

Smad 与骨质疏松症

陈伟健¹ 谢炜星^{2*} 温龙飞¹ 李钺¹ 任东成¹ 晋大祥² 丁金勇² 龚水帝¹ 郭惠智¹ 陈晓俊¹

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405

中图分类号: R329.28 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 08-1100-05

摘要: 骨质疏松症(osteoporosis, OP)是由成骨细胞(osteoblast, OB)负责的骨形成和破骨细胞(osteoclast, OC)负责的骨吸收之间的平衡被打破所致。已有大量研究证实转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)通路和骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)通路能调控骨形成与骨吸收的平衡,而 Smad 蛋白家族(Smad)直接介导 TGF- β 通路和 BMP 通路下游的信号转导,在调节骨代谢过程中扮演重要的角色。本文针对 OP,主要从 Smad 影响 OB 与 OC 的作用方面进行综述。

关键词: Smad; 骨质疏松症; 成骨细胞; 破骨细胞

Smad and osteoporosis

CHEN Weijian¹, XIE Weixing^{2*}, WEN Longfei¹, LI Yue¹, REN Dongcheng¹, JIN Daxiang², DING Jinyong², GONG Shuidi¹, GUO Huizhi¹, CHEN Xiaojun¹

1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China

2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China

Corresponding author: XIE Weixing, Email: xwx841211@163.com

Abstract: Osteoporosis is caused by the disruption of the balance between the osteoblasts responsible for bone formation and the osteoclasts responsible for bone resorption. A large number of studies have confirmed that transforming growth factor- β (TGF- β) and bone morphogenetic proteins (BMPs) signaling pathway can regulate the balance of bone formation and bone resorption. Smad directly mediates the signal transduction in the TGF- β and BMP signaling pathway, and therefore plays an important role in the regulation of bone metabolism. In this paper, we reviewed the influence of Smad on osteoblast and osteoclast in osteoporosis.

Key words: Smad; Osteoporosis; Osteoblast; Osteoclast

OP 是一种常见的全身性骨代谢疾病,以骨量减少和骨组织微细结构破坏为特征,并进一步导致患者骨质脆性增加和易于发生骨折。骨骼是一个动态的活性组织,它需要通过不断的重塑来维持骨矿化平衡及骨结构的完整,持续的骨重建是保护骨骼健康的重要前提,由 OC 介导不断吸收骨基质,随后由 OB 负责替代新骨。在骨重塑的过程中骨形成和骨吸收保持一种动态平衡,称为骨稳态。OP 就是由于这种骨稳态被打破而导致的。OB 和 OC 之间的相互调节,是保持骨形成和骨吸收之间骨稳态的基础。

Smad 蛋白家族是近年通过基因筛查的办法在无脊椎动物中鉴定出来的新的细胞内信号传导蛋

白。TGF- β 通路 BMP 通路是调控骨稳态的重要通路。随着不断深入研究 Smad 蛋白家族发现,Smad 主要参与 TGF- β 通路 BMP 通路的信号传导,对 OB 与 OC 的形成与分化发挥重要作用。

1 Smad 蛋白的介绍

1.1 Smad 蛋白家族的发现

人们最初通过对果蝇进行基因筛查的研究,发现了在 TGF- β 家族信号通道下游的 Mad 多肽有一个高度保守且未知的结构域,而这一结构域与从线虫中分离的 3 种 cem-1、cem-2、cem-3 多肽相比较,具有高度的相似性, Mad 从此就作为了一个新的蛋白质家族出现在人们面前。接着人们又通过基因筛查在新小杆线虫上发现 Sma-2、Sma-3、Sma-4 都有一个保守的结构域,编码属于同一个蛋白家族,而且都处于 TGF- β 信号通道的下游,结构与 Mad 蛋白相

基金项目: 广东省科技厅资助项目(20160226)

* 通讯作者: 谢炜星, Email: xwx841211@163.com

近,说明 Sma 蛋白与 Mad 蛋白联系密切。后来进一步研究发现 Mad 蛋白和 Sma 蛋白都作用于丝氨酸/苏氨酸激酶受体(分别称为 I 型受体和 II 型受体)下游,因此人们将 Mad 蛋白和 Sma 蛋白及其类似物统称为 Smad 蛋白家族^[1]。

