

肿瘤内分泌

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002262

神经生长因子及其受体调节胶质瘤细胞 Warburg 效应
促进其转移的作用机制研究

杜鹏程, 张海军, 武焕颖, 郭伟伦

(河北省承德市中心医院神经外科, 承德 067000)

【摘要】目的:探究神经生长因子(nerve growth factor, NGF)及其受体调节胶质瘤细胞 Warburg 效应促进其转移的作用机制。**方法:**Western blot 和实时荧光定量 PCR 检测 3 株胶质瘤细胞中 NGF 以及 TrkA 的蛋白及 mRNA 水平。以 U251 为实验细胞, 将 U251 分为 Control 组和 NGF 组, 50 $\mu\text{g/L}$ 的 NGF 干预。CCK-8 检测细胞活力, PI 染色后流式细胞术检测细胞周期的变化, Transwell 小室实验检测细胞的侵袭能力, Western blot 检测神经生长因子受体(growth factor receptor, TrkA)、AKT、PI3K 以及代谢酶磷酸果糖激酶(Phosphofructokinase, PFK)、丙酮酸激酶 M2(pyruvate kinase M2, PKM2)的表达水平, 检测葡萄糖摄取水平、乳酸水平、细胞氧耗水平。将 U251 细胞分为 Control 组、AKT inhibitor 组和 NGF 组, Control 组为常规培养细胞, AKT inhibitor 组为 AKT 抑制剂预处理后再使用 50 $\mu\text{g/L}$ 的 NGF 干预, 而 NGF 组为 50 $\mu\text{g/L}$ 的 NGF 干预。同样进行上述检测。**结果:**胶质瘤细胞中 NGF 和 TrkA 水平高于胶质细胞, 其中 U251 水平最高。NGF 干预后, U251 细胞活力增高, NGF 组细胞中 G2 期明显高于 Control 组, NGF 组细胞的侵袭数目明显高于 Control 组, NGF 组细胞中 TrkA、AKT、PI3K 的蛋白水平明显高于 Control 组。而代谢酶 PFK、PKM2 的表达水平明显低于 Control 组。NGF 组细胞葡萄糖摄取水平、乳酸水平、细胞氧耗水平相比 Control 组具有明显差异。AKT 信号抑制后, NGF 组细胞活力高于 Control 组、AKT inhibitor 组, NGF 组细胞中 G2 期比例明显高于 Control 组和 AKT inhibitor 组。NGF 组细胞的侵袭数目明显高于 Control 组和 AKT inhibitor 组, NGF 组细胞中 TrkA、AKT、PI3K 的蛋白水平明显高于 Control 组和 AKT inhibitor 组。而代谢酶 PFK、PKM2 的表达水平明显低于 Control 组和 AKT inhibitor 组。NGF 组细胞葡萄糖摄取水平、乳酸水平、细胞氧耗水平相比 Control 组和 AKT inhibitor 组具有明显差异。**结论:**NGF 可以通过 TrkA-PI3K/AKT 信号促进胶质瘤细胞 Warburg 效应, 促进其转移。

【关键词】神经生长因子; 胶质瘤细胞; Warburg 效应; 转移**【中图分类号】**R735.7**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2018-01-12Mechanism of nerve growth factor and its receptor regulating glioma cell
Warburg effect on promoting metastasis

Du Pengcheng, Zhang Haijun, Wu Huanying, Guo Weilun

(Department of Neurosurgery, Chengde Central Hospital)

【Abstract】Objective: To investigate the mechanism of action of nerve growth factor (NGF) and its receptor in regulating Warburg effect and promoting metastasis of glioma cells. **Methods:** Western blot and RT-qPCR were used to measure the protein and mRNA expression of NGF and TrkA in three glioma cell lines. U251 cells were divided into control group and NGF group (treated with 50 $\mu\text{g/L}$ NGF). CCK-8 assay was used to measure cell viability; flow cytometry after PI staining was used to observe the change in cell cycle; Transwell chamber was used to measure cell invasion ability; Western blot was used to measure the expression of TrkA, AKT, PI3K, phosphofructokinase (PFK), and pyruvate kinase M2 (PKM2). The levels of glucose uptake, lactic acid, and cell oxygen consumption were measured. U251 cells were divided into control group, AKT inhibitor group, and NGF group. The cells in the control group were

