

# 血管内皮生长因子对成熟树突状细胞蛋白质组的影响<sup>\*</sup>

龙金华<sup>1</sup>, 曾 柱<sup>2\*\*</sup>

(1. 贵阳医学院附属肿瘤医院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院 生物技术教研室, 贵州 贵阳 550004)

**[摘 要]** **目的:** 探索血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)对成熟树突状细胞(mature dendritic cells, mDCs)蛋白质表达谱的影响,以进一步理解肿瘤的免疫逃逸机制,为改善基于 DCs 的抗肿瘤免疫的临床治疗效率寻找新的线索。**方法:** 用免疫磁珠从人外周血分离 CD14<sup>+</sup> 单核细胞,加入粒-巨噬细胞集落刺激因子(Recombinant human granulocyte-macrophage CSF, rhGM-CSF)、白介素 4(Recombinant human interleukins 4, IL-4)将单核细胞诱导分化为未成熟 DCs(immature DCs, imDCs),利用肿瘤坏死因子  $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )将 imDCs 诱导为成熟 DCs(mature DCs, mDCs),VEGF 作用于 mDCs,用基于质谱的蛋白质组技术研究 VEGF 对 mDCs 的蛋白质表达谱的影响。**结果:** VEGF 可上调或下调 mDCs 的细胞骨架及其相关蛋白、迁移相关蛋白、免疫功能相关蛋白和抗氧化相关蛋白的表达。**结论:** VEGF 可能通过重组 mDCs 的细胞骨架来损伤其运动能力和免疫学功能,这对进一步理解 DCs 的生物学功能和肿瘤的免疫逃逸机制具有重要意义。

**[关键词]** 树突细胞;成熟树突状细胞;血管内皮生长因子;蛋白质组学

**[中图分类号]** Q61 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2012)04-0339-05

## Proteomics Study on the Effect of Vascular Endothelial Growth Factor on Mature Dendritic Cells

LONG Jinhua<sup>1</sup>, ZENG Zhu<sup>2</sup>

(1. the Affiliated Cancer Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China;

2. Department of Biotechnology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China )

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of vascular endothelial growth factor (VEGF) on protein expression profile of mature dendritic cells (mDCs), and so as to further understanding of the immune escape mechanism of tumor and looking for the new clue for improvement of clinical efficiency of DCs-based immune therapy against cancer. **Methods:** CD14<sup>+</sup> monocytes were isolated from peripheral blood by immunomagnetic beads. The monocytes were then cultured with recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor (rhGM-CSF) and recombinant human interleukins 4 (rhIL-4) for 7 days to develop into immature DCs (imDCs). Tumor necrosis factor- $\alpha$  (rhTNF- $\alpha$ ) was used to induce imDCs into mDCs. The mDCs were treated with VEGF. The protein expression profiles of mDCs were investigated by mass spectrometry-based proteomics technique. **Results:** Some cytoskeletal proteins and their related proteins, migration-associated proteins, immune function-related proteins and antioxidation-associated proteins in mDCs were up or down-regulated by VEGF. **Conclusions:** The motility and immune function of mDCs might be impaired by VEGF through cytoskeletal reorganization, which is significant for further understanding of biological function of mDCs and immune escape mecha-

<sup>\*</sup> [基金项目] 国家自然科学基金(11162003), 教育部科学技术研究重点项目(210196), 贵州省优秀青年科技人才支持计划(2011-24), 贵州省社会发展科技攻关项目(黔科合 SY 字[2011]3065), 贵州省省长专项基金(黔省专合字[2009]-79), 贵州省科学技术基金(黔科合 J 字 2008-2274), 贵阳市科学技术项目(2010-筑科农合同字第 1-社-12)

<sup>\*\*</sup> 通讯作者 E-mail: zengzhu100@sina.com

nism of tumor.

