

肿瘤坏死因子受体相关因子6与骨代谢的研究进展

张群燕 郭郡浩 蔡辉*

南京军区南京总医院中西医结合科,江苏南京 210002

中图分类号: R364.7 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 02-0272-05

摘要: TRAF6 是肿瘤坏死因子受体相关因子家族 (TRAFs) 中既可与肿瘤坏死因子受体 (TNFR) 超家族结合, 又可与白细胞介素-1 受体/Toll 样受体 (IL-1R/TLR) 超家族相互作用来传递细胞外信号的一种细胞内接头蛋白, 在炎症反应、免疫应答、骨代谢中发挥着重要作用。本文现就 TRAF6 在骨代谢中的研究进展作一综述。

关键词: 肿瘤坏死因子受体相关因子6; 破骨细胞; 成骨细胞; 骨质疏松

Advances in tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 and bone metabolism

ZHANG Qunyan, GUO Junhao, CAI Hui*

Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of PLA, Nanjing 210002, China

Corresponding author: CAI Hui, Email: njzy_caihui@163.com

Abstract: TRAF6 is a member of TRAF family, which serves as an adapter coupling for the TNF receptor (TNFR) superfamily in intracellular signaling events. Moreover, TRAF6 is unique for signaling downstream of another receptor family, the interleukin-1 (IL-1) receptor/Toll-like receptor (IL-1R/TLR) superfamily, which plays critical roles in inflammation and innate and adaptive immune responses. TRAF6 regulates inflammation and links immunity to bone metabolism. This paper reviews the current studies in TRAF6 on bone metabolism.

Key words: Tumor necrosis factor receptor-associated factor 6; Osteoclast; Osteoblast; Osteoporosis

肿瘤坏死因子受体相关因子6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor, TRAF6) 是细胞内信号传导通路上的关键接头蛋白。因其能直接和 CD40、IRAK 以及 NF- κ B 受体激活蛋白 (receptor activator of NF- κ B, RANK) 相结合, 进而激活转录因子 NF- κ B、JNK/p38、AP-1 通路, 影响细胞的生成、增殖、分化和死亡而备受关注^[1,2]。骨代谢是骨组织不断进行改建活动的一个复杂过程, 包括骨吸收和骨形成两个方面。近年来, 有关 TRAF6 在骨代谢方面的研究较多, 其结果颇具争议, 现就 TRAF6 在骨代谢中的研究进展作一综述。

1 TRAF6 蛋白结构及生物学功能

1994年, Rothe 等利用酵母双杂交技术和免疫沉淀反应发现了两种能与 TNFR II 特异性结合的胞

内信号接头蛋白并命名为 TRAF1、TRAF2, 随后在哺乳动物中又发现几种 TRAFs 蛋白, 分别为 TRAF1-TRAF6, 并统称为 TRAF 家族 (tumor necrosis factor receptor-associated factors, TRAFs)。

TRAFs 蛋白在进化上非常保守, 且有着十分相似的结构特征^[3], 即①TRAF 分子 C 端都含有一个约 200 个氨基酸残基的 TRAF 结构域, 主要接受外来信号。其中, TRAF 又分为 TRAF-N 和 TRAF-C 两部分, TRAF-C 可与不同受体蛋白胞内段的 TRAF 结构域或胞浆内其他含有 TRAF 结构域的蛋白结合, 依赖 TRAF-N 端的环-环 α 螺旋结构 (coiled-coil) 形成同源或异源二聚体或多聚体。虽然有文献将新的蛋白质被命名为 TRAF7^[4], 但这种说法是有争议的, 因为该蛋白不具有定义 TRAFs 的 TRAF 同源结构域。②除了 TRAF1 以外, TRAF 分子 N 端依次有三个域, 第 45~106 位是含有两个锌原子、7 个半胱氨酸的环指模序 (ring finger motif), 第 110~264 位有 5 到 7 个锌指 (zinc finger, ZF) 结构域, 第 287~

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81303124)

