四川大学学报（医学版） 2020，51（6）：777－782
J Sichuan Univ（Med Sci Edi）

信号通路调控骨髓间充质干细胞成骨分化的研究*

周陈晨，吴祖平，邹淑娟△
口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院（成都 610041）

【摘要】 骨髓间充质干细胞的成骨分化受到多条信号通路调控，直接或间接影响矮小相关转录因子2（runt-related transcription factor 2, Runx2）和成骨细胞特异性转录因子（osterix, Osx）等成骨关键转录因子的表达，在骨的发育与再生、骨的修复重建过程中发挥了关键作用。这些通路各自发挥其作用机制，但又相互交织关联构成了一个复杂的信号调控网络，但由于研究手段的局限，成骨分化相关信号通路的具体作用机制仍不明了，若能阐明这些不同的信号通路各自发挥其作用的相关机制及各条通路之间的相互关系，对成骨分化的机制研究具有重要的意义。本文将对各种信号通路在骨髓间充质干细胞成骨分化调控研究中所取得的进展做一综述。

【关键词】 骨髓间充质干细胞 成骨分化 信号通路

The Study of Signal Pathway Regulating the Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

ZHOU Chen-chen, WU Zu-ping, ZOU Shu-juan△. *State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University*, Chengdu 610041, China
△ Corresponding author, E-mail: shujuanzou@aliyun.com

【**Abstract**】 Osteogenesis of mesenchymal stem cells to differentiate between bone marrow by multiple signaling pathways that control, directly or indirectly affect small related transcription factor 2 (runt-related transcription factor 2, Runx2) and osteoblast specific transcription factor (osterix, Osx), the expression of osteogenesis key transcription factors, such as in the development and regeneration of the bone, bone repair has played a key role in the process of reconstruction. These pathways play their mechanism of action, but also intertwined associated constitute a complex signal transduction network, but due to the limitations of research methods, the osteogenic differentiation related signaling pathways of the specific mechanism is still unclear, if you can clarify these different signaling pathways play to the role of their relevant mechanism and the relationship between various pathways and the mechanism study of osteogenesis differentiation is of great importance. This article will review the progress of various signaling pathways in the regulation of osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells.

【**Key words**】 Bone mesenchymal stem cells Osteogenic differentiation Signaling pathway

骨髓间充质干细胞（bone mesenchymal stem cells, BMSCs）是人们在哺乳动物的骨髓基质中发现的能够分化产生软骨、骨、脂肪、成肌细胞、神经的细胞群，它有多种类型，且具有分化潜能，还具有高度稳定的体外扩增能力及多向分化潜力，被广泛应用于免疫调节、组织修复、器官重建、组织工程、药物开发等多个研究领域[1-2]。中胚层是BMSCs的主要来源，这种细胞能够在多个器官间质及全身结缔组织中存在，以骨髓含量最丰富，不同条件下，BMSCs可以分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞以及神经细胞等多种类型的组织细胞[3]。

成骨分化是骨生成的关键步骤，即BMSCs经历成骨祖细胞、成骨前体细胞、成骨细胞最终分化为骨细胞的一个复杂的过程，其中涉及到多种类型细胞间和细胞内的信号传递，如信号通路、转录因子、生长因子、microRNA等，形成了一个完整的骨代谢调控网络系统[4-5]。多条信号通路参与BMSCs的成骨分化，并且在骨再生与骨重建过程中发挥了关键作用，如Notch[6-7]、刺猬信号通路（Hedgehog）[8-9]、骨形态发生蛋白（bone morphogenetic protein, BMP）-Smad[10-11]、Wnt/β-catenin[12-13]、丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）[14-15]、成纤维生长因子（fibroblast growth factor, FGF）[16-17]、Ras同源基因家族成员A/Rho激酶（Rho-associated kinase, RhoA/ROCK）[18-19]等，这些信号通路相互交织构成复杂的调控网络，调控BMSCs成骨分化。本文将对各种信号通路在BMSCs成骨分化调控研究中所取得的进展进行综述，展望未来发展方向。

1 Notch通路

Notch信号通路在动物组织细胞信号通路中广泛存在，并保持高度保守的进化模式，调节细胞增殖、分化和凋亡，其配体和受体都是细胞膜表面蛋白，是介导细胞间信号传递的重要方式。Notch基因主要包括Notch受体及配体、细胞内效应器分子，它以膜蛋白受体为编码对象。

