

基础研究

颈椎后纵韧带骨化患者韧带成纤维细胞中 Cx43 的表达及其在成骨化中的作用

杨海松, 陈德玉, 卢旭华, 王新伟, 石磊, 刘洋, 杨立利

(第二军医大学附属长征医院骨科 20003 上海市)

【摘要】目的:观察 Connexin43(Cx43)在颈椎后纵韧带骨化患者韧带成纤维细胞中的表达,探讨其在成骨化过程中的作用。**方法:**选择 2013 年 1 月~12 月期间在我科行颈前路手术治疗的 15 例颈椎后纵韧带骨化症患者(骨化组)与 15 例不伴后纵韧带骨化的颈椎疾病患者(非骨化组)。术中切取两组患者韧带标本并采用组织块培养法进行细胞体外培养,应用免疫细胞化学及免疫荧光技术检测胞浆内波形蛋白进行细胞鉴定。采用 RT-PCR 方法检测细胞内成骨特异指标骨钙素(OCN)、碱性磷酸酶(ALP)及 I 型胶原(COL I)mRNA 表达,Western blot 技术检测两组细胞 Cx43 蛋白表达,评估其成骨活性。采用 siRNA 技术对骨化组第 3 代细胞之 Cx43 抑制 72h,检测抑制组与非抑制组 OCN、ALP 及 COL I 的表达变化。**结果:**经鉴定培养出的细胞为成纤维细胞。韧带骨化组细胞 OCN、ALP 与 COL I 的 mRNA 表达量分别为 1.36 ± 0.21 、 0.53 ± 0.18 、 1.64 ± 0.37 ,明显高于非骨化组(0.78 ± 0.21 、 0.29 ± 0.13 、 1.01 ± 0.26);骨化组 Cx43 蛋白表达量(1.00 ± 0.30)亦明显高于非骨化组(0.48 ± 0.18)。对骨化组细胞 Cx43 抑制 72h 后,其蛋白表达下调 69%($P<0.01$);非抑制组 OCN、ALP 及 COL I 的 mRNA 表达量为 1.54 ± 0.33 、 1.32 ± 0.36 、 1.86 ± 0.44 ,抑制组分别为 0.91 ± 0.32 、 0.47 ± 0.21 、 0.88 ± 0.29 ,两组比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**颈椎后纵韧带骨化症患者韧带成纤维细胞中存在较高水平的 Cx43,并在其成骨化过程中发挥着积极作用。

【关键词】颈椎后纵韧带骨化;Connexin43;骨钙素;碱性磷酸酶;I 型胶原

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2014.09.11

中图分类号:R681.5,R362 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2014)-09-0828-05

Expression of Cx43 in the ligament fibroblasts derived from patients presenting ossification of posterior or longitudinal ligament and its effect during ossification/YANG Haisong, CHEN Deyu, LU Xuhua, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2014, 24(9): 828-833

【Abstract】Objectives: To investigate the expression of connexin43(Cx43) in the ligament fibroblasts derived from patients presenting ossification of posterior longitudinal ligament(OPLL) and its effect during ossification. **Methods:** Fifteen patients presenting with OPLL and 15 non-OPLL patients underwent anterior decompression between January 2013 and December 2013. Specimens of the posterior longitudinal ligament were collected intraoperatively. Tissue fragment cell culture was performed. The mouse anti-vimentin antibody was used to identify the cultured cells via immunocytochemistry and immunofluorescence(ICC/IF). The mRNA expressions of osteoblast-specific genes of osteocalcin(OCN), alkaline phosphatase(ALP) and type I collagen(COL I) were detected in OPLL and non-OPLL cells by semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR). The protein expression of Cx43 was detected via western blotting. And after 72h, when RNA interference against Cx43 was performed in OPLL cells, the expressions of indexes mentioned above were compared again between transfection and non-transfection group. **Results:** The mRNA expression of OCN, ALP and COL I was 1.36 ± 0.21 , 0.53 ± 0.18 and 1.64 ± 0.37 . It was significantly higher compared with non-OPLL group, with expression as 0.78 ± 0.21 , 0.29 ± 0.13 and 1.01 ± 0.26 . The protein expression of Cx43(1.00 ± 0.30) in OPLL group was also obvious higher than the non-OPLL group(0.48 ± 0.18). Furthermore, after 72h of transfection targeting Cx43, result of western blot showed a down-regulation of Cx43 protein expression by almost

