

ATP6V1H 基因在骨代谢中的作用

马锦锦¹, 应俊^{2,3}, 段小红⁴, 肖鲁伟^{2,3}, 金红婷^{2,3}, 冯剑颖¹

(1.浙江中医药大学口腔医学院, 浙江 杭州 310053; 2.浙江中医药大学第一临床医学院, 浙江 杭州 310053; 3.浙江省骨伤研究所, 浙江 杭州 310053; 4.空军军医大学口腔医院口腔生物学教研室 军事口腔医学国家重点实验室, 陕西 西安 710032)

【摘要】 骨质疏松是临床常见的骨科疾病之一, 能够导致多种并发症, 该疾病致病因素较多, 最新研究发现 ATP6V1H 是导致骨质疏松发生的新型基因, 并很有可能成为未来药物治疗骨质疏松症的新靶点, 其编码的蛋白是囊泡型 ATP 酶的 H 亚基。本文介绍了 H 亚基的生物学结构和特性, 总结了因 ATP6V1H 部分缺失引起人体及动物模型如斑马鱼、小鼠骨量减少及骨密度降低等骨质疏松症状的相关研究报道, 从破骨细胞、成骨细胞、骨髓基质细胞层面及其与各亚基之间的联系进一步阐述了 H 亚基调控骨动态平衡的机制, 为探索 ATP6V1H 在骨发生发育及骨相关疾病方面奠定了基础, 也为临床治疗骨质疏松提供新思路。

【关键词】 ATP6V1H; 骨质疏松; 骨平衡; 综述

中图分类号: R336

DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.2021.03.015

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Role of ATP6V1H gene in bone metabolism MA Jin-jin, YING Jun, DUAN Xiao-hong, XIAO Lu-wei, JIN Hong-ting, and FENG Jian-ying*. *School of Stomatology, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

ABSTRACT Osteoporosis is one of the common clinical orthopedic diseases, which can lead to a variety of complications. There are many pathogenic factors in this disease. The latest research found that ATP6V1H is a new gene leading to the occurrence of osteoporosis, and it is likely to become a new target for the future drug treatment of osteoporosis. This paper introduces the biological structure and characteristics of H subunit, summed up the human body caused by loss of ATP6V1H and animal models such as zebrafish, mice bone loss and osteoporosis symptom such as related research reports of the loss, from osteoclast, osteoblast and marrow stromal cell level and the connection between the various subunits further expounds the H subunit regulate bone dynamic balance of mechanism, to explore ATP6V1H in bone development and bone related diseases has laid a solid foundation, also provide new ideas for clinical treatment of osteoporosis.

KEYWORDS ATP6V1H; Osteoporosis; Bone balance; Review

V-ATP 酶(vacuolar type H⁺ ATPase), 又称囊泡型 ATP 酶, 广泛分布于真核生物细胞的囊泡、溶酶体、突触小泡、高尔基体等内膜系统上, 是生物体内的微型马达, 负责生物体内水解 ATP, 调节生物膜内外环境中的 pH。V-ATPase 由 V1 和 V0 两部分组成。V1 是一种位于细胞质内的外周蛋白复合体, 包括 8 种亚基, 参与 ATP 水解; V0 是一种跨膜蛋白, 由 6 个亚基组成, 形成一个环状结构, 其主要功能是氢离子的跨膜转运, 以调节组织细胞的酸碱环境^[1]。V-ATP 酶各个亚基与骨骼疾病关系密切, 如 TCRIG1, 即 a3 亚基突变可导致骨硬化症, 又称大理石骨症, 或称原发性脆骨硬化症, 是一种少见的全身

性骨结构发育异常的先天性疾病, 但其具体发病机理尚不明确, 可能与骨吸收异常有关^[2-3]; H、B2、d2 等亚基被定位于破骨细胞的褶皱缘处, 呈现显著高表达^[4-5]; ATP6V1G1 已被证实是影响骨密度的多效性基因^[6]; Atp6i 缺陷小鼠存在严重骨硬化症等^[7]。ATP6V1H 是 V-ATP 酶家族的小亚基, 起着连接 V1 和 V0 两部分的作用, 同时也能调控 V-ATP 酶活性。ATP6V1H 与骨质疏松症(osteoporosis), 阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD), 获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome), 胰腺炎(pancreatitis)等均存在密切关系^[8-10]。本文对近年来关于 H 亚基与骨质疏松相关研究进行总结, 对其生物学特性, 机制进行总结分析。

