doi:10.11659/jjssx.11E018090

·基础研究·

缺血再灌注条件下 BMP2/4 参与肠黏膜屏障损伤的研究

陈 康[1],陈应果[1],王洪波[1],张朝军[2],罗彬予[3],李 科[1] (1.重庆市中医院普外科,重庆 400000;2.海军总医院普外科,北京 100048;3.川北医学院附属南充市中心医院胃肠外科,四川 南充 637000)

[摘 要]**目的** 探讨缺血再灌注条件下 BMP2/4 参与肠黏膜屏障损伤的机制。**方法** 制作肠上皮细胞缺氧模型、大鼠肠缺血再灌注损伤模型。取空肠切片,Western blot、免疫荧光检测肠上皮细胞内 BMP 的变化;Western blot、免疫荧光、RT-PCR 检测外源性 BMP 蛋白对肠上皮细胞内 NF-κB 信号及 TNF-a、IL-6 的表达变化的影响;Western blot 检测外源性 BMP 蛋白对紧密连接蛋白 occludin表达变化的影响。**结果** 缺氧及缺血再灌注条件下肠上皮细胞内的 BMP2/4 表达明显增加,BMP2/4 通过激活肠上皮细胞内的 NF-κB 信号导致炎症介质 TNF-a、IL-6 表达增加,增加肠黏膜屏障的通透性及减少紧密连接蛋白 occludin 的表达,损害肠黏膜物理屏障的完整性,从而造成肠黏膜屏障的损伤。**结论** 缺血再灌注条件下,BMP 信号通过激活 NF-κB 参与肠黏膜屏障损伤。

[关键词]缺血再灌注损伤;肠黏膜屏障;骨形态发生蛋白;核转录因子 κB;SD 大鼠;肠缺血;肠上皮细胞缺氧

[中图分类号]R656.7 [文献标识码]A [收稿日期]2018-11-21

Intestinal mucosal barrier injured by BMP2/4 after ischemic reperfusion

CHEN Kang[1], CHEN Ying-guo[1], WANG Hong-bo[1], ZHANG Chao-jun[2], LUO Bin-yu[3], LI Ke[1] (1. Department of General Surgery, the Traditional Chinese Medicine Hospital of Chongqing, Chongqing 400000, China; 2. Department of General Surgery, Naval General Hospital, Beijing 100037, China; 3. Department of Gastroenterological Surgery, Nanchong Central Hospital, North Sichuan Medical university, Nanchong Sichuan 637000, China)

Abstract: Objective To clarify the mechanism of BMP2/4 involvement in intestinal mucosal barrier injury under ischemia reperfusion. **Methods** The cell injury model was established by hypoxia and animal model of rat with intestine ischemia-reperfusion injury, then the western-blot and immunofluorescence were used to detect the change of BMP signal pathway. Western-blot and immunofluorescence were used to detect the effect of BMP2 and BMP4 on the activation of NF-κB signaling pathway. RT-PCR was used to detect the expression of TNF-a mRNA and IL-6 mRNA in IEC-6 cells. Western-blot was used to detect the effect of IEC-6s with exogenous BMP2 or BMP on change of occludin. **Results** The expression levels of BMP2 and BMP4 were upregulated in intestinal epithelial cells after hypoxia and ischemia-reperfusion injury. The NF-κB signaling pathway in intestinal epithelial cells was activated by BMP2 and BMP4, which resulted in the release of TNF-a and IL-6, and increased permeability of intestinal mucous membrane barrier. Meanwhile, BMP2 and BMP4 could decrese the expression of occludin through the activation of NF-κB signaling pathway, damaged the integrity of intestinal mucous membrane barrier. **Conclusion** Intestinal mucosal barrier is injured by BMP2/4 via activation of NF-κB signals after ischemic reperfusion.

Keywords: ischemic reperfusion; intestinal mucous membrane barrier; bone morphogenic protein; nuclear factor-kappa B; SD rat; intestinal ischemia; hypoxia in intestinal epithelial cells

肠道缺血再灌注损伤是一种常见的病理生理过程,许多疾病的病程中都会不同程度地伴随缺血再灌注损伤。肠道缺血再灌注损伤的发生机制目前不甚清楚。相关学者先后提出氧自由基损伤、白细胞黏附与血管内皮细胞损伤、炎症介质与细胞因子和细胞凋亡等一系列学说,这些学说与缺血再灌注时 NF-κB 信号的激活导致各种损害因子的出现有着重要的联系[1-2]。肠黏膜屏障功能的损害包括缺血再灌注时各种炎症介质的释放所导致的肠黏膜上皮通透性增加,以及缺血再灌注时肠上皮细胞间的紧密连接蛋白等物理屏障损害导致的细胞间隙增加,骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein,BMP)蛋白广泛表达于多种组织,并且在组织出现损伤时 BMP 的表达也出现相应的变化[3-7]。本文主要围绕缺血再灌注损伤时肠上皮细胞内 BMP 的表达变化,以及 BMP 蛋白与 NF-κB 信号的激活及紧密连接蛋白破坏之间的关系这一问题而展开研究,以探究 BMP 蛋白在缺血再灌注条件下参与损伤肠黏膜屏障的机制,为肠道缺血再灌注损伤的发生机制提供新的研究方向。

