

• 论 著 •

TAP63 γ 基因调节 Col10a1 基因表达及软骨细胞分化成熟*

李娜¹, 王倩², 夏康¹, 孙晓曦¹, 展丙香¹, 吴璇², 陈晨², 郑其平^{2 Δ}

1. 安徽医科大学第一附属医院输血科, 安徽合肥 230022; 2. 江苏大学
医学院, 江苏镇江 212013

摘要:目的 拟应用两种软骨细胞模型 MCT 和 ATDC5 细胞阐明 TAP63 γ 基因如何调节十型胶原蛋白基因(Col10a1)基因表达及软骨细胞分化、成熟。方法 应用荧光定量聚合酶链反应(PCR)技术检测 TAP63 γ 基因和 Col10a1 基因分别在增殖/肥大状态下小鼠 MCT 细胞和 ATDC5 细胞中的表达。应用基因转染, 在 MCT 细胞和 ATDC5 细胞中过表达或抑制 TAP63 γ 基因的表达, 以研究其对 Col10a1 基因表达的调控作用。在细胞诱导培养的第 4、7、14、21 天, 用阿尔新蓝染色、碱性磷酸酶染色和茜素红染色分别对稳定转染 TAP63 γ 表达质粒的目的组和转染空载体 pCMV 的对照组及未转染的空白组进行染色, 统计分析阳性染色面积, 从而确定过表达 TAP63 γ 基因在软骨细胞骨化期间给软骨内成骨所带来的影响。结果 与增殖型软骨细胞比较, TAP63 γ 基因与 Col10a1 基因在 MCT 和 ATDC5 两种肥大型软骨细胞的相对表达量都明显升高($P<0.05$)。在 MCT 细胞和 ATDC5 细胞中抑制 TAP63 γ 基因的表达, 结果导致 Col10a1 基因的相对表达量明显降低, 而过表达 TAP63 γ 基因则明显升高 Col10a1 基因的相对表达量。阿尔新蓝染色在诱导培养的第 7 天显示出最强的染色强度, 但目的组与对照组没有明显差异; 在诱导培养的第 21 天, 碱性磷酸酶染色目的组比对照组显示出更强的染色强度, 茜素红染色未见差异。结论 TAP63 γ 基因与两种软骨细胞模型 MCT 和 ATDC5 细胞中 Col10a1 基因的表达一致, TAP63 γ 基因促进软骨细胞的成熟分化。TAP63 γ 基因可能与多种转录因子一起构成调节 Col10a1 基因表达的新型机制进而影响骨骼发育与疾病中软骨细胞成熟的进程。

关键词: Col10a1 基因; MCT; ATDC5; TAP63 γ 基因; 软骨细胞肥大

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.24.005

中图法分类号: R446.9

文章编号: 1673-4130(2021)24-2963-05

文献标志码: A

TAP63 γ gene regulates Col10a1 gene expression and chondrocyte differentiation and maturation*

LI Na¹, WANG Qian², XIA Kang¹, SUN Xiaoxi¹, ZHAN Bingxiang¹, WU Xuan²,
CHEN Chen², ZHENG Qiping^{2 Δ}

1. Department of Blood Transfusion, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230022, China; 2. School of Medicine, Jiangsu University, Jiangsu, Zhenjiang 212013, China

Abstract: **Objective** To investigate the in vitro function of TAP63 γ gene on Col10a1 gene expression and chondrocyte hypertrophic differentiation and maturation using the MCT and ATDC5 chondrocyte cell models. **Methods** Expression of TAP63 γ gene and Col10a1 gene in these two proliferative or hypertrophic cells were examined using qRT-PCR. The effects of TAP63 γ gene on Col10a1 gene expression were evaluated using gene transfection to over-express or inhibit TAP63 γ gene in MCT and ATDC5 cells. The in vitro effects of TAP63 γ gene on chondrocyte differentiation was determined by using alcian blue, alkaline phosphatase and alizarin red staining, and analysis the positive staining area of the TAP63 γ gene expression plasmid cell stably transfected cell (the objective group) and the control cell (the control group) lines after cell induced culture for 4, 7, 14 and 21 days. **Results** When compared with their proliferative chondrocyte, TAP63 γ gene and Col10a1 gene expression in hypertrophic MCT and ATDC5 cells were significantly up-regulated. It led to significant down-regulation of Col10a1 gene expression when inhibition of TAP63 γ gene in MCT and ATDC5 cells, while over-expression of TAP63 γ gene resulted in significant increase of Col10a1 gene. Alcian blue staining showed the strongest staining intensity in day 7, but the objective group and the control group had no obvious difference. In the induced culture of day 21, objective group showed stronger staining intensity than control group by alkaline phosphatase staining, alizarin red staining did not see the difference. **Conclusion** TAP63 γ gene is