* 通讯作者: 蔡辉, Email: njzy_caihui@163.com

342位有螺旋轮结构。这种结构将膜上的信号传导至下游,激发一系列信号通路,从而发挥不同的生物学功能^[5]。

1996年,Ishida等^[6]使用cDNA文库的酵母双杂交系统和筛选技术,发现TRAF6介导CD40参与NF- κ B活化的信号转导;随后,Cao等^[7]发现TRAF6可以与白细胞介素受体相关激酶(IL-1R-associated kinase,IRAK)绑定结合,在配体的刺激下,接头蛋白MyD88通过保守的C端胞质结构域TIR(Toll/IL-1R homology region)被募集到IL-1R或TLR复合体上,参与NF- κ B活化的信号转导。

现已证实,人TRAF6基因定位于11p13,编码的蛋白质为511个氨基酸残基,是一种泛素连接酶,广泛分布在脑、肺、肝、骨骼肌、肾脏等组织中,心、脾、睾丸也有少量表达。结构上由于N端独特的TRAF-C结构能结合不同的蛋白分子,使TRAF6既参与CD40的信号转导又参与IL-1R/TLRs的信号转导^[2,8],是TRAFs家族中唯一一个可以直接和CD40、IRAK以及NF- κ B受体激活蛋白(receptor activator of NF- κ B,RANK)相结合的衔接蛋白,但所介导的结果似乎相似,皆可激活NF- κ B^[9,10]。在多种病理生理如先天免疫和适应性免疫,骨代谢和淋巴结的发展,乳腺/皮肤和中枢神经系统的形成等过程中发挥着重要作用。

2 TRAF6与破骨细胞

破骨细胞(osteoclast,OC)是来源于骨髓单核/巨噬细胞系经单核巨噬细胞系的前体细胞分化为具有抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase,TRAP)阳性的多核细胞,在骨营养激素和骨微环境产生的局部因子调节下,在骨吸收部位分化为破骨细胞,行使骨吸收的功能。现已证实,核因子 κ B受体激动剂(receptor activator of nuclear factor- κ B,RANK)是破骨细胞分化与成熟过程中的重要因子,成骨细胞合成的NF- κ B受体活化因子配体(receptor activator of NF- κ B ligand)与破骨前体细胞上的RANK的结合后,激活胞内信号转导途径,使破骨细胞分化加快,凋亡抑制,最终导致破骨细胞数量增多,骨吸收功能亢进。因此,RANKL/RANK通路也被认为是介导破骨细胞分化成熟的最重要的信号通路^[11,12]。近年来的研究发现,TRAF6作为细胞内信号传导的重要接头蛋白在RANKL/RANK介导的破骨细胞分化与成熟过程中起着不可或缺的作用。

研究发现,RANK与RANKL结合后,促使RANK胞内区与TRAF分子C端相结合,而能与RANK结合的TRAF有TRAF1、TRAF2、TRAF3、TRAF5、TRAF6,且不同类型的TRAF与RANK不同的氨基酸位点结合^[2]。Armstrong等^[13]用敲除不同TRAF结合位点的突变将RANK cDNA的不同区域转染至无RANK的造血祖细胞的方法,发现RANK的胞浆段含有多个TRAF结合区,其近膜端基序结合TRAF6,C端区域结合TRAFs 1、2、3、5。且TRAF6是维持破骨细胞骨架形成和骨吸收作用所必须,其作用不能由TRAF2和TRAF5替代。

Kadono等^[14]发现RANK在胞内有3个TRAF6部位,且这三条通道均能独自介导RANK信号途径。Ye等^[2]发现RANK与TRAF6的结合部位有一种Pro-X-Glu-X-X-芳香族/酸性残基的序列,此序列在CD40和IL-1R的TRAF6的结合部位中也存在,而在其余TRAF蛋白中存在明显差异,也许正是这种差异导致了TRAF6与相关结合膜蛋白如RANK结合的特异性。

