

PI3K/Akt 信号通路在骨质疏松病理过程中的作用

陈亚辉¹ 龚忠勤² 崔燎^{1,2*}

1. 广东医学院药理学教研室, 湛江 524023

2. 广东医学院广东省天然药物研究与开发重点实验室, 湛江 524023

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 03-0356-05

摘要: 磷脂酰肌醇三激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路是调节细胞增殖、分化、存活、迁移和代谢过程的最为一个信号通路。越来越多的证据表明, 骨组织中的许多信号分子能够选择性激活 PI3K/Akt 信号通路的相关基因, 通过调控成骨细胞和破骨细胞的活动, 破坏骨重建过程中骨形成与骨吸收的动态平衡, 在骨质疏松的发生和发展中扮演着非常重要的角色。

关键词: PI3K; Akt; FoxO; Wnt; 骨质疏松

Effect of PI3K/Akt pathway on the pathological development of osteoporosis

CHEN Yahui¹, GONG Zhongqin², CUI Liao^{1,2}

1. Department of Pharmacology, 2Key Laboratory of Natural Drug Research and Development, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China

Corresponding author: CUI Liao, Email: cuiliao@163.com

Abstract: The phosphoinositide 3-kinase and Akt (PI3K/Akt) signaling pathway is the vital pathway responsible for the regulation of the process of cellular proliferation, differentiation, survival, migration, and metabolism. Increasing evidences highlight a pivotal role of diverse proteins in the bone tissue in the development and progression of osteoporosis. These molecules exert an influence in specific activation of gene expression related to PI3K/Akt signaling, contributing to unbalance of bone formation and bone resorption in the process of remodeling via regulation of activities of both osteoblasts and osteoclasts.

Key words: PI3K; Akt; FoxO; Wnt; Osteoporosis

骨质疏松 (osteoporosis) 是一种以骨量低下, 骨微结构破坏, 导致脆性增加, 易发生骨折为特征的全身性代谢性骨病^[1]。在成年脊椎动物的骨重建过程中, 成骨细胞负责的骨形成和破骨细胞负责的骨吸收两个过程持续不断地交替发生^[2], 使得骨骼不断更新, 从而维持骨代谢稳态^[3], 因此这两种细胞的功能异常在骨质疏松发病机理中扮演着重要角色^[4]。

在正常生理情况下, PI3K/Akt 信号通路可以选择性的影响成骨细胞和破骨细胞的生理功能; 在氧化应激状态下, PI3K/Akt 信号通路可通过作用于其特异性的靶基因如叉头转录因子 (FoxO)、糖原合成酶激酶 (GSK3 β) 等, 减轻成骨细胞和破骨细胞的氧化损伤程度^[5]。研究表明, 胰岛素、IGF (胰岛素样

生长因子) 等生长因子能够激活 PI3K/Akt 信号通路, 选择性地调控无翼型 MMTV 整合位点 (Wnt)、FoxO、骨形成蛋白 (BMP)、NF- κ B 受体激活剂配体 (RANKL) 等通路, 从而影响成骨细胞和破骨细胞的形成、分化及其功能, 发挥调节骨量和骨强度的作用^[6]。因此, PI3K/Akt 信号通路作为调控成骨细胞和破骨细胞功能的信号通路网的中心, 在正常生理刺激和病理状态下对维持骨组织动态平衡具有重要作用, 以 PI3K/Akt 作为靶点有可能成为研究开发治疗骨质疏松症的新途径^[7]。本文将综述 PI3K/Akt 信号通路在成骨细胞骨形成、破骨细胞骨吸收和骨质疏松发生和发展过程中的作用, 为进一步研究抗骨质疏松药物提供依据。

