

破骨细胞中 NFATc1 相关调节研究进展

李忠浩^{1,2} 丁宁^{1,2} 杨全增^{1,2} 闫亮^{1,2} 夏亚一^{1,2*}

1. 兰州大学第二附属医院骨科,甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省骨科重点实验室,甘肃 兰州 730000

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 05-0695-06

摘要: 活化 T 细胞核因子(nuclear factor-activated T cell 1, NFATc1)是一种重要的转录因子。在破骨细胞中,它由上游 RANKL 信号通路的诱导、 Ca^{2+} 相关协同刺激信号通路与 Ca^{2+} 非依赖信号通路的扩增, Lhx2、IRF8、Mafk 及 Bcl6 等细胞因子负反馈诱导,在 NFATc1 转录过程中的启动、扩增及靶向作用三个阶段通过复杂交互的调节影响其下游各种靶基因及蛋白,最终介导破骨细胞的分化、融合及对无机和有机骨基质的降解作用。宏观上, NFATc1 还受到外界机械应力的影响从而在破骨细胞生长过程中发挥作用;并且 NFATc1 的调节过程受其自身节律的影响。本文就 NFATc1 的结构、相关调节机制和对破骨细胞的作用研究进展进行综述。

关键词: NFATc1;破骨细胞;调节机制;信号通路

Research progress on the NFATc1 regulation in osteoclasts

LI Zhonghao^{1,2}, DING Ning^{1,2}, YANG Quanzeng^{1,2}, YAN Liang^{1,2}, XIA Yayi^{1,2*}

1. Institute of Orthopedics, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2. Key Laboratory of Orthopedics of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: XIA Yayi, Email: xiayayi1996@163.com

Abstract: Nuclear factor-activated T cell 1 (NFATc1) is a crucial transcription factor in osteoclast, which is regulated by the induction of RANKL signaling pathways, the amplification of Ca^{2+} dependent costimulatory signal pathways and Ca^{2+} independent signal pathway, and the negative feedback induction of Lhx2/IRF8/Mafk/Bcl6 in the three phases of NFATc1 transcription (initiation, amplification and targeting). Whereafter, NFATc1 regulates downstream target genes and proteins to affect the differentiation and fusion of osteoclasts, and adjust the degradation of inorganic and organic bone matrix through complex interactions. Macroscopically, NFATc1 is also influenced by external mechanical stress to play a role in the osteoclast growth process. Meanwhile, NFATc1 has the special circadian expression rhythm. This article reviews the research progress on NFATc1 structure, regulation mechanism and its effect on osteoclasts.

Key words: NFATc1; Osteoclasts; Regulation mechanism; Signal pathway

骨质疏松症正成为影响老年人健康的老年疾病之一,主要原因是骨吸收大于骨形成。人体骨骼受到成骨细胞与破骨细胞(osteoclast, OC)的动态平衡调节;OC 通过重构自身细胞骨架形成一个吸收陷窝,并分泌氢离子及蛋白酶来降解骨矿物质和细胞外基质,一旦这个过程过表达就将发生骨组织疾病,而人体内存在着复杂的信号通路来调节 OC 发挥作用,其中 NFATc1 发挥着重要的转录调节作用^[1-2],实验发现 NFATc1 基因敲除的小鼠无法生成成熟

OC 并进行骨溶解,而 NFATc1 的异位表达则有效地使破骨细胞前体细胞(osteoclast precursor cell, OPC)在没有 RANKL 刺激的情况下仍可以分化为 OC^[3]。这说明 NFATc1 是介导 OC 生长中的重要开关,本文将对其相关调节研究做一综述。

NFATc1 是 NFAT 家族中重要的一员,人类和小鼠的 NFATc1 为全长约 150 kb 的转录 DNA^[4]。NFATc1 是 OC 分化过程中的重要转录因子,其 N-末端结构域结合钙调神经磷酸酶(Calcineurin, CaN)去磷酸化而介导 NFAT 核转位, C-末端与 DNA 序列特异结合并和激活蛋白 1(AP-1)共同发挥作用; C-末端包含一个 20kDa 大小的残基 416-591 (NFATc1-