* 国家自然科学基金青年科学基金项目（No. 81901040）和中国博士后科学基金面上资助项目（No. 2019M653440）资助

△ 通信作者，E-mail: shujuanzou@aliyun.com

对于Notch信号而言，其通路活化主要由CSL非依赖途径与转录因子CBF-1/RBP-Jκ依赖途径组成。当相邻细胞表面的同源配体与受体结合，Notch受体的胞外部分和跨膜部分分别经TACE、γ-分泌酶水解，引起Notch受体胞内部分(Notch intracellular domain，NICD)从细胞膜上脱落并移入核内。在细胞核中NICD与RBPJ、MAML相互作用，将转录抑制子转化为激活子，激活下游HES家族、HEY家族等的基因表达[20]。Notch信号对于细胞多个正常形态的发生都有一定影响，如细胞凋亡、增殖、细胞边界形成等，Notch基因位点突变可导致表型改变，这也充分反映出Notch信号的作用具有显著多样性。

BMSCs的多条分化途径都有Notch信号通路存在，如调控神经细胞、调控成骨细胞等[21-22]。TEZUKA等[23]的研究显示成骨前体细胞分化早期Notch1的表达会显著增高，且该细胞存在NICD过表达时在成骨分化阶段的钙结节产生量也会变多。外源性Notch能够实现对多能间充质细胞系的成骨分化起到一定诱导作用，而对其成脂分化起到一定抑制作用[24]。Notch是影响细胞分化的重要信号通路之一。我们利用RT-PCR可以检测出人体BMSCs表达Notch1和下游分子DTX1，这说明Notch信号可能对BMSCs的增殖分化起到一定的调节作用[25]。Notch1基因胞内区(intracellular domain of Notch，ICN)为Notch蛋白活性形式，即便无配体也能在载体的介导作用下实现ICN转染细胞来达到激活Notch信号的目的。克隆*ICN*基因，构建携带*ICN*的逆转录病毒载体，感染BMSCs后用地塞米松诱导其向成骨细胞分化；转染ICN激活Notch信号的BMSCs较对照细胞在分化时碱性磷酸酶活力显著提升，钙沉积变多，说明Notch信号对BMSCs的成骨细胞分化作用有显著促进效果[26]。NICD转基因鼠的成骨显著增加且表现为严重的骨硬化症，其骨组织结构异常紊乱且骨钙素(OCN)的表达明显减少，提示成骨细胞存在成熟缺陷，可能是NICD与Runx2结合并抑制后者激活OCN导致成骨细胞的未成熟状态[25]。

2 MAPK信号通路

MAPK是信号经细胞表面传导至细胞核内的主要载体，传统的MAPK包括3个亚家族成员：细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases，ERK)1/2、ERK5；c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase，JNK)1/2/3；p38。MAPK通路主要参与转导胞外刺激(环境压力、生长因子、细胞因子等)引起细胞生长、分化和凋亡。一旦细胞接触刺激物，MAPKK激酶(MAP3K)被激活并磷酸化MAPK激酶(MAP2K)，而后磷酸化激活MAPK[27]。其共同调节细胞的生长、分化、对环境的应激适应、炎症反应等过程，所有的真核细胞都能表达MAPK。MAPK信号通路在骨发育和骨代谢中发挥重要作用。

通过化学抑制JNK或siRNA干扰其表达，引起矿化减少、成骨标志物表达下降，在活性状态下促进成骨[28]。选择性p38抑制剂作用于成骨细胞系或原代细胞的结果显示，p38在受成骨诱导性配体BMP2、Wnt蛋白、甲状旁腺激素(parathyroid hormone，PTH)激活后表现出调控成骨分化、胞外基质沉积及矿化的作用，p38被BMP激活后通过促进Smad1磷酸化及核定位促进成骨分化[29]。p38通路在Wnt3a作用下可以募集间充质干细胞。PTH通过蛋白激酶A(PKA)激活p38调控成骨细胞的功能，说明PTH是p38上游分子之一[30]。

