

·综述·

TNF- α 与干细胞成骨分化

陈林 薛纯纯 舒冰 王拥军*

1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032
2. 上海中医药大学脊柱病研究所, 上海 200032

中图分类号: R363 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 05-0619-06

摘要: 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 在干细胞向成骨分化过程中扮演着双重角色 (促进或抑制成骨分化), 其过程受到多条信号通路调控, 如 Wnt、BMP-Smads、MAPK、NF- κ B 等信号通路。而 TNF- α 的作用时间、作用浓度及作用的干细胞类型又可能是决定其促进或抑制干细胞成骨分化的主要因素。本文就以 TNF- α 对干细胞成骨分化作用的相关信号通路及可能决定因素做一简要概述。

关键词: TNF- α ; 成骨分化; 干细胞; 信号通路

TNF-alpha and osteogenic differentiation by stem cells

CHEN Lin, XUE Chunchun, SHU Bing, WANG Yongjun

1. Longhua Hospital
2. Spine Research Institute, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Corresponding author: WANG Yongjun, Email: yjwang8888@126.com

Abstract: Tumor necrosis factor α (TNF- α) plays dual function role in osteogenic differentiation by stem cells (promoting or inhibiting osteogenic differentiation). The process is regulated by multiple signaling pathways, including Wnt, BMP-Smads, MAPK, and NF-kappa B signaling pathways. The treatment time and dosage of TNF- α and the type of the stem cell might be important factors to determine the effect of TNF-alpha on stem cell osteogenic differentiation. In this review, signaling pathways and potential factors involved in stem cell osteogenic differentiation with TNF- α treatment are discussed.

Key words: TNF- alpha; Osteogenic differentiation; Stem cells; Signaling pathway

TNF- α 是由巨噬细胞/单核细胞活化产生的一种细胞因子, 其在干细胞向成骨分化过程中起着重要的作用——促进或抑制干细胞向成骨分化^[1-3]。大量研究表明, TNF- α 促进或抑制干细胞向成骨分化的过程与多条信号通路相关, 包括 Wingless-type MMTV integration site family members (Wnt)、骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP)-Smads、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、核转录因子 kappa B (nuclear transcription factor kappa B, NF- κ B) 等信号通路, 但何种因素决定 TNF- α 是促进或抑制干细胞向成骨

分化仍存在争议。近期的研究发现, 体外实验中不同的 TNF- α 作用时间、作用浓度及作用的干细胞类型可对成骨分化产生不同的作用。现以 TNF- α 对干细胞成骨分化作用的相关信号通路及可能决定因素做一综述, 为后续的研究提供一定的思路。

1 TNF- α 与 Wnt 信号通路

Wnt 信号通路在间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 向成骨分化过程中起着重要作用^[4], 按其对于 β -链蛋白 (β -catenin) 依赖与否可分为经典 Wnt 信号通路即 Wnt/ β -catenin 信号通路和非经典 Wnt 信号通路即 Wnt/PCP、Wnt/ Ca^{2+} 信号通路。经典 Wnt 信号通路的配体包括 Wnt1 ~ 3、Wnt8、Wnt10b 等, 非经典 Wnt 信号通路的配体包括 Wnt4 ~ 7、Wnt11 等^[5]。在经典 Wnt 信号通路中, Wnt 配体与其受体卷曲蛋白 (Frizzled, Frz)、低密度

基金项目: 教育部“创新团队发展计划”(IRT1270); 国家自然科学基金青年基金, (81403239); 上海中医药大学“085 工程”中医药学一流学科建设项目“引导创新计划”(085ZY1204); 国家自然科学基金重大项目国际合作项目(81220108027)

* 通讯作者: 王拥军, Email: yjwang8888@126.com

脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (LDL-receptor-related protein 5/6, LRP-5/6) 相结合, 从而抑制 β -catenin 降解复合物 APC-Axin-GSK3 β 形成, 阻断 β -catenin 磷酸化。

未磷酸化的 β -catenin 即激活的 β -catenin 在胞质中累积并入核, 与 T 细胞因子 (T cell factor, TCF)/淋巴细胞增强因子 (lymphoid enhancer factor, LEF) 相互作用, 促进靶基因如 C-myc、cyclinD1 等表达促进成骨^[6]。非经典 Wnt 信号通路同样可以促进细胞成骨分化^[7], 其可通过激活 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38MAPK)、c-Jun N 端激酶 (JNK) 促进 BMP2 表达促进成骨^[8, 9]。