基金项目: 国家自然科学基金(81672207)

* 通讯作者: 夏亚一, Email: xiayayi1996@163.com

DBD)也可以特异结合 DNA,但其结合 DNA 能力相对较弱^[3]。激活后,NFATc1 即从细胞质转运进入细胞核并转录出 OC 特异性基因如 TRAP(tartrate-resistant acid phosphatase,抗酒石酸碱性磷酸酶),

CTSK(cathepsin K,组织蛋白酶 K)和 MMP-9(matrix metalloproteinase 9,基质金属蛋白酶-9)^[5]。综上所述可知,NFATc1 在调节 OC 方面发挥着不可替代的作用,其在体内的调节过程简介如下。

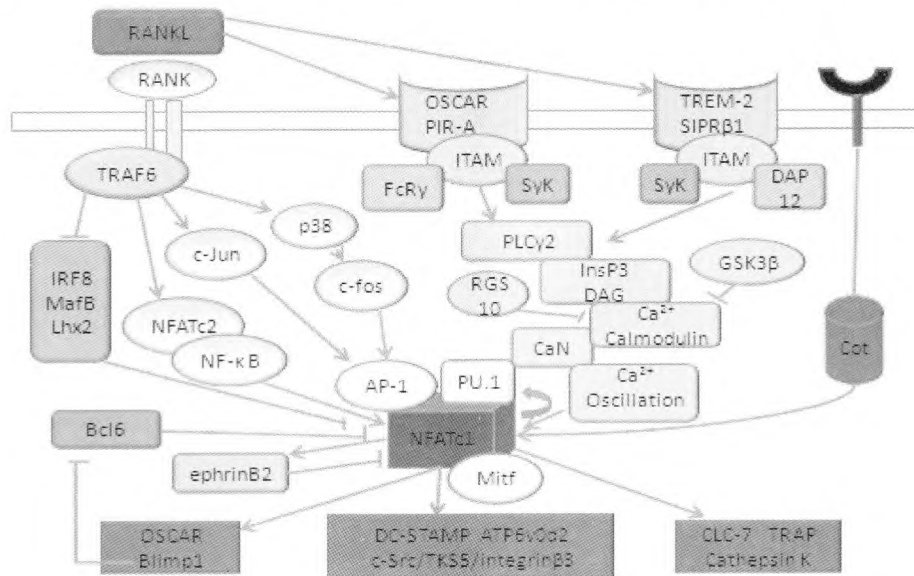


图 1 NFATc1 调控信号通路简图

Fig. 1 Schematic diagram of NFATc1 regulation signaling pathway

1 破骨细胞中 NFATc1 的上游信号通路

这一过程分为启动、扩增及靶向作用三个阶段^[6],其中启动及扩增阶段主要依赖 NFATc1 上游包括由 RANK(Receptor Activator for Nuclear Factor- κ B,核因子 κ B受体活化因子)-RANKL(Receptor Activator for Nuclear Factor- κ B Ligand,核因子 κ B受体活化因子配体)及协同刺激信号通路(costimulatory signal)介导的一连串以 NFATc1 为靶点的信号通。见图 1。

RANK-RANKL 信号通路相关研究开展最早,RANK 与肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6) 结合后接受来自 RANKL 的信号,介导下游信号分子如核转录因子 kappaB (NF- κ B),c-Jun 和 p38/c-fos 表达,并激活其下游 NFATc1 转录过程。NFATc2 与 NF- κ B 结合后诱导初始 NFATc1 的激活^[3];c-Jun/NFAT 信号轴对 RANKL 调节 OC 分化也发挥重要作用;Ikeda 等^[7]发现 c-Jun 阻断能抑制 NFAT 介导的骨溶解,而在 c-Jun 抑制小鼠中,即使阻断 RANKL,NFAT 的过表达仍可以介导 OPC 分化为 TRAP(+)多核细胞破骨细胞样细胞,因而证明其上下游调节关系;Huang 等^[8]在 p38 抑制细胞中,过表达的 c-fos

