

# 甲状旁腺激素对大鼠骨髓间充质干细胞成脂分化中 LPL 和 ALP 的影响

高飞\* 林梅 葛志敏 郭中豪

山西医科大学第一医院内分泌科,太原 030001

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015)12-1460-05

**摘要:** 目的 利用大鼠骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)建造体外实验模型,探讨间歇应用甲状旁腺激素 1-34(parathyroid hormone 1-34, PTH 1-34)对 BMSCs 成脂分化中脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的影响。方法 (1)全骨髓贴壁培养法分离出 BMSCs,体外培养与鉴定;(2)以 P3 代 BMSCs 为体外实验模型,分为两组:单纯诱导液组和 PTH 组。单纯诱导液组:BMSCs + DMEM 培养基 + 诱导液;PTH 组:BMSCs + DMEM 培养基 + 诱导液 + PTH 1-34;(3)采用间歇方式将不同浓度的 PTH 1-34 加入 PTH 组的 BMSCs 培养基,14 天后采用 ELISA 法测定 LPL 活性,采用 RT-PCR 法测定 ALP 的活性。结果 (1)P3 代细胞表达抗原 CD29、CD44,不表达抗原 CD45,基本符合 BMSCs 表面标志物特征;(2)成脂诱导液诱导 BMSCs 分化 21 天后,油红 O 染色可见胞内脂滴出现,符合脂肪细胞的特性;(3)间歇应用不同浓度的 PTH 作用于 BMSCs 后,与对照组比较,LPL 的表达量下降,ALP 活性增加,并呈剂量依赖性。结论 小剂量间歇应用 PTH 1-34 可使 BMSCs 的成脂分化中 LPL 表达量降低,ALP 表达量增加,证明小剂量 PTH 1-34 可抑制 BMSCs 成脂分化,促进其成骨分化。

**关键词:** 甲状旁腺激素 1-34;骨髓间充质干细胞;成脂分化;脂蛋白脂肪酶;碱性磷酸酶

## Effect of parathyroid hormone on LPL and ALP during adipogenic differentiation by rat bone marrow mesenchymal stem cells

GAO Fei\*, LIN Mei, GE Zhimin, GUO Zhonghao

Department of Endocrinology, the First Teaching Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: GAO Fei, Email: gaofxixi@126.com

**Abstract: Objective** To establish rat bone marrow mesenchymal stem cell experimental model, and to explore the effect of intermittent application of parathyroid hormone on lipoprotein lipase (LPL) and alkaline phosphatase (ALP) during adipogenic differentiation by BMSCs. **Methods** (1) BMSCs were separated and expanded by whole bone marrow adherent culture method, and they were identified in vitro. (2) The P3 of BMSCs was taken for the test in vitro. They were divided into 2 groups: pure induced liquid group (BMSCs + induced liquid + DMEM medium) and PTH group (BMSCs + induced liquid + DMEM medium + PTH1-34). (3) Different concentrations of PTH1-34 were intermittently added to BMSCs medium. After 14 days LPL activity was measured using ELISA. Expression of ALP mRNA was measured using real-time PCR. **Results** The P3 cells expressed CD44 and CD29, but did not express CD45, which were consistent of BMSCs characteristics. By culturing in adipogenic medium for 21 days, Oil Red O staining could be seen, indicating that the cells were successfully induced to adipocytes. Compared with the control group, mRNA expression of ALP decreased but LPL activity increased after intermittent use of different concentrations of PTH1-34. The effect was dose-dependent. **Conclusion** Intermittent application in low doses of PTH1-34 decrease LPL activity but increase mRNA expression of ALP during adipogenic differentiation by BMSCs, indicating that low doses of PTH1-34 inhibit adipogenic differentiation but promote osteogenic differentiation.