1 骨质疏松症

骨质疏松症是由于多种原因导致的骨密度和骨质量下降, 骨微结构破坏, 造成骨脆性增加, 容易发生骨折的全身性骨病, 分为原发性和继发性两大类。

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81973869)

Found program: National Natural Science Foundation of China (No. 81973869)

通讯作者: 冯剑颖 E-mail: twohorsejy@163.com

Corresponding author: FENG Jian-ying E-mail: twohorsejy@163.com

破骨细胞活性增强是影响骨质疏松骨重建平衡的罪魁祸首。许多抗骨质疏松治疗的目的是抑制破骨作用,如目前常用的骨质疏松治疗药物双磷酸,但其存在一定的副作用,临床报道双磷酸盐会导致颌骨坏死和非典型骨折等,严重影响患者生活质量^[11]。近期研究显示传统中药地黄饮子可作为治疗原发性骨质疏松症的选择^[12-13];淫羊藿总黄酮对促进骨质疏松性骨折愈合亦存在一定作用,但具体机制尚需进一步明确^[14]。众多学者指出骨质疏松也是多种骨科疾病发生的危险因素,如腰椎退变性侧凸(degenerative lumbar scoliosis, DLS),骨质疏松椎体压缩骨折(osteoporosis vertebral compression fracture, OVCF)等^[15-16],目前尚无根治性措施,因此寻求更高效精准的抗骨质疏松治疗靶点迫在眉睫,如直接靶向破骨细胞抑制骨吸收过程,而又不影响成骨细胞骨形成过程的药物。

众多研究表明,调节破骨细胞 V-ATP 酶活性的治疗措施对治疗骨质疏松和其他溶骨性疾病是潜在的有效治疗靶点^[17-18]。目前 H 亚基证实对破骨细胞具有直接抑制作用,然而骨重建是一个动态的过程,需要破骨细胞和成骨细胞的微妙协调。破骨细胞分化的严重抑制会因其偶联效应而影响骨形成,另外破骨细胞与骨细胞相互作用,启动定向骨重建,并通过分泌因子或细胞-细胞接触与骨髓间充质干细胞和成骨细胞相互作用,促进骨形成^[19]。因此,了解 H 亚基在维持骨代谢中的复杂作用对于更好地管理骨质疏松症是非常必要的。

2 骨代谢

2.1 ATP6V1H 与骨质疏松症

骨质疏松是由于人体内成骨细胞和破骨细胞调控骨平衡活性失衡引起的功能性疾病,针对 ATP6V1H 基因研究发现,其位于 8 号染色体,编码的蛋白质含有 483 个氨基酸,是非跨膜亲水蛋白,含有 43 个可能的磷酸化位点,与破骨和成骨相关功能的多种蛋白存在相互作用关系^[20]。

美国国立卫生研究院对具有身材矮小、骨痛、骨密度降低三大特征的一对母子进行外显子测序发现,其 ATP6V1HK387N/N387Y 出现明显变异^[21]。Duan 等^[22]对一个常染色体显性遗传的骨质疏松家系进行临床分析得出其候选基因为 ATP6V1H。1 625 个中国人采取 GWAS 分析显示 ATP6V1H 多个标签单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)在骨密度降低组有显著差异。骨质疏松症也为 II 型糖尿病患者的主要并发症之一,研究表明 II 型糖尿病患者胰岛中 ATP6V1H 基因表达下调^[23]。针对墨西哥人群的研究发现外周血白细胞中