仍可以介导出大量 NFATc1,表明 p38/c-fos 在 NFATc1 激活中也是一条重要信号通道。

现有研究表明 NFATc1 持续转录主要由 Ca^{2+} 和 CaN 通路维持。RANKL 在 OPC 中激活 PLC γ 2 (Phospholipase C Gamma 2,人磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 C γ 2)从而水解肌醇磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸生成肌醇-1,4,5-三磷酸肌醇 (InsP3) 和甘油二酯 (DAG),InsP3 诱导内质网释放 Ca^{2+} ,细胞内骤升的 Ca^{2+} 使钙调蛋白 (Calmodulin) 转换为活化形态,从而诱导 CaN 磷酸化及激活 CaMKs9 (calcium/calmodulin-dependent protein kinases,钙依赖性蛋白激酶),最终使 CaN 去磷酸化 NFATc1 丝氨酸残基而发生核转位和 NFATc1 蛋白的激活^[9]。但是 RANK 受体并不直接启动 Ca^{2+} 信号,研究发现它作为免疫受体与其他受体共同作用,如人破骨细胞相关免疫球蛋白样受体 (OSCAR)/PIR-A (paired immunoglobulin-like receptor,配对免疫球蛋白样受体)或 TERM-2 (triggering receptor expressed in myeloid cells,骨髓样细胞触发受体)/SIRPB1 (signal-regulatory protein β 1,信号调节蛋白 β 1)受体复合体。在 OPC 中可以观察到 ITAM (Immunoregulatory tyrosine activation motif,免疫调节

酪氨酸活化基序)磷酸化后与 PLC γ 2 及 Syk 结合导致其激活,其中,OSCAR/PIR-A 与 Fc 受体共同 γ 亚单位 (FcR γ) 结合而 TREM-2/SIRP β 1 则与 DNAX 激活蛋白 12 (DAP12) 结合从而促进 Ca $^{2+}$ 信号通路传导。DAP12 缺失的小鼠骨折愈合更快,而 FcR γ 与 DAP12 双基因敲除小鼠 (DAP12 -/- FcR γ -/-) 则由于 OC 分化缺陷出现骨过度硬化^[10-11]。这些研究表明 Ca $^{2+}$ 信号通路对 NFATc1 的重要诱导作用。Takayanagi 等^[9]进一步发现,在没有 RANKL 刺激的情况下,对 ITAM 受体的刺激并不能激活 Ca $^{2+}$ 通道,因此 ITAM 相关受体只是协同增大 RANK 对 NFATc1 的刺激。最近的一项研究报道,部分激活 GSK-3 β 异位表达突变体 (GSK3 β -s9A) 可抑制 RANKL 介导的 NFATc1 表达和 Ca $^{2+}$ 振荡。此外,还发现在 OPC 中表达 GSK3 β -s9A 变体的小鼠存在 NFATc1 核转位障碍^[12],说明糖原合成酶激酶-3 β (GSK3 β) 通过 Ca $^{2+}$ 信号通路对 NFATc1 的表达起抑制作用。