**Key words:** Parathyroid hormone 1-34; Bone marrow mesenchymal stem cells; Adipogenic differentiation; Lipoprotein lipase; Alkaline phosphatase

基金项目:太原市社会发展科技项目(11027604)

\* 通讯作者:高飞,Email:gaofxixi@126.com

甲状旁腺激素 1-34(parathyroid hormone 1-34, PTH1-34)由甲状旁腺的主细胞和嗜酸性粒细胞合

成并分泌<sup>[1]</sup>,是当前促进骨形成药物的代表性药物。早在 1979 年 Riggs BL 就研究了 PTH 在骨质疏松症(osteoporosis, OP)中的重要性,发现绝经后及老年性骨质疏松患者存在 PTH 水平下降<sup>[2]</sup>。研究表明,PTH 呈代偿性分泌增多,可导致骨转换率加速和骨丢失,而小剂量、间歇应用 PTH1-34 能够促进骨形成,同时还可以改善骨骼的微结构<sup>[3-4]</sup>。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)具有内在的成骨和成脂肪分化潜能,两者之间的分化相互关联<sup>[5]</sup>。成骨细胞和成脂细胞不仅拥有一个共同的前体细胞源 BMSCs,还具有相同的细胞表型,在一定条件下两种细胞可在不同的分化方向之间转化,并且存在一种相互牵制、此消彼长的关系<sup>[6]</sup>。BMSCs 向成骨细胞与脂肪细胞分化的平衡维系着髓内骨组织与脂肪组织量的平衡,成骨分化与成脂分化互为“倒数”关系<sup>[6]</sup>。因此,当 BMSCs 分化的脂肪细胞含量高时,相应的其所分化出的成骨细胞少,反之亦然。本实验是通过研究间歇应用不同浓度的 PTH1-34 对 BMSCs 成脂分化中 LPL 和 ALP 的影响,探讨间歇应用小剂量 PTH1-34 治疗骨质疏松症的分子机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂及仪器

PTH1-34(上海吉尔生化),DMEM/F12 培养基、胎牛血清(GIBCO 公司),成脂诱导培养基、成骨诱导培养基(Cyagen),四氮唑化合物(MTT),二甲亚砜(DMSO),PBS 溶解液,LPL 活性试剂盒(南京建成生物工程研究所),Trizol RNA 提取试剂,dNTP,引物(上海生工),酶标仪(美国赛默飞公司),PCR 热循环仪(Gene Amp9600,PE 公司,美国)。

### 1.2 体外实验模型的建立

取 4 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠 1 只,脱颈法处死,无菌条件下去除干骺端暴露骨髓腔,将骨髓冲至离心管,离心,弃上清,移液枪反复吹打至细胞均匀后,将细胞以  $1 \times 10^6$  cells/ml 的密度种植于 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶中,培养箱培养 72 h 后更换培养液,除去未贴壁的细胞并观察。后每 2~3 天换液 1 次,至 12d 细胞融合至 80%~90% 时,取 P3 代细胞胰酶消化后分别置于成脂和成骨诱导培养基中培养,21d 和 28d 后分别进行油红 O 染色和茜素红染色。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 间歇应用不同剂量的 PTH1-34 对 BMSCs 增殖的影响(MTT 法):**取 P3 代 BMSCs 接种于 96 孔

板中,5000cells/孔,每孔 200 $\mu$ L,置于细胞培养箱中孵育。以 48 h 为一个循环,间歇应用,前 6 个小时加入含有不同浓度的 PTH1-34 ( $0, 10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-8}$  mol/l)培养基,后 42 h 换成不含 PTH1-34 的细胞培养基,每组设 5 个复孔。一个循环后每孔加 5% MTT 液 20  $\mu$ l,混匀后继续在细胞培养箱中孵育 4 h,终止培养,吸弃上清液,稍振荡待后每孔加入溶剂(DMSO)150  $\mu$ l,震荡 10 min,选择 490 nm 波长,测定各孔的光吸收值(OD 值)。