作者介绍: 杜鹏程, Email: 17659294@qq.com,

研究方向: 胶质瘤。

通信作者: 郭伟伦, Email: guoweilun@163.com。

基金项目: 2016 年河北省级重大医学科研课题资助项目 (编号: zd2016008)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190909.1307.008.html>
(2019-09-10)given routine treatment, those in the AKT inhibitor group were pretreated with AKT inhibitor and then treated with 50 $\mu\text{g/L}$ NGF, and those in the NGF group were treated with 50 $\mu\text{g/L}$ NGF. The above tests were also performed. **Results:** Glioma cells had significantly higher levels of NGF and TrkA than glial cells, and U251 glioma cells had the highest levels. U251 cells

showed a significant increase in cell viability after NGF intervention. Compared with the control group, the NGF group had a significantly higher number of cells in G2 phase, a significantly higher number of invasive cells, and significantly higher protein expression of TrkA, AKT, and PI3K, as well as significantly lower expression of the metabolic enzymes PFK and PKM2. There were significant differences between the NGF group and the control group in the levels of glucose uptake, lactic acid, and oxygen consumption. After AKT signal suppression, the NGF group had significantly higher cell viability and number of cells in G2 phase than the control group and the AKT inhibitor group. Compared with the control group and the AKT inhibitor group, the NGF group had significantly higher number of invasive cells and protein expression of TrkA, AKT, and PI3K, as well as significantly lower expression of the metabolic enzymes PFK and PKM2. There were significant differences in the levels of glucose uptake, lactic acid, and oxygen consumption between the NGF group and the control group/AKT inhibitor group. **Conclusion:** NGF can promote Warburg effect and metastasis of glioma cells through the TrkA-PI3K/AKT signaling pathway.

[Key words] nerve growth factor; glioma cell; Warburg effect; metastasis

胶质瘤是一种颅内恶性肿瘤,具有高侵袭性和致死性,所以外科手术往往无法完全切除,术后复发性高,患者术后生活质量低、预后差,属于目前较为难治的恶性肿瘤之一^[1-2]。神经生长因子(nerve growth factor, NGF)是神经营养家族中的重要成员,主要由星形细胞及少突胶质细胞分泌,具有调控神经生长的作用,目前研究已经发现 NGF 参与了肿瘤的发生发展^[3-4]。在 NGF 的作用中,其受体分为高亲和型和低亲和型,受体性质不同,作用也不同,高亲和型受体 TrkA 是酪氨酸激酶家族成员,而低亲和型受体是 P75 受体,TrkA 接受 NGF 信号后可以被激活促进神经细胞生长。而 P75 可以介导少突胶质细胞凋亡^[5-6]。但是 NGF 在胶质瘤中确切的作用尚未被揭示。

能量代谢是细胞生存增殖的基础,一般的正常细胞以葡萄糖有氧代谢为主要的代谢方式,提供 ATP,维持细胞正常的生理。而肿瘤细胞的代谢中以无氧糖酵解为主要的代谢方式,糖酵解产物乳酸作为肿瘤微环境的主要造就物质,所以对于肿瘤代谢的变化,称为 Warburg 效应^[7]。而影响 Warburg 效应的作用因素较多,本研究主要以次为切入点,探究 NGF 对于胶质瘤糖代谢的影响。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和材料

人胶质瘤细胞株 U251、U87、U118 及人胶质细胞 HEB

(北京北纳创联生物技术研究院);实时定量 PCR 试剂盒/SYBR Green Realtime PCR Master Mix(sinobio 公司);总 RNA 提取试剂盒(TRIzol 法)(BioTeKe 公司);细胞氧耗检测仪(美国 Strathkelvin 公司);葡萄糖检测试剂盒(Molecular probes 公司);乳酸检测试剂盒(南京建成生物科技有限公司);CCK-8 试剂盒(碧云天生物技术有限公司);Transwell 小室(北京萌壮科技有限公司,康宁牌,批号:3421);PI 染色试剂盒(BD 公司);TrkA、AKT、PI3K、PFK、PKM2、CS2 的单克隆抗体以及 HRP 标记的二抗(cell signaling technology,货号:2510、4691、4249、12746、4053)。AKT 抑制剂 A-674563(Selleck 公司,货号:2670)。