成骨细胞与破骨细胞的动态平衡维持着骨的稳态，破骨细胞和成骨细胞活性失衡会影响到骨生成与吸收作用，导致骨病发生。正常情况下破骨细胞与成骨细胞之间的作用十分协调紧密，能够有效防止骨增生与骨丢失。炎症可以造成成骨细胞与破骨细胞作用协调失衡，导致骨损失，出现关节炎、骨髓炎、根尖周炎、牙周炎骨损失等慢性炎症性骨病。MAPK信号通路调节成骨分化，可以针对各因素刺激分别进行相应调节，比如采用适合MAPK激酶的抑制剂作用于MC3T3-E1细胞，根据碱性磷酸酶活性与Western blot对肿瘤坏死因子-α(TNF-α)成骨细胞分化中MAPK信号通路的调控作用进行检测，对于MC3T3-E1细胞成骨的分化而言MAPK信号通路作用极其显著，尤其是在TNF-α对MC3T3-E1细胞成骨分化过程中JNK与ERK通路发挥着重要的调控作用；在MC3T3-E1细胞内TNF-α上调葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter type 1，GLUT1)表达过程中p38 MAPK与JNK通路发挥着重要的调控作用。TNF-α依托核因子-κB(NF-κB)与MAPK信号通路来实现对MC3T3-E1细胞内GLUT1表达的调控，以此来实现对细胞糖代谢过程的调节[31-33]。通过调控骨钙素启动子激活抑制性促分裂原活化蛋白激酶激酶1(MEK1)，此时小鼠表现为颅骨和锁骨缺陷，与Runx2缺乏的表型相似。而$Runx^{+/-}$的表型可被活性MEK1恢复[34]。MATSUSHITA等[35]通过ERK1/2双突变鼠证明ERK1/2在成骨分化中具有促进作用，并能够抑制软骨膜周围的软骨分化。Runx2磷酸化被普遍认为是ERK信号通路促进成骨分化的机制：MEK1抑制物可阻滞Runx2诱导的骨钙素表达[34]；ERK1/2特异的丝氨酸残基(Ser301、319)与Runx2的激活能力有关[36]。

力学刺激对MAPK信号通路对MG-63成骨样细胞护

骨素(osteoprotegrin, OPG)表达影响的研究, 发现机械力学刺激上调了MG-63成骨样细胞OPG蛋白及mRNA的表达, ERK1/2信号通路可能参与了此过程。

3　FGF信号通路

FGF由哺乳动物的成纤维细胞生长因子家族由18种分泌蛋白组成, 与酪氨酸激酶组成的4种FGF受体(FGFR)作用的传递信号。FGF与其信号受体的相互作用受到蛋白质、蛋白多糖辅因子和细胞外结合蛋白的调节。胚胎器官发生中FGF信号通路的作用不可替代, 特别是上皮细胞和间充质细胞之间的相互作用是由FGF信号所调节, 这对于整个肺及四肢发育都有显著影响[37]。

FGF信号通路在骨形成和骨发育中都发挥着重要的作用, FGF/FGFR信号可调控成骨细胞分化过程中不同标志性基因的表达, 通过对涉及骨祖细胞复制进行调节, 使得不同基因的表达控骨在成骨细胞凋亡和分化时形成[38]。FGF/FGFR信号可以通过与BMP、Wnt和PTH信号通路的相互作用, 调控成骨细胞分化。FGFR突变会引起成骨细胞分化异常, 出现颅缝早闭、骨质疏松、异位骨化等骨病。MARUYAMA等[38]发现, 颅缝发育时具有对干细胞更新、分化和增殖进行控制的作用, 其原理是当中的Wnt/β-catenin信号能够对BMP和FGF/FGFR信号通路的活性进行平衡。成骨细胞的分化会因为FGF1拮抗Wnt/β-catenin信号发生传导而被阻断[39]。FGF/FGFR信号能够直接对成骨细胞产生作用, FGF也对骨生成的调控需要借助其他信号才能实现, 如骨形成蛋白信号, 小鼠FGF2不足时, 其骨组织MBP表达降低, BMP2与FGF2相互作用可刺激成骨细胞功能[40]。

FGF信号通路在牙发育中发挥调控作用。实验鼠前牙和磨牙发育FGF3、FGF4、FGF7、FGF8、FGF9、FGF10的早期表达模式的研究发现, FGF信号通路在牙发育中起到了重要作用[41]。