[基金项目]国家自然科学基金(NSFC81370479)

[通信作者]李 科,E-mail:570235173@qq.com

1 材料与方法

1.1 材料

雄性 SD 大鼠,6~8 周龄,体质量 200~250 g,肠上皮细胞 IEC-6 购自美国 ATCC 中心,DMEM 培养基(美国 HyClone 公司),进口胎牛血清(美国 GIBCO 公司),Supersignal 发光液(美国 Thermo 公司),RIPA 裂解液(中国博士德公司),DAPI、BCA 蛋白定量试剂盒(中国碧云天公司),SDS-PAGE 凝胶试剂盒(中国波尔公司),兔抗鼠 BMP2、4 抗体(美国 Santacruz 公司),Noggin 蛋白,BMP2、4 蛋白(美国 Peprotech 公司),RNA 提取试剂盒、RNA 逆转录试剂盒(中国 Takara 公司)。

1.2 肠上皮细胞 IEC-6 缺氧培养实验

细胞状态生长良好时接种至 6 孔板内,计数至每孔 2×10^5 个细胞。IEC-6 细胞长满 6 孔板底板 80% 时,即可进行缺氧药处理。实验分为正常氧浓度组和缺氧培养 6 h 组,每组样本 3 个。将缺氧组细胞放入 37 ℃的培养箱中,调整 O_2 浓度为 1%,CO_2 浓度为 5%,N_2 浓度为 94%。6 h 后取出培养板,提取细胞总蛋白,免疫印迹实验检测 BMP 蛋白表达变化水平。

1.3 大鼠肠黏膜缺血再灌注损伤模型制作

雄性 SD 大鼠随机分为 2 组,每组 4 只,分别为 Sham 组和缺血再灌注损伤组。1% 的戊巴比妥钠溶于生理盐水内,腹腔注射用于麻醉大鼠,麻醉成功后常规备皮消毒腹部,取腹部正中切口,沿腹白线剪开腹膜,由回盲部向空肠方向依次游离肠管,游离出肠系膜血管网后,用无损伤动脉夹夹闭肠系膜上动脉区域的血液供应,缺血 20 min 后,打开动脉夹恢复血流灌注,间断缝合腹膜及腹壁肌肉层,在预定的时间处死大鼠,沿系膜缘剪掉系膜,剪下上段空肠置于生理盐水内,肠管纵轴剪开肠管,清洗肠腔内的粪便及残渣后,放于 4% 多聚甲醛溶液内用于冰冻切片。

1.4 Western blot 检测 BMP2、BMP4、NF-κB、occludin 蛋白表达

提取细胞总蛋白,聚丙烯酰胺凝胶变性电泳,蛋白湿性转移至 PVDF 膜;5% 牛血清白蛋白封闭 2 h,分别加 1∶500 稀释的兔抗鼠 BMP2、BMP4、occludin,1∶1 000 稀释的兔抗鼠 NF-κB、AKT,于 4 ℃孵育过夜;0.1% TBST 洗膜 3 次,每次 15 min,加入 1∶5 000 稀释的辣根过氧化酶标记的山羊抗兔 IgG,室温孵育 1 h;洗膜 3 次后,Supersignal 化学发光试剂显影。GAPDH 作为内参对照,以相应蛋白条带灰度值比对内参条带灰度值作为表示各目的蛋白的相对含量。

1.5 细胞免疫荧光实验

细胞接种至激光共聚焦培养皿内,细胞长至底部面积约 80% 时,弃去培养皿内残留的培养剂,PBS 清洗 3 次,4% 多聚甲醛固定,0.2% Triton X-100(PBS 溶液配制)室温条件下通透 20 min 后清洗,向培养皿内加入 5% BSA 溶液,室温封闭 30 min 后清洗 3 次;将 1∶50稀释的兔抗鼠 NF-κB 加入至培养皿内,4 ℃冰箱孵育过夜;PBST 清洗激光共聚焦培养皿 3 次,每次 5 min,加入 1∶100 稀释的 FITC 标记的荧光二抗,室温孵育 1 h,全程注意避免在光线直射下操作,二抗孵育完毕后 PBST 清洗激光共聚焦培养皿 3 次,每次5 min;加入碧云天公司生产的 DAPI 溶液避光孵育5 min,对细胞进行染核,蒸馏水清洗激光共聚焦培养皿3 次,每次 5 min,洗去多余的 DAPI 溶液;吸水纸吸干残留的蒸馏水后,即可在 Leica 荧光显微镜下观察采集图像。