在 NFATc1 启动完成后,则进入扩增阶段以保持其持续高表达从而维持转录过程,这一过程受到 NF- κ B 及 Ca $^{2+}$ 介导的 NFATc1 扩增信号通路调节。一方面,Takayanagi 等^[3]发现在 OPC 中启动 RANKL 信号 1h 后,NF- κ B 中的 p50 及 p65 与 NFATc2 结合诱导 NFATc1 表达,即引起短暂的 NFATc1 表达扩增 (autoamplification)。因为 OC 特异基因 TRAP 中存在高度保守的 AP-1/NFAT 结合元件,且其与 IL-2 启动子中的协同 AP-1/NFAT 结合位点相似,故假设 OC 中 NFAT 发挥功能需要 c-fos/AP-1。最终印证在 OC 分化过程中 NFATc1 确是 c-fos/AP-1 的主要靶基因,在 c-fos 缺失细胞中,NF- κ B 明显升高^[13-14],这支持 NFATc1 和 NF- κ B 在 RANK 通路中是 c-fos 的下游信号并表明 c-fos/AP-1,NF- κ B 及 NFATc2 在 NFATc1 扩增中十分重要。另一方面,Ca $^{2+}$ 介导激活 NFATc1 触发扩增回路并维持 NFATc1 依赖性转录过程持续进行^[3,10]。有学者发现在分化阶段晚期添加钙神经素抑制剂 KF506 将抑制 OC 生成,这证明 Ca $^{2+}$ 信号能介导 NFATc1 激活也能触发 NFATc1 扩增。持续性的钙振荡诱导 NFATc1 通过自我诱导扩增而产生自我放大效应。G 蛋白信号调节因子 10 (RGS10) 通过竞争性结合 Ca $^{2+}$ /钙调蛋白及三磷酸肌醇 (PIP3) 可控制 PLC γ 2 并抑制钙振荡模式^[15]。NFATc1 扩增的 Ca $^{2+}$ 调节通路有钙振荡依赖通路及钙振荡非依赖通路,RANK 受体启动子中高度保守的结构域启动 RANK 信号通路激活并继

续介导 ITAM 而引起 PLC γ 2 的激活。Kuroda 等^[16]之后又发现存在一条不需要 RANKL/巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF) 介导的钙振荡非依赖通路,随之有人证明在此通路中,Cot 激酶 (cancer osaka thyroid) 通过直接磷酸化作用加强了 NFATc1 的稳定并促进其积累^[17]。综上,目前大部分研究主要集中在 Ca $^{2+}$ 依赖通路,而其他通路的进一步作用机制仍存在进一步研究价值。

2 破骨细胞中 NFATc1 的下游信号通路

NFATc1 通过诱导和扩增调节靶细胞 mRNA 水平影响 OC 的分化、融合与功能,见图 1。在 OC 分化中,OSCAR 是 NFATc1 的目标基因^[18]。对 NFATc1 的负性调节减弱,如 NFATc1/ Blimp1 (B lymphocyte induced maturation protein 1,B 淋巴细胞诱导成熟蛋白 1)/ Bcl6 (B-cell lymphoma 6,B 细胞淋巴瘤 6) 负性调节环及 MafB (V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B) 和 IRF-8 (Interferon regulatory factor 8,干扰素调节因子 8) 被抑制^[19-22]。在 OC 融合过程中,NFATc1 下游靶基因编码的蛋白发挥着重要作用,比如树突状细胞特异性跨膜蛋白 (DC-STAMP)、液泡膜质子泵亚基 (atp6v0d2) 和原癌基因酪氨酸蛋白激酶 c-Src 的底物 TKS5/FISH。在 TKS5 缺陷的 OC 中,激活 M-CSF 及 RANKL 后尽管仍可分化出单核破骨细胞,但是无法诱导出多核破骨细胞;TKS5 又可以部分修复 c-Src 敲除 OC 的磷酸化过程^[23]。当整合素 integrin β 3 与骨基质中的玻璃体结合蛋白结合激活后,c-Src 即与 ITAM 结合而磷酸化酪氨酸激酶 Syk 并介导融合^[24-25]。在 c-Src/Syk 信号通路中,integrin β 3 和 c-Src 是 NFATc1 的靶基因产物^[26-27]。此外,在 atp6v0d2 缺陷小鼠中同样发现 OC 融合障碍,进一步研究发现原钙粘蛋白-7 (protocadherin-7) 与此过程有关^[28]。骨溶解过程由 OC 分泌降解骨质,几个 NFATc1 的目标基因编码出的蛋白参与这一过程,如氯离子通道 CLC7,它是晚期细胞内/溶酶体内的氯离子通道,其位于 OC 吸收皱褶区域^[27]; Cathepsin K 可以使骨胶原变性^[29];TRAP 可以将骨基质磷酸骨桥蛋白及骨唾液酸糖蛋白脱磷酸化^[14]。Lu 等^[30]最新发现小眼畸形相关转录因子 (Mitf) 在 NFATc1 下游发挥正性调节作用,它可扩增 NFATc1 依赖破骨效应;Mitf 和 AP-1 (Fos/Jun)、PU.1 等结合 NFATc1 组成一个转录调节复合体。

