

Fn14-PI3K-Akt介导TWEAK促人脐血内皮祖细胞血管生成研究

盛祖龙*, 鞠成伟, 鄢高亮, 陈中璞, 潘啸东, 何砚如, 瞿洋洋, 姚玉宇, 马根山

东南大学附属中大医院心血管内科, 江苏 南京 210009

[摘要] 目的:探讨 Fn14-PI3K-Akt 信号通路介导的肿瘤坏死因子样弱凋亡因子(tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis, TWEAK)对人脐血来源的内皮祖细胞(human endothelial progenitor cells, hEPCs)增殖、迁移、血管形成能力的影响。方法:体外培养、分离和鉴定 hEPCs,以其受体成纤维细胞生长因子 14 siRNA(Fn14 siRNA)及 PI3K 特异性抑制剂 LY294002(LY)作干预处理。细胞分为对照组、TWEAK 干预组、TWEAK+Fn14 siRNA 阻断组和 TWEAK+LY 阻断组。分别采用 CCK-8 法检测细胞增殖能力,Transwell 小室检测细胞迁移能力,Matrigel 小管形成试验评价细胞血管生成能力,Western blot 法测定细胞裂解液中 p-Akt 和 T-Akt 的表达。结果:hEPCs 体外培养实验表明,TWEAK 可明显促进 hEPCs 的增殖和迁移,并能提升 hEPCs 的血管形成能力,但在 TWEAK+Fn14 siRNA 及 TWEAK+LY 组中 hEPCs 的增殖、迁移及血管形成能力显著降低。且 TWEAK 组 p-Akt 表达较对照组显著增加,而 TWEAK+Fn14 siRNA 组、TWEAK+LY 组 p-Akt 表达较 TWEAK 组显著降低。结论:TWEAK 具有调控 hEPCs 促血管新生的作用,其促血管新生的作用可能受到 Fn14-PI3K-Akt 信号通路的限制。

[关键词] 肿瘤坏死因子样弱凋亡因子;内皮祖细胞;血管新生;迁移;增殖

[中图分类号] R541.4

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)05-571-06

doi:10.7655/NYDXBNS20180501

Study on the angiogenesis of human umbilical cord blood endothelial progenitor cells mediated by Fn14-PI3K-Akt-induced TWEAK

Sheng Zulong*, Ju Chengwei, Yan Gaoliang, Chen Zhongpu, Pan Xiaodong, He Yanru, Qu Yangyang, Yao Yuyu, Ma Genshan

Department of Cardiology, Zhongda Hospital, Medical School of Southeast University, Nanjing 210009, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of tumor necrosis factor-like attenuated apoptosis factor(TWEAK)mediated by Fn14 - PI3K - Akt signaling pathway on the proliferation, migration and angiogenesis of human umbilical cord blood derived human endothelial progenitor cells (hEPCs). **Methods:** hEPCs were isolated and identified *in vitro*. The hEPCs were treated with Fn14 siRNA and LY294002 (LY), a specific inhibitor of PI3K. The cells were divided into the control group, the TWEAK treatment group, the TWEAK + Fn14 siRNA blocking group and the TWEAK + LY treatment group. Cell proliferation was measured by CCK-8 assay, cell migration assay was performed in Transwell chamber, and angiogenesis ability was evaluated by Matrigel tubule formation assay. The expressions of p-Akt and T-Akt in cell lysate were measured by Western blot. **Results:** The hEPCs cultured *in vitro* showed that TWEAK significantly promoted the proliferation and migration of hEPCs and enhanced the vascularization ability of hEPCs. However, the proliferation, migration and angiogenesis ability of hEPCs in the TWEAK + Fn14 siRNA group and the TWEAK + LY groups were significantly decreased. The expression of p-Akt in the TWEAK group was significantly higher than that in the control group, while the expression of p-Akt in the TWEAK + Fn14 siRNA group and the TWEAK + LY group was significantly lower than that in the TWEAK group. **Conclusion:** TWEAK can regulate the angiogenesis of hEPCs and its angiogenesis may be restricted by Fn14 - PI3K - Akt signaling pathway.