基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(编号:81201428)

第一作者简介:男(1981-),主治医师,研究方向:脊柱外科

电话:(021)81885643 E-mail:yangspine@163.com

通讯作者:陈德玉 E-mail:chenspine@163.com

69% ($P < 0.01$). The mRNA expression of OCN, ALP and COL I was 1.54 ± 0.33 , 1.32 ± 0.36 , 1.86 ± 0.44 in non-transfection group and 0.91 ± 0.32 , 0.47 ± 0.21 , 0.88 ± 0.29 in non-transfection group. The difference was significant. **Conclusions:** There is a higher expression of Cx43 in ligament fibroblasts derived from OPLL, which indicates that Cx43 plays an important role during the ossification of the ligament fibroblasts.

【Key words】 Ossification of the posterior longitudinal ligament; Cx43; Osteocalcin; Alkaline phosphatase; Collagen I

【Author's address】 Department of Orthopaedic Surgery, Changzheng Hospital, Shanghai, 200003, China

连接蛋白(connexin, Cx)是组成缝隙连接的基本亚单位,允许分子量小于 1kD 的分子穿透细胞膜从一个细胞进入另一个细胞从而起到信息传递的作用^[1]。目前已经发现 20 余种 Cx,但在骨组织中分布最广、作用最多的是 Cx43^[2],其在促进骨形成的过程中起着重要作用。有研究发现,Cx43 缺如的成骨细胞其矿化能力缺失并对生物信号的反应能力丧失^[3,4]。颈椎后纵韧带骨化是韧带组织演变为骨组织的骨化过程,Cx43 极有可能参与其中。本研究采用体外培养颈椎后纵韧带骨化与非骨化患者韧带的成纤维细胞,比较两组细胞 Cx43 的蛋白表达差异,并对骨化组细胞内 Cx43 进行干扰,检测干扰前后成骨指标骨钙素(OCN)、碱性磷酸酶(ALP)及 I 型胶原(COL I)的 mRNA 表达变化,探讨 Cx43 在 OPLL 中的作用。

1 材料与方法

1.1 标本选择

选取 2013 年 1 月~2013 年 12 月期间在我院脊柱外科进行前路椎体次全切除治疗的颈椎后纵韧带骨化症患者(骨化组)与不伴椎后纵韧带骨化的颈椎疾病患者(脊髓型颈椎病 9 例,颈椎外伤 6 例;非骨化组)各 15 例。骨化组患者年龄 35~78 岁,平均 50 岁;非骨化组患者年龄 30~62 岁,平均 45 岁。患者既往均无系统性疾病病史。术前通过颈椎 X 线片、CT 及 MRI 明确诊断。术中切除后纵韧带留作标本,标本均取自 C4 或 C5 椎体后缘。所有患者均知情同意。

1.2 主要设备和试剂

Heraeus 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱, GIBCO 胎牛血清(FBS)及 DMEM 培养基、Trizol RNA 提取液、Lipofectamine 2000 转染试剂及无血清培养基(Invitrogen 公司生产),鼠抗人波形蛋白特异性抗体(Sigma 公司生产),兔抗人 Cx43 单克隆抗体(中衫金桥公司提供),RT-PCR 试剂盒(Fermentas 公司提供),上海生工合成引物, Olympus 倒置相

差显微镜, BIO-RAD PCR 扩增仪。

1.3 细胞培养

采用组织块培养法对切取的后纵韧带组织进行体外原代细胞培养。将术中切取的后纵韧带标本在 37℃ 无菌环境下迅速送往细胞培养室,放入无菌培养皿内用磷酸盐缓冲溶液(PBS)漂洗 2 次,显微镜下采用眼科剪刀及镊子将韧带周围附着的骨化组织彻底去除,并将韧带剪成约 0.3cm³ 的小块(避免过分用力钳夹标本对细胞造成损伤)。将剪成碎块的标本均匀铺于直径 70mm 的细胞培养皿中,加入 10%FBS-DMEM 培养液,置于 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱内培养。待组织块周围细胞爬出后每 7d 更换 1 次培养液,并随细胞生长逐渐缩短至每 4d 更换 1 次培养液,待细胞铺满皿底 80%后用 0.05%胰蛋白酶消化传代。