3 NFATc1 负性信号调节通路

NFATc1 可诱导肝配蛋白 B2 (ephrinB2) 的转录,而在 OC 谱系细胞中 ephrinB2 通过下调 c-fos 及 NFATc1 抑制 OC 分化,因此 ephrinB2 被认为是 RANK 信号通路介导的耦合信号分子^[31]。此外,一种新的负性 OC 调节通路被发现,其涉及两个在 RANKL 介导下的转录抑制因子:Bcl6 和 Blimp1,他们形成一个 NFATc1/Blimp1/Bcl6 负性调节环路。Bcl6 抑制破骨基因如 DC-STAMP、NFATc1 和 Cathepsin K 的表达,以及 OC 的分化。Bcl6 基因敲除小鼠表现出破骨作用增强和骨量降低;而在适量 OC 存在条件下,Blimp1 敲除小鼠表现出 Bcl6 高表达从而在 RANKL 介导的情况下抑制 OC 的分化并增加骨量,而 Blimp1 本身经验证是可以增加小鼠 OC 分化的。这说明 Blimp1 抑制 Bcl6 的表达,而 Bcl6 又抑制破骨基因的表达;除此之外,其他 NFATc1 负性调节信号如 IRF8 及 Mafk 也被陆续发现^[19,22,32]。此外,Lhx2 (LIM homeobox 2) 最近被发现也能抑制 NFATc1 介导的破骨活动^[33]。这提示我们是否在目前已经发现的信号中存在着 NFATc1 的负反馈调节机制,并且是否仍存在我们尚未发现的负反馈调节轴?

4 NFATc1 信号的节律性调节

作为调节骨生长的重要分子,NFATc1 在生物体内可能会受到激素的调节,而激素的调节一大特点就是具有节律性。日本学者通过将小鼠在 12h 的明/暗周期中饲养两周后于不同昼夜时点 (Zeitgeber times, ZT) 将小鼠处死,取小鼠股骨提取 mRNA 并检测 OC 相关基因和时钟基因表达水平。发现 NFATc1 的震荡时间节段与时钟基因如 PER1/PER2 相似,于是提出假设两者间存在着相似的基因结构。最终,在 NFATc1 的结构序列里找到了时钟基因中的关键结构 E-box,芯片检测分析发现在 NFATc1-613/-607 和-5295/-5289 位置上的 E-box 与脑与肌肉类芳香烃受体核转位子蛋白 1 (BMAL1) 存在结合。为进一步验证,他们又将肾上腺切除小鼠在 12 小时的明/暗周期中饲养两周后于 ZT12 行地塞米松注射 (3mg/kg b. w.), 在注射后不同时间处死小鼠,并取股骨 mRNA 分析。最终发现地塞米松注射后 BMAL1 与 NFATc1 E-box 之间结合增加并且在注射 4h 和 32h 后达到峰值。以上研究表明 NFATc1 对 OC 的调节中存在着节律,而这种节律可能是由

时钟蛋白调控并受肾上腺激素影响^[34]。昼夜节律在骨代谢中普遍存在,其分子机制研究仍不十分清楚,而 NFATc1 是 OC 中重要的通路节点,介导着多条 OC 分化分子通路,因此,对 NFATc1 的节律调控研究是亟待研究的方向。

