

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.14.005

液泡分选蛋白 4B 对骨关节炎软骨细胞凋亡的调控作用*

史纪元¹ 姬乐¹ 霍斌亮² 刘时璋¹ 许兵强³ 傅菁^{4△}

(1 陕西省人民医院骨科 陕西 西安 710068; 2 陕西省人民医院肿瘤外科 陕西 西安 710068;

3 陕西省人民医院 CT 室 陕西 西安 710068; 4 西安市儿童医院血液肿瘤科 陕西 西安 710003)

摘要 目的:探讨液泡分选蛋白 4B(VPS4B)对骨关节炎软骨细胞凋亡的调控作用。**方法:**通过内侧半月板部分切除加前交叉韧带切断的方法建立骨关节炎 SD 大鼠模型,通过 RT-PCR 和免疫组化检测 VPS4B 在大鼠关节软骨中的表达。番红 O/ 固绿染色方法检测大鼠膝关节软骨组织形态变化。通过用 10 ng/mL 的 IL-1 β 诱导人软骨肉瘤细胞 SW1353 24 h 来模拟骨关节炎样软骨细胞损伤,Western blot 检测 SW1353 细胞中 VPS4B、凋亡相关因子 (cleaved caspase-3 和 cleaved PARP) 和磷酸化 p38 的表达。转染 si-RNA 敲低 SW1353 细胞中 VPS4B 表达,并评估其对 IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞凋亡标记和 p38 MAPK 信号通路的影响。膜联蛋白 V (Annexin V) 和碘化丙啶 (PI) 染色用于检测软骨细胞凋亡。**结果:**VPS4B 在模型组大鼠的关节软骨中明显上调 ($P < 0.05$)。IL-1 β 诱导 24 h 后,SW1353 细胞中的 VPS4B、cleaved caspase-3、cleaved PARP 和 p-p38 蛋白表达水平均明显增加。而转染 VPS4B-siRNA 敲低 VPS4B 的表达后,cleaved caspase-3、cleaved PARP 和 p-p38 蛋白表达水平均被抑制,并且抑制了 IL-1 β 诱导细胞的凋亡率。**结论:**VPS4B 在骨关节炎发病过程中明显上调,VPS4B 的上调通过激活 p38 MAPK 信号通路来促进软骨细胞凋亡。**关键词:**骨关节炎;液泡分选蛋白 4B;软骨;细胞凋亡;p38 MAPK 信号通路

中图分类号:R-33;R684.3 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2020)14-2623-06

Regulation of Vacuolar Protein Sorting 4B on Chondrocyte Apoptosis in Osteoarthritis*

SHI Ji-yuan¹, JI Le¹, HUO Bin-liang², LIU Shi-zhang¹, XU Bing-qiang³, FU Qiang^{4△}

(1 Department of Orthopedics, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China;

2 Department of Surgical Oncology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China;

3 Department of CT, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China;

4 Department of Hematology and Oncology, The Children's Hospital of Xi'an City, Xi'an, Shaanxi, 710003, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the regulation of vacuolar protein sorting 4B (VPS4B) on chondrocyte apoptosis in osteoarthritis. **Methods:** The osteoarthritis SD rat model was established by partial medial meniscus resection and anterior cruciate ligament severance. The expression of VPS4B in rat articular cartilage was detected by RT-PCR and immunohistochemistry. The morphological changes of rat knee joint cartilage were detected by Safranin O/ fast green staining method. The osteoarthritis like chondrocyte injury was simulated by using 10 ng/mL IL-1 β to induce human chondrosarcoma cell SW1353 for 24 h. Western blot was used to detect the expression of VPS4B, apoptosis related factors (cleaved caspase-3 and cleaved PARP) and phosphorylated p38 in SW1353 cells. The expression of VPS4B in SW1353 cells was knocked down by transfected si-RNA, and the effect of VPS4B on IL-1 β induced apoptosis markers and p38 MAPK signaling pathway was evaluated. Annexin V and propidium iodide (PI) staining were used to detect chondrocyte apoptosis. **Results:** VPS4B was significantly up-regulated in the articular cartilage of the model group ($P < 0.05$). After 24 h of IL-1 β induction, the expression levels of VPS4B, cleaved caspase-3, cleaved PARP and p-p38 protein in SW1353 cells increased significantly. After transfection of VPS4B-siRNA knockdown VPS4B expression, cleaved caspase-3, cleaved PARP and p-p38 protein expression levels were inhibited, and IL-1 β induced apoptosis rate was inhibited. **Conclusion:** VPS4B is up-regulated during the pathogenesis of osteoarthritis. Up-regulation of VPS4B promotes chondrocyte apoptosis by activating p38 MAPK signaling pathway.

