

综 述

调控软骨形成的信号通路及相关因子在骨髓间充质干细胞骨向分化中的作用*

赵久梅 王 哲** 李学英**

(遵义医科大学 遵义 563099)

摘要 骨髓间充质干细胞是一类具有自我复制和多向分化潜能的成体干细胞,可以通过定向诱导分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞等,是目前骨再生医学和细胞治疗研究最多的理想种子细胞。在骨缺损的修复过程中,骨髓间充质干细胞内成软骨相关基因表达升高进而分化为软骨细胞,后期随着成骨细胞和破骨细胞的形成及血管长入,软骨基质逐步降解并被骨基质所替换。软骨细胞参与了骨缺损前期的修复过程,调控软骨形成的信号通路及相关因子不仅调控骨髓间充质干细胞成软骨细胞分化,同时在成骨细胞分化过程中也发挥着重要的作用。对调控软骨形成的信号通路及相关因子在骨髓间充质干细胞骨向分化中的调控作用和研究现状进行了总结,以为临床寻找更好的治疗骨缺损的方法提供理论依据和研究方向。

关键词 信号通路 骨髓间充质干细胞 转录因子 生长因子 细胞分化

中图分类号 Q28 R318

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是一类来源于中胚层,具有很强的自我更新和多向分化潜能,在适宜的体内或体外诱导环境下可以分化成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、成纤维细胞、网状细胞等不同细胞系的多能干细胞^[1]。在临床应用方面, BMSCs 还具有可自体取材、可重复取材、获取创伤小(可经骨髓穿刺获得)、无供区继发组织缺损、不存在主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)、体外增殖能力强等优点^[2]。近年来快速发展起来的骨再生医学,利用了 BMSCs 的这些特性,相对于传统的自体骨和异体骨移植治疗骨缺损方法,不仅降低了患者在治疗过程中承受的痛苦以及感染其他疾病的风险,还达到了更好更快的治疗效果,为骨缺损的临床治疗提供了新的思路和方法^[3,4]。

BMSCs 是用于治疗骨缺损的理想种子细胞,其修复骨缺损的大致过程为:首先, BMSCs 在骨缺损部位聚集,随后分化为软骨细胞并分泌软骨基质,形成软骨骨痂;随后血管和成骨细胞长入该区域,软骨细胞发生肥大并钙化;与此同时,破骨细胞进入分解吸收钙化的软骨基质,软骨组织逐步被替换为骨组织。近年来,越来越多的研究开始关注软骨内成骨方式下的骨再生修复,在前述的骨缺损修复过程中,软骨组织的形成除了更能耐受低氧的环境,还可以起到机械固定骨折断端、为骨细胞的长入和骨基质的沉积提供支架的作用, BMSCs 在修复骨缺损时会先形成软骨组织,表明与软骨形成相关基因及生长因子在骨缺损修复过程中发挥了重要的作用,与软骨生成相关的主要因素有与 Sry 相关的 HMG 盒 9(SRY related HMG box 9, Sox9)和与 Runt 相关的转录因子 2(runt-related transcription factor 2),生长因子有骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)和成纤维细胞生长因子(fibroblast

收稿日期:2021-05-08 修回日期:2021-07-10

* 国家自然科学基金(81860392)资助项目

**通讯作者,电子邮箱:fuzzywong@foxmail.com; leexueying4722@163.com

growth factor, FGF), 以及信号通路印度刺猬因子/甲状旁腺激素相关蛋白(indian hedgehog / parathyroid hormone-related protein, Ihh/PTHrP)、Notch、Wnt/ β -连环蛋白(Wnt/ β -catenin)等, 本文就促进软骨内成骨的信号通路和相关因子在 BMSCs 分化为软骨细胞和成骨细胞、以及在骨形成和骨再生中的作用进行归纳和总结。

1 软骨形成相关转录因子

1.1 Sox9

Sox9 基因位于人类 17 号染色体 q24.3 ~ q25.1 区内, 可调控性腺的分化和软骨的形成, 还广泛参与肾脏、胰腺、乳腺、卵巢等多种器官肿瘤的发生和发展。

Sox9 作为软骨形成过程中的关键性转录因子, 在软骨细胞的增殖和分化中发挥十分重要的作用。其过表达时显著抑制软骨细胞的增殖而上调软骨特异性基因的表达, 完全缺失时可阻断软骨形成^[5]。II 型胶原(collagen II, Col II)、X 型胶原(collagen X, Col X) 分别是软骨细胞增殖期和成熟期的特异性标志物。Sox9 能与 Col II 基因的特异增强子区域结合, 使 Col II 在软骨细胞中的表达与 Sox9 浓度呈正比关系^[6]。Sox9 能抑制 Runx2 与 Col X 基因启动子区域的结合, 从而抑制 Col X 基因的转录和软骨细胞的成熟分化^[7]。Sox9 的表达受微小 RNA (microRNA, miRNA) 的调控, 如 miRNA-449a、miRNA-495、miRNA-30、miRNA-32 等可抑制 Sox9 的表达从而抑制软骨细胞的分化^[8]。miRNA-335-5p 可以通过靶向 Sox9 的负调控因子(如 Daam1 和 ROCK1)上调软骨标志基因的表达, 促进软骨细胞的分化^[9]。以上表明 Sox9 对维持软骨细胞表型的正常表达起关键的作用。

Sox5 和 Sox6 也参与调控软骨细胞的分化和成熟过程。当 Sox5、Sox6 存在时, Sox9 可与 PTHrP、Col II、ACAN 基因的增强子等结合位点结合, 从而增强相应基因的转录活性^[10]; 与 IX 型胶原基因启动子结合减弱而抑制其表达, 从而发挥促进软骨细胞早期阶段的增殖和分化, 抑制软骨细胞成熟分化及矿化的作用。

Sox9 也可通过抑制成骨相关转录因子如 Runx2 的表达来调控成骨细胞的分化。在软骨细胞分化早期, Sox9 表达较高, 对 Runx2 的抑制作用较强; 在软骨细胞分化成熟时期, Sox9 表达会下降, Runx2 的表达升高。因此在软骨细胞分化后期, Sox9 表达下调会显著上调生长板软骨发育等生理过程涉及的基因, 以及对 Runx2 的抑制作用减弱, 这些前提对 BMSCs 的成骨分化具有

促进作用。这两个基因表达水平的变化可能是软骨内成骨的一个重要的过渡阶段。

1.2 Runx2

Runx 家族共包括 3 个成员, 即转录因子 Runx1、Runx2 和 Runx3。其中 Runx2 又称核心结合因子 $\alpha 1$ (core-binding factor $\alpha 1$, Cbf $\alpha 1$), 是决定成骨细胞命运和早期分化, 调控成骨细胞与软骨细胞成熟的重要转录因子。Runx2 也可能是一个致癌基因, 在乳腺癌细胞、骨髓内皮细胞的迁移和浸润等病理过程中发挥作用。

