

· 基础研究 ·

微RNA-129-5p 靶向 Fas 相关死亡功能域蛋白基因对体外培养人椎间盘髓核细胞凋亡的影响

姜 岩, 张 陆, 高军胜, 张 冲, 刘 杰

郑州人民医院骨科, 郑州 450000

【摘要】目的 研究微RNA-129-5p(miR-129-5p)靶向Fas相关死亡功能域蛋白(FADD)基因对人椎间盘髓核细胞(hNPC)凋亡的影响,并探讨其作用机制。**方法** 运用脂质体法将miR-219-5p抑制子转染至hNPC中抑制miR-219-5p表达,将pcDNA-FADD转染至hNPC中使FADD过表达,将miR-219-5p抑制子和FADD siRNA共转染至hNPC中抑制miR-219-5p和FADD表达。采用流式细胞术检测各组细胞凋亡率,蛋白质印迹法检测抑制miR-219-5p表达后hNPC细胞中FADD、半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)、Bcl-2和Bax蛋白表达量。通过Targetscan软件预测miR-129-5p和FADD靶向结合位点,采用双荧光素酶报告基因实验检测二者的靶向关系。**结果** 抑制miR-219-5p、过表达FADD均可明显促进hNPC凋亡。Targetscan软件预测发现FADD 3'-UTR上存在miR-219-5p的结合位点,双荧光素酶报告基因实验证实miR-129-5p和FADD具有靶向结合关系。抑制miR-219-5p的表达后,hNPC中FADD表达上调,同时促凋亡蛋白Caspase-3表达上调,抑凋亡蛋白Bcl-2表达下调。抑制FADD可逆转miR-219-5p低表达对hNPC凋亡的促进作用。**结论** 低表达miR-219-5p可促进hNPC凋亡,其机制可能与miR-129-5p靶向FADD有关。

【关键词】 微RNAs; 椎间盘退行性变; 细胞凋亡

【中图分类号】 R 342.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-2957(2020)03-0193-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-2957.2020.03.011

Effect of microRNA-129-5p targeting Fas-associated death domain protein gene on apoptosis of human nucleus pulposus cells *in vitro*

JIANG Yan, ZHANG Lu, GAO Jun-sheng, ZHANG Chong, LIU Jie

Department of Orthopaedics, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, Henan, China

【Abstract】Objective To study the effect of microRNA-129-5p(miR-129-5p) targeting Fas-associated death domain protein(FADD) gene on the apoptosis of human nucleus pulposus cell(hNPC) and to explore its mechanism. **Methods** miR-219-5p inhibitor was transfected into hNPCs by liposome method to inhibit the expression of miR-219-5p. pcDNA-FADD was transfected into hNPCs to overexpress FADD. miR-219-5p inhibitor and FADD siRNA were co-transfected into hNPCs to inhibit the expression of miR-219-5p and FADD. The apoptosis rate of hNPCs was detected by flow cytometry. The expression of FADD, Caspase-3, Bcl-2 and Bax in hNPCs were detected by Western blotting after inhibiting the expression of miR-219-5p. The binding sites of miR-129-5p and FADD were predicted by Targetscan software, and the target relationship between them was detected by dual-luciferase reporter gene assay. **Results** Inhibition of miR-219-5p and over-expression of FADD significantly promoted the apoptosis of hNPCs. Targetscan software predicted that there was a binding site of miR-219-5p on FADD 3'-UTR. Dual-luciferase reporter gene assay confirmed that miR-129-5p and FADD had a targeted binding relationship. After inhibiting the expression of miR-219-5p, the expression of FADD and caspase-3 were up-regulated and Bcl-2 down-regulated in hNPCs. Inhibition of FADD can reverse the effect of miR-219-5p on apoptosis of hNPC. **Conclusion** Low expression of miR-219-5p can promote the apoptosis of hNPCs, and its mechanism may be related to the miR-129-5p targeting FADD.