1.4 细胞鉴定

取传代良好的第 3 代细胞,按 10⁴ 个/孔的密度接种在 24 孔板内(孔内预先放置盖玻片),此时应避免细胞密度过大导致细胞叠加而影响观察。培养箱内过夜待细胞贴壁,次日取出玻片,冰 PBS 冲洗(3 次, 5min/次,下同)。采用 4%多聚甲醛固定 20min 后用 PBS 冲洗,再用 0.1%聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100/PBS)作用 5min, PBS 冲洗。最后用 5%山羊血清封闭 1h,加鼠抗人 Vimentin 抗体(1:100)4℃孵育过夜。次日用 PBS 冲洗后加罗丹明(TRITC)标记的马抗鼠二抗室温孵育 1h,再次 PBS 冲洗,最终用 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)对细胞核染色 10min,并用 PBS 冲洗后采用甘油封片,放置在荧光显微镜下进行观察。

1.5 OCN、ALP 及 COL I mRNA 表达测定

取传代良好的第 3 代细胞,按照 3×10⁵ 个/孔的密度接种在 6 孔板内。采用 Trizol RNA 提取液提取细胞内总 RNA,经过分离、沉淀、还原、洗涤等步骤后测量 RNA 浓度,取 1μg RNA 用 Fermentas 公司生产的 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 进行反转录合成 cDNA 的第

一条链,以总体积 20 μ l (10 μ l 2 $\times$ PCR master mix, 8 μ l 去核酸水, 1 μ l cDNA, 1 μ l 引物) 进行 PCR 扩增。引物由上海生工合成, ALP(597bp): 上游引物序列为 5'-GTGGACTATGCTCACAA-CAA-3', 下游引物序列为 5'-GGAGAAAT-ACGTCGCTAGA-3'; OCN(166bp): 上游引物序列为 5'-AGGGCAGCGAGGTAGTGA-3', 下游引物序列为 5'-CCTGAAAGCCGATGTGGT-3'; Col I (156bp): 上游引物序列为 5'-CGAAGACATCC-CACCAATC-3', 下游引物序列为 5'-ATCACGT-CATCGCACAACA-3'; GAPDH(251bp): 上游引物序列为 5'-CGCGGGCTCCAGAACATCAT-3', 下游引物序列为 5'-CCAGCCCCAGCGTCAAAG-GTG-3'。

PCR 扩增条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 5min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30s, ALP 54.9 $^{\circ}$ C、OCN 56.7 $^{\circ}$ C、Col I 54.9 $^{\circ}$ C、GAPDH 59.1 $^{\circ}$ C, 退火 1min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1min, 维持 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min。最后采用 1% 琼脂糖电泳鉴定, Image Master UDS 图像摄像分析仪观察记录图。利用 Quantity one 凝胶分析软件取目的条带与 GAPDH 基因灰度的比值进行条带分析, 得出实验结果。每个标本重复实验 3 次。

1.6 Cx43 蛋白表达检测

取传代良好的第 3 代细胞, 按 3×10^5 个/孔的密度接种在 6 孔板内。采用上样缓冲液 (2 $\times$ loading buffer) 提取细胞蛋白, 在 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺 (SDS-PAGE) 凝胶上样孔内上样 16 μ l, 恒流 18A 进行电泳。电泳完成后将蛋白湿转到硝酸纤维素 (NC) 膜上, 丽春红染色后截取所需条带。用 5% 脱脂牛奶封闭 1h 后加兔抗人 Cx43 抗体 (1:500) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日用封闭蛋白 (TBS-T) 缓冲液清洗 3 次, 每次 10min。用 AP 标记羊抗兔二抗室温下孵育 2h 后再次用 TBS-T 清洗。采用辣根过氧化物酶-二氨基联苯胺 (HRP-DAB) 显色试剂盒显色后扫描条带, Image Master UDS 图像摄像分析仪观察记录图, 利用 Quantity one 凝胶分析软件取目的条带与 GAPDH 基因灰度的比值进行条带分析。