1 PI3K/Akt 信号通路

PI3K/Akt 信号通路是细胞增殖、转移、粘附和

*通讯作者: 崔燎, Email: cuiliao@163.com

死亡过程的重要调节者^[8]。PI3K/Akt 信号通路存在于所有哺乳动物细胞中,受一系列细胞外信号如生长因子和细胞因子调节^[9],当这些因子与受体酪氨酸激酶 (RTK) 和 G-蛋白偶联受体 (GPCRs) 结合时,胞质区的酪氨酸残基将会发生自身磷酸化^[10],PI3K 的调节亚基 P58 继而进入质膜内表面,催化亚基 P110 和磷酸化磷脂酰肌醇 4,5-双磷酸 (PIP2),形成大量的的磷脂酰肌醇三磷酸 (PIP3)^[11]。Akt,一种丝/苏氨酸蛋白激酶,其 PH 结构域可与 PIP3 结合^[12],使得 Akt 激酶聚集于质膜,位于质膜上的 Akt 的 Thr308 和 Ser473 残基分别被 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (Pdk1) 和哺乳动物雷帕霉素目标复合物 (mTORC2) 磷酸化,继而被完全激活^[13],激活后的 Akt 可以磷酸化其下游调节细胞存活和生长的靶基因,如:GSK3、B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl) 相关凋亡启动子、FoxO,并使其功能发生改变^[14],影响并调控着一系列的细胞生理过程,如糖代谢、细胞增殖、分化和存活等^[15]。PI3K/Akt 信号通路还受一系列因子的负调节,如 P53 可负调控 PI3K/Akt,胰岛素样生长因子结合蛋白 (IGFBP-3) 可以结合 IGF-1 并抑制其与受体的结合,磷酸酯酶与张力蛋白同源物 (Phosphatase and tensin homolog, 简称 PTEN) 则可使 PIP3 的脱磷酸化^[16, 17]。

2 PI3K/Akt 信号通路与骨组织的联系

激活 PI3K/Akt 信号通路可以引起一系列骨组织相关信号分子的变化,例如,促进碱性磷酸酶 (ALP)、BMP-2 等成骨分化标志物的表达^[18],促进成骨细胞增殖和分化^[19]。缺乏 Akt1 的小鼠在幼年时表现为骨量增长不足,在成年期表现为骨量减少,体现了 PI3K/Akt 信号通路潜在的成骨特异性作用^[20]。同时,PI3K/Akt 信号通路参与下游的核因子 κ B 受体活化因子 (RANK) 和巨噬细胞集落刺激因子受体 (c-Fms) 信号从而对破骨细胞分化、存活和骨吸收起到了至关重要的作用,抑制 PI3K/Akt 信号通路活性将使破骨细胞骨吸收能力减弱^[21]。因此,PI3K/Akt 信号通路具有调节成骨细胞和破骨细胞功能的双重作用,进而影响了骨质疏松的发生发展过程。

3 PI3K/Akt 对成骨细胞功能的影响:

3.1 成骨分化

成骨分化始于间充质干细胞 (MSC) 转化为成骨细胞系的过程中,能够表达成骨特异性转录因子

Runx2 相关转录因子 2 (Runx2),成骨细胞的功能受一系列转录因子调节,在这些因子中,随着前成骨细胞不断的向成骨细胞转化,Runx2 表达减少,而骨钙素 (Osteocalcin) 表达增加,成熟的成骨细胞还可表达 ALP、骨硬骨蛋白 (Sclerostin)、BMP 和骨保护素 (OPG) 等成骨相关基因,进而调节整个成骨分化过程^[22]。

3.2 PI3K 与调控成骨分化的通路

3.2.1 PI3K/Akt 信号通路与 Wnt/ β -catenin 信号通路的联系:Wnt/ β -catenin 信号通路是骨细胞分化和增值过程中重要的信号通路,该通路功能的强弱与骨量的多少有关^[23]。位于细胞质的 β -catenin 受抑癌基因 (APC)、轴蛋白 (Axin) 和 GSK-3 β 组成的降解复合物所调节,GSK-3 β 属于丝/苏氨酸激酶,可磷酸化 β -catenin 的 N 末端,通过泛素化蛋白酶体途径引起 β -catenin 的降解^[24]。而在经典的 Wnt 信号途径中,Wnt 配体与其膜受体 frizzled 和 LRP5/6 的结合将会引起 GSK-3 β 组成的降解复合物分解,细胞质中的 β -catenin 不断积累并向细胞核中聚集,进而与核内 T 细胞淋巴因子和淋巴放大因子 (TCF/Lef) 结合,刺激包括 Runx2 在内的成骨相关靶基因的转录^[25]。Akt 可以磷酸化 GSK-3 β 的 Serine 9 位点,使其磷酸化下游蛋白的功能丧失,GSK-3 β 形成的降解复合物减少,导致 β -catenin 在细胞核中大量聚集,同时,Akt 还可直接磷酸化 β -catenin,促使其激活核中的 TCF 能力增强,进而使得靶基因 Runx2 和其他成骨相关基因的表达增加,从而促进成骨分化^[26]。

