0254-6124/2018/38(6)-891–09 *Chin. J. Space Sci.* 空间科学学报

YU Yang, WANG Shengwei, XU Zhaoxian, JIN Mingjie, YANG Shulin. Advances on molecular and biological effects of mammalian cells in microgravity environment (in Chinese). *Chin. J. Space Sci.*, 2018, **38**(6): 891-899. DOI:10.11728/cjss2018.06.891

微重力环境中哺乳动物细胞分子生物学效应研究进展*

于 洋 王盛炜 许召贤 金明杰 杨树林

(南京理工大学环境与生物工程学院 南京 210094)

摘 要 随着载人航天事业的不断发展, 空间失重环境引起的航天员健康问题 (心血管疾病、免疫抑制、肌肉萎缩、骨质疏松等) 日益突出, 这已成为人类探索空间的一大阻碍. 越来越多的研究关注到微重力条件下机体及细胞的变化. 近期的研究表明, 在细胞水平上, 微重力会引起细胞降解, 改变细胞骨架, 并造成细胞在分子水平 (如细胞增殖、分化、迁移、粘附、信号转导等过程) 的一系列改变. 本文对微重力条件下免疫细胞、内皮细胞、骨细胞、癌细胞的相关研究进行了归纳总结, 研究结果可为微重力条件下机体及相关细胞的研究提供指导, 为治疗或缓解微重力条件造成的疾病提供方法和思路.

关键词 微重力, 细胞水平, 基因表达, 三维细胞聚集体

中图分类号 V 527

Advances on Molecular and Biological Effects of Mammalian Cells in Microgravity Environment

YU Yang WANG Shengwei XU Zhaoxian

JIN Mingjie YANG Shulin

(*School of Environmental and Biological Engineering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing* 210094)

Abstract With the continuous development of manned space program, astronaut health problems, such as cardiovascular diseases, immuno-suppression, muscle wasting, and osteoporosis, *etc.*, caused by microgravity have attracted extensive concern, and these astronaut-derived health problems have become a major obstacle to the exploration of space. Many studies have focused on the changes of body and cell in microgravity conditions. Recent studies have shown that cell degradation and changes in the cytoskeleton can be induced by microgravity, and a series of changes caused by microgravity at molecular level were also found. In this paper, the recent studies on the behavior

* 国家重大科学仪器设备开发专项项目资助 (2012YQ0401400803)

2017-09-11 收到原稿, 2018-04-21 收到修定稿

E-mail: jinmingjie@njust.edu.cn, yshulin@njust.edu.cn

of immune cells, endothelial cells, bone cells and cancer cells in microgravity condition are reviewed. The results can provide instruction and reference for the further study of the disease occurrence in microgravity conditions, and provide some ideas for the treatment of diseases caused by microgravity conditions.

Key words Microgravity, Cellular level, Gene expression, Three dimensional cell aggregates

0 引言

人类对外层空间的探索需要面对极其复杂的空间环境, 其中对人和动物体具有重要影响的因素主要有空间辐射、极端温度、高真空、微磁场和微重力. 在航天异常环境中, 微重力是唯一不可屏蔽的因素. 短期的微重力可引起航天员体液头向转移及一系列不良反应, 微重力消失后可恢复; 长期的微重力环境则会引起骨流失、肌肉萎缩、心血管疾病、神经体液失调及免疫功能降低等一系列诱发疾病 [1] 空间.

细胞是生物体结构和功能的基本单位, 为了研究微重力条件导致的疾病原因, 需要研究微重力条件下细胞分子的生物学效应. 研究或模拟微重力条件下细胞和分子水平的改变, 有助于理解空间环境对航天员健康状况影响的本质原因. 本文对微重力及模拟微重力条件下免疫细胞、内皮细胞、骨细胞和癌细胞的研究进行综述, 以期为今后外空间条件下机体及相关细胞的研究提供指导, 为治疗或缓解微重力条件造成的航天员免疫抑制、心血管疾病及骨流失等相关疾病提供方法和思路.

1 微重力条件下免疫细胞的分子生物学效应

1973 年 Konstantinova 等 [2] 通过对刚从空间返回的前苏联航天员 T 淋巴细胞测试发现, T 淋巴细胞对促分裂剂的反应降低. 1984 年 Cogoli 等 [3] 通过放射性胸苷评价 T 淋巴细胞活化下降的等级, 首次发现 T 淋巴细胞活化的失败由微重力导致. T 细胞的完全活化需要三个信号, 第一个信号被与促分裂剂结合的 TCR/CD3 (T cell Receptor/Cluster of Differentiation 3) 复合物传递, 第二个信号是 IL-2 (Interleukin-2) 的自分泌及 IL-2 与自身 IL-2 受体的结合, 第三个信号是 T 淋巴细胞与辅佐细胞的接触及共刺激. 多种蛋白激酶、GTP 酶、转录因子参与了此过程 [4].