5 机械应力对 NFATc1 通路在破骨细胞中的调节

骨适应其环境,成骨和破骨细胞在体内受机械负荷,骨的塑形需要受到机械刺激,这些机械力的刺激来源于体重负荷;然而,很少有机应力对 OC 影响的研究。Sumika 等^[35] 研究表明短期对 RAW264.7 细胞施加拉力可激活 RANKL 通路;与对照组相比,实验组 NFATc1 mRNA 水平在施加机械拉力后 6 h 下降,但在 12 h 和 24 h 升高。施加机械应力 24 h 后发现,尽管 DC-STAMP mRNA 和蛋白水平下降但是 NFAT 转录活性与对照相比显著增强。对 RAW264.7 细胞施加短期的机械应力后可减弱 NFAT 转录活动并下调 DC-STAMP 从而明显抑制 OC 生成。有研究发现,在人骨髓间充质干细胞 (MSCs) 和小鼠 OPC 中流体切力 (FSS) 可以增加促炎基因表达^[36];随后发现机械应力介导 CaN-NFATc 轴调节 OC^[37]。最新发现 FSS 可以使 Ca^{2+} 在胞质中富集^[38],故可能继续通过 Ca^{2+} 信号通路来调控 NFATc1。在生理状态下,体内应力环境是多样、复杂且偶联的,机械负荷在调控成骨及破骨细胞生理功能中发挥重要作用,因此可预防或治疗骨质疏松^[39]。而目前各种机械应力在 OC 的分子通路机制研究尚少,各种应力如何将力学信号转换并介导分子信号通路也未能阐释清楚;NFATc1 作为调节骨形成的重要转录因子,其与机械应力间的关系非常值得研究。

6 结论

作为关键的转录调节因子,NFATc1 在 OC 的分化及骨溶解等过程中扮演着重要的角色。随着对其研究的深入,越来越多相关的分子通路及靶点被发现,其无疑为日后以抑制 OC 分化、融合及骨溶解为目的的研究治疗提供了基础。值得注意的是,OC 作为溶解骨的基本单位,其处于人整体内环境中,因此将承受外界机械应力及人体内各种激素及分子的影响,NFATc1 作为诱导 OC 关键节点,其与各种刺激信号转化的关系,以及与其相关信号通路的机制仍十分具有研究价值。