ATP6V1H 基因表达水平下降与糖尿病密切相关^[24]。

目前,小鼠基因组及斑马鱼基因组均与人类基因组高度同源,作为模式生物优势突出。研究显示 ATP6V1H 部分缺失小鼠,6 周出现骨发育不良,3 个月后骨髓基质中成脂细胞明显增多,骨质疏松表现明显^[25];而 ATP6V1H 完全缺失的斑马鱼胚胎骨细胞及矿化骨组织明显减少;成年 ATP6V1H 部分缺失斑马鱼的骨量与骨密度降低,并出现明显的脊椎弯曲现象,椎体腔内几乎无钙化结构^[21],针对斑马鱼骨质疏松表征此前也有学者证实^[26]。

骨骼是脊椎动物的重要组成部分,承担着重要的生理功能如运动、支持和保护身体;制造红血球和白血球;储藏矿物质等,以上人体及动物模型研究均表明 ATP6V1H 缺乏会导致骨骼变化如骨密度的下降等,引发系列疾病,因此 ATP6V1H 具有十分重要的生物学意义,值得进一步研究。

2.2 ATP6V1H 影响破骨细胞的机制

破骨细胞对骨的吸收为骨质疏松发病的直接原因,抑制破骨细胞对骨陷窝的酸化从而抑制骨吸收为研究的热点。ATP6V1H 表达量异常时,骨形成抑制,破骨细胞调节功能异常^[27]。Duan 等^[22]发现 ATP6V1H 表达缺陷对破骨细胞有抑制作用,其对 ATP6V1H 部分缺失小鼠破骨细胞原代培养,TRAP 染色减弱,破骨细胞数量减少且形态不规则,骨吸收陷窝减少,表明 ATP6V1H 缺失会直接抑制破骨细胞数量及其活性,具体机制可能为抑制细胞外酸化影响骨吸收。虽近期研究表明 V1H 亚基发生突变的斑马鱼和哺乳动物中,破骨细胞中 MMP9 高度表达, MMP9 可以降解变性胶原。因此,ATP6V1H 突变体斑马鱼中 MMP9 表达增加可能有助于细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解,但其他破骨细胞基因 Rank 和 CTSK 的表达水平基本保持不变,不足以说明破骨细胞的活性增加,破骨细胞数量的增加可能对骨密度的影响不明显,ATP6V1H 功能的细胞作用靶点仍有待明确^[21]。

ATP6V1H 与 V-ATP 酶的其余亚基关系密切,与破骨细胞相关蛋白之间有直接或间接的相互作用^[20]。H 亚基的同型亚基 d2 和 a3 为破骨细胞中特异性表达重要亚基,均与 V1 部分存在重要联系,a3 和 d2 通过一定程度影响细胞外酸化影响骨吸收^[28]。V1H 的 C 端影响 381 位的半胱氨酸残基与 F 亚基相互作用,从而调节 ATP 酶活性^[29]。在完整 V1V0 复合体中,H 亚基 N 端与 E 亚基接近,当 H 亚基的 C 端与旋转 F 亚基的 N 端靠近,C 端构象改变同时失去与 a 亚基 N 端的结合位点,导致 V1V0 复合体分离,以抑制 ATP 酶活性^[30]。

目前, a 亚基对骨代谢调控机制明确, H 亚基可能通过与 a 亚基的结合、分解, 对破骨细胞的融合、分化、活性上产生一定作用。另外 ATP6V1H 可能在 TGF- β 1 诱导破骨细胞分化途径中产生作用, ATP6V1H 缺失会直接影响破骨细胞的酸化和骨吸收功能, 导致骨质形成减少, 骨质吸收大于骨形成不足, TGF- β 1 分子参与此过程的调节。

2.3 ATP6V1H 影响成骨细胞的机制

生理状况下, 破骨细胞与成骨细胞的相互作用通过胞内外各种信号分子进行介导维持骨骼动态平衡。但 V-ATP 酶并不在成骨细胞中高表达, 目前尚无研究证实 V-ATP 酶对成骨细胞具有影响。Jiang 等^[21]研究显示 ATP6V1H 缺陷斑马鱼的骨形成受到抑制, 中、晚期成骨细胞基因的表达未见明显改变, RNA 原位杂交显示成骨细胞基因表达略有减少。段小红课题组发现 ATP6V1H 部分缺失小鼠成骨细胞数量和面积减少, 矿化沉积率, 骨形成率下降, 成骨标记分子表达量未见明显改变; 体外矿化诱导小鼠原代细胞显示钙化结节形成率与正常组小鼠无差异, 成骨细胞基因表达亦无明显差异; ATP6V1H 基因沉默对成骨细胞系 MC3T3-E1 细胞成骨相关基因表达无明显变化^[22]。H 亚基的同型亚基 d2 已被证实通过影响破骨细胞释放细胞因子, 间接抑制成骨细胞的作用^[28]。