Kobayashi等^[15]发现,将缺少环指结构的突变TRAF6蛋白分子导入TRAF^{-/-}的小鼠破骨细胞前体细胞内,在M-CSF和RANKL的刺激下,前体细胞只能分化为抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase,TRAP)阳性的破骨细胞样细胞(osteoclast-like cell,OCL),而无法形成肌动蛋白环,即无法发挥骨吸收作用。用同样的方法还发现,缺少第二和第三位锌指结构的TRAF6蛋白,无法使破骨细胞前体细胞分化为OCL。

由此可见,RANK与TRAF6的结合是RANKL/RANK信号下传的第一步,在破骨细胞的分化和成熟中每一个位点的结合都是十分重要的。TRAF6的C端与RANK结合后,诱导其位于N端募集胞浆内其它含有TRAF6的蛋白分子,使TRAF6三聚化,形成RANK-TRAF6-转化生长因子 β 激活激酶1(TAK1)结合蛋白2(TAB2)-TAK1复合物,诱导TAK1活化^[16],进而激活NF- κ B、c-Src以及促分裂原活化的蛋白激酶(MAPK)下传RANKL/RANK信号发挥调节OC数量及活性的作用;另一方面某些因子也经TRAF6发挥作用,如TNF可经TRAF6促进OC生成,而白介素(IL-1)通过TRAF6抑制OC凋亡^[17]。所以TRAF6在RANKL的细胞内信号转导中起枢纽作用。

Lee等^[18]发现,RANKL/RANK结合后首先以振荡模式瞬时招募TRAF6绑定,随后,TRAF6在

RANKL 刺激下以非振荡模式与 RANK 相互作用。这表明 RANK 振荡募集 TRAF6 可能介导了 RANKL 诱导的 MAPK 信号通路的激活。在 M-CSF 和 RANKL 的刺激下, TRAF6 缺失 (TRAF6^{-/-}) 的破骨细胞前体不能分化为破骨细胞, 说明 TRAF6 在前体细胞向 OC 和巨噬细胞分化的分支点发挥重要作用。TRAF6^{-/-} 细胞中 RANKL 诱导的 p38 活化不明显, 而 RANKL 诱导的 ERK 和 JNK 活化以及 M-CSF 诱导的 ERK、p38 和 JNK 活化并不受影响; 进一步研究发现, TRAF6^{-/-} 细胞中活化 T 细胞核因子 1 (nuclear factor of activated T-cells 1, NFATc1) 和 c-Fos 的表达下调, NFATc1、c-Fos 以及 p65 向核内转运受阻。表明 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路通过持续激活 p38 后可上调破骨细胞转录因子的和促进破骨细胞分化^[19]。

Yen 等^[20]的研究发现, 在肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 的刺激下, 人源单核细胞和小鼠 RAW264.7 细胞系 p38 MAPK、JNK、ERK 的磷酸化明显增强, 骨吸收活性明显; 但被 TRAF6 siRNA 转染后, 前体细胞只能分化为 TRAP 阳性的 OCL, p38 MAPK、JNK、ERK 磷酸化受抑制, NFATc1 表达下调, 骨吸收活性明显降低, 且在 TRAF6^{-/-} 骨髓巨噬细胞, TRAIL 诱导破骨细胞分化作用被完全抑制, 表明 TRAF6 依赖的信号传导不仅在 TRAIL 诱导破骨细胞分化作用中起主要作用, 还参与破骨细胞活化, 并可以通过 TRAF6 等除 RANKL 以外其它 TNF 超家族分子来调控 RANK 信号传导。

Nakamura 等^[21]发现, 前破骨细胞在 IL-1 刺激下, TRAF6 可与 c-Src 作用形成 TRAF6/c-Src 分子复合物, 使 p130^{Cas}、蛋白质酪氨酸激酶 2、c-Src 磷酸化, 诱导其骨架重构分化为破骨细胞。c-Src 缺如的 OCL 免疫共沉淀法将无法检测到 TRAF6 复合物的形成, 进而影响肌动蛋白环和胞膜的微皱褶形成障碍, 使 OCL 无法正常黏附于骨表面并发挥骨吸收的作用。

