

· 基础研究 ·

## 内毒素耐受对小鼠腹腔巨噬细胞分泌 MMP-1、MMP-7 及细胞迁移能力的影响

汪悦, 顾建雨, 朱奕名, 张尧尧, 孙颖\*

南京医科大学口腔疾病研究江苏省重点实验室, 南京医科大学附属口腔医院牙周科, 江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的: 观察牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P.gingivalis*)脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的耐受对小鼠腹腔巨噬细胞分泌基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-1 和 MMP-7 的影响, 以及耐受巨噬细胞对小鼠成纤维细胞 L929 迁移能力的影响。方法: 采用 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  *P.gingivalis* LPS 重复刺激小鼠腹腔巨噬细胞, 构建内毒素耐受模型, 并以 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E.coli*) LPS 作为阳性对照。收集细胞条件培养液上清, 采用 ELISA 技术检测 MMP-1 和 MMP-7 表达水平。观察耐受巨噬细胞条件培养液对 L929 细胞划痕创伤构建后细胞迁移能力的影响。结果: *P.gingivalis* LPS 重复刺激后, 巨噬细胞 MMP-1 分泌水平较单次刺激组降低( $P < 0.05$ ), MMP-7 分泌水平无明显变化( $P > 0.05$ )。 *P.gingivalis* LPS 诱导的耐受巨噬细胞培养液上清刺激 12、24 h 后, L929 细胞划痕修复面积大于单次刺激组培养液上清刺激后( $P < 0.05$ )。结论: *P.gingivalis* LPS 诱导的耐受能抑制小鼠腹腔巨噬细胞分泌 MMP-1, 促进 L929 细胞迁移。

**[关键词]** 牙龈卟啉单胞菌; 内毒素耐受; 巨噬细胞; 基质金属蛋白酶-1; 基质金属蛋白酶-7; 细胞迁移

**[中图分类号]** R780.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2020)01-021-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20200105

## Effects of endotoxin tolerance on the secretion of MMP - 1, MMP - 7 in mice peritoneal macrophages and the migration of L929 cells

WANG Yue, GU Jianyu, ZHU Yiming, ZHANG Yaoyao, SUN Ying\*

Jiangsu Key Laboratory of Oral Diseases, Nanjing Medical University; Department of Periodontology, the Affiliated Stomatological Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effects of endotoxin tolerance induced by *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) on the secretion of metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-7 in peritoneal macrophages of mice and the wound-healing abilities of L929 cells. **Methods:** Endotoxin tolerance in murine peritoneal macrophages was triggered by repeated 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  *P.gingivalis* lipopolysaccharide (LPS) stimulations, and 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  *Escherichia coli* (*E.coli*) LPS was served as positive control. Supernatants from tolerized macrophages were collected and levels of MMP-1 and MMP-7 were determined by ELISA. In addition, L929 cells were stimulated by supernatants from tolerized macrophages and their wound-healing abilities were evaluated by repair areas after scratch. **Results:** Secretion of MMP-1 in macrophages decreased significantly after repeated stimulation by *P.gingivalis* LPS compared with that treated by single *P.gingivalis* LPS stimulation ( $P < 0.05$ ), while there were no differences in MMP-7 levels between the two groups ( $P > 0.05$ ). Repaired areas after scratch (12 h, 24 h) in L929 cells cultured with supernatants from *P.gingivalis* LPS-tolerized macrophages were bigger than those from *P.gingivalis* LPS non-tolerized macrophages ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Endotoxin tolerance triggered by *P.gingivalis* LPS contributes to the decreased secretion of MMP-1 in murine peritoneal macrophages and the enhanced migration of L929 cells.

**[Key words]** *Porphyromonas gingivalis*; endotoxin tolerance; macrophages; MMP-1; MMP-7; cell migration

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(01): 021-025, 055]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81771075); 江苏省自然科学基金(BK20161565); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目(2018-87)

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

牙周炎是菌斑生物膜引起的一种慢性感染性疾病。牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P.gingivalis*)是牙周炎病变区或活动部位最主要的致病菌之一,能分泌包括脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)在内的大量毒力因子,启动机体免疫炎症反应,导致牙周袋形成,牙槽骨吸收,甚至牙齿松动、脱落<sup>[1]</sup>。在牙周炎的漫长病程中,*P.gingivalis*长期存在于牙周袋内,*P.gingivalis*及其毒力因子的持续刺激可导致宿主对后续刺激的反应性降低,产生内毒素耐受<sup>[2]</sup>。上述反应有助于减轻过度的免疫炎症反应对组织的破坏,但也可能影响宿主有效清除入侵病原体。