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81702111); 江苏省科技计划项目(BE2020679)。

作者简介: 李娜, 女, 技师, 主要从事临床输血检验与血液管理研究。 Δ 通信作者, E-mail: qp_zheng@hotmail.com。

本文引用格式: 李娜, 王倩, 夏康, 等. TAP63 γ 基因调节 Col10a1 基因表达及软骨细胞分化成熟[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(24):

consistent with Col10a1 gene expression in both chondrocyte models. TAP63 γ gene promotes chondrocyte hypertrophic differentiation. TAP63 γ gene may constitute a novel mechanism for regulating Col10a1 gene expression together with several transcription factors, and thus affect bone development and chondrocyte maturation in related skeletal diseases.

Key words: Col10a1 gene; MCT; ATDC5; TAP63 γ gene; chondrocyte hypertrophy

骨骼包括两种组织,即分别由成骨细胞和软骨细胞形成的骨与软骨。骨骼的发育或形成又有两种方式:膜内成骨及软骨内成骨。正常生理状况下,机体的膜内成骨和软骨内成骨合理、协调地进行。当膜内成骨受损时可致多种颌面部骨骼畸变,而软骨内成骨异常则可致骨与软骨发育不良或过生长^[1-3]。P63 作为 P53 抑癌基因家族的重要成员,同时发挥了抑癌基因(介导细胞衰老)和原癌基因(促增殖、促生长)的双重作用^[4-5]。近年来,研究发现除了严重的上皮缺陷, P63 基因缺失型小鼠的肢体严重缩短或缺如并伴有颌面部异常^[6-7]。此外, P63 基因突变也可致人体发生明显的骨骼改变,进一步说明 P63 基因在机体骨骼发育,尤其是软骨内成骨中的作用^[4,8]。然而,小鼠 P63 有 8 种变异体^[9-10],这些变异体与骨骼发育的关联目前知之甚少。基于前期对 P63 变异体的研究,笔者推测 TAP63 γ 是控制长骨发育的效应 P63 变异体^[2,11]。MCT 细胞是经过 SV40 大 T 抗原转化的软骨细胞,这些细胞在 32 ℃ 培养时可持续生长,而在 37 ℃ 培养时会出现生长阻滞并高表达十型胶原蛋白基因(Col10a1 基因)^[1]。ATDC5 细胞是由小鼠畸胎瘤衍生的细胞系,具有类似于软骨细胞的生长特性,长期培养(+ITS 诱导)可向分化成熟过渡,并且也高表达 Col10a1 等基因^[2]。TAP63 γ 基因在肥大型 MCT 细胞和经诱导向成熟分化的 ATDC5 细胞中的水平明显升高^[10],提示 TAP63 γ 基因可能在软骨细胞分化成

熟时起作用。因此,本研究拟进一步探讨 TAP63 γ 基因如何影响 Col10a1 基因表达及软骨细胞的分化与成熟。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 主要仪器:细胞培养箱(Thermo Fisher Scientific)、PCR 仪(GENE)、荧光定量 PCR 仪(BIO-RAD)。主要试剂:TRIzol 试剂盒(15596018, Invitrogen)、iScriptTM cDNA Synthesis Kit(1708890, BIO-RAD)、DreamTaq Green PCR Master Mix(2x)(K1071, Thermo Fisher Scientific)、iQTM SYBR Green Supermix(1708882, BIO-RAD)、ITS(胰岛素-转铁蛋白-Selenium-硒)、ITS(13146, Sigma)、引物(上海生工生物工程有限公司)、茜素红染色试剂盒(A5533, Sigma)、碱性磷酸酶染色试剂盒(南京建成生物研究所 CAKP D001-2)、阿尔新蓝染色试剂盒(上海生工生物工程有限公司 A0298-1g)、TAP63 γ 基因 SiRNA(SR417746, Origene)、pCMV6-TAP63 γ 基因过表达载体(MR227536, Origene)、pCMV6 空载体(PS100001, Origene)、LipofectamineTM 2000 脂质体(11668027, Invitrogen)、G418(158782, MP Biomedicals)。