1.6 组织冰冻切片免疫荧光实验

大鼠空肠组织固定于 4% 的多聚甲醛后,制作冰冻切片,用 PBS 洗涤载玻片后,PBS 稀释的 10% 的小牛血清溶液(含有 0.05% TitonX-100)在室温下封闭切片 1 h。弃去封闭液,加入 1∶100 稀释的兔抗鼠 NF-κB 抗体,覆盖在组织上放置于 4 ℃冰箱内反应过夜,反应过夜后取出切片,弃去一抗稀释液,PBS 清洗 3 次,每次 5 min;加 1∶100 稀释 FITC 标记的荧光二抗,室温孵育 1 h,全程注意避免在光线直射下操作,二抗孵育完毕后 PBS 清洗玻片 3 次,每次 5 min,加入碧云天公司生产的 DAPI 溶液避光孵育 5 min,对组织切片进行染核,PBS 清洗玻片 3 次,每次 5 min,切片干燥后,每张切片内加 2 滴 ProLongGold 抗褪色试剂,加入 50% 的 PBS 稀释的甘油进行封片,在 Leica 荧光显微镜下观察采集图像。

1.7 实时荧光定量 PCR

Trizol 试剂裂解细胞,离心后提取总 RNA,按 Taka 逆转录试剂盒说明书要求将 RNA 反转录为 cDNA。以 cDNA 为模板,采用 ABI Viia7 荧光定量 PCR 仪进行荧光定量 PCR 实验。反应条件:95 ℃预变性10 min,94 ℃ 10 s,60 ℃ 15 s,72 ℃ 20 s,上述三个步骤重复 30 个循环,72 ℃延伸 10 min。以 β-actin 作为内参基因(表 1)。每个检测进行 3 个样品重复和 3 个生物学重复。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 15.0 统计学软件对实验数据进行分析,计量数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2 组之间的比较采用独立样本 t 检验,多组之间比较则采用单因素方差分析。

表 1 基因引物序列

基因名称	引物序列(5′~3′)
TNF-a forward primer	GCGTGTTCATCCGTTCTCTA
reverse primer	CGTCTCGTGTGTTTCTGAGC
IL-6 forward primer	AGTTGCCTTCTTGGGACTGA
reverse primer	ACTGGTCTGTTGTGGGTGGT
β-actin forward primer	CCCATCTATGAGGGTTACGC
reverse primer	TTTAATGTCACGCACGATTT

2 结果

2.1 缺氧及缺血再灌注条件下肠上皮细胞内的 BMP2、BMP4 的表达

肠上皮细胞缺氧处理 6 h 后,用免疫印迹实验检测 BMP2、BMP4 蛋白的表达,与正常组对比,缺氧组表达明显增加(图 1a);大鼠接受缺血再灌注损伤后取肠组织作冰冻切片,免疫荧光检测肠上皮细胞内 BMP2、BMP4 蛋白的表达,与未接受缺血再灌注大鼠比较,缺血再灌注损伤组(I/R 组)BMP2、BMP4 表达也明显增加,且 I/R 后 BMP2 荧光信号强度在中-远端绒毛内明显增加,BMP4 荧光信号在绒毛及基底组织中均增加(图 1b)。