H 亚基抑制骨形成作用并非直接作用于成骨细胞, 推测可能体内存在其他间接途径介导 ATP6V1H 影响成骨细胞的成熟与分化。骨吸收与骨形成在骨动态平衡中共同协作, 发挥关键作用^[31], H 亚基可能通过干扰骨吸收过程中骨基质释放的转化生长因子 (transforming growth factor beta, TGF- β) 以及一些受体配体反应干扰了成骨细胞与破骨细胞的相互作用, 目前已有研究证实到 TGF- β 含量的相关改变, TGF- β 1 明确调控 V-ATP 酶部分亚基蛋白转录与合成^[32], 然而 H 亚基对成骨细胞作用的具体分子作用机制并不明确。

另外在高糖和游离脂肪酸诱导 MC3T3-E1 细胞成骨分化情况下, ATP6V1H 过表达可通过参与 Akt/GSK3 β 信号通路直接促进成骨细胞的成骨分化, 调控内分泌相关信号通路^[21], 提示 H 亚基对骨代谢的影响在特殊疾病患者体内与正常人体可能存在差异, V-ATP 酶与众多疾病关系密切, 如糖尿病 (diabetes mellitus), 流感病毒, 转移性肿瘤, 疱疹性口炎病毒, 值得展开研究。

2.4 ATP6V1H 影响骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 的机制

目前这方面的研究甚少。BMSCs 作为成骨细胞

和脂肪细胞共同的前体细胞源对骨稳态的维持具有非常重要的作用。Li 等^[25]对 ATP6V1H 部分缺失小鼠的骨髓基质细胞进行原代培养, 发现 ATP6V1H 表达抑制可导致骨髓间充质干细胞增殖率下降, 细胞多滞留于 G1 期, S 期与 G2 期的比率相对较低。ATP6V1H 干扰 BMSCs 的成骨分化, 并促进成脂化, 其机制可能与 ATP6V1H、TGF- β 受体 I 和 AP-2 复合物之间的相互作用有关, 证明 ATP6V1H 对骨稳态的调控始于 BMSCs 水平。V-ATP 酶抑制剂通过影响细胞凋亡或细胞周期阻滞抑制肿瘤细胞生长和增殖与 ATP6V1H 缺乏通过影响细胞周期而减慢 BMSCs 的增殖机制类似^[33-34], 可以深入研究。

3 展望与临床应用前景

骨质疏松已成为影响中老年人生活质量的重要原因, 世界卫生组织认为骨质疏松症是目前严重的公共健康问题^[11]。流行病学调查、动物模型和细胞培养等均提示 ATP6V1H 基因与骨质疏松症存在显著的相关性, ATP6V1H 的部分缺失可影响破骨细胞、骨髓间充质干细胞、成骨细胞的活性和细胞分化, 进而扰乱体内正常的动态骨平衡, 导致成骨少于破骨, 引发骨质疏松。ATP6V1H 作为 V-ATP 酶家族的重要成员, 其亚基型的分类、作用机制和信号通路有待进一步明确, ATP6V1H 基因将很有可能成为未来药物治疗骨质疏松症的新靶点。