1.7 siRNA 技术抑制 Cx43

将传至第 3 代的骨化组细胞按 3×10^5 个/孔的密度接种在培养板的 2 孔内, 其中一孔为阴性对照组, 另一孔为转染组, 培养箱内过夜待细胞贴壁, 次日进行 siRNA 技术。首先将 10 μ l Lipofec-

tamine 2000 转染试剂加入 500 μ l 无血清培养基中, 混匀并静置 5min, 平分为两等份。同时各将 5 μ l Cx43 siRNA 和 5 μ l 阴性对照 siRNA 分别加入到 250 μ l 无血清培养基中, 分别与先前两等份溶液混合后静置 20min (过程中采用无血清 DMEM 清洗细胞 2 次)。20min 后, 去除培养孔内 DMEM, 加入 500 μ l 含有 lipofectamine-siRNA-无血清培养基的混合液及 300 μ l 无血清 DMEM, 转染 8h 后, 加入 800 μ l 10% FBS-DMEM。继续转染 72h, 采用 Western blotting 技术检测两组细胞内 Cx43 的表达差异。Cx43 siRNA 序列由上海吉玛制药技术有限公司合成: 正义链 5'-GAU-GAU AACCAGAAUUCUATT-3'; 反义链 5'-UAGAAUUCUGGUUAUCAUCGG-3'; 阴性对照组: 正义链 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3', 反义链 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。

1.8 统计学处理方法

实验数据以均数 $\pm$ 标准差表示, 应用 SPSS 11.5 统计软件, 骨化组与非骨化组的比较采用独立样本 t 检验, 骨化组 siRNA 技术前后的比较采用配对样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

骨化组标本培养在平均第 11 天可见组织块周围细胞爬出, 细胞萌出后约 7d 即可爬满 70mm² 的培养皿底。HE 染色显示细胞呈梭形、纺锤形及多角的星形, 细胞核大, 卵圆形, 细胞边界不清, 呈典型的成纤维细胞形态学特点; 免疫细胞化学 (ICC) 及免疫荧光 (IF) 显示胞浆波形蛋白阳性表达, 证实其为成纤维细胞 (图 1)。非骨化组组织块周围细胞萌出平均需 8d, 在平均第 6 天时爬满皿底, 与骨化组相比, 细胞基质较少, 排列更加有序, 但 HE 染色与 ICC/IF 结果无差异。

两组细胞中 ALP、OCN、COL I mRNA 的表达与 Cx43 蛋白的表达见表 1 和图 2, 两组比较均有显著性差异, 骨化组细胞中 ALP、OCN 及 COL I 的 mRNA 表达和 Cx43 蛋白表达均高于非骨化组 ($P < 0.05$)。

抑制组与对照组骨化细胞中 OCN、ALP、COL I 的 mRNA 与 Cx43 的蛋白表达量见表 2 和图 3, 抑制组 Cx43 蛋白下调了 69%, OCN、ALP 及 COL I 的 mRNA 表达均相应下调, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。



图 1 颈椎后纵韧带骨化患者韧带细胞体外培养及鉴定 **a** 骨化组细胞培养后 10d, 组织块周围有细胞爬出 (×40) **b** HE 染色细胞呈梭形、纺锤形和多角的星形, 核大, 卵圆形, 细胞边界不清, 部分细胞处于有丝分裂期 (×400) **c** 免疫细胞化学及免疫荧光检测: 细胞核经 DAPI 染为蓝色, 胞浆波形蛋白经 TRITC 标记后呈红色, 属阳性表达 (×400)

Figure 1 The culture and identification of fibroblasts from posterior longitudinal ligament **a** On the 10th day after tissue fragment cell culture of the OPLL group, many cells could be seen around the tissue fragment (×40) **b** HE staining of the cells showed fusiform and multi-angular star morphologies, large and elliptical cell nuclei and ill-defined cell appearances (×400) **c** ICC/IF demonstrated vimentin (red fluorescence, TRITC labelled) in the cytoplasm (×400)

表 1 骨化组与非骨化组韧带细胞中 OCN、ALP、COL I 与 Cx43 的表达情况

Table 1 Expression of OCN, ALP, COL I and Cx43 in ligament fibroblasts of OPLL group and non-OPLL group

	骨化组 OPLL group	非骨化组 Non-OPLL group	P值 P value
OCN	1.36±0.21	0.78±0.21	0.03
ALP	0.53±0.18	0.29±0.13	0.02
COL I	1.64±0.37	1.01±0.26	0.02
Cx43	1.00±0.30	0.48±0.18	0.01

表 2 抑制组与非抑制组骨化韧带细胞 OCN、ALP、COL I 与 Cx43 的表达情况

Table 2 Expression of OCN, ALP, COL I and Cx43 in ligament fibroblasts of OPLL in transfection group and non-transfection group