3.2.2 PI3K/Akt 和 BMP 通路:骨形成蛋白 (BMPs),作为重要的自分泌和旁分泌生长因子,由成骨细胞合成并释放,在骨形成和骨修复过程中起着不可替代的作用^[27]。BMP 信号分为经典和非经典的 BMP 信号通路,通过 I 型和 II 型丝-苏氨酸激酶受体激活细胞内信号分子 Smad1、Smad2、Smad5 和 Smad8^[28]。在经典的 BMP 信号中,BMP-2 与其磷酸化受体 Smad1/5/8 结合后在细胞核中聚集,进而激活一系列与成骨相关的靶基因的转录^[29]。BMP-2 还可以刺激 Runx2 的表达,同时,BMP-2 激活的 Smads 可以通过结合 Runx2 的 C 末端片段引起成骨特异基因 (如 osterix) 的表达,而 Akt 可以负调控 Smads,抑制活化的 Smad1 和 Smad5 在细胞核聚集,从而阻断了 BMP-2 调控的成骨分化等功能^[30]。同时,BMP-7 也可通过作用于其受体 BMPR2,激活 PI3K/AKT 和 β -catenin 信号,从而发挥抑制成骨细

胞凋亡的作用^[31]。

3.2.3 PI3K/Akt 和 Runx2:越来越多的研究表明, Akt 及其下游靶基因是成骨分化和存活过程中的关键调节者,在缺乏 Akt1 和 Akt2 的小鼠中可见明显的骨量减少,而当 PI3K 的内源性阻断剂 PTEN 缺乏时, Akt 信号通路增强,引起骨量增加^[20],运用 PI3K 阻断剂可明显的抑制成骨细胞分化和矿化^[32]。Runx2 是成骨分化过程中所必需的一个转录因子^[33],在成骨分化和调控骨形成过程中是至关重要的^[34]。基因敲除研究表明,缺乏 Runx2 或其下游因子成骨相关转录因子抗体(osterix)对成骨分化有着不利影响^[35],缺乏 Runx2 的小鼠因缺少成骨细胞而基本上丧失了骨形成能力^[36],而过表达 Runx2 又可以导致骨量的减少^[37]。

研究表明,Runx2 可以通过上调 PI3K P85 亚基、P110 β 亚基和 Akt 的蛋白水平,从而增强 PI3K/Akt 信号通路活性^[38]。在乳腺癌细胞中,Runx2 还可通过调节 mTOR-Rictor 复合物活性,引起 Akt 的 Serine 473 位点磷酸化所必须的 mTORC2 的增加,从而激活了 PI3K/Akt 信号通路^[39]。同时,PI3K/Akt 又可以显著的促进 Runx2 和 Runx2 依赖的转录之间的 DNA 结合^[40, 41]。Akt2 缺乏时 Runx2 的基因和蛋白都表达甚少, Akt 通路可以促进 Runx2 基因的表达^[42]。PI3K/Akt 和 Runx2 之间的反馈调节使得成骨分化过程中的 Runx2 活性增强,从而促进了成骨分化。因此,PI3K/Akt 通路对骨骼的生长和发展是必不可少的。然而,PI3K/Akt 如何调控成骨分化相关因子尚不完全清楚。

3.2.4 PI3K/Akt 与 FoxO 信号通路:在成骨细胞氧化应激状态下,依赖 FoxO 信号通路的氧化防御机制对维持骨量平衡是必不可少的^[43]。FoxO 属于叉头框蛋白(forkhead proteins)家族中的一个亚类,在哺乳动物中有四个 FoxO 同源基因,分别为 FoxO1、FoxO3a、FoxO4 和 FoxO6^[44]。当机体处于氧化应激状态时, FoxO 竞争性的结合 β -catenin,使得 β -catenin 与 TCF 结合减少, Wnt 信号通路减弱,骨形成相关基因表达减少, FoxO 依赖的氧化防御作用对骨形成和骨内稳态至关重要^[45]。Akt 可磷酸化 FoxO 的 Thr-24, Ser-256 和 Ser-319 位点,促进了 FoxO1, 3a, 4 的细胞质聚集及降解, Akt 还可促使磷酸化后的 FoxO 与衔接蛋白 14-3-3 结合,促进 FoxO 向细胞质聚集,从而使得 FoxO 丧失活性^[46-48]。Akt1 能够磷酸化 FoxO3a,阻止其向细胞核聚集,使得反式激活其下游靶基因成骨细胞中的前凋亡分子