**1.3.2 间歇应用不同剂量的 PTH1-34 对 BMSCs 成脂分化的影响:**取生长状态良好的 P3 代细胞,分两组进行实验,即单纯诱导液组和 PTH 组。单纯诱导液组:BMSCs + DMEM 培养基 + 诱导液;PTH 组:BMSCs + DMEM 培养基 + 诱导液 + PTH1-34, PTH 组又分为 3 小组。以 48 h 为一个循环,前 6 个小时分别向 PTH 组的 3 个小组加入含不同浓度 PTH1-34 ( $10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-8}$  mol/l)的成脂诱导培养基,单纯诱导液组内仅有成脂诱导液,不加 PTH,6 h 后吸弃上清液,用 PBS 清洗 1 次,然后换成成脂诱导培养基维持 42 h。7 个循环后,用 ELISA 法测定 LPL 的活性,用 RT-PCR 法测定 ALP 的表达量。具体步骤如下:(1)细胞总 RNA 的提取:收集细胞,加入 1 ml Trizol,充分破碎和溶解细胞提取 RNA;加入 200 $\mu$ L 氯仿,振荡混匀后离心 5 min,将上清液移入 EP 管中,加入异丙醇,离心 5min 以沉淀 RNA。(2)cDNA 第一链的合成:参照试剂盒说明。(3)PCR 反应步骤:根据引物设计软件设计 ALP 和 PPAR $\gamma$  引物,同时扩增  $\beta$ -actin 作为内参,引物见表 1。反应条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 10 min,活化 Tag 酶;94 $^{\circ}$ C 变性 15 s,55 $^{\circ}$ C 30 s,60 $^{\circ}$ C 60 s,45 个循环结束。以  $\beta$ -actin 为管家基因,对照孔为校正值,采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算基因表达的相对变化。

表 1 RT-PCR 基因引物序列

Table 1 The primer sequences of genes for semi-quantitative RT-PCR

基因 Gene	上游引物 Upstream primer	下游引物 Downstream primer	
$\beta$ -actin	gtcaggtcatcaactatcggcaat	agaggtctttacggatgcaactg	147bp
ALP	gacaagaagcccttcacagc	actgggcctgtagttgttg	118bp

### 1.4 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计学软件对实验数据进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间两两比较采用 LSD-t 检验,以  $P < 0.05$  为差异表示有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 BMSCs 的鉴定结果

**2.1.1 BMSCs 的形态特征、表面标志物鉴定:**倒置相差显微镜下观察, P<sub>0</sub>代 BMSCs 细胞为圆形、悬浮状, 3 天后细胞贴壁, 呈多角形、有突起形成, 集簇状排列, 10 ~ 14 d 细胞融合至 80% ~ 90%, 传代后呈

均一长梭形、纺锤形和多角形, 体积较大, 开始增殖以后细胞突起相互连接, 常有一两个位置居中的细胞核, 增殖迅速, 并呈集落样生长, 且都能附着在细胞培养瓶壁上生长, 具有成纤维细胞的特点。流式细胞仪检测显示, P3 代 BMSCs CD29 阳性细胞比率为 79.95%, CD44 阳性细胞比率为 84.19%, CD45 阳性细胞比率为 1.33% (见图 1)。