[Key words] tumor necrosis factor-like attenuated apoptosis factor; human endothelial progenitor cells; angiogenesis; migration; proliferation

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(05):571-576]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81400225);江苏省青年医学人才项目(QNRC2016815)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: shengzulong@126.com

目前,血管生成相关疾病越来越普遍,如何促进或抑制血管生成成为治疗相关疾病的关键^[1]。大量研究表明,人脐血内皮祖细胞(human endothelial progenitor cells, hEPCs)在血管生成和修复中起重要作用^[2-4]。hEPCs在参与血管生成过程受到多种生化因子的调控,如SDF-1^[5]、CXCR4^[6]、CXCR7^[7]。肿瘤坏死因子样弱凋亡因子(tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis, TWEAK)是最新发现的细胞因子,成纤维细胞生长因子14(fibroblast growth factor inducible molecule 14, Fn14)作为TWEAK的特异性受体,与TWEAK以受体和配体方式结合后发挥多种生物学效应,如诱导促炎症细胞因子释放,调节免疫反应,促进血管生成^[8]。而磷脂酰肌醇三羟基激酶(PI3K)及其下游的丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)组成的信号转导通路参与细胞的增殖、迁移、存活及血管生成等多种生物学行为。多项研究均显示TWEAK/Fn14信号通路可通过活化Akt在多种细胞的增殖、迁移及存活中发挥作用^[9],提示PI3K/Akt为TWEAK/Fn14重要的下游通路。在急性心肌梗死中,TWEAK/Fn14是否可以激活内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)内PI3K/Akt信号通路,促进EPCs的增殖、迁移及血管生成,修复受损心肌,有关这方面的研究工作国内外尚未见报道。本文通过体外细胞实验,研究了Fn14-PI3K-Akt信号通路介导的TWEAK对hEPCs中血管新生作用,探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人脐带血由东南大学附属中大医院产科提供;EGM-2MV培养液(Lonza公司,美国);TWEAK(R&D Systems公司,美国);Fn14 siRNA(Santa Cruz公司,美国);DiI标记的乙酰化低密度脂蛋白(DiI-acLDL)(Molecular Probe公司,美国);FITC标记的异凝集素(FITC-UEA-1)、LY294002(Sigma公司,美国);FITC标记的小鼠抗人CD34单克隆抗体(FITC-CD34)、FITC标记的小鼠抗人CD45单克隆抗体(FITC-CD45)、PE标记的抗人血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR2, KDR)单克隆抗体(BD Biosciences公司,美国);基质凝胶Matrigel(Becton Dickinson公司,美国);Transwell小室(Millipore公司,美国);p-Akt抗体、T-Akt抗体(Cell Signaling公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 hEPCs的分离、培养及鉴定

无菌采集健康足月分娩新生儿脐带血。采用肝素抗凝,Ficoll密度梯度离心法分离单个核细胞,以 5×10^5 个/mL密度分别接种于人纤维连接蛋白包被的25 cm²的塑料培养瓶中,在含5%胎牛血清(FBS)的EGM-2MV诱导培养基培养;置5% CO₂持续通气、湿度95%、37℃恒温培养箱中培养96 h后首次换液;7~10 d后挑选铺路石样细胞克隆继续培养,选取第3~5代细胞进行实验。

将细胞与DiI-acLDL(10 mg/L)一起于37℃避光孵育4 h,2%多聚甲醛固定10 min,磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗后加FITC-UEA-1(10 mg/L)避光孵育1 h, PBS液漂洗后于荧光显微镜(Olympus公司,日本)下观察细胞荧光染色。将FITC-CD34、FITC-CD45、PE-VEGFR2(KDR)抗体加入培养的贴壁细胞中,于4℃避光孵育30 min, PBS清洗后,用加样器反复冲洗成单细胞悬液后,离心后计数 1×10^5 个细胞用300 μL PBS悬浮细胞分装后用流式细胞仪进行检测。

1.2.2 实验分组

将贴壁细胞随机分成6组:①对照组(Con组):RPMI-1640培养基+hEPCs;②不同浓度TWEAK干预组:不同浓度TWEAK(50、100、150 ng/mL)+hEPCs;③TWEAK+Fn14 siRNA阻断组:Fn14 siRNA和hEPCs共孵育24 h后,加入100 ng/mL TWEAK;④TWEAK+LY阻断组:PI3K抑制剂LY294002(终浓度10 μmol/L)和hEPCs共孵育30 min后,加入100 ng/mL TWEAK。