1.2 细胞实验分组

本研究分为两部分。第一部分的细胞实验中将 U251 细胞分为 Control 组和 NGF 组,其中 NGF 组中 50 $\mu\text{g/L}$ 的 NGF 干预。第二部分的细胞实验将 U251 细胞分为 Control 组、AKT inhibitor 组和 NGF 组,其中 Control 组为常规培养细胞,AKT inhibitor 组为 AKT 抑制剂 10 nmol/L 预处理后再使用 50 $\mu\text{g/L}$ 的 NGF 干预,而 NGF 组直接使用 50 $\mu\text{g/L}$ 的 NGF 干预。

1.3 Western blot 检测蛋白的表达

细胞经过干预 48 h 后,用 RIPA 和苯甲基磺酰氯(benzene-sulfonyl chloride, PMSF)提取细胞总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度。取蛋白质样品,与 5 $\times$ 上样缓冲液混合,沸水煮 5 min 变性,经 SDS-PAGE,蛋白从凝胶中转移到 PVDF 膜上,含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭 2 h,加入鼠抗人单克隆抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 漂洗 3 次,每次 5 min,加入 HRP 标记的羊抗鼠二抗室温孵育 2 h, ECL 显影,并进行密度分析。

1.4 RT-PCR 检测 mRNA 的表达水平

收集细胞,按 TRIzol 说明书操作提取细胞总 RNA,按逆转录试剂盒说明书进行逆转录反应,反应条件为 70 $^{\circ}\text{C}$ 5 min、

0 ℃ 5 min、37 ℃ 5 min、42 ℃ 60 min、70 ℃ 10 min、-20 ℃ 保存。用于扩增人 cDNA, NGF 的引物序列为: 上游引物序列: 5'-GGGATCCGCCACCATGGCCATGTTGTTCTACACTCTG-3', 下游引物序列: 5'-CCCAAGCTTTTATCAGGCTCTTCTCA-CAGCCTTCCTGC-3'; TrkA 的引物序列为: 上游引物序列: 5'-CCTGCTGGCTTGGCTGAT-3', 下游引物序列: 5'-CAGGAA-ACGGAGACCACTCTT-3'; 以人 GAPDH 为内参照, 上游引物序列为: 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3', 下游引物序列为: 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'。PCR 反应条件为: 94 ℃ 5 min 预变性, 94 ℃ 30 s, 59 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 共 30 个循环, 72 ℃ 延伸 10 min。

1.5 CCK-8 检测细胞活力

将细胞接种在 96 孔板后进行干预, 设置时间点为 3、6、12、18、24、36、48 h, 待培养完成后, 弃去培养基后加入新鲜培养基, 同时加入 100 μ L 的 CCK-8 溶液继续培养 4 h, 同时采用空白培养基作为对照, 检测细胞在 480 nm 处的吸光度。

1.6 Transwell 小室检测细胞迁移的能力

取对数期的细胞加入 Transwell 小室后加药干预处理, 24 孔板下室加入完全培养基, 待细胞贴壁后培养 48 h 后取出小室, 弃去培养基, 甲醇固定后用 0.1% 的结晶紫染色, 棉签擦去上层未迁移的细胞后镜下观察。

1.7 葡萄糖摄取水平和乳酸产生水平的检测

细胞接种在 6 孔板中并进行干预, 细胞培养基含 5 000 mg/L 的葡萄糖, 待细胞继续培养 48 h 后, 收集细胞培养基, 应用葡萄糖检测试剂盒进行葡萄糖摄取水平的检测, 同时应用乳酸检测试剂盒检测培养基中乳酸的含量。

1.8 细胞氧耗的检测

应用细胞氧耗仪检测细胞氧耗, 清洁电机后安装电极膜, 连通电极后检测细胞氧耗水平。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 17.0 进行统计学处理。实验数据均以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 对组间比较采用单因素方差分析, 并用 Bonferroni 校正的 t 检验进行组间两两比较。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