肿瘤坏死因子受体相关因子联合核因子- κ B 激酶 (TRAF family member-associated NF- κ B activator, TANK) 可与 TRAF6 结合介导 NF- κ B 通路负向调控破骨细胞的分化。研究发现, 在 RANKL 诱导的破骨细胞前体细胞中, TANK mRNA 和蛋白均出现低表达。而体外 TANK^{-/-} 小鼠出现明显的骨小梁损失, 骨皮质密度增加, 进一步检测发现胞内 TRAF6 泛素化上升, 经典途径 NF- κ B 生成增多, 破骨细胞

的转化明显增加^[22]。

TRAF6 与 RANK 结合被泛素化后, 形成 RANK-TRAF6-转化生长因子 β 激活激酶 1 (TAK1) 结合蛋白 2 (TAB2)-TAK1 复合物, 最终激活 NF- κ B 信号通路。NF- κ B 是破骨细胞分化所必需的细胞因子, 有研究发现, NF- κ B1/2 双基因敲除小鼠与 RANKL/RANK 双基因敲除小鼠的破骨细胞分化障碍相似, 它们的破骨前体细胞都停止在分化阶段, 不能够表达破骨细胞分化的重要作用因子, 如: TRAP、组织蛋白酶 K、降钙素受体等, 使破骨前体细胞数量增加, 但是凋亡没有增加; 且由于缺少破骨细胞导致的骨骼硬化症^[23]。由此可见, RANK 与 TRAF6 的结合在破骨细胞形成的每一步中都是十分重要的。

3 TRAF6 与成骨细胞

成骨细胞 (osteoblast, OB) 是骨形成的主要功能细胞, 负责骨基质的合成、分泌和矿化。在骨形成过程中要经历成骨细胞增殖, 细胞外基质成熟、细胞外基质矿化和成骨细胞凋亡 4 个阶段。过去的几年内, 有关成骨细胞的分化、成熟调控的分子机制不断被完善, 如 Wnt 蛋白、骨形成蛋白 (bone morphogenic protein, BMP)、成纤维生长因子、胰岛素样生长因子等, 以及抑制成骨细胞分化增殖的细胞因子如肿瘤坏死因子等^[24]。近年来研究发现, TRAF6 参与 TGF β 家族成员引起的 TAK1-MAPKs 的激活, 在成骨细胞的分化成熟等方面起着重要作用^[27]。

BMPs 属转化生长因子- β 超家族成员, 是一组结构相关的多功能蛋白, 在各种器官发生 (包括骨和软骨的形成) 中起重要作用, 其主要通过结合并激活细胞膜上特异性受体, 通过 Smads 依赖性和 Smads 非依赖性两种途径传递信号, 促进 MSCs 向 OB 分化。研究发现, TRAF6 过表达降低 Smad1 蛋白稳定性抑制 Smad1 的表达, 进而抑制成骨细胞的分化和骨矿化; 而 TRAF6^{-/-} 小鼠上调 Smad1 的表达, 说明 TRAF6 可以通过 BMP-Smad1 通路调控 OB 的分化。进一步研究显示, TRAF6 不能促进 OB 的增殖, 但是其通过 Runx2 和 Osx 的表达抑制成骨细胞的分化, 且该抑制作用可以被 Smad1 逆转, 表明 TRAF6 与成骨细胞的分化关系密切, 该作用通过 Smad1 介导, 调节 BMP 通路抑制 OB 的分化^[25,26]。

RUNX2 是转录因子 RUNXX 家族成员之一, 作为成骨细胞的特异转录因子, 对骨组织的形成和重建起着重要作用。有研究发现, 间充质前体细胞 Runx2 在 TAK1-p38 蛋白轴 Smads 非依赖性途径的

激活是必不可少,质子泵抑制剂兰索拉唑可以与泛素C末端结合抑制去泛素酶CYLD活性进而增强TRAF6的多泛素化,上调RUNX2的表达,随后RUNX2通过与成骨细胞特异性顺式作用元件2(OSE2)相结合刺激碱性磷酸酶(ALP)的表达,从而间接刺激间充质干细胞向OB分化^[28]。