Key words: Osteoarthritis; Vacuolar protein sorting 4B; Cartilage; Apoptosis; p38 MAPK signaling pathway**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R684.3 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2020)14-2623-06

* 基金项目:陕西省重点研发计划项目(S2017-ZDYF-YBXM-SF-0595);陕西省重点研发计划项目(2018ZDXM-SF-057)

作者简介:史纪元(1984-),男,硕士研究生,主治医师,主要研究方向:骨关节炎及骨坏死,E-mail:ShiJYsy@163.com,电话:18092695709

△ 通讯作者:傅菁(1983-),女,硕士研究生,主治医师,主要研究方向:血液肿瘤

(收稿日期:2019-11-12 接受日期:2019-12-08)

前言

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)是一种以关节软骨局灶性变性为特征的关节疾病^[1-3]。骨关节炎的临床症状包括关节疼痛、肿胀、僵硬和活动范围受限^[4]。当前骨关节炎的治疗方法包括物理治疗、药物治疗、手术治疗等^[5-7]。最近的研究表明,衰老、遗传因素、性别、激素、肥胖、劳损、创伤等多种因素都影响骨关节炎的发生发展^[8]。此外,骨关节炎受多种炎症相关因素的影响^[9]。骨关节炎的主要病理变化是软骨细胞凋亡和细胞外基质降解,其中细胞因子起关键作用。此外,已证明有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)参与了骨关节炎的发展,p38-MAPK 信号途径的抑制可减轻炎症引起的软骨细胞凋亡^[10]。液泡分选蛋白 4B(vacuolar protein sorting 4B, VPS4B)是与多种细胞活性相关的 AAA ATP 酶家族成员。在人类细胞中,VPS4 蛋白具有两种亚型,分别是 VPS4A 和 VPS4B。研究表明,VPS4B 参与了溶酶体降解途径、细胞内蛋白运输、病毒出芽以及有丝分裂和细胞分裂的不同阶段的调控^[11]。一些研究者报道,VPS4B 可以调节非小细胞肺癌、帕金森氏病、脑梗死等疾病的进展,并在细胞凋亡中发挥关键作用^[12,13]。因此,VPS4B 是一种多功能蛋白,但在骨关节炎中的表达和潜在功能尚不清楚。本研究探讨了 VPS4B 是否能促进骨关节炎大鼠模型和 IL-1 β 刺激后 SW1353 细胞的软骨细胞凋亡,并且还分析了其在骨关节炎进展过程中与 p38 MAPK 激活的潜在相关性。旨在为骨关节炎的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

30 只 7 周龄 Sprague-Dawley(SD)雄性大鼠来自陕西省人民医院实验动物中心(SYXK(陕)2016-006),体重为 215-242 g,平均为 231.75 \pm 17.43 g,将大鼠饲养在 35 $^{\circ}$ C、12 h 的明暗周期的饲养室内。人软骨肉瘤细胞 SW1353 购自武汉普诺赛生命科技有限公司;番红 O/固绿染色试剂盒购自上海贝博生物科技有限公司;抗 VPS4B 一抗(1:1000)购自英国 Abcam 公司;生物素化的二抗购自美国 Vector Laboratories 公司;非特异性免疫球蛋白 G(IgG)购自美国 Sigma 公司;IL-1 β 购自美国 Sigma-Aldrich 公司;3,3'-二氨基联苯胺(DAB)购自美国 Vector Laboratories 公司。Trizol 提取试剂盒购自美国 Life Technologies 公司;ThermoScript RT-PCR 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;二辛可宁酸蛋白质测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;ApoScreen 膜联蛋白 V 试剂盒购自美国 Southern Biotechnology 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及骨关节炎模型的建立 参考文献所述方法^[14],采用内侧半月板部分切除加前交叉韧带切断的方法建立大鼠骨关节炎模型。将大鼠随机分为两组:(n=15)模型组和假手术组(n=15)。用尖刀将模型组的大鼠前交叉韧带横形切断并切除内侧半月板的三分之一。假手术组未进行内侧半月板部分切除加前交叉韧带切断,其他手术操作同模型组。8 周后分离大鼠膝关节并固定在 10%中性福尔马林缓冲液中,用 10%甲酸脱钙并包埋在石蜡中。矢状组织切片取自大鼠右膝关节软骨。通过国

际骨关节炎研究协会(OARSI)评分评估关节软骨损伤程度^[15]。

1.2.2 番红 O/固绿染色 采用番红 O/固绿染色方法检测大鼠膝关节软骨组织形态变化。用自来水中冲洗组织切片 10 min,然后用固绿染色 10 min。自来水洗涤后在乙酸中孵育 1 min,然后用番红 O 染色 2 min。最后,将切片脱水,95%乙醇清洗,再用水冲洗,在光学显微镜下检查切片。

1.2.3 免疫组织化学 通过免疫组织化学检测大鼠关节软骨中 VPS4B 的表达,使用胃蛋白酶进行抗原修复,将切片在 4 $^{\circ}$ C 下与抗 VPS4B 一抗(1:1000)孵育过夜,然后在生物素化的二抗中室温孵育 1 h。阴性对照玻片使用与一抗相同浓度的非特异性免疫球蛋白 G(IgG)处理。用 3,3'-二氨基联苯胺(DAB)进行显色,最后在光学显微镜下检查。被强或中度棕色染色的细胞为阳性,未被染色的细胞为阴性。