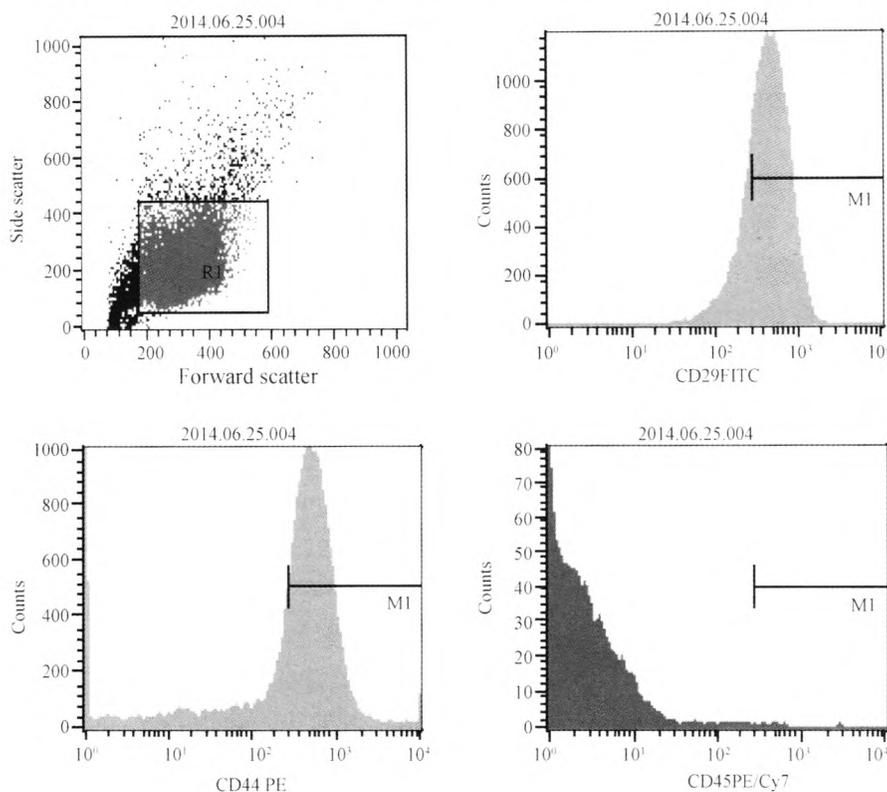


图 1 细胞表面标志物鉴定

Fig. 1 Identification of the cell surface markers.

**2.1.2 BMSCs 的多向分化能力的鉴定:**(1) BMSCs 成脂诱导的鉴定: BMSCs 成脂诱导 1w 后, 细胞由长梭形变为椭圆形、圆形, 出现折光性强的小脂滴, 21 d 后油红 O 染色后在光镜下细胞胞浆内可见染成红色的脂肪滴, 有的细胞核偏向一边, 符合脂肪细胞的特性 (见图 2); (2) BMSCs 成骨诱导的鉴定: BMSCs 成骨诱导后 10 d 左右, 细胞体积增大, 由长梭形呈多角形、短梭形改变, 形成多层细胞, 28 d 后茜素红染色阳性 (见图 3)。

**2.2 间歇应用不同剂量 PTH1-34 对 BMSCs 增殖、成脂分化及成骨分化影响的结果**

**2.2.1 间歇应用不同剂量 PTH1-34 对 BMSCs 增殖的影响:**间歇应用不同剂量 PTH1-34 (0、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$  mol/L) 作用于 BMSCs 后, 对照组与实验组、实验组组间比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 2。

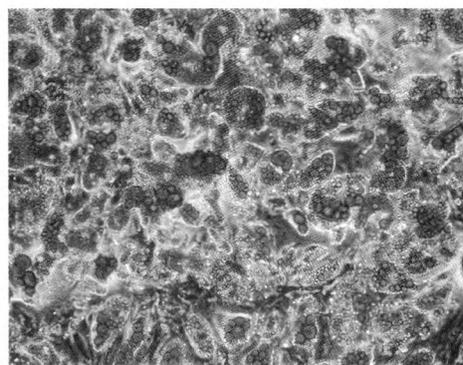


图 2 BMSCs 成脂诱导 (×100)

Fig. 2 Adipocyte differentiation by bone marrow mesenchymal stem cells (×100)

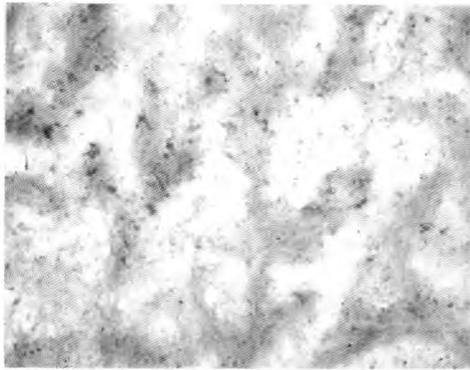


图 3 BMSCs 成骨诱导 (×40)

Fig. 3 Osteoblast differentiation by bone marrow mesenchymal stem cells (×40)

表 2 不同实验组对 BMSCs 增殖的影响 (n = 5,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Effect of different treatment on the cell proliferation of BMSCs (n = 5,  $\bar{x} \pm s$ )