1.2 方法

1.2.1 引物设计 在 GenBank 数据库中查找基因的 mRNA 序列(NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>)。运用 Primer3 软件设计引物,并在 PubMed-Blast 中验证所设计的引物,见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物

基因	序列号	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')	大小 (bp)
Gapdh	NM_008084.2	CACATTGGGGGTAGGAACAC	ACCCAGAAGACTGTGGATGG	171
Col10a1	NM_009925.4	TCTGTGAGCTCCATGATTGC	GCAGCATTACGACCCAAGATC	201
TAP63 γ	NM_001127259	GTATCGGACAGCGCAAAGAACG	CTGGTAGGTACAGCAGCTCATC	123

1.2.2 MCT 与 ATDC5 细胞株的培养 (1)MCT 细胞使用含有 8% FBS 的 DMEM 培养基,置于 8% CO₂ 的 32 ℃ 培养箱培养。MCT 细胞培养至 80% 融合度时,把 MCT 细胞从 32 ℃、8% CO₂ 的培养箱移到 37 ℃、5% CO₂ 培养箱内继续培养,两种状态下(32 ℃/37 ℃)的 MCT 细胞需做 3 个复孔,隔 1 d 换 1 次培养液。(2) ATDC5 细胞使用含有 5% FBS 的 DMEM/F12(1:1)培养基,置于 5% CO₂ 的 37 ℃ 培养箱培养。ATDC5 细胞生长至 80% 融合度时,加入含 1% ITS 诱导剂的完全培养基开始诱导培养。开始诱导记为 0 d(无 ITS),两组的 ATDC5 细胞均需做 3 个复孔,隔 1 d 换 1 次培养液。

1.2.3 细胞转染及瞬时转染 使用干扰片段 TAP63 γ 基因 SiRNA,分别转染 MCT 细胞(32 ℃ 培

养 24 h 后转入 37 ℃ 继续培养 24 h)和 ATDC5 细胞(37 ℃ 培养 24 h),即转染干扰片段组。稳定转染:分别转染 TAP63 γ 基因表达质粒和 pCMV 空载体质粒,利用 G418 筛选,生成了过表达 TAP63 γ 基因(目的组)和含有空载体(对照组)的 ATDC5 稳定转染细胞系^[6],未进行转染的 ATDC5 细胞系设为空白组。质粒转染实验参照说明书和参考文献[3,6]进行。简要的步骤如下:待细胞长至 70%~80% 融合度时, MCT/ATDC5 细胞使用 LipofectamineTM 2000 无血清转染 6 h 后,完全培养基再培养 24~48 h。稳定转染再换含有 G418 的完全培养液,并连续培养两周,隔 1 d 换 1 次培养液,剩下没有被杀死的细胞继续传代培养,以备后续实验。

1.2.4 细胞 RNA 提取、反转录及荧光定量 PCR

使用 TRIzol 试剂进行 RNA 的提取,按说明书的实验步骤依次进行 RNA 提取、DNA 酶处理及反转录。得到的 cDNA 1:10 稀释,按照 iQTM SYBR Green supermix 反应体系配比,在 BIO-RAD 荧光定量 PCR 仪上进行扩增。Gapdh 作为内参和目的基因同时进行 qRT-PCR,采用相对定量 2^{-ΔΔCT} 方法计算基因的相对表达量。

1.2.5 细胞染色 染色实验参照说明书进行,简要步骤如下。阿尔新蓝染色:细胞采用-20℃甲醇固定 2 min,加入 0.1%的阿尔新蓝(0.1 g 阿尔新蓝粉末加入盐酸溶液至 100 mL,配成 0.1 mol/L 的盐酸溶液),静置过夜,洗净镜检;碱性磷酸酶染色:4%多聚甲醛固定 1 min,加入新鲜配制的碱性磷酸酶染液,湿盒内 37℃避光孵育 10 min,洗净,苏木精-伊红复染 3~5 min,洗净镜检;茜素红染色:95%乙醇固定 10 min,洗净后加入 1%茜素红(pH 值 6.4),室温静置 10 min,洗净镜检。