Runx2 在软骨细胞成熟过程中发挥重要的作用。Runx2 可与 Sox9 相互作用, 通过调控软骨细胞肥大标志物如 Col X、软骨降解酶(matrix metalloproteinases, MMPs) 的表达来调控软骨细胞的退变。BAPX-1 的表达与 Runx2、Col X、MMPs 的表达呈负相关, Sox9 可直接与 BAPX1 基因的启动子区域结合, 从而增强 BAPX1 的表达, 间接抑制 Runx2 基因的转录^[11]。Runx2 基因的表达被抑制后, Col X 的表达水平降低, 此时软骨细胞成熟和肥大的能力减弱, 骨形态发生蛋白 2 (BMP2) 诱导 BMSCs 成软骨细胞分化的能力增强^[12]。表明 Runx2 基因是软骨细胞成熟所必需的, 该基因缺陷后软骨细胞的成熟肥大功能将受到严重影响。

Runx2 在促进软骨细胞成熟退化后, 还促进 BMSCs 向成骨细胞分化。在早期促进 BMSCs 分化为成骨细胞, 晚期通过调控成骨细胞外基质蛋白如骨钙蛋白(osteocalcin, OCN)、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、骨涎蛋白(bone sialoprotein, BSP)、I 型胶原蛋白(collagen I, Col I)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP) 等的转录和表达, 促使成骨细胞成熟和矿化^[13]。有研究将 Runx2 缺失的颅骨细胞(富含 MSCs)放入含 BMP2 的培养基中培养, 发现颅骨细胞会分化为脂肪细胞和软骨细胞, 而无法产生钙结节, 说明 Runx2 能抑制 MSCs 向脂肪细胞分化^[14]。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNAs) 也调控 Runx2 的表达, 其中 lncRNA TCONS-00041960 能促进 Runx2 表达, lncRNA NONHSAT009968 抑制其活性^[15-16], 表明这些 lncRNAs 可能与 Runx2 的表达水平密切相关。研究显示 miRNA-16-2-3p、miRNA-139-5p、miRNA-203a-5p 的表达与骨形成相关基因 Runx2、Osterix、ALP 和 OCN 的表达成负相关, 这可能与 miRNA 降低会导致 MMP-13 过表达, 从而促进软骨细胞的降解, 促进成骨向分化有关^[17-19]。Runx2 的下游基因 Osterix 影响成骨细胞的最

终成熟,两者相互调控,使 BMSCs 向成骨细胞方向分化,抑制向脂肪细胞和软骨细胞分化。

Sox9 基因不仅调控 BMSCs 向软骨细胞分化,还对调控软骨细胞的增殖、分化成熟及肥大转化至关重要, Sox9 调控软骨特异性细胞外基质的表达,使矿化后的软骨基质在骨折修复时起到细胞支架的作用。Runx2 基因在早期可调控 BMSCs 分化为成骨细胞和软骨细胞,抑制 BMSCs 向脂肪细胞分化;晚期可促进软骨细胞和成骨细胞的成熟。因此,转录因子 Runx2 与 Sox9 共同调控 BMSCs 的增殖以及向软骨细胞和成骨细胞的分化与成熟,在骨形成过程中发挥了重要作用。

2 软骨形成相关生长因子

2.1 骨形态发生蛋白

骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 是骨骼发育所需的重要生长因子,能与细胞膜表面骨形态发生蛋白受体 II (bone morphogenetic protein receptors, BMPR-II) 结合使其磷酸化,进而激活 BMPR-I, 然后作用于下游的 Smad1/5/8, 激活 BMP 信号途径调控 Sox5/6/9 和 Runx2 基因的表达,促进 BMSCs 向成骨与成软骨细胞分化^[20]。

在已发现的 20 多种 BMP 亚型中, BMP2、BMP8 和 BMP9 与软骨的形成有关,其中 BMP2 被证明是软骨细胞的主要配体。在关节软骨缺损和髌状突骨折中 BMP2 能促进 BMSCs 向软骨细胞分化,能提高软骨细胞的合成代谢能力,说明 BMP2 在关节软骨修复过程中发挥重要作用^[21-22]。miRNA-140 在软骨形成中直接靶向调控 BMP2 的表达,最终促进 BMSCs 的软骨向分化。miR-99a 直接靶向 BMPR2, 对软骨向分化起抑制作用^[23]。还有研究通过 Ad-BMP-2-GFP 转染 BMSCs 的方式,将收集到的含 BMP-2 的外泌体作用于软骨缺损,治疗效果比直接注射 BMP2 具有更好地促进软骨细胞增殖和分化的能力,证实含 BMP-2 的外泌体能更有效地应用于临床治疗骨缺损^[24-25]。

BMP2 也是强效的成骨诱导因子,能促进 Runx2 的表达,进而促进成骨细胞分化和成熟。BMSCs 以自分泌/旁分泌 BMP2 的方式,促进 Smad1/5 磷酸化以激活 BMP2/Smad1/5/Runx2 通路,增加其同类基因和 ALP、Runx2、OCN、Col I 的表达,促进 BMSCs 向成骨细胞分化与成熟^[26]。其他信号如 BMP4、BMP7 和 BMP9 也具有促进成骨的能力,单独的 BMP9 可以有效增强 BMP/Smad 信号通路靶基因的转录活性。Yuan 等^[27]研究发

现,单独的 BMP4/7 显著促进 BMSCs 的增殖,抑制 BMSCs 的成骨分化,而 BMP4/7 和 b-FGF 的协同作用则同时显著促进了 BMSCs 的增殖和成骨分化,这可能与 BMP2 水平在骨折愈合早期升高,而 BMP7 的表达比 BMP2 晚有关^[28]。以上研究表明 BMP4/7 和 b-FGF 三者合理组合可以促进 BMSCs 的增殖和成骨分化,临床可根据此特性,将生长因子包被入不同的生物材料中,以材料的溶解速率控制生长因子的释放速率,应用于骨缺损相关疾病的治疗。Wei 等^[29]研究显示,当 BMP2 作用后 BMSCs 中的 LncRNA HOTAIR 表达显著降低,导致 BMSCs 中 Col I 的表达增加,ALP 活性升高,证实 LncRNA 在调节 BMSCs 成骨向分化中也有重要作用。BMP2 是促进 Sox5/6/9 还是 Runx2 的表达,可能与其本身的活性以及所处微环境有很大关系。