单核/巨噬细胞在免疫炎症反应中发挥了重要作用。细菌或其毒力因子刺激后,单核/巨噬细胞吞噬杀菌,释放细胞因子肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-10等,同时加工提呈抗原,启动适应性免疫反应<sup>[3]</sup>。作为内毒素耐受重要的效应细胞,单核/巨噬细胞耐受后,细胞因子信号转录抑制因子1(suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1)、IL-1受体相关激酶-M(interleukin-1 receptor associated kinases-M, IRAK-M)、miR-146a等调节分子表达增多, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 等促炎因子释放减少,抗炎因子IL-10分泌增加,炎症反应受到抑制<sup>[4]</sup>。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)是单核/巨噬细胞与多种组织细胞分泌的蛋白酶家族,可降解细胞外基质成分,调节细胞增殖、黏附、迁移和血管生成,在组织破坏与改建中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。目前,内毒素耐受对组织破坏与创伤修复的影响尚不完全明确。本研究拟构建小鼠腹腔巨噬细胞内毒素耐受模型,探讨*P.gingivalis* LPS诱导的耐受对巨噬细胞分泌MMP-1和MMP-7的影响,以及耐受巨噬细胞对小鼠成纤维细胞株L929细胞迁移能力的影响,为进一步揭示*P.gingivalis* LPS诱导的耐受在牙周炎发生发展中的作用提供实验数据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

6~8周龄雄性Balb/c小鼠购自南京医科大学医药实验动物中心。L929细胞由南京医科大学口腔疾病研究江苏省重点实验室提供。RPMI1640培养基(Gibco公司,美国),胎牛血清(Sciencell公司,美国),*P.gingivalis* ATCC 33277 LPS(Invivogen公司,美国),巯基乙酸盐肉汤、大肠杆菌(*Escherichia coli*,

*E.coli*)O127:B8 LPS(Sigma公司,美国),小鼠MMP-1、MMP-7 ELISA检测试剂盒(武汉华美生物公司),Spectramax190分光光度计(MD公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 小鼠腹腔巨噬细胞内毒素耐受模型的构建

本研究经南京医科大学动物伦理委员会批准。小鼠腹腔内注射4%巯基乙酸盐肉汤1.5 mL,3~5 d后脱颈处死,收集腹腔灌洗液,1 000 r/min离心5 min,收集细胞,以 $3 \times 10^6$ 个/孔密度接种于6孔板,置于37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 环境中培养。2 h后换液,洗去未贴壁细胞,贴壁者为腹腔巨噬细胞,继续培养,用于后续实验。

将小鼠腹腔巨噬细胞分为5组:空白对照组(A组)、*P.gingivalis* LPS单次刺激组(B组)、*P.gingivalis* LPS重复刺激组(C组)、*E.coli* LPS单次刺激组(D组)和*E.coli* LPS重复刺激组(E组)。其中,*E.coli* LPS为阳性对照。A、B、D组加入不含LPS的RPMI1640培养液,C、E组分别加入含1  $\mu\text{g/mL}$  *P.gingivalis* LPS或1  $\mu\text{g/mL}$  *E.coli* LPS的RPMI1640培养液培养24 h后,弃培养液上清,PBS洗2次。A组仍加入不含LPS的RPMI1640培养液,B、C组加入含1  $\mu\text{g/mL}$  *P.gingivalis* LPS的RPMI1640培养液,D、E组加入含1  $\mu\text{g/mL}$  *E.coli* LPS的RPMI1640培养液,继续培养24 h,收集细胞条件培养液,-80  $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

#### 1.2.2 ELISA法检测MMP-1和MMP-7蛋白浓度

将收集的细胞条件培养液室温下复温,按照ELISA试剂盒说明书,在包被MMP-1和MMP-7抗体的96孔板中,每孔加入100  $\mu\text{L}$ 样品,采用双抗体夹心法检测,终止反应后,用酶标仪检测450 nm波长下吸光度值,并按照标准曲线计算相应的MMP-1和MMP-7浓度,最终结果以各组浓度值/A组浓度值的相对值表示。