促分裂剂与 TCR/CD3 复合体的结合分为连接及固定两个过程. Cogoli 等利用探空火箭通过对刀豆蛋白促分裂剂添加荧光标签的方法研究了刀豆蛋白促分裂剂对外周血 T 淋巴细胞和 Jurket T 细胞 TCR/CD3 复合体的连接及固定, 发现微重力对 T 淋巴细胞中促分裂剂和 TCR/CD3 复合体的连接和固定影响很小 [4−6]. 对外周血淋巴细胞在 SLS-1 和 IML-2 中的表现研究显示, IL-2 及其受体的表达显著减少. Minami 等 [7] 研究发现, 由 T 淋巴细胞自分泌的 IL-2 与受体结合后可以驱使细胞增殖及分化成效应细胞. 因此, IL-2 及其受体的功能被抑制是导致细胞活化失败的一个可能原因.

对人外周血淋巴细胞在 SLS-1 中表现的研究显示, 在微重力条件下, IL-2 分泌被抑制, IL-2R (Interleukin-2 Receptor) 数量减少非常明显 [8]. 类似研究也在其他实验中被证实 [9−12]. 因此, T 淋巴细胞活化失败的一个重要原因是微重力导致的 IL-2 及 IL-2R 基因表达的抑制.

在 T 淋巴细胞与辅佐细胞接触的过程中, T 淋巴细胞和辅佐细胞进行共刺激, 由辅佐细胞产生的 IL-1 (Interleukin-1) 促进 T 淋巴细胞活化. 但是, 微重力条件下 IL-1 的分泌并没有受到影响 [13]. 在细胞的相互作用过程中, 细胞的运动性对细胞间的信息传递很重要. 微重力条件下 T 细胞的运动能力比其在普通重力条件下的运动能力强 [14]. 但辅佐细胞 J-111 单核细胞的运动能力在微重力条件下被严重抑制, 进而可能会影响共刺激信号的传递, 这也是 T 细胞活化受阻的一个可能原因 [15].

PKA (Protein Kinase A) 和 PKC (Protein Kinase C) 是 T 细胞活化的重要调节途径 [16]. 信号转导途径改变可能会导致 T 细胞增殖的抑制. PKC 途径与细胞骨架关系密切, 细胞骨架的紊乱可以改变信号分子的定位, 进而影响 PKC 亚型的分布 [6,17]. Lewis 等 [18] 在微重力条件下检测到 Jurkat 细胞系和 T 淋巴细胞中细胞骨架微丝和微管网络的明显改变.

此外, 微重力条件导致了 PKC 磷酸化作用的下调 [19,20]. Boonyaratanakornkit 等 [11] 和 Hughesfulford 等 [16] 研究了刀豆蛋白和 anti-CD28 刺激的 T 细胞, 发现了早期受损基因的诱导, 这些基因的表达会导致 T 细胞功能紊乱. 此外, Boonyaratanakornkit 等和 Hughesfulford 等也发现了微重力条件下 PKA 途径的下调. PKA 途径是 T 细胞活化重力调节的关键途径, PKA 途径的改变将导致一些下游调节基因的改变, 细胞增殖、降解、生物合成及分泌等相关基因的改变验证了这一现象 [21,22].

除 T 淋巴细胞以外, 微重力条件还影响 NK 细胞和中性粒细胞的分布和功能. NK 细胞是一种不需要抗原激活的大颗粒淋巴细胞, 以主要组织相容性复合体非限制方式发挥杀伤作用, 其在含有 IL-2 的体外环境中 4~7 天后, 具有更广谱的杀伤肿瘤细胞的效应, 被称为 LAK 细胞. 经过空间飞行的返回地面的航天员及小鼠外周血的 NK 细胞比例及数量变化不同且不同批次间差异较大 [12,23−26], 这可能是每次飞行特点不同、飞行人数及动物数量较少导致的. 在国际空间站及地基模拟微重力条件下, NK 细胞毒性和干扰素的产生未发生改变 [27,28], 且在地基模拟微重力条件下, NK 细胞与 IL-2 共培养诱导 LAK 细胞后, 与对照组相比仍然具有广谱杀伤 B 细胞淋巴瘤细胞的作用, 即模拟微重力并没有影响 LAK 细胞广谱杀伤肿瘤的作用 [28]. 中性粒细胞是免疫系统中另一种重要细胞, 在生物体抗炎反应中发挥重要作用. 空间飞行实验研究显示: 经历 5 天空间飞行的航天员外周血中嗜中性粒细胞比例增加, 但吞噬细菌和氧爆发能力没有明显改变; 而经历 9~11 天空间飞行后, 其吞噬细菌和氧爆发能力显著降低, 目前这种改变的机制尚不清楚 [29,30].

综上, 微重力对免疫细胞存在广泛影响, 主要包括对细胞骨架变化、细胞信号传导、蛋白基因表达等的影响, 这些影响多为负面的. 目前这些研究大多是对表观现象的观察, 对其更加深入的影响机制尚不明确. 微重力条件下免疫细胞及其他细胞分子生物学效应总结列于表 1[8−12,16,19−22,31−37]. 对病毒和细菌的预防及对感染的控制是人类空间飞行需要面临的巨大挑战, 由多种免疫细胞构成的免疫网络在人类感染的预防和控制中具有巨大作用. 因此, 对微重力条件下免疫细胞的影响机制需要广泛且深入的探索, 从而为长期空间飞行提供理论依据及医疗保障, 并为相关预防及治疗药物的研发提供理论支撑.