2.2 外源性 BMP2、BMP4 激活肠上皮细胞内的 NF-κB 信号

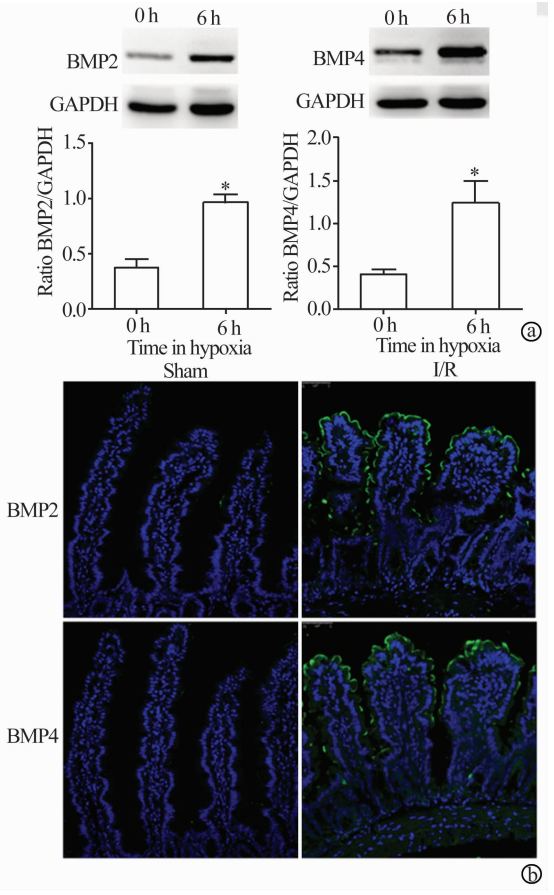
外源性 BMP2、BMP4 培养 IEC-6 细胞,对照组加入 BMP 信号通路的特异性拮抗剂 noggin 蛋白拮抗。Western blot 检测 IEC-6 细胞内 NF-κB 磷酸化水平。结果显示,与空白组比较,外源性 BMP2、BMP4 可明显激活 NF-κB 发生磷酸化,noggin 蛋白可部分抑制 BMP 蛋白的作用(图 2)。免疫荧光检测结果显示,NF-κB 在外源性 BMP2、BMP4 作用下发生磷酸化并向核内转移,noggin 蛋白可逆转 NF-κB 向核内定位(图 3)。

2.3 外源性 BMP2、BMP4 诱导肠上皮细胞内炎症基因 TNF-a 和 IL-6 的表达

外源性 BMP2、BMP4 培养 IEC-6 细胞,对照组加入 BMP 信号通路的特异性拮抗剂 noggin 蛋白拮抗。RT-PCR 检测了经典的炎症因子 TNF-a 和 IL-6 的基因表达水平。结果显示,与空白组比较,加入外源性的 BMP2、BMP4 可以诱导炎症因子 TNF-a 和 IL-6 表达增加,noggin 蛋白可抑制 BMP2、BMP4 对炎症因子的诱导作用(图 4)。

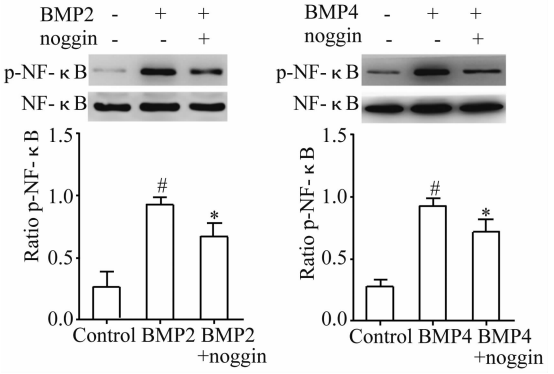
2.4 BMP2、BMP4 通过激活 NF-κB 信号通路减少紧密连接蛋白 occludin 的表达

外源性 BMP2、BMP4 培养 IEC-6 细胞 24 h,对照组加入 BMP 信号通路的拮抗剂 noggin 及 NF-κB 信号通路的阻断剂 PDTC。Western blot 检测各组细胞之间蛋白水平的变化,结果显示,外源性 BMP2、BMP4 刺激 IEC-6 细胞 24 h 后紧密连接蛋白 occludin 表达减少,而 noggin 及 PDTC 可以逆转 occludin 的减少(图 5)。



