

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.03.038

O-GlcNAc 修饰调控软骨及成骨分化的研究进展 *

高 婧 施美霞 寸镜芬 赵舒融 黄春荣 许艳华[△]

(昆明医科大学附属口腔医院正畸科 云南昆明 650000)

摘要: O-GlcNAc 糖基化属于蛋白质的翻译后修饰,参与了基因转录、信号转导、细胞分化等重要的细胞生命活动。软骨细胞与成骨细胞是骨骼系统中两种重要的细胞,它们的分化对骨的形成有重要意义。近年来研究表明 O-GlcNAc 糖基化通过调节多个信号通路中关键分子的活性影响软骨及成骨细胞的分化。为了更好的阐明 O-GlcNAc 糖基化调控软骨及成骨分化的分子机制,以期为骨关节炎、骨质疏松治疗提供新的干预靶点,我们对 O-GlcNAc 糖基化调控软骨及成骨分化的研究现状做如下综述。

关键词: O-GlcNAc 糖基化;软骨细胞;成骨细胞;细胞分化

中图分类号: R329.2;R783 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)03-569-04

Research Progress of O-GlcNAc Modification in Regulation of Cartilage and Osteogenic Differentiation*

GAO Jing, SHI Mei-xia, CUN Jing-fen, ZHAO Shu-rong, HUANG Chun-rong, XU Yan-hua[△]

(Dept. of Orthodontics, Stomatological Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan, 650000, China)

ABSTRACT: The O-GlcNAcylation as the post-translational modification (PTM) of protein, involves in important life activities such as gene transcription, signal transduction, cell differentiation. Chondrocytes and osteoblasts are two important cells in the skeletal system, and their differentiation is important for bone formation. Recent studies show that the O-GlcNAcylation affects the differentiation of chondrocytes and osteoblasts by regulating the activity of key molecules in multiple signaling pathways. In order to further elucidate the molecular regulation mechanism of O-GlcNAcylation in Chondrocytes and osteoblasts differentiation, and hopefully provide new intervention targets and new therapy strategy for clinical treatment of osteoarthritis and osteoporosis in future, we mainly overview the current study of how the O-GlcNAcylation regulates the differentiation of Chondrocytes and osteoblasts.

Key words: O-GlcNAcylation; Chondrocytes; Osteoblasts; Cell differentiation

Chinese Library Classification(CLC): R329.2; R783 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)03-569-04

前言

骨发育过程中有两种成骨方式:膜内成骨及软骨内成骨。膜内成骨过程是间充质干细胞直接分化为成骨细胞,成骨细胞产生类骨质并被包埋在基质中逐渐转化为骨细胞,同时骨基质发生矿化^[1,2]。软骨内成骨是间充质细胞聚集成团分化为软骨,软骨细胞产生骨基质形成透明软骨,随后软骨内层细胞向成骨分化并发生矿化,最后形成密质骨^[3]。软骨细胞及成骨细胞的分化在骨骼系统中占有重要地位,成骨和软骨分化异常与骨质疏松、骨关节炎的形成及进展关系密切^[4,5]。近年来研究表明 O-GlcNAc 糖基化通过调节多个信号通路中关键分子的活性影响软骨及成骨细胞的分化,现就 O-GlcNAc 糖基化调控软骨及成骨细胞分化的相关研究进行简要总结。

1 O-GlcNAc 糖基化

O-连接的 N-乙酰葡萄糖胺 (O-linked N-acetylglucosamine, O-GlcNAc)糖基化修饰是一种可诱导的、可逆的、动

态的蛋白翻译后修饰,主要修饰位点位于靶蛋白的丝氨酸和苏氨酸残基上^[6]。N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 (O-GlcNAc transferase, OGT) 负责 O-GlcNAc 糖基化,且对底物 UDP-GlcNAc 的浓度高度敏感,与之相反 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (O-GlcNAcase, OGA)负责去糖基化。细胞内 2-5% 的葡萄糖通过糖代谢氨基己糖合成途径 (hexosamine biosynthetic pathway, HBP) 产生 UDP-GlcNAc, UDP-GlcNAc 水平受到细胞外葡萄糖、脂肪酸、氨基酸及核苷酸的影响^[7](图 1)。通过 HBP 途径可增加 O-GlcNAc 的水平,因此 O-GlcNAc 被称为营养感应器。细胞在受到热休克、缺氧、营养不足时 O-GlcNAc 信号激活,细胞内 O-GlcNAc 糖基化水平升高,故 O-GlcNAc 又被称为应激反应的感应器。O-GlcNAc 作为细胞营养和压力感应器调节细胞从转录、翻译到信号转导、物质代谢等复杂过程^[8]。近年来研究发现 O-GlcNAc 糖基化修饰影响核质定位及其靶蛋白的稳定性,此外 O-GlcNAc 在维持核孔结构的完整性及核质转运中扮演重要角色^[9]。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81260162)