2 微重力条件下内皮细胞的分子生物学效应

在空间飞行过程中, 人体心血管系统会受到严重影响, 主要表现为心脏节律障碍、心脏萎缩、直立不耐受以及有氧能力的减少 [30]. 航天员进入空间以后,

表 1 微重力环境下细胞分子生物学改变

Table 1 Cell molecular biological changes in microgravity environment

种类	微重力影响因素	细胞类型
细胞因子	IL-2 减少	T 淋巴细胞
	NO 增加	人脐静脉内皮细胞
	IL-6 减少	微血管内皮细胞
	FT3, FT4 减少	甲状腺癌细胞
信号通路	PKA 下调	T 淋巴细胞
	PKC 下调	T 淋巴细胞
	p13K/Akt 下调	微血管内皮细胞
基因表达	IL-2, IL-2 受体基因抑制	T 淋巴细胞
	PKA 途径下游调节基因改变	T 淋巴细胞
	eNOS 基因上调	人脐静脉内皮细胞
	Runt2 基因下调	骨髓间中质干细胞

尤其是长期空间飞行后导致的这些改变会引起航天员返回地球时的适应性问题 [38]. 血管内皮细胞是覆盖在血管内壁上组成血管管腔面的一层单层细胞, 其生长形态多为梭型, 排列方向与血液流动方向一致. 人体内皮细胞的数量约为 10^{13} 个, 占体重的 1.5%, 其在血管功能的调节中有极其重要的作用.

血管内皮细胞对重力变化的感知极为敏感. Versari 等 [31] 利用旋转壁式生物反应器 (Rotating Wall Vessel, RWV) 和随即定位仪 (Random Positioning Machine, RPM) 模拟微重力, 研究其对人脐静脉内皮细胞 (Human Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVEC) 生长的影响. Versari 等的研究结果表明, 在初始 48 h 内模拟微重力对脐静脉内皮细胞的生长有促进作用, 这种促进作用在进行 8 min 的短时超重后被阻断. 进一步对细胞骨架、细胞形态、NO 含量的研究发现, 模拟微重力导致人脐静脉内皮细胞的细胞骨架重构、NO 含量增加, 且其外观和形态发生了明显改变.

此外, 对空间飞行条件下的人脐静脉内皮细胞的研究发现 [39], 微重力条件可致使人脐静脉内皮细胞中 1023 个基因的表达出现显著变化, 这些基因的主要功能涉及细胞粘附、氧化磷酸化、应激反应、细胞周期及细胞凋亡过程. 其中硫氧还原作用蛋白的上调最明显 (约 33 倍), 热休克蛋白 70 和 90 下调最明显 (约 5.6 倍). Shi 等 [35] 通过二维螺旋器模拟微重力, 研究其对人脐静脉内皮细胞新生血管形成的影响, 发现模拟微重力 24 h 后, 人脐静脉内皮细胞形成特殊形态的三维细胞聚集体 (管型) (见图 1), 并促进了 eNOS 基因的表达. Siamwala 等 [40] 研究了模拟微重力对大血管内皮细胞 EAhy926 细胞系和牛肺动脉内皮细胞新生血管形成的影响, 也得到了相似的结果.

Mariotti 等 [33] 利用 RWV 模拟微重力, 研究其对微血管内皮细胞的影响, 发现模拟微重力对微血管内皮细胞的生长不利. 模拟微重力条件下细胞周期抑制因子 P21 蛋白的表达明显上调, IL-6 的表达受到抑制. Kang 等 [34] 研究发现, 模拟微重力条件下 PI3K/Akt 信号通路的下调及 NF-B 表达的上调导致细胞骨架的改变, 进而促进了微血管内皮细胞的凋亡.

综上, 微重力及模拟微重力条件对不同类型的血管内皮细胞影响不同, 对大血管来源的内皮细胞生长有促进作用, 对微血管来源的细胞生长有抑制作用. 但是, 微重力及模拟微重力条件对特定细胞的影响机制尚不明确, 需开展更加深入的研究. 此外, 血管内皮细胞在微重力或模拟微重力条件下可以形成特定形态的三维集合体, 这可为组织工程的研究提供原材料, 甚至可能用于器官移植.

3 微重力条件下骨细胞的分子生物学效应

人体中骨的形成和骨的重吸收是一个动态的平衡过程, 很多因素可打破该平衡, 导致骨流失甚至骨质疏松, 这些因素包括年龄、久坐的生活方式、局部麻痹、空间飞行等 [41]. 在空间飞行中, 骨的损失量每月约为 2%~3%, 同时尿液中 Ca^{2+} 含量增加, 航天员在航天任务中骨损失可高达 20%[42−44]. 研究分析发现, 在微重力环境中, 成骨细胞的增殖受到抑制, 细胞核形状和大小发生改变, 细胞表现为程序性死亡 [45−47].