1.2.4 RT-PCR 参考文献方法^[16]进行 RNA 分离和 RT-PCR 分析。按照制造商说明,使用 Trizol 提取试剂盒从大鼠关节软骨中提取总 RNA。使用 ThermoScript RT-PCR 试剂盒对总 RNA 进行反转录。VPS4B 的引物如下:正向:5'-CCATCGG-AATTGCCACATCCTTTTGTGTCAGCCAC-3' 和反向:5'-CCTTC-CAAGCTTCATTCTTGGCTAGCCC-3'。3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)引物如下:正向:5'-TGAAAGAAATGTGTAGGC-GACTGAG-3' 和反向:5'-TCCGATTGGTCGGCGGCATG-CAT-3'。循环参数为:94 $^{\circ}$ C 1 min,55 $^{\circ}$ C 40 s,72 $^{\circ}$ C 45 s,共 45 个循环。GAPDH 用作内部对照。

1.2.5 细胞培养与诱导 将人软骨肉瘤细胞 SW1353 在 Dulbecco 改良 Eagle 培养基(DMEM)中分别于 37%和 5% CO₂ 培养,该培养基中添加了 10%胎牛血清。每 3 天进行一次细胞传代。通常在体外用 IL-1 β 诱导来模拟骨关节炎软骨细胞的病理微环境。将细胞用 10 ng/ml 的 IL-1 β (美国 Sigma-Aldrich 公司)处理 24 h。然后收集 IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞用于后续实验。

1.2.6 Western blot 将细胞用冰冷的磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次,然后在 2 \times 裂解缓冲液中裂解(含有 50 mM Tris-HCl,0.5%Nonidet P-40,100 mM NaF,120 mM NaCl,200 μ M Na₃VO₄ 和蛋白酶抑制剂混合物),10000 rpm 下 4 $^{\circ}$ C 离心 15 min 分离上清液。通过二辛可宁酸蛋白质测定法检测上清液的蛋白质浓度。50 μ g 蛋白质进行 10%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后将其转移至聚偏二氟乙烯膜上。将膜用 5%脱脂奶粉封闭 1 h,然后与抗 VPS4B 的一抗(1:1000)、cleaved caspase-3(1:2000)、cleaved PARP (1:2000)、p38 (1:1000)、p-p38(1:1000)、GAPDH(1:2000)在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。清洗 3 次后,将膜与辣根过氧化物酶标记的二抗在室温下孵育 2 h,并使用增强的化学发光系统(ECL)观察条带。

1.2.7 siRNA 转染 VPS4B-siRNA 由百奥迈科生物技术有限公司合成。靶向 VPS4B 的 siRNA 序列为:si-VPS4B#1:5'-CCA-GCGAGCUAUUGAUAAAAdTdT-3';si-VPS4B#2:5'-GAACCAG-UUUAGUACCCAAAdTdT-3'。按照制造商的指示将 SW1353 细胞用 VPS4B-siRNA 转染。转染 48 h 后收集这些转染的细胞用于后续实验。

1.2.8 细胞凋亡检测 按照制造商的规程,使用 ApoScreen 膜联蛋白 V 试剂盒进行流式细胞仪测定。用 0.1%胰蛋白酶消化 SW1353 细胞并重悬于结合缓冲液(10 mM HEPES,pH 7.4,2.5

Mm CaCl₂、140 mM NaCl 和 0.1%BSA),浓度为 10⁵ 个细胞/mL。将 10 μL 标记的膜联蛋白 V 加入到 100 μL 细胞悬液中。在冰上孵育 15 min 后,将 380 μL 结合缓冲液和 10 μL PI 溶液添加到细胞悬液中。随后通过流式细胞仪评估染色细胞的数量。

1.3 统计分析

使用 SPSS 21 统计软件分析所有数据。每个实验至少重复 3 次。所有数据均表示为平均值±标准差。使用单因素方差分析 (ANOVA) 及 Tukey 事后多重比较来检验组间数据差异。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 骨关节炎大鼠关节软骨中 VPS4B 的表达

通过番红 O/ 固绿染色检查建立骨关节炎模型 8 周后大鼠的关节软骨变化,结果显示,8 周后大鼠膝关节软骨出现番红 O 失染现象,局部结构破坏严重。与假手术组相比,模型组大鼠的 OARSI 评分显著提高。证实了模型组大鼠软骨发生破坏,可以骨关节炎的病理和炎症变化。免疫组织化学分析显示,与假手术组相比,模型组大鼠的关节软骨中 VPS4B 阳性细胞明显增加。RT-PCR 结果也显示在建模 8 周后,模型组大鼠关节软骨中 VPS4B mRNA 表达显著上调。这些结果表明高表达的 VPS4B 可能参与骨关节炎的发病机制。见图 1。