2.2 转化生长因子 β

转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 是 TGF- β 超家族中的一员,在 BMSCs 聚集、软骨细胞增殖、细胞外基质沉积和最后终末分化中都有重要的调节作用。在哺乳动物中 TGF- β 分子有 β 1、 β 2、 β 3 和 β 1 β 2 四种亚型,其中 TGF- β 2 在四肢生长板的所有区域都有表达,在肥大区表达最高, TGF- β 1 和 TGF- β 3 主要表达在软骨细胞增殖和肥大区。TGF- β 受体有三种,分别为 I 型、II 型和 III 型,这三种受体都能促进间充质干细胞向软骨细胞分化,并抑制软骨细胞终末分化成肥大细胞^[30]。TGF- β 可与 TGF- β II 型受体结合磷酸化 I 型受体, I 型受体募集并磷酸化调节性 Smad 转录因子 (regulatory smads, R-Smads), R-Smads 与 Smad4 形成复合物后进入细胞核调节基因的表达,促进成骨细胞的增殖分化,促进骨和软骨形成^[31]。miRNA-483 可调节 Smad4 的表达而降低软骨细胞分化相关基因的活性,并且在后期诱导软骨细胞死亡^[32]。

TGF- β 信号主要以 Smad2/3 为最初靶点, Smad2/3 敲除的小鼠表现出了不同程度的软骨细胞肥大分化,这一实验结果说明 Smad2 可能发挥了更重要的作用,也说明 TGF- β 信号通过此途径抑制软骨细胞的肥大和矿化^[33]。Smad7 和 Smurf2 可抑制 Smad2/3 信号通路,过表达 Smad7 与 Smurf2 后抑制了 Smad2/3 信号通路,加速了软骨细胞的终末分化^[34]。这些实验进一步证实了 TGF- β 对软骨细胞肥大分化的抑制作用,也提示 Smad7 和 Smurf2 可作为治疗骨关节炎的靶点^[35]。

TGF- β 是偶联骨形成与骨吸收的重要因子,可以增强 Runx2 的转录活性,刺激成骨细胞的增殖和早期

分化,同时抑制细胞终末分化。Shariat 等^[36]的研究显示,TGF- β 的作用与其浓度及作用时间有关,低浓度 TGF- β 可以刺激细胞的增殖、分化,高浓度 TGF- β 则具有抑制效应。TGF- β 除可以刺激成骨细胞表达 Col I、ALP、BSP 等成骨功能蛋白外,还可促进破骨细胞表达巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)、核因子- κ B 受体活化素配体(receptor activator of NF- κ B ligand, RANK)、骨保护素(osteoprotegerin, OPG)等破骨相关蛋白,以更替陈旧的成骨细胞,在调节骨生长和骨重塑中发挥重要作用^[37]。TGF- β 信号同时抑制成骨细胞与软骨细胞的终末分化,以及促进破骨相关基因的表达,对于维持一定数量的正常功能的细胞至关重要。

2.3 成纤维细胞生长因子

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)是下丘脑和垂体分泌的多肽,广泛存在于人体骨基质中,参与调控软骨细胞的增殖、分化、成熟,促进骨和软骨组织的形成。FGF 配体与受体结合后,可以激活磷酸化丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、丝裂原活化细胞外调节激酶 1(mitogen-activated extracellular signal regulated kinase 1, MEK1)等信号转导途径,从而激活下游靶基因的表达。软骨细胞中 MEK1 的激活可抑制肥大细胞的分化进而导致软骨发育不全。

FGF 受体分为 FGFR1、FGFR2、FGFR3 和 FGFR4 四种,在软骨发育过程中都发挥重要的作用。小鼠 BMSCs 的 FGFR1 和 FGFR2 失活导致 Ihh 和 PTHrP 受抑制使骨骼发育不全,FGFR3 失活使生长板过度生长,FGFR3 激活则会造成小鼠的侏儒症表型,这表明 FGFR1 和 FGFR2 可能主要调控软骨细胞的分化,FGFR3 负调控软骨细胞的增殖^[38],氟可上调 FGFR3 表达水平而抑制软骨细胞增殖证实了 FGFR3 的负调控作用^[39]。这些研究均提示 FGFRs 的活性可能与人类的侏儒症和巨人症形成有关^[40]。

不同亚型的 FGF 信号在成骨细胞与软骨细胞中发挥不同的作用。如 FGF9 和 FGF18,有研究表明高剂量的 FGF9 能抑制胫骨的纵向生长,干扰软骨内成骨过程^[41]。FGF18 能促进未成熟的增殖期软骨细胞分裂,缺乏 FGF18 时软骨细胞增殖则受到抑制^[40]。FGF18 还具有双向调控作用,在妊娠早期促进软骨细胞增殖和肥大,在晚期可作用于 FGFR4 调节自噬,进而调节 II

型胶原和 Sox9 的表达而抑制软骨细胞增殖和分化^[42]。缺失 FGF18 的小鼠颅盖骨的 MSCs 增殖减少,长骨也表现出成骨分化延迟^[43],表明 FGF18 对成骨细胞的增殖和分化有正向调节作用。以上研究表明 FGF18 能调控软骨细胞外基质的分泌,促进成骨细胞和软骨细胞的增殖和分化。

FGF2 是调控成骨细胞分化和成熟矿化的重要生长因子。在成骨细胞中 FGF2 能刺激 Runx2 的磷酸化正向调节成骨细胞的增殖和 OCN 的合成。有研究认为 FGF2 存在低浓度促进、高浓度抑制细胞增殖的作用,这可能与细胞种类和生长因子的处理方式不同有关^[44]。Liu 等^[45]发现,b-FGF 能诱导 TGF- β 基因表达上调,增加 TGF- β 和 BMP2 表达水平,诱导成骨细胞系的增殖和分化。联合应用 BMP2/FGF2 时具有协同诱导 BMSCs 膜片增殖和成骨分化的作用,单独应用 FGF2 能加速膜片的增殖,而单独应用 BMP2 对膜片增殖活性基本无影响,但均能促进膜片的成骨分化^[46]。以上研究提示 FGF 和 BMP 联合使用可用于治疗骨缺损等骨病。

在上述生长因子 BMP、TGF- β 及 FGF 中,BMP 与 BMP/Smad 信号通路在关节融合、骨折愈合中均具有强大的诱导软骨与骨形成的能力,已有效应用于临床。BMP 的不同亚型在 BMSCs 分化不同阶段的表达差异可能是调控其向成骨与成软骨细胞分化的重要因素。TGF- β 可以通过调节 Smad 信号通路调节骨、软骨与破骨细胞的增殖与分化,维持细胞处于未分化状态,抑制细胞末端肥大分化,促进骨和软骨形成,在骨生长和骨重塑中有很好的应用前景。FGF 可抑制软骨细胞的增殖,抑制软骨内成骨的速度,与 BMP 信号转导起相反的作用。FGF 也可通过蛋白激酶 A(protein kinase A, PKA)、MAPK 等信号途径调控骨代谢过程,促进成骨细胞的增殖分化以及胶原和骨基质蛋白的合成,促进骨组织的修复^[47]。