【参 考 文 献】

- [1] 闫慧明,郭静,安燕,等. 分子信号通路在骨质疏松症发生机制中的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2016,17(10):1336-1340.
Yan HM, Guo J, An Y, et al. Research progress in molecular signaling pathways on the pathogenesis of osteoporosis[J]. Chin J Osteoporos, 2016, 17(10):1336-1340. (in Chinese)
- [2] Itzstein C, Coxon FP, Rogers MJ, et al. The regulation of osteoclast function and bone resorption by small GTPases [J]. Small GTPases, 2011, 2(3):117-130.
- [3] Takayanagi H, Kim S, Koga T, et al. Induction and activation of the transcription factor of the transcription factor NFATc1 (NFATc2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts[J]. Dev Cell, 2002, 3:889-901.
- [4] Serfling E, Chuvpilo S, Liu J, et al. NFATc1 autoregulation: a crucial step for cell-fate determination [J]. Trends Immunol, 2006, 27:643-652.
- [5] Jing An, Dingjun Hao, Qian Zhang, et al. Natural products for treatment of bone erosive diseases: The effects and mechanisms on inhibiting osteoclastogenesis and bone resorption[J]. International Immunopharmacology, 2016, 36:118-131.
- [6] Yukiko K, Koichi M. Molecular mechanisms of triggering, amplifying and targeting RANK signaling in osteoclasts[J]. World J Orthop, 2012, 3(11):167-174.
- [7] Ikeda F, Nishimura R, Matsubara T, et al. Critical roles of c-Jun signaling in regulation of NFAT family and RANKL-regulated osteoclast differentiation[J]. J Clin Invest, 2004, 114:475-484.
- [8] Huang H, Chang EJ, Ryu J, et al. Induction of c-Fos and NFATc1 during RANKL-stimulated osteoclast differentiation is mediated by the p38 signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 351:9-105.
- [9] Takayanagi H. The role of NFAT in osteoclast formation. Ann N Y Acad Sci 2007;1116:227-237.
- [10] Koga T, Inui M, Inoue K, et al. Costimulatory signals mediated by the ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis[J]. Nature, 2004, 428:758-763.
- [11] Kamimura M, Mori Y, Sugahara-Tobinai A, et al. Impaired fracture healing caused by deficiency of the immunoreceptor adaptor protein DAP12[J]. PLoS One, 2015, 10, e0128210.
- [12] Kuroda Y, Hisatsune C, Mizutani A, et al. Cot kinase promotes Ca^{2+} oscillation/calcineurin-independent osteoclastogenesis by stabilizing NFAT[J]. Molecular and Cellular Biology, 2012, 32(14):2954.
- [13] Matsuo K, Tonko M, Wagner EF, et al. Why do c-Fos deficient mice lack osteoclasts? [J] J Bone Miner Res, 1996, 11 Suppl 1: M377.
- [14] Matsuo K, Galson DL, Zhao C, et al. Nuclear factor of activated T-cell (NFAT) rescues osteoclastogenesis in precursors lacking c-Fos[J]. J Biol Chem, 2004, 279:26475-26480.
- [15] Yang S, Li YP. RGS10-null mutation impairs osteoclast differentiation resulting from the loss of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ oscillation regulation[J]. Genes&Dev, 2007, 21:1803-1816.
- [16] Kuroda Y, Hisatsune C, Nakamura T, et al. Osteoclasts induce Ca^{2+} oscillation-independent NFATc1 activation during osteoclastogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105:8643-8.
- [17] Jang HD, Shin JH, Park DR, et al. Inactivation of glycogen synthase kinase-3 β is required for osteoclast differentiation [J]. J Biol Chem, 2011, 286:39043-39050.
- [18] Kim K, Kim JH, Lee J, et al. Nuclear factor of activated T cells c1 induces osteoclast-associated receptor gene expression during tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine-mediated osteoclastogenesis[J]. J Biol Chem, 2005, 280:35209-35216.
- [19] Nishikawa K, Nakashima T, Hayashi M, et al. Blimp1-mediated repression of negative regulator is required for osteoclast differentiation. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107:3117-3122.
- [20] Kim K, Kim JH, Lee J, et al. MafB negatively regulates RANKL-mediated osteoclast differentiation [J]. Blood, 2007, 109:3253-3259.
- [21] Zhao B, Takami M, Yamada A, et al. Interferon regulatory factor-8 regulates bone metabolism by suppressing osteoclastogenesis[J]. Nat Med, 2009, 15:1066-1071.
- [22] Rhoda B, Krishna M, Jiming L, et al. NFATc1 releases BCL6-dependent repression of CCR2 agonist expression in peritoneal macrophages from Saccharomyces cerevisiae infected mice [J]. Eur J Immunol, 2016, 46: 634-646.
- [23] Oikawa T, Oyama M, Kozuka-Hata H, et al. Tks5-dependent formation of circumferential podosomes/invadopodia mediates cell-cell fusion [J]. J Cell Biol, 2012, 197:553-568.
- [24] Zou W, Kitaura H, Reeve J, et al. Syk, c-Src, the $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin, and ITAM immunoreceptors, in concert, regulate osteoclastic bone resorption[J]. J Cell Biol, 2007, 176:877-888.
- [25] Hanif JK, Adrian W S H, Roberto S, et al. The Syk-NFAT-IL-2 Pathway in Dendritic Cells Is Required for Optimal Sterile Immunity Elicited by Alum Adjuvants [J]. The Journal of Immunology, 2017, 198: 196-204.
- [26] Crotti TN, Flannery M, Walsh NC, et al. NFATc1 regulation of the human $\beta 3$ integrin promoter in osteoclast differentiation [J]. Gene, 2006, 372:92-102.
- [27] Song I, Kim JH, Kim K, et al. Regulatory mechanism of NFATc1 in RANKL-induced osteoclast activation [J]. FEBS Lett, 2009, 583:2435-2440.
- [28] Haruhiko N, Tomoki N, Mikihiro H, et al. Global epigenomic analysis indicates protocadherin-7 activates osteoclastogenesis by promoting cell-cell fusion [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2014, 455:305-311.
- [29] Matsumoto M, Kogawa M, Wada S, et al. Essential role of p38 mitogen-activated protein kinase in cathepsin K gene expression during osteoclastogenesis through association of NFATc1 and PU. 1 [J]. J Biol Chem, 2004, 279:45969-45979.
- [30] Lu S, Li M, Lin Y. Mitf regulates osteoclastogenesis by modulating NFATc1 activity[J]. Exp Cell Res, 2014, 328(1): 32-43.