【Key Words】 MicroRNAs; Intervertebral disc degeneration; Apoptosis

J Spinal Surg, 2020, 18(3): 193-197

椎间盘退行性变是导致下腰痛的主要原因之一^[1],超过80%的人在其一生中会经历一次或多次

下腰痛或肩颈痛,严重影响生活质量^[2]。椎间盘由外围的纤维环、中心的髓核和上下终板构成,已有研究证明,椎间盘髓核细胞的异常凋亡是引起髓核细胞数量减少的关键因素,从而引起椎间盘退行性

变^[3]。Fas相关死亡功能域蛋白(FADD)是Fas/FasL系统信号转导通路中介导细胞凋亡的胞浆死亡信号蛋白,它可以调节半胱氨酸蛋白酶(Caspase)蛋白表达,诱导细胞的凋亡^[4]。

微RNA(miRNA)是一类由19~25个核苷酸组成的非编码单链小RNA,通过降解靶基因mRNA或阻止其蛋白翻译对靶基因进行调节,研究发现miRNA参与调节椎间盘退行性变的生理病理过程^[5]。miRNA-129-5p(miR-129-5p)是近年发现的一种肿瘤抑制miRNA^[6-8],陈宇飞^[9]的研究发现,发生退行性变的椎间盘髓核组织中miR-129-5p表达下调,上调其表达对椎间盘有保护作用,且miR-129-5p可以靶向作用I型胶原基因和整合素 $\alpha 1$ 基因而影响细胞生物学功能。但miR-129-5p在髓核细胞中是否影响细胞的凋亡及相关机制尚不清楚。本研究通过体外实验探究miR-129-5p是否通过调控FADD影响人椎间盘髓核细胞(hNPC)凋亡。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

hNPC购自美国ScienCell公司;胎牛血清、DMEM培养液购自美国HyClone公司;胰蛋白酶、噻唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)购自美国Sigma公司;膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)凋亡检测试剂盒购自美国Coulter公司;聚偏二氟乙烯膜、双荧光素酶报告基因检测试剂盒、电化学发光液购自北京索莱宝科技有限公司;Lipofectamine 2000转染试剂、miR阴性对照物(miR-NC)、miR-219-5p模拟子(miR-219-5p mimics)、抑制子阴性对照物(inhibitor NC)、miR-219-5p抑制子(miR-219-5p inhibitor)、FADD小干扰RNA(FADD siRNA)和小干扰RNA阴性对照物(siRNA NC)购自美国Invitrogen公司;pcDNA-FADD过表达载体由南京金瑞斯生物科技公司构建;兔抗人 β -actin多克隆抗体、兔抗人Bcl-2多克隆抗体、兔抗人Bax多克隆抗体、兔抗人Cleaved Caspase-3多克隆抗体、兔抗人FADD多克隆抗体购自美国Proteintech Group公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗购自武汉博海生物工程有限公司;引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;MCO-18AC型CO₂培养箱购自日本SANYO公司;流式细胞仪购自美国BD公司。

1.2 细胞培养

将hNPC培养于含有10%胎牛血清的DMEM培

养基中,置于37℃、5% CO₂培养箱中培养,每隔24 h更换1次培养液,待细胞贴壁约80%时加入胰蛋白酶进行消化传代。

1.3 细胞转染与分组

收集融合度约40%的hNPC,加入胰蛋白酶消化并重悬,以 1×10^5 个/孔的密度接种至24孔板,常规培养24 h。按照Lipofectamine™2000转染试剂使用说明将miR-NC、miR-219-5p mimics、inhibitor NC、miR-219-5p inhibitor、pcDNA、pcDNA-FADD、miR-219-5p inhibitor+siRNA NC、miR-219-5p inhibitor+FADD siRNA分别转染至hNPC,标记为miR-con组、miR组、anti-miR-con组、anti-miR组、pcDNA组、pcDNA-FADD组、anti-miR-siRNA-con组、anti-miR-siRNA组;以未转染的细胞为空白对照,记为Blank组。