参考文献

- [1] Futai M, Sun-Wada GH, Wada Y, et al. Vacuolar-type ATPase: a proton pump to lysosomal trafficking[J]. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci, 2019, 95(6): 261-277.
- [2] Capo V, Penna S, Merelli I, et al. Expanded circulating hematopoietic stem/progenitor cells as novel cell source for the treatment of TCIRG1 osteopetrosis[J]. Haematologica, 2021, 106(1): 74-86.
- [3] Palagano E, Muggeo S, Crisafulli L, et al. Generation of an immunodeficient mouse model of tcirg1-deficient autosomal recessive osteopetrosis[J]. Bone Rep, 2020, 12: 100242.
- [4] Zhu X, Zeng Z, Qiu D, et al. V γ 9V δ 2 T cells inhibit immature dendritic cell transdifferentiation into osteoclasts through downregulation of RANK, c-Fos and ATP6VoD2[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(4): 2071-2079.
- [5] Kortum F, Caputo V, Bauer CK, et al. Mutations in KCNH1 and ATP6V1B2 cause Zimmermann-Laband syndrome[J]. Nat Genet, 2015, 47(6): 661-667.
- [6] Tan LJ, Wang ZE, Wu KH, et al. Bivariate genome-wide association study implicates ATP6V1G1 as a novel pleiotropic locus underlying osteoporosis and age at menarche[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(11): E1457-1466.
- [7] Jiang H, Chen W, Zhu G, et al. RNAi-mediated silencing of Atp6i and Atp6i haploinsufficiency prevents both bone loss and inflammation in a mouse model of periodontal disease[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e58599.
- [8] Hu H, Li H, Li J, et al. Genome-wide association study identified ATP6V1H locus influencing cerebrospinal fluid BACE activity[J].