3 软骨形成相关信号通路

3.1 Ihh/PTHrP 通路

印度刺猬因子(Indian hedgehog, Ihh)/甲状旁腺激素相关蛋白(parathyroid hormone-related protein, PTHrP)信号通路是由 Ihh 和 PTHrP 组成的闭合反馈调节通路。Ihh 由定向前肥大软骨细胞分泌,可诱导 PTHrP 表达,从而抑制负反馈环中 Ihh 的表达,维持软骨细胞处于增殖状态。miRNA-1 可抑制 Ihh 蛋白表达而促进软骨细

胞增殖和抑制软骨细胞肥大化^[48]。PTHrP 在静止的软骨细胞中表达并维持软骨细胞处于增殖状态,而离生长板中静息区较远的软骨细胞不受 PTHrP 信号调控发生肥大化^[49]。

以关节软骨为例,Ihh/PTHrP 信号通路的作用过程为 Ihh 通过直接作用于软骨膜上的 Ihh 信号系统,刺激关节面软骨细胞分泌 PTHrP 及刺激软骨膜细胞分泌 BMPs, BMPs 作用于定向前肥大软骨细胞和关节面软骨细胞上的骨形态发生蛋白受体 IA (BMPRIA) 反馈刺激软骨细胞分泌 PTHrP, PTHrP 作用于非定向前肥大软骨细胞 PTH/PTHrP 受体影响 Ihh 分泌,最终形成闭合环路发挥维持软骨细胞处于增殖状态并延迟分化的作用^[50]。可见 Ihh/PTHrP 信号通路在维持软骨细胞的正常增殖和分化成熟中发挥了重要的作用。

在成骨方面,将小鼠 Ihh 条件敲除,发现生长板骨化提前,Runx2 的表达量升高,这表明 Ihh 可能抑制 Runx2 的正常功能^[51]。研究证明 PTHrP (1~84) 片段可起促进 BMSCs 增殖、促进 BMSCs 向成骨细胞分化并表达 ALP 与 Col I、促进钙结节形成的作用^[52]。以上表明 Ihh/PTHrP 通路在成骨细胞分化与成熟中也发挥重要作用。

3.2 Notch 通路

Notch 信号通路主要由 Notch 受体、Notch 配体、细胞内效应分子及相关酶组成,在骨与软骨形成过程中发挥重要的作用。当 Notch 受体的活性形式细胞内区域(notch intracellular domain, NICD) 转移到细胞核内,与转录因子重组结合蛋白 J (recombination signal sequence binding protein J, RBPJ) 和转录激活因子 MAML1 结合形成复合物时,能诱导转录抑制因子 Hes 和 Hey 蛋白表达,调控下游靶基因 *Sox9*、*Runx2* 和 *Osterix* 的转录和翻译,从而促进 BMSCs 增殖,抑制成骨细胞和软骨细胞的分化和成熟^[53]。

在软骨细胞的增殖和分化中,发现 NICD 可与 Hippo 信号通路中下游的转录效应因子 Yes 相关蛋白(yes-associated protein, YAP) 结合形成 YAP-NICD 复合体,从而上调 BMSCs 的增殖活性^[54]; YAP 能介导 BMP2 抑制 BMSCs 成软骨分化,还能通过下调 Runx2 介导的 *Col X* 基因和 *Sox9* 介导的 *Col II* 基因的表达,而阻碍软骨细胞成熟^[55]。在以 *Prx1-Cre* 靶向敲除 Notch 后的 BMSCs 中也出现了向软骨细胞分化能力增强, BMSCs 耗尽使骨折愈合受限的现象^[56]。这说明在软骨形成时期必须关闭 Notch 信号通路才能保证软骨继续

生成^[57]。

Notch 信号通路对 BMSCs 成骨分化具有抑制作用,抑制 Notch 通路会减少 BMSCs 的增殖而促进其成骨分化。Notch 信号通路可通过诱导与 Runx2 相互作用的转录抑制因子 Hes 和 Hey 蛋白来抑制 Runx2 的功能,从而抑制 BMSCs 向成骨细胞分化。Chen 等^[58]发现在成骨诱导培养条件下, Hippo 信号通路的激活抑制 BMSCs 向成骨细胞分化,说明 Notch 信号通路抑制成骨细胞分化的机制可能与 YAP-NICD 复合体的形成有关。Notch 通路激活后的主要功能可能是促进 BMSCs 增殖,以提供足够数量的细胞去修复骨与软骨缺损。

3.3 Wnt/ β -catenin 通路

Wnt/ β -连环蛋白(Wnt/ β -catenin) 信号通路在成骨细胞与软骨细胞的形成与分化过程中扮演着重要的角色。当 Wnt 配体与 Frizzled 及 LRP5/6 结合时, β -catenin 与 GSK-3 β 不能进行磷酸化,使 β -catenin 在细胞内积聚,而后进入细胞核内与转录因子(TCF/LEF) 形成复合物,激活 Wnt 靶基因如 Runx2 的表达来调控成骨细胞及软骨细胞的分化与成熟^[59]。

经典 Wnt/ β -catenin 信号通路通过调控 Wnt 和 β -catenin 蛋白来阻断 BMSCs 向软骨细胞分化。研究发现 miRNA-410 可降低 Wnt3a 的表达促进 BMSCs 向软骨细胞分化^[60]。当小鼠胚胎高表达 β -catenin 时导致严重的软骨发育不良,并伴有 Sox9 表达降低^[61]。说明 β -catenin 可通过影响 Sox9 的表达,从而调控软骨细胞的分化。Sox9 可与核心转录因子 TCF/LEF 竞争性结合 β -catenin 形成 Sox9/ β -catenin 复合体而促进 β -catenin、Sox9 降解,从而抑制软骨分化但加速软骨肥厚性分化^[62]。以上说明 β -catenin 可通过调控 Sox9 和 Runx2 的表达而抑制 BMSCs 向软骨细胞分化,促进软骨细胞肥大。

经典 Wnt/ β -catenin 信号通路也可促进成骨细胞分化。研究表明,激活成骨细胞中的 Wnt/ β -catenin 信号可促进成骨细胞的增殖、分化,从而增加骨量^[63]。Wnt/ β -catenin 信号通路通过调控 BMSCs 早期分化的潜能和方向来调控成骨分化能力,一旦 BMSCs 分化为成骨细胞系或前体成骨细胞时, Wnt 蛋白使 GSK-3 β 磷酸化而失活,从而维持 β -catenin 的稳定。 β -catenin 在前成骨细胞中失活,将会导致成骨细胞分化受阻,从而使骨骼中缺乏成熟的成骨细胞; β -catenin 在成熟的成骨细胞和骨细胞中失活,会使破骨细胞分化和骨吸收增加导致骨量降低^[64]。可见, Wnt/ β -catenin 通路可促

