

终板软骨细胞退变相关信号通路的研究进展

Research progress of signaling pathways of cartilage endplate chondrocyte degeneration

任东成¹, 丁金勇²

(1 广州中医药大学研究生院 510405 广州市; 2 广州中医药大学第一附属医院脊柱骨科 510405 广州市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2017.07.14

中图分类号: R681.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2017)-07-0657-06

椎间盘退变性疾病是临床常见病和多发病, 目前研究认为, 影响椎间盘退变的主要因素有炎症反应、氧化应激和机械应力等^[1-3]。在这些因素的作用下, 椎间盘软骨终板发生病理性改变, 出现终板钙化, 导致营养物质弥散障碍, 是椎间盘退变的始动因素^[4], 而终板软骨细胞肥大、凋亡在终板钙化中起主要作用^[5]。但目前对软骨细胞退变的研究多集中在膝关节关节炎, 对椎间盘终板软骨细胞退变相关信号通路尚缺乏深入的研究和系统的总结。笔者就终板软骨细胞退变主要相关信号通路的研究进展综述如下。

1 凋亡相关因子(factor associated suicide, Fas)信号通路

Fas 蛋白(受体)属于肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)受体家族, 是典型的凋亡受体, 位于细胞膜上, 分子量为 45kDa, 为 I 型跨膜蛋白(又称 APO-1 或 CD95)。Fas 相关的凋亡途径主要有两种分型, I 型途径主要是 Fas 与 Fas 配体(FasL)结合后在细胞内形成凋亡诱导信号复合体, 然后通过半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(caspase)途径引起细胞凋亡; II 型途径是在线粒体内, 凋亡诱导信号复合体使 caspase-8 活化, 被活化的 caspase-8 不足以引起细胞凋亡, caspase-8 先激活 Bid (BH3 死亡结构域的激动剂), 继而抑制 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, BCL-2), BCL-2 被阻断后, 细胞线粒体膜的通透性增加, 线粒体内的细胞色素 C (cytochrome c, Cyt C)进入细胞质内, 最后通过 caspase 途径引起细胞凋亡^[6]。

吕浩然等^[7]发现椎间盘突出症患者终板内 Fas 的表达明显高于正常椎间盘终板, 并且随着椎间盘终板软骨的退变凋亡细胞的增加, Fas 的表达也随之增高, 认为 Fas 信号通路参与了人体终板软骨细胞的退变过程。Chen 等^[8]发现上调终板软骨细胞中的小核糖核酸 34a(micro ribonucleic

acid 34a, microRNA-34a)会引起 BCL-2 的表达减少, 进而加强了 Fas 介导的终板软骨细胞退变, Fas 介导的终板软骨细胞退变通路被加强后, caspase-3、caspase-8、caspase-9、Cyt C 的表达均升高, 提示 Fas II 型途径参与了 Fas 诱导的椎间盘软骨终板软骨细胞退变的过程, 但目前没有充分的证据证明 Fas I 型途径也参与了该退变过程。

2 核因子 kB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-kB)信号通路

转录因子 NF-kB 家族包括 p50/p105 (NF-kB1)、p52/p100 (NF-kB2)、REL (cREL)、REL-A (P65) 和 REL-B 5 个成员。其共同点是他们的 N 端均有一个由 300 个氨基酸构成的保守的 Rel 同源区 (Rel homology domain, RHD), RHD 包括三个区域: DNA 结合区、二聚体化区、核定位信号区(NLS)。它们的功能分别是: 与 DNA 上的 kB 序列结合、与同源或异源亚基形成二聚体、与抑制因子 IκB (inhibitory kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)家族成员相结合。在静息状态下, 细胞质中的二聚体 NF-kB (如最普遍的 p50/p65 二聚体) 与结合成三聚体, NF-kB 处于失活状态。在细胞外刺激信号的作用下, IκB 被降解, 使 NF-kB 被激活, 进而发生核移位, 调控细胞核内的下游靶基因^[9]。

Xiao 等^[10]的研究发现, 间歇循环载荷 (intermittent cyclic mechanical tension, ICMT) 可通过激活 NF-kB 信号通路来上调基质金属蛋白酶-13 (matrix metalloproteinase-13, MMP-13) 的表达, 引起软骨终板退变。Gao 等^[11]的进一步研究发现, 在体外自然传代的大鼠终板软骨细胞中, 添加 NF-kB 信号通路抑制剂后, 可以降低 MMP-13 的表达, 并对 SOX-9 表达有抑制作用。从而延缓终板软骨细胞的退变。Yuan 等^[12]的研究发现终板软骨细胞外酸性环境可通过酸敏感离子通道 1a 提高 NF-kB 的转录活性, 减少蛋白聚糖和 II 型胶原相关基因的表达, 提高 MMP-1、MMP-9 和 MMP-13 的表达水平, 加速终板软骨细胞退变。Xu 等^[13]研究发现过度表达 P120-catenin (联蛋白) 对 NF-kB 信号通路有明显的抑制作用, 抑制 NF-kB 信号通路可明显改