#### 1.2.3 细胞迁移试验

将复苏培养的L929细胞以 $2.5 \times 10^5$ 个/孔密度接种于12孔板,培养过夜后,用200  $\mu\text{L}$ 移液枪枪头垂直于孔底划线,洗去刮落细胞。吸去原培养液,将制备划痕创伤的L929细胞分为6组,每组5个复孔:以RPMI1640培养液作为阴性对照组,其余各组分别加入1.2.1中收集的腹腔巨噬细胞上清液,拍摄0、6、12和24 h细胞划痕图片,每孔选取3个视野,采用ImageJ Version k 1.45软件进行图像处理,计算划痕愈合率(%)=(0 h划痕面积-相应时刻划痕面积)/0 h划痕面积,最终结果以各组愈合率/阴性对照组愈合率的相对比值表示。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS24.0软件进行统计学分析,计量数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,各组数据间的比较采用单因素方差分析,采用LSD-*t*检验进行组间两两比较, $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 内毒素耐受对小鼠腹腔巨噬细胞MMP-1和MMP-7分泌水平的影响

*P.gingivalis* LPS(B组)或*E.coli* LPS(D组)单次刺激后,小鼠腹腔巨噬细胞MMP-1分泌水平较空白对照组(A组)明显增高( $P < 0.05$ )。LPS重复刺激后(C组或E组),小鼠腹腔巨噬细胞MMP-1分泌水平较相应的单次刺激组(B组或D组)明显降低( $P < 0.05$ ,图1)。

*P.gingivalis* LPS单次刺激后(B组),MMP-7水平与空白对照组(A组)无明显差异( $P > 0.05$ ),但*E.coli* LPS单次刺激后(D组),MMP-7分泌水平高于空白对照组(A组)( $P < 0.05$ )。*P.gingivalis* LPS重复刺激后(C组),MMP-7分泌水平与*P.gingivalis* LPS单次刺激(B组)无明显差异( $P > 0.05$ ),而*E.coli* LPS重复刺激后(E组),MMP-7分泌水平则较相应的单次刺激组(C组)明显降低( $P < 0.05$ ,图1)。

### 2.2 耐受巨噬细胞对L929细胞迁移能力的影响

划痕6 h后,*P.gingivalis* LPS、*E.coli* LPS单次刺

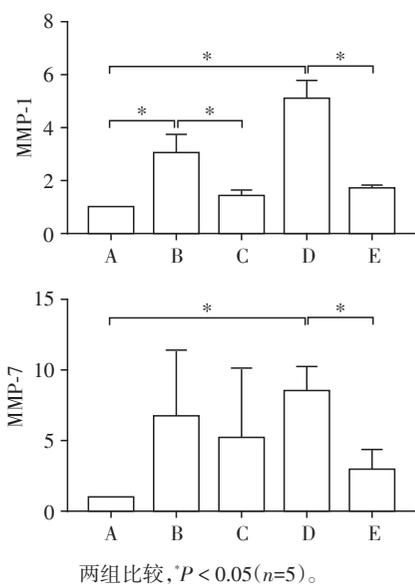


图1 内毒素耐受对小鼠腹腔巨噬细胞分泌MMP-1和MMP-7的影响

Figure 1 Effects of endotoxin tolerance on the secretion of MMP-1 and MMP-7 in murine peritoneal macrophages

激组上清培养的L929细胞与未刺激组上清培养的L929细胞相比,划痕愈合率无明显差异( $P > 0.05$ )。2种LPS重复刺激组上清培养的L929细胞划痕愈合率也与相应的单次刺激组上清培养的L929细胞无明显差异( $P > 0.05$ ,图2)。

划痕12 h后,2种LPS单次刺激组上清培养的L929细胞划痕愈合率均明显低于未刺激组上清培养的L929细胞( $P < 0.05$ )。2种LPS重复刺激组上清培养的L929细胞愈合率明显高于相应的单次刺激组上清培养的L929细胞( $P < 0.05$ ,图2)。