1.3 观察指标 (1)分析 TAP63γ 基因和 Col10a1 基因分别在增殖/肥大状态下小鼠 MCT 细胞和 ATDC5 细胞中的表达;(2)过表达或抑制 TAP63γ 基因,观察其对 Col10a1 基因表达的调控作用;(3)进行细胞染色,并比较诱导培养第 4、7、14、21 天的对照组与目的组的阳性染色面积。

1.4 统计学处理 目的基因在肥大型软骨细胞内和增殖型软骨细胞内的比较采用配对 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Col10a1 基因与 TAP63γ 基因在两种肥大型软骨细胞模型中的表达 MCT 细胞在 37℃诱导 3 d 后 Col10a1 基因相对表达量为 50.20±1.99 (*P*<0.001),TAP63γ 基因相对表达量为 4.90±0.13,与 32℃增殖状态下 MCT 细胞基因相对表达量(基因相对表达量设为 1)比较,差异有统计学意义(*P*<0.05)。ATDC5 细胞在肥大状态下(ITS 诱导 14 d) Col10a1 基因相对表达量为 2.60±0.79,TAP63γ 基因的相对表达量为 2.58±0.10,与 ATDC5 细胞在增殖状态下(无 ITS)基因相对表达量(基因相对表达量设为 1)比较,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

2.2 ATDC5 细胞中过表达 TAP63γ 基因对 Col10a1 基因的影响 在诱导培养的第 0、7、21 天,发现目的组的 TAP63γ 基因相对表达量明显高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05);同时,在第 7、14、21 天,目的组的 Col10a1 基因相对表达量明显高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。空白组与对照组 TAP63γ 基因、Col10a1 基因相对表达量比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 2。

表 2 不同诱导时间的 TAP63γ 基因、Col10a1 基因相对表达量

组别	TAP63γ 基因				Col10a1 基因			
	0 d	7 d	14 d	21 d	0 d	7 d	14 d	21 d
空白组	1	0.36±0.05	1.51±0.29	1.19±0.20	1	0.39±0.08	1.57±0.03	2.78±0.40
对照组	1.36±0.24	0.34±0.02	0.82±0.07	0.87±0.17	0.95±0.15	0.55±0.05	2.00±0.19	2.52±0.21
目的组	3.92±0.10	2.97±0.39	1.54±0.09	7.95±0.22	1.27±0.23	2.08±0.55	5.76±0.41	9.42±0.29
<i>P</i>	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:*P* 为目的组与对照组比较结果。

2.3 空白组和转染干扰片段组细胞中 TAP63γ 基因与 Col10a1 基因的表达 在 MCT 细胞中,与空白组(基因相对表达量设为 1)比较,转染干扰片段组 TAP63γ 基因相对表达量(0.79±0.11)明显降低,同时 Col10a1 基因相对表达量(0.68±0.03)也明显降低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。在 ATDC5 细胞中,与空白组(基因相对表达量设为 1)比较,转染干扰片段组 TAP63γ 基因相对表达量(0.42±0.10)明显降低,同时 Col10a1 基因相对表达量(0.35±0.04)也明显降低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

2.4 染色结果 阿尔新蓝染色在诱导培养的第 7 天显示出最强的染色强度,但目的组与对照组间没有显示出明显的差异。同时,在第 4、14、21 天也没有观察到明显的染色强度差异(图 1)。在诱导培养的第 21 天,观察到目的组与对照组相比显示出更强的碱性磷酸酶染色强度(图 2)。对诱导培养第 21 天的目的组和对照组进行茜素红染色,然而并没有观察到明显的染色强度差异(图 3)。

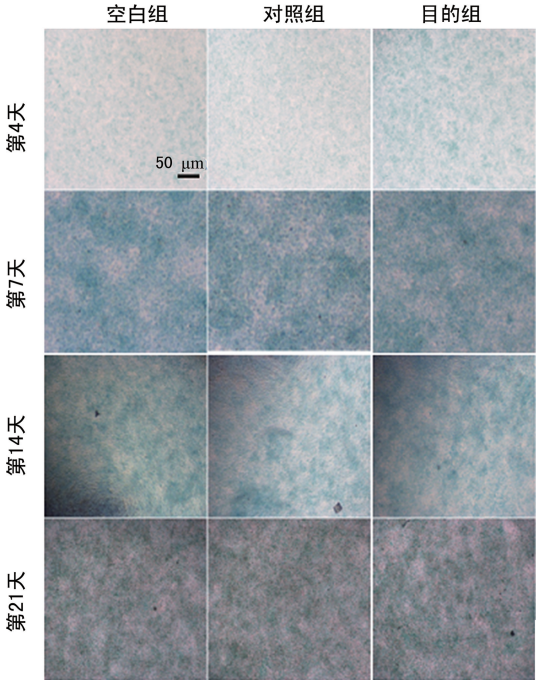


图 1 阿尔新蓝染色结果(×4)