第一作者简介: 男 (1991-), 硕士研究生, 研究方向: 脊柱外科、椎间盘组织工程

电话: (020)36591604 E-mail: rendongc@163.com

通讯作者: 丁金勇 E-mail: spinegzding@163.com

善 ICMT 引起的终板软骨细胞炎症反应。

3 Wnt/ β -catenin 信号通路

Wnt/ β -catenin 信号通路是 Wnt 信号通路中的经典信号通路,在细胞生长、发育、分化中起着重要作用。当 Wnt 信号通路被激活后,糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)蛋白的活性受到抑制,从而抑制了 β -catenin 的降解,使其在细胞质中大量聚集,并与转录因子 T 细胞因子/淋巴增强因子(T-cell factor/lymphoid enhancing factor,TCF/LEF)家族结合,转移至细胞核内,通过下游相关靶基因引起细胞退变^[14]。该通路在终板软骨细胞中的机制目前研究较少。

Zheng 等^[15]的研究发现,在自然退变组中,P5 代终板软骨细胞与 P2 代相比, β -catenin 表达明显增高,抑制 wnt 信号通路后 β -catenin 表达降低,Ⅱ型胶原、蛋白多糖及 SOX-9 表达增高。他认为 β -catenin 是该信号通路中的关键调节点,抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路可延缓终板软骨的退变。Xu 等^[16]进一步研究发现,自然状态下 β -catenin 与 E-cadherin(钙粘蛋白)形成一个复合体,从而阻断 β -catenin 的核转运,而 ICMT 可抑制终板软骨细胞 E-cadherin 的表达,减弱 E-cadherin 和 β -catenin 的联系,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,加速终板软骨细胞的退变。

4 印第安刺猬蛋白(Indian hedgehog,IHH)信号通路

Ihh 是一种可自身水解的分泌性蛋白,属于刺猬蛋白(hedgehog,hh)中的一种,hh 信号通路在骨细胞的生长、发育、分化中起着重要作用,而与软骨细胞退变相关的主要是 Ihh 信号通路。目前研究发现 Ihh 相关信号通路引起软骨终板细胞退变的主要途径有三条:印第安刺猬蛋白-甲状旁腺激素相关蛋白(Indian hedgehog-parathyroid hormone related protein,Ihh-PTHrP)信号通路、独立 Ihh 信号通路、印第安刺猬蛋白-人细胞同源域结构转录因子(Indian hedgehog-Nk3 homeobox 2 protein,Ihh-Nkx3.2)信号通路。

4.1 Ihh-PTHrP 信号通路

首先获得广泛认可的机制是与 PTHrP 相关的 Ihh-PTHrP 软骨细胞退变通路^[17]。前肥大软骨细胞分泌 Ihh,Ihh 诱导 PTHrP 合成,PTHrP 在生长板顶端休眠的软骨细胞和软骨膜细胞中表达,并沿着生长板扩散,作用于效应细胞膜 PTHrP 受体,抑制局部软骨细胞退变。细胞离开 PTHrP 的范围后开始停止增殖,变成前肥大软骨细胞,分泌 Ihh,这是 Ihh-PTHrP 信号反馈通路。Fischer 等^[18]的研究发现,长时间的 PTHrP 脉冲式治疗对成软骨细胞形成和减少软骨细胞肥大非常有效,但在这个过程中 X 型胶原 a1 基因、相关转录因子 2(runt-related transcription factor 2,RUNX2)和 MMP-13 的表达没有改变,他认为 PTHrP 通过平衡胰岛素样生长因子(insulin like growth factor,IGF)和 SOX9 相关机制抑制软骨细胞肥大。而目前最新研究^[19]发现,IX 胶原(ColIX)缺乏会引起终板软骨细胞的肥大,并出

现 Ihh 分泌的增加和伴随的 PTHrP 表达明显减少,这与 ColIX 胶原缺乏导致 Ihh-PTHrP 信号通路在某个点上的不平衡有关,阻断 Ihh-PTHrP 信号通路会加速细胞肥大分化。然而,对于 ColIX 缺失如何导致 PTHrP 减少,其机制目前尚不明确。有可能是 ColIX 的缺失直接导致 PTHrP 表达的减少,也有可能是通过干扰 Ihh 与 PTHrP 之间的反馈通路引起 PTHrP 表达减少。