浓度	PTH 值
0 mol/L	0.39 ± 0.10
10 <sup>-10</sup> mol/L	0.36 ± 0.11
10 <sup>-9</sup> mol/L	0.31 ± 0.05
10 <sup>-8</sup> mol/L	0.39 ± 0.09
F 值	0.751
P 值	0.538

2.2.2 间歇应用不同剂量 PTH1-34 对 BMSCs 成脂分化中 LPL、ALP 的影响: 间歇应用不同剂量 PTH1-34 (10<sup>-10</sup>、10<sup>-9</sup>、10<sup>-8</sup> mol/L) 作用于 BMSCs 后, 与单纯诱导液组相比, 脂肪细胞标志物 LPL 的表达量随 PTH1-34 浓度的升高而降低, 组间比较及组内比较均有统计学意义 (P < 0.05), 见表 3。成骨细胞标志物 ALP mRNA 的表达量随浓度的升高而增加, 组间比较及组内比较均有统计学意义 (P < 0.05), 见表 4, 结果提示间歇应用 PTH1-34 可抑制 BMSCs 成脂分化, 促进其成骨分化, 且呈剂量依赖性。

表 3 不同实验组对 LPL 表达量的影响 (n = 5,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effect of different treatment on the expression of LPL (n = 5,  $\bar{x} \pm s$ )

浓度	LPL 值
0 mol/L	11.20 ± 0.61
10 <sup>-10</sup> mol/L	7.62 ± 0.48 *
10 <sup>-9</sup> mol/L	5.84 ± 0.57 **
10 <sup>-8</sup> mol/L	5.32 ± 0.52 **
F 值	141.24
P 值	< 0.000

注: 各实验组与对照组比较, P < 0.05; 各实验组组间比较, P < 0.05, 差异有统计学意义

表 4 不同实验组对 ALP 表达量的影响 (n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effect of different treatment on the mRNA expression of ALP (n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )

浓度	ALP 值
0 mol/L	0.19 ± 0.02
10 <sup>-10</sup> mol/L	0.33 ± 0.02 *
10 <sup>-9</sup> mol/L	0.55 ± 0.03 **
10 <sup>-8</sup> mol/L	0.68 ± 0.02 **Δ
F 值	294.18
P 值	< 0.00

注: 各实验组与对照组比较, P < 0.05; 各实验组间两两比较, P < 0.05, 差异有统计学意义

### 3 讨论

OP 是一种以骨量低下, 骨微结构损坏, 导致骨的脆性增加, 易发生骨折为特征的全身性骨病。疼痛、脊柱变形和发生脆性骨折是其最典型的临床表现<sup>[7]</sup>。正常成熟骨的代谢主要以骨重建形式进行, 成人骨骼终生不间断地更新和重建, 目的是新旧交替、维持骨强度平衡。这一骨重建过程, 依赖于破骨细胞的骨吸收和成骨细胞的骨形成两个过程精确协同。近年大量研究已从细胞水平展示了破骨细胞和成骨细胞相耦联的奇妙关系, 它们经细胞内外多途径精确信号调控, 涉及正负反馈环和双向作用机制, 从而维持骨稳态。

国内外关于 PTH1-34 对 BMSCs 细胞增殖影响的研究尚有不同报道, 杜艳萍等人<sup>[8]</sup>研究不同浓度 PTH1-34 (10<sup>-12</sup> ~ 10<sup>-8</sup> mmol/L) 对人 BMSCs 细胞增殖的影响, 发现 PTH1-34 可以促进 BMSCs 的增殖, 调节其分化, 但不能维持 BMSCs 细胞的干性。而国外 Tillmann 等<sup>[9]</sup>将不同浓度 PTH1-34 (0、10 μmol/L、100 μmol/L) 作用于加入了成骨诱导液的 BMSCs 细胞, 结果发现 PTH1-34 对 BMSCs 的增殖无影响。本实验通过观察间歇应用不同浓度 PTH1-34 对 BMSCs 细胞增殖的影响, 发现各浓度 PTH1-34 对 BMSCs 增殖无明显影响, 同 Tillmann 等人结果相似。结果提示在一定的诱导条件下, PTH1-34 有可能不影响 BMSCs 的增殖, 而只根据其所处的诱导环境促进其分化, 可能是当细胞在诱导液作用下诱导分化时, 促进了细胞的分化功能而其增殖能力却受到抑制。当然, 其它的一些内在因素亦有所影响, 如细胞种属不同或分化程度不同。