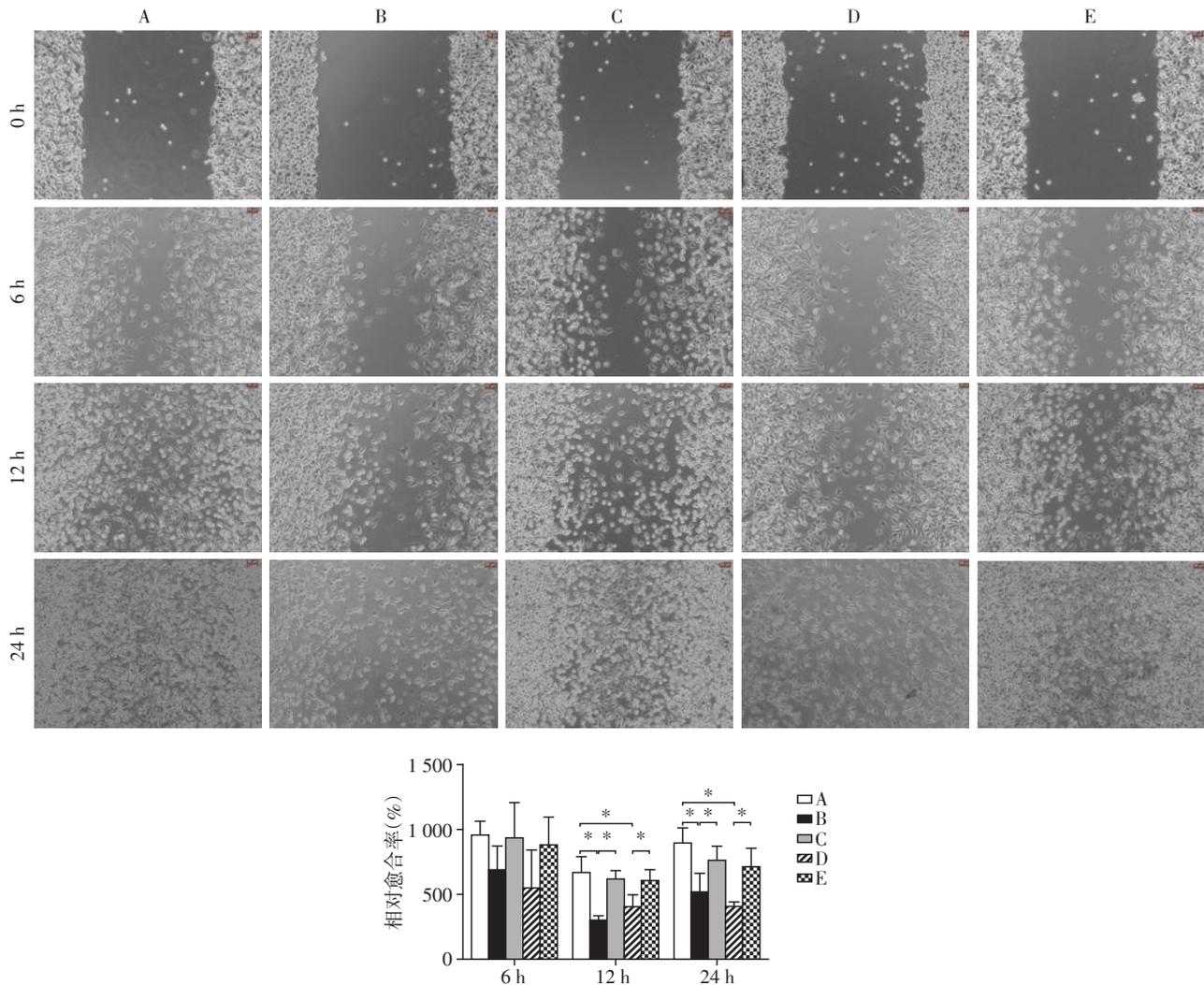
划痕24 h后,未刺激组上清培养的L929细胞划痕基本全部愈合。2种LPS单次刺激组上清培养的L929细胞划痕愈合率均明显低于未刺激组上清培养的L929细胞( $P < 0.05$ )。2种LPS重复刺激组上清培养的L929细胞划痕愈合率均显著高于相应的单次刺激组上清培养的L929细胞( $P < 0.05$ ,图2)。