[**Key words**] dendritic cells; mature dendritic cells, vascular endothelial growth factor; proteomics

近年来基于 DCs 的抗肿瘤细胞免疫治疗在临床应用上取得成功,但是该疗法的治疗效率还有许多问题需要解决<sup>[1~3]</sup>。其中,荷瘤宿主机体内的 DCs 迁移能力低下是一个值得高度关注的问题<sup>[1]</sup>。有研究发现肿瘤浸润部位有 DCs 存在,而且 DCs 的数量与肿瘤浸润程度呈负相关<sup>[3]</sup>。现已知恶性肿瘤宿主体内的 DCs 功能发生了紊乱,肿瘤可以通过多种方式逃脱免疫系统的监视,并且不同的肿瘤对 DCs 功能的影响机制还不尽相同<sup>[2, 3]</sup>;包括 VEGF 等在内的肿瘤微环境来源的抑制性细胞因子对 DCs 功能的抑制和损伤是其中的一个关键问题,但是其潜在的机制还知之甚少<sup>[3~5]</sup>。有研究发现,VEGF 可抑制 DCs 分化,其在癌症患者血浆中的浓度增加与较差的预后密切相关,而且 VEGF 的表达水平与癌症患者肿瘤组织和外周血 DCs 数量呈负相关<sup>[5~7]</sup>。在以前工作的基础上,利用基于质谱的二维电泳技术研究 VEGF 对 mDCs 蛋白质表达谱的影响,以期发现新的线索和分子靶点,为基于 DCs 的肿瘤疫苗的临床应用提供理论支持<sup>[8~10]</sup>。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂

重组人粒-巨噬细胞集落刺激因子 (rhGM-CSF),重组人白介素 4 (rhIL-4) 和重组人肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ),重组人血管内皮生长因子-165 (rhVEGF),鼠抗人 IgG 等购自 R&D 公司;淋巴细胞分离液 (Ficoll, 1.077 g/ml) 购自上海试剂二厂;完全培养基包括:RPMI-1640 购自美国 GIBCO 公司、胎牛血清 (FCS) 购自美国 HyClone 公司、2 mmol/L 谷氨酰胺、0.01 mmol/L 丙酮酸钠、0.05 mmol/L 巯基乙醇、20 mmol/L Hepes、100 U/ml 青霉素、100 mg/L 链霉素;FITC 标记的抗人 CD14 单克隆抗体购自美国 Sigma 公司;人 CD14<sup>+</sup> 单核细胞阴性选择免疫磁珠试剂盒 (Monocyte Isolation Cocktail Kit) 购自德国 Miltenyi 公司;IPG 干胶条购自 Amersham Pharmacia Biotech;蛋白酶抑制剂购自 Bio-Rad。

### 1.2 单核细胞和树突状细胞的获得

按文献[8~10]方法用免疫磁珠从人外周血

分离 CD14<sup>+</sup> 单核细胞,加入粒-巨噬细胞集落刺激因子、白介素 4 将单核细胞诱导分化为未成熟 DCs,利用肿瘤坏死因子  $\alpha$  将 imDCs 诱导为成熟 DCs。

### 1.3 成熟树突状细胞的处理

根据 Mimura 等的方法,将 mDCs 用 20  $\mu$ g/L 重组人血管内皮生长因子-165 (rhVEGF-165) (R&D) 在 37 $^{\circ}$ C 下处理 0.5 h,未处理细胞作对照<sup>[11]</sup>。

### 1.4 细胞总蛋白的提取

总蛋白的提取参照文献[10]。

### 1.5 蛋白质表达谱的获得

二维凝胶电泳参照 Bio-Rad 公司技术手册,17 cm, pH 3~10 胶条,上样量 200  $\mu$ g,上样体积 300  $\mu$ l。一向等电聚焦条件设置:50 V 12 h,500 V 1 h,1 000 V 1 h,4 000 V 1 h,6 000 V 1 h,8 000 V 10 h (总和为 90 000 Vh)。胶条经平衡后进行第 2 向聚丙烯酰胺凝胶电泳 (12.5%, SDS-PAGE)。银染法显色,重复 3 次。对二维蛋白图扫描成像,分辨率为 1 024  $\times$  1 024。Pro Quest 软件 (R&D) 分析图像,同时确定每个蛋白点的相对分子量、等电点和斑点匹配。

### 1.6 蛋白点的质谱鉴定

切取感兴趣的差异表达蛋白点,经脱色、脱水、真空干燥、胰酶酶解、真空浓缩、MALDI-TOF MS (Shimadzu) 分析。所得肽指纹图谱在 Gene Ontology 数据库中对其功能作聚类分析与标准数据库比对。