4　RhoA/ROCK信号通路

RhoA属于RhoGTP亚家族蛋白。RhoA能够激活下游的ROCK激酶, 进而影响细胞分子的生成和分泌, 并产生相应的生物学效应, 这一系列反应构成RhoA/ROCK信号通路[42]。RhoA/ROCK信号通路是调控细胞骨架的关键信号通路之一, RhoA/ROCK信号对BMSCs的成骨分化的作用是基于改变细胞骨架实现的[43]。在BMSCs向神经细胞分化的过程中, RhoA/ROCK信号通路扮演着极其重要的角色, 人牙膜细胞在牵张应力的作用下拥有惊人的骨分化能力, 这种能力就是RhoA/ROCK信号通路赋予的。对RhoA/ROCK信号通路进行激活可以加速骨髓间充质干细胞成骨的分化, 这已是医学界不争的事实[44]。BMSCs在RhoA/ROCK信号通路不通畅的情况下会分化成为成脂和软骨; 此时BMSCs会在激活了RhoA/ROCK信号通路的情况下分化成为成骨, 骨质疏松的干细胞因为内微环境发生变化而分化成为成脂或成骨, 造成这种现象的原因有很多, RhoA/ROCK信号通路也调节破骨细胞活性[45]。

RhoA/ROCK信号通路在调节软骨细胞功能方面亦发挥重要作用, 影响软骨细胞功能的细胞因子、生长因子、力学刺激等均可通过该通路产生生物学效应。软骨生长受RhoA/ROCK信号通路过度表达的影响, 当RhoA/ROCK信号受到抑制时, 可以加速软骨前提细胞的生长[46]。RhoA/ROCK信号通路影响软骨细胞功能的细胞因子、生长因子、力学刺激等生物学效应。RhoA/ROCK信号通路在骨关节炎模型中表达上调[47]。RhoA/ROCK信号通路调控着流体剪切力介导的成骨细胞细胞骨架的改建[48]。RhoA-ROCK通路作为应力纤维装配以及黏着斑形成的关键调节因素, 参与力学信号传递, 在机械信号改变BMSCs细胞特性以及分化方向中发挥重要作用。压力作用下RhoA/ROCK通路在BMSCs细胞增殖活性、细胞骨架装配, 以及骨向、软骨向分化过程中的作用[49]。RhoA/ROCK信号通路在骨质疏松BMSCs中表达降低, 可能是骨质疏松发病的重要原因之一。

5　Wnt信号通路

Wnt信号通路是一个复杂的蛋白质作用网络, 主要与胚胎发育和肿瘤发生关系密切。充质干细胞向成骨细胞分化或是增殖受Wnt信号通路的双向调节作用, 而且可以加速其衰老的速度, 使之很快分化为神经细胞, 阻止其成为脂肪细胞。间充质干细胞的衰老及其分化为成骨细胞时都有Wnt信号的参与, 使之不会分化为神经细胞, 而是脂肪细胞, 为其应用于骨组织工程、神经损伤修复等领域提供了新的研究靶点[50]。

研究表明, 抑制Wnt信号通路转导可使成骨细胞分化进程受阻, 抑制骨形成; 诱导Wnt家族成员表达则可上调成骨细胞特异性基因表达, 促进骨形成。通过调控Wnt信号转导通路影响成骨细胞、软骨细胞, 可作为骨关节炎的策略。调控Wnt/β-catenin信号通路保护或修复软骨细胞, 避免其缺损, 还具有维稳细胞, 减缓衰老, 保护软骨, 促进软骨修复及关节康复的作用[51]。

间充质细胞条件性β-catenin基因敲除鼠在骨骼发育期表现出显著减弱的成骨分化[52]。然而, Wnt/β-catenin

信号通路对成骨分化的影响还取决于细胞所处的发育阶段。体外激活Wnt/β-catenin信号通路可以促进间充质干细胞的增殖,但抑制其成骨分化[53]。一旦间充质干细胞开始向成骨细胞系分化,Wnt/β-catenin信号通路虽能促进细胞生长和分化,但阻碍其终末分化为成熟的成骨细胞[54]。这一阶段依赖的现象同样表现在人类疾病中,如骨纤维异常增殖症是由于上调的Wnt/β-catenin信号通路引起的成骨细胞分化和成熟障碍所导致的[20]。