a:Western blot 及定量分析图;b:免疫荧光图(×200)
*:与 0 h比较,$P<0.05$

图 1 缺氧及缺血再灌注条件下肠上皮细胞内的 BMP2、BMP4 表达情况



*:与 BMP2 或 BMP4 组比较,$P<0.05$;#:与正常组细胞比较,$P<0.01$

图 2 Western blot 及定量分析图

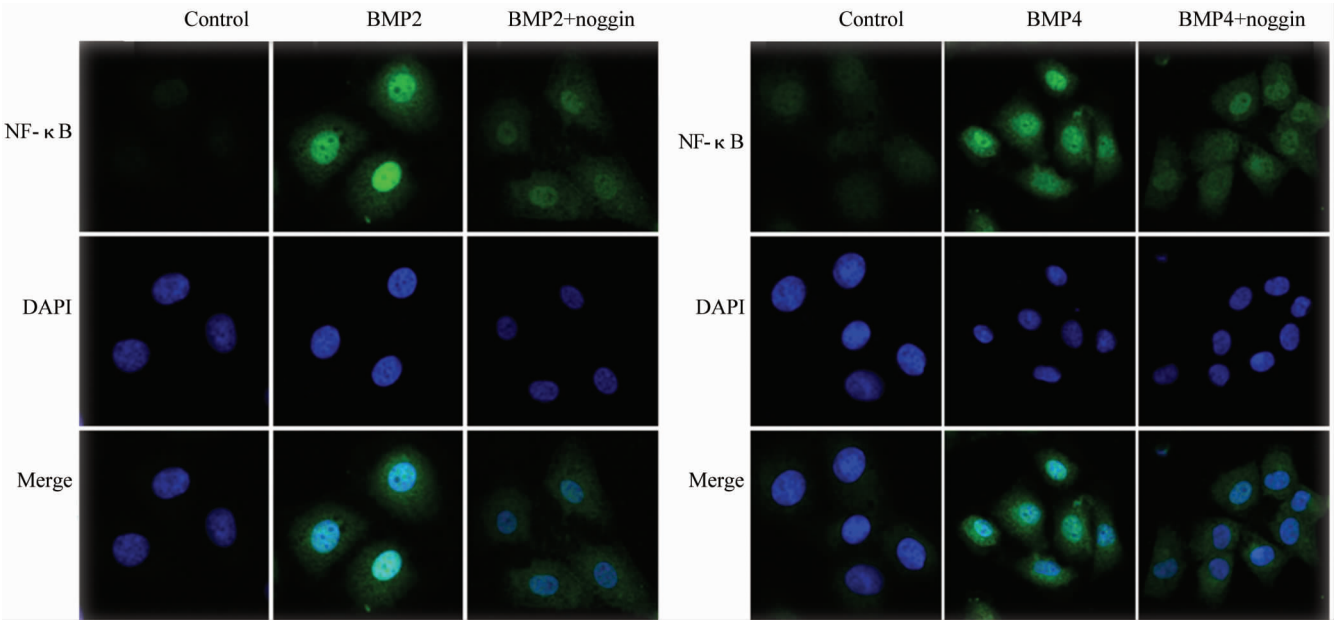
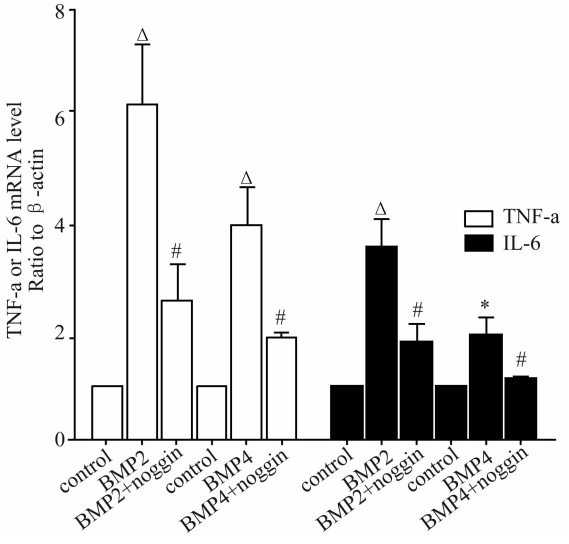


图 3 免疫荧光图(×400)