进成骨细胞和骨细胞的形成,是促进骨骼形成的重要信号通路。对于 Wnt/ β -catenin 信号通路, LncRNA HULC、LncRNA-p21、LncRNA ZBED3 等过表达会增强该途径活性而提高 BMSCs 的增殖分化和骨再生能力^[65-67]; miRNA-291a-3p 能间接激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, miRNA-889 能间接降低 Wnt/ β -catenin 信号通路活性,进而调控 BMSCs 成骨分化^[68-69],说明可以在 LncRNA 和 miRNA 中寻找骨质疏松等疾病的潜在治疗靶点。总之, BMSCs 分化形成软骨和骨是受到一系列的信号通路和生长因子调控的^[70]。Ihh/PTHrP 通路是软骨内成骨过程中的核心信号通路,对骨髓增殖带的软骨细胞的分化成熟起到抑制作用,还对成骨细胞的成熟钙化起至关重要的作用。Notch 信号通路在 BMSCs 时期活性增高可以促进其增殖,保障骨折正常愈合所需要的 BMSCs 数量,在成骨细胞与软骨细胞时期,抑制 Hippo 与 Notch 信号通路可促进成骨细胞与软骨细胞的分化成熟。Wnt/ β -catenin 信号通路主要抑制 BMSCs 向软骨细胞分化,促进向成骨细胞方向分化,加快骨缺损修复的进程。

4 结论与展望

4.1 结论

BMSCs 的分化过程会受到许多因素如转录因子、生长因子和信号通路等的调控,它们在 BMSCs 分化的不同阶段发挥不同的作用。转录因子在 BMSCs 的分化中起中间作用,其启动和关闭会受到激素、细胞因子、生长因子等的调控。这些激素、细胞因子和生长因子与细胞表面相应的受体结合,通过细胞内信号转导分子调控转录因子的活性和表达,转录因子进一步调控相关基因的表达,形成一系列信号通路系统,最终调控软骨和骨的形成与再生。调控软骨形成的信号通路和相关因子在调控 BMSCs 向软骨细胞分化的同时也对 BMSCs 的成骨细胞分化起着调控作用,如 Sox9 在促进软骨细胞增殖时会抑制成骨细胞的分化, Runx2 在促进软骨细胞分化成熟时会促进成骨细胞增殖; BMP、FGF、Notch 信号通路、Wnt/ β -catenin 信号通路等在成骨与软骨细胞分化的早期和晚期作用相反;高浓度的 FGF、TGF 抑制成骨细胞与软骨细胞增殖,而低浓度时却相反;一些 miRNA 和 LncRNA 也可通过调控信号通路及生长因子的活性而影响 BMSCs 成骨与成软骨分化。因

此,与软骨生成密切相关的转录因子、生长因子以及信号通路不仅在软骨形成过程中的作用不可或缺,在骨形成过程中也发挥着重要的作用。可见软骨和骨的生成过程并不是独立进行,而是相互交叠,共同进行(图1)。由于体外环境相对简单,不同于复杂的体内环境,所以在 BMSCs 的体外成骨诱导分化研究中,可以检测到成软骨相关基因的表达上调,而观察不到成软骨细胞阶段。以上说明 BMSCs 的分化不仅受到信号通路和相关因子的调控,还与细胞所处的局部微环境及其对细胞外基质的感知有关。

4.2 展望

目前,软骨损伤的治疗和修复是一个世界性医学难题,医学专家一直在寻找能有效治疗软骨损伤的方案。常规治疗方式如微骨折手术、自体软骨移植、自体软骨细胞移植等虽然有一定的治疗效果,但是存在软骨难以获取及来源有限等缺点,仍不能很好地满足临床需求,骨损伤的修复亦如此。将 BMSCs 与新型生物材料进行联合应用是当前的主要研究方向之一。据报道,德国科学家利用生物工程技术提取 I 型胶原蛋白后制成液态物质,在关节镜下注射到受损的软骨处,几分钟液体就转变成固体凝胶,形成稳定的生物支架。这种生物支架可以募集和吸引周围的 BMSCs 和软骨细胞进入后增殖,大量成熟的软骨细胞分泌 II 型胶原蛋白(人体软骨中最主要的部分)形成正常的透明软骨,同时 BMSCs 分化为软骨细胞进一步形成新的软骨,从而完成软骨修复和再生。富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)含有丰富的生长因子,具有能够诱导 BMSCs 向成骨细胞和软骨细胞分化、作用范围广和时效长的特点。将 PRP 和支架材料结合制备成生长因子缓释型生物材料,再与 BMSCs 共同植入骨/软骨缺损处,这样不仅提供支架起到了支撑作用,还为种子细胞生长提供空间和所需生长因子,加速缺损部位的修复和重建。因此,利用 BMSCs 协同功能性生物材料构筑再生修复环境可能是骨/软骨再生的有效方法之一。通过软骨和骨形成过程的重要信号通路和关键因子的总结,能更加深入地明确不同因子、不同信号通路对 BMSCs 增殖和骨向分化的影响机制以及相互作用,这对临床选择合适的治疗骨相关疾病的策略有重要参考价值。