6 BMP-Smad信号通路

骨代谢同时受多种细胞因子及生长因子的调控,BMP便是其中之一。BMP在骨代谢过程中起着关键性的调控作用。BMP属于转化生长因子-β(TGF-β)超家族,是一类多效性细胞因子,根据序列相似性和功能可以将BMP分为4个亚族:BMP-2和BMP-4;BMP-5、-6、-7、-8a和-8b;BMP-9和BMP-10;BMP-3、-3b、-11、-12、-13、-14、-15和-16。TGF-β超家族的成员均通过结合双受体系统——Ⅰ型和Ⅱ型跨膜丝氨酸/苏氨酸激酶受体(BMPR-Ⅰ、BMPR-Ⅱ)介导信号转导。而在膜信号传入核内的过程中,Smad信号通路发挥着主要作用。

BMP通过BMP-Smad信号通路调控成骨分化。BMP-Smad信号通过对干细胞的自我分化和更新,细胞的凋亡、迁移和增殖进行调节,具有稳定胚胎发育和出生后组织体状态的作用[55]。BMP在骨代谢过程中起着关键性的调控作用,其中,BMP-2、-7、-6、-9能够促进骨形成,BMP-3对成骨具有负调控作用。BMP-Smad信号通路的缺失会导致骨相关疾病,如骨质疏松症[56]。

7 Hedgehog信号通路

Hedgehog信号通路同样在进化上高度保守,在发育和内稳态方面起着重要作用。在哺乳动物,Hedgehog蛋白可分为3类:Sonic Hedgehog(SHH),Indian Hedgehog(IHH),Desert Hedgehog(DHH)。当胞外Hedgehog蛋白与跨膜受体(PTC)结合即解除对特异性标记平滑受体(SMO)抑制并进一步使之磷酸化,SMO激活使Hedgehog通路转录效应子Ci/Gli从Cos2释放转移入细胞核,激活相应下游靶基因的表达[57]。

PTCh1缺陷患者及小鼠模型表现为骨量增加,PTCh1缺陷的成骨前体细胞由于与Runx2的反应性增加及Gli锌指蛋白(GLI)3抑制物产生减少而表现为成骨分化速度增快[58]。与此相对,GLI1缺乏小鼠的表型为骨量减少、成骨分化减弱和破骨细胞生成增加[59]。另一份体外实验提出SHH能上调成骨细胞系Osx的表达,促进成骨细胞产生并间接上调破骨细胞的活力,引起骨吸收增加及骨强度下降[60]。在骨缺损修复初期,IHH和PTC1均表达增加[61];在重塑期,成骨细胞内SHH激活以调控成骨细胞增殖、分化,破骨细胞形成以及血管生成[62]。利用IHH/MSCs/支架材料复合物的组织工程实验结果显示骨修复加快[63]。可见,Hedgehog信号通路在促进成骨分化上具有显著的作用,但3个配体分别所起的作用及机制尚有待研究。

8 小结

成骨分化是一个涉及到多个系统的复杂生理过程,目前多条信号通路在这一过程中起重要的调控已被印证。本篇综述总结分析了在成骨分化方面主要信号通路的相关研究进展,然而,目前的研究主要以单通路为主,多通路的交叉研究很少也比较局限,还没能彻底地揭示成骨分化的具体机制。因此,以生物信息学为基础的综合性基因调控网络研究将会是接下来研究的热点。随着研究的深入,有望揭示多种骨相关疾病病(骨质疏松、骨硬化症等)的分子机制,为寻找骨相关慢性病的早期特异性标志物或靶向药物的靶点提供实验室证据。

参 考 文 献

[1] PITTENGER M, MACKAY A, BECK S, *et al*. Multilineage potential of adult human mensenchymal stem cells. Science, 1999, 284: 143–147.

[2] CHAMBERLAIN J R, SCHWARZE U, WANG P R, *et al*. Gene targeting in stem cells from individuals with osteogenesis imperfect. Science, 2004, 303(5661): 1198–1201.

[3] KANG M I, LEE W Y, OH K W, *et al*. The short-term changes of bone mineral metabolism following bone marrow transplantation. Bone, 2000, 26(3): 275–279.

[4] PINSON K I, BRENNAN J, MONKLEY S, *et al*. An LDL-receptorrelated protein mediates Wnt signalling in mice. Nature, 2000, 407(769): 535–538.

[5] DAVIDSON G, WU W, SHEN J, *et al*. Casein kinase 1 γcouples Wnt receptoractivation to cytoplasmic signal transduction. Nature, 2005, 438(7069): 867–872.