*:与正常组比较,$P<0.05$;#:与 BMP2、BMP4 组比较,$P<0.05$;Δ:与正常组比较 ,$P<0.01$

图 4 外源性 BMP2、BMP4 诱导肠上皮细胞内炎症基因 TNF-a和 IL-6 的表达

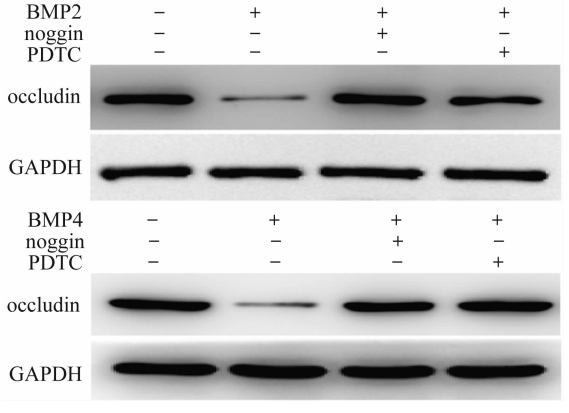


图 5 Western blot 检测蛋白水平变化

3 讨论

骨形态蛋白 BMP 属于 TGF-β 超级家族中的一员,BMP 首先在骨组织中发现的,但后续的研究发现其作用不仅仅局限于骨组织,其可以通过调节一群广泛多样的基因活性,影响着如中胚层形成、神经系统发生、肢体形成、关节和骨骼发育以及肺、胃肠发育等基本的发育过程[8]。以往的研究都聚焦于 BMP 蛋白在维持肠隐窝干细胞的自我更新及增殖、分化上,如其主要通过抑制 Wnt、Notch、EGF 信号的作用,维持肠上皮干细胞的自我更新、增殖分化处于一个动态平衡,防止干细胞过度激活[9-10]。目前越来越多的证据指出,BMP2、BMP4 蛋白的作用不仅包括维持细胞的增殖分化,还可以作为致炎因子参与炎症反应,如 BMP2 可以诱导内皮细胞、成纤维细胞、前体成骨细胞及软组织、神经组织的炎症反应[11-13]。Jo 等[14]发现 BMP4 通过激活 NF-κB 信号上调细胞间黏附分子 1(intercellular cell adhesion molecule-1,ICAM-1)在介导炎症细胞浸润血管内皮组织中扮演重要角色。人胚胎肾 HEK293 细胞中 NF-κB 信号的激活也依赖于 BMP 信号通路,但 BMP 蛋白与缺血再灌注时肠道炎症之间的关系却少有研究。正常情况下,肠道组织中的 BMP 蛋白表达较低,但在病理状态下胃肠道组织的中的 BMP 蛋白表达增加,如结肠组织发生癌变时 BMP 蛋白表达增加[15]。有研究报道,长期接受肠外营养的小鼠肠组织内的 BMP 蛋白表达增加,肠上皮细胞增殖减慢,肠黏膜出现萎缩,但在缺血再灌注时的 BMP 表达变化不甚清楚[16]。基于此原因,我们希望通过本研究更加深入

了解 BMP 蛋白与缺血再灌注时肠道炎症之间的关系。我们先检测了肠上皮细胞在缺氧及缺血再灌注的病理条件下的表达变化,免疫印迹及免疫荧光实验结果显示缺氧及缺血再灌注条件下 BMP2、BMP4 表达均增加,证明了 BMP 信号通路参与了肠道的缺血再灌注损伤。免疫印迹及免疫荧光实验结果显示,BMP2、BMP4 可以直接激活肠上皮细胞内的 NF-κB 蛋白发生磷酸化进入核内参与调控,BMP 信号通路的拮抗剂 noggin 蛋白可部分逆转 NF-κB 向核内转移。已知的参与肠道缺血再灌注损伤的炎症介质有 TNF-a、iNOS、IL-1、IL-6、ICAM-1 等,其中 NF-κB 对这些炎症介质的基因转录发挥着重要的调控作用。为了明确肠道缺血再灌注时释放的大量炎症因子是否与 BMP 激活 NF-κB 信号有关,我们用外源性 BMP2、BMP4 蛋白培养 IEC-6 细胞,RT-PCR 检测肠上皮细胞内炎症因子 TNF-a 和 IL-6 的基因表达水平,结果显示 BMP2、BMP4 可以增加炎症因子 TNF-a 和 IL-6 的基因表达。上述结果证明,缺氧及缺血再灌注条件下,肠上皮细胞分泌的 BMP2、BMP4,通过 BMP 通路非经典途径激活 NF-κB 信号,导致炎症因子 TNF-a 和 IL-6 的释放,大量释放的炎症因子导致肠黏膜屏障的通透性增加,造成细菌和内毒素的移位。肠黏膜屏障功能的损害包括缺血再灌注时各种炎症介质的释放所导致的肠黏膜上皮通透性增加,还包括缺血再灌注时肠上皮细胞间的紧密连接蛋白等物理屏障损害导致的细胞间隙增加。为了明确 BMP 蛋白对肠黏膜物理屏障的影响,我们用外源性 BMP2、BMP4 蛋白培养 IEC-6 细胞 24 h,免疫印迹实验结果显示在 BMP2、BMP4 刺激下紧密连接蛋白 occludin 表达减少,而 NF-κB 信号阻断剂 PDTC 可以逆转紧密连接蛋白 occludin 的减少,这表明 BMP2、BMP4 可能通过激活 NF-κB 信号减少紧密连接蛋白 occludin 的表达。