1.4 实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测miR-219-5p的表达

将转染48 h的细胞充分研磨,TRIzol法提取总RNA,检测RNA纯度和浓度。使用反转录试剂盒(日本TaKaRa公司)将RNA反转录成cDNA,按照荧光定量试剂盒(日本TaKaRa公司)使用说明配制反应体系,以 β -actin为内参,置于实时荧光定量PCR仪上进行扩增,每个样品重复3次,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析实验结果。miR-219-5p正向引物为5'-GGGTCTTAACGCAAACCT-3',反向引物为5'-CAGTGGCTGTCGTGGAGT-3'; β -actin正向引物为5'-CCTGTGGCATCCACGAAACT-3',反向引物为5'-GAAGCATTTGCGGTGGACGAT-3'。

1.5 流式细胞术检测细胞凋亡

收集转染48 h的细胞,加入预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞,加入胰蛋白酶消化细胞,调整细胞密度为 1×10^6 个/mL,依次加入5 μ L Annexin V-FITC和10 μ L PI,轻轻混匀,室温避光孵育15 min,上流式细胞仪检测细胞凋亡情况。每组设3个复孔,实验重复3次。

1.6 蛋白质印迹法检测凋亡蛋白和FADD的表达

收集转染48 h的细胞,超声粉碎,加入含蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液于冰上裂解5 min,4℃、 $12\,000 \times g$ ($1\,g=9.806\,65\,m/s^2$)离心15 min,收集上清。将蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳后转至聚偏二氟乙烯膜,加入5%脱脂奶粉封闭2 h。加入稀释过的一抗,4℃孵育过夜,TBST漂洗3次,加入HRP标记的二抗室温孵育2 h。TBST漂洗3次,每次10 min,ECL试剂盒发光显影。将胶片用Quantity One凝胶分析软件处理,测定各

组蛋白条带的光密度,以目的条带和 β -actin条带光密度的比值作为蛋白表达水平。每组设3个复孔,实验重复3次。

1.7 荧光素酶报告基因实验

Targetscan在线预测发现FADD 3'-UTR上存在miR-219-5p的结合位点。为进一步验证FADD是否为miR-219-5p的靶基因,按照Lipofectamine 2000使用说明书,将构建好的野生型FADD 3'-UTR-WT(含FADD 3'-UTR片段)和突变型FADD 3'-UTR-MUT(FADD 3'-UTR片段突变体)载体分别与miR-219-5p mimic共转染至293T细胞,培养48 h后检测荧光素酶活性,以相对荧光强度表示(相对荧光强度=萤火虫荧光强度/海肾荧光强度)。

1.8 统计学处理

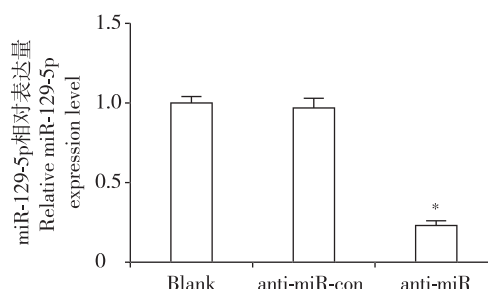
采用SPSS 20.0软件对数据进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抑制miR-129-5p表达对hNPC凋亡的影响

实时荧光定量PCR检测结果显示,anti-miR组

hNPC中miR-129-5p的表达量与anti-miR-con组相比明显降低($P < 0.05$,图1),表明miR-129-5p的表达被成功抑制。流式细胞术检测结果显示,与anti-miR-con组相比,anti-miR组hNPC的凋亡率明显升高($P < 0.05$,图2)。蛋白质印迹分析结果显示,与anti-miR-con组相比,anti-miR组hNPC中促凋亡相关蛋白活化型Caspase-3表达上调($P < 0.05$),抑凋亡相关蛋白Bcl-2表达下调($P < 0.05$),Bax蛋白表达量无明显变化(图3),结果表明抑制miR-129-5p表达能明显促进hNPC凋亡。