TNF- α 可通过 Wnt 信号通路激活其下游成骨因子表达促进干细胞向成骨分化。TNF- α 促进人类间充质干细胞 (human mesenchymal stem cells, hMSCs) 成骨分化, 同时刺激非组织特异性碱性磷酸酶 (tissue-nonspecific alkaline phosphatase, TNAP) 表达并诱导矿化。Dickkopf 相关蛋白 1 (DKK1) 是 Wnt 信号通路的抑制剂, 可与 Wnt 配体竞争性结合 LRP-5/6 阻断 Wnt/ β -catenin 信号通路^[10]。在 TNF- α 的作用过程中, 细胞内 DKK1 水平增加, β -catenin 磷酸化水平无下降, 用 DKK1 或 DKK1 抑制剂干扰对 hMSCs 的 TNAP 及矿化表达影响均轻微。而给予 Wnt5a 抑制剂能明显逆转因 TNF- α 引起的矿化, 同时 TNF- α 作用于 hMSCs 后可显著上调细胞内 Wnt10b 和 Wnt5a 水平, 说明 TNF- α 是通过非经典 Wnt 信号通路促进成骨^[11]。

2 TNF- α 与 BMP-Smads 信号通路

BMPs 为转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 超家族成员, Smads 为其细胞内信号转导蛋白, 按其功能可分为受体调节型 Smad (R-Smads)、共同介质型 Smad (Co-Smad) 和抑制性 Smad (I-Smads)。BMPs 与其受体结合后激活 R-Smads (Smad1、Smad 5、Smad 8), 活化的 R-Smads 与 Co-Smads (Smad4) 形成复合体转移至细胞核内调控 Runx2 (Runt-related transcription factor 2, Runx2)、Osterix 等基因表达^[12]。Runx2 是细胞成骨分化的特异性转录因子, 为 BMP2 的靶基因, BMPs 激活 Smads 后通过 Runx2 启动子 AP-1 和 AP-2 启动 Runx2 基因转录^[13]。

TNF- α 可直接抑制 BMP-Smads 信号通路或促进其下游成骨效应分子泛素化来抑制干细胞向成骨分化。TNF- α 可抑制 BMPs 诱导的 Smad1、5、8 磷酸

化, 阻止 Smad1-Smad4 复合体转运至细胞核, 抑制成肌细胞 C₂C₁₂ 成骨分化^[14]。Smurf 是 E3 泛素连接酶家族的成员, 可使 Runx2 及 Smad1 泛素化而阻断 BMP-Smads 信号通路^[15]。研究发现, TNF- α 可以显著上调 C₂C₁₂ 细胞和 T₃ 细胞 Smurf1 和 Smurf2 水平, 促进 Runx2 泛素化, 抑制 C₂C₁₂ 细胞和 T₃ 细胞的成骨分化; 用 RNA 干扰技术或蛋白酶体抑制剂抑制 Smurf1 和 Smurf2 的表达, 则可以逆转 TNF- α 导致的成骨抑制作用, 从而证明 TNF- α 通过促进 Runx2 泛素化抑制成骨^[16]。还有研究利用 TNF- α 转基因小鼠发现, TNF- α 可以提高泛素化链接酶 E3 WW Domain Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase 1 (WWP1) 的表达, 使 AP-1 转录因子 JunB 泛素化进而抑制 BMP-Smads 信号通路下游的基因转录, 进一步抑制 bMSCs 的成骨分化^[17]。

3 TNF- α 与 MAPK 信号通路

MAPK 信号通路主要参与细胞的形成、运动、凋亡、分化和生长等过程^[18], 其包含 4 条转导通路: 细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2)、JNK、p38MAPK 和 ERK5 信号通路。越来越多的研究发现 TNF- α 可通过 MAPK 信号通路下的 ERK1/2、JNK、p38MAPK 信号通路促进或抑制干细胞成骨分化^[19-21]。