	抑制组 Transfection group	非抑制组 Non-transfection group	P值 P value
OCN	1.54±0.33	0.91±0.32	0.03
ALP	1.32±0.36	0.47±0.21	0.01
COL I	1.86±0.44	0.88±0.29	0.02
Cx43	1.52±0.39	0.47±0.24	0.01

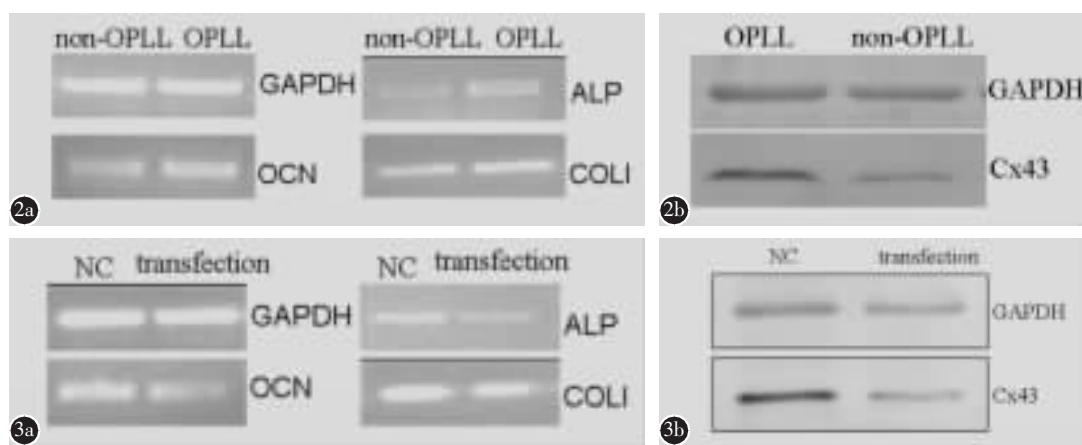


图 2 a 骨化组与非骨化组韧带成纤维细胞 ALP、OCN 及 COL I 的表达情况 **b** 骨化组与非骨化组韧带成纤维细胞 Cx43 的表达情况 **图 3 a** 抑制组与非抑制组骨化韧带成纤维细胞中 OCN、ALP、COL I 表达情况 (NC 为非抑制组) **b** 抑制组与非抑制组骨化韧带成纤维细胞 Cx43 的表达情况 (NC 为非抑制组)

Figure 2 a Expression of ALP, OCN and COL I in ligament fibroblasts of OPLL and non-OPLL groups **b** Expression of Cx43 in ligament fibroblasts of OPLL group and non-OPLL group **Figure 3 a** Expression of ALP, OCN and COL I in ligament fibroblasts of OPLL transfection group and non-transfection group (NC: non-transfection group) **b** Expression of Cx43 in ligament fibroblasts of OPLL transfection group and non-transfection group (NC: non-transfection group)

3 讨论

3.1 颈椎后纵韧带骨化发生的机制

颈椎后纵韧带骨化 (ossification of the posterior longitudinal ligament, OPLL) 以颈椎后纵韧带组织的异位骨形成为特点, 可持续进展而压迫脊髓与神经根, 导致患者出现四肢麻木无力、走路不稳及大小便功能障碍, 严重者可出现不完全瘫痪^[5]。后纵韧带骨化是一种缓慢进展的疾患, 具体发病机制尚不明确, 目前认为是包括基因与环境在内的多因素作用的结果^[6]。