作者简介:高婧(1990-),硕士研究生,主要研究方向:静磁场对软骨形成分化的影响,电话:18288603665, E-mail: 1024396407@qq.com

[△] 通讯作者:许艳华,博士,教授,主要研究方向:静磁场对软骨的影响, E-mail: xuyanhu18@163.com

(收稿日期:2017-08-08 接受日期:2017-08-31)

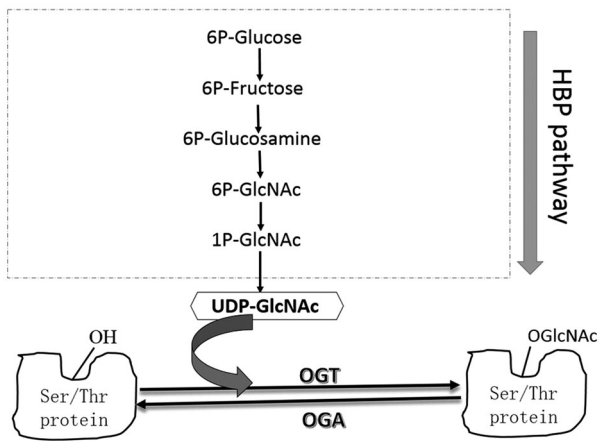


图1 蛋白质 O-GlcNAc 糖基化过程

Fig.1 The process of O-GlcNAc glycosylation

注:细胞内 2-5% 的葡萄糖通过糖代谢氨基己糖合成途径产生

UDP-GlcNAc。在 OGT 的作用下 UDP-GlcNAc 与靶蛋白的苏氨酸及丝氨酸残基位点结合,而 OGA 则催化 UDP-GlcNAc 与靶蛋白分离。

Note: Approximately 2-5% of the intracellular glucose produces

UDP-GlcNAc through the hexosamine biosynthetic pathway(HBP).

O-GlcNAc transferase (OGT) can catalyse the transfer of a GlcNAc moiety from the donor substrate UDP-GlcNAc to the Ser/Thr hydroxyl residues of target protein, and O-GlcNAcase (OGA) can catalyse the hydrolysis of this sugar modification.

2 O-GlcNAc 糖基化在软骨分化中的作用

2.1 胰岛素介导的 O-GlcNAc 糖基化对软骨细胞分化的作用

胰岛素在软骨的分化及软骨细胞的肥大化方面有很强的诱导作用。近年来研究表明,这一诱导作用与胰岛素增强细胞质中 O-GlcNAc 糖基化水平有关。Andres-Bergos 等^[10]研究发现胰岛素能促进 ATDC5 小鼠软骨前体细胞 O-GlcNAc 糖基化水平,OGT 及 OGA 的含量也随之升高。以此同时,软骨分化相关基因 ColIII, aggrecan, IHH, PTH1R, Runx2, ALP, Col X 的表达量也明显升高,而在无胰岛素的情况下加入 OGA 的抑制剂 thiamet-G,细胞中 O-GlcNAc 糖基化水平及软骨分化相关基因的表达量也升高,结果与加胰岛素的结果十分相近。但加入 HBP 途径的抑制剂,阻断 O-GlcNAc 糖基化所需要的底物,即使在培养基中加入胰岛素,软骨分化相关基因的表达量也未见升高。

软骨分化的另一个标志就是细胞外基质的重建,基质金属蛋白酶家族是细胞外基质重建和降解的关键酶,它在保持生长板细胞外基质完整性和血管化方面有重要意义^[11]。MMP-2 和 MMP-9 激活促进 ATDC5 细胞的分化已被证实^[12]。Andres-Bergos 等研究也发现胰岛素或是 OGA 抑制剂 thiamet-G 均能使 ATDC5 软骨细胞中蛋白质 O-GlcNAc 糖基化水平升高,同时升高 MMP-2 和 MMP-9 的表达^[10]。