如 TNF- α 干预脂肪基质细胞 (adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, ASCs) 后可促进 ASCs 增殖、活化, 并上调其 I 型胶原蛋白、骨钙素、Runx2 及 BMP2 的表达。进一步研究其机制发现 ASCs 的成骨分化与 TNF- α 诱导的 p38、ERK1/2 蛋白磷酸化密切相关。使用 ERK1/2 抑制剂抑制 ERK1/2 信号通路可下调 ASCs 的 BMP2 表达及成骨分化, 但抑制 p38MAPK 信号通路并不能抑制成骨, 说明 TNF- α 通过激活 ERK1/2 信号通路促进 ASCs 成骨分化^[22]。而在人类骨膜细胞成骨过程中, TNF- α 则激活 JNK 信号通路促进成骨分化。TNF- α 可诱导人类骨膜细胞 ERK、JNK 磷酸化并促进其碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 表达, 但并不增加 Runx2 及骨钙素分泌, JNK 信号抑制剂 SP600125 可减少细胞 ALP 的表达及矿化^[20]。

此外在其他研究中也发现 TNF- α 可以通过 MAPK 信号通路抑制干细胞向成骨分化。在 C₂C₁₂ 细胞和小鼠胚胎成骨细胞 MC₃T₃-E₁ 成骨分化过程中, BMP2 可诱导细胞 ALP、钙沉积和 Runx2 的表达, TNF- α 能抑制 BMP2 的作用。但 TNF- α 不影响

Smads 蛋白的转运及磷酸化,说明 TNF- α 并非作用于 BMP-Smads 信号通路。而在 TNF- α 抑制成骨的同时又伴随着细胞内 p38 及 ERK1/2 蛋白磷酸化水平的增加,使用 p38MAPK、ERK1/2 信号通路抑制剂 SB203580 和 PD98059 能够显著改善细胞 Runx2 的表达,说明 TNF- α 通过 p38MAPK 和 ERK1/2 信号通路抑制细胞成骨分化^[21]。

4 TNF- α 与 NF- κ B 信号通路

NF- κ B 信号通路包含两种激活途径:经典途径和非经典途径^[23]。TNF- α 主要通过前者介导 NF- κ B 信号转导^[24]。NF- κ B 是一个由 p50、p65 两个亚单位所组成的二聚复合体,在静息状态下,NF- κ B 与其抑制物 I κ B α 以无活性的三聚复合体形式存在于细胞浆中。当细胞受到 TNF- α 等炎症因子刺激时,激活的 IKK (IKB kinases) 将 I κ B α 磷酸化,继而 I κ B α 降解,释放出游离的 NF- κ B 二聚体,游离的 NF- κ B 二聚体从胞浆转移至核内与特异性 DNA 位点结合,激活下游靶基因^[25]。所以 I κ B α 降解是活化 NF- κ B 的重要因素,减少或抑制 I κ B α 降解可阻断 NF- κ B 信号通路^[26]。

TNF- α 可通过激活 NF- κ B 信号通路干扰 Wnt 信号通路,影响干细胞的成骨分化。研究发现在 hMSCs 成骨分化过程中,TNF- α 激活 NF- κ B 信号通路后诱导 Smurf1 和 Smurf2 生成,Smurf1、Smurf2 促进胞质内 β -catenin 泛素化及降解,从而抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路,减少 hMSCs 骨钙素、Runx2 及 ALP 的表达。使用 IKK 抑制剂阻断 NF- κ B 信号通路可逆转 TNF- α 导致的成骨抑制^[27]。

TNF- α 也可以通过激活 NF- κ B 信号通路抑制 BMP-Smads 信号通路,阻止干细胞向成骨分化。在 BMP2 诱导的 MC₃T₃-E₁ 细胞成骨分化过程中,TNF- α 可抑制 MC₃T₃-E₁ 细胞的 ALP 表达,但 TNF- α 对 Smad1/5/8 的磷酸化及 Smad1-Smad4 复合体的核转运均无影响。BAY11-7082 为 NF- κ B 抑制剂,使用 BAY11-7082 抑制 NF- κ B 信号通路可逆转 TNF- α 导致的成骨抑制作用。进一步研究发现,TNF- α 可通过激活 NF- κ B 信号通路阻断 DNA 与 Smads 结合至靶基因从而抑制 BMP-Smads 信号通路^[28]。而在骨髓间充质干细胞 (marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs) 向成骨分化过程中,TNF- α 激活 NF- κ B 信号通路后直接抑制 Smad1/5/8 的磷酸化,影响 BMP-Smads 信号通路抑制 BMSCs 的成骨分化^[29]。