(Bim)破坏,进而抑制了成骨凋亡^[49]。

4 PI3K/Akt 对破骨细胞的影响

4.1 破骨分化

破骨细胞由多核巨细胞组成,形成具有骨吸收功能的破骨细胞过程中需要两个关键性因子: RANKL 和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)^[50]。RANKL,属于肿瘤坏死因子(TNF)超家族成员之一,能诱导破骨形成的关键转录因子的转录,如 NF- κ B, c-Fos 等^[51],是破骨细胞形成过程中的主要调节者^[52]。成骨细胞表面的 RANKL 和位于破骨细胞表面的受体 RANK 相互作用后,能募集很多承接分子如肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6),能激活很多下游信号通路,如 p38、Akt、NF- κ B 等,继而引起破骨形成相关基因(如 c-Fos、NFATc1 等)的转录,从而刺激破骨分化^[53]。

4.2 PI3K/Akt 和破骨相关通路

4.2.1 PI3K/Akt/GSK3 β /NFATc1 信号通路:PI3K/Akt 信号通路对于破骨细胞的存活是至关重要的^[54]。研究表明,PI3K/Akt 信号通路在破骨细胞分化中也扮演着非常重要的角色^[55]。胰岛素或生长因子激活 PI3K 信号后,活化的 Akt 能使 GSK3 β 的丝氨酸残基磷酸化,从而阻断了 GSK3 β 的激酶活性^[56]。GSK3 β 能通过调节 NFATc1 转录因子的细胞定位来调节其活性, GSK3 β 能直接磷酸化 NFATc1 核输出所必须的保守丝氨酸残基,还可以通过磷酸化 NFATc1 的丝氨酸-脯氨酸重复片段,从而阻止了 NFATc1 与 DNA 结合,进而抑制了 NFATc1 依赖的基因表达,而 NFATc1 是破骨细胞生成最关键的调节者之一^[57]。因此, PI3K/Akt/GSK3 β /NFATc1 信号轴在 RANKL 引起的破骨细胞形成和分化过程中扮演着至关重要的角色。

4.2.2 PI3K/Akt/AFX/FoxO4: Akt 可利用不同的下游效应器来调节细胞存活,如 GSK3 β , FoxO1a, BAD 和 FoxO4 等,在 RANKL 引起的破骨存活和分化过程中扮演了重要角色^[58]。RANKL 与其受体 RANK 结合后, RANK 募集 TRAF-6、原癌基因 c-Src 形成三聚物,其中, TRAF-6 可激活 c-Src,后者继而引起 PI3K 激活,激活后的 PI3K 可进一步激活 Akt。活化的 Akt 可引起下游效应器 AFX/ FoxO4 发生磷酸化,进而结合 BCL-6,引起抗凋亡蛋白 BCL-XL 的表达增加,调节了破骨细胞存活^[59]。

4.2.3 PI3K/Akt /GSK3 β 调节破骨微结构:研究表明,微管蛋白作为细胞骨架的重要组成部分,可通过

调节破骨细胞中伪足和封闭区的形成来调节破骨细胞的功能和骨吸收,如乙酰化的微管蛋白在调节破骨细胞活力中发挥重要作用,去乙酰化的微管蛋白与分泌骨吸收过程所必需的溶解性颗粒有关,GSK3 β 可磷酸化微管结合蛋白(MAPs),阻止其与微管的结合,使得 MAPs 稳定微管的作用丧失^[60, 61]。Akt 可负调控 GSK3 β ,进而调节了破骨细胞活性及骨吸收功能。然而,这个通路如何调节破骨细胞骨架结构及功能的分子机制还有待进一步研究。

5 总结与展望

PI3K/Akt 通路与成骨和破骨通路紧密联系,调控着成骨细胞和破骨细胞存活、分化过程从而维持骨量和骨转换平衡。AKT 缺乏或者 PI3K/AKT 通路抑制,都将通过各自细胞的自治机制引起成骨细胞骨形成和破骨细胞骨吸收功能损坏。综上,PI3K/Akt 信号通路很可能处于调控成骨细胞和破骨细胞增值、分化、凋亡及功能的信号通路网的中心,影响骨转换平衡。因此,研究与开发 Akt 作为治疗骨质疏松新靶点,是开发治疗骨质疏松新药物的策略。