综上所述,缺氧及缺血再灌注条件下肠上皮细胞内的 BMP2、BMP4 表达明显增加, BMP2、BMP4 通过激活肠上皮细胞内的 NF-κB 信号导致炎症介质 TNF-a、IL-6 表达增加,增加肠黏膜屏障的通透性,减少紧密连接蛋白 occludin 的表达,损害肠黏膜物理屏障的完整性,从而造成肠黏膜屏障的损伤。目前很多研究都聚焦于如何减轻肠道的缺血再灌注损伤,其中有关 NF-κB 抑制剂用于减轻 I/R 损伤的报道较常见[17-18]。NF-κB 信号是很多信号通路的一个最终共同通路,以往针对肠道缺血再灌注损伤时 NF-κB 的激活,研究者使用了多种 NF-κB 信号通路的抑制剂用于减轻缺血再灌注所造成的损伤[19]。Suzuki 等[20]在大鼠模型中应用一种新型的 NF-κB 抑制剂-DHMEQ 后,大鼠血清内 TNF-a 和 IL-6 的表达水平在肠缺血再灌注 60 min 后出现明显降低。而针对 NF-κB 上游的通路抑制剂在减轻缺血再灌注损伤中的作用则少有报道。NF-κB 上游如 IKK-β 的抑制剂 IMD-1041 是一种目前已经应用于临床治疗高血压、慢性阻塞性肺气肿等疾病的药物,可以明显抑制 NF-κB 信号的激活[21]。本研究中我们应用了 BMP 信号通路特异性拮抗剂 noggin 蛋白,结果发现 noggin 蛋白可以减轻缺血再灌注时 NF-κB 信号的激活,减少炎症因子 TNF-α 和 IL-6 的释放,以及紧密连接蛋白 occludin 的减少,在肠道缺血再灌注过程中起到了一定的保护作用。BMP 信号通路的激活包括经典途径和非经典途径,经典途径主要通过依次激活下游的 Smad-1、Smad-5、Smad-8 完成信号传递,而非经典途径主要通过激活 NF-κB、MAPK(包括 Erk、Akt、P38)信号通路完成[22]。作为 NF-κB 上游的 BMP 信号有众多的拮抗剂,在维护肠黏膜屏障功能中的作用将为临床减轻缺血再灌注损伤提供新的途径。这些拮抗剂在缺血再灌注中的作用如何也是我们以后继续研究的内容[23-24]。

对于 BMP 蛋白在缺氧及缺血再灌注条件是如何表达增加的,有研究指出缺氧诱导因子-1 在其中扮演重要作用[25]。HIF-1 是一类具有转录活性的核蛋白,其靶基因谱相当广泛,主要通过转录和转录后调控包括与缺氧适应、炎症发生发展及肿瘤生长等相关生物过程在内的约 100 种靶基因。软骨细胞进行缺氧培养后 BMP 蛋白表达增加,而加入 HIF-1 信号的激动剂 DFO 后,BMP2 蛋白增加更加明显。成骨细胞缺氧条件下 BMP2 蛋白的增加也依赖于 HIF-1a 信号,并且 ILK/Akt和 mTOR 信号也参与了 HIF-1a 调控 BMP2 的表达[26]。但在肠上皮细胞中,BMP2、BMP4 在缺氧条件下的增加是否与缺氧诱导因子-1 有关,以及他们之间是通过何种机制实现的有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 张 臣,连树华,柳 宏.肠缺血再灌注损伤的病理机制研究进展[J].临床小儿外科杂志,2018,17(2):141 - 145. doi:10.3969/j.issn.1671 - 6353.2018.02.013.

[2] Andrade ME, Araujo RS, de Barros PA, et al. The role of immunomodulators on intestinal barrier homeostasis in experimental models[J]. Clin Nutr, 2015,34(6):1080 - 1087. doi: 10.1016/j.clnu.2015.01.012.

[3] Shin W, Kim HJ. Intestinal barrier dysfunction orchestrates the onset of inflammatory host-microbiome cross-talk in a human gut inflammation-on-a-chip[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018,115(45):E10539 - E10547. doi: 10.1073/pnas.1810819115.

[4] Wang RN, Green J, Wang Z, et al. Bone Morphogenetic Protein

(BMP) signaling in development and human diseases[J]. Genes Dis, 2014,1(1):87 - 105. doi: 10.1016/j.gendis.2014.07.005.

[5] Luo B, Chen K, Feng Q, et al. The interplay of BMP4 and IL-7 regulates the apoptosis of intestinal intraepithelial lymphocytes under conditions of ischemia reperfusion[J]. 2018,41(5):2640 - 2650. doi: 10.3892/ijmm.2018.3480.

[6] 罗彬予,陈 康,冯 奇,等.缺血再灌注条件下肠上皮细胞来源的骨形成蛋白-4 促进肠上皮间淋巴细胞凋亡的研究[J].中华实验外科杂志,2016,33(1):97 - 101. doi:10.3760/cma.j.issn.1001 - 9030.2016.01.029.

[7] 王玉霞,刘贵秋,刘 辉,等.BMP-2 在肝细胞癌中表达及与肿瘤血管生成的关系[J].世界华人消化杂志,2017,25(13):1150 - 1158. doi:CNKI:SUN:XXHB.0.2017 - 13 - 005.

[8] Hata A,Kang H. Functions of the bone morphogenetic protein signaling pathway through microRNAs (review)[J]. Int J Mol Med, 2015, 35(3):563 - 568. doi:10.3892/ijmm.2018.3480.

[9] Tian A,Jiang J. Dual role of BMP signaling in the regulation of Drosophila intestinal stem cell self-renewal[J]. Fly (Austin),2017,11(4): 297 - 302. doi:10.1080/19336934.2017.1384104.