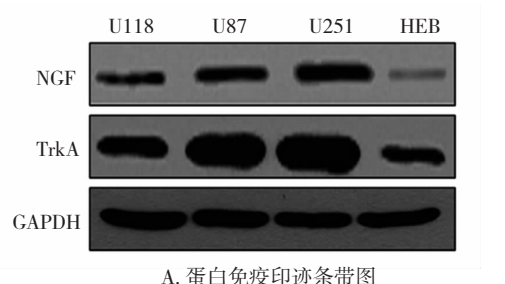
2.1 胶质瘤细胞中 NGF 及 TrkA 的表达水平

3 株胶质瘤细胞株中 NGF 和 TrkA 的蛋白水平和 mRNA 水平明显高于 HEB 细胞, 且 U251 中 NGF 和 TrkA 的水平明显高于 U118 和 U87。结果如图 1 所示。

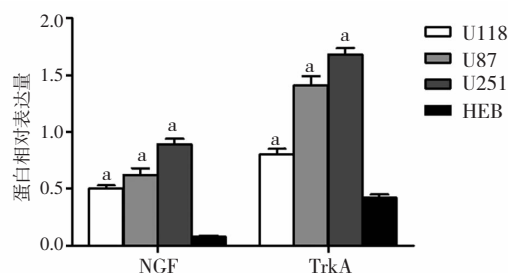
2.2 NGF 对于 U251 细胞生物学作用及 Warburg 效应的影响

NGF 干预 U251 细胞后, CCK-8 检测结果显示在 0~48 h 内, NGF 组细胞的活力明显高于 Control 组, 结果如图 2A 所示。PI 染色结果显示, NGF 组细胞中 G2 期比例为 (22.33 $\pm$

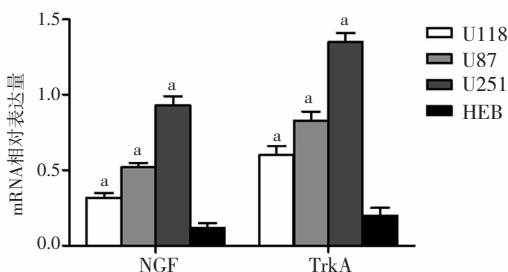
0.54)%, 明显高于 Control 组的 (8.52 $\pm$ 2.15)%。而 Transwell 小室结果显示, NGF 组细胞的侵袭数目 (136.58 $\pm$ 19.41) 明显高于 Control 组 (46.32 $\pm$ 8.62), 结果如图 2B 所示。NGF 组细胞中 TrkA、AKT、PI3K 的蛋白水平 (0.68 $\pm$ 0.06、0.65 $\pm$ 0.05、0.73 $\pm$ 0.04), 明显高于 Control 组 (0.38 $\pm$ 0.03、0.42 $\pm$ 0.03、0.43 $\pm$ 0.06)。而代谢酶 PFK、PKM2 的表达水平为 0.38 $\pm$ 0.03、0.40 $\pm$ 0.05, 明显低于 Control 组的 0.43 $\pm$ 0.04、0.92 $\pm$ 0.08。结果如图 2C 所示。NGF 组细胞葡萄糖摄取水平 (1.63 $\pm$ 0.09)、乳酸水平 (1.52 $\pm$ 0.12)、细胞氧耗水平 [(1.53 $\pm$ 0.13) nmol/min] 相比 Control 组具有统计学差异。结果见表 1。



A. 蛋白免疫印迹条带图



B. 蛋白相对表达量统计图



C. mRNA 相对表达量统计图

注: a, 与 HEB 细胞比较, NGF 和 TrkA 的水平具有明显差异, $P < 0.05$

图 1 胶质瘤细胞中 NGF 和 TrkA 的表达水平 ($n=3$)

表 1 NGF 对于 U251 葡萄糖摄取水平、乳酸水平以及细胞氧耗水平的影响 ($n=3$)

组别	葡萄糖相对摄取水平	乳酸相对产生水平	氧耗量 (nmol/min)
Control 组	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	2.83 $\pm$ 0.23
NGF 组	1.63 $\pm$ 0.09 ^a	1.52 $\pm$ 0.12 ^a	1.53 $\pm$ 0.13 ^a