2.2 葡萄糖介导的 O-GlcNAc 糖基化对软骨细胞分化的作用

葡萄糖是绝大多数细胞生命活动的主要能量供应者,它参与了细胞内多糖、脂类、核酸以及蛋白质的合成,在微环境中葡萄糖浓度直接影响了细胞增殖、分化、凋亡。葡萄糖通过各种信号通路调节软骨的形成及分化^[13]。大量研究证实激活转化生长

因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)信号促进软骨细胞的分化^[14,15]。谢金硕等用高糖 4.5 g/L,低糖 1.0 g/L 分别培养兔的滑膜间充质干细胞,观察葡萄糖浓度对间充质干细胞成软骨能力的影响。发现低糖时间充质干细胞成软骨能力更强。这一过程中的主要机制是:高糖降低 PKC 的活性导致 TGF β -R II 的表达下降,从而使下游信号分子 Smad 2/3/4 的活化水平降低从而使核内成软骨基因的表达下调,最终间充质干细胞的成软骨能力下降^[16,17]。

Robles-Flores^[18]等研究发现几乎所有的 PKC 同工酶都有 O-GlcNAc 糖基化修饰,O-GlcNAc 糖基化修饰负向调控 PKC δ 的活性。Sun^[13]等报道细胞外葡萄糖通过 HBP 途径增加软骨细胞内 O-GlcNAc 糖基化的水平,O-GlcNAc 糖基化的增加降低了 PKC 的活性并下调 TGF β -R II 信号最终导致软骨分化能力减弱,O-GlcNAc 糖基化修饰是葡萄糖调节软骨细胞分化的桥梁。

目前 O-GlcNAc 糖基化修饰影响软骨分化在体内的研究报道较少。Andres-Bergos^[10]等研究发现在 C57BL/6 小鼠体内注入 OGA 抑制剂 thiamet-G 增加细胞中 O-GlcNAc 糖基化水平,十五天后软骨肥大区的高度明显比空白对照的要高,软骨分化基因 Col X 的表达也明显增强。

3 O-GlcNAc 糖基化在成骨分化中的作用

在成骨细胞分化过程中,许多蛋白质 O-GlcNAc 糖基化修饰水平明显升高^[13]。Nagel 等^[19]发现小鼠成骨 MC3T3E1 细胞在培养一周时 O-GlcNAc 糖基化修饰水平达到峰值,进一步研究发现特定分子量的 O-GlcNAc 糖基化水平随 MC3T3E1 细胞培养时间的变化而变化。这表明 O-GlcNAc 糖基化是成骨细胞分化过程中信号分子的组成成分。

3.1 O-GlcNAc 糖基化与 Runx2

体内外实验证实成骨形成过程中 Runx2 转录因子在调控成骨分化,骨基质产生,骨矿化相关基因转录时充当了关键转录因子。Runx2 是间充质干细胞向成骨细胞分化的特异性转录调节因子,Runx2 可通过与成骨细胞特异性顺式元件 2(osteoblast specific cis-acting element, OSE2)结合,调节骨钙素(OCN)、骨桥素(OPN)、骨涎蛋白(BSP)、I 型胶原(Col1A1)、碱性磷酸酶(ALP)等骨形成相关基因的转录,从而启动成骨分化^[20,21]。

Runx2 不仅可通过乙酰化、磷酸化、泛素化等翻译后修饰来调节 Runx2 蛋白的活性及稳定性而且还可以通过糖基化调节成骨分化。Kim^[22]等研究发现,在 MC3T3-E1 小鼠成骨细胞分化过程中,蛋白质 O-GlcNAc 糖基化修饰水平升高。PUGNAc (OGA 抑制剂)能增强维生素 C、甲状旁腺素(PTH)、毛喉素诱导的成骨细胞骨钙素的表达。进一步通过荧光素酶报告基因实验发现 MC3T3-E1 细胞转染野生型 OCN-luc 质粒或者转染能增加 OSE2 上游骨钙素启动子拷贝数的 OSE2/32-luc 质粒,PUGNAc 均能增强毛喉素诱导的成骨细胞骨钙素的转录活性。相反若成骨细胞特异性元件(OSE2)位点突变后,成骨细胞对 OGA 抑制剂 PUGNAc 的刺激无反应。这些研究提示骨钙素启动子 OSE2 是 O-GlcNAc 糖基化修饰促进骨钙素表达的关键区域。在不表达 Runx2 转录因子的 COS-7 中转染 Runx2 表达质粒和 OCN-luc 质粒,相对于未转染组,转染 Runx2 后 PUGNAc 对毛喉素诱导的成骨细胞骨钙素的表达效应增加。据