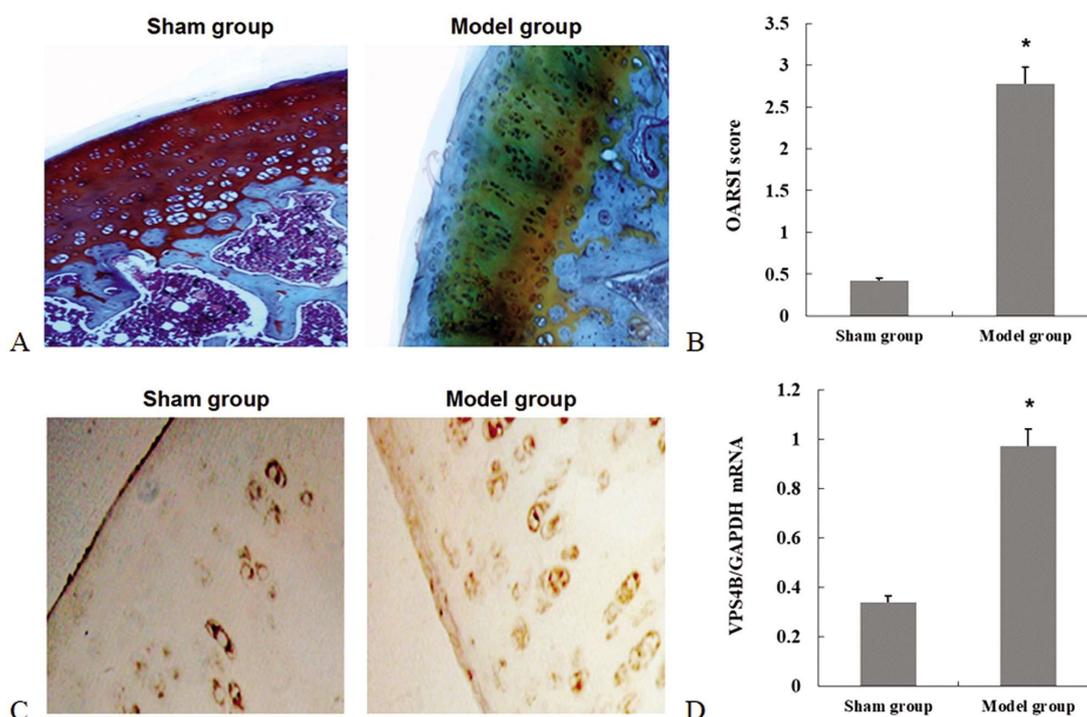


图 1 骨关节炎模型组大鼠关节软骨中的 VPS4B 表达

Fig.1 Expression of VPS4B in articular cartilage of rats with osteoarthritis model group

Note: A: Safranin O/ fast green staining ($\times 200$); B: OARSI score; C: immunohistochemical staining ($\times 200$); D: RT-PCR; Compared with sham operation group, $*P<0.05$.

2.2 IL-1 β 诱导对 SW1353 细胞 VPS4B 表达、p38 MAPK 信号通路活化和细胞凋亡相关因子表达的影响

为了揭示 VPS4B 与软骨细胞凋亡之间的关系,本研究在体外用 IL-1 β 诱导 SW1353 细胞模拟骨关节炎软骨细胞损伤。结果显示,IL-1 β 诱导 24 h 后 VPS4B 蛋白的表达上调。同样,凋亡因子 cleaved caspase-3、cleaved PARP 和 p38 磷酸化水平均明显增加。见图 2。

2.3 敲低 VPS4B 抑制 SW1353 细胞中 p38 MAPK 信号通路的激活

结果显示,si-VPS4B#1 转染 SW1353 细胞对 VPS4B 蛋白表达的敲低效率更高,并且敲低 VPS4B 导致 p38 磷酸化水平明显降低。这些结果表明,在骨关节炎进展过程中,VPS4B 可能通过 p38 MAPK 信号通路参与介导软骨细胞凋亡。见图 3。

2.4 VPS4B 调节 IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞凋亡

采用膜联蛋白 V/PI 染色法评估 VPS4B 对 SW1353 细胞

中 IL-1 β 诱导的细胞凋亡的作用。结果显示,与对照组相比,IL-1 β 处理的 SW1353 细胞的细胞凋亡率显著升高($P<0.05$)。然而转染 VPS4B-siRNA 明显降低了 IL-1 β 诱导细胞的凋亡率。而通过转染 VPS4B-siRNA 敲低 VPS4B 的表达可导致凋亡因子 cleaved caspase-3 和 cleaved PARP 蛋白表达均明显降低($P<0.05$)。上述结果表明,VPS4B 促进了骨关节炎发病期间炎症诱导的软骨细胞凋亡。见图 4。

3 讨论

骨关节炎(OA)是一种退行性关节疾病,其特征是软骨组织变性和软骨细胞凋亡。但是,尚不清楚骨关节炎中软骨细胞凋亡的确切分子机制。先前的研究表明,软骨细胞凋亡是由多种信号传导途径、细胞因子和基因协调的。液泡分选蛋白 4B (VPS4B)是与多种细胞活性相关的 AAA ATP 酶家族成员。在人类细胞中,VPS4 蛋白具有两种亚型,分别是 VPS4A 和