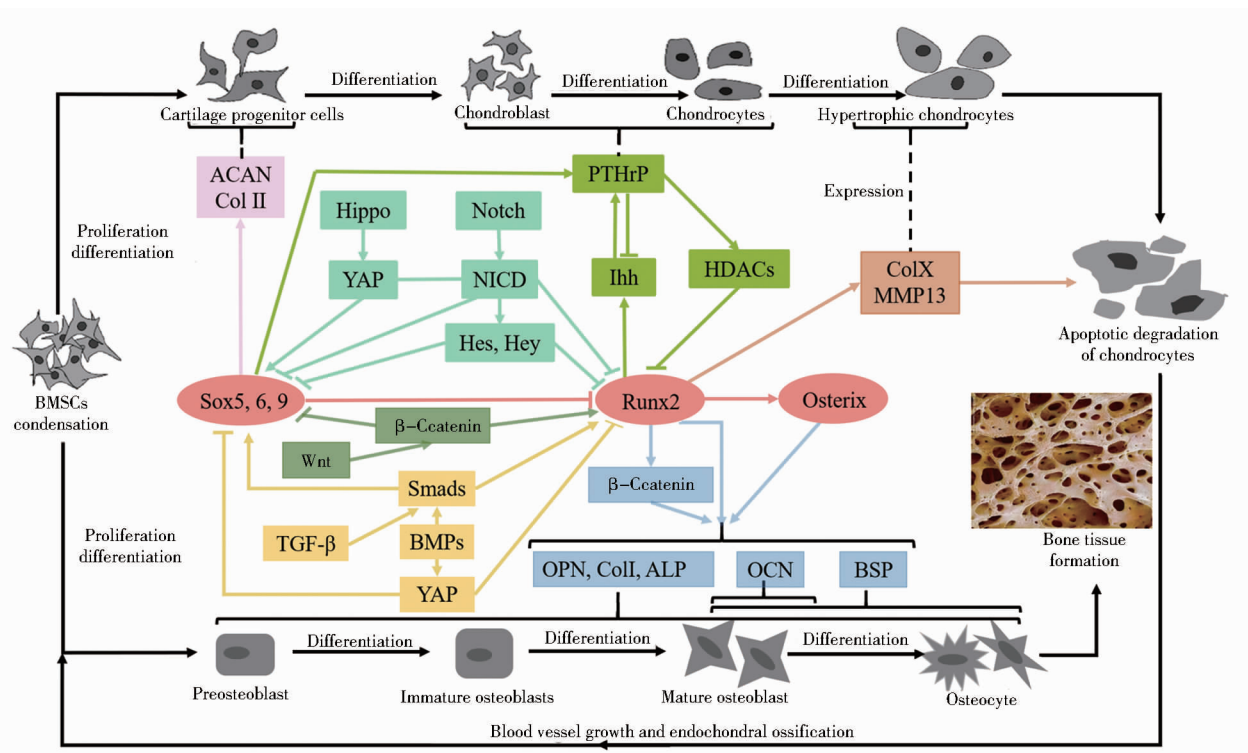


图1 骨髓间充质干细胞软骨内骨化成骨的调控过程

Fig. 1 The regulation process of endochondral ossification of BMSCs

→: Enhancement; —|: Inhibition; —: interaction

致谢 感谢遵义市科技局遵义医科大学科学技术联合资金(遵市科合社字[2017]21号)、遵义医科大学基础-临床合作项目(F-790)对本研究的资助。

参考文献

- [1] Heo J S, Choi Y, Kim H S, et al. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *International Journal of Molecular Medicine*, 2016, 37(1): 115-125.
- [2] He A J, Liu L N, Luo X S, et al. Repair of osteochondral defects with *in vitro* engineered cartilage based on autologous bone marrow stromal cells in a swine model. *Scientific Reports*, 2017, 7: 40489.
- [3] 胡坤, 陈竹, 罗栩伟, 等. 组织工程软骨的研究新进展. *西部医学*, 2020, 32(6): 927-932.
Hu K, Chen Z, Luo X W, et al. New progresses of tissue engineered cartilage. *Medical Journal of West China*, 2020, 32(6): 927-932.
- [4] 毛克亚, 刘建恒, 崔翔. 骨组织工程材料在大段骨缺损修复中的应用进展. *武警医学*, 2020, 31(4): 277-280, 283.
Mao K Y, Liu J H, Cui X. Application of bone tissue engineering materials in the repair of large bone defects. *Medical Journal of the Chinese People's Armed Police Force*, 2020, 31(4): 277-280, 283.
- [5] Lefebvre V, Dvir-Ginzberg M. SOX9 and the many facets of its regulation in the chondrocyte lineage. *Connective Tissue Research*, 2017, 58(1): 2-14.
- [6] Furumatsu T, Shukunami C, Amemiya-Kudo M, et al. Scleraxis and E47 cooperatively regulate the Sox9-dependent transcription. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2010, 42(1): 148-156.
- [7] Zhou G, Zheng Q, Engin F, et al. Dominance of SOX9 function over RUNX2 during skeletogenesis. *PNAS*, 2006, 103(50): 19004-19009.
- [8] Lee S, Yoon D S, Paik S, et al. MicroRNA-495 inhibits chondrogenic differentiation in human mesenchymal stem cells by targeting Sox9. *Stem Cells and Development*, 2014, 23(15): 1798-1808.
- [9] Lin X, Wu L, Zhang Z M, et al. MiR-335-5p promotes chondrogenesis in mouse mesenchymal stem cells and is regulated through two positive feedback loops. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2014, 29(7): 1575-1585.
- [10] Otero M, Peng H B, Hachem K E, et al. ELF3 modulates type II