4.2 独立 Ihh 信号通路

除了依赖 PTHrP 外,尚存在独立的 Ihh 信号通路。Ihh 配体与终板软骨细胞膜受体-1(Patched-1,Ptch1)结合后,启动转录因子 Gli 蛋白(包括 Gli1、Gli2、Gli3),进一步激动 Ihh 信号通路下游目标基因 Ptch1、HHIP(hedgehog-interacting protein)和 Runx2。Runx2 是软骨细胞分化中的关键转录因子,可引起 MMP-13 和 X 型胶原(肥大软骨细胞经典的特异标记物)的过度表达^[20],MMP-13 的过度表达则可以引起细胞外基质中蛋白多糖的降解和胶原破坏^[21]。

4.3 Ihh-Nkx3.2 信号通路

Choi 等^[22]研究发现,Ihh 尚可通过 Wnt5a 降解 Nkx3.2 蛋白,而 Nkx3.2 蛋白能延缓软骨细胞肥大凋亡,Ihh-Wnt5a 信号通路在抑制软骨细胞肥大中发挥着重要作用。

5 磷脂酰肌醇-3 激酶(Phosphatidylinositol-3-kinase PI3K)信号通路

PI3K 与细胞增殖、分化、凋亡以及葡萄糖转运等多种细胞功能调节有关。目前研究发现,PI3K 在终板软骨细胞分化中的通路主要有两个,一个是 PI3K-AKT-mTOR 通路,一个是 PI3K-Rac1-PAK1-Nkx3.2 通路。

5.1 PI3K-AKT-mTOR 信号通路

在细胞生长、增殖、分化调节中,位于细胞质上的 PI3K 被激活后,生成 3-磷酸磷脂酰肌醇(PIP3),PIP3 与丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT)的 PH 结构域相互作用,使位于胞浆内的 AKT 转移至细胞膜,同时被磷酸化,被激活的 AKT 转移至细胞质或细胞核内,靶向调控其下游信号分子帕雷霉素靶蛋白(mTOR),调节细胞生长、增殖、自噬及凋亡^[23]。在终板软骨细胞中,PI3K-AKT-mTOR 信号通路主要通过软骨细胞自噬机制调控终板软骨细胞的退变,已证实通过 mTOR 上调自噬水平可抑制终板软骨细胞退变^[24],关于自噬的具体过程兹不再赘述。Zhang 等^[25]的研究发现,在终板软骨细胞中,添加 IGF-1 激动 PI3K 后,出现 AKT 磷酸化,Ⅱ型胶原 a1 基因的表达增加。而Ⅱ型胶原是终板软骨细胞外基质的主要成分之一,具有固定基质中蛋白多糖,维持组织张力、剪切力,保护软骨终板的能力^[26]。Zhang 等^[27]进一步研究发现添加了 AKT-mTOR 激动剂后,大鼠终板软骨细胞中Ⅱ型胶原、蛋白多糖、SOX9、mTOR 的表达相对自然退变组及 AKT-mTOR 抑制组明显升高,认为激活该通路可减缓大鼠终板软骨细胞体外退变的发生。

5.2 PI3K-Rac1-PAK1-Nkx3.2 信号通路

Kim 等^[28]发现软骨细胞中 PI3K 介导 Nkx3.2 抑制在

控制脊椎动物软骨细胞肥大中扮演重要角色。PI3K 可以通过 Rac1-PAK1 (p21-activated kinase 1) 下调软骨细胞中的 Nkx3.2, 而抑制 Nkx3.2 能加速软骨细胞肥大凋亡。同时发现该信号通路与 AKT 无关, 且 P85 β 蛋白 (PI3K 的调节亚基之一) 在 PI3K 介导的 Nkx3.2 抑制中充当调节亚基。

6 RhoA/ROCK 信号通路

Rho 属于小分子 G 蛋白家族, 可以通过调节其下游的 Rho 激酶 (Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶) 调节细胞的骨架重组、周期活动和凋亡。Rho 家族包含 RhoA、RhoB、RhoC 三种异构体。Rho 因具有鸟苷三磷酸 (guanosine triphosphate, GTP) 酶活性, 又被称为鸟苷三磷酸水解酶, 当其 GTP 结合时会被激活, 当其鸟苷二磷酸 (guanosine diphosphate, GDP) 相结合时, 则处于失活状态, Rho 在活化与失活之间快速转换, 充当“分子开关”角色, 影响细胞外分子信号向细胞内传导^[29]。