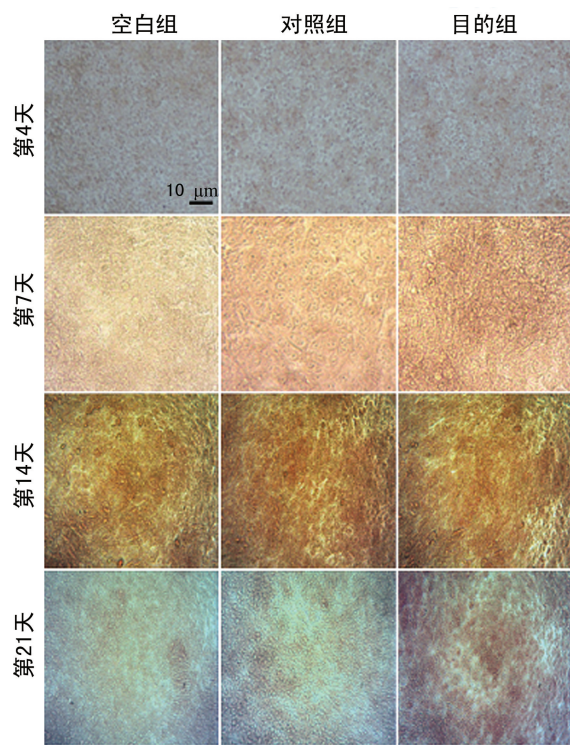


图 2 碱性磷酸酶染色结果(×20)

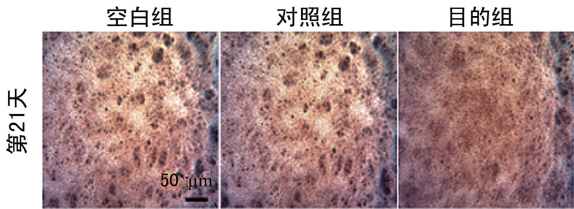


图 3 茜素红染色结果(×4)

3 讨 论

大量的研究揭示了 P63 基因在肿瘤形成和发育过程中的多样性功能^[12-13]。由于启动子的不同和可变剪接, P63 含有多种异构体, 不同异构体之间也会产生相互作用^[14-15], 这不仅导致了 P63 基因功能的多样性, 同时也阻碍了对其体内功能的研究。小鼠肢体的缺陷主要归于受损的上皮发育, 即顶外胚层脊缺失导致肢体的起始发育不能正常进行。然而, 肢体缩短和颌面部骨骼改变提示 P63 缺失型小鼠的软骨内成骨和膜内成骨均受损^[16-17]。这些结果提示 P63 可能在机体的软骨内成骨过程中发挥重要作用。

本研究进行了 TAP63 γ 基因在两种软骨细胞模型中的表达分析。结果表明, 相比增殖型细胞, 肥大型 MCT 和 ATDC5 细胞中 Col10a1 基因的上调与增加的 TAP63 γ 基因表达一致。为了确认两个基因之间的相关性, 本研究在 ATDC5 细胞中过表达 TAP63 γ 基因, 可见 Col10a1 基因相对表达量上调; 同时, 在 MCT 和 ATDC5 细胞中抑制 TAP63 γ 基因的表达活性则进一步降低 Col10a1 基因的表达。这些结果证明了 TAP63 γ 基因和 Col10a1 基因表达之间的直接关联。在诱导培养的第 21 天, 观察到 TAP63 γ 基因过表达(目的组)与对照组相比显示出更强的碱

性磷酸酶染色强度(图 2)。与此同时, 在目的组和对照组之间, 阿尔新蓝染色和茜素红染色都没有检测到明显差异(图 1、3)。这些结果清楚地表明 TAP63 γ 基因促进和加速软骨细胞肥大分化并可能促进随后的基质矿化, 而在 ATDC5 细胞早期的增殖和后期的成骨分化阶段中可能影响甚微。