另外, 成骨细胞增加了一些募集破骨细胞化学因

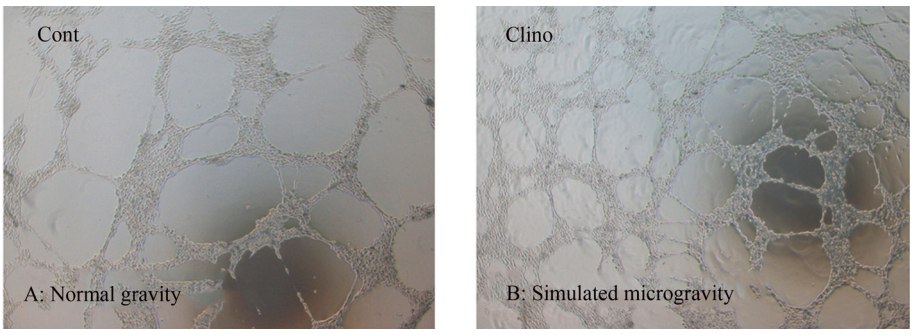

图 1 模拟微重力促进 HUVEC 管状三维细胞聚集体的形成

Fig. 1 Simulated microgravity promotes the formation of HUVEC tubular

子的分泌, 这可能会促进骨吸收过程, 从而导致骨质损失 [48]. Capulli 等 [49] 利用 RWV 进行了微重力模拟, 发现 5 天后小鼠颅盖骨细胞中降解基因及回应压力的特定生长因子基因发生了上调, 而细胞外基质组分和生长因子发生了下调. 此外, Capulli 等进行了微重力条件下小鼠颅盖骨细胞的转录组学分析, 确定了 10 种微重力条件下特定基因的改变, 可用作小鼠颅盖骨细胞的微重力基因标签. Patel 等 [50] 和 Xing 等 [51] 的实验获得了相似实验数据, 验证了这一观点.

在普通重力条件下, 骨髓间中质干细胞 (Bone Mesenchymal Stem Cells, BMSCs) 可以向不同方向分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、心肌细胞等. 但在微重力条件下, BMSCs 的分化机制发生明显改变. 微重力条件下, BMSCs 分化得到的相关细胞中 Runt 相关基因 2 (Runx2)、胶原 I 等成骨标志基因和碱性磷酸酶的活性降低 [36,37], 而脂肪细胞标志基因过氧化物酶体增殖激活受体 γ 的表达及脂肪酶、油脂的形成增加 [38]. 这说明微重力条件抑制了 BMSCs 向成骨细胞的分化, 促进了向脂肪细胞的分化. 过表达 Runx2 及骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子 2 的添加可以显著对抗失重引起的成骨特异分子降低 [52,53].

Ko 等 [54] 研究了人胚上腭间叶前成骨细胞二维单层培养和三维旋转培养的生长情况, 72 h 后发现人胚上腭间叶成骨细胞可以在无任何支架的情况下形成三维细胞聚集体, 研究其与二维单层培养基因表达情况和细胞外基质分泌情况的差别, 发现三维旋转培养中促进成骨细胞分化的转录因子 Cbfa1、一型胶原蛋白及 BSPII 抗体显著提高. 在三维旋转培养条件下, 加入胶原 $\alpha2\beta1$ 型整合素受体抗体可以显著降低三维细胞聚集体的矿物化作用.

综上, 微重力条件可通过影响骨髓间充质干细胞的分化、抑制成骨细胞的增殖及促进破骨细胞的募集等方式抑制骨形成和促进骨质丢失. 目前已有的研究更侧重于间充质干细胞的分化及其对成骨细胞的影响, 对破骨细胞的研究较少. 此外, 也有研究集中于微重力条件下骨细胞三维细胞聚集体的形成. 总之, 微重力环境可影响骨形成与骨吸收的平衡过程, 影响人体内环境的稳态, 导致骨量减少、骨质疏松及骨折愈合延迟等不良后果. 研究微重力条件下骨髓间充质干细胞、成骨细胞、骨细胞及破骨细胞等的变化, 有助于理解微重力条件对骨细胞的影响并积极寻找治疗、缓解的措施, 从而改善航天员在空间任务中的持续骨丢失.

4 微重力条件下癌细胞的分子生物学效应

航天员进行空间飞行和执行航天任务时, 可能出现骨流失、肌肉萎缩、心血管疾病、神经体液失调及免疫功能降低等一系列的疾病. 这给航天员造成了巨大的心理压力, 对肿瘤的生长和发生具有重要影响. 但微重力对肿瘤生长和发生的影响目前仍然不清楚. 已有很多研究围绕微重力条件下癌细胞分子生物学效应展开. Grimm 等 [33,55] 和 Infanger[56] 等研究发现, 在 RPM 模拟微重力条件下, 甲状腺瘤细胞降解增加, 细胞骨架改变, 细胞外基质蛋白和细胞粘附分子含量提高. 对甲状腺瘤细胞激素分泌的研究表明, 模拟微重力条件下游离三碘甲状腺原氨酸 (free triiodothyronine, FT3)、游离甲状腺素 (free thyroxine, FT4) 以及甲状腺球蛋白的分泌均有所减少 [33]. Taga 等 [57] 利用旋 RWV 培养小鼠黑素瘤细胞 B16-F10, 发现细胞凋亡增加, 但将培养后的黑素瘤细胞 B16-F10 接种后, 小鼠的肿瘤发生率明显提高. 因此, 尽管模拟微重力条件促进了细胞凋亡, 但可能对黑素瘤细胞 B16-F10 有筛选作用, 模拟微重力条件培养后存活的黑素瘤细胞 B16-F10 有更强的致肿瘤作用.