## 3 讨论

革兰氏阴性( $G^-$ )厌氧菌*P.gingivalis*是牙周炎的主要致病菌之一,其胞壁成分LPS作为重要的病原相关分子模式,能刺激免疫细胞,启动一系列免疫炎症反应。*P.gingivalis* LPS的脂质A表现为四酰化或五酰化形式,其磷酸基团数量、脂肪酸位置及数量与最经典的G-菌内毒素*E.coli* LPS不同,前者毒性较弱,诱导的炎症反应也较弱<sup>[6]</sup>。有学者认为,*P.gingivalis* LPS是作为耐受分子,帮助细菌逃避免疫系统作用,而不是免疫刺激物<sup>[7]</sup>。因此,本研究将*E.coli* LPS作为阳性对照。本研究中,2种LPS单独或重复刺激后,腹腔巨噬细胞MMP-7表达水平的差异即可能与二者结构与生物学功能的差异相关。

内毒素耐受效应广泛存在于巨噬细胞、中性粒细胞、肥大细胞等免疫细胞中和牙龈上皮细胞等组织细胞中<sup>[8]</sup>。研究发现,牙周炎患者的牙龈组织中,Toll样受体(Toll like receptor, TLR)2和TLR4 mRNA表达水平低于健康人,可能与致病菌长期刺激导致的组织耐受有关<sup>[9]</sup>。

MMP属于金属蛋白酶超家族,包括胶原酶、明胶酶、基质溶解素、基质降解素、膜型MMP和其他MMP 6大类。MMP-1,又称间质胶原酶,在成纤维细胞、单核/巨噬细胞中表达丰富,可分解I型和III型胶原,是结缔组织重建的重要调节因子<sup>[10]</sup>。MMP-7是MMP家族中分子量最小的成员,由25种锌依赖性酶组成,参与骨重塑、胚胎植入、器官形成等一系列生理过程。与大多数MMP不同,MMP-7缺乏传统



A: L929+未刺激的巨噬细胞上清液; B: L929+*P.gingivalis* LPS 单次刺激的巨噬细胞上清液; C: L929+*P.gingivalis* LPS 重复刺激的巨噬细胞上清液; D: L929+*E.coli* LPS 单次刺激的巨噬细胞上清液; E: L929+*E.coli* LPS 重复刺激的巨噬细胞上清液; 两组比较, \* $P < 0.05$ ,  $n=5$ 。

图2 不同条件处理的腹腔巨噬细胞对L929细胞划痕愈合能力的影响( $\times 100$ )

Figure 2 Effects of peritoneal macrophages with different treatment on the wound healing abilities of L929 cells( $\times 100$ )

的C末端类血红素结构域,可能在上皮细胞迁移过程中分解 syndecan-1,还可活化防御素,发挥抗菌作用<sup>[11-12]</sup>。在炎症牙龈组织中,MMP-1和MMP-7表达水平均增高<sup>[13-14]</sup>。

本研究发现,*P.gingivalis* LPS或*E.coli* LPS单次刺激后,腹腔巨噬细胞MMP-1表达水平增高,Xue等<sup>[15]</sup>的研究发现,小鼠单核巨噬细胞白血病细胞RAW264.7在*E.coli* LPS刺激下,MMP-1分泌增多,与本实验结果一致。基质金属蛋白酶抑制剂-1(tissue inhibitors of metalloproteinases-1, TIMP-1)可抑制除膜型MMP以外的所有MMP<sup>[16]</sup>。Muthukuru等<sup>[17]</sup>发现,*P.gingivalis* LPS诱导人外周血单核细胞来源巨噬细胞耐受后,TIMP-1表达水平增高,本实验中MMP-1表达水平的下降可能与此相关。I型胶原

纤维是牙周结缔组织的主要成分<sup>[18]</sup>,MMP-1分泌减少,可减少其分解,从而减少减缓组织破坏的进一步发生。Letra等<sup>[19]</sup>采用*E.coli* LPS刺激人单核细胞株U937后发现,MMP-7表达增高,也与本研究结果相符。*E.coli* LPS诱导巨噬细胞耐受后,MMP-7分泌减少,同样有助于减少IV型胶原纤维分解,减少组织破坏。

牙周组织创伤的修复包括血液凝固、炎症反应和新生组织形成等阶段,牙龈成纤维细胞、成骨细胞、巨噬细胞、中性粒细胞等组织细胞和免疫细胞均参与其中<sup>[20]</sup>。小鼠成纤维细胞L929创伤愈合的模式与牙龈成纤维细胞类似。本研究采用耐受巨噬细胞条件培养液培养L929细胞并复制划痕创伤模型,L929细胞被极化,朝向划痕移动,产生突起、