1.2.3 TWEAK对hEPCs增殖的影响

CCK-8试剂盒检测细胞增殖情况,具体方法为:0.25%胰酶+0.02% EDTA消化hEPCs,以2 000个/孔的密度将细胞接种于96孔板内,EGM2培养基培养24 h后,按实验分组干预细胞,每组重复6孔。干预24 h后,每孔加入10 μL CCK-8试剂,混匀,细胞培养箱继续孵育1 h后,去盖,以不加细胞只加CCK-8试剂和培养基的空白对照孔,酶标仪450 nm波长下读取光密度值(A值)。记录各组A值,计算代表增殖率的相对细胞数=A(实验)/A(对照)。

1.2.4 TWEAK对hEPCs迁移的影响

200 μL培养液及100 ng/mL基质细胞衍生因子(SDF-1)加入Transwell小室的下室。以每孔 4×10^4 个EPCs注入上室,每孔上室体积为200 μL,胎牛血清浓度1%,上室和下室之间隔以8 μm硝酸纤维素膜。培养8 h,刮去滤膜上面的未移动细胞。用4%

多聚甲醛固定,0.1%结晶紫染色,随机选择5个显微镜视野($\times 200$),计数迁移细胞的平均数。

1.2.5 TWEAK对hEPCs血管形成能力的影响

用预冷的PBS将基质胶稀释至4 mg/mL,并以50 μ L/孔加入96孔板中。将96孔板于37 $^{\circ}$ C放置1 h以形成胶层。胶层形成后,每孔加入 1×10^4 浓度的各组EPCs 200 μ L,于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、饱和湿度条件下培养12 h。40倍倒置显微镜下观察管状结构数量,随机选择6个视野照相,取其平均值。

1.2.6 Western blot法测定细胞裂解液中p-Akt及T-Akt表达

分离培养hEPCs细胞,计数后以 5×10^6 个/孔密度接种于6孔板中,每组设3个复孔,细胞培养至24 d,除去细胞培养液,进行3次洗涤。每孔加入400 μ L RIPA裂解液裂解细胞。细胞裂解时间为8 min。采用BCA法测定细胞裂解液中的蛋白含量。利用Western blot法测定细胞裂解液中的p-Akt及T-Akt的表达情况,具体流程如下:灌胶 \rightarrow 上样(包括样品和marker) \rightarrow 90 V电泳30 min,marker条带出现 \rightarrow 100 V电泳1.5 h,直到溴酚蓝跑出 \rightarrow 甲醇中浸泡PVDF膜1 min \rightarrow 浸泡过的PVDF膜、厚滤纸、电泳胶块均放入膜缓冲液中15 min \rightarrow 25 V转膜30 min \rightarrow PVDF膜放入5%BSA塑料盒中封闭2 h \rightarrow 加入一抗(p-Akt 1:2 000,T-Akt 1:1 000,GAPDH 1:2 000) \rightarrow TBST洗膜3次,每次15 min \rightarrow 加入二抗(1:2 000) \rightarrow TBST洗膜3次,每次15 min \rightarrow 暗室曝光,扫描胶片

\rightarrow Image J软件处理获得各条带吸光度值。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件系统,计量资料用*t*检验,多组间均数比较用单因素方差分析,组间多重比较用SNK-*q*检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