另外, 模拟微重力条件下人黑素瘤细胞细胞膜相连的鸟苷酰基环化酶 A, B 表达的下调, 由于鸟苷酰基环化酶 A, B 与代谢关系十分密切, 因此可能会降低人黑素瘤细胞代谢潜能 [58]. 模拟微重力条件下睾丸间质癌细胞会产生更多的黄体酮, 而黄体酮产生于细胞质, 所以黄体酮的增加是由于模拟微重力条件下细胞质的膨胀导致的 [59]. Xiang 等 [60] 研究发现, 微重力改变了小鼠黑素瘤细胞 B16 及 Caski 细胞等多种癌细胞的生理特性.

体外培养的多细胞肿瘤球 (Multicellular Tumor Spheroids, MTCS) 与体内产生的肿瘤生理特性相似, 能够提供一个天然的癌细胞结合体和物质运输屏障. 相对于简单的单层培养, MTCS 提供了一个更可靠的药物测试模型. Marrero 等 [61] 利用高纵横比型旋

转细胞培养系统 (Rotary Cell Culture System, RCCS) 培养小鼠黑素瘤细胞, 得到三维细胞聚集体, 并发现几种在简单二维培养中未出现的蛋白表达. Grimm 等 [33] 和 Grosse 等 [65] 研究了甲状腺癌细胞形成三维细胞聚集体, 也发现了细胞外基质蛋白的增加 (图 2). 此外, 在模拟微重力条件下发现了多种癌细胞 (包括乳房癌细胞、卵巢癌细胞、肝癌细胞等) 形成的多细胞肿瘤球 [33,35,40,54,61−64] (表 2).

微重力条件不仅可以影响不同类型的癌细胞生长, 改变癌细胞的致肿瘤作用, 而且在模拟微重力条件下形成的多细胞肿瘤球可以作为良好的药物测试模型. 由于该多细胞肿瘤球具有与体内癌细胞接近的细胞环境和多细胞屏障作用, 因此是有效的药物运输测试载体和检测药物抗肿瘤活性工具. 相对于以往利用动物体直接进行测试, 使用该多细胞肿瘤球可减少实验成本, 节约实验时间, 并且减少对实验动物的利用, 是一种简单高效的测试载体.

5 总结

随着载人航天事业不断发展, 中国的载人航天、嫦娥工程、火星计划等航天工程处于发展的关键时期. 微重力环境下航天员的健康问题是人类探索空间的一大挑战. 细胞是生物体结构和功能的基本单位, 研究微重力条件下细胞及其分子水平的改变, 有助于理解空间环境对航天员健康状况影响的本质原因. 目前对微重力环境下细胞的分子生物学研究取得了一定成果, 但更多仍停留在对表观现象的观察, 对微重力环境下细胞分子生物学效应机制的探索是今后研究的重点.

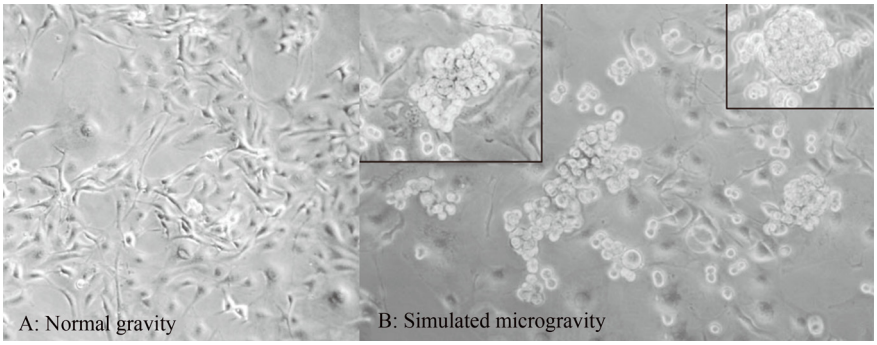

图 2 模拟微重力条件下甲状腺瘤细胞 FTC-133 多细胞肿瘤球的形成

Fig. 2 Formation of the FTC-133 MTCS in microgravity environment

表 2 多种类型的细胞在模拟微重力条件下形成三维细胞聚集体

Table 2 Three dimensional cell aggregates in microgravity environment

细胞类型	形成的组织	方法
人脐静脉内皮细胞	血管	二维螺旋器
大血管内皮细胞 EAhy926	血管	三维螺旋器
人胚上颚间叶前成骨细胞	骨	RCCS
骨母细胞	骨	RWV
黑素癌细胞	多细胞肿瘤球体	RWV
甲状腺癌细胞	多细胞肿瘤球体	RPM
乳房癌细胞	多细胞肿瘤球体	RWV
卵巢癌细胞	多细胞肿瘤球体	RWV
肝癌细胞	多细胞肿瘤球体	RWV

参考文献

[1] BLABER E, MARÇAL H, BURNS B P. Bioastronautics: the influence of microgravity on astronaut health [J]. *Astrobiology*, 2010, **10**(5): 463-473

[2] KONSTANTINOVA I, ANTROPOVA Y N, LEGENKOV V, *et al*. Study of reactivity of blood lymphoid cells in crew members of the Soyuz-6, Soyuz-7 and Soyuz-8 spaceships before and after flight(blatogenesis delay of lymphocytes) [J]. *Space Biol. Med.*, 1973, **7**(6): 48-55