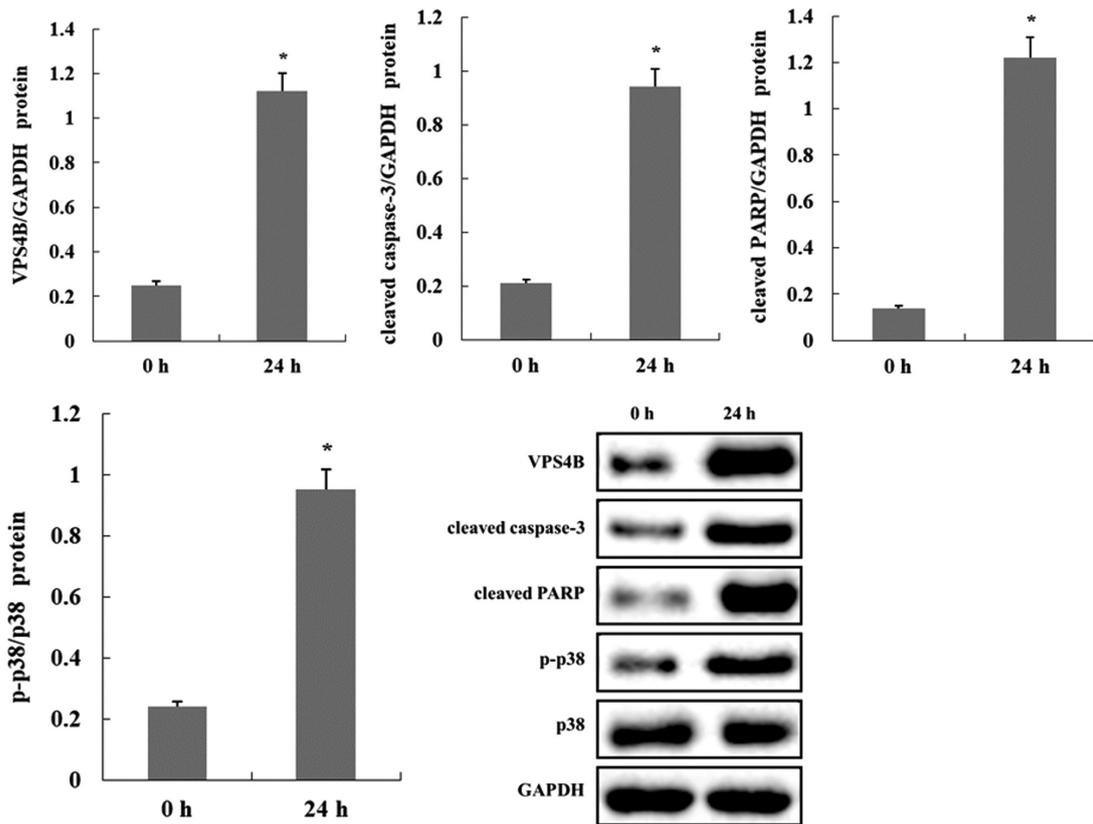


图2 IL-1 β 诱导 24h 对 SW1353 细胞 VPS4B、cleaved caspase-3、cleaved PARP、p38 和蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of IL-1 β -induced 24h on VPS4B, cleaved caspase-3, cleaved PARP, p38 and protein expression in SW1353 cells

Note: Compared with IL-1 β induced 0 h, * P <0.05

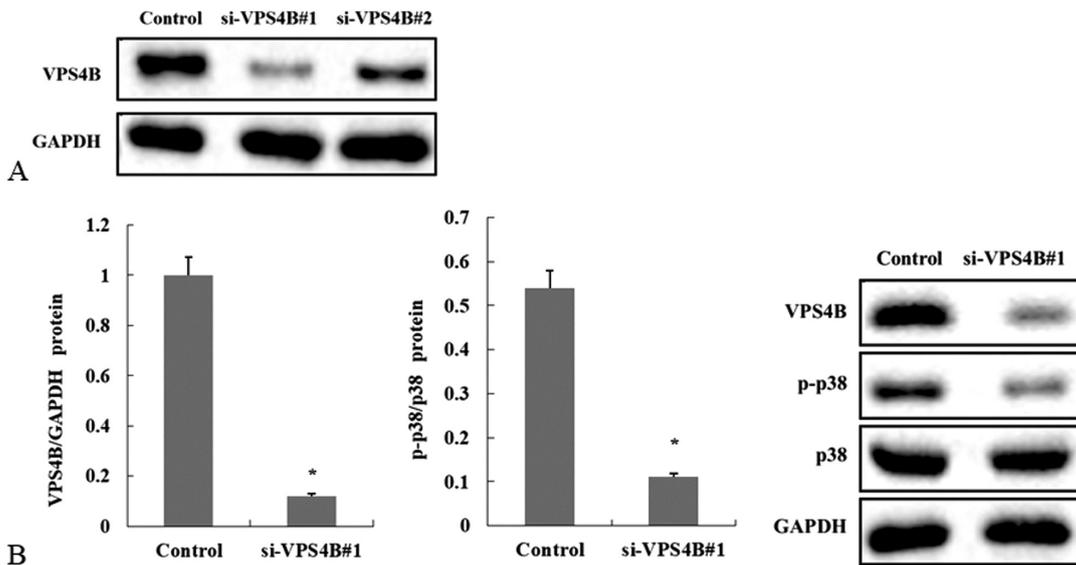


图3 转染 VPS4B siRNA 对 SW1353 细胞中 VPS4B 表达和 p38 磷酸化的影响

Fig.3 Effect of transfected VPS4B siRNA on VPS4B expression and p38 phosphorylation in SW1353 cells