此可知在成骨分化过程中,O-GlcNAc糖基化修饰增强骨钙素的表达需要Runx2和OSE2协同参与。

碱性磷酸酶(ALP)是Runx2作用的靶点。Nagel^[23]等研究发现OGA的抑制剂在诱导骨髓间充质干细胞成骨分化时能激活ALP转录活性促进碱性磷酸酶(ALP)基因的表达。Runx2接近磷酸化修饰位点及精氨酸甲基化的位点有O-GlcNAc糖基化修饰的位点,这些修饰共同调节Runx2的转录激活。然而Runx2转录因子经O-GlcNAc糖基化修饰后是否直接作用与ALP基因的结构域调控其转录有待于证实。

3.2 O-GlcNAc糖基化与其他成骨相关蛋白

(TGF- β activated kinase 1, TAK1) 又被称为MAP3K7或MEKK7,属于丝裂原激活蛋白激酶激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase kinase, MAP3K)家族,细胞内TAK1以复合物的形式存在,包括TAK1, TAB1, TAB2, TAB3,最初TAK1作为一种可被TGF- β 快速激活的丝/苏氨酸激酶被发现。随后的研究表明,TAK1亦可被骨形态发生蛋白(BMP)、炎症细胞因子(如IL-1 β , TNF- α)及脂多糖在内的多种刺激原所活化。CREB-binding protein(CBP)是一种转录共增强因子在成骨分化中有重要作用,它能与基因cAMP反应元件结合刺激其转录。CBP的C端区域Ser-2360位点是O-GlcNAc糖基化修饰位点。TAK1复合体通过糖基化修饰调节Runx2和cAMP反应元件结合蛋白(CBP)的活性增加BMP2的转录影响成骨的分化^[13,19]。研究也表明TAK1,TAB1,TAB2,TAB3均可以发生糖基化修饰,且TAB2在成骨分化过程中是必须的^[13]。在MC3T3E1细胞中Nagel^[19]等也发现CBP和TAB2这两种与骨发育密切相关的蛋白也有O-GlcNAc糖基化修饰。因此除了Runx2外,其他与成骨分化密切相关的蛋白质也参与了O-GlcNAc糖基化修饰。

4 O-GlcNAc糖基化与骨相关疾病

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是以关节软骨的变性、破坏及骨质增生为特征的慢性关节病。目前OA的发病机制尚不十分明确,但软骨中软骨细胞的功能紊乱是骨关节炎发病的关键。OA患者关节表面软骨细胞发生软骨内成骨,在这个过程中软骨细胞出现病理性肥大、钙化^[24,25]。之前研究表明O-GlcNAc糖基化与2型糖尿病、癌症、神经退行性疾病有密切的关系^[26-28]。最近研究发现O-GlcNAc糖基化参与了骨关节炎的形成及发展。Tardio等^[29]比较正常人及骨关节炎患者关节软骨中O-GlcNAc糖基化水平,发现在骨关节炎时O-GlcNAc糖基化水平是正常人的4倍,OGT及OGA的合成也相对升高。培养骨关节炎软骨细胞用IL-1 α 刺激后可增加细胞中O-GlcNAc糖基化水平。以上说明O-GlcNAc糖基化修饰参与骨关节炎的形成,但具体机制还有待进一步研究。

在骨代谢过程中成骨细胞和破骨细胞调节骨形成及骨溶解之间的平衡,如果这一平衡被打破,骨形成减弱而骨破坏增加时则发生骨质疏松症^[30]。TaKahiro^[31]等研究小鼠胚胎成骨细胞前体细胞(MC3T3-E1)时发现使用Thiamet G(OGA抑制剂)增加细胞中O-GlcNAc糖基化修饰促进了MC3T3-E1细胞成骨相关基因(如ALP, OCN, BSP)的表达,而影响这些基因表达的关键转录因子Ets1和Runx2的转录活性受到O-GlcNAc