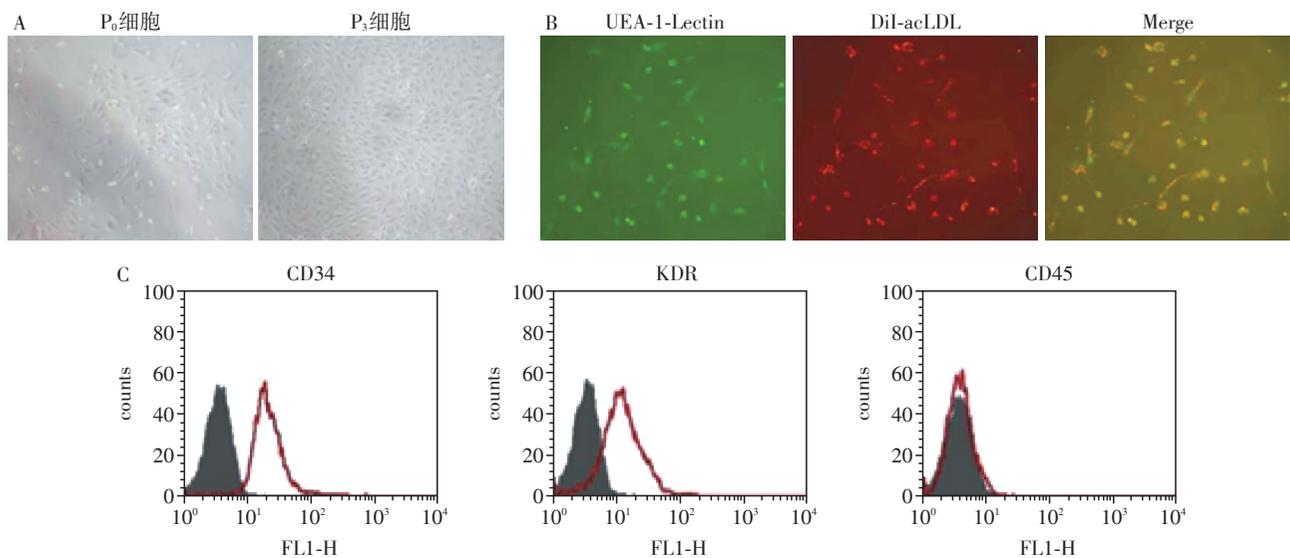
2.1 EPCs的鉴定

刚分离的单个核细胞(MNCs)呈圆形均匀地悬浮分布,7 d左右可见少量梭形细胞出现小集落。传至3代时细胞呈现为典型“铺路石”样细胞,即晚期内皮祖细胞,传代培养细胞,具体如图1A所示。

培养至7 d时荧光显微镜下可见90%以上贴壁细胞能摄取DiI-acLDL(呈红色荧光)和UEA-1-Lectin(呈绿色荧光)(图1B)。经荧光标记的CD34、KDR及CD45抗体流式细胞仪检测,CD34和KDR阳性率分别达 $(59.42 \pm 5.93)\%$ 、 $(48.25 \pm 4.02)\%$,而CD45为阴性(图1C)。

2.2 TWEAK对hEPCs增殖的影响

本实验通过CCK-8检测hEPCs的细胞增殖情况,进而观察TWEAK在hEPCs增殖中的作用。结果显示,TWEAK有明显地促进hEPCs增殖的作用,并且随着TWEAK含量增加而呈现量效关系。50 ng/mL的TWEAK干预即可显示出明显的促细胞增殖作用($P < 0.01$)。100 ng/mL和150 ng/mL TWEAK干预组较50 ng/mL TWEAK干预组促hEPCs增殖能力显



A: 原代及第3代EPCs($\times 200$); B: EPCs的DiI-acLDL摄取和FITC-UEA-1结合($\times 200$); C: 流式细胞仪检测示EPCs免疫表型CD34阳性、KDR阳性及CD45阴性。

图1 EPCs鉴定

Figure 1 The characterization of endothelial progenitor cells

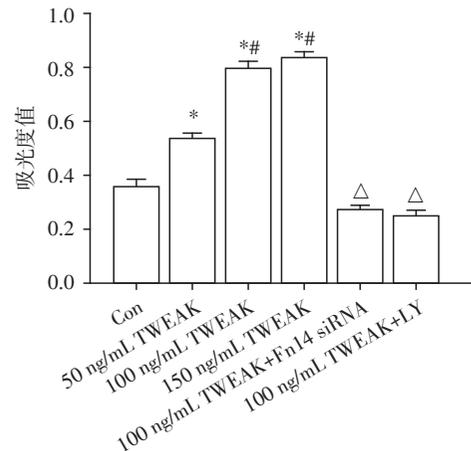
著增高($P < 0.01$),但两者之间细胞增殖速度差异无统计学意义($P > 0.05$)。TWEAK的促增殖作用可被Fn14 siRNA及PI3K特异性抑制剂LY294002抑制($P < 0.01$,图2)。说明TWEAK可提高hEPCs的细胞增殖能力,但PI3K特异性抑制剂LY294002对此促进作用具有一定抑制性。