【参 考 文 献】

- [1] Svedbom A, Ivergard M, Hernlund E, et al. Epidemiology and economic burden of osteoporosis in Switzerland. *Arch Osteoporos*, 2014, 9: 187.
- [2] Vester H, Holzer N, Neumaier M, et al. Green Tea Extract (GTE) improves differentiation in human osteoblasts during oxidative stress. *J Inflamm (Lond)*, 2014, 11: 15.
- [3] Oh JE, Kim HJ, Kim WS, et al. PlexinA2 mediates osteoblast differentiation via regulation of Runx2. *J Bone Miner Res*, 2012, 27(3): 552-62.
- [4] Lai CH, Wu YW, Yeh SD, et al. Effects of 6-Hydroxyflavone on Osteoblast Differentiation in MC3T3-E1 Cells. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 924560.
- [5] Liang D, Xiang L, Yang M, et al. ZnT7 can protect MC3T3-E1 cells from oxidative stress-induced apoptosis via PI3K/Akt and MAPK/ERK signaling pathways. *Cell Signal*, 2013, 25(5): 1126-35.
- [6] Harada S and Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature*, 2003, 423(6937): 349-55.
- [7] Mukherjee A and Rotwein P. Selective signaling by Akt1 controls osteoblast differentiation and osteoblast-mediated osteoclast development. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(2): 490-500.
- [8] Zhang YC, Cheng T, and Yuan WP. [Recent studies on PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in hematopoietic stem cells]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2013, 21(1): 245-9.
- [9] Kim EH and Suresh M. Role of PI3K/Akt signaling in memory CD8 T cell differentiation. *Front Immunol*, 2013, 4: 20.
- [10] Porta C, Paglino C, and Mosca A. Targeting PI3K/Akt/mTOR Signaling in Cancer. *Front Oncol*, 2014, 4: 64.
- [11] Takai S, Tokuda H, Matsushima-Nishiwaki R, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt plays a role in sphingosine 1-

- phosphate-stimulated HSP27 induction in osteoblasts. *J Cell Biochem*, 2006, 98(5): 1249-56.
- [12] Fox EM, Kuba MG, Miller TW, et al. Autocrine IGF-1/insulin receptor axis compensates for inhibition of AKT in ER-positive breast cancer cells with resistance to estrogen deprivation. *Breast Cancer Res*, 2013, 15(4): R55.
- [13] Moriishi T, Kawai Y, Komori H, et al. Bcl2 deficiency activates FoxO through Akt inactivation and accelerates osteoblast differentiation. *PLoS One*, 2014, 9(1): e86629.
- [14] Moon JB, Kim JH, Kim K, et al. Akt induces osteoclast differentiation through regulating the GSK3 β /NFATc1 signaling cascade. *J Immunol*, 2012, 188(1): 163-9.
- [15] Kang HY, Cho CL, Huang KL, et al. Nongenomic androgen activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway in MC3T3-E1 osteoblasts. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(7): 1181-90.
- [16] Nielsen-Preiss SM, Silva SR, and Gillette JM. Role of PTEN and Akt in the regulation of growth and apoptosis in human osteoblastic cells. *J Cell Biochem*, 2003, 90(5): 964-75.
- [17] Diehl N and Schaal H. Make yourself at home: viral hijacking of the PI3K/Akt signaling pathway. *Viruses*, 2013, 5(12): 3192-212.
- [18] Wu CM, Chen PC, Li TM, et al. Si-Wu-tang extract stimulates bone formation through PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathways in osteoblasts. *BMC Complement Altern Med*, 2013, 13: 277.
- [19] Wu SS, Liang QH, Liu Y, et al. Omentin-1 Stimulates Human Osteoblast Proliferation through PI3K/Akt Signal Pathway. *Int J Endocrinol*, 2013, 2013: 368970.
- [20] Peng XD, Xu PZ, Chen ML, et al. Dwarfism, impaired skin development, skeletal muscle atrophy, delayed bone development, and impeded adipogenesis in mice lacking Akt1 and Akt2. *Genes Dev*, 2003, 17(11): 1352-65.
- [21] Adapala NS, Barbe MF, Tsygankov AY, et al. Loss of Cbl-PI3K interaction enhances osteoclast survival due to p21-Ras mediated PI3K activation independent of Cbl-b. *J Cell Biochem*, 2014, 115(7): 1277-89.
- [22] Wu CT, Lu TY, Chan DC, et al. Effects of arsenic on osteoblast differentiation in vitro and on bone mineral density and microstructure in rats. *Environ Health Perspect*, 2014, 122(6): 559-65.
- [23] Bhukhai K, Suksen K, Bhummapan N, et al. A phytoestrogen diarylheptanoid mediates estrogen receptor/Akt/glycogen synthase kinase 3 β protein-dependent activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *J Biol Chem*, 2012, 287(43): 36168-78.
- [24] Santos A, Bakker AD, Zandieh-Doulabi B, et al. Early activation of the β -catenin pathway in osteocytes is mediated by nitric oxide, phosphatidylinositol-3 kinase/Akt, and focal adhesion kinase. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1): 364-9.
- [25] Tokuda H, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, et al. Enhancement of basic fibroblast growth factor-stimulated VEGF synthesis by Wnt3a in osteoblasts. *Int J Mol Med*, 2011, 27(6): 859-64.
- [26] Case N, Ma M, Sen B, et al. β -catenin levels influence rapid mechanical responses in osteoblasts. *J Biol Chem*, 2008, 283(43): 29196-205.
- [27] Ghosh-Choudhury N, Abboud SL, Nishimura R, et al. Requirement of BMP-2-induced phosphatidylinositol 3-kinase and Akt serine/threonine kinase in osteoblast differentiation and