糖基化调控。结合这些结果TaKahiro认为维持O-GlcNAc糖基化水平有望成为骨质疏松治疗的一个潜在治疗靶点。

5 前景与展望

综上所述,O-GlcNAc糖基化修饰参与了软骨及成骨的分化过程,这些分子机制为骨相关疾病如骨关节炎、骨质疏松的诊断及治疗提供新的思路。寻找并恰当使用软骨及成骨中的OGT、OGA拮抗剂控制胞内糖基化水平将有重要意义。然而OGT、OGA拮抗剂治疗骨关节炎、骨质疏松这方面还缺少有效实验研究,因为O-GlcNAc糖基化修饰对软骨及成骨细胞分化过程中的作用及相关分子机制是非常复杂的,是多种信号通路及蛋白分子共同作用的结果。鉴于此,O-GlcNAc糖基化修饰任重而道远,还有待于进一步探究。

参考文献(References)

- [1] Jabalee J, Franz-Odenaal TA. Vascular endothelial growth factor signaling affects both angiogenesis and osteogenesis during the development of scleral ossicles[J]. *Dev Biol*, 2015, 406(1): 52-62
- [2] Watanabe Y, Harada N, Sato K, et al. Stem cell therapy: is there a future for reconstruction of large bone defects?[J]. *Injury*, 2016, 47(Suppl 1): S47-51
- [3] Thompson EM, Matsiko A, Farrell E, et al. Recapitulating endochondral ossification: a promising route to in vivo bone regeneration [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2015, 9(8): 889-902
- [4] Ahn BN, Karadeniz F, Kong CS, et al. Dioxinohydroeckol Enhances the Differentiation of Osteoblasts by Regulating the Expression of Phospho-Smad1/5/8[J]. *Mar Drugs*, 2016, 14(9): 168-178
- [5] Muttigi MS, Han I, Park HK, et al. Matrilin-3 Role in Cartilage Development and Osteoarthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 590-600
- [6] Bond MR, Hanover JA. A little sugar goes a long way: the cell biology of O-GlcNAc[J]. *J Cell Biol*, 2015, 208(7): 869-880
- [7] Trapannone R, Mariappa D, Ferenbach AT, et al. Nucleocytoplasmic human O-GlcNAc transferase is sufficient for O-GlcNAcylation of mitochondrial proteins[J]. *Biochem J*, 2016, 473(12): 1693-1702
- [8] Yang X, Qian K. Protein O-GlcNAcylation: emerging mechanisms and functions[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017[Epub ahead of print]
- [9] Eustice M, Bond MR, Hanover JA. O-GlcNAc cycling and the regulation of nucleocytoplasmic dynamics[J]. *Biochem Soc Trans*, 2017, 45(2): 427-436
- [10] Andrés-Bergós J, Tardio L, Larranaga-Vera A, et al. The Increase in O-Linked N-Acetylglucosamine Protein Modification Stimulates Chondrogenic Differentiation Both in Vitro and in Vivo [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(40): 33615-33628
- [11] Brochhausen C, Lehmann M, Halstenberg S, et al. Signalling molecules and growth factors for tissue engineering of cartilage-what can we learn from the growth plate? [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2009, 3(6): 416-429
- [12] Challa TD, Rais Y, Ornan EM. Effect of adiponectin on ATDC5 proliferation, differentiation and signaling pathways [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 323(2): 282-291
- [13] Sun C, Shang J, Yao Y, et al. O-GlcNAcylation: a bridge between glucose and cell differentiation [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(5): 769-781