- [31] Matsuo K, Otaki N. Bone cell interactions through Eph/ephrin: bone modeling, remodeling and associated diseases[J]. *Cell Adh Migr*, 2012, 6:148-156.
- [32] Takeshi M. Regulators of osteoclast differentiation and cell-cell fusion[J]. *Keio J Med*, 2011, 60(4):101-105.
- [33] Kim JH, Youn BU, Kim K, et al. Lhx2 regulates bone remodeling in mice by modulating RANKL signaling in osteoclasts[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21:1613-1621.
- [34] Yuko F, Hisataka K, Toshihide N, et al. Glucocorticoids mediate circadian timing in peripheral osteoclasts resulting in the circadian expression rhythm of osteoclast-related genes[J]. *Bone*, 2014, 61:1-9.
- [35] Sumika K, Yoshitaka Y, Takeshi K, et al. Short-term mechanical stress inhibits osteoclastogenesis via suppression of DC-STAMP in RAW264. 7 cells [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2013, 31:292-298.
- [36] Riddle RC, Taylor AF, Genetos DC, et al. MAP kinase and calcium signaling mediate fluid flow-induced human mesenchymal stem cell proliferation[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290(3):776-784.
- [37] Ayse B, Stephenie L, Dae W, et al. Nuclear factor of activated T cell mediates proinflammatory gene expression in response to mechanotransduction[J]. *New York Academy of Sciences*, 2007, 1117:138-142.
- [38] Liu C, Li S, Ji B, et al. Flow-Induced Migration of Osteoclasts and Regulations of Calcium Signaling Pathways [J]. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 2014, 8(1):213-223.
- [39] 张波, 杨利娟, 丁宁, 等. 震荡流体剪切力通过 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22(10):1237-1240, 1256.
- Zhang B, Yang LJ, Ding N, et al. Oscillatory shear stress promotes MC3T3-E1 cells proliferation via ERK5 signaling pathway[J]. *Chin J Osteoporos*, 2016, 22(10):1237-1240, 1256. (in Chinese)
- (收稿日期:2016-11-24, 修回日期:2017-01-03)

(上接第 661 页)

- [10] Bogl LH, Latvala A, Kaprio J, et al. An investigation into the relationship between soft tissue body composition and bone mineral density in a young adult twin sample[J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(1):79-87.
- [11] Hsu YH, Venners SA, Terwedow HA, et al. Relation of body composition, fat mass, and serum lipids to osteoporotic fractures and bone mineral density in Chinese men and women[J]. *Am J Clin Nutr*, 2006, 83(1):146-154.
- [12] 赵莉莉, 樊继援, 邱明才, 等. 中老年人人体成分与骨密度的相关性研究[J]. *天津医药*, 2007, 35(1):7-9.
- Zhao LL, Fan JY, Qiu MC, et al. Gender differences in relationship between body composition components and bone mineral density in middle-aged and aged person [J]. *Tianjin Medical Journal*, 2007, 35(1):7-9. (in Chinese)
- [13] Andreoli A, Bazzocchi A, Celi M, et al. Relationship between body composition, body mass index and bone mineral density in a large population of normal, osteopenic and osteoporotic women [J]. *Radiol Med*, 2011, 116(7):1115-1123.
- [14] Arimatsu M, Kitano T, Kitano N, et al. Correlation between bone mineral density and body composition in Japanese females aged 18-40 years with low forearm bone mineral density [J]. *Environ Health Prev Med*, 2009, 14(1):46-51.
- [15] Moon SS Relationship of lean body mass with bone mass and bone mineral density in the general Korean population[J]. *Endocrine*, 2014, 47(1):234-243.
- (收稿日期:2016-08-21, 修回日期:2016-10-22)