注: a, 与 Control 组比较, $P < 0.05$

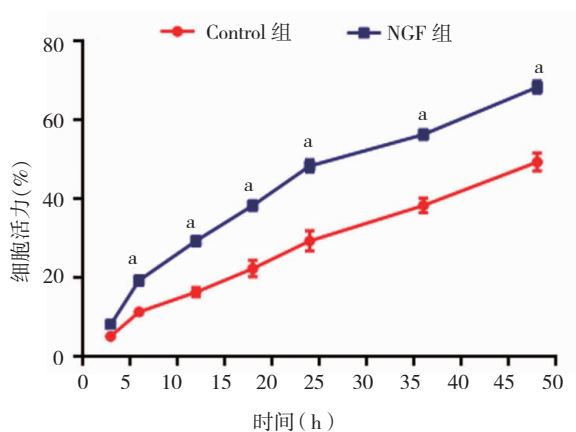
2.3 阻断 AKT 信号后,NGF 对于 U251 细胞生物学作用及 Warburg 效应的影响

AKT 抑制剂预处理后,NGF 干预 U251 细胞。CCK-8 法检测细胞活力结果显示 NGF 组细胞活力明显高于 Control 组、AKT inhibitor 组,而 Control 组和 AKT inhibitor 组比较无明显差异,结果如图 3A 所示。PI 染色结果显示,NGF 组细胞中 G2 期比例为(22.52 ± 2.15)%,明显高于 Control 组的(7.52 ± 1.23)%和 AKT inhibitor 组的(7.89 ± 1.68)%。而 Transwell 小室结果显示,NGF 组细胞的侵袭数目(89.36 ± 2.32)明显高于 Control 组(32.35 ± 3.58)和 AKT inhibitor 组(35.68 ± 4.23),结果如图 3B 所示。NGF 组细胞中 TrkA、AKT、PI3K 的蛋白水平(0.65 ± 0.05、0.70 ± 0.06、1.25 ± 0.13)明显高于 Control 组(0.52 ± 0.06、0.50 ± 0.05、0.63 ± 0.06)和 AKT inhibitor 组(0.05 ± 0.01、0.40 ± 0.03、0.50 ± 0.06)。而代谢酶 PFK、PKM2 的表达水平为(0.32 ± 0.03、0.38 ± 0.04)明显低于 Control 组(0.62 ± 0.06、0.65 ± 0.03)和 AKT inhibitor 组(0.60 ± 0.03、0.63 ± 0.04),

结果如图 3C 所示。NGF 组细胞葡萄糖摄取水平(1.70 ± 0.11)、乳酸水平(1.66 ± 0.12)、细胞氧耗水平(1.62 ± 0.18) nmol/min 相比 Control 组和 AKT inhibitor 组具有统计学差异。结果见表 2。

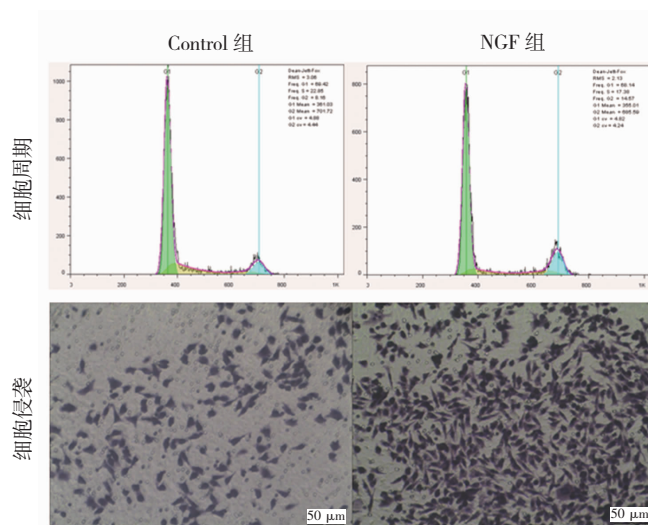
3 讨论

神经营养因子 NGF 是一类与中枢神经系统生长、发育、分化及神经元生物学特性维持密切相关的多肽类物质,可以通过促进生长分化来调节神经元群的总体平衡^[8-9]。NGF 及受体广泛分布在中枢神经系统,其中神经细胞、神经胶质细胞以及施万细胞均可以产生 NGF。NGF 通过其高亲和受体酪氨酸蛋白激酶受体(TrkA)和低亲和受体(p75)介导第二信号发挥作用,Walch 等发现 NGF 及其受体参与了