但也有研究发现 TNF- α 激活 NF- κ B 信号通路

后也可直接作用于下游成骨因子,促进干细胞向成骨分化。如 TNF- α 可通过 NF- κ B 信号通路增强牙髓干细胞 (Dental pulp stem cells, DPSCs) 的 BMP2、ALP、Runx2 和 I 型胶原蛋白 (Collagen I, COL I) 表达,促进 DPSCs 向成骨分化^[30]。

5 TNF- α 对成骨分化的相关因素

从 TNF- α 与上述信号通路之间的关系来看,在不同类型的干细胞中,TNF- α 可以通过相同的信号通路对干细胞成骨分化产生完全相反的作用;而在同一类型的干细胞中,TNF- α 又可激发不同的信号通路对其成骨分化产生不同的影响。究竟何种因素影响 TNF- α 发挥其促进或抑制干细胞的成骨分化作用值得我们深思。最近的研究发现 TNF- α 的作用时间、作用浓度及作用的干细胞类型可能是 TNF- α 作用差异的主要因素 (图 1,2)。

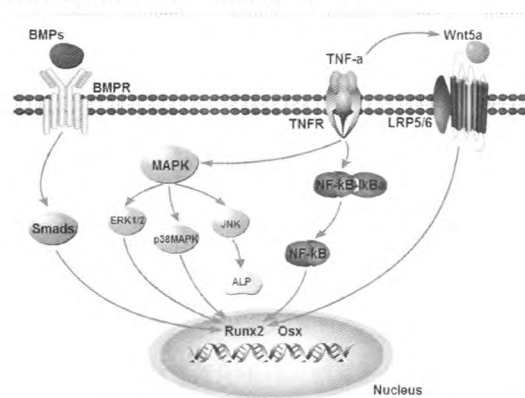


图 1 TNF- α 促进干细胞向成骨分化

Fig. 1 TNF- α promotes stem cell osteogenic differentiation

注:TNF- α 通过激活 NF- κ B、非经典 Wnt 通路及 MAPK 信号通路下的 ERK1/2、p38MAPK、JNK 通路促进干细胞向成骨分化。

Note: TNF-alpha activates NF-kappa B, non-canonical Wnt, and MAPK downstream signaling pathway including ERK1 / 2, p38MAPK, and JNK to promote stem cell osteogenic differentiation

5.1 作用浓度

在同一类型的干细胞中,不同浓度的 TNF- α 可影响其对干细胞的成骨分化作用。在肌源性干细胞 (muscle-derived stromal cells, MDSC) 成骨分化过程中,TNF- α 对 MDSC 募集的最佳浓度为 1pg/ml,最佳促成骨分化浓度为 1ng/ml;当 TNF- α 浓度超过 1ng/ml 继续增加时则抑制骨形成^[31]。TNF- α 的这种浓度依赖性可能与其在不同浓度时作用的信号通路不同有关。如高浓度 TNF- α (10ng/ml、100ng/ml) 可抑制鼠类间充质干细胞 ST2 细胞向成骨分化,阻

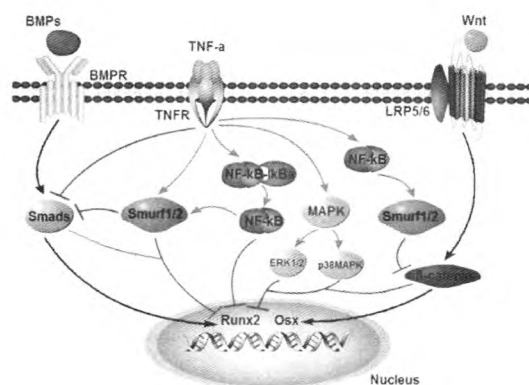


图2 TNF-α抑制干细胞向成骨分化

Fig. 2 TNF-α inhibits stem cell osteogenic differentiation

注:TNF-α通过激活NF-κB信号通路直接抑制或通过促进Smads、β-catenin泛素化,继而干扰BMP-Smads和经典Wnt信号通路抑制干细胞向成骨分化;或通过MAPK信号通路下的ERK1/2、p38MAPK,或直接抑制BMP-Smads信号通路抑制干细胞向成骨分化。

Note: TNF-α directly inhibits stem cell osteogenic differentiation by activating NF-kappa B signaling pathway, or interferes with BMP-Smads and canonical Wnt signaling pathways by promoting Smads and β-catenin ubiquitination to inhibit stem cell osteogenic differentiation. TNF-α inhibits stem cell osteogenic differentiation by activating MAPK downstream signaling pathway including ERK1/2, p38MAPK or by interfering BMP-Smads directly.