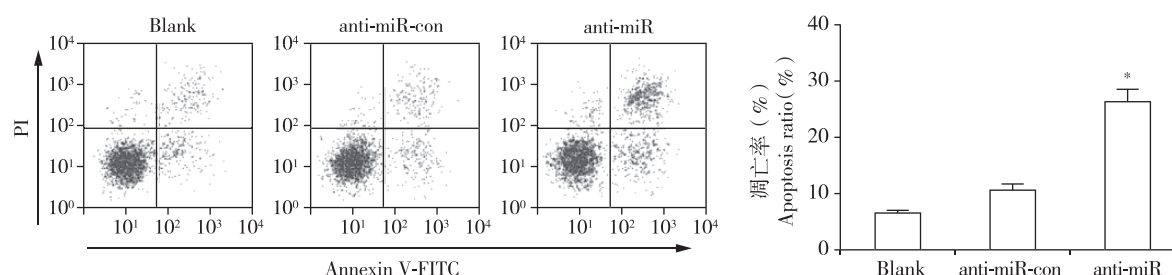


注: *与anti-miR-con组比较, $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$, compared with anti-miR-con group.

图1 实时荧光定量PCR检测hNPC中miR-129-5p的表达

Fig. 1 miR-129-5p expression in hNPCs detected by real-time quantitative PCR

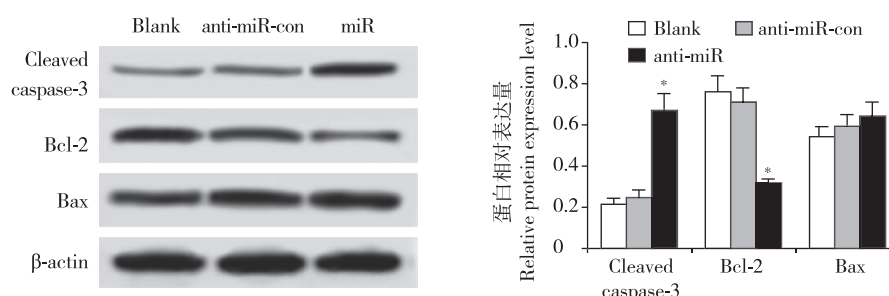


注: *与anti-miR-con组比较, $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$, compared with anti-miR-con group.

图2 流式细胞术检测抑制miR-129-5p表达后hNPC的凋亡率

Fig. 2 Apoptosis rate of hNPCs after inhibiting miR-129-5p detected by flow cytometry



注: *与anti-miR-con组比较, $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$, compared with anti-miR-con group.

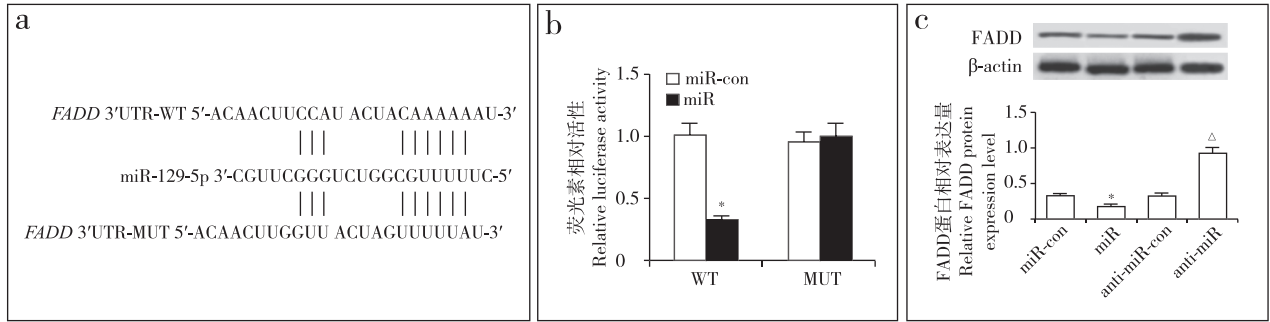
图3 蛋白质印迹分析检测hNPC中凋亡蛋白的表达

Fig. 3 Expression of apoptotic protein in hNPCs detected by Western blotting

2.2 miR-129-5p 靶向 FADD 影响 hNPC 凋亡

通过 Targetscan 在线预测发现, FADD 3'-UTR 上存在 miR-129-5p 的结合位点 (图 4a); 双荧光素酶报告基因实验结果显示, 将 miR-129-5p mimics 与 FADD 3'-UTR 野生型质粒共转染后细胞荧光素酶活性下降