- [14] Wang W, Song B, Anbarchian T, et al. Smad2 and Smad3 Regulate Chondrocyte Proliferation and Differentiation in the Growth Plate[J]. PLoS Genet, 2016, 12(10): e1006352
- [15] Lee HL, Yu B, Deng P, et al. Transforming Growth Factor-beta-Induced KDM4B Promotes Chondrogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells[J]. Stem Cells, 2016, 34(3): 711-719
- [16] 谢金硕,陈松,邵加华,等.不同浓度葡萄糖对滑膜间充质干细胞成软骨能力调节作用的研究[J].中华关节外科杂志(电子版), 2016, (05): 504-512
- Xie Jin-shuo, Chen Song, Shao Jia-hua. Regulation of glucose concentration in expansion period on synovial mesenchymal stem cells chondrogenesis [J]. Chinese Journal of Joint Surgery(Electronic Version), 2016, (05): 504-512
- [17] Tsai TL, Manner PA, Li WJ. Regulation of mesenchymal stem cell chondrogenesis by glucose through protein kinase C/transforming growth factor signaling [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2013, 21 (2): 368-376
- [18] Robles-Flores M, Melendez L, Garcia W, et al. Posttranslational modifications on protein kinase c isozymes. Effects of epinephrine and phorbol esters[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1783(5): 695-712
- [19] Nagel AK, Schilling M, Comte-Walters S, et al. Identification of O-linked N-acetylglucosamine (O-GlcNAc)-modified osteoblast proteins by electron transfer dissociation tandem mass spectrometry reveals proteins critical for bone formation [J]. Mol Cell Proteomics, 2013, 12(4): 945-955
- [20] Pan H, Li X, Wang J, et al. LIM Mineralization Protein-1 Enhances Bone Morphogenetic Protein-2-Mediated Osteogenesis Through Activation of ERK1/2 MAPK Pathway and Upregulation of Runx2 Trans-activity[J]. J Bone Miner Res, 2015, 30(8): 1523-1535
- [21] Liu TM, Lee EH. Transcriptional regulatory cascades in Runx2-dependent bone development [J]. Tissue Eng Part B Rev, 2013, 19(3): 254-263
- [22] Kim SH, Kim YH, Song M, et al. O-GlcNAc modification modulates the expression of osteocalcin via OSE2 and Runx2 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 362(2): 325-329
- [23] Nagel AK, Ball LE. O-GlcNAc modification of the runt-related transcription factor 2 (Runx2) links osteogenesis and nutrient metabolism in bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Mol Cell Proteomics, 2014, 13(12): 3381-3395
- [24] Pitsillides AA, Beier F. Cartilage biology in osteoarthritis--lessons from developmental biology [J]. Nat Rev Rheumatol, 2011, 7(11): 654-663
- [25] Van der Kraan PM, van den Berg WB. Chondrocyte hypertrophy and osteoarthritis: role in initiation and progression of cartilage degeneration? [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2012, 20(3): 223-232
- [26] Singh JP, Zhang K, Wu J, et al. O-GlcNAc signaling in cancer metabolism and epigenetics [J]. Cancer Lett, 2015, 356 (2 Pt A): 244-250
- [27] Peterson SB, Hart GW. New insights: A role for O-GlcNAcylation in diabetic complications [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2016, 51(3): 150-161
- [28] Wang P, Hanover JA. Nutrient-driven O-GlcNAc cycling influences autophagic flux and neurodegenerative proteotoxicity[J]. Autophagy, 2013, 9(4): 604-606
- [29] Tardio L, Andres-Bergos J, Zachara NE, et al. O-linked N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) protein modification is increased in the cartilage of patients with knee osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2014, 22(2): 259-263
- [30] Qi J, Hu KS, Yang HL. Roles of TNF-alpha, GSK-3beta and RANKL in the occurrence and development of diabetic osteoporosis [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10): 11995-12004
- [31] Koyama T, Kamemura K. Global increase in O-linked N-acetylglucosamine modification promotes osteoblast differentiation [J]. Exp Cell Res, 2015, 338(2): 194-202
- (上接第 560 页)
- [27] Frouzan A, Masoumi K, Delirroyfard A, et al. Diagnostic accuracy of ultrasound in upper and lower extremity long bone fractures of emergency department trauma patients [J]. Electron Physician, 2017, 9(8): 5092-5097
- [28] Desy JR, Ma IWY. In defence of teaching point-of-care ultrasound in undergraduate medical education[J]. Med Educ, 2017, 51(10): 1087
- [29] Han S, Kang HK, Jeong JY, et al. A deep learning framework for supporting the classification of breast lesions in ultrasound images [J]. Phys Med Biol, 2017, 62(19): 7714-7728
- [30] Lewiss RE, Hoffmann B, Beaulieu Y, et al. Point-of-care ultrasound education: the increasing role of simulation and multimedia resources [J]. J Ultrasound Med, 2014, 33(1): 27-32