[10] Qi Z,Chen YG. Regulation of intestinal stem cell fate specification[J]. Sci China Life Sci, 2015, 58(6):570 - 578. doi: 10.1007/s11427 - 015 - 4859 - 7.

[11] Nguyen V, Meyers CA, Yan N, et al. BMP-2-induced bone formation and neural inflammation[J]. J Orthop, 2017, 14(2):252 - 256. doi: 10.1016/j.jor.2017.03.003.

[12] Helbing T, Arnold L, Wiltgen G, et al. Endothelial BMP4 regulates leukocyte diapedesis and promotes inflammation[J]. Inflammation, 2017,40(6):1862 - 1874. doi: 10.1007/s10753 - 017 - 0627 - 0.

[13] Choy KW, Lau YS, Murugan D, et al. Paeonol attenuates LPS-induced endothelial dysfunction and apoptosis by inhibiting BMP4 and TLR4 signaling simultaneously but independently[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2018, 364(3):420 - 432. doi: 10.1124/jpet.117.245217.

[14] Jo H, Song H, Mowbray A. Role of NADPH oxidases in disturbed flow- and BMP4- induced inflammation and atherosclerosis[J]. Antioxid Redox Signal, 2006, 8(9 - 10): 1609 - 1619. doi: 10.1089/ars.2006.8.1609.

[15] Irshad S, Bansal M, Guarnieri P, et al. Bone morphogenetic protein and Notch signalling crosstalk in poor-prognosis, mesenchymal-subtype colorectal cancer[J]. J Pathol, 2017,242(2):178 - 192. doi: 10.1002/path.4891.

[16] Zhang C, Feng Y, Yang H, et al. The bone morphogenetic protein signaling pathway is upregulated in a mouse model of total parenteral nutrition[J]. J Nutr, 2009,139(7):1315 - 1321. doi: 10.3945/jn.108.096669.

[17] Shi Z,Lian A,Zhang F. Nuclear factor-kappaB activation inhibitor attenuates ischemia reperfusion injury and inhibits Hmgb1 expression[J]. Inflamm Res, 2014, 63(11): 919 - 925. doi: 10.1007/s00011 - 014 - 0765 - x.

[18] Kono H,Nakagawa K,Morita S,et al. Effect of a novel nuclear factor-kappaB activation inhibitor on renal ischemia-reperfusion injury[J]. Transplantation, 2013, 96(10): 863 - 870. doi: 10.1097/TP.0b013e3182a3df74.

[19] 于凌志,左艳丽,贾孟辉,等.核转录因子 NF-KB 对脑缺血再灌注干预机制的研究进展[J].中国民族医药杂志,2015,21(7):42 - 44. doi:10.3969/j.issn.1006 - 6810.2015.07.029.

[20] Suzuki T, Yamashita K, Jomen W, et al. The novel NF-kappaB inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, prevents local and remote organ injury following intestinal ischemia/reperfusion in rats[J]. J Surg Res, 2008,149(1):69 - 75. doi: 10.1016/j.jss.2008.01.020.

[21] Huang JJ,Chu HX,Jiang ZY,et al. Recent advances in the structure-based and ligand-based design of IKKbeta inhibitors as anti-inflammation and anti-cancer agents[J]. Curr Med Chem, 2014, 21(34): 3893 - 3917. doi:10.1101/cshperspect.a022137.

[22] Luo K. Signaling cross talk between TGF-beta/Smad and other signaling pathways[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2017, 9(1): a022137. doi: 10.1101/cshperspect.a022137.

[23] 姜明宇,任明永,刘海春,等.BMP4 和拮抗剂 Noggin 在显性脊柱裂胎鼠发病中的作用[J].中国妇幼保健,2017,32(20):5122 - 5123. doi:10.7620/2gfybj.j.issn.1001 - 4411.2017.20.77.

[24] 耿家金,程加峰,赵 平,等.Follistatin 表达抑制促进 BMP-2 诱导人类骨髓间充质干细胞成骨分化的实验研究[J].国际骨科学杂志,2015,36(3):224 - 230. doi:10.3969/j.issn.1673 - 7083.2015.03.013.

[25] Tseng, WP,Yang SN,Lai CH,et al. Hypoxia induces BMP-2 expression via ILK, Akt, mTOR, and HIF-1 pathways in osteoblasts[J]. J Cell Physiol,2010,223(3):810 - 818. doi:10.1002/jcp.22104.

[26] Kamiya N,Shafer S,Oxendine I,et al. Acute BMP2 upregulation following induction of ischemic osteonecrosis in immature femoral head[J]. Bone,2013,53(1):239 - 247. doi:10.1016/j.bone.2012.11.023.

(编辑:刘 艺)