($P < 0.05$), 与 FADD 3'-UTR 突变型质粒共转染后细胞荧光素酶活性无明显变化 ($P > 0.05$, 图 4b); 蛋白质印迹分析结果显示, 与 anti-miR-con 组相比, miR 组 hNPC 的 FADD 表达下调 ($P < 0.05$), anti-miR 组 hNPC 的 FADD 表达上调 ($P < 0.05$, 图 4c)。



注: * 与 miR-con 组比较, $P < 0.05$; Δ 与 anti-miR-con 组比较, $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$, compared with miR-con group; Δ $P < 0.05$, compared with anti-miR-con group.

图 4 miR-129-5p 靶向 FADD 的预测和验证结果

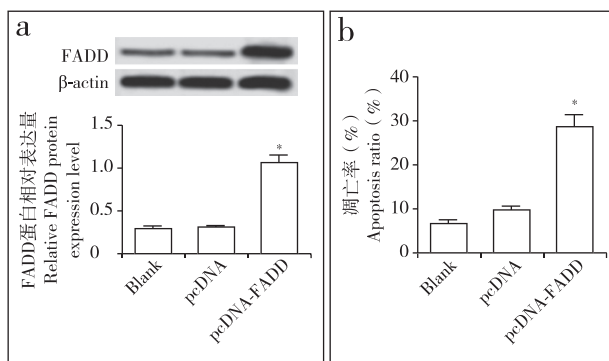
Fig. 4 Predicting and validation results of miR-129-5p targeting FADD

a: FADD 3'-UTR 与 miR-129-5p 的结合位点 b: 双荧光素酶报告实验 c: 蛋白质印迹分析

a: Binding site of FADD 3'-UTR and miR-129-5p b: Dual-luciferase reporter gene assay c: Western blotting

转染 pcDNA-FADD 至 hNPC 后, pcDNA-FADD 组 hNPC 的 FADD 表达量与 pcDNA 组相比明显增加 ($P < 0.05$, 图 5a), 细胞凋亡率明显升高 ($P < 0.05$, 图 5b), 表明过表达 FADD 可诱导 hNPC 凋亡。抑制 miR-129-5p 表达后, anti-miR 组 hNPC 的 FADD 表达量与 anti-miR-con 组相比明显增加 ($P < 0.05$, 图 6a), 细胞凋亡率明显升高 ($P < 0.05$, 图 6b); 同时抑制 miR-129-5p 和 FADD 表达后, anti-miR-siRNA

组的 FADD 表达量与 anti-miR-siRNA-con 组相比明显降低 ($P < 0.05$, 图 6a), 细胞凋亡率也明显降低 ($P < 0.05$, 图 6b), 表明 miR-129-5p 抑制后 FADD 表达上调促进 hNPC 凋亡。



注: * 与 pcDNA 组比较, $P < 0.05$ 。

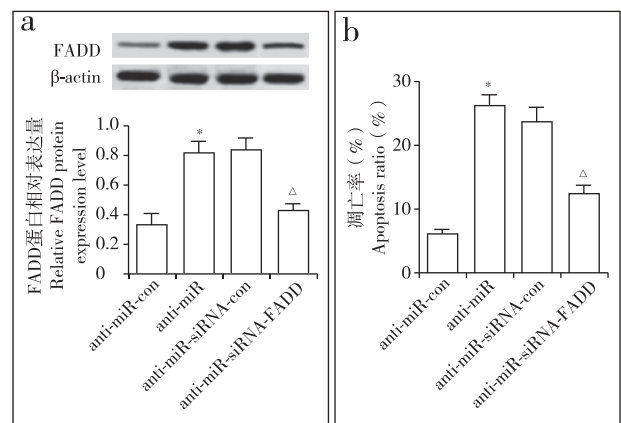
Note: * $P < 0.05$, compared with pcDNA group.