## 2 结果

### 2.1 二维凝胶电泳的蛋白点图像分析

mDCs 和 mDCs + VEGF 的二维凝胶电泳如图 1 所示,利用 Pro Quest 软件对所获图像进行分析如表 1 所示,mDCs 显示 458 个蛋白,mDCs + VEGF 显示 663 个蛋白,二者之间的匹配率为 81%。

### 2.2 差异表达蛋白点的质谱鉴定

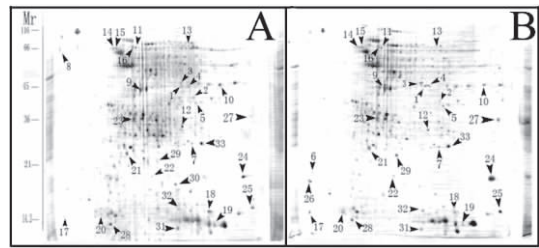
利用 Pro Quest 软件检测凝胶电泳图像蛋白点的相对体积,两蛋白点的相对体积比大于 2 被认为是差异表达蛋白,将感兴趣的 33 个蛋白点进行编号,切取相应蛋白点作 MALDI-TOF MS 分析,将所鉴

定的蛋白质在 Gene Ontology 数据库中对其功能作聚类分析并与标准数据库比对,结果如表 2 所示。

表 1 Pro Quest 软件对二维凝胶电泳图像的分析结果

Tab. 1 Analysis results of 2D gel images with Pro Quest

样品名称	数量	匹配	匹配率(%)	修正因子
mDCs	458	458	100	1.000
mDCs + VEGF	663	372	81	0.854



pH3→pH10

注: A; mDCs; B; mDCs + VEGF

图 1 mDCs 的二维电泳凝胶电泳结果

Fig. 1 2D gel image of mDCs

表 2 不同培养条件下 mDCs 的差异表达蛋白质的鉴定结果

Tab. 2 Identification results of differential expression proteins of mDCs under different cultivation condition

编号	蛋白名称	相对体积 (mDCs;mDCs 等电点 + VEGF)	分子量/ 2-DE	登录号 SwissPort
1	Actin, cytoplasmic	1:2	48.2/5.5	P02570
2	Actin, cytoplasmic	1:3	48.8/5.4	P02570
3	Actin, cytoplasmic	1:2	47.4/5.3	P02570
4	Actin, cytoplasmic	1:2	42.3/6.2	P02570
5	Actin, cytoplasmic	1:3	37.2/6.0	P02570
6	Actin, cytoplasmic	1:2	15.6/4.7	P02570
7	ARP2/3 22 kDa	1:2	22.1/7.8	O15511
8	Calreticulin	5:1	54.8/3.7	P27797
9	Chloride intracellular channel	1:2	36.8/5.7	O00299
10	F-actin capping protein beta subunit	1:4	37.6/6.1	P47756
11	Glucose-regulated protein 78 kDa	2.5:1	75.9/4.6	P11021
12	Glutathione S-transferase P	1:3.5	31.2/6.2	P09211

续表 2

编号	蛋白名称	相对体积 (mDCs;mDCs 等电点 + VEGF)	分子量/ 2-DE	登录号 SwissPort
13	Heat shock cognate 71 kDa protein	1:5	53.5/7.1	P11142
14	Lymphocyte-specific protein 1	3:1	61.2/4.9	P33241
15	Lymphocyte-specific protein 1	3.5:1	58.1/5.1	P33241
16	MHC I	3:1	10.2/4.5	P30480
17	Migration inhibitory factor-related protein	1:-	16.5/5.5	P06702
18	Migration inhibitory factor-related protein	1:5	13.6/5.4	P06702
19	Myosin light chain	1:3	14.3/3.4	P16475
20	Rho GDP-dissociation inhibitor 1	1:18	31.3/4.8	P52565
21	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	1:3	33.6/5.1	P52566
22	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	1:7	15.7/5.2	P52566
23	Vimentin	1:1	74.9/3.9	P08670
24	Cofilin1	1:6	15.7/9.1	P23528
25	Profilin	2:1	10.8/9.2	P07737
26	Calmodulin	1:3	17.5/3.78	P62158
27	Thioredoxin peroxidase 2	1:3	38.5/8.8	Q63716
28	Thioredoxin	1:2	9.6/3.9	P10599
29	Superoxide dismutase	1:5	23.9/5.8	P00441
30	Gelectin-1	1:3	21.3/6.2	P09382
31	S100A6	-:5	9.2/5.9	P06703
32	ACTG1 protein	-:2	7.5/4.7	BC009848
33	Vimentin	1:2	36.7/9.1	P08670