目前相关研究主要集中在破骨细胞,有限的研究尚不能确定TRAF6表达与成骨细胞之间的联系,进一步深入研究两者之间的关系,也许在骨代谢性疾病的防治方面可开辟一条可行的新途径。

4 TRAF6与骨代谢性疾病

Lomaga等^[29]发现4周龄TRAF6^{-/-}小鼠表现为严重骨骼硬化症如长骨特别是股骨长度变短、基底骨变宽,扁骨的骨骼结构和形态显示正常,X平片提示骨密度增加以及没有门牙和白齿等牙齿萌出缺陷表现。

李霞等^[30]选用TRAF6^{-/-}的大鼠,发现牙胚发育过程中TRAF6呈动态时空表达模式:从牙板开始增厚时牙板上皮细胞就表达TRAF6,尤其钟状早期内釉细胞及钟状晚期(硬组织形成期)成釉上皮细胞质TRAF6强阳性表达;牙乳头间充质细胞及成牙本质细胞在钟状早期时TRAF6呈阳性表达,至硬组织形成期成牙本质细胞质强阳性表达TRAF6,而牙乳头间充质细胞变为弱阳性表达,至出生后7d时未见表达。表明TRAF6可能在牙胚细胞增殖、分化和发育中发挥重要作用。

Zhu等^[31,32]研究发现,RA患者滑膜组织TRAF6表达与血清骨代谢标志物I型前胶原氨基端前肽(PINP)、骨钙素降解产物(N-MID. OC)呈正相关($r = 0.381, 0.345, P < 0.05$)。提示滑膜TRAF6表达增加可能与RA代偿性骨形成增加有关,TRAF6可能通过介导滑膜炎参与RA的骨代谢失衡。具体机制可能与TRAF6在破骨细胞膜与RANK结合并激发了TRAF6的募集并进一步激活NF- κ B和NFATc1促使破骨细胞的形成有关。

Liu等^[36]通过培养人关节软骨细胞(从骨关节炎患者收获),用IL-1 β 刺激的软骨细胞TLR4和下游的信号分子MyD88和TRAF6显著上调,以及由此刺激TNF α 的合成和NF- κ B的活化均有明显增加。表明TRAF6可能在骨关节炎患者软骨病变过程中发挥重要作用。

p62/SQSTM1是一个由SQSTM1编码的多功能泛素结合蛋白,其一级结构序列中有一个可以

与TRAF6结合的结构域^[33]。有研究发现,在RANK诱导信号中,p62蛋白通过与TRAF6聚集形成p62-TRAF6信号复合物,与非典型蛋白激酶C(aPKC)蛋白相互作用,通过NF- κ B抑制物的激酶(IKKb)的磷酸化,调节NF- κ B的活化,促进破骨细胞的形成及活化,在骨代谢的调节及骨质疏松的形成中发挥重要的作用^[34]。SQSTM1基因突变是在Paget骨病患者中检出率最高的基因突变,有研究发现,p62蛋白的变异减弱了p62与TRAF6的结合能力,导致了NF- κ B信号通路的增强以及增加了破骨祖细胞对RANKL、TNF的敏感性^[35],因此调控TRAF6有可能成为研究和治疗Paget骨病的一种方法和手段。

5 总结与展望

骨代谢是骨组织不断进行改建活动的一个复杂过程,其中破骨细胞发挥吸收骨基质的功能,而成骨细胞起着合成骨基质的作用,二者相辅相成,缺一不可。随着骨免疫学的发展,研究破骨细胞/成骨细胞的分化成熟与免疫炙手可热。TRAF6是近年来在骨代谢及骨免疫中起重要调节作用的接头蛋白,其不仅参与CD40、IL-1R/TLRs信号转导激活的NF- κ B和JNK信号通路调控DCs细胞、B细胞的成熟、增殖和分化,还介导RANKL/RANK通路直接或间接作用于骨分化,特别是对破骨细胞的分化、成熟、活化等各个方面都有影响,研究亦较多和成熟,而有关成骨细胞相关研究有待进一步开展,以期为骨质疏松、骨关节炎等疾病的治疗开拓新的思路。