此前的研究表明 TAP63 γ 基因型异构体可能在胚胎骨骼发育的不同阶段发挥不同功效, TAP63 γ 基因可能参与软骨内成骨过程中的软骨成熟^[10,18]。Col10a1 基因是软骨内成骨过程中众所周知的肥大型软骨细胞的标志基因。在本研究中, 进一步分析了 TAP63 γ 基因与 Col10a1 基因的关系, 以及 TAP63 γ 基因对软骨细胞分化成熟的影响。本研究已经用数据表明 TAP63 γ 基因表达对 Col10a1 基因的正向调控作用, 还证实了 Col10a1 基因上调与体外软骨内成骨的细胞模型中增强的软骨细胞肥大分化相一致。这些发现可能解释和支持 TAP63 γ 基因在骨折愈合过程中类似于软骨内成骨的作用。然而, 关于 TAP63 γ 基因在骨的形成和修复中的确切机制还需要进一步的研究。

参考文献

[1] GU J, LU Y, LI F, et al. Identification and characterization of the novel Col10a1 regulatory mechanism during chondrocyte hypertrophic differentiation[J]. Cell Death Dis, 2014, 5: e1469.

[2] LU Y, QIAO L, LEI G, et al. Col10a1 gene expression and chondrocyte hypertrophy during skeletal development and disease[J]. Front Biol, 2014, 9: 195-204.

[3] LI N, WANG Q, ZHU T, et al. In vitro functional characterization of prostaglandin-endoperoxide synthase 2 during chondrocyte hypertrophic differentiation[J]. Oncotarget, 2016, 7(24): 36280-36292.

[4] MILLS A A, ZHENG B, WANG X J, et al. p63 is a p53 homologue required for limb and epidermal morphogenesis[J]. Nature, 1999, 398(6729): 708-713.

[5] STINDT M H, MULLER P A, LUDWIG R L, et al. Functional interplay between MDM2, p63/p73 and mutant p53[J]. Oncogene, 2015, 34(33): 4300-4310.

[6] WANG Q, LI N, CHEN F, et al. TAP63 γ influences mouse cartilage development[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(9): 8669-8679.

[7] ROMANO R A, SMALLEYK, MAGRAW C, et al. Δ Np63 knockout mice reveal its indispensable role as a master regulator of epithelial[J]. Development, 2012, 139(4): 772-782.

[8] YANG A, SCHWEITZER R, SUN D, et al. p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development[J]. Nature, 1999, 398(6729): 714-718.

[9] PETITJEAN A, RUPTIER C, TRIBOLLET V, et al. Properties of the six isoforms of p63: p53-like regulation in response to genotoxic stress and cross (下转第 2970 页)

现,不同类型标本 CT、UU 阳性率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),而不同类型标本 NG 阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结合表 1,其原因可能主要是由于 CT、UU 检出者多以女性疑似患者为主,且女性疑似患者 UU 阳性率明显高于男性疑似患者,女性主要采用棉拭子采样,棉拭子在黏膜表面擦拭,理论上能够获取更多病原体,而男性疑似患者尿液标本检测的是脱落细胞,因此,病原体检出较少,导致尿液标本阳性率会明显降低。男性疑似患者 NG 阳性率明显高于女性疑似患者,且其采用尿液标本检测占比较多,导致两者阳性率差异较小。总体上来看,棉拭子标本的阳性率普遍高于尿液标本的阳性率,两种标本阳性率存在明显差异与分析前采样人员(尿-疑似患者、棉拭子-医务人员)专业性有较大相关性,因此,在 CT、UU、NG 检测中,采样方式上建议尽量采用棉拭子采样,以提高阳性率,某些特殊情况不适合棉拭子采样时再留取尿液标本。

综上所述,由于 CT、UU、NG 的感染可以通过性接触传播,所以应当加强宣传性传播疾病预防知识。随着性传播疾病感染的低龄化,应加强育龄人群性病筛查和防治工作,降低育龄人群感染率。

参考文献

[1] RADHA B P T, PANDIYAN N, SUJATHA N, et al. Significance of isolating non-tuberculous mycobacterial organisms in infertile women with tubal disease: an observational study[J]. BJOG, 2019, 126(Suppl): S66-S71.