- BMC Med Genet, 2018, 19(1): 75.
- [9] Xu Y, Ren J, He X, et al. YWHA/14-3-3 proteins recognize phosphorylated TFEB by a noncanonical mode for controlling TFEB cytoplasmic localization[J]. *Autophagy*, 2019, 15(6): 1017-1030.
- [10] Wang S, Ni HM, Chao X, et al. Impaired TFEB-mediated lysosomal biogenesis promotes the development of pancreatitis in mice and is associated with human pancreatitis[J]. *Autophagy*, 2019, 15(11): 1954-1969.
- [11] Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis treatment: recent developments and ongoing challenges[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5(11): 898-907.
- [12] 许兵, 金红婷, 王萧枫, 等. 补肾活血含药血清对成骨细胞经典 Wnt/ β -catenin 通路的影响研究[J]. *中国骨伤*, 2015, 28(06): 553-558.
- XU B, JIN HT, WANG XF, et al. Effects of serum of Bushen Huoxue prescription (补肾活血方) on classic Wnt/ β -catenin signaling pathways of osteoblasts[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2015, 28(6): 553-558. Chinese with abstract in English.
- [13] 万俊明, 张建方, 黄恺, 等. 地黄饮子与阿仑膦酸钠治疗原发性骨质疏松症的病例对照研究[J]. *中国骨伤*, 2019, 32(6): 535-538.
- WAN JM, ZHANG JF, HUANG K, et al. Comparison of the clinical effects between Dihuang Decoction (地黄饮子) and alendronate sodium in the treatment of primary osteoporosis[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2019, 32(6): 535-538. Chinese.
- [14] 史晓林, 梁博程, 吴鹏, 等. 淫羊藿总黄酮对去势大鼠骨折原始骨痂形成的影响及其机制[J]. *中国骨伤*, 2017, 30(8): 743-750.
- SHI XL, LIANG BC, WU P, et al. Effect and mechanism of total flavone of epimedium on primary callus formation in ovariectomized rats with fractures[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2017, 30(8): 743-750. Chinese with abstract in English.
- [15] 黄道余, 沈亚骏, 王飞, 等. 退行性腰椎侧凸与骨质疏松症的相关性分析[J]. *中国骨伤*, 2019, 32(3): 244-247.
- HUANG DY, SHEN YJ, WANG F, et al. Correlative analysis of degenerative lumbar scoliosis and osteoporosis[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2019, 32(3): 244-247. Chinese with abstract in English.
- [16] 林顺鑫, 江晓兵, 沈耿杨, 等. 多发骨质疏松椎体压缩骨折的相关因素研究[J]. *中国骨伤*, 2016, 29(9): 836-840.
- LIN SX, JIANG XB, SHEN GY, et al. Risk factors for multiple-level osteoporosis vertebral compression fractures[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2016, 29(9): 836-840. Chinese with abstract in English.
- [17] Bi H, Chen X, Gao S, et al. Key triggers of osteoclast-related diseases and available strategies for targeted therapies: A review[J]. *Front Med(Lausanne)*, 2017, 4: 234.
- [18] Yuan FL, Li X, Lu WG, et al. The vacuolar ATPase in bone cells: a potential therapeutic target in osteoporosis[J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(7): 3561-3566.
- [19] Wang H, Yang G, Xiao Y, et al. Friend or foe? Essential roles of osteoclast in maintaining skeletal health[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 4791786.
- [20] 郝英, 杨少青, 段小红. ATP6V1H 基因及其在骨骼发育中作用的生物信息学分析[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2017, 27(5): 245-249.
- HAO Y, YANG SQ, DUAN XH. Bioinformatics analysis of ATP6V1H gene and its role in bone development[J]. *Ya Ti Ya Sui Ya Zhou Bing Xue Za Zhi*, 2017, 27(5): 245-249. Chinese.
- [21] Jiang F, Shan H, Pan C, et al. ATP6V1H facilitates osteogenic differentiation in MC3T3-E1 cells via Akt/GSK3 β signaling pathway[J]. *Organogenesis*, 2019, 15(2): 43-54.
- [22] Duan X, Liu J, Zheng X, et al. Deficiency of ATP6V1H causes bone loss by inhibiting bone resorption and bone formation through the TGF- β 1 pathway[J]. *Theranostics*, 2016, 6(12): 2183-2195.
- [23] Molina MF, Qu HQ, Rentfro AR, et al. Decreased expression of ATP6V1H in type 2 diabetes: a pilot report on the diabetes risk study in Mexican Americans[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 412(4): 728-731.
- [24] Olsson AH, Yang BT, Hall E, et al. Decreased expression of genes involved in oxidative phosphorylation in human pancreatic islets from patients with type 2 diabetes[J]. *Eur J Endocrinol*, 2011, 165(4): 589-595.
- [25] Li L, Yang S, Zhang Y, et al. ATP6V1H regulates the growth and differentiation of bone marrow stromal cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(1): 84-90.
- [26] Nuckels RJ, Ng A, Darland T, et al. The vacuolar-ATPase complex regulates retinoblast proliferation and survival, photoreceptor morphogenesis, and pigmentation in the zebrafish eye[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(2): 893-905.
- [27] Zhao W, Zhang Y, Yang S, et al. Analysis of two transcript isoforms of vacuolar ATPase subunit H in mouse and zebrafish[J]. *Gene*, 2018, 638: 66-75.
- [28] 刘瑾, 段小红. ATP6 V0 D2 的结构、功能及应用[J]. *医学分子生物学杂志*, 2016, (4): 234-237.
- LIU J, DUAN XH. Structure, function and application of ATP6 V0 D2[J]. *Yi Xue Fen Zi Sheng Wu Xue Za Zhi*, 2016, (4): 234-237. Chinese.
- [29] Jefferies KC, Forgac M. Subunit H of the vacuolar(H⁺) ATPase inhibits ATP hydrolysis by the free V1 domain by interaction with the rotary subunit F[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(8): 4512-4519.
- [30] Kang C, Sun F, Yan L, et al. Genome-wide identification and characterization of the vacuolar H⁺-ATPase subunit H gene family in crop plants[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 5125.
- [31] Chen X, Wang Z, Duan N, et al. Osteoblast-osteoclast interactions[J]. *Connect Tissue Res*, 2018, 59(2): 99-107.
- [32] Kluge M, Namkoong E, Khakipoor S, et al. Differential regulation of vacuolar H⁺-ATPase subunits by transforming growth factor- β 1 in salivary ducts[J]. *J Cell Physiol*, 2019.
- [33] Luong B, Schwenk R, Bräutigam J, et al. The vacuolar-type ATPase inhibitor archazolid increases tumor cell adhesion to endothelial cells by accumulating extracellular collagen[J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e0203053.
- [34] Bartel K, Winzi M, Ulrich M, et al. V-ATPase inhibition increases cancer cell stiffness and blocks membrane related Ras signaling-a new option for HCC therapy[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(6): 9476-9487.