图 5 过表达 FADD 诱导 hNPC 凋亡

Fig. 5 hNPC apoptosis induced by over-expression of FADD

a: 蛋白质印迹法检测 FADD 表达 b: 流式细胞术检测 hNPC 凋亡

a: Detection of FADD expression by Western blotting b: Detection of hNPC apoptosis by flow cytometry



注: * 与 anti-miR-con 组比较, $P < 0.05$; Δ 与 anti-miR-siRNA-con 组比较, $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$, compared with pcDNA group; Δ $P < 0.05$, compared with anti-miR-siRNA-con group.

图 6 抑制 miR-129-5p 和 FADD 对 hNPC 凋亡的影响

Fig. 6 Effect of inhibiting miR-129-5p and FADD on hNPC apoptosis

a: 蛋白质印迹法检测 FADD 表达 b: 流式细胞术检测 hNPC 凋亡

a: Detection of FADD expression by Western blotting b: Detection of hNPC apoptosis by flow cytometry

3 讨 论

椎间盘退行性疾病引起的慢性腰腿痛、颈肩痛严重影响人们的正常生活^[10], 目前临床上有多种针对椎间盘退行性疾病的治疗手段, 包括药物治疗、物理治疗和手术治疗^[11]。椎间盘退行性变是自然老化、退化的生理病理过程, 受多种因素影响, 是一系列脊柱退行性疾病的前提和病理基础^[12-13]。椎间盘组织再生能力有限, 发生退行性变后较难逆转^[14], 患者症状存在反复发作的风险。因此, 探索椎间盘退行性变的分子机制对发掘新型治疗手段具有重要意义。

细胞凋亡所造成的椎间盘细胞数量减少、细胞外基质合成减少和成分改变是导致椎间盘退行性变的关键环节^[15]。在发生退行性变的椎间盘中可以观察到髓核细胞的凋亡速率明显加快^[16]。细胞凋亡的过程中有多种蛋白参与, 如Caspase系列蛋白、Bcl-2蛋白和p53蛋白等^[17-18]。研究发现, 长链非编码RNA GAS5过表达后Caspase-3表达上调, 凋亡抑制蛋白Bcl-2表达下调, 髓核细胞的凋亡率升高^[19]。FADD基因在组织中表达异常与肿瘤的发生、发展关系密切, 在人胶质母细胞瘤细胞中, FADD过表达可抑制细胞增殖并促进细胞凋亡^[20]。FADD在发生退行性变的hNPC中高表达, miR-155通过调控FADD和Caspase-3抑制hNPC凋亡^[21]。本研究发现, 转染pcDNA-FADD至hNPC后, FADD表达量明显增加, hNPC的凋亡率也明显增加, 表明FADD过表达可促进hNPC凋亡。

多种miRNA可通过作用于细胞凋亡影响椎间盘退行性变的发生和发展。Liu等^[22]的研究发现, 体外转染miR-125a后, 髓核细胞凋亡减少, 同时Caspase-3、Bax的蛋白表达量下降, Bcl-2表达上调。Zhang等^[23]的研究发现, 在发生退行性变的椎间盘组织中miR-210表达降低, 导致HOXA9蛋白表达上调, 并通过Fas通路介导髓核细胞凋亡。Zhao等^[24]的研究发现, miR-129-5p的甲基化通过靶向Beclin-1在椎间盘退行性变中阻断髓核细胞自噬。陈宇飞^[9]的研究发现, miR-129-5p在发生退行性变的椎间盘髓核组织中低表达, 过表达miR-129-5p可以抑制人椎间盘髓核细胞发生退行性变, 对椎间盘起保护作用。本研究发现, 在hNPC中下调miR-219-5p的表达, hNPC的凋亡率明显升高, 促凋亡蛋白Caspase-3的表达量明显升高, 抑凋亡蛋白Bcl-2的表达量明显下降。通过Targetscan软件预测发现

miR-219-5p与FADD有结合位点, 荧光素酶报告基因实验证实miR-219-5p与FADD之间存在靶向关系。在hNPC中, 上调miR-219-5p可抑制FADD的表达, 下调miR-219-5p可促进FADD的表达。将miR-219-5p inhibitor和FADD siRNA共转染至hNPC后发现与hNPC凋亡率降低, 表明抑制FADD可逆转miR-219-5p低表达对hNPC凋亡的促进作用, 进一步说明miR-219-5p低表达通过上调FADD促进细胞凋亡。