[2] CHANG S X, CHEN K K, LIU X T, et al. Cross-sectional study of asymptomatic Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis infections in sexually transmitted disease related clinics in Shenzhen, China[J]. PLoS One, 2020, 15(6): e234261.

[3] 岳晓丽, 龚向东, 李婧, 等. 2015—2019 年中国性病监测点

生殖道沙眼衣原体感染流行病学特征[J]. 中华皮肤科杂志, 2020, 53(8): 596-601.

[4] 董春波, 樊利春, 窦倩如, 等. 海南省农村妇女生殖道感染现况调查[J]. 中国热带医学, 2020, 20(9): 822-825.

[5] HONKILA M, RENKO M, POKKA T, et al. Symptoms, signs and long-term prognosis of vertically transmitted chlamydia trachomatis infections[J]. Pediatr Infect Dis J, 2018, 37(9): 930-933.

[6] LAL C V, XU X, JACKSON P, et al. Ureaplasma infection-mediated release of matrix metalloproteinase-9 and PGP: a novel mechanism of preterm rupture of membranes and chorioamnionitis[J]. Pediatr Res, 2017, 81(1): 75-79.

[7] RUGGERI M, CANNAS S, CUBEDDU M, et al. Bacterial agents as a cause of infertility in humans[J]. New Microbiol, 2016, 39(3): 206-209.

[8] HOOK E R, BERNSTEIN K. Kissing, saliva exchange, and transmission of Neisseria gonorrhoeae[J]. Lancet Infect Dis, 2019, 19(10): e367-e369.

[9] 宗曾艳, 熊丹, 汤花梅, 等. 深圳市罗湖区育龄男女生殖道感染特征分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(9): 1132-1135.

[10] 曲沛, 郭杰, 李韦杰, 等. 4 387 例性病门诊患者沙眼衣原体、淋球菌、解脲脲原体感染情况分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(12): 1994-1996.

[11] 朱丽娟, 王爱华, 高梅. 女性不孕症患者生殖道解脲支原体、沙眼衣原体、人型支原体及淋病奈瑟菌感染分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(16): 1955-1957.

[12] 王琦, 程静, 冷开玉. 生殖支原体分子流行病学研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 32(7): 814-818.

[13] 沈鸿程, 黄澍杰, 覃晓琳, 等. 广东省 9 个城市性病门诊男性就诊者生殖道沙眼衣原体感染危险因素分析[J]. 中华流行病学杂志, 2017, 38(3): 364-368.

(收稿日期: 2021-04-14 修回日期: 2021-10-10)

(上接第 2966 页)

talk with DeltaNp73[J]. Carcinogenesis, 2008, 29(2): 273-281.

[10] GU J, LU Y, QIAO L, et al. Mouse p63 variants and chondrogenesis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(12): 2872-2879.

[11] TADINI G, SANTAGADA F, BRENA M, et al. Ectodermal dysplasias: the p63 tail[J]. G Ital Dermatol Venereol, 2013, 148(1): 53-58.

[12] VOGELSTEIN B, LANE D, LEVINE A J, et al. Surfing the p53 network[J]. Nature, 2000, 408(6810): 307-310.

[13] ZAMBETTI G P, HORWITZ E M, SCHIPANI E J, et al. Skeletons in the p53 tumor suppressor closet: genetic evidence that p53 blocks bone differentiation and development[J]. J Cell Biol, 2006, 172(6): 795-797.

[14] LENGNER C J, STEINMAN H A, GAGNON J, et al. Osteoblast differentiation and skeletal development are

regulated by Mdm2-p53 signaling[J]. J Cell Biol, 2006, 172(6): 909-921.

[15] BERGHOLZ J, XIAO Z X. Role of p63 in development, tumorigenesis and cancer progression[J]. Cancer Microenviron, 2012, 5(3): 311-322.

[16] ARTEM S, LUCIA A, FLAVIA N, et al. p63 is a promising marker in the diagnosis of unusual skin cancer[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(22): 5781.

[17] ROZENBERG J M, ROGOVAYA O S, MELINO G, et al. Distinct p63 and p73 protein interactions predict specific functions in mRNA splicing and polyploidy control in epithelia[J]. Cells, 2020, 10(1): 25.

[18] FISHER M, BALINTH S, MILLS A A, et al. p63-related signaling at a glance[J]. J Cell Sci, 2020, 133(17): jcs228015.

(收稿日期: 2021-08-11 修回日期: 2021-10-27)