迁移、闭合划痕。条件培养液中可能残留痕量LPS, Pena等<sup>[21]</sup>研究发现,痕量LPS对上皮细胞划痕修复能力没有明显影响。本研究比较了2种LPS单次刺激和重复刺激后,巨噬细胞条件培养液对L929创伤愈合能力的影响。在上述培养液中,LPS残留量是相等的,可以排除后者对耐受前后结果变化的影响。本研究发现,*P.gingivalis* LPS诱导的耐受巨噬细胞上清培养的L929细胞愈合能力更强,与Pena等研究一致。Pena等<sup>[21]</sup>还发现,采用铜绿假单胞菌LPS耐受的外周血单核细胞培养液上清培养人支气管上皮细胞,后者创伤愈合率比单次刺激的培养液上清培养的上皮细胞高。本课题组的前期研究发现,在内毒素耐受THP-1细胞中,转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)表达增多<sup>[22]</sup>。TGF-β1可增强组织损伤的修复能力,在愈合过程中,诱导成纤维细胞活化、增殖,使巨噬细胞和成纤维细胞向伤口趋化<sup>[23]</sup>。在本研究中,内毒素耐受促进L929细胞迁移可能与耐受后TGF-β1水平增高,促进了细胞迁移,进而促进创伤愈合有关,其确切的信号转导机制还有待进一步研究。

综上所述,*P.gingivalis* LPS诱导的内毒素耐受能抑制小鼠腹腔巨噬细胞分泌MMP-1,促进成纤维细胞迁移,对减轻免疫炎症反应造成的牙周组织破坏,促进组织愈合具有一定的作用。

#### [参考文献]

[1] FOEY A D, HABIL N, AL-SHAGHDALI K, et al. Porphyromonas gingivalis-stimulated macrophage subsets exhibit differential induction and responsiveness to interleukin-10 [J]. Arch Oral Biol, 2017, 73: 282-288

[2] 陈杨, 祝祥清, 程筱番, 等. 内毒素耐受对中性粒细胞抗炎反应的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2017, 37(1): 30-34

[3] JIMENEZ - URIBE A P, VALENCIA - MARTINEZ H, CARBALLO-UICAB G, et al. CD80 expression correlates with IL-6 production in THP-1-like macrophages costimulated with LPS and dialyzable leukocyte extract(Transferron®)[J]. J Immunol Res, 2019, 2019: 2198508

[4] COLLINS P E, CARMODY R J. The regulation of endotoxin tolerance and its impact on macrophage activation [J]. Crit Rev Immunol, 2015, 35(4): 293-323

[5] FRANCO C, PATRICIA H R, TIMO S, et al. Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(2): E440

[6] SLOCUM C, COATS S R, HUA N, et al. Distinct lipid moieties contribute to pathogen-induced site-specific vas-

cular inflammation [J]. PLoS Pathog, 2014, 10 (7) : e1004215

[7] COHEN N, MORISSET J, EMILIE D. Induction of tolerance by *Porphyromonas gingivalis* on APCs: a mechanism implicated in periodontal infection [J]. J Dent Res, 2004, 83(5): 429-433

[8] VERGADI E, VAPORIDI K, TSATSANIS C. Regulation of endotoxin tolerance and compensatory anti-inflammatory response syndrome by non-coding RNAs [J]. Front Immunol, 2018, 9: 2705

[9] MUTHUKURU M, JOTWANI R, CUTLER C W. Oral mucosal endotoxin tolerance induction in chronic periodontitis [J]. Infect Immun, 2005, 73(2): 687-694

[10] SAPNA G, GOKUL S, BAGRI-MANJREKAR K. Matrix metalloproteinases and periodontal diseases [J]. Oral Dis, 2014, 20(6): 538-550

[11] VANDENBROUCKE R E, VANLAERE I, VAN HAUWERMEIREN F, et al. Pro-inflammatory effects of matrix metalloproteinase 7 in acute inflammation [J]. Mucosal Immunol, 2014, 7(3): 579-588

[12] ALFAKRY H, MALLE E, KOYANI C N, et al. Neutrophil proteolytic activation cascades: a possible mechanistic link between chronic periodontitis and coronary heart disease [J]. Innate Immun, 2016, 22(1): 85-99

[13] KUBOTA T, ITAGAKI M, HOSHINO C, et al. Altered gene expression levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in periodontitis-affected gingival tissue [J]. J Periodontol, 2008, 79(1): 166-173