核苷酸焦磷酸酶 (NPPS) 是一种膜糖蛋白, 主要作用是抑制组织的钙化和骨矿物质的沉积。He 等^[7]对 95 例颈椎 OPLL 患者与 90 例非 OPLL 患者进行研究, 通过对比两组 NPPS 基因单核苷酸多态性特征, 发现 NPPS 基因单核苷酸多态性与人类 OPLL 的发生有着密切的关系。张竞等^[8]对 20 例 OPLL 患者及 10 例非 OPLL 患者的颈椎后纵韧带标本进行研究, 采用免疫组化及实时定量 PCR 方法, 从蛋白质及核酸水平研究伴肌动蛋白相关锚定蛋白 (N-RAP) 在颈椎 OPLL 患者中的表达, 证实了颈椎 OPLL 患者韧带组织中存在较高水平的 N-RAP, 其可能参与韧带骨化的发生、发展过程。除此之外, 许多与 OPLL 发生相关的基因被国内外学者证实, 如 COL11A2、COL6A1、BMP-2、HLA-DQA1 与 TGF- β 等^[9-11]。除基因因素外, 环境因素也越来越引起学者们的重视。流行病学研究发现, OPLL 多发生在中老年男性患者, 亚洲地区发病率约为 2.5%, 明显高于欧美国家 0.16% 的发病率^[12]。此外, 代谢性疾病如糖代谢紊乱、钙磷代谢紊乱的患者发生 OPLL 的几率明显高于正常人^[13]。研究还发现, 机械应力刺激在颈椎 OPLL 进展过程中发挥着重要作用。Iwasawa 等^[14]对 OPLL 患者后纵韧带细胞予以频率 0.5Hz、单一轴向的周期性拉伸应力刺激, 检测到骨化后纵韧带细胞内皮素-1 (ET-1) 与 ALP mRNA 表达明显增加, 把 ET-1 加入到未予应力刺激的骨化后纵韧带细胞中, 亦能使其 ALP mRNA 表达增加, 且这种改变与 ET-1 呈剂量依赖性, 而在非骨化组无明显变化。可见, 颈椎后纵韧带骨化的发生发展是多种因素共同作用的结果。

3.2 Cx43 在颈椎 OPLL 患者韧带成纤维细胞中的表达及其意义

Cx 是构成缝隙连接 (gap junction, GJ) 通道的

基本结构和功能蛋白, 每 6 个跨膜的蛋白亚基围绕中央孔排列形成一个连接子, 相邻细胞膜上的连接子对接形成缝隙连接通道, 细胞内的离子和小分子物质可借此出入相邻细胞^[1]。Cx 广泛存在于哺乳动物各器官、组织中 (红细胞、骨骼肌除外), 目前, 在哺乳动物中发现的连接蛋白至少有 20 种, 相对分子质量从 26~56kD 不等, 依分子量的不同分别命名为 Cx26、Cx32、Cx43、Cx56 等^[2]。Cx43 是 Cx 基因家族中数量最为丰富的成员, 广泛存在于结缔组织、心肌细胞、平滑肌细胞、内皮细胞等 34 种组织和 46 种细胞中, 与创伤愈合、心血管病、肿瘤及神经系统等多种疾病的发生密切相关, 是国内外研究的热点^[3]。有研究证实成骨细胞及骨细胞细胞膜上亦存在大量 Cx, 虽然其他 Cx 亚型在成骨细胞亦有表达, 但是却以 Cx43 数量最多、分布最广^[2]。Cx43 在韧带成纤维细胞中是否存在高表达, 国内外研究较少。本实验通过 Western blot 技术检测颈椎 OPLL 患者韧带中成纤维细胞内 Cx43 的蛋白量, 证实了其阳性表达, 同时通过对比研究发现, 其在 OPLL 组的表达明显高于非 OPLL 组。

有研究证实 Cx43 在成骨细胞及骨细胞增殖和分化过程中扮演着重要的信息传递作用^[4,15]。它通过在细胞与细胞之间传递激素信号、机械应力甚至生长因子等, 从而协调骨细胞与成骨细胞的功能活动来促进骨的形成。有研究发现敲除编码 Cx43 的 *gja1* 基因小鼠, 其胚胎发育过程中无论是膜内化骨还是软骨内化骨均出现了明显的迟滞现象^[15]。还有研究证实, Cx43 缺如之成骨细胞的矿化功能丧失, 且其对合成信号的传递作用存在显著的缺陷^[3,4]。近来有研究发现, Cx43 对于出生后骨骼系统稳态的维持亦发挥着重要作用^[4]。Cx43 在骨源性细胞间传递各种复杂的信号, 从而促进或维持局部及全身骨的稳态。本研究证实骨化组成纤维细胞中 Cx43 的蛋白表达明显高于非骨化组; 对骨化组细胞 Cx43 进行特异的 RNA 干扰后, 成骨特异指标 OCN、ALP 及 COL I 的 mRNA 表达亦明显下调, 说明 Cx43 在韧带成纤维细胞成骨化过程中发挥重要作用, 而 Cx43 是如何发挥作用、其具体的信息传递机制仍需进一步研究。