Ma 等^[30]的研究发现, 在体外自然退变的终板软骨细胞中加入 ROCK 抑制剂后, 终板软骨细胞表型得到一定程度的修复, RhoA/ROCK 信号通路中 ROCK-1 表达呈一定程度的下降, 但活性 RhoA 的表达以及 ROCK-2 的基因表达却是随着传代的进行明显增加, 而活性 RhoA 及 ROCK-2 的表达升高提示 RhoA/ROCK 信号通路在终板软骨细胞退变过程中被激活。Xu 等^[31]的研究则发现 P120-catenin 对 RhoA 具有灭活作用, ICMT 可以通过抑制 P120-catenin 的表达, 进而削弱 P120-catenin 与 GDP-RhoA 之间的联系, 导致 RhoA/ROCK-1 通路被激活, 引起的终板软骨细胞退变。Zhang 等^[32]的研究发现, 缺氧可以抑制软骨细胞磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein, CREB) 磷酸化, 进而通过上调线粒体超氧化物及活性氧水平引起线粒体功能障碍, 导致软骨细胞退变, 过度表达 RhoA 则可以通过阻断缺氧导致 CREB 磷酸化减少的过程, 进而改善缺氧引起的线粒体功能障碍, 延缓软骨细胞退变。

7 MAPK 信号通路

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路广泛存在于细胞中, 当该信号通路被激活后, 可以以 3 级激酶级联的方式将胞外信号放大并传入细胞核内, 再通过调节转录因子调控下游靶基因的表达, 进而引起细胞增殖、分化、凋亡等活动。MAPKs 家族包括: c-Jun N-末端激酶 (c-Jun N-terminal kinases, JNK)、SAPK、p38MAPK、细胞外信号调节蛋白激酶 (extracellular signal regulated kinase, ERK)、ERK3、BMK1/ERK5、ERK7、NLK 和 ERK8 等 8 个亚家族。其中 ERK、JNK、P38MAPK 通路参与了成骨细胞增殖分化的信号传导^[33]。

Kong 等^[34]的研究发现在静态机械应力的作用下, 软骨终板细胞发生退变, 伴随 ERK (1/2)、JNK、P38MAPK 的

磷酸化, 同时线粒体膜电位丢失, Cyt C 释放增加, caspase-9 和 caspase-3 被激活, 提示压力诱导的终板软骨细胞退变 MAPK 信号通路与线粒体途径相关。

JNK 是一种跨膜蛋白, 具有把细胞内的无机焦磷酸 (pyrophosphate, PPi) 转运至细胞外的功能, 细胞外的 PPi 保持在一定水平可以发挥抗钙化作用, 体外实验发现在大鼠终板软骨细胞中, 持续循环载荷可以激活 p38MAPK 信号通路, 增加 p38MAPK 抑制剂 SB203580 引起 ANK 表达水平上升, 并且发现 p38MAPK 的激活并不取决于 Smad2/3 途径^[35]。也有研究^[36]发现, JNK 的磷酸化提高了颈椎终板软骨细胞的退变率, 而抑制 JNK 信号通路则增加了 II 型胶原蛋白、蛋白聚糖和 ANK 蛋白的表达, 促进了软骨细胞的增殖。认为其机制与 JNK 的磷酸化引起 ANK 蛋白的表达下调相关。

人巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage inhibition factor, MIF) 是活化的 T 淋巴细胞释放的一种可溶性因子, 处于炎症反应的上游, 可以激活炎症细胞, 对炎症反应起着级联放大的作用, 促进 NO、IL-6、IL-8、IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 、PGE2 和 MMP 的释放或表达。CD74 是 MIF 的特异性的受体, MIF 与 CD74 结合后, 激活 P38MAPK 和 ERK1/2 信号通路, 促进炎症因子的释放, 造成终板软骨细胞合成和分解代谢不平衡, 引起终板软骨细胞退变, 细胞外基质降解^[37,38]。

8 Caspase 信号通路

目前研究认为^[6], caspase 家族共包括 14 个亚型 (caspase 1-14), 正常情况下以无活性酶的形式存在于细胞内, 被活化后以内切酶的形式水解底物蛋白, 参与细胞凋亡的过程。Caspase 中参与细胞凋亡的亚族可分为两类, 一类是细胞凋亡的启动者, 包括 caspase-8 和 caspase-9; 一类是细胞凋亡的执行者, 包括 caspase-3、caspase-6、caspase-7。Caspase 不可逆性有限水解底物蛋白的过程是大多数细胞凋亡的后期共同途径。