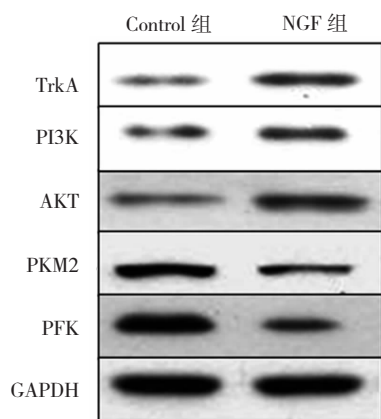


注:a,与 Control 组比较, $P < 0.05$

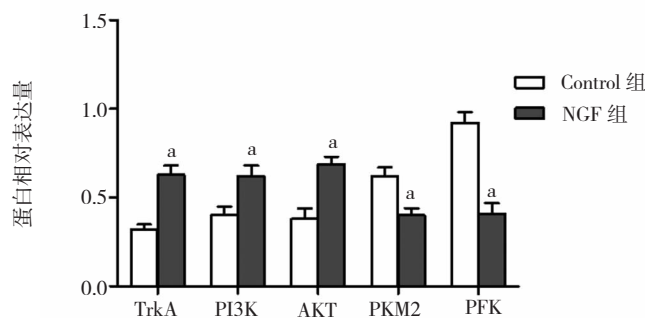
A. NGF 对于 U251 细胞活力的影响 ($n=3$)