[3] COGOLI A, TSCHOPP A, FUCHSBISLIN P. Cell sensitivity to gravity [J]. *Science*, 1984, **225**(4658): 228-230

[4] COGOLIGREUTER M, LOVIS P, VADRUCCI S. Signal transduction in T cells: an overview [J]. *J. Gravit. Physiol.*, 2004, **11**(2): P53-56

[5] COGOLI M, BECHLER B, COGOLI A, *et al*. Lymphocytes on sounding rockets [J]. *Adv. Space Res.*, 1992, **12**(1): 141-144

[6] COGOLIGREUTER M, SPANO A, SCIOLA L, *et al*. Influence of microgravity on mitogen binding, motility and cytoskeleton patterns of T lymphocytes and jurkat cells-experiments on sounding rockets [J]. Jpn. J. Aerospace Environ. Med., 1998, **35**(2): 27-39

[7] MINAMI Y, KONO T, MIYAZAKI T, *et al*. The IL-2 receptor complex: its structure, function, and target genes [J]. *Annu. Rev. Immunol.*, 1993, **11**(1): 245-268

[8] COGOLI A, BECHLER B, COGOLIGREUTER M, *et al*. Mitogenic signal transduction in Tlymphocytes in microgravity [J]. *J. Leukocyte. Biol.*, 1993, **53**(5): 569-575

[9] PIPPIA P, SCIOLA L, COGOLIGREUTER M, *et al*. Activation signals of T lymphocytes in microgravity [J]. *J. Biotechnol.*, 1996, **47**(2-3): 215-222

[10] WALTHER I, PIPPIA P, MELONI M A, *et al*. Simulated microgravity inhibits the genetic expression of interleukin-2 and its receptor in mitogen-activated T lymphocytes [J]. *Febs. Lett.*, 1998, **436**(1): 115-118

[11] BOONYARATANAKORNKIT J B, COGOLI A, LI C F, *et al*. Key gravity-sensitive signaling pathways drive T cell activation [J]. *FASEB J.*, 2005, **19**(12): 2020-2022

[12] GRIDLEY D S, SLATER J M, LUOOWEN X, *et al*. Spaceflight effects on T lymphocyte distribution, function and gene expression [J]. *J. Appl. Physiol.*, 2009, **106**(1): 194-202

[13] COOPER D, PELLIS N R. Suppressed PHA activation of T lymphocytes in simulated microgravity is restored by direct activation of protein kinase C [J]. *J. Leukocyte. Biol.*, 1998, **63**(5): 550-562

[14] COGOLI A. The effect of hypogravity and hypergravity on cells of the immune system [J]. *J. Leukocyte. Biol.*, 1993, **54**(3): 259-268

[15] MELONI M A, GALLERI G, PIPPIA P, *et al*. Cytoskeleton changes and impaired motility of monocytes at modelled low gravity [J]. *Protoplasma*, 2006, **229**(2/3/4): 243-249

[16] HUGHESFULFORD M, SUGANO E, SCHOPPER T, *et al*. Early immune response and regulation of IL-2 receptor subunits [J]. *Cell Signal.*, 2005, **17**(9): 1111-1124

[17] INGBER D. How cells (might) sense microgravity [J]. *FASEB J.*, 1999, **13**: S3-S15

[18] LEWIS M L, REYNOLDS J L, CUBANO L A, *et al*. Spaceflight alters microtubules and increases apoptosis in human lymphocytes (Jurkat) [J]. *FASEB J.*, 1998, **12**(11): 1007-1018

[19] HATTON J P, GAUBERT F, CAZENAVE J P, *et al*. Microgravity modifies protein kinase C isoform translocation in the human monocytic cell line U937 and human peripheral blood T-cells [J]. *J. Cell Biochem.*, 2002, **87**(1): 39-50

[20] SCHMITT D A, HATTON J P, EMOND C, *et al*. The distribution of protein kinase C in human leukocytes is altered in microgravity [J]. *FASEB J.*, 1996, **10**(14): 1627-1634

[21] LEWIS M L. The cytoskeleton, apoptosis, and gene expression in T lymphocytes and other mammalian cells exposed to altered gravity [J]. *Adv. Space Biol. Med.*, 2002, **8**: 77-128

[22] MACCARRONE M, BATTISTA N, MELONI M, *et al*. Creating conditions similar to those that occur during exposure of cells to microgravity induces apoptosis in human lymphocytes by 5-lipoxygenase-mediated mitochondrial uncoupling and cytochrome C release [J]. *J. Leukocyte. Biol.*, 2003, **73**(4): 472-481

[23] CRUCIAN B, STOWE R, MEHTA S, *et al*. Immune system dysregulation occurs during short duration spaceflight on board the space shuttle [J]. *J. Clin. Immunol.*, 2013, **33**(2): 456-465

[24] CRUCIAN B E, CUBBAGE M L, SAMS C F. Altered cytokine production by specific human peripheral blood cell subsets immediately following space flight [J]. *J. Interf. Cytok. Res.*, 2000, **20**(6): 547-556