[6] FIDDES I T, LODEWIJK G A, MEGHAN M, *et al*. Human-specific NOTCH2NL genes affect notch signaling and cortical neurogenesis. Cell, 2018, 173(6): 1356–1369.e22[2020-06-08]. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.051.

[7] PETER S M, SUSAN W. A review of Notch processing with new insights into ligand-independent Notch signaling in T-cells. Front Immunol, 2018, 9: 1230[2020-06-08]. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01230.

[8] CARBALLO G B, HONORATO J R, DE LOPES G P F, *et al*. A highlight on sonic Hedgehog pathway. Cell Commun Signal, 2018, 16(1): 11[2020-06-08]. https://biosignaling.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12964-018-0220-7. doi: 10.1186/s12964-018-0220-7.

[9] PETROV K, WIERBOWSKI B M, SALIC A. Sending and receiving

Hedgehog signals. Annu Rev Cell Dev Biol, 2017, 33(1): 145–168.

[10] 张玲莉, 周绪昌, 吴伟. BMP-Smad信号通路在骨髓间充质干细胞分化中的作用. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2019, 12(6): 618–626.

[11] 安小宁. PNS介导BMP-Smad信号通路调控BMSCs成骨分化的机制研究. 南宁: 广西医科大学, 2019.

[12] YAMASHIRO T, ZHENG L, SHITAKU Y, *et al*. Wnt10a regulates dentin sialophosphoprotein mRNA expression and possibly links odontoblast differentiation and tooth morphogenesis. Differentiation, 2007, 75(5): 452–462.

[13] YANG J, WANG S K, CHOI M, *et al*. Taurodontism, variations in tooth number, and misshapened crowns in Wnt10a null mice and human kindreds. Mol Genet Genomic Med, 2015, 3(1): 40–58.

[14] SASAKI K, HITORA T, NAKAMURA O, *et al*. The role of MAPK pathway in bone and soft tissue tumors. Anticancer Res, 2011, 31(2): 549–553.

[15] BONNI A, BRUNET A, WEST A E, *et al*. Cell survival promoted by the Ras-MAPK signaling pathway by transcription-dependent and -independent mechanisms. Science, 1999, 286(5443): 1358–1362.

[16] ITOH N, ORNITZ D M. Evolution of the FGF and FGFR gene families. Trends Genet, 2004, 20(11): 563–569.

[17] ORNITZ D M, MARIE P J. FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease. Genes Dev, 2002, 16(12): 1446–1465.

[18] WOODS A, WANG G, BEIER F. RhoA/ROCK signaling regulates Sox9 expression and actin organization during chondrogenesis. J Biol Chem, 2005, 280(12): 11626–11634.

[19] MCBEATH R, PIRONE D M, NELSON C M, *et al*. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment. Dev Cell, 2004, 6(4): 483–495.

[20] ONGARO A, PELLATI A, BAGHERI L, *et al*. Characterization of Notch signaling during osteogenic differentiation in human osteosarcoma Cell Line MG63. J Cell Physiol, 2016, 231(12): 2652–2663.

[21] CAO J, WEI Y, LIAN J, *et al*. Notch signaling pathway promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by enhancing BMP9/Smad signaling. Int J Mol Med, 2017, 40(2): 378–388.

[22] JI Y, KE Y, GAO S. Intermittent activation of notch signaling promotes bone formation. Am J Transl Res, 2017, 9(6): 2933–2944.

[23] TEZUKA K I, YASUDA M, WATANABE N, *et al*. Stimulation of osteoblastic cell differentiation by Notch. J Bone Miner Res, 2002, 17(2): 231–239.

[24] 任磊, 代光明, 林枭, 等. 骨细胞Wnt/β-Catenin通过Notch信号促进BMSCs成骨分化. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(5): 45–50.

[25] DEREGOWSKI V, GAZZERRO E, PRIEST L, *et al*. Notch 1 overexpression inhibits osteoblastogenesis by suppressing Wnt/β-Catenin but not bone morphogenetic protein signaling. J Biol Chem, 2006, 281(10): 6203–6210.

[26] WENG A P, FERRANDO A A, LEE W, *et al*. Activating mutations of Notch1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia. Science, 2004, 306(5694): 269–271.

[27] CUADRADO A, NEBREDA A R. Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling. Biochem J, 2010, 429(3): 403–417.