B. NGF 对于 U251 细胞周期及侵袭能力影响的实验结果 ($n=3$)



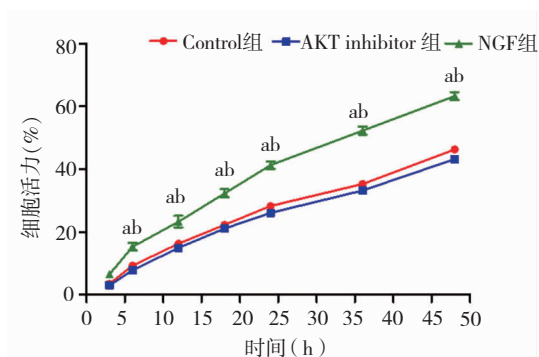
C. 蛋白免疫印迹条带图



注:a,与 Control 组比较, $P < 0.05$

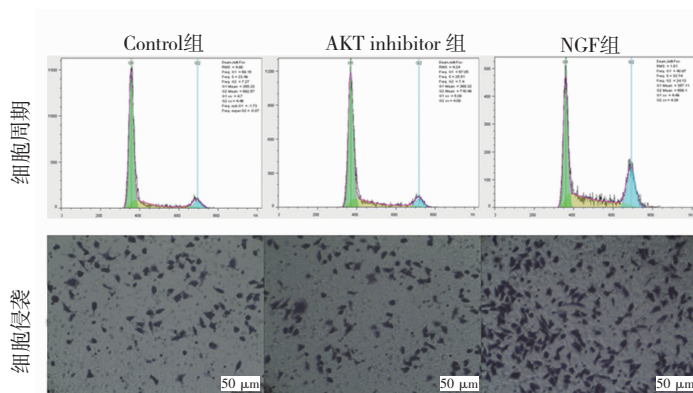
D. mRNA 相对表达量统计图

图2 NGF 对于 U251 细胞生物学作用及 Warburg 效应的影响

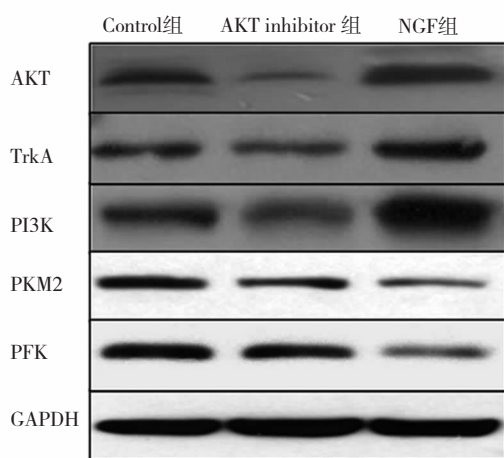


注:a,与 Control 组比较, $P<0.05$;b:与 AKT inhibitor 组比较, $P<0.05$

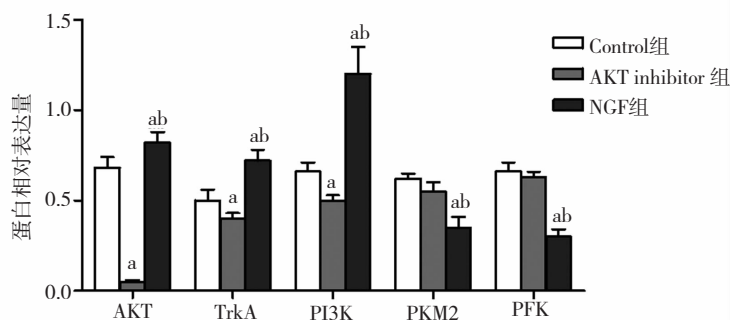
A. AKT 信号阻断后,NGF 对于 U251 细胞活力的影响



B. AKT 信号阻断后,NGF 对于 U251 细胞周期及侵袭能力影响的实验结果 ($n=3$)



C. 蛋白免疫印迹条带图



注:a,与 Control 组比较, $P<0.05$;b:与 AKT inhibitor 组比较, $P<0.05$

D. mRNA 相对表达量统计图

图 3 阻断 AKT 信号后,NGF 对于 U251 细胞生物学作用及 Warburg 效应的影响

表 2 阻断 AKT 信号后,NGF 对于 U251 葡萄糖摄取水平、乳酸水平以及细胞氧耗水平的影响 ($n=3$)

组别	葡萄糖相对摄取水平	乳酸相对产生水平	氧耗量 (nmol/min)
Control组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	2.83 ± 0.23
AKT inhibitor 组	0.89 ± 0.09 ^a	0.83 ± 0.06 ^a	2.53 ± 0.15 ^a
NGF 组	1.70 ± 0.11 ^{ab}	1.66 ± 0.12 ^{ab}	1.62 ± 0.18 ^{ab}

注:a,与 Control 组比较, $P<0.05$;b:与 AKT inhibitor 组比较, $P<0.05$

肿瘤的发生发展以及转移侵袭过程^[10-11],而大量的临床研究也证明了 NGF 在胶质瘤中表达增高,尤其是脑实质胶质瘤中表达高于脑室内的表达^[12],而在大脑、小脑及其他部位表达为差异,但是其确切的作用机制还未被揭示。

在正常的细胞中,细胞主要进行有氧代谢,而缺氧条件下葡萄糖会进行糖酵解反应生成丙酮酸,而丙酮酸可以进入三羧酸循环进一步代谢;而在肿瘤中,无论氧气充足与否,细胞都可以进行糖酵解反

应,这就是代谢的重编程,也被称为 Warburg 效应。Warburg 效应对于肿瘤的转移和侵袭具有重要的促进作用,Warburg 效应中葡萄糖有氧代谢减少后,可以导致肿瘤细胞对于凋亡抵抗能力的增加,机制在于酵解反应中,PDKs、LDH 等酶高表达为肿瘤提供凋亡阻力,帮助脱离细胞机制的肿瘤细胞凋亡,延长生存期^[13]。所有肿瘤细胞的代谢重编程导致的 Warburg 效应对于肿瘤细胞的侵袭转移具有重要的作用。本研究发