2.3 TWEAK对hEPCs迁移的影响

与对照组相比,TWEAK各干预组促hEPCs迁移的能力明显增强($P < 0.01$),且呈剂量依赖性,但150 ng/mL TWEAK干预组较100 ng/mL TWEAK干预组促hEPCs迁移能力轻度增强,但两者之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。加入Fn14 siRNA及LY294002干预后,hEPCs迁移的能力明显下降($P < 0.01$,图3)。结果表明,TWEAK可促进hEPCs迁移,但这种促进作用可被其受体Fn14 siRNA及LY294002抑制。

2.4 TWEAK对hEPCs血管形成能力的影响

hEPCs在基质胶中形成管样结构能力是体外评价hEPCs血管形成能力的重要指标,TWEAK在促进这一过程中起到重要作用。本研究通过比较不同处理方式下hEPCs在基质胶上形成的管样结构数量和长度,考察了TWEAK在hEPCs跨内皮迁移中的作用(图4A)。结果显示,随着TWEAK浓度的增加,TWEAK促进hEPCs在基质胶中形成管状结构的能力逐渐提升($P < 0.01$),但100 ng/mL和150 ng/mL TWEAK干预组hEPCs成小管能力无统计学差异



与Con组比较,* $P < 0.01$;与50 ng/mL TWEAK组比较,# $P < 0.01$;与100 ng/mL TWEAK组比较,[△] $P < 0.01$ 。

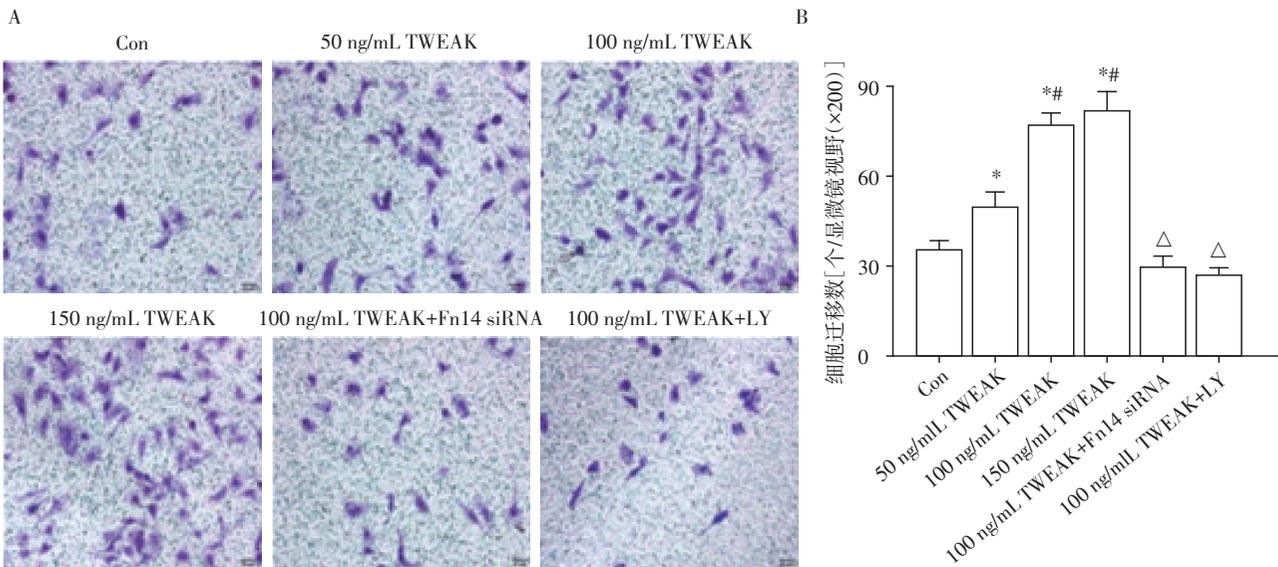
图2 CCK-8法检测各组hEPCs增殖

Figure 2 The proliferation of hEPCs detected by CCK-8 assay

($P > 0.05$) ; TWEAK + Fn14 siRNA 阻断组与TWEAK+LY阻断组与100 ng/mL TWEAK干预组相比,hEPCs管腔样结构数目明显降低($P < 0.01$,图4B),结果表明,TWEAK可促进hEPCs管状形成,且可被Fn14 siRNA及LY294002所阻断。