Note: A: transfection efficiency of two si-VPS4B; B: effect of transfection of si-VPS4B#1 on VPS4B expression and p38 phosphorylation; Compared with control, * P <0.05

VPS4B。这两个亚型之间具有高度的序列同一性,并且主要位于细胞质中^[17]。VPS4B 是内吞体分选转运复合体(ESCRT)的组成部分,其对于多囊体的形成以及表皮生长因子受体(EGFR)和胰岛素受体等各种膜受体的降解至关重要^[18]。研究表明,VPS4B 参与了溶酶体降解途径、细胞内蛋白运输、病毒出芽以及有丝分裂和细胞分裂的不同阶段的调控^[19,20]。一些研究者报

道,VPS4B 可以调节非小细胞肺癌的进展,并且也在帕金森病的发展中发挥作用,另外还参与大脑中动脉闭塞动物模型脑缺血后的神经元凋亡,VPS4B 在脑缺血后通过活性 caspase-3 上调并促进神经元细胞凋亡^[11,12]。也有报道称抑制人结肠上皮细胞系 HT29 中 VPS4B 的表达可大大减少 p38 磷酸化并减轻 TNF- α 诱导的细胞凋亡^[21]。因此,VPS4B 是一种多功能蛋白。

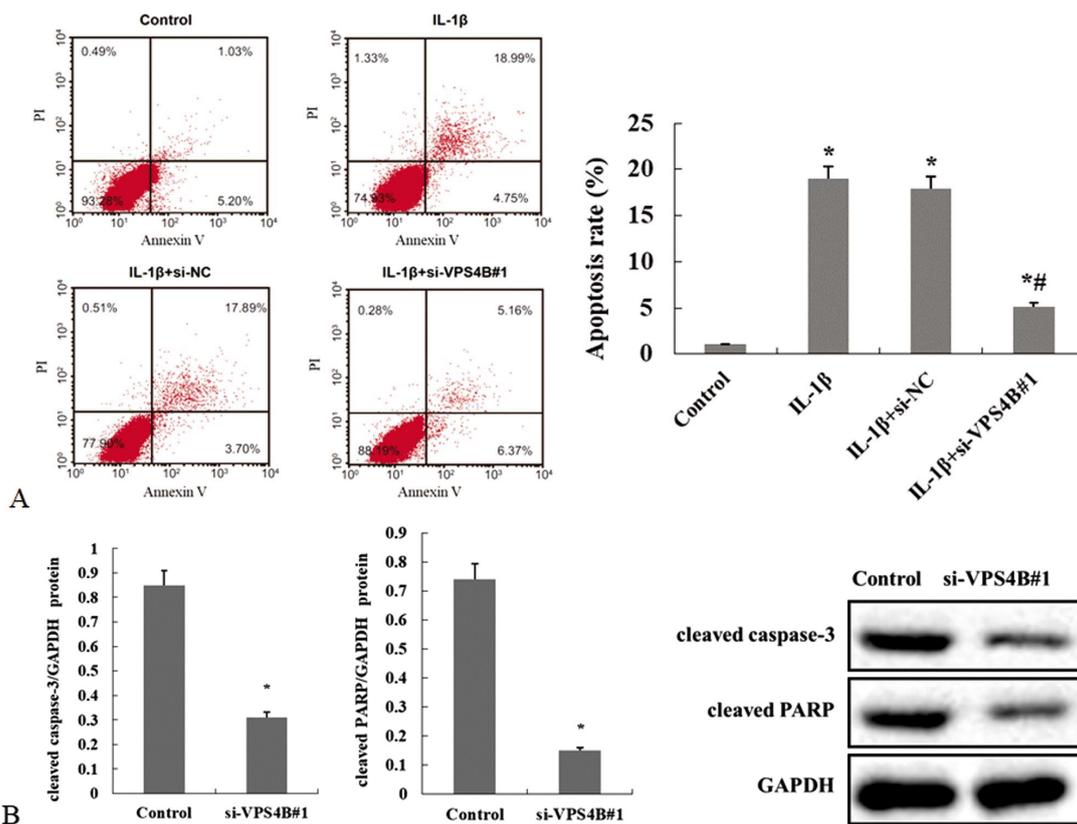


图4 转染 VPS4B siRNA 对 SW1353 细胞凋亡的影响

Fig.4 Effect of transfection of VPS4B siRNA on apoptosis of SW1353 cells

Note: A: Annexin V / PI staining for apoptosis; B: cleaved caspase-3 and cleaved PARP protein expression; Compared with controls, * $P < 0.05$; Compared with IL-1 β induced group, # $P < 0.05$