注:“-”表示蛋白点未被检出

3 讨论

为了从分子水平上探索 VEGF 对 mDCs 的影响,本研究利用基于质谱的蛋白质组技术获得了 mDCs 蛋白质表达谱,共鉴定了 33 个差异表达蛋白,分别涉及细胞的形态、结构、代谢、信号转导以及运动能力。

丝切蛋白(cofilin1)是肌动蛋白(actin)的结合蛋白,通过切断肌动蛋白丝和增加解聚作用而在细胞骨架重组的过程中发挥重要作用,它的活性可由于其磷酸化和去磷酸化可逆调节。Cofilin 及其相关的因子肌动蛋白解聚因子(ADF)结合肌动蛋白

单体、丝切有效的解聚和切断肌动蛋白丝,因此,它们在快速转换肌动蛋白丝中有重要作用,而且这种解聚合是可逆的,这一蛋白的表达对于具有高运动性的 DCs 质膜运动来说显得尤为重要,但是其过度表达同样也会影响细胞骨架的重组<sup>[12, 13]</sup>。本研究发现 VEGF 可上调 cofilin1 在 mDCs 中的表达,这可能会引起细胞的细胞骨架 F-actin 微丝结构被过度的解聚或切断,导致其骨架系统发生重组和紊乱,进而影响细胞的迁移能力,这与本课题组以前的研究结果相一致,但是还需进一步研究<sup>[8~10]</sup>。而 profilin 的功能与 cofilin 相反,它是 actin 多聚化的重要调节分子,在细胞骨架重组的过程中,它们相互之间是一种“脚踏车”式的表达关系<sup>[14, 15]</sup>。本研究发现,VEGF 可使 mDCs 中的 profilin 下调,这可能会导致其与 cofilin 之间的功能配合发生失调,影响细胞骨架的重组和运动能力。

Calreticulin、Grp78 和 Hsp71 属于细胞内一些重要生物学过程的伴侣蛋白(Chaperones),它们可以与其他构象不稳定的蛋白相结合并使之稳定,通过控制结合和解离来帮助被结合多肽在体内的折叠、组装、转运或降解等,在 DCs 对抗原的处理和呈递过程中具有一定的作用<sup>[16~18]</sup>。本研究发现,VEGF 可使 Calreticulin 和 Grp78 在 mDCs 中表达,这可能影响到细胞内新生糖蛋白的折叠途径和 MHC 分子的组装过程。

主要组织相容性复合体分子 MHC I 作为重要抗原呈递相关分子,其表达高低直接影响到 APC 的抗原呈递效率。MHC I 在 DCs + VEGF 中均有明显的下调,这可能是肿瘤微环境下 mDCs 的抗原呈递能力下降原因,这与 Gabrilovich 等<sup>[19]</sup>的研究结果一致。

硫氧还原蛋白(Thioredoxin)、硫氧化还原蛋白过氧化酶(Thioredoxin peroxidase)和铜锌超氧化物歧化酶(Cu-Zn SOD)是细胞内重要抗氧化分子,它们在 DCs + VEGF 中出现了较大幅度的上调,这可能与细胞的处于某种应激状态有关<sup>[20, 21]</sup>。

钙调素(Calmodulin)是一种能与钙离子结合的蛋白质,涉及细胞的多种功能,其在 DCs + VEGF 中的表达上调可能是细胞对其胞浆内的钙离子浓度增高的一种自我调节反应<sup>[22]</sup>。