[28] BIANCHI E N, FERRARI S L. Beta-arrestin2 regulates para-thyroid hormone effects on a p38 MAPK and NFkappaB gene expression network in osteoblasts. Bone, 2009, 45(4): 716–725.

[29] NOTH U, TULI R, SEGHATOLESLAMI R, *et al*. Activationof p38 and Smads mediates BMP-2 effects on human trabecular bone-derived osteoblasts. Exp Cell Res, 2003, 291(1): 201–211.

[30] NÜSSLEIN-VOLHARD C, WIESCHAUS E. Mutations affecting segment number and polarity in drosophila. Nature, 1980, 287(5785): 795–801.

[31] TIDYMAN W E, RAUEN K A. The RASopathies: developmental syndromes of Ras/MAPK pathway dysregulation. Curr Opin Gene Dev, 2009, 19(3): 230–236.

[32] 杨敏, 黄凌云, 吕泽平, 等. MAPK信号通路在力学刺激对MG-63成骨样细胞护骨素表达中的作用. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2019, 12(1): 58–64.

[33] PENGJAM Y, MADHYASTHA H, MADHYASTHA R, *et al*. Anthraquinone glycoside aloin induces osteogenic initiation of MC3T3-E1 cells: involvement of MAPK mediated Wnt and Bmp signaling. Biomol Ther (Seoul), 2016, 24(2): 123–131.

[34] HUANG Y F, LIN J J, LIN C H, *et al*. c-Jun N-terminal kinase 1 negatively regulates osteoblastic differentiation induced by BMP2 via phosphorylation of Runx2 at Ser104. J Bone Mine Res, 2012, 27(5): 1093–1105.

[35] MATSUSHITA T, CHAN Y Y, KAWANAMI A, *et al*. Extracellular signal-regulated kinase 1 (ERK1) and ERK2 play essential roles in osteoblast differentiation and in supporting osteoclastogenesis. Mol Cell Biol, 2009, 29(21): 5843–5857.

[36] XIAO G, JIANG D, THOMAS P, *et al*. MAPK pathwaysactivate and phosphorylate the osteoblast-specific transcription factor, Cbfa1. J Biol Chem, 2000, 275(6): 4453–4459.

[37] LIU L S, LU J Q, LI X L. The LIS1/NDE1 complex is essential for FGF signaling by regulating FGF receptor intracellular trafficking. Cell Rep, 2018, 22(12): 3277–3291.

[38] MARUYAMA T, MIRANDO A J, DENG C X, *et al*. The balance of WNT and FGF signaling influences mesenchymal stem cell fateduring skeletal development. Sci Signal, 2010, 3(123): ra40[2020-06-08]. https://stke.sciencemag.org/content/3/123/ra40.long. doi: 10.1126/scisignal.2000727.

[39] WU M, CHEN G, LI Y P. TGF-β and BMP signaling inosteoblast, keletal development, and bone formation, homeostasis and disease. Bone Res, 2016, 4: 16009[2020-06-08]. https://www.nature.com/articles/boneres20169. doi: 10.1038/boneres.2016.9.

[40] JIANG T, GE S, SHIM Y H, *et al*. Bone morphogenetic protein is required for fibroblast growth factor 2-dependent later-stage osteoblastic differentiation in cranial suture cells. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(3): 2946–2954.

[41] 陈冬磊, 刘智任, 陈贵妙, 等. 牙齿发育与FGF信号通路的关系. 现代

生物医学进展, 2012, 12(15): 2981–2983.

[42] LIU A J, LING F, WANG D, *et al*. Fasudil inhibits platelet-derived growth factor-induced human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation by up-regulation of p27kip via the ERK signal pathway. Chin Med J (Engl), 2011, 125(19): 3098–3104.

[43] CHEN Z, WANG X, SHAO Y, *et al*. Synthetic osteogenic growth peptide promotes differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells to osteoblasts via RhoA/ROCK pathway. Mol Cell Biochem, 2011, 358(1/2): 221–227.

[44] XU T, WU M, FENG J, *et al*. RhoA/Rho kinase signaling regulates transforming growth factor-betal-induced chondrogenesis and actin organization of synovium-derived mesenchymal stem cells through interaction with the Small pathway. Int J Mol Med, 2012, 30(5): 1119–1125.

[45] MULLIN B H, MAMOTTE C, PRINCE R L, *et al*. Influence of ARHGEF3 and RHOA knockdown on ACTA2 and other genes in osteoblasts and osteoclasts. PLoS One, 2014, 9(5): e98116[2020-06-08]. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098116.