BMPs:骨形态发生蛋白;BMPR:骨形态发生蛋白受体;TNF-α:肿瘤坏死因子-α;TNFR:肿瘤坏死因子受体;LRP-5/6:低密度脂蛋白受体相关蛋白5/6;MAPK:丝裂原活化蛋白激酶;NF-κB:核转录因子kappa B;IκBα:核转录因子kappa B抑制蛋白;Smads:Smad蛋白;Smurf1/2:泛素连接酶Smurf1/2;ERK1/2:细胞外调节蛋白激酶1/2;p38MAPK:p38丝裂原活化蛋白激酶;JNK:c-Jun氨基末端激酶;ALP:碱性磷酸酶;β-catenin:β-链蛋白;Runx2:成骨转录因子Runx2;Osx:成骨细胞特异性转录因子Osterix;Nucleus:细胞核

BMPs: bone morphogenetic proteins; BMPR: bone morphogenetic protein receptor; TNF-α: tumor necrosis factor α; TNFR: tumor necrosis factor receptor; LRP-5/6: LDL-receptor-related protein 5/6; MAPK: mitogen-activated protein kinase; NF-κB: nuclear transcription factor kappa B; IκBα: inhibitor of NF-κB; Smads: Smad proteins; Smurf1/2: Smad specific E3 ubiquitin protein ligase 1/2; ERK1/2: extracellular signal-regulated kinases1/2; p38MAPK: p38 mitogen-activated protein kinases; JNK: c-Jun N-terminal kinases; ALP: alkaline phosphatase; β-catenin: Beta-catenin; Runx2: Runt-related transcription factor 2; Osx: Osterix; Nucleus;

断NF-κB信号可逆转其对成骨分化的抑制效果;而低浓度的TNF-α(0.01ng/ml、0.1ng/ml)通过MAPK信号通路促进成骨,NF-κB抑制剂无阻断效果^[32]。说明在同一类型的干细胞中,不同浓度的TNF-α选择性作用不同的信号通路导致促进或抑制成骨。

5.2 作用时间

TNF-α对干细胞的作用时间也是决定其促进或抑制成骨的主要因素之一。在ST2细胞成骨分化过程中,长期(4周)的TNF-α刺激可呈剂量依赖性抑制成骨,抑制NF-κB信号可逆转这种效果,提示长期TNF-α刺激可能是通过NF-κB信号通路抑制成骨;而短时(48小时)的TNF-α刺激却作用于MAPK信号通路下的JNK信号通路促进成骨^[32]。

5.3 干细胞类型

在不同类型的干细胞中,相同浓度的TNF-α对成骨分化的作用也不同。如TNF-α在10 ng/ml浓度时,促进人脂肪基质细胞(human adipose-derived stromal cells, hASCs)和人牙髓干细胞向成骨分化^[2, 30, 33],却抑制C₂C₁₂、MC₃T₃-E₁、C₃H₁₀T_{1/2}及小鼠MSCs向成骨分化^[28, 34-37],这可能是由于不同类型的干细胞对TNF-α的敏感性不同,导致了相同浓度的TNF-α作用的信号通路有所差异。

此外,在不同类型的干细胞中,即使TNF-α作用于相同的信号通路,其促进或抑制成骨分化的机制也不完全相同^[38, 30, 28, 14]。

最后,许多研究中存在人鼠物种混合使用的情况,如使用鼠源重组TNF-α干预人类干细胞,或使用人重组TNF-α干预鼠源干细胞,这可能也是影响TNF-α成骨作用差异的因素之一。由于鼠源TNF含有两种受体:p55(TNFR1)和p75(TNFR2),而人类TNF只含有p55受体,所以人类TNF-α选择性结合p55受体,而鼠源TNF-α可同时结合两种受体。研究发现TNF-α通过受体p55抑制成骨分化,虽然p75对抑制成骨分化无作用,但它可以增加细胞对TNF-α的敏感性^[34]。此外,即使是同一物种的TNF-α与干细胞,其成骨作用也会有所不同^[1, 39]。