- collagen gene (COL2A1) transcription in chondrocytes by inhibiting SOX9-CBP/p300-driven histone acetyltransferase activity. *Connective Tissue Research*, 2017, 58(1): 15-26.
- [11] Caron M M J, Emans P J, Surtel D A M, et al. BAPX-1/NKX-3.2 acts as a chondrocyte hypertrophy molecular switch in osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N J)*, 2015, 67(11): 2944-2956.
- [12] 孙泽绪. 抑制 Runx2 表达调控 BMP2 诱导的间充质干细胞成软骨及成骨分化. 重庆: 重庆医科大学, 2016.
- Sun Z X. Suppression of Runx2 potentiates BMP2-induced chondrogenic differentiation and inhibits BMP2-induced osteogenic differentiation. Chongqing: Chongqing Medical University, 2016.
- [13] Bruderer M, Richards R G, Alini M, et al. Role and regulation of RUNX2 in osteogenesis. *European Cells & Materials*, 2014, 28: 269-286.
- [14] Kobayashi H, Gao Y H, Ueta C, et al. Multilineage differentiation of Cbfa1-deficient calvarial cells *in vitro*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000, 273(2): 630-636.
- [15] Shang G W, Wang Y D, Xu Y, et al. Long non-coding RNA TCONS_00041960 enhances osteogenesis and inhibits adipogenesis of rat bone marrow mesenchymal stem cell by targeting miR-204-5p and miR-125a-3p. *Journal of Cellular Physiology*, 2018, 233(8): 6041-6051.
- [16] Cui Y, Lu S, Tan H B, et al. Silencing of long non-coding RNA NONHSAT009968 ameliorates the staphylococcal protein a-inhibited osteogenic differentiation in human bone mesenchymal stem cells. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2016, 39(4): 1347-1359.
- [17] Duan L J, Zhao H, Xiong Y, et al. MiR-16-2 * interferes with WNT5A to regulate osteogenesis of mesenchymal stem cells. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 51(3): 1087-1102.
- [18] Long H T, Sun B H, Cheng L, et al. MiR-139-5p represses BMSC osteogenesis via targeting wnt/ β -catenin signaling pathway. *DNA and Cell Biology*, 2017, 36(8): 715-724.
- [19] Saiganesh S, Saathvika R, Arumugam B, et al. TGF- β 1-stimulation of matrix metalloproteinase-13 expression by down-regulation of miR-203a-5p in rat osteoblasts. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 132: 541-549.
- [20] Tang Z R, Wang Z, Qing F Z, et al. Bone morphogenetic protein smads signaling in mesenchymal stem cells affected by osteoinductive calcium phosphate ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2015, 103(3): 1001-1010.
- [21] Liu S H, Liu Y, Jiang L B, et al. Recombinant human BMP-2 accelerates the migration of bone marrow mesenchymal stem cells via the CDC42/PAK1/LIMK1 pathway *in vitro* and *in vivo*. *Biomaterials Science*, 2018, 7(1): 362-372.
- [22] 姚运. 软骨细胞和骨髓间充质干细胞及 BMP2 在髌状突骨折时细胞分布的比较研究. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2018.
- Yao Y. Comparative analysis of cell distribution changes between chondrocytes and bone marrow stromal cells and BMP2 during condylar fractures process. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2018.
- [23] Zhou X Z, Wang J, Sun H T, et al. MicroRNA-99a regulates early chondrogenic differentiation of rat mesenchymal stem cells by targeting the BMP2 gene. *Cell and Tissue Research*, 2016, 366(1): 143-153.
- [24] Conlan R S, Pisano S, Oliveira M I, et al. Exosomes as reconfigurable therapeutic systems. *Trends in Molecular Medicine*, 2017, 23(7): 636-650.
- [25] 黄霸, 苏永蔚, 高艺萌, 等. BMP-2 转染间充质干细胞上清对软骨的影响. *中国矫形外科杂志*, 2019, 27(18): 1692-1697.
- Huang B, Su Y W, Gao Y M, et al. Effect of supernatant of BMP-2 transferred mesenchymal stem cells on cartilage. *Orthopedic Journal of China*, 2019, 27(18): 1692-1697.
- [26] Ren C, Gong W, Li F, et al. Pilose antler aqueous extract promotes the proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by stimulating the BMP-2/Smad1, 5/Runx2 signaling pathway. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2019, 17(10): 756-767.
- [27] Yuan S H, Pan Q, Fu C J, et al. Effect of growth factors (BMP-4/7 & bFGF) on proliferation & osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells. *The Indian Journal of Medical Research*, 2013, 138(1): 104-110.
- [28] Dolanmaz D, Saglam M, Inan O, et al. Monitoring bone morphogenetic protein-2 and -7, soluble receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin levels in the peri-implant sulcular fluid during the osseointegration of hydrophilic-modified sandblasted acid-etched and sandblasted acid-etched surface dental implants. *Journal of Periodontal Research*, 2015, 50(1): 62-73.
- [29] Wei B F, Wei W, Zhao B X, et al. Long non-coding RNA HOTAIR inhibits miR-17-5p to regulate osteogenic differentiation and proliferation in non-traumatic osteonecrosis of femoral head. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0169097.
- [30] Ying J, Wang P E, Zhang S X, et al. Transforming growth factor- β 1 promotes articular cartilage repair through canonical Smad and Hippo pathways in bone mesenchymal stem cells. *Life Sciences*, 2018, 192: 84-90.
- [31] Wu M R, Chen G Q, Li Y P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. *Bone Research*, 2016, 4: 16009.
- [32] Anderson B A, McAlinden A. miR-483 targets SMAD4 to

- suppress chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research*, 2017, 35 (11): 2369-2377.
- [33] Retting K N, Song B E, Yoon B S, et al. BMP canonical Smad signaling through Smad1 and Smad5 is required for endochondral bone formation. *Development*, 2009, 136(7): 1093-1104.
- [34] Inoue Y, Imamura T. Regulation of TGF-beta family signaling by E3 ubiquitin ligases. *Cancer Science*, 2008, 99 (11): 2107-2112.
- [35] Bai Y, Ying Y. The post-translational modifications of smurf2 in TGF- β signaling. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2020, 7: 128.
- [36] Shariat M, Abedinia N, Rezaei N, et al. Increase concentration of transforming growth factor beta (TGF- β) in breast milk of mothers with psychological disorders. *Acta Medica Iranica*, 2017, 55(7): 429-436.
- [37] Mohammad K S, Chen C G, Balooch G, et al. Pharmacologic inhibition of the TGF-beta type I receptor kinase has anabolic and anti-catabolic effects on bone. *PLoS One*, 2009, 4(4): e5275.
- [38] Liu Z H, Lavine K J, Hung I H, et al. FGF18 is required for early chondrocyte proliferation, hypertrophy and vascular invasion of the growth plate. *Developmental Biology*, 2007, 302(1): 80-91.
- [39] 桂方中. 氟对大鼠生长板软骨基质 GAG 成分及相关信号通路 FGFR3/Ihh/PTHrP 表达的影响. 沈阳: 中国医科大学, 2019.
- Gui F Z. Effects of fluoride on the expression of GAG components and related signaling pathways FGFR3 and Ihh/PTHrP in rat growth plate cartilage. Shenyang: China Medical University, 2019.
- [40] Ornitz D M, Marie P J. Fibroblast growth factor signaling in skeletal development and disease. *Genes & Development*, 2015, 29(14): 1463-1486.
- [41] 刘爽, 谭天瑶, 郭晓英. 氟对体外培养大鼠跖骨纵向生长的影响及病理学改变. *中华地方病学杂志*, 2015, 34(8): 564-568.
- Liu S, Tan T Y, Guo X Y. Effects of fluoride on longitudinal growth and pathological changes of cultured rat metatarsal bones. *Chinese Journal of Endemiology*, 2015, 34(8): 564-568.
- [42] Cinque L, Forrester A, Bartolomeo R, et al. FGF signalling regulates bone growth through autophagy. *Nature*, 2015, 528(7581): 272-275.
- [43] Charoenlarp P, Rajendran A K, Fujihara R, et al. The improvement of calvarial bone healing by durable nanogel-crosslinked materials. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2018, 29(15): 1876-1894.
- [44] Charles L F, Woodman J L, Ueno D, et al. Effects of low dose FGF-2 and BMP-2 on healing of calvarial defects in old mice. *Experimental Gerontology*, 2015, 64: 62-69.
- [45] Liu B, Gao J, Lyu B C, et al. Expressions of TGF- β 2, bFGF and ICAM-1 in lens epithelial cells of complicated cataract with silicone oil tamponade. *International Journal of Ophthalmology*, 2017, 10(7): 1034-1039.
- [46] 张文静, 王佳, 田梦婷, 等. 骨形态发生蛋白 2 及碱性成纤维生长因子 2 对大鼠骨髓间充质干细胞膜片增殖和成骨分化的影响. *中国组织工程研究*, 2020, 24(1): 65-71.
- Zhang W J, Wang J, Tian M T, et al. Effects of bone morphogenetic protein 2 and basic fibroblast growth factor 2 on proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cell sheet. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2020, 24(1): 65-71.
- [47] Feng L, Li Y H, Zeng W C, et al. Enhancing effects of basic fibroblast growth factor and fibronectin on osteoblast adhesion to bone scaffolds for bone tissue engineering through extracellular matrix-integrin pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 14(6): 6087-6092.
- [48] Chen T Y, Che X D, Han P F, et al. MicroRNA-1 promotes cartilage matrix synthesis and regulates chondrocyte differentiation via post-transcriptional suppression of Ihh expression. *Molecular Medicine Reports*, 2020, 22(3): 2404-2414.
- [49] Kim Y J, Kim H J, Im G I. PTHrP promotes chondrogenesis and suppresses hypertrophy from both bone marrow-derived and adipose tissue-derived MSCs. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, 373(1): 104-108.
- [50] Kugimiya F, Tei Y. Regulation of chondrogenesis by PTH/PTHrP signaling. *Clinical Calcium*, 2003, 13(1): 19-24.
- [51] 黄远章. 条件性敲除 Indian hedgehog 对出生后小鼠生长板骨化早期的影响. 太原: 山西医科大学, 2016.
- Huang Y Z. The influence of postnatal mice growth plate's early ossification with conditional knockout Indian hedgehog. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2016.
- [52] 王子露, 孙雯, 周熙超, 等. 鼠源性甲状旁腺激素相关蛋白 1~84 片段的制备及其促进骨形成的作用. *南京医科大学学报 (自然科学版)*, 2010, 30(5): 597-601.
- Wang Z L, Sun W, Zhou X C, et al. Construction and expression of a recombinant mouse PTHrP 1-84 and its role in stimulating bone formation. *Acta Universitatis Medicinalis Nanjing (Natural Science)*, 2010, 30(5): 597-601.
- [53] Engin F, Lee B. NOTCHing the bone: insights into multi-functionality. *Bone*, 2010, 46(2): 274-280.
- [54] Manderfield L J, Aghajanian H, Engleka K A, et al. Hippo signaling is required for Notch-dependent smooth muscle differentiation of neural crest. *Development (Cambridge, England)*, 2015, 142(17): 2962-2971.