综上所述, 抑制miR-219-5p的表达可促进hNPC中FADD表达, hNPC凋亡率也随之升高, 表明miR-219-5p可靶向作用FADD调控hNPC的凋亡, 这为椎间盘退行性变的分子治疗提供了新靶点。

参 考 文 献

- [1] 俞佳斌, 王宸, 马雪倩, 等. 椎间盘退行性变机制的研究进展[J]. 脊柱外科杂志, 2017, 15(6): 374-379.
- [2] 徐辰. 间充质干细胞来源外泌体促进椎间盘退变修复的作用及机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2017.
- [3] Liu CL, Wang XJ, Hu YH, *et al.* L-NMMA delays apoptosis in the nucleus pulposus cells of intervertebral discs[J]. Biomed Res, 2017, 28(21): 9627-9632.
- [4] 张雅静. Fas/FasL信号转导通路在镉致神经细胞凋亡中的作用及NAC的保护效应[D]. 扬州: 扬州大学, 2016.
- [5] 李新华, 崔健, 孙贵新, 等. 微小RNA在椎间盘退变中的研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2015, 29(10): 1307-1311.
- [6] You BR, Park WH. Suberoylanilide hydroxamic acid induces thioredoxin1-mediated apoptosis in lung cancer cells via up-regulation of miR-129-5p[J]. Mol Carcinog, 2017, 56(12): 2566-2577.
- [7] Zhang H, Cai Y, Zheng L, *et al.* Long noncoding RNA NEAT1 regulate papillary thyroid cancer progression by modulating miR-129-5p/CLK7 expression[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(10): 6638-6648.
- [8] 路璐, 王云凤, 吕以东, 等. miR-129-5p通过HMGB1调控乳腺癌MCF-7细胞对紫杉醇的敏感性[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(1): 62-67.
- [9] 陈宇飞. miR-129-5p在椎间盘退变中的作用及其表观遗传调控研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2014.
- [10] 姜倍, 胡舟扬, 李新华, 等. 代谢性疾病与椎间盘退变关系的研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2018, 28(6): 567-571.
- [11] 胡安南, 管晓菲, 贺石生. 椎间盘退变基因治疗的研究进展[J]. 颈腰痛杂志, 2016, 37(4): 329-332.

(下转第202页)

- Biomechanical analysis of occipitocervical stability afforded by three fixation techniques[J]. *Spine J*, 2011, 11(3): 245-250.
- [32] 程杭清, 马维虎, 王扬, 等. 后路枕骨髁螺钉内固定系统的生物力学研究[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2018, 28(1): 73-78.
- [33] 马维虎, 王扬, 娄楨祺, 等. 枕骨髁螺钉治疗上颈椎不稳的有限元分析[J]. *中华创伤杂志*, 2018, 34(4): 305.
- [34] Uribe JS, Ramos E, Baaj A, *et al.* Occipital cervical stabilization using occipital condyles for cranial fixation: technical case report[J]. *Neurosurgery*, 2009, 65(6): E1216-E1217.
- [35] Kosnik-Infinger L, Glazier SS, Frankel BM. Occipital condyle to cervical spine fixation in the pediatric population[J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2014, 13(1): 45-53.
- [36] Bekelis K, Duhaime AC, Missios S, *et al.* Placement of occipital condyle screws for occipitocervical fixation in a pediatric patient with occipitocervical instability after decompression for Chiari malformation[J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2010, 6(2): 171-176.
- [37] Le TV, Burkett C, Ramos E, *et al.* Occipital condyle screw placement and occipitocervical instrumentation using three-dimensional image-guided navigation[J]. *J Clin Neurosci*, 2012, 19(5): 757-760.
- [38] Ahmadian A, Dakwar E, Vale FL, *et al.* Occipitocervical fusion *via* occipital condylar fixation: a clinical case series[J]. *J Spinal Disord Tech*, 2014, 27(4): 232-236.
- [39] 马维虎, 王扬, 李国庆, 等. 枕骨髁螺钉固定技术应用一例报告[J]. *中华骨科杂志*, 2017, 37(8): 508.
- [40] Grob D. Posterior occipitocervical fusion in rheumatoid arthritis and other instabilities[J]. *J Orthop Sci*, 2000, 5(1): 82-87.
- [41] 童杰, 朱青安. 上颈椎内固定后路锚定方式的研究进展[J]. *脊柱外科杂志*, 2016, 14(3): 175-180.
- [42] Chen HY, Xiao XY, Chen CW, *et al.* Results of using robotic-assisted navigational system in pedicle screw placement[J]. *PLoS One*, 2019, 14(8): e0220851.
- [43] 温世锋, 刘恩志, 郭东明, 等. CT三维重建立体导航引导技术在胸椎弓根钉置入手术中的应用[J]. *脊柱外科杂志*, 2008, 6(6): 339-342.