TNF-α对干细胞向成骨分化起着双重作用,研究其具体机制对许多疾病的治疗有着重要意义:如在类风湿性关节炎中TNF-α抑制骨生成,但在强直性脊柱炎中其又促进骨赘生成。而TNF-α的作用时间、作用浓度及作用的干细胞类型可能是其促进或抑制干细胞成骨分化的决定因素,明确上述因素在TNF-α与干细胞成骨分化之间的关系,对深入研究炎症因子与膜内成骨有着重要的作用和意义。

【参考文献】

- [1] Ding J, Ghali O, Lencel P, et al. TNF-alpha and IL-1beta inhibit RUNX2 and collagen expression but increase alkaline phosphatase activity and mineralization in human mesenchymal stem cells[J]. Life Science Part 1 Physiology & Pharmacology, 2009, 84(15-16): 499-504.
- [2] Yu R Y, Zeng B J, Liu Y S, et al. Recombinant human tumor necrosis factor-alpha promotes human adipose-derived stromal cells transforming into osteoblast in vitro [J]. Beijing Da Xue Xue Bao, 2012, 44(3): 475-480.
- [3] Gilbert L, He X, Farmer P, et al. Expression of the osteoblast differentiation factor RUNX2 (Cbfa1/AML3/PeBP2alpha A) is inhibited by tumor necrosis factor-alpha [J]. Journal Of Biological Chemistry, 2002, 277(4): 2695-2701.
- [4] Qiu W, Andersen T E, Bollerslev J, et al. Patients with high bone mass phenotype exhibit enhanced osteoblast differentiation and inhibition of adipogenesis of human mesenchymal stem cells [J]. J Bone Miner Res, 2007, 22(11): 1720-1731.
- [5] Brennan K R, Brown A M. Wnt proteins in mammary development and cancer[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2004, 9(2): 119-131.
- [6] Liu W, Konermann A, Guo T, et al. Canonical Wnt signaling differently modulates osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from bone marrow and from periodontal ligament under inflammatory conditions [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2014, 1840(3): 1125-1134.
- [7] Chang J, Sonoyama W, Wang Z, et al. Noncanonical Wnt-4 signaling enhances bone regeneration of mesenchymal stem cells in craniofacial defects through activation of p38 MAPK [J]. Journal Of Biological Chemistry, 2007, 282(42): 30938 - 30948.
- [8] Guicheux J, Lemonnier J, Gaynor C, et al. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase and c-Jun-NH2-terminal kinase by BMP-2 and their implication in the stimulation of osteoblastic cell differentiation [J]. J Bone Miner Res, 2003, 18(11): 2060-2068.
- [9] Gallea S, Lallemand F, Atfi A, et al. Activation of mitogen-activated protein kinase cascades is involved in regulation of bone morphogenetic protein-2-induced osteoblast differentiation in pluripotent C2C12 cells[J]. Bone, 2001, 28(5): 491-498.
- [10] Glinka A, Wu W, Delius H, et al. Dickkopf-1 is a member of a new family of secreted proteins and functions in head induction [J]. Nature, 1998, 391(6665): 357-362.
- [11] Briolay A, Lencel P, Bessueille L, et al. Autocrine stimulation of osteoblast activity by Wnt5a in response to TNF-alpha in human mesenchymal stem cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 430(3): 1072-1077.
- [12] Cao X, Chen D. The BMP signaling and in vivo bone formation [J]. Gene, 2005, 357(1): 1-8.
- [13] Jeon E J, Lee K Y, Choi N S, et al. Bone morphogenetic protein-2 stimulates Runx2 acetylation[J]. Journal Of Biological Chemistry, 2006, 281(24): 16502-16511.
- [14] Mukai T, Otsuka F, Otani H, et al. TNF-alpha inhibits BMP-induced osteoblast differentiation through activating SAPK/JNK signaling[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 356(4): 1004-1010.
- [15] Li S, Lu K, Wang J, et al. Ubiquitin ligase Smurf1 targets TRAF family proteins for ubiquitination and degradation [J]. Molecular And Cellular Biochemistry, 2010, 338(1-2): 11-17.
- [16] Kaneki H, Guo R, Chen D, et al. Tumor necrosis factor promotes Runx2 degradation through up-regulation of Smurf1 and Smurf2 in osteoblasts [J]. Journal Of Biological Chemistry, 2006, 281(7): 4326-4333.
- [17] Zhao L, Huang J, Zhang H, et al. Tumor necrosis factor inhibits mesenchymal stem cell differentiation into osteoblasts via the ubiquitin E3 ligase Wwp1 [J]. Stem Cells, 2011, 29(10): 1601-1610.
- [18] Raffetto J D, Vasquez R, Goodwin D G, et al. Mitogen-activated protein kinase pathway regulates cell proliferation in venous ulcer fibroblasts[J]. Vasc Endovascular Surg, 2006, 40(1): 59-66.
- [19] Lu Z, Wang G, Dunstan C R, et al. Activation and promotion of adipose stem cells by tumour necrosis factor-alpha preconditioning for bone regeneration[J]. Journal Of Cellular Physiology, 2013, 228(8): 1737-1744.
- [20] Hah Y S, Kang H G, Cho H Y, et al. JNK signaling plays an important role in the effects of TNF-alpha and IL-1beta on in vitro osteoblastic differentiation of cultured human periosteal-derived cells [J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40(8): 4869-4881.
- [21] Huang R L, Yuan Y, Tu J, et al. Opposing TNF-alpha/IL-1beta- and BMP-2-activated MAPK signaling pathways converge on Runx2 to regulate BMP-2-induced osteoblastic differentiation [J]. Cell Death Dis, 2014, 5: e1187.
- [22] Lu Z, Wang G, Dunstan C R, et al. Activation and promotion of adipose stem cells by tumour necrosis factor-alpha preconditioning for bone regeneration[J]. Journal Of Cellular Physiology, 2013, 228(8): 1737-1744.
- [23] Vallabhapurapu S, Karin M. Regulation and function of NF-kappaB transcription factors in the immune system[J]. Annual Review Of Immunology, 2009, 27: 693-733.
- [24] Hayden M S, Ghosh S. Regulation of NF-kappaB by TNF family cytokines[J]. Seminars In Immunology, 2014, 26(3): 253-266.
- [25] Malek S, Huxford T, Ghosh G. Ikappa Balpha functions through direct contacts with the nuclear localization signals and the DNA binding sequences of NF-kappaB [J]. Journal Of Biological Chemistry, 1998, 273(39): 25427-25435.
- [26] Zandi E, Rothwarf D M, Delhase M, et al. The IkappaB kinase complex (IKK) contains two kinase subunits, IKKalpha and IKKbeta, necessary for IkappaB phosphorylation and NF-kappaB activation[J]. Cell, 1997, 91(2): 243-252.