Ding 等^[39]的研究发现, 沉默内生 caspase-3 的表达可有效阻止终板软骨细胞的过度退变。Li 等^[40]发现抑制 caspase-9 的表达可明显抑制终板软骨细胞退变。最近的研究^[41]发现, 在营养缺乏引起的退变软骨终板细胞中, 营养缺乏可以引起 BNIP3 (Bcl-2/adenovirus E1B 19-kDa-interacting protein 3) 表达的上调, 导致线粒体移位和线粒体膜电位丢失, 但营养缺乏对 caspase-3 的活性没有影响。营养缺乏通过上调 BNIP3 促进软骨终板细胞退变, 这可能与 BNIP3 相关通路的激活和通过 caspase 非依赖性的方式引起软骨终板细胞的退变相关。

9 各信号通路之间的联系

在目前终板软骨细胞退变的相关信号通路中, 以传统的 MAPK 和 PI3K 信号通路为主, Ihh 和 NF- κ B 信号通路在近年来也有较多的研究。以上细胞凋亡相关的众多信

号通路并非是独立存在或独立起作用的,各通路之间存在复杂的联系。

Fas作为死亡受体,与许多凋亡相关信号通路存在密切关联。有研究发现减少 NF- κ B 核移位可加强 Fas 介导的软骨细胞退变,且这个加强效应与 caspase-8 的激活有关^[42]。Fas 与 PI3K 之间也存在着密切关联,抑制 PI3K/Akt 信号通路可以显著地促进 Fas 介导的细胞退变通路^[43]。Sarrabayrouse 等^[44]研究则发现,激活 RhoA/ROCK 信号通路可阻断细胞内至细胞表面的囊泡运输途径,进而减少细胞表面 FasL 的表达。FasL 也可以通过调节促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白进而激活 MAPK 信号通路,影响软骨细胞退变。

NF- κ B 与内质网密切相关,内质网应激是细胞凋亡的重要机制。NF- κ B 信号通路与 Wnt/ β -catenin 信号通路是有较强关联的两条信号通路,研究发现两者之间具有正负双向调控作用,正调控是指一通路增强时会使另一通路也增强,负调控是指一通路的激活或增强会对另一通路起抑制作用^[45]。 β -catenin 是 NF- κ B 信号通路与 Wnt/ β -catenin 信号通路的交汇点,NF- κ B 中的 p65 亚基可与 β -catenin 相结合,形成 p65/ β -catenin 结合体,在细胞损伤和退变中发挥重要作用,并且在 NF- κ B 的激活中扮演着重要角色,调节 β -catenin 水平可明显影响 NF- κ B 的活性^[46]。NF- κ B 信号通路与 PI3K 信号通路之间也存在较明确的联系,当 PI3K-AKT 信号通路被激活时,AKT 蛋白发生磷酸化,通过其下游的一系列酶促反应使 I κ B α 与 NF- κ B 三聚体中的 I κ B α 被降解,三聚体解离,NF- κ B 被活化,进而发生核移位,通过其下游的靶基因调节细胞活动^[47]。RhoA/ROCK 信号通路与 NF- κ B 也有密切的关系,实验表明,过度表达 p120-catenin 可以抑制 NF- κ B 和 RhoA 的激活,而 p120-catenin 在细胞中 RhoA 结合,打断 RhoA/ROCK 信号通路会抑制 NF- κ B 的核移位,两通路之间存在正向调控关系,且 p120-catenin 是两者的共同调节位点^[48]。P38MAPK 与 NF- κ B 之间存在正向调控作用,抑制 P38MAPK 可以下调 IKK 的磷酸化水平,导致 I κ B α 磷酸化减少,从而减少 NF- κ B 的核移位^[49],且增强 JNK、ERK 的表达可提高 NF- κ B 的磷酸化水平^[50,51]。

Wnt/ β -catenin 信号通路处于 Ihh 信号通路的上游,PTHrP 是两者的共同调节位点^[52]。而 Wnt/ β -catenin 与 PI3K/Akt、ERK 三者之间存在密切关联,三者形成一个环形通路共同调节细胞活动,这个通路环既存在于细胞内,也存在于细胞外^[53]。Wnt/ β -catenin 信号通路与 MAPK 信号通路交汇形成 Wnt/MAPK 信号通路,其中 Wnt3a 的活化可引起 ERK1/2 磷酸化水平升高^[54]。而且 Wnt/ β -catenin、MAPK、NF- κ B 三者可交汇形成 Wnt/MAPK/NF- κ B 通路。Kim 等^[55]的研究则表明活化 MAPK 可以抑制 Ihh 信号的表达。Cheng 等^[56]研究发现 PI3K/Akt 和 RhoA/ROCK、MAPK 三者之间存在密切关联,但其中的机制仍不十分清楚,有待进一步研究。除 Ihh 信号通路外,caspase 信号通路与本