- [55] Karystinou A, Roelofs A J, Neve A, et al. Yes-associated protein (YAP) is a negative regulator of chondrogenesis in mesenchymal stem cells. *Arthritis Research & Therapy*, 2015, 17(1): 147.
- [56] Wang C C, Inzana J A, Miranda A J, et al. NOTCH signaling in skeletal progenitors is critical for fracture repair. *The Journal of Clinical Investigation*, 2016, 126(4): 1471-1481.
- [57] Novak S, Roeder E, Sinder B P, et al. Modulation of Notch1 signaling regulates bone fracture healing. *Journal of Orthopaedic Research*, 2020, 38(11): 2350-2361.
- [58] Chen Z, Luo Q, Lin C C, et al. Simulated microgravity inhibits osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells via depolymerizing F-actin to impede TAZ nuclear translocation. *Scientific Reports*, 2016, 6: 30322.
- [59] 吴铭, 张岩. 调控骨髓间充质干细胞成骨分化的 Wnt/ β -catenin 信号通路及相关因素. *中国组织工程研究*, 2021, 25(1): 116-122.
- Wu M, Zhang Y. Related factors regulating osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells through Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2021, 25(1): 116-122.
- [60] Zhang Y J, Huang X H, Yuan Y H. MicroRNA-410 promotes chondrogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells through down-regulating Wnt3a. *American Journal of Translational Research*, 2017, 9(1): 136-145.
- [61] Golovchenko S, Hattori T, Hartmann C, et al. Deletion of beta catenin in hypertrophic growth plate chondrocytes impairs trabecular bone formation. *Bone*, 2013, 55(1): 102-112.
- [62] Akiyama H, Lyons J P, Mori-Akiyama Y, et al. Interactions between Sox9 and beta-catenin control chondrocyte differentiation. *Genes & Development*, 2004, 18(9): 1072-1087.
- [63] Tu X L, Delgado-Calle J, Condon K W, et al. Osteocytes mediate the anabolic actions of canonical Wnt/ β -catenin signaling in bone. *PNAS*, 2015, 112(5): E478-E486.
- [64] Zhao J Y, Duan X H, Wang Q T, et al. Progress on signal pathways related to bone metabolism in animals. *Genetic*, 2020, 42(10): 979-992.
- [65] Jiang X R, Guo N, Li X Q, et al. Long non-coding RNA HULC promotes proliferation and osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells via down-regulation of miR-195. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2018, 22(10): 2954-2965.
- [66] Xia W Z, Zhuang L, Deng X, et al. Long noncoding RNA-p21 modulates cellular senescence via the Wnt/ β -catenin signaling pathway in mesenchymal stem cells. *Molecular Medicine Reports*, 2017, 16(5): 7039-7047.
- [67] Hu K Z, Jiang W, Sun H Y, et al. Long noncoding RNA ZBED3-AS1 induces the differentiation of mesenchymal stem cells and enhances bone regeneration by repressing IL-1 β via Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(10): 17863-17875.
- [68] Li Z H, Hu H, Zhang X Y, et al. MiR-291a-3p regulates the BMSCs differentiation via targeting DKK1 in dexamethasone-induced osteoporosis. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 2020, 36(1): 35-42.
- [69] Xu G, Ding Z, Shi H F. The mechanism of miR-889 regulates osteogenesis in human bone marrow mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 2019, 14(1): 366.
- [70] Long F X, Ornitz D M. Development of the endochondral skeleton. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2013, 5(1): a008334.

Role of Signal Pathways and Related Factors Regulating Cartilage Formation in Bone Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

ZHAO Jiu-mei WANG Zhe LI Xue-ying

(Medical Genetics Department of Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China)

Abstract Bone marrow mesenchymal stem cells are a type of adult stem cells with self-replication and multi-differentiation potential. It can differentiate into osteoblasts, chondrocytes, adipocytes, etc. through specific induction, so it has become the ideal seed cell for the most studies on bone regenerative medicine and cell therapy. Current studies have confirmed that in the process of bone marrow mesenchymal stem cells repairing

bone defects, the expression increases of chondrogenesis-related genes in bone marrow mesenchymal stem cells, and then differentiate into chondrocytes. Later, with the formation of osteoblasts and osteoclasts and the growth of blood vessels, the cartilage matrix is gradually degraded and replaced by bone matrix. It shows that chondrocytes are involved in the pre-repair process of bone defects, and the signal pathways and related factors that regulate cartilage formation not only regulate the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into chondrocytes, at the same time, they also play an important role in the process of osteoblast differentiation. Therefore, this article summarizes the regulatory effects and current research status of the signal pathways and related factors that regulate cartilage formation in the bone differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells, in order to provide a theoretical basis and research direction for the clinical search for better treatment of bone defects.

Keywords Signal pathways Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) Transcription factors
Growth factors Cells differentiation