(下转第 627 页)

- Javad Parvizi, MD. Subchondral Bone Marrow Lesion Associated With Knee Osteoarthritis. *Am J Orthop*, 2012, 41(9):413-417.
- [25] Tan YK, Conaghan PG. Insights into osteoarthritis from MRI. *Int J Rheum Dis*, 2012, 15(1):1-7.
- [26] Roemer FW, Neogi T, Nevitt MC, et al. Subchondral bone marrow lesions are highly associated with, and predict subchondral bone attrition longitudinally: the MOST study. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(1):47-53.
- [27] Kazakia GJ, Kuo D, Schooler J, et al. Bone and cartilage demonstrate changes localized to bone marrow edema-like lesions within osteoarthritic knees. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(1):94-101.
- [28] Xu L, Hayashi D, Roemer FW, et al. Magnetic resonance imaging of subchondral bone marrow lesions in association with osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum*, 2012, 42(2):105-18.
- [29] Landells JW. The bone cysts of osteoarthritis. *J Bone Joint Surg Br*, 1953, 35-B(4):643-649.
- [30] Ondrouch AS. Cyst formation in osteoarthritis. *J Bone Joint Surg Br*, 1963, 45:755-760.
- [31] Durr HD, Martin H, Pellengahr C, et al. The cause of subchondral bone cysts in osteoarthritis: a finite element analysis. *Acta Orthop Scand*, 2004, 75:554-558.
- [32] Chiba K, Burghardt AJ, Osaki M, et al. Three-dimensional analysis of subchondral cysts in hip osteoarthritis: an ex vivo HR-pQCT study. *Bone*, 2014, 66:140-5.
- [33] Tanamas SK, Wluka AE, Pelletier JP, et al. The association between subchondral bone cysts and tibial cartilage volume and risk of joint replacement in people with knee osteoarthritis: a longitudinal study. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12:R58.
- [34] Audrey HX, Abd Razak HR, Andrew TH. The truth behind subchondral cysts in osteoarthritis of the knee. *Open Orthop J*, 2014, 8:7-10.
- [35] Guangyi Li, Jimin Yin, Junjie Gao, et al. Subchondral bone in osteoarthritis: insight into risk factors and microstructural changes. *Arthritis Research & Therapy*, 2013, 15:223.
- [36] Yuan X, Meng H, Wang Y, et al. Bone-cartilage interface crosstalk in osteoarthritis: potential pathways and future therapeutic strategies. *Osteoarthritis Cartilage*, 2014, 22(8):1077-89.
- [37] Chevrier A, Kouao AS, Picard G, et al. Interspecies comparison of subchondral bone properties important for cartilage repair. *J Orthop Res*, 2015, 33(1):63-70.
- [38] Jose J, Pasquotti G, Smith MK, et al. Subchondral insufficiency fractures of the knee: review of imaging findings. *Acta Radiol*, 2015, 56(6):714-9.