文提及的信号通路均有联系,正如前文所说,caspase 信号通路是大多数细胞凋亡的后期共同途径。

10 展望

目前对终板软骨细胞退变相关信号通路的研究有着诸多可喜的发现,但尚缺乏更为深入的研究和系统的总结,对已有通路的精确机制及多通路之间的关系尚不十分清楚,与骨及软骨细胞代谢密切相关的 cAMP-PKA、TLR4、HIF-1 α 、OPG/RANKL/RANK、Ca²⁺等信号通路在终板软骨细胞凋亡方面的研究目前在国内外鲜见报道。未来我们一方面要拓展研究宽度,追踪热点,寻找更多与终板软骨细胞退变相关的信号通路,以期从多角度理解终板软骨细胞退变的分子机制;另一方面,深入研究各通路的精确机制及同一通路在不同干预手段下的具体表现,在此基础上研究各通路之间的联系,寻找关键靶点,为研究靶点药物及治疗提供理论依据。

11 参考文献

1. 孟祥宇,夏建龙,杨挺,等. 椎间盘退变的机制及修复[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(11): 1768-1773.
2. 梁鹤,董双海,夏天,等. 氧化应激介导的 NF- κ B 信号转导通路在椎间盘退变中的作用[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(14): 2777-2779.
3. 顾韬,阮狄克. 生物力学因素对椎间盘退变的影响及机理[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2011, 21(6): 523-526.
4. 徐宏光. 终板软骨在椎间盘退变中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(53): 8645.
5. 彭红心,徐宏光. 细胞凋亡与软骨终板钙化的关系[J]. 国际骨科学杂志, 2010, 31(5): 299-301.
6. 华东方,魏磊鑫,曹鹏,等. Fas 凋亡途径在椎间盘退变中的研究进展[J]. 颈腰痛杂志, 2016, 37(4): 333-336.
7. 吕浩然,杨进顺,黄彦,等. 椎间盘突出患者椎间盘 Fas 基因的表达[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(43): 7587-7593.
8. Chen H, Wang J, Hu B, et al. MiR-34a promotes Fas-mediated cartilage endplate chondrocyte apoptosis by targeting Bcl-2[J]. Mol Cell Biochem, 2015, 406(1-2): 21-30.
9. De LF. Role of nuclear factor kappa B(NF-kappaB) in growth plate chondrogenesis[J]. Pediatr Endocrinol Rev, 2016, 13(4): 720-730.
10. Xiao L, Xu HG, Wang H, et al. Intermittent cyclic mechanical tension promotes degeneration of endplate cartilage via the nuclear factor-kappaB signaling pathway: an in vivo study[J]. Orthop Surg, 2016, 8(3): 393-399.
11. Gao Z, Xu HG, Zhang XL, et al. NF-kappaB signaling pathway regulate endplate chondrocytes in rat vitro natural degeneration model[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2016, 96(27): 2182-2186.
12. Yuan FL, Zhao MD, Jiang DL, et al. Involvement of acid-sensing ion channel 1a in matrix metabolism of endplate chondrocytes under extracellular acidic conditions through