2.5 TWEAK对hEPCs p-Akt、T-Akt表达的影响

与对照组相比,TWEAK各干预组hEPCs中p-Akt蛋白表达水平均明显升高($P < 0.01$),与50 ng/mL TWEAK干预组相比,100 ng/mL和150 ng/mL TWEAK干预组hEPCs中p-Akt蛋白表达水平均明



A:各组hEPCs迁移图(x200);B:各组hEPCs迁移的定量分析,与Con组比较,* $P < 0.01$;与50 ng/mL TWEAK组比较,# $P < 0.01$;与100 ng/mL TWEAK组比较,[△] $P < 0.01$ 。

图3 Transwell小室检测各组hEPCs迁移

Figure 3 The migration of hEPCs detected by Transwell chamber assay

显升高($P < 0.01$),但后两组组间比较无统计学差异($P > 0.05$);加入 Fn14 siRNA 及 LY294002 干预后, hEPCs 中 p-Akt 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.01$, 图5)。结果表明, TWEAK 可促进 hEPCs 中 p-Akt 蛋

白表达,且可被 Fn14 siRNA 及 LY294002 所阻断。

3 讨论

研究表明, TWEAK 对于细胞增殖活性具有促

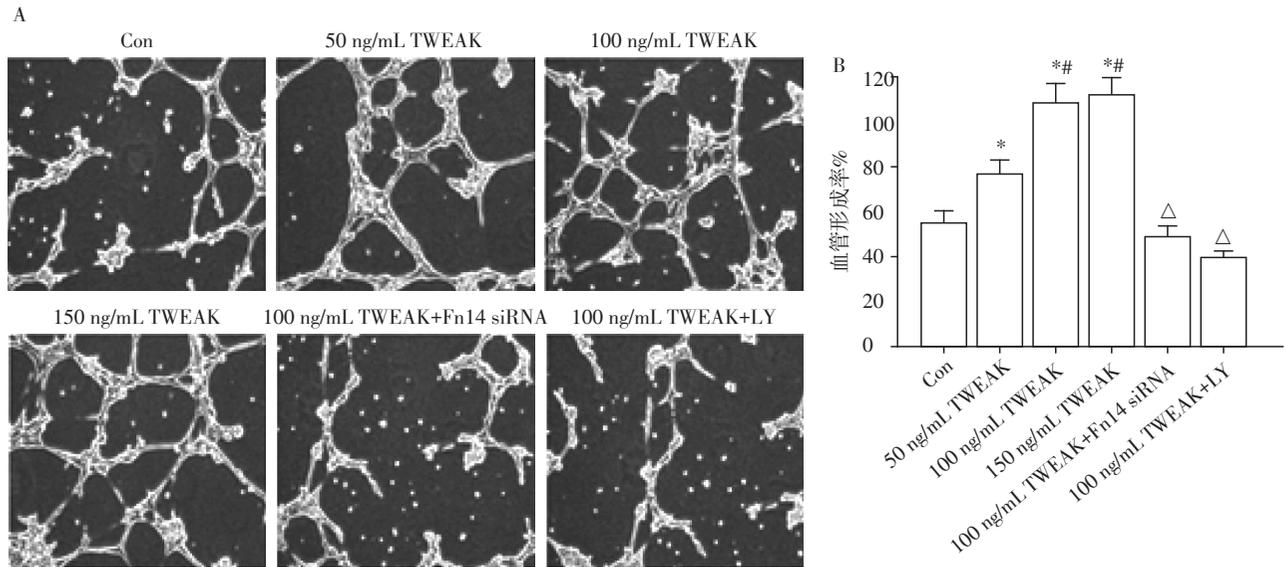
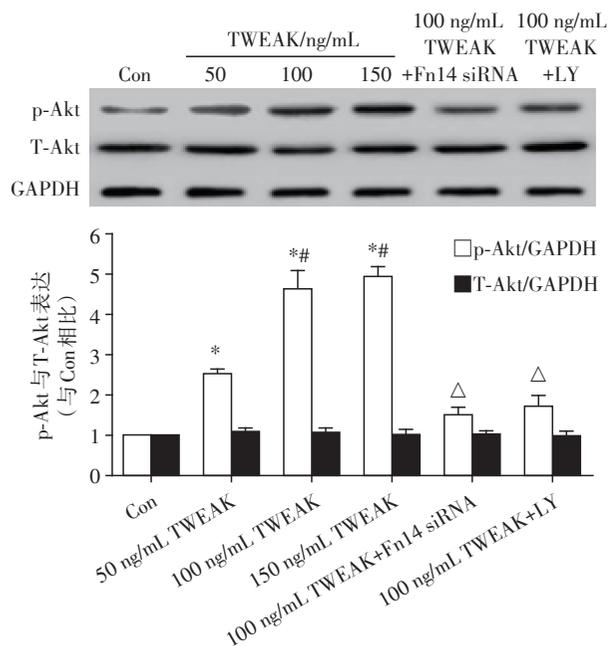