【参 考 文 献】

- [1] Xie P. TRAF molecules in cell signaling and in human diseases. *J Mol Signal*, 2013, 8(1):7.
- [2] Ye H, Arron JR, Lamothe B, et al. Distinct molecular mechanism for initiating TRAF6 signalling. *Nature*, 2002, 418(6896):443-447.
- [3] Chung JY, Park YC, Ye H, et al. All TRAFs are not created equal: common and distinct molecular mechanisms of TRAF-mediated signal transduction. *J Cell Sci*, 2002, 115(4), 679-688.
- [4] Zotti T, Vito P. The seventh ring: exploring TRAF7 functions. *J Cell Physiol*, 2012, 227, 1280-1284.
- [5] Wang Y, Zhang P, Liu Y, et al. TRAF-mediated regulation of immune and inflammatory responses. *Sci China Life Sci*, 2010, 53:159-168.
- [6] Ishida T, Mizushima S, Azuma S, et al. Identification of TRAF6, a novel tumor necrosis factor receptor-associated factor

- protein that mediates signaling from an amino-terminal domain of the CD40 cytoplasmic region. *J Biol Chem*, 1996, 15, 271(46): 28745-28748.
- [7] Cao Z, Xiong J, Takeuchi M, et al. TRAF6 is a signal transducer for interleukin-1. *Nature*, 1996, 383(6599), 443-446.
- [8] Wu H, Arron JR. TRAF6, a molecular bridge spanning adaptive immunity, innate immunity and osteoimmunology. *Bioessays*, 2003, 25(11):1096-1105.
- [9] Chung JY, Lu M, Yin Q, et al. Molecular basis for the unique specificity of TRAF6. *Adv Exp Med Biol*, 2007, 597:122-130.
- [10] Inoue J, Ishida T, Tsukamoto N, et al. Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF) family: adapter proteins that mediate cytokine signaling. *Exp Cell Res*, 2000, 254(1):14-24.
- [11] Ikeda K, Takeshita S. The role of osteoclast differentiation and function in skeletal homeostasis. *J Biochem*, 2016, 159(1):1-8.
- [12] Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG System in Immunity, Bone, and Beyond. *Front Immunol*, 2014, 20(5):511.
- [13] Armstrong AP, Tometsko ME, Glaccum M, et al. A RANK/TRAF6-dependent signal transduction pathway is essential for osteoclast cytoskeletal organization and resorptive function. *J Biol Chem*, 2002, 277(46):44347-44356.
- [14] Kadono Y, Okada F, Perchonock C, et al. Strength of TRAF6 signalling determines osteoclastogenesis. *EMBO Rep*, 2005, 6(2):171-176.
- [15] Kobayashi N, Kadono Y, Naito A, et al. Segregation of TRAF6-mediated signaling pathways clarifies its role in osteoclastogenesis. *EMBO J*, 2001, 20(6):1271-1280.
- [16] Lamothe B, Lai Y, Xie M, et al. TAK1 is essential for osteoclast differentiation and is an important modulator of cell death by apoptosis and necroptosis. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(3):582-595.
- [17] Ikeda F, Matsubara T, Tsurukai T, et al. JNK/c-Jun signaling mediates an anti-apoptotic effect of RANKL in osteoclasts. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(6):907-914.
- [18] Lee K, Chung YH, Ahn H, et al. Selective regulation of MAPK signaling mediates RANKL-dependent osteoclast differentiation. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(2):235-245.
- [19] Tomomura M, Suzuki R, Shirataki Y, et al. Rhinacanthin C inhibits osteoclast differentiation and bone resorption; roles of TRAF6/TAK1/MAPKs/NF- κ B/NFATc1 signaling. *PLoS One*, 2015, 10(6):e0130174.
- [20] Yen ML, Hsu PN, Liao HJ, et al. TRAF-6 dependent signaling pathway is essential for TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induces osteoclast differentiation. *PLoS One*, 2012, 7(6):e38048.