p38-MAPK 信号通路、PI3K-Akt 通路、NF- κ B 通路等均是调节软骨细胞凋亡的上游通路^[22-24]。MAPK 是一组丝氨酸 - 苏氨酸蛋白激酶, 可被如细胞因子、神经递质、细胞应激和粘附等细胞外刺激激活^[25]。MAPK 信号通路通过三层激酶级联将细胞外刺激传导到细胞核中, 并激活相应的基因, 从而促进细胞的增殖、分化和凋亡^[26]。MAPK 信号是多个信号转导途径和共享转导通道的中心节点, 由三信号级联途径组成, 即细胞外信号调节激酶(ERK)1/2、p38 和 c-Jun N 端激酶(JNK)。据报道, p38-MAPK 信号与骨关节炎的发展有关, p38-MAPK 信号途径的抑制可减轻炎症引起的软骨细胞凋亡^[15]。促炎细胞因子的刺激可激活 MAPKKK, 进而触发 MAPKK 基因表达和蛋白磷酸化, 并最终导致 p38 MAPK 相关基因的表达^[27]。p38 信号通路能够激活 caspase-3, 从而介导软骨细胞凋亡的信号转导^[28]。

VPS4B 如何调节骨关节炎中的软骨细胞凋亡仍不清楚。最近有研究报道 VPS4B 通过调节 p38-MAPK 信号通路来调控不同疾病中的细胞生长和凋亡。上调 VPS4B 的表达可通过 p38-MAPK 信号通路促进多发性骨髓瘤、非小细胞肺癌的细胞增殖^[29,30]。另外, 在克罗恩病实验模型中, 下调 VPS4B 的表达可通过 p38-MAPK 信号通路抑制细胞凋亡, 并下调凋亡因子 PARP 和 CASP3 的表达^[31]。在本研究中, 转染 siRNA 抑制 VPS4B 的表达可显著减轻 IL-1 β 诱导的软骨细胞磷酸化 p38 表达。因此, 在抑制 VPS4B 后, 磷酸化的 p38 的表达下降, 随后 caspase-3 的表达下调, 最终导致软骨细胞凋亡的抑制。

综上所述, 在本研究中, 我们发现骨关节炎实验大鼠模型

的关节软骨中 VPS4B 明显上调。在体外用 IL-1 β 处理 SW1353 细胞模拟骨关节炎软骨细胞的病理性炎症微环境。观察到 IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞中 VPS4B 表达上调, 而用 siRNA 沉默 VPS4B 会降低 IL-1 β 诱导的 VPS4B 高表达, 凋亡相关标记物 cleaved caspase-3 和 cleaved PARP 的表达, 以及 p38 的磷酸化。流式细胞术研究表明, 敲低 VPS4B 显著降低了 IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞凋亡。这些结果表明, VPS4B 可能通过 p38 MAPK 信号通路促进软骨细胞凋亡。

参考文献(References)

- [1] 魏玉玺, 勾波, 曹洪, 等. 人工全踝关节置换术治疗踝关节损伤性骨关节炎患者多中心临床随机对照研究 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(34): 6752-6755
- [2] 吴毅华, 罗高斌, 黄煜朗, 等. 关节镜下清理术联合腓骨截骨术治疗膝关节炎性骨关节炎的疗效及对炎症因子的影响[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(10): 1966-1969
- [3] 贾笛, 李彦林, 王坤, 等. 非编码 RNA 调控骨关节炎的分子生物学研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2017, (3): 374-378
- [4] 帖小佳, 郑如庚, 赵梦, 等. 中国中老年人膝关节骨关节炎患病率的 Meta 分析[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(4): 650-656
- [5] 谢洪波. 推拿配合功能锻炼治疗膝关节炎性骨关节炎的临床观察[J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(4): 367-370
- [6] 王涛, 王钢, 王佳, 等. 中药熏洗联合西药治疗寒湿痹阻型膝骨关节炎的临床观察[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(4): 506-510
- [7] 李冬生, 李剑锋, 张建, 等. 人工全膝关节置换术治疗老年重度膝关节炎性骨关节炎临床观察[J]. 山东医药, 2017, 57(20): 74-76