和侵袭,同时激活 PI3K-AKT 信号,PI3K 可以和 TrkA 结合,同时激活下游 AKT 信号^[14],AKT 可以进一步调节 PFK 和 PKM2 的表达。有氧代谢中 PFK 和 PKM2 是关键代谢酶,表达水平的增高可以进一步促进有氧代谢,而表达水平下调可以促进无氧酵解,而在能量代谢的检测中也证明,NGF 可以提高葡萄糖的利用率,降低耗氧量,提高乳酸水平。采用 AKT 抑制剂干预和 NGF 干预后,细胞周期和侵袭能力无明显变化,同时 PKM2 和 PFK 的水平也无明显变化。所以通过实验可以证明 NGF 可以促进胶质瘤 U251 细胞 Warburg 效应,其作用机制与 PI3K-AKT 信号的激活有关。PI3K-AKT 途径是肿瘤转移的重要信号,已有的研究发现,AKT 蛋白磷酸化后 p-AKT 可以进一步激活 mTOR 进而调控肿瘤的转移和侵袭,而 AKT 还有关键的作用用于能量代谢的调控。有研究发现,能量代谢中,抑制 AKT 蛋白后可以明显降低物质能量代谢,而 AKT 激活后,细胞代谢水平明显增高,所以在肿瘤物质能量代谢中 AKT 起到了多重调节作用。

综上所述,NGF 可以通过 PI3K-AKT 信号促进胶质瘤细胞 Warburg,这是 NGF 促进胶质瘤发生进展的重要机制之一,但是目前以 NGF-TrkA 为靶点的治疗方法还鲜有报道,该信号可以调控下游效应蛋白,有望成为胶质瘤治疗的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Feng H, Wang J, Jiang H, et al. β -elemene selectively inhibits the proliferation of glioma stem-like cells through the downregulation of Notch1[J]. Stem Cells Translational Medicine, 2017, 6(3): 830-839.
- [2] Xu WL, Wang Y, Wu J, et al. Quantitative analysis of U251MG human glioma cells invasion in organotypic brain slice co-cultures[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(11): 2221-2229.
- [3] Tomlinson R, Zhi L, Qian Z, et al. NGF-TrkA signaling by sensory nerves coordinates the vascularization and ossification of developing endochondral bone[J]. Cell Reports, 2016, 16(10): 2723-2735.
- [4] Iannone F, Increased expression of nerve growth factor(NGF) and high affinity NGF receptor(p140 TrkA) in human osteoarthritic chondrocytes[J]. Rheumatology, 2002, 41(12): 1413-1418.
- [5] Stabile A, Pistilli A, Crispoltoni L, et al. A role for NGF and its receptors TrkA and p75NTR in the progression of COPD[J]. Biological Chemistry, 2016, 397(2): 157-163.
- [6] Douillard T, Martinellikl y CP, Lombardi T. Nerve growth factor expression and its receptors trka and p75ntr in peri-implantitis lesions[J]. Implant Dentistry, 2016, 25(3): 373-379.
- [7] Kim J, Dang CV. Cancer's molecular sweet tooth and the Warburg effect[J]. Cancer Research, 2006, 66(18): 8927-8930.
- [8] De TN, Marchetti L, Di CR, et al. Precursor and mature NGF live tracking: one versus many at a time in the axons[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 20272.
- [9] Sheffield KS, Vohra R, Scott JA, et al. Using surface plasmon resonance spectroscopy to characterize the inhibition of NGF-p75(NTR) and proNGF-p75(NTR) interactions by small molecule inhibitors[J]. Pharmacological Research, 2016, 103: 292-299.
- [10] Fujita T, Maturana AD, Ikuta J, et al. Axonal guidance protein FEZ1 associates with tubulin and kinesin motor protein to transport mitochondria in neurites of NGF-stimulated PC12 cells[J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2007, 361(3): 605-610.
- [11] Lai A, Moon A, Purmessur D, et al. Annular puncture with tumor necrosis factor- α injection enhances painful behavior with disc degeneration in vivo[J]. Spine Journal, 2016, 16(3): 420-431.
- [12] Huang D, Lin C, Wen X, et al. A potential nanofiber membrane device for filling surgical residual cavity to prevent glioma recurrence and improve local neural tissue reconstruction[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0161435.
- [13] Guo H, Nan Y, Zhen Y, et al. miRNA-451 inhibits glioma cell proliferation and invasion by downregulating glucose transporter 1[J]. Tumor Biology, 2016, 37(10): 13751-13761.
- [14] Zhao L, Wang Y, Sun N, et al. Electroacupuncture regulates TRPM7 expression through the trkA/PI3K pathway after cerebral ischemia-reperfusion in rats[J]. Life Sciences, 2007, 81(15): 1211-1222.

(责任编辑:唐秋姗)