- [21] Nakamura I, Kadono Y, Takayanagi H, et al. IL-1 regulates cytoskeletal organization in osteoclasts via TNF receptor-associated factor 6/c-*Src* complex. *J Immunol*, 2002, 168(10):5103-5109.
- [22] Maruyama K, Kawagoe T, Kondo T, et al. TRAF family member-associated NF- κ B activator (TANK) is a negative regulator of osteoclastogenesis and bone formation. *J Biol Chem*, 2012, 287(34):29114-29124.
- [23] Xing L, Carlson L, Story B, et al. Expression of either NF- κ B p50 or p52 in osteoclast precursors is required for IL-1-induced bone resorption. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(2):260-269.
- [24] Nishimura R. Bone and calcium update; bone research update. Regulatory mechanisms in osteoblast differentiation. *Clin Calcium*, 2011, 21(12):103-112.
- [25] Chau JF, Jia D, Wang Z, et al. A crucial role for bone morphogenetic protein-Smad1 signalling in the DNA damage response. *Nat Commun*, 2012, 15(3):836.
- [26] Li L, Wang J, Chau JF, et al. Smad1 stabilization and delocalization in response to the blockade of BMP activity. *Cell Mol Biol Lett*, 2013, 18(3):340-354.
- [27] Yamashita M, Fatyol K, Jin C, et al. TRAF6 mediates Smad-independent activation of JNK and p38 by TGF- β . *Mol Cell*, 2008, 31(6):918-924.
- [28] Mishima K, Kitoh H, Ohkawara B, et al. Lansoprazole upregulates polyubiquitination of the TNF receptor-associated factor 6 and facilitates Runx2-mediated osteoblastogenesis. *EBio Medicine*, 2015, 2(12):2046-2061.
- [29] Lomaga MA, Yeh WC, Sarosi I, et al. TRAF6 deficiency results in osteopetrosis and defective interleukin-1, CD40, and LPS signaling. *Genes Dev*, 1999, 13(8):1015-1024.
- [30] 李霞,肖明振,余擎,等. TRAF6在大鼠牙胚发育过程中的表达. *实用口腔医学杂志*, 2005, 21(1):75-77.
- Li X, Xiao MZ, Yu J, et al. The expression of TRAF6 in the process of rat tooth germ development. *J Pract Stomatol*, 2005, 21(1):75-77.
- [31] Zhu LJ, Dai L, Zheng DH, et al. Upregulation of tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 correlated with synovitis severity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(3):R133.
- [32] 朱浪静, 欧阳霞, 郑东辉, 等. 类风湿关节炎患者滑膜 TRAF6 表达与血清骨代谢标志物的相关性. *中华医学杂志*, 2014, 94(21):1643-1646.
- Zhu LJ, Ouyang X, Zheng DH, et al. Correlation of synovium TRAF6 expression in patients with rheumatoid arthritis and serum bone metabolic markers. *Chinese Medical Journal*, 2014, 94(21):1643-1646.
- [33] McManus S, Roux S. The adaptor protein p62/SQSTM1 in osteoclast signaling pathways. *J Mol Signal*, 2012, 4(7):1.
- [34] Cavey J R, Ralston S H, Sheppard P W, et al. Loss of ubiquitin binding is a unifying mechanism by which mutations of SQSTM1 cause Paget's disease of bone. *Calcif Tissue Int*, 2006, 78(5):271-277.
- [35] Rea SL, Walsh JP, Layfield R, et al. New insights into the role of sequestosome 1/p62 mutant proteins in the pathogenesis of Paget's disease of bone. *Endocr Rev*, 2013, 34(4):501-524.
- [36] Liu L, Gu H, Liu H, et al. Protective effect of resveratrol against IL-1 β -induced inflammatory response on human osteoarthritic chondrocytes partly via the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway: an "in vitro study". *Int J Mol Sci*, 2014, 15(4):6925-6940.

(收稿日期:2016-07-28;修回日期:2016-09-01)