- [8] 王晓玲, 陈峰, 王勇, 等. 膝关节关节炎患者静态平衡能力的影响因素分析[J]. 中国全科医学, 2017, 20(20): 2464-2468
- [9] 芦丹, 汪亚群, 孙迪. 独活寄生汤对膝骨性关节炎患者关节液炎症因子、疗效及膝关节功能状况的影响分析 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(4): 1050-1052
- [10] Sun H Y, Hu K Z, Yin Z S. Inhibition of the p38-MAPK signaling pathway suppresses the apoptosis and expression of proinflammatory cytokines in human osteoarthritis chondrocytes [J]. Cytokine, 2016, 90: 135-143
- [11] Liu Y, Lv L, Xue Q, et al. Vacuolar protein sorting 4B, an ATPase protein positively regulates the progression of NSCLC via promoting cell division [J]. Molecular & Cellular Biochemistry, 2013, 381(1-2): 163-171
- [12] Cui G, Wang Y, Yu S, et al. The expression changes of vacuolar protein sorting 4B (VPS4B) following middle cerebral artery occlusion (MCAO) in adult rats brain hippocampus [J]. Cellular & Molecular Neurobiology, 2014, 34(1): 83-94
- [13] 陈振岗, 刘金波, 林凌. 非小细胞肺癌患者尿蛋白质组差异表达分析[J]. 中国肺癌杂志, 2015, 18(3): 138-145
- [14] 蔡江瑜, 盛旦丹, 蒋佳, 等. 前交叉韧带离断联合半月板切除诱发的骨关节炎早期模型相关基因芯片数据的生物信息学分析[J]. 中国运动医学杂志, 2017, 36(9): 788-792
- [15] Zhang W, Nuki G, Moskowitz R W, et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis: part III: Changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009 [J]. Osteoarthritis & Cartilage, 2010, 18(4): 476-499
- [16] Zhang D, Sun L, Zhu H, et al. Microglial LOX-1 reacts with extracellular HSP60 to bridge neuroinflammation and neurotoxicity[J]. Neurochemistry International, 2012, 61(7): 1021-1035
- [17] Scheuring S, Richt R A, Sch-Ning-Burkhardt B, et al. Mammalian cells express two VPS4 proteins both of which are involved in intracellular protein trafficking [J]. Journal of Molecular Biology, 2001, 312(3): 469-480
- [18] Liao Z, Thomas S N, Wan Y, et al. An internal standard-assisted synthesis and degradation proteomic approach reveals the potential linkage between VPS4B depletion and activation of fatty acid β -oxidation in breast cancer cells[J]. Int J Proteomics, 2013, (1): 291415
- [19] 陈栋, 李晓聪, 鲁方丽, 等. 液泡分选蛋白 4B 在小鼠牙胚发育的空表达[J]. 实用口腔医学杂志, 2018, 171(4): 442-445
- [20] Yang Q, Chen D, Xiong F, et al. A splicing mutation in VPS4B causes dentin dysplasia I [J]. Journal of Medical Genetics, 2016, 53(9): 624-633
- [21] Zhang D, Wang L, Yan L, et al. Vacuolar protein sorting 4B regulates apoptosis of intestinal epithelial cells via p38 MAPK in Crohn's disease[J]. Experimental and Molecular Pathology, 2014, 98(1): 55-64
- [22] 安琪儿, 张帅, 江文字, 等. 促进老年退行性骨关节炎软骨内源性修复的化合物研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(2): 383-388
- [23] 李晓燕, 张艳, 董春萍, 等. 骨关节炎大鼠模型软骨组织中 PI3K/AKT 信号通路功能与细胞凋亡的相关性研究 [J]. 海南医学院学报, 2017, 23(11): 1452-1455
- [24] 刘继锋, 杨晓莉, 熊咏民, 等. 核转录因子 κ B 在大骨节病患者中的表达及在软骨细胞凋亡中的作用 [J]. 中华地方病学杂志, 2018, 37(3): 181-185
- [25] Wang J, Chen H, Cao P, et al. Inflammatory cytokines induce caveolin-1/ β -catenin signalling in rat nucleus pulposus cell apoptosis through the p38 MAPK pathway [J]. Cell Proliferation, 2016, 49(3): 362-372
- [26] 陆迪菲, 冯楠, 魏晓伟, 等. p38 丝裂原活化蛋白激酶与糖尿病发生发展的研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(8): 756-759
- [27] 王晓光, 齐晓非, 李戈辉. 白藜芦醇抑制小肠缺血再灌注继发性肺损伤中 P38MAPK 通路及下游凋亡、炎症、氧化应激分子的表达[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(12): 1603-1606
- [28] Zhou Y, Liu S Q, Yu L, et al. Berberine prevents nitric oxide-induced rat chondrocyte apoptosis and cartilage degeneration in a rat osteoarthritis model via AMPK and p38 MAPK signaling[J]. Apoptosis, 2015, 20(9): 1187-1199
- [29] Tang J, Ji L, Wang Y, et al. Huang Y Cell adhesion down-regulates the expression of vacuolar protein sorting 4B (VPS4B) and contributes to drug resistance in multiple myeloma cells [J]. International Journal of Hematology, 2015, 102(1): 25-34
- [30] Liu Y, Lv L, Xue Q, et al. Vacuolar protein sorting 4B, an ATPase protein positively regulates the progression of NSCLC via promoting cell division [J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2013, 381(1-2): 163-171
- [31] Zhang D, Wang L, Yan L, et al. Vacuolar protein sorting 4B regulates apoptosis of intestinal epithelial cells via p38 MAPK in Crohn's disease[J]. Experimental and Molecular Pathology, 2014, 98(1): 55-64