[46] KIM M J, KIM S, KIM Y, *et al*. Inhibition of RhoA/Rock induces chondrogenesis of chick limb menchymal cells. Biochem Biophy Res Commun, 2012, 418(3): 500–555.

[47] LIANG J, FENG J, WU W K, *et al*. Leptin-mediated cytoskeletal remodeling in chondrocytes occurs via the RhoA/ROCK pathway. J Ortho Res, 2011, 29(3): 369–374.

[48] TROMPOUKI E, BOWMAN T V, LAWTON L N, *et al*. Lineage regulators direct BMP and Wnt pathways to cell-specific programs during differentiation and regeneration. Cell, 2011, 147(3): 577–589.

[49] CHOI D S, STARK D J, RAPHAEL R M, *et al*. SDF-1α stiffens myeloma bone marrow mesenchymal stromal cells through the activation of RhoA-ROCK-Myosin II. Int J Cancer, 2015, 136(5): E219–E229.

[50] 尹定子, 宋海云. Wnt信号通路:调控机理和生物学意义. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(2): 103–111.

[51] CHEN X J, GAO Y H. Research progress of Wnt signaling pathway in regulating osteogenic differentiation of mesenchymal. Stem Cells, 2013, 33(1): 99–103.

[52] DAY T F, GUO X, GARRETT-BEAL L, *et al*. Wnt/beta-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis. Dev Cell, 2005, 8(5): 739–750.

[53] REGARD J B, CHERMAN N, PALMER D, *et al*. WNT/Beta-catenin signaling is differentially regulated by Galpha proteins and contributes to fibrous dysplasia. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(50): 20101–20106.

[54] RODDA S J, MCMAHON A P. Distinct roles for Hedgehog and canonical Wnt signaling in specification, differentiation and maintenance of osteoblast progenitors. Development, 2006, 133(16): 3231–3244.

[55] MATZELLE M M, SHAW A T, BAUM R, *et al*. Inflammation in arthritis induces expression of BMP3, an inhibitor of bone formation. Scand J Rheumatol, 2016, 45(5): 379–383.

[56] MCLARREN K W, LO R, GRBAVEC D, *et al*. The mammalian basic helix loop helix protein HES-1 binds to and modulates the transactivating function of the runt-related factor Cbfa1. J Biol Chem, 2000, 275(1): 530–538.

[57] TESSER A, CARVALHO L M D, SANDRIN-GARCIA P, *et al*. Higher interferon score and normal complement levels may identify a distinct clinical subset in children with systemic lupus erythematosus. Arthritis Res Ther, 2020, 22(1): 91[2020-06-08]. https://www.researchgate.net/publication/340928345_Higher_interferon_score_and_normal_complement_levels_may_identify_a_distinct_clinical_subset_in_children_with_systemic_lupus_erythematosus. doi: 10.1186/s13075-020-02161-8.

[58] OHBA S. Patched1 haploinsufficiency increases adult bone mass and modulates Gli3 repressor activity. Dev Cell, 2008, 14(5): 689–699.

[59] YOSHIAKI K, HIRONORI H, YUSKE K, *et al*. Gli1 haploinsufficiency leads to decreased bone mass with an uncoupling of bone metabolism in adult mice. PLoS One, 2014, 9(10): e109597[2020-06-08]. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109597.

[60] TIAN Y, XU Y, FU Q, *et al*. Osterix is required for sonic Hedgehog-induced osteoblastic MC3T3-E1 cell differentiation. Cell Biochem Biophy, 2012, 64: 169–176.

[61] AMANO K, DENSMORE M, FAN Y, *et al*. Ihh and PTH1R signaling in limb mesenchyme is required for proper segmentation and subsequent formation and growth of digit bones. Bone, 2016, 83: 256–266.

[62] PETROVA R, JOYNER A L. Roles for Hedgehog signaling in adult organ homeostasis and repair. Development, 2014, 141: 3445–3457.

[63] ZOU S, CHEN T, WANG Y, *et al*. Mesenchymal stem cells overexpressing Ihh promote bone repair. J Orthop Surg Res, 2014, 9: 102[2020-06-08]. https://doi.org/10.1186/s13018-014-0102-7.

(2020 – 06 – 18收稿, 2020 – 10 – 30修回)

编辑 余 琳