图4 Matrigel小管形成试验检测各组hEPCs血管形成能力
A: 各组hEPCs成小管图($\times 100$); B: 各组hEPCs成小管的定量分析。与Con组比较, * $P < 0.01$; 与50 ng/mL TWEAK组比较, [#] $P < 0.01$; 与100 ng/mL TWEAK组比较, [△] $P < 0.01$ 。

Figure 4 The numbers of tube-like structures of hEPCs detected by Matrigel tubule formation test



与Con组比较, * $P < 0.01$; 与50 ng/mL TWEAK组比较, [#] $P < 0.01$; 与100 ng/mL TWEAK组比较, [△] $P < 0.01$ 。

图5 Western blot法检测各组hEPCs中p-Akt和T-Akt表达

Figure 5 The expression of p-Akt and T-Akt in hEPCs detected by Western blot

进作用^[10]。在心肌细胞的动物实验研究中, Novoyatleva等^[11]发现,在新生大鼠中, TWEAK 与其受体 Fn14 结合后可活化 PI3K 激酶, 上调 Ki67、Cyclin D2、Aurora B、H3P 蛋白的表达进而促进心肌细胞的增殖。但在成年大鼠中 TWEAK 的表达不影响心肌细胞 DNA 的合成, 考虑与出生后 Fn14 表达下调有关。但腺病毒转染成年大鼠使心肌细胞 Fn14 过表达后, TWEAK 能显著诱导心肌细胞 DNA 合成, 表明 TWEAK-Fn14 信号通路共同参与了心肌细胞增殖的调控作用。本研究发现, TWEAK 有明显的促进 hEPCs 增殖作用, 并且随着 TWEAK 含量增加而呈现量效关系, 50 ng/mL 的 TWEAK 处理即可显示出明显的促细胞增殖作用; 随着 TWEAK 浓度的增加, TWEAK 组迁移的 hEPCs 数量较对照组显著升高, 且随着 TWEAK 浓度的增加, 迁移的 hEPCs 的数量不断升高, TWEAK+LY 阻断组迁移的 hEPCs 数量明显比 TWEAK 干预组减少; 同样, 随着 TWEAK 浓度的增加, TWEAK 促进 hEPCs 在基质胶中形成管状结构的能力逐渐提升; TWEAK+LY 阻断组与不同浓度 TWEAK 组相比, hEPCs 在基质胶中形成管状结构的能力降低。以上实验结果表明, TWEAK 可以促进

hEPCs细胞的增殖、迁移及血管形成能力,这些促进作用会被PI3K特异性抑制剂LY294002抑制。

目前,关于TWEAK发挥生物学作用的信号机制尚未阐释清楚,已知的参与hEPCs细胞生物学行为信号通路比较多,如PI3K/Akt^[12]、ERK1/2^[13]、P38^[14]、JNK^[15]等,对于这些信号通路的研究结果显示均参与hEPCs的黏附、迁移、增殖和分化。本研究中,利用Western blot法检测hEPCs中p-Akt、T-Akt表达情况,结果发现,各T-Akt条带相对吸光度值间差异不显著;而p-Akt条带中,不同浓度TWEAK干预组与TWEAK+LY阻断组差异显著,同时,随着TWEAK浓度的增加,p-Akt条带吸光度值差异也具有显著性。结合以上的研究结果发现,TWEAK发挥作用与细胞内p-Akt表达水平有明显的相关性,而通过PI3K特异性抑制剂LY294002能够显著消除TWEAK对hEPCs的黏附、迁移、增殖以及血管形成能力的促进作用。表明PI3K蛋白的表达在一定程度上影响TWEAK生物学活性。