- Smad-dependent BMP-2 gene transcription. *J Biol Chem*, 2002, 277(36): 33361-8.
- [28] Herpin A and Cunningham C. Cross-talk between the bone morphogenetic protein pathway and other major signaling pathways results in tightly regulated cell-specific outcomes. *FEBS J*, 2007, 274(12): 2977-85.
- [29] Ando T, Ichikawa J, Wako M, et al. TWEAK/Fn14 interaction regulates RANTES production, BMP-2-induced differentiation, and RANKL expression in mouse osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Arthritis Res Ther*, 2006, 8(5): R146.
- [30] Agas D, Sabbieti MG, Marchetti L, et al. FGF-2 enhances Runx-2/Smads nuclear localization in BMP-2 canonical signaling in osteoblasts. *J Cell Physiol*, 2013, 228(11): 2149-58.
- [31] Wang Z and Guo J. Mechanical induction of BMP-7 in osteocyte blocks glucocorticoid-induced apoptosis through PI3K/AKT/GSK3beta pathway. *Cell Biochem Biophys*, 2013, 67(2): 567-74.
- [32] Mukherjee A and Rotwein P. Akt promotes BMP2-mediated osteoblast differentiation and bone development. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 5): 716-26.
- [33] Komori T. Runx2, a multifunctional transcription factor in skeletal development. *J Cell Biochem*, 2002, 87(1): 1-8.
- [34] Otto F, Thornell AP, Crompton T, et al. Cbfa1, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell*, 1997, 89(5): 765-71.
- [35] Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, et al. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell*, 2002, 108(1): 17-29.
- [36] Komori T, Yagi H, Nomura S, et al. Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*, 1997, 89(5): 755-64.
- [37] Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest*, 2005, 115(12): 3318-25.
- [38] Fujita T, Azuma Y, Fukuyama R, et al. Runx2 induces osteoblast and chondrocyte differentiation and enhances their migration by coupling with PI3K-Akt signaling. *J Cell Biol*, 2004, 166(1): 85-95.
- [39] Tandon M, Chen Z, and Pratap J. Runx2 activates PI3K/Akt signaling via mTORC2 regulation in invasive breast cancer cells. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(1): R16.
- [40] Kita K, Kimura T, Nakamura N, et al. PI3K/Akt signaling as a key regulatory pathway for chondrocyte terminal differentiation. *Genes Cells*, 2008, 13(8): 839-50.
- [41] Chen J, Yuan K, Mao X, et al. Serum response factor regulates bone formation via IGF-I and Runx2 signals. *J Bone Miner Res*, 2012, 27(8): 1659-68.
- [42] Mukherjee A, Wilson EM, and Rotwein P. Selective signaling by Akt2 promotes bone morphogenetic protein 2-mediated osteoblast differentiation. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(4): 1018-27.
- [43] 杨亚军, 崔燎. FoxO/Wnt 通路在氧化应激介导的骨质疏松中的调控机制. *中国药理学通报*, 2013, 29(1): 27-3.
- Yang Y and Cui L. Regulation mechanism of FoxO/Wnt pathway in osteoporosis mediated by oxidative stress. *Chinese Pharmacological Bulletin* 2013 Jan, 29(1): 27-30.
- [44] Charitou P and Burgering BM. Forkhead box (O) in control of reactive oxygen species and genomic stability to ensure healthy lifespan. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19(12): 1400-19.
- [45] Wang Y, Zhou Y, and Graves DT. FOXO Transcription Factors: Their Clinical Significance and Regulation. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 925350.