- NF- κ B transcriptional activity[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2016, 21(1): 97–104.
13. Xu HG, Gao Z, Ma MM, et al. P120-catenin mediates intermittent cyclic mechanical tension-induced inflammation in chondrocytes [J]. *J Cell Biochem*, 2017 May 2, doi: 10.1002/jcb.26108.
 14. Lories RJ, Corr M, Lane NE. To Wnt or not to Wnt: the bone and joint health dilemma[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2013, 9(6): 328–339.
 15. Zheng Q, Xu H, Zhang X, et al. Expression and significance of wnt/ β -catenin signaling pathway in vitro natural degeneration model of endplate chondrocytes in rats [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2014, 94(31): 2464–2467.
 16. Xu HG, Zheng Q, Song JX, et al. Intermittent cyclic mechanical tension promotes endplate cartilage degeneration via canonical wnt signaling pathway and E-cadherin/ β -catenin complex cross-talk[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(1): 158–168.
 17. Fischer J, Dickhut A, Rickert M, et al. Human articular chondrocytes secrete parathyroid hormone-related protein and inhibit hypertrophy of mesenchymal stem cells in coculture during chondrogenesis [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(9): 2696–2706.
 18. Fischer J, Ortel M, Hagmann S, et al. Role of PTHrP(1–34) pulse frequency versus pulse duration to enhance mesenchymal Stromal Cell Chondrogenesis [J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(12): 2673–2681.
 19. Kamper M, Paulsson M, Zaucke F. Absence of collagen IX accelerates hypertrophic differentiation in the embryonic mouse spine through a disturbance of the Ihh-PTHrP feedback loop[J]. *Cell Tissue Res*, 2017, 367(2): 359–367.
 20. Wang S, Yang K, Chen S, et al. Indian hedgehog contributes to human cartilage endplate degeneration [J]. *Eur Spine J*, 2015, 24(8): 1720–1728.
 21. Nakamura DS, Hollander JM, Uchimura T, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) mediates cartilage matrix loss in an age-dependent manner under inflammatory conditions[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2017, 18(1): 39.
 22. Choi SW, Jeong DU, Kim JA, et al. Indian hedgehog signalling triggers Nkx3.2 protein degradation during chondrocyte maturation[J]. *Biochem J*, 2012, 443(3): 789–798.
 23. 尹承龙, 劳学军. PI3K-AKT-mTOR 信号通路的研究进展[J]. *中国医学创新*, 2016, 13(1): 145–148.
 24. Xu HG. Autophagy protects endplate chondrocytes from intermittent cyclic mechanical tension induced calcification [J]. *Bone*, 2015, 75: 242–243.
 25. Zhang M, Zhou Q, Liang QQ, et al. IGF-1 regulation of type II collagen and MMP-13 expression in rat endplate chondrocytes via distinct signaling pathways[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(1): 100–106.
 26. Sivan SS, Hayes AJ, Wachtel E, et al. Biochemical composition and turnover of the extracellular matrix of the normal and degenerate intervertebral disc[J]. *Eur Spine J*, 2014, 23(3): 344–353.
 27. Zhang S, Wang H, Zhang T, et al. Expression and significance of AKT/mTOR signaling pathway in natural degeneration in vitro model of endplate chondrocytes of rats [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2016, 96(5): 375–379.
 28. Kim JA, Im S, Cantley LC, et al. Suppression of Nkx3.2 by phosphatidylinositol-3-kinase signaling regulates cartilage development by modulating chondrocyte hypertrophy[J]. *Cell Signal*, 2015, 27(12): 2389–2400.
 29. 张海翔, 王宸. RhoA/ROCK 信号通路对软骨细胞的影响[J]. *国际骨科学杂志*, 2012, 33(5): 300–302.
 30. Ma M, Xu H, Zhang X, et al. Change and significance of RhoA/ROCK signaling pathway in the model with natural degeneration of the rat endplate chondrocytes [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2015, 95(41): 3373–3377.
 31. Xu HG, Ma MM, Zhen Q, et al. P120-Catenin protects endplate chondrocytes from intermittent cyclic mechanical tension induced degeneration by inhibiting the expression of RhoA/ROCK-1 signaling pathway[J]. *Spine*, 2016, 41(16): 1261–1271.
 32. Zhang K, Jiang D. RhoA inhibits the hypoxia-induced apoptosis and mitochondrial dysfunction in chondrocytes via positively regulating the CREB phosphorylation [J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(2): 1–9.
 33. 曲爱娜, 周慧芳. MAPK 信号转导途径及与在成骨细胞中作用的研究进展[J]. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2013, 22(6): 567–570.
 34. Kong D, Zheng T, Zhang M, et al. Static mechanical stress induces apoptosis in rat endplate chondrocytes through MAPK and mitochondria-dependent caspase activation signaling pathways[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): E69403.
 35. Xu H, Zhang X, Wang H, et al. Continuous cyclic mechanical tension increases ank expression in endplate chondrocytes through the TGF- β 1 and p38 pathway [J]. *Eur J Histochem*, 2013, 57(3): e28.
 36. Xu HG, Cheng JF, Peng HX, et al. JNK phosphorylation promotes natural degeneration of cervical endplate chondrocytes by down-regulating expression of ANK [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(17): 2335–2344.
 37. Xiong C, Huang Y, Kang H, et al. Macrophage inhibition factor-mediated CD74 signal modulate inflammation and matrix metabolism in the degenerated cartilage endplate chondrocytes by activating extracellular signal regulated kinase 1/2[J]. *Spine*, 2017, 42(2): E61–E70.
 38. 熊承杰. 人巨噬细胞移动抑制因子及其受体在椎间盘退变过程中的表达及其功能研究[D]. 第三军医大学, 2013: 77–79.
 39. Ding L, Wu JP, Xu G, et al. Lentiviral-mediated RNAi targeting caspase-3 inhibits apoptosis induced by serum deprivation in rat endplate chondrocytes in vitro [J]. *Braz J Med*