4 参考文献

1. Civitelli R. Cell-cell communication in the osteoblast/osteocyte

- lineage[J]. Arch Biochem Biophys, 2008, 473(2): 188-192.
2. Plotkin LI. Connexin 43 hemichannels and intracellular signaling in bone cells[J]. Front Physiol, 2014, 5: 131.
3. Buo AM, Stains JP. Gap junctional regulation of signal transduction in bone cells [J]. FEBS Lett, 2014, 588 (8): 1315-1321.
4. Stains JP, Watkins MP, Grimston SK, et al. Molecular mechanisms of osteoblast/osteocyte regulation by connexin43 [J]. Calcif Tissue Int, 2014, 94(1): 55-67.
5. Watanabe R, Miyamoto T. Ossification of posterior longitudinal ligament[J]. Clin Calcium, 2014, 24(2): 225-232.
6. He H, Mao L, Xu P et al. Ossification of the posterior longitudinal ligament related genes identification using microarray gene expression profiling and bioinformatics analysis[J]. Gene, 2014, 533(2): 515-519.
7. He Z, Zhu H, Ding L, et al. Association of NPPI polymorphism with postoperative progression of ossification of the posterior longitudinal ligament in Chinese patients[J]. Genet Mol Res, 2013, 12(4): 4648-4655.
8. 张竞, 张颖, 王良哲, 等. 伴肌动蛋白相关锚定蛋白(N-RAP)在颈椎后纵韧带骨化中的表达及意义[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2013, 23(9): 833-836.
9. Stapleton CJ, Pham MH, Attenello FJ, et al. Ossification of the posterior longitudinal ligament: genetics and pathophysiology[J]. Neurosurg Focus, 2011, 30(3): E6.
10. Stetler WR, La Marca F, Park P. The genetics of ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. Neurosurg Focus, 2011, 30(3): E7.
11. 颜廷宾, 于锡欣, 张佐伦, 等. HLA-DQA1 等位基因与颈椎后纵韧带骨化的相关性研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2002, 12(4): 283-285.
12. Chang H, Song KJ, Kim HY, et al. Factors related to the development of myelopathy in patients with cervical ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. J Bone Joint Surg Br, 2012, 94(7): 946-949.
13. 顾宇彤, 贾连顺. 颈椎后纵韧带骨化症发病机制的研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2004, 14(1): 54-57.
14. Iwasawa T, Iwasaki K, Sawada T, et al. Pathophysiological role of endothelin in ectopic ossification of human spinal ligaments induced by mechanical stress[J]. Calcif Tissue Int, 2006, 79(6): 422-430.
15. Lecanda F, Warlow PM, Sheikh S, et al. Connexin43 deficiency causes delayed ossification, craniofacial abnormalities, and osteoblast dysfunction[J]. J Cell Biol, 2000, 151 (4): 931-944.

(收稿日期:2014-05-16 修回日期:2014-07-02)

(英文编审 蒋欣/贾丹彤)

(本文编辑 卢庆霞)

消息

第 14 届东方脑血管病介入治疗大会通知

由第二军医大学长海医院举办的第 14 届东方脑血管病介入治疗大会 (Oriental Conference of Interventional Neuroradiology, OCIN) 将于 2014 年 10 月 30 日~11 月 2 日在上海举行。会议秉承“沟通、合作、规范、创新”的大会宗旨,以“促进学术交流、加强学科合作”为目标,致力于创建国际化学术交流、高端科研展示、多学科高峰对话、实战型技术演示、个性化临床讨论、全方位培训等为一体的神经介入领域精品学术交流平台。本次大会新增设了急性卒中管理模式与再通策略论坛、护理论坛等,就急性卒中内外科联合救治模式的开展、实施和疗效评估以及护理管理、专科介入治疗护理等方面展开激烈讨论。东方脑血管病介入治疗大会(OCIN)将继续坚持以严谨的态度剖析科学问题,以专业的视角关注技术创新,以开放的姿态倾听世界的声音。在此,我们也诚挚的向您发出邀请,您的加入会使大会更加丰富多彩,让我们一起,向世界诠释古老华夏智慧的青春篇章。

大会预注册截止时间:2014 年 9 月 30 日。官方注册网址:www.ocin.com.cn。

联系人:刘红亮, E-mail:chstroke@163.com;ocin2014@163.com。电话/传真:(021)31161784。