(收稿日期: 2015-11-09)

(上接第 623 页)

- [27] Chang J, Liu F, Lee M, et al. NF-kappaB inhibits osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by promoting beta-catenin degradation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(23):9469-9474.
- [28] Yamazaki M, Fukushima H, Shin M, et al. Tumor necrosis factor alpha represses bone morphogenetic protein (BMP) signaling by interfering with the DNA binding of Smads through the activation of NF-kappaB [J]. *Journal Of Biological Chemistry*, 2009, 284(51):35987-35995.
- [29] Tang Y, Xie H, Chen J, et al. Activated NF-kappaB in bone marrow mesenchymal stem cells from systemic lupus erythematosus patients inhibits osteogenic differentiation through downregulating Smad signaling [J]. *Stem Cells And Development*, 2013, 22(4):668-678.
- [30] Feng X, Feng G, Xing J, et al. TNF-alpha triggers osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells via the NF-kappaB signalling pathway [J]. *Cell Biology International*, 2013, 37(12):1267-1275.
- [31] Glass G E, Chan J K, Freidin A, et al. TNF-alpha promotes fracture repair by augmenting the recruitment and differentiation of muscle-derived stromal cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(4):1585-1590.
- [32] Huang H, Zhao N, Xu X, et al. Dose-specific effects of tumor necrosis factor alpha on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells[J]. *Cell Prolif*, 2011, 44(5):420-427.
- [33] Cho H H, Shin K K, Kim Y J, et al. NF-kappaB activation stimulates osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue by increasing TAZ expression [J]. *Journal Of Cellular Physiology*, 2010, 223(1):168-177.
- [34] Gilbert L C, Rubin J, Nanes M S. The p55 TNF receptor mediates TNF inhibition of osteoblast differentiation independently of apoptosis[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 288(5):E1011-1018.
- [35] Lee H L, Yi T, Woo K M, et al. Msx2 mediates the inhibitory action of TNF-alpha on osteoblast differentiation [J]. *Experimental And Molecular Medicine*, 2010, 42(6):437-445.
- [36] Lu X, Beck G R, Jr., Gilbert L C, et al. Identification of the homeobox protein Prx1 (MHox, Prx-1) as a regulator of osterix expression and mediator of tumor necrosis factor alpha action in osteoblast differentiation[J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(1):209-219.
- [37] Lee H L, Yi T, Baek K, et al. Tumor necrosis factor-alpha enhances the transcription of Smad ubiquitination regulatory factor 1 in an activating protein-1- and Runx2-dependent manner[J]. *Journal Of Cellular Physiology*, 2013, 228(5):1076-1086.
- [38] Hess K, Ushmorov A, Fiedler J, et al. TNFalpha promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by triggering the NF-kappaB signaling pathway[J]. *Bone*, 2009, 45(2):367-376.
- [39] Lacey D C, Simmons P J, Graves S E, et al. Proinflammatory cytokines inhibit osteogenic differentiation from stem cells: implications for bone repair during inflammation [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(6):735-742.

(收稿日期: 2015-10-18)