淋巴细胞特异性蛋白 1(Lymphocyte-Specific Protein1, LSP1)是一种位于细胞膜胞浆侧且与 F-actin 结合的细胞骨架蛋白<sup>[23]</sup>。本研究发现,LSP1 在 DCs + VEGF 中表达下调,这可能会影响到 DCs

吞噬能力、胞浆内囊泡的运输能力和迁移能力。

迁移抑制因子相关蛋白(Migration inhibitory factor-related protein, MRP)8 和 14 属于 S100 蛋白家族的 2 个钙离子和锌离子结合蛋白,可以通过调控包括微丝和微管在内的细胞骨架的聚合或解聚来影响细胞粘附和迁移过程<sup>[24, 25]</sup>。本研究发现,MRP14 在 mDCs + VEGF 中显著上调,说明细胞骨架在分化过程中可能发生了异常的重组。MRP8/14 的另一个重要生物学功能是其可特异性地结合 eicosanoid 的前体-花生四烯酸(Arachidonic Acid, AA)<sup>[26, 27]</sup>。eicosanoid 在细胞内消耗脂肪酸或脂肪酸结合蛋白的过程中发挥着重要的调控作用,可影响细胞磷脂、三酰基甘油和胆固醇酯的合成。MRP14 表达上调,意味着 eicosanoid 的形成增加,细胞膜脂中的胆固醇含量增加,从而导致细胞膜流动性下降,这可能是肿瘤微环境下 mDCs 膜流动性显著下降的直接原因之一<sup>[8~10]</sup>。

Rho GDP 解聚抑制因子 Rho GDI(RhoGDP-Dissociation Inhibitor, GDI)负调控 Rho GTPase 的表达,它具有结合 Rho 家族成员羧基末端异戊二烯并将它们从质膜中移除的能力,它还可以抑制 GTPase 在 GTP 和 GDP 结合两种不同的结合构象间循环<sup>[28]</sup>。mDCs + VEGF 中 Rho GDI 显著上调,可能导致更少的 GDP 转化为 GTP,使 Rho GTPase 的表达下调,下调的 Rho GTPase 也可能导致细胞骨架发生错误重组,使细胞的运动能力下降。

总之,VEGF 可上调或下调 mDCs 的细胞骨架、免疫功能和代谢相关蛋白等的表达,并可能通过重组 mDCs 的细胞骨架来损伤其运动能力和免疫学功能,这对进一步理解 DCs 的生物学功能和肿瘤的免疫逃逸机制具有重要意义。

## 4 参考文献

- [1] Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine [J]. Nature, 2007(449): 419-426.
- [2] Steinman, RM. Decisions about dendritic cells: past, present, and future[J]. Annu Rev Immunol, 2012(30): 1-22.
- [3] Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion[J]. Science, 2011(331): 1565-1570.
- [4] Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells [J]. Annu Rev Immunol, 2007(25): 267-296.
- [5] Johnson BF, Clay TM, Hobeika AC, et al. Vascular endothelial growth factor and immunosuppression in cancer:

- current knowledge and potential for new therapy [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2007(7): 449 – 460.
- [6] Masoumi MS, Amini A, Morris DL, et al. Significance of vascular endothelial growth factor in growth and peritoneal dissemination of ovarian cancer [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2012 (31): 143 – 62.
- [7] Steinman RM. Dendritic cells in vivo: a key target for a new vaccine science[J]. *Immunity*, 2008( 29): 319 – 324.
- [8] Zeng Z, Xu XF, Zhang YY, et al. Tumor-derived factors impaired motility and immune functions of dendritic cells through derangement of biophysical characteristics and reorganization of cytoskeleton [J]. *Cell Motility and Cytoskeleton*, 2007(64): 186 – 98.
- [9] Zeng Z, Yao WJ, Xu XF, et al. Hepatocellular carcinoma cells deteriorate the biophysical properties of dendritic cells[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2009 (55): 33 – 43.
- [10] Xu XF, Zeng Z, Wang XW, et al. Biomechanical alterations of dendritic cells by co-culturing with K562 CML cells and their potential role in immune escape[J]. *J Biomechanics*, 2010(43): 2339 – 2347.
- [11] Mimura K, Kono K, Takahashi A, et al. Vascular endothelial growth factor inhibits the function of human mature dendritic cells mediated by VEGF receptor-2[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007 (56): 761 – 70.
- [12] Freeman SA, Lei V, Dang-Lawson M, et al. Cofilin-mediated F-actin severing is regulated by the Rap GTPase and controls the cytoskeletal dynamics that drive lymphocyte spreading and BCR microcluster formation[J]. *J Immunol*, 2011(187): 5887 – 5900.
- [13] Ishaq M, Lin BR, Bosche M, et al. LIM kinase 1 - dependent cofilin 1 pathway and actin dynamics mediate nuclear retinoid receptor function in T lymphocytes [J]. *BMC Mol Biol*, 2011(12): 41 – 53.
- [14] Yun SP, Ryu JM, Jang MW, et al. Interaction of profilin-1 and F-actin via a beta-arrestin-1/JNK signaling pathway involved in prostaglandin E(2)-induced human mesenchymal stem cells migration and proliferation[J]. *J Cell Physiol*, 2011(226): 559 – 571.
- [15] Machaidze G, Sokoll A, Shimada A, et al. Actin filament bundling and different nucleating effects of mouse Diaphanous-related formin FH2 domains on actin/ADF and actin/cofilin complexes[J]. *J Mol Biol*, 2010(403): 529 – 545.
- [16] Wang WA, Groenendyk J, Michalak M. Calreticulin signaling in health and disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012 (44): 842 – 846.
- [17] Choi HJ, Choi WS, Park JY, et al. SIGN-R1, a C-type lectin, binds to Bip/GRP78 and this interaction mediates the regurgitation of T-cell-independent type 2 antigen dextran through the endoplasmic reticulum[J]. *Immunobiology*, 2011(216): 437 – 446.
- [18] Fang H, Wu Y, Huang X, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4) is essential for Hsp70-like protein 1 (HSP70L1) to activate dendritic cells and induce Th1 response [J]. *J Biol Chem*, 2011 (286): 30393 – 30400.
- [19] Fricke I. Vascular endothelial growth factor-trap overcomes defects in dendritic cell differentiation but does not improve antigen-specific immune responses [J]. *Clin Cancer Res*, 2007(13): 4840 – 4848.
- [20] Xu J, Li T, Wu H, et al. Role of thioredoxin in lung disease [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2012 (25): 154 – 162.
- [21] Branco V, Canário J, Lu J, et al. Mercury and selenium interaction in vivo: effects on thioredoxin reductase and glutathione peroxidase [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012 (52): 781 – 793.
- [22] Verma-Gaur J, Hauser J, Grundström T. Negative feedback regulation of antigen receptors through calmodulin inhibition of E2A [J]. *J Immunol*, 2012(188): 6175 – 83.
- [23] Smith AL, Ganesh L, Leung K, et al. Leukocyte-specific protein 1 interacts with DC-SIGN and mediates transport of HIV to the proteasome in dendritic cells[J]. *J Exp Med*, 2007(204): 421 – 30.
- [24] Pan X, Mao X, Cheng T, et al. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of MMP13 and inflammation in titanium particles-stimulated air pouch in vivo [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011(357): 313 – 321.
- [25] Heinrichs D, Knaul M, Offermanns C, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) exerts antifibrotic effects in experimental liver fibrosis via CD74[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011(108): 17444 – 17449.
- [26] Wittkowski H, Kuemmerle-Deschner JB, Austermann J, et al. MRP8 and MRP14, phagocyte-specific danger signals, are sensitive biomarkers of disease activity in cryopyrin-associated periodic syndromes[J]. *Ann Rheum Dis*, 2011(70): 2075 – 2081.
- [27] Maisseyeu A, Badgeley MA, Kampfrath T, et al. In vivo targeting of inflammation-associated myeloid-related protein 8/14 via gadolinium immunonanoparticles [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012 (32): 962 – 970.
- [28] Garcia-Mata R, Boulter E, Burrridge K. The 'invisible hand': regulation of Rho GTPases by RhoGDIs[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011(22): 493 – 504.

(2012-06-19 收稿, 2012-07-18 修回)

编辑: 张丽君