[14] ZEIDAN-CHULIA F, YILMAZ D, HAKKINEN L, et al. Matrix metalloproteinase-7 in periodontitis with type 2 diabetes mellitus [J]. J Periodontal Res, 2018, 53(5): 916-923

[15] XUE F, NIE X B, SHI J P, et al. Quercetin inhibits LPS-induced inflammation and ox-LDL-induced lipid deposition [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 40

[16] VILELA P, DE OLIVEIRA J R, DE BARROS P P, et al. *In vitro* effect of caffeic acid phenethyl ester on matrix metalloproteinases (MMP-1 and MMP-9) and their inhibitor (TIMP-1) in lipopolysaccharide-activated human monocytes [J]. Arch Oral Biol, 2015, 60(9): 1196-1202

[17] MUTHUKURU M, CUTLER C W. Resistance of MMP9 and TIMP1 to endotoxin tolerance [J]. Pathog Dis, 2015, 73(5): ftu003

[18] LEW J H, NARUISHI K, KAJIURA Y, et al. High glucose-mediated cytokine regulation in gingival fibroblasts and THP-1 macrophage: a possible mechanism of severe periodontitis with diabetes [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 50(3): 973-986

(下转第055页)

- Oncotarget, 2018, 9: 12112-12124
- [10] MORAN V A, PERERA R J, KHALIL A M. Emerging functional and mechanistic paradigms of mammalian long non-coding RNAs[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(14): 6391-6400
- [11] CLARK M B, MATTICK J S. Long noncoding RNAs in cell biology[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22(4): 366-376
- [12] JI P, DIEDERICH S, WANG W, et al. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer[J]. *Oncogene*, 2003, 22(39): 8031-8041
- [13] WU X S, WANG X A, WU W G, et al. MALAT1 promotes the proliferation and metastasis of gallbladder cancer cells by activating the ERK/MAPK pathway[J]. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15(6): 806-814
- [14] DU Y, KONG G, YOU X, et al. Elevation of highly up-regulated in liver cancer(HULC) by hepatitis B virus X protein promotes hepatoma cell proliferation via down-regulating p18 [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287 (31) : 26302-26311
- [15] MATOUK I J, DEGROOT N, MEZAN S, et al. The H19 non-coding RNA is essential for human tumor growth[J]. *PLoS One*, 2007, 2(9): e845
- [16] YANG F, XUE X, ZHENG L, et al. Long non-coding RNA GHET1 promotes gastric carcinoma cell proliferation by increasing c-Myc mRNA stability[J]. *FEBS J*, 2014, 281(3): 802-813
- [17] ZHANG L, ZHOU X F, PAN G F, et al. Enhanced expression of long non-coding RNA ZXF1 promoted the invasion and metastasis in lung adenocarcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2014, 68(4): 401-407
- [18] 刘伊扬, 钱健, 王增军, 等. 长链非编码 RNA BX357664对肾透明细胞癌细胞上皮间质转化过程的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(1): 25-30
- [19] 刘玲, 钱潇潇, 鲁一兵, 等. LncRNA TCONS-00020455及TCONS-00020457在甲状腺乳头癌中的表达及意义[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(3): 332-337
- [收稿日期] 2018-11-01

(上接第025页)

- [19] LETRA A, GHANEH G, ZHAO M, et al. MMP-7 and TIMP-1, new targets in predicting poor wound healing in apical periodontitis[J]. *J Endod*, 2013, 39(9): 1141-1146
- [20] SMITH P C, MARTINEZ C, MARTINEZ J A. Role of fibroblast populations in periodontal wound healing and tissue remodeling[J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 270
- [21] PENA O M, PISTOLIC J, RAJ D, et al. Endotoxin tolerance represents a distinctive state of alternative polarization (M2) in human mononuclear cells [J]. *J Immunol*, 2011, 186(12): 7243-7254
- [22] ZHU X Q, LU W, CHEN Y, et al. Effects of porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide tolerized monocytes on inflammatory responses in neutrophils[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0161482
- [23] LICHTMAN M K, OTERO - VINAS M, FALANGA V. Transforming growth factor beta (TGF - beta) isoforms in wound healing and fibrosis [J]. *Wound Repair Regen*, 2016, 24(2): 215-222
- [收稿日期] 2019-06-14