由于TWEAK通常与Fn14结合发挥生物学作用,因而笔者推测,TWEAK很可能是通过直接与hEPCs上的Fn14受体结合,进而激活下游的PI3K/Akt信号通路来影响hEPCs增殖、迁移及血管生成等多种生物学行为。因此,这可能预示着,TWEAK具有调控hEPCs促血管新生的作用,这种作用可能以一种Fn14-PI3K-Akt信号通路介导进行。

综上所述,本研究证实了TWEAK对hEPCs的迁移、增殖以及血管形成能力均具有促进作用,但这种促进作用可能受制于Fn14/PI3K/Akt信号通路发挥对hEPCs促血管新生的作用的调控。研究结果从分子生物学角度阐明了Fn14/PI3K/Akt信号通路的可能机制,为进一步探讨TWEAK在hEPCs中的作用机制提供了科学依据,对相关疾病的临床研究及治疗具有重要意义。

[参考文献]

[1] Zhao L, Johnson T, Liu D. Therapeutic angiogenesis of adipose-derived stem cells for ischemic diseases [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):125

[2] Putman DM, Cooper TT, Sherman SE, et al. Expansion of umbilical cord blood aldehyde dehydrogenase expressing cells generates myeloid progenitor cells that stimulate limb revascularization [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(7):1607-1619

[3] 盛祖龙,姚玉宇,黎叶飞,等. 缓激肽预适应人内皮祖细胞移植治疗裸鼠急性心肌梗死[J]. 南京医科大学学

报(自然科学版), 2015, 35(8):1072-1079

[4] Zhang J, Chen C, Hu B, et al. Exosomes derived from human endothelial progenitor cells accelerate cutaneous wound healing by promoting angiogenesis through Erk1/2 signaling [J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(12):1472-1487

[5] 高静,朱红霞,王敏哲,等. SDF-1通过PI3K/Akt和MAPK/Erk信号通路对人微血管内皮细胞功能产生影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2015, 35(9):1205-1210

[6] Chiang KH, Cheng WL, Shih CM, et al. Statins, hmg-coa reductase inhibitors, improve neovascularization by increasing the expression density of cxcr4 in endothelial progenitor cells [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8):e0136405

[7] Dai X, Yan X, Zeng J, et al. Elevating CXCR7 improves angiogenic function of EPCs via Akt/GSK-3 β /Fyn-mediated Nrf2 activation in diabetic limb ischemia [J]. *Circ Res*, 2017, 120(5):e7-e23

[8] Blanco-Colio LM. TWEAK/Fn14 Axis: A promising target for the treatment of cardiovascular diseases [J]. *Front Immunol*, 2014, 5:3

[9] Yang B, Ping Y, Hui G, et al. TWEAK protects cardiomyocyte against apoptosis in a PI3K/AKT pathway dependent manner [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(9):3848-3860

[10] Schölzke MN, Röttinger A, Murikinati S, et al. TWEAK regulates proliferation and differentiation of adult neural progenitor cells [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2011, 46(1):325-332

[11] Novoyatleva T, Diehl F, van Amerongen MJ, et al. TWEAK is a positive regulator of cardio-myocyte proliferation [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 85(4):681-690

[12] Chang J, Xue X, Song C, et al. Ginkgolide B promotes cell growth in endothelial progenitor cells through miR-126 and the Akt signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4):5627-5632

[13] Zhao B, Zhao Z, Sun X, et al. Effect of micro strain stress on proliferation of endothelial progenitor cells *in vitro* by the MAPK-ERK1/2 signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 492(2):206-211

[14] Liu ZC, Zhou QL, Liu ZQ, et al. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) mediates p38 mitogen-activated protein kinase activation and signal transduction in peripheral blood mononuclear cells from patients with lupus nephritis [J]. *Inflammation*, 2012, 35(3):935-943

[15] Chen J, Jing J, Yu S, et al. Advanced glycation endproducts induce apoptosis of endothelial progenitor cells by activating receptor RAGE and NADPH oxidase/JNK signaling axis [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(5):2169-2178

[收稿日期] 2017-11-22