[25] MILLS P J, MECK J V, WATERS W W, *et al*. Peripheral leukocyte subpopulations and catecholamine levels in astronauts as a function of mission duration [J]. *Psychosom. Med.*, 2001, **63**(6): 886-890

[26] RYKOVA M P, ANTROPOVA E N, LARINA I M, *et al*. Humoral and cellular immunity in cosmonauts after the ISS missions [J]. *Acta Astron.*, 2008, **63**(7-10): 697-705

[27] BURAVKOVA L B, RYKOVA M P, GRIGORIEVA V, *et al*. Cell interactions in microgravity: cytotoxic effects of natural killer cells in vitro [J]. *J. Gravit. Physiol.*, 2004, **11**(2): P177-180

[28] LICATO L L, GRIMM E A. Multiple interleukin-2 signaling pathways differentially regulated by microgravity [J]. *Immunopharmacology*, 1999, **44**(3): 273-279

[29] KAUR I, SIMONS E R, CASTRO V A, *et al*. Changes in neutrophil functions in astronauts [J]. *Brain, Behav. Im-*

mun., 2004, **18**(5): 443-450

[30] ZHANG Y, SANG C, PAULSEN K, *et al.* ICAM-1 expression and organization in human endothelial cells is sensitive to gravity [J]. *Acta Astron.*, 2010, **67**(9/10): 1073-1080

[31] KAPITONOVA M Y, KUZNETSOV S L, FROEMMING G R A, *et al.* Effects of space mission factors on the morphology and function of endothelial cells [J]. *B Exp. Biol. Med.*, 2013, **154**(6): 796-801

[32] MARIOTTI M, MAIER J A M. Gravitational unloading induces an anti-angiogenic phenotype in human microvascular endothelial cells [J]. *J. Cell Biochem.*, 2008, **104**(1): 129-135

[33] GRIMM D, BAUER J, KOSSMEHL P, *et al.* Simulated microgravity alters differentiation and increases apoptosis in human follicular thyroid carcinoma cells [J]. *FASEB J.*, 2002, **16**(6): 604-606

[34] KANG C Y, ZOU L, YUAN M, *et al.* Impact of simulated microgravity on microvascular endothelial cell apoptosis [J]. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 2011, **111**(9): 2131-2138

[35] SHI F, WANG Y C, ZHAO T Z, *et al.* Effects of simulated microgravity on human umbilical vein endothelial cell angiogenesis and role of the PI3K-Akt-eNOS signal pathway [J]. *Plos One*, 2012, **7**(7): e40365

[36] HUANG Y, DAI Z Q, LING S K, *et al.* Gravity, a regulation factor in the differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *J. Biomed. Sci.*, 2009, **16**: 87

[37] SHEYN D, PELLED G, NETANELY D, *et al.* The effect of simulated microgravity on human mesenchymal stem cells cultured in an osteogenic differentiation system: a bioinformatics study [J]. *Tiss. Eng. Part A*, 2010, **16**(11): 3403-3412

[38] GRIFFONI C, DI MOLFETTA S, FANTOZZI L, *et al.* Modification of proteins secreted by endothelial cells during modeled low gravity exposure [J]. *J. Cell Biochem.*, 2011, **112**(1): 265-272

[39] VERSARI S, LONGINOTTI G, BARENGHI L, *et al.* The challenging environment on board the International Space Station affects endothelial cell function by triggering oxidative stress through thioredoxin interacting protein overexpression: the ESA-SPHINX experiment[J]. *FASEB. J.*, 2013, **27**(11): 4466-4475

[40] SIAMWALA J H, MAJUMDER S, TAMILARASAN K P, *et al.* Simulated microgravity promotes nitric oxide-supported angiogenesis *via* the iNOScGMPPKG pathway in macrovascular endothelial cells [J]. *Febs. Lett.*, 2010, **584**(15): 3415-3423

[41] LEBLANC A D, SCHNEIDER V S, EVANS H J, *et al.* Bone mineral loss and recovery after 17 weeks of bed rest [J]. *J. Bone. Miner. Res.*, 1990, **5**(8): 843-850.

[42] ALEXANDRE C, VICO L. Pathophysiology of bone loss in disuse osteoporosis [J]. *Joint Bone Spine*, 2011, **78**(6): 572-576

[43] LEBLANC A, SHACKELFORD L, SCHNEIDER V. Future human bone research in space [J]. *Bone*, 1998, **22**(5): 113S-116S

[44] VICO L, COLLET P, GUIGNANDON A, *et al.* Effects of long-term microgravity exposure on cancellous and cortical weight-bearing bones of cosmonauts [J]. *Lancet*, 2000, **355**(9215): 1607-1611

[45] HUGHESFULFORD M, LEWIS M L. Effects of microgravity on osteoblast growth activation [J]. *Exp. Cell Res.*, 1996, **224**(1): 103-109

[46] HUGHESFULFORD M, RODENACKER K, JÜTTING U. Reduction of anabolic signals and alteration of osteoblast nuclear morphology in microgravity [J]. *J. Cell Biochem.*, 2006, **99**(2): 435-449

[47] NAKAMURA H, KUMEI Y, MORITA S, *et al.* Suppression of osteoblastic phenotypes and modulation of pro- and anti-apoptotic features in normal human osteoblastic cells under a vector-averaged gravity condition [J]. *J. Med. Dent. Sci.*, 2003, **50**(2): 167-176