脂蛋白酯酶 (lipoprotein lipase, LPL) 于 1943 年首次被发现, 是丝氨酸酯酶家族成员之一, 它主要由脂肪细胞、心肌细胞、骨骼肌细胞等实质细胞合成和

分泌,只在胚胎和新生儿的肝中有表达,在成人肝中不表达<sup>[10]</sup>。LPL 的主要生理功能是可以水解血浆乳糜微粒和极低密度脂蛋白中的甘油三酯(TG),生成的游离脂肪酸进入心肌、骨骼肌等氧化分解、释放能量,或在脂肪组织中重新合成 TG 储存起来。LPL 是 TG 降解的限速酶,对清除体内过多的 TG 至关重要,在脂代谢、胰岛素抵抗、脂肪细胞分化中有重要作用,成为当今研究肥胖症和相关疾病的热点<sup>[10]</sup>。影响 LPL 表达量的因素很多,激素、营养、运动、过氧化物增殖因子活化受体  $\gamma$ 、载脂蛋白、糖基化磷脂酰肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白 1、血管生成素样蛋白 3 和 4 等都可影响 LPL 的表达量<sup>[11]</sup>。

碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)主要来自于骨骼,由成骨细胞产生,是成骨细胞分化成熟标记酶,可能参与骨基质成熟钙化过程的调节,促进  $\text{Ca}^{2+}$  在基质中的沉积,为诱导成骨后的关键标志物之一,可用该酶活性的高低来检测 BMSCs 向成骨分化的能力。笔者通过 RT-PCR 方法显示碱性磷酸酶的表达来鉴定成骨细胞,以此来反映成骨分化的程度。PTH1-34 可通过 BMP 信号通路导致 BMSCs 向成骨细胞分化<sup>[12]</sup>, BMP 信号通路调节干细胞的自我更新和分化,细胞的增殖、迁移和凋亡,以及胚胎发育和出生后组织体内稳态的维持。该信号通道已经被证实了是以牺牲脂肪细胞生成为代价来促进成骨细胞生成<sup>[13]</sup>。

因此,ALP 作为诱导成骨后的关键性标志物之一,并且是最早出现的成骨标志,可以通过对它的测定反映细胞向成骨方向分化的程度<sup>[14]</sup>;而 LPL 是脂肪分解的关键酶,已被证实是脂肪细胞分化早期的经典标志之一,故可通过对 LPL 的测定来反映成脂分化的程度。本实验通过研究间歇应用不同剂量 PTH1-34 对大鼠骨髓间充质干细胞成脂分化中 LPL 和 ALP 的影响,发现实验组与对照组比较下,脂肪细胞标志物 LPL 表达量降低,而成骨细胞标志物 ALP 的表达量升高,提示间歇应用 PTH1-34 可抑制 BMSCs 成脂分化,促进其成骨分化,成脂分化与成骨分化之间互为反作用,即在骨髓间充质干细胞成骨分化增强时,成脂分化就减弱<sup>[15]</sup>,LPL 表达量降低而 ALP 表达量升高,同国内外报道相一致。

本研究通过探讨间歇性应用不同浓度的 PTH 对 BMSCs 成脂分化中 LPL 和 ALP 的影响,得出实验结果提示间歇性应用 PTH 可人为的在体外动物实验模型中造成 PTH 分泌的高度稳定性及规律性,尽量模拟与人体正常生理相似的 PTH 分泌,从而达

