458-467
- [2] 王梦玮, 徐天蔚, 王朝霞. PD-1/PD-L1免疫检查点抑制剂在肺癌临床研究中的进展[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(7): 1084-1094
- [3] EVISON M. The current treatment landscape in the UK for stage III NSCLC [J]. *Br J Cancer*, 2020, 123 (Suppl 1): 3-9
- [4] AJONA D, ORTIZ-ESPINOSA S, PIO R. Complement anaphylatoxins C3a and C5a: emerging roles in cancer progression and treatment [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 85: 153-163
- [5] ZHAO C, LI Y, QIU W, et, al. C5a induces A549 cell proliferation of non-small cell lung cancer via GDF15 gene activation mediated by GCN5-dependent KLF5 acetylation [J]. *Oncogene*, 2018, 37(35): 4821-4837
- [6] KOCHANIEK D M, GHOSH S M, KARBOWNICZEK M M, et, al. Complementing cancer metastasis [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1629
- [7] LU Y, HU X B. C5a stimulates the proliferation of breast cancer cells via Akt-dependent RGC-32 gene activation [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(6): 2817-2823
- [8] LI L, WEI T, LIU S, et, al. Complement C5 activation promotes type 2 diabetic kidney disease via activating STAT3 pathway and disrupting the gut-kidney axis [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(2): 960-974
- [9] LIM E J, KIM S, OH Y, et, al. Crosstalk between GBM cells and mesenchymal stemlike cells promotes the invasiveness of GBM through the C5a/p38/ZEB1 axis [J]. *Neuro Oncol*, 2020, 22(10): 1452-1462
- [10] BI X, LV X, LIU D, et, al. METTL3-mediated maturation of miR-126-5p promotes ovarian cancer progression via PTEN-mediated PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Cancer Gene Ther*, 2021, 28(3-4): 335-349
- [11] DEGRIMENCI U, WANG M, HU J. Targeting aberrant RAS/RAF/MEK/ERK signaling for cancer therapy [J]. *Cells*, 2020, 9(1): 198

[12] MAEDA Y, KAWANO Y, WADA Y, et, al. C5aR is frequently expressed in metastatic renal cell carcinoma and plays a crucial role in cell invasion via the ERK and PI3 kinase pathways [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33 (4) : 1844-1850

[13] SALAZAR Y, ZHENG X, BRUNN D, et, al. Microenvironmental Th9 and Th17 lymphocytes induce metastatic spreading in lung cancer[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(7): 3560-3575

[14] NITTA H, MURAKAMI Y, WADA Y, et, al. Cancer cells release anaphylatoxin C5a from C5 by serine protease to enhance invasiveness [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32 (4) : 1715-1719

[15] JIANG F, CHEN Y, REN S, et, al. Cyclovirobuxine D inhibits colorectal cancer tumorigenesis via the CTHRC1 - AKT/ERK-Snail signaling pathway[J]. *Int J Oncol*, 2020, 57(1):183-196

[收稿日期] 2021-10-23

(上接第 1720 页)

[10] ZHANG C, WANG J J, HE X, et al. Characterization and beige adipogenic potential of human embryo white adipose tissue-derived stem cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(6):2900-2915

[11] 刘 雪,马春梅,王冰微,等. 炎症小体 AIM2 在小鼠肥胖发生过程中的作用和机制研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(3):317-323

[12] ZHAO H, SHANG Q, PAN Z, et al. Exosomes from adipose - derived stem cells attenuate adipose inflammation and obesity through polarizing m2 macrophages and beiging in white adipose tissue [J]. *Diabetes*, 2018, 67 (2):235-247

[13] LI X C, ZHANG J, ZHU O JL. The vasoprotective axes of the renin - angiotensin system: physiological relevance and therapeutic implications in cardiovascular, hypertensive and kidney diseases [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 125 (Pt A):21-38

[14] ALMEIDA L F, TOFTENG S S, MADSEN K, et al. Role of the renin - angiotensin system in kidney development and programming of adult blood pressure [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2020, 134(6):641-656

[15] DE SOUZA - NETO F P, CARVALHO SANTUCHI M, DE MORAIS E S M, et al. Angiotensin - (1-7) and alamandine on experimental models of hypertension and atherosclerosis[J]. *Curr Hypertens Rep*, 2018, 20(2): 17

[16] CAMPBELL D J. Circulating and tissue angiotensin systems[J]. *J Clin Invest*, 1987, 79(1):1-6

[17] SCHLING P, LÖFFLER G. Effects of angiotensin II on adipose conversion and expression of genes of the renin - angiotensin system in human preadipocytes [J]. *Horm Metab Res*, 2001, 33(4): 189-195

[18] CROZIER R A, AJIT S K, KAFTAN E J, et al. MrgD activation inhibits KCNQ/M - currents and contributes to enhanced neuronal excitability [J]. *J Neurosci*, 2007, 27 (16):4492-4496

[19] JESUS I C G, SCALZO S, ALVES F, et al. Alamandine acts via MrgD to induce AMPK/NO activation against ANG II hypertrophy in cardiomyocytes [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 314(6):C702-c711

[20] PARK B M, PHUONG H T A, YU L, et al. Alamandine protects the heart against reperfusion injury via the MrgD receptor[J]. *Circ J*, 2018, 82(10):2584-2593

[21] DAPPER C, SCHUSTER F, STÖLTING I, et al. The anti-obese effect of AT1 receptor blockade is augmented in mice lacking Mas[J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2019, 392(7):865-877

[收稿日期] 2021-10-07