(收稿日期: 2019-03-25)

(本文编辑: 张建芬)

(上接第197页)

- [12] 胡舟扬, 李新华, 崔健, 等. 椎体终板退变机制的研究进展[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2016, 26(2): 182-187.
- [13] Munir S, Rade M, Määttä JH, *et al.* Intervertebral disc biology: genetic basis of disc degeneration[J]. *Curr Mol Biol Rep*, 2018, 4(4): 143-150.
- [14] 刘海飞, 王德春, 胡有谷. 椎间盘退行性变的生物学治疗研究进展[J]. *中华外科杂志*, 2006, 44(4): 284-287.
- [15] 童通, 雷涛, 申勇. 椎间盘退行性变中细胞凋亡的分子机制[J]. *中国矫形外科杂志*, 2017, 25(19): 1788-1792.
- [16] Zhao CQ, Wang LM, Jiang LS, *et al.* The cell biology of intervertebral disc aging and degeneration[J]. *Ageing Res Rev*, 2007, 6(3): 247-261.
- [17] 焦佩娟, 应小平. Caspase-3与肿瘤细胞凋亡关系的中医药研究进展[J]. *山东中医杂志*, 2017, 36(8): 721-724.
- [18] Xie X, Clausen OP, De Angelis P, *et al.* The prognostic value of spontaneous apoptosis, Bax, Bcl-2, and p53 in oral squamous cell carcinoma of the tongue[J]. *Cancer*, 2015, 86(6): 913-920.
- [19] 王毅峰. LncRNA在椎间盘退变过程中调控髓核细胞凋亡的功能及其机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2016.
- [20] Wang HB, Li T, Ma DZ, *et al.* Overexpression of FADD and Caspase-8 inhibits proliferation and promotes apoptosis of human glioblastoma cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 1-7.
- [21] Wang HQ, Yu XD, Liu ZH, *et al.* Deregulated miR-155 promotes Fas-mediated apoptosis in human intervertebral disc degeneration by targeting FADD and caspase-3[J]. *J Pathol*, 2011, 225(2): 232-242.
- [22] Liu P, Chang F, Zhang T, *et al.* Downregulation of microRNA-125a is involved in intervertebral disc degeneration by targeting pro-apoptotic Bcl-2 antagonist killer 1[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2017, 20(11): 1260-1267.
- [23] Zhang DY, Wang ZJ, Yu YB, *et al.* Role of microRNA-210 in human intervertebral disc degeneration[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(6): 2349-2354.
- [24] Zhao K, Zhang Y, Kang L, *et al.* Methylation of microRNA-129-5P modulates nucleus pulposus cell autophagy by targeting Beclin-1 in intervertebral disc degeneration[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 86264-86276.

(收稿日期: 2020-02-10)

(本文编辑: 于倩)