到促进骨髓间充质细胞向成骨分化的目的。但是本研究是将大鼠来源 BMSCs 建立体外实验模型,所得结果建立在体外实验基础上,而将 PTH1-34 作用于骨质疏松大鼠体内是否同样具有抑制 BMSCs 成脂分化,促进成骨分化的作用,是否受体内其它环境的影响,还有待进一步研究论证。

#### 【 参 考 文 献 】

- [1] Keung YK, Pettenati MJ, Cruz JM, et al. Bone marrow cytogenetic abnormalities of aplastic anemia. *Am J Hematol*, 2001, 66(3): 167-171.
- [2] Ohga, Ohara A, Hibi S, et al. Treatment responses of childhood aplastic anaemia with chromosomal aberrations at diagnosis. *Br J Haematol*, 2002, 118(1): 313-319.
- [3] Guo YS, Yuan WJ, Zhang AP, et al. Parathyroid hormonemimogen-activated protein kinase axis exerts fibrogenic effect of connective tissue growth factor on human renal proximal tubular cells. *Chin Med J(Engl)*, 2010, 123(24): 3671-3676.
- [4] Rubin MR, Bilezikian JP. Parathyroid hormone as an anabolic skeletal therapy. *Drugs*, 2005, 65(17): 2481-2498.
- [5] Huang DQ, Yang DJ, Li WR, et al. Correlation between adipogenic and osteogenic cells under the directional differentiation of mesenchymal stem cells. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, 2006, 10(1): 31-34.
- [6] Beresford JN, Bennett JH, Devlin C, et al. Evidence for an inverse relationship between the differentiation of adipocyte and osteogenic cells in rat marrow stromal cell cultures. *J Cell Sci*, 1992, 102(Pt 2): 341-351.
- [7] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松症诊治指南(2011年).*中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2011, 4(1): 2-17.  
The Chinese medical association of osteoporosis and bone mineral salt disease branch. Guide for diagnosis and treatment of primary osteoporosis(2011). *Chin J Osteoporosis & Bone Miner Res*, 2011, 4(1): 2-17. (in Chinese)
- [8] Tang WJ, Du YP, Wei H, et al. Effects of PTH on hMSCs proliferation, differentiation, stemness and paracrine. *Chin J Osteoporosis Bone Miner Res*, 2014, 7(1): 42-47.
- [9] Tillmann FP, Hofen D, Herten M, et al. Effects of different 1-34 Parathyroid Hormone Dosages on Fibroblast Growth Factor-23 secretion in Human Bone Marrow Cells following Osteogenic Differentiation. *Orthop Rev(Pavia)*, 2014, 6(2): 5314.
- [10] Wang H, Eckel RH. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 297(2): E271-E288.
- [11] 刘桂, 王晓慧. 运动和饮食对脂蛋白酯酶的影响及机制研究进展. *生理科学进展*, 2014, 45(2): 87-92.  
Liu G, Wang XH. Research Advances in the Effects of Exercise and Diet on LPL and Its Mechanism. *Progress in Physiological Sciences*, 2014, 45(2): 87-92. (in Chinese)
- [12] Lu YK, Capilla E, Rosen CJ, et al. Mechanical stimulation of mesenchymal stem cell proliferation and differentiation promotes osteogenesis while preventing dietary-induced obesity. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(1): 50-61.
- [13] Kulkarni NH, Wei T, Kumar A, et al. Changes in osteoblast, chondrocyte, and adipocyte lineages mediate the bone anabolic actions of PTH and small molecule GSK-3 inhibitor. *J Cell Biochem*, 2007, 102(6): 1504-1518.
- [14] Qi ZX, Li SQ, Yu T. Ground beetle to hormone induced under the influence of PPAR $\gamma$  and  $\alpha$ 2mRNA of the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells of the bone marrow. *Journal of Fujian college of traditional Chinese medicine*, 2010, 20(4): 19-20.
- [15] Huang DQ, Yang DJ, Li WR, et al. Correlation between adipogenic and osteogenic cells the directional differentiation of mesenchymal stem cells. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2006, 10(1): 31-33.

(收稿日期: 2015-04-13)