- [46] Bahia PK, Pugh V, Hoyland K, et al. Neuroprotective effects of phenolic antioxidant tBHQ associate with inhibition of FoxO3a nuclear translocation and activity. *J Neurochem*, 2012, 123(1): 182-91.
- [47] Chen AT, Guo C, Dumas KJ, et al. Effects of *Caenorhabditis elegans* sgk-1 mutations on lifespan, stress resistance, and DAF-16/FoxO regulation. *Aging Cell*, 2013, 12(5): 932-40.
- [48] Hamann I, Petroll K, Grimm L, et al. Insulin-like modulation of Akt/FoxO signaling by copper ions is independent of insulin receptor. *Arch Biochem Biophys*, 2014.
- [49] Kawamura N, Kugimiya F, Oshima Y, et al. Akt1 in osteoblasts and osteoclasts controls bone remodeling. *PLoS One*, 2007, 2(10): e1058.
- [50] Qu X, Zhai Z, Liu X, et al. Dioscin inhibits osteoclast differentiation and bone resorption through down-regulating the Akt signaling cascades. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443(2): 658-65.
- [51] Tsubaki M, Komai M, Itoh T, et al. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit RANKL- and M-CSF-induced osteoclast formation through the inhibition of ERK1/2 and Akt activation. *J Biomed Sci*, 2014, 21: 10.
- [52] Muruganandan S and Sinal CJ. The impact of bone marrow adipocytes on osteoblast and osteoclast differentiation. *IUBMB Life*, 2014.
- [53] Kim JY, Kim JJ, Oh J, et al. (2S)-2-Methoxykurarinone inhibits osteoclastogenesis and bone resorption through down-regulation of RANKL signaling. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(2): 255-61.
- [54] Gingery A, Bradley E, Shaw A, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase coordinately activates the MEK/ERK and AKT/NFkappaB pathways to maintain osteoclast survival. *J Cell Biochem*, 2003, 89(1): 165-79.
- [55] Yeon JT, Kim KJ, Choi SW, et al. Anti-osteoclastogenic activity of praeurptorin A via inhibition of p38/Akt-c-Fos-NFATc1 signaling and PLCgamma-independent Ca²⁺ oscillation. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88974.
- [56] Shi X, Miller JS, Harper LJ, et al. Reactivation of cocaine reward memory engages the Akt/GSK3/mTOR signaling pathway and can be disrupted by GSK3 inhibition. *Psychopharmacology (Berl)*, 2014.
- [57] Sen B, Styner M, Xie Z, et al. Mechanical loading regulates NFATc1 and beta-catenin signaling through a GSK3beta control node. *J Biol Chem*, 2009, 284(50): 34607-17.
- [58] Datta SR, Brunet A, and Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Akts. *Genes Dev*, 1999, 13(22): 2905-27.
- [59] Liu W, Wang S, Wei S, et al. Receptor activator of NF-kappaB (RANK) cytoplasmic motif, 369PFQEP373, plays a predominant role in osteoclast survival in part by activating Akt/PKB and its downstream effector AFX/FOXO4. *J Biol Chem*, 2005, 280(52): 43064-72.
- [60] Okumura S, Mizoguchi T, Sato N, et al. Coordination of microtubules and the actin cytoskeleton is important in osteoclast function, but calcitonin disrupts sealing zones without affecting microtubule networks. *Bone*, 2006, 39(4): 684-93.
- [61] Matsumoto T, Nagase Y, Hirose J, et al. Regulation of bone resorption and sealing zone formation in osteoclasts occurs through protein kinase B-mediated microtubule stabilization. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(5): 1191-202.