- Biol Res, 2014, 47(6): 445–451.
40. Li D, Zhu B, Ding L, et al. Role of the mitochondrial pathway in serum deprivation-induced apoptosis of rat endplate cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 452(3): 354–360.
 41. He Z, Pu L, Yuan C, et al. Nutrition deficiency promotes apoptosis of cartilage endplate stem cells in a caspase-independent manner partially through upregulating BNIP3 [J]. *Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai)*, 2017, 49(1): 25–32.
 42. Kuhn K, Lotz M. Regulation of CD95(Fas/APO-1)-induced apoptosis in human chondrocytes[J]. *Arthritis Rheum*, 2001, 44(7): 1644–1653.
 43. Fouque A, Legembre P. Study of the CD95-mediated non-apoptotic signaling pathway: PI3K [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1557: 103–110.
 44. Sarraayrouse G, Synaev C, Leveque K, et al. Statins stimulate in vitro membrane FasL expression and lymphocyte apoptosis through RhoA/ROCK pathway in murine melanoma cells[J]. *Neoplasia*, 2007, 9(12): 1078–1090.
 45. 孔敬波, 马信龙, 王涛, 等. Wnt/ β -catenin 及 NF- κ B 信号通路与椎间盘退变的研究进展 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2013, 27(12): 1523–1528.
 46. Nejak BK, Moghe A, Cornuet P, et al. Role and regulation of p65/ β -catenin association during liver injury and regeneration: a 'complex' relationship[J]. *Gene Expr*, 2017, 17(3): 219–235.
 47. Shen T, Yang Z, Chen X, et al. CXCL8 induces epithelial-mesenchymal transition in colon cancer cells via the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(4): 2095–2100.
 48. Qin S, Qin L, Zhang C, et al. P120-Catenin modulating nuclear factor- κ B activation is partially RhoA/ROCK dependent in scratch injury[J]. *Wound Repair Regen*, 2015, 23(2): 231–240.
 49. Zhang JX, Xing JG, Wang LL, et al. Luteolin inhibits fibrillary β -Amyloid1–40-Induced inflammation in a human blood-brain barrier model by suppressing the p38 MAPK-Mediated NF- κ B signaling pathways[J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 1–15.
 50. Li XJ, Zhu X, Han SL, et al. Bergapten exerts inhibitory effects on diabetes-related osteoporosis via the regulation of the PI3K/AKT, JNK/MAPK and NF- κ B signaling pathways in osteoprotegerin knockout[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(6): 1661–1672.
 51. Zhang DX, Ma DY, Yao ZQ, et al. ERK1/2/p53 and NF- κ B dependent-PUMA activation involves in doxorubicin-induced cardiomyocyte apoptosis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(11): 2435–2442.
 52. Mak KK, Chen MH, Day TF, et al. Wnt/ β -catenin signaling interacts differentially with Ihh signaling in controlling endochondral bone and synovial joint formation[J]. *Development*, 2006, 133(18): 3695–3707.
 53. Padala RR, Karmawat R, Viswanathan SB, et al. Cancerous perturbations within the ERK, PI3K/Akt, and Wnt/ β -catenin signaling network constitutively activate inter-pathway positive feedback loops[J]. *Mol Biosyst*, 2017, 13(5): 830–840.
 54. Wan XZ, Li B, Li YC, et al. Activation of NMDA receptors upregulates a disintegrin and metallo-proteinase 10 via a Wnt/MAPK signaling pathway[J]. *J Neurosci*, 2012, 32(11): 3910–3916.
 55. Kim HK, Feng GS, Chen D, et al. Targeted disruption of Shp2 in chondrocytes leads to metachondromatosis with multiple cartilaginous protrusions[J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(3): 761–769.
 56. Cheng CI, Lee YH, Chen PH, et al. Cobalt chloride induces RhoA/ROCK activation and remodeling effect in H9C2 cardiomyoblasts: Involvement of PI3K/Akt and MAPK pathways [J]. *Cell Signal*, 2017, 36(8): 25–33.

(收稿日期:2017-04-06 末次修回日期:2017-06-22)

(本文编辑 姜雅浩)