[48] KUMEI Y, SHIMOKAWA H, KATANO H, *et al.* Microgravity induces prostaglandin E2 and interleukin-6 production in normal rat osteoblasts: role in bone demineralization [J]. *J. Biotechnol.*, 1996, **47**(2-3): 313-324

[49] CAPULLI M, RUFO A, TETI A, *et al.* Global transcriptome analysis in mouse calvarial osteoblasts highlights sets of genes regulated by modeled microgravity and identifies a "mechanoresponsive osteoblast gene signature" [J]. *J. Cell Biochem.*, 2009, **107**(2): 240-252

[50] PATEL M J, LIU W, SYKES M C, *et al.* Identification of mechanosensitive genes in osteoblasts by comparative microarray studies using the rotating wall vessel and the random positioning machine[J]. *J. Cell Biochem.*, 2007, **101**(3): 587-599

[51] XING W, BAYLINK D, KESAVAN C, *et al.* Global gene expression analysis in the bones reveals involvement of several novel genes and pathways in mediating an anabolic response of mechanical loading in mice [J]. *J. Cell Biochem.*, 2005, **96**(5): 1049-1060

[52] GUO Feima, DAI Zhongquan, WU Feng, *et al.* Bone-specific transcription factor Runx2 on the role of antagonistic bone loss in space [J]. *Chin. J. Space Sci.*, 2011, **31**(5): 627-634 (郭飞马, 戴钟铨, 吴峰, 等. 吴峰骨特异性转录因子 Runx2 对抗空间骨丢失效应的初步研究 [J]. 空间科学学报, 2011, **31**(5): 627-634)

[53] HUANG Guopin, ZHENG Qiang, YANG Jinfeng, *et al.* Analysis of effects of simulated microgravity on signaling pathways involved in osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. *Chin. J. Space Sci.*, 2008, **28**(1): 87-96 (黄国平, 郑强, 杨金凤, 等. 模拟微重力对人骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化中细胞信号通路影响的分析 [J]. 空间科学学报, 2008, **28**(1): 87-96)

[54] KO Y J, ZAHARIAS R S, SEABOLD D A, *et al.* Osteoblast differentiation is enhanced in rotary cell culture

simulated microgravity environments [J]. *J. Prosthodont.*, 2007, **16**(6): 431-438

[55] GRIMM D, KOSSMEHL P, SHAKIBAEI M, *et al.* Effects of simulated microgravity on thyroid carcinoma cells [J]. *J. Gravit. Physiol.*, 2002, **9**(1): 253-258

[56] INFANGER M, KOSSMEHL P, SHAKIBAEI M, *et al.* Longterm conditions of mimicked weightlessness influences the cytoskeleton in thyroid cells [J]. *J. Gravit. Physiol.*, 2004, **11**(2): 169-172

[57] TAGA M, YAMAUCHI K, ODLE J, *et al.* Melanoma growth and tumorigenicity in models of microgravity [J]. *Aviat. Space Envir. Md.*, 2006, **77**(11): 1113-1116

[58] IVANOVA K, EIERMANN P, TSIOCKAS W, *et al.* Natriuretic peptide-sensitive guanylyl cyclase expression is down-regulated in human melanoma cells at simulated weightlessness [J]. *Acta Astron.*, 2011, **68**(7/8): 652-655

[59] KANEKO T, SASAKI S, UMEMOTO Y, *et al.* Simulated conditions of microgravity increases progesterone production in I-10 cells of leydig tumor cell line[J]. *Int. J. Urol.*, 2008, **15**(3): 245-250

[60] XIANG Qing, FANG Qing, CHEN Zhihua, *et al.* Effects on physiological characteristics of tumor cell lines by space environment [J]. *Chin. J. Space Sci.*, 2004, **24**(5): 388-393 (向青, 房青, 陈志华, 等. 空间环境对肿瘤细胞生理特性的影响 [J]. 空间科学学报, 2004, **24**(5): 388-393)

[61] MARRERO B, MESSINA J L, HELLER R. Generation of a tumor spheroid in a microgravity environment as a 3D model of melanoma[J]. *In Vitro Cell. Dev-An.*, 2009, **45**(9): 523-534

[62] BECKER J L, PREWETT T L, SPAULDING G F, *et al.* Three-dimensional growth and differentiation of ovarian tumor cell line in high aspect rotating-wall vessel: morphologic and embryologic considerations [J]. *J. Cell Biochem.*, 1993, **51**(3): 283-289

[63] BECKER J L. Women's health issues and space-based medical technologies [J]. *Earth Space Rev.*, 1994, **3**(2): 15-19

[64] CHANG T T, HUGHESFULFORD M. Monolayer and spheroid culture of human liver hepatocellular carcinoma cell line cells demonstrate distinct global gene expression patterns and functional phenotypes [J]. *Tiss. Eng.:A*, 2009, **15**(3): 559-567

[65] GROSSE J, WEHLAND M, PIETSCH J, *et al.* Gravity-sensitive signaling drives 3-dimensional formation of multicellular thyroid cancer spheroids [J]. *FASEB J.*, 2012, **26**(12): 5124-5140