1.2 Smad 蛋白的分类

目前已经有 9 种 Smad 成员相继被报道,分别用 Smad 1 ~ Smad 9 表示。按照结构和功能,Smad 可以被分为 3 类:第一类,受体调节的 Smads (R-Smads),包括 Smad 1、2、3、5、8、9。Smad 2 和 Smad 3 是 TGF- β 或活化素的特异性中介物,Smad 2 和 Smad 3 因 TGF- β 和 TGF- β II 型受体与活化素受体样激酶类 ALK4/5/7 之间形成的复合物或活化素和活化素受体 2 发生磷酸化,负责参与 TGF- β 和活化素信号传导途径;BMPs I 型受体 ALK1/2/3/6、BMPs II 型受体或活化素受体 2 形成的复合物则可激活 Smad 1、5、8,可能还有 Smad 9,参与传导 BMP 信号传导。较早的研究已证实 BMP-2/4 就是通过 Smad 1、5、8 传递信号。第二类,共同介导的 Smads (Co-Smad),目前发现只有一种,就是 Smad 4。Smad 4 就像一个中央传感器,既不能被磷酸化,也不能结合 TGF- β 受体或 BMP 受体,但它几乎能与所有激活的 R-Smads 形成异源的多聚复合物,并因此参与和调节 TGF- β 信号转导。因为 Smad 4 有一个富含脯氨酸的 Smad 4 活化区 (Smad 4 activation domain, SAD) 能够调节转录激活和抑制因子的相互作用,这是激活 R-Smads 所依赖的转录反应所必需的。第三类,抑制性的 Smads (I-Smads),包括 Smad 6 和 Smad 7。在大多数静息细胞中, I-Smads 位于细胞核中,当受到 TGF- β 刺激或泛素化调节因子 Smurf1 过度表达时,Smad 6、7 从细胞核进入细胞质, I-Smads 与 I 型受体结合,竞争性的干扰 R-Smads 募集和磷酸化,并同时抑制 R-Smads 和 Co-Smad 复合物的形成和活性。Smad 6、7 还可以与泛素化连接酶 Smurf E3 相作用,使其结合到 I 型受体,导致受体降解,终止信号传导。Smad 7 也能直接在细胞核上发挥作用,抑制特定基因的转录。 I-Smads 蛋白可以作为 TGF- β 信号转导自我调节的一种负反馈信号,因为 TGF- β 可以诱导 I-Smads 的 mRNA 的转录反应,所以 I-Smads 能起到负反馈的作用紧密地控制 TGF- β 信号转导。 I-Smads 能抑制 Smad 蛋白介导的信号转导,其中 Smad 6 主要抑制 BMP 信号转导,而 Smad 7 则能抑制 TGF- β 和 BMP 信号转导^[2-4]。

1.3 Smad 蛋白的结构特征

Smad 蛋白的 N 区和 C 区有一个高度保守的结构域,分别称为 MH1 (Mad homology domain-1) 和 MH2 (Mad homology domain-2),富含脯氨酸 (Pro)。MH1 和 MH2 之间是氨基酸序列与长度可变化的中间连接区 (L)。MH2 是功能效应区, MH2 的功能包括与 I 型受体发挥效应,形成 Smad 多聚复合物,结合其他转录共激活剂或共抑制剂。MH2 在所有的 Smad 蛋白中是高度保守的。MH1 是 MH2 的功能抑制区,在未激活时, MH1 抑制 MH2 的功能;当激活后, MH1 负责结合到特异性的 DNA 序列。与 MH2 不同, MH1 只有在 R-Smad 和 Co-Smad 中才是保守的。Smad 蛋白的 MH1 与 MH2 以结合状态存在,当受体与配体结合被活化后两者解离,形成 Smad 复合体向核内移行,在核内蓄积引起靶基因的转录。目前 L 区的功能尚不清楚^[5]。

1.4 Smad 通路作用机制

尽管 Smad 通路存在大多数的细胞类型和组织,但它是受 TGF- β /BMP 激活的额外通路。在 TGF- β 通路中,当 TGF- β 家族配体结合到 II 型受体就激活 II 型受体激酶,然后磷酸化 I 型受体激酶上游富含甘氨酸/丝氨酸的 GS 区,GS 区的磷酸化又会激活 I 型受体激酶,导致 I 型受体发生自我磷酸化和细胞内的 R-Smads 一过性地与 I 型受体直接进行配体结合形成复合物, R-Smads 的 C 区的 Ser-Ser-Val/Met-Ser 序列 (SSXS 区) 发生磷酸化。磷酸化的 R-Smads 与 I 型受体分离并与 Smad4 形成复合物。在 BMP 通路中, BMP 首先与 II 型受体 (BMP R II) 结合使其磷酸化,然后活化的 BMP R II 磷酸化 I 型受体 (BMP R I) 并与其结合形成复合物。活化的受体复合物进一步激活一系列下游受体调节 R-Smads,磷酸化的 R-Smads 与受体分离,与 Smad4 结合形成复合物。通过 TGF- β 通路和 BMP 通路形成的这些复合物转移到细胞核与不同的 Smad 结合原件 (Smad-binding elements, SBE)、DNA 转录因子、转录共激活剂或共抑制剂结合,并向核内移行,在核内蓄积引起正性或者负性调控靶基因的表达^[6-8]。 I-Smads 的 N 区与其他通路的特异性有关并且缺乏 MH1,能与 R-Smad 竞争 TGF- β 和 BMPs 的 I 型受体,从而抑制 R-Smad 的磷酸化,抑制 Smad 通路,具体见图 1^[9]。

2 Smad 与骨质疏松症

随着全球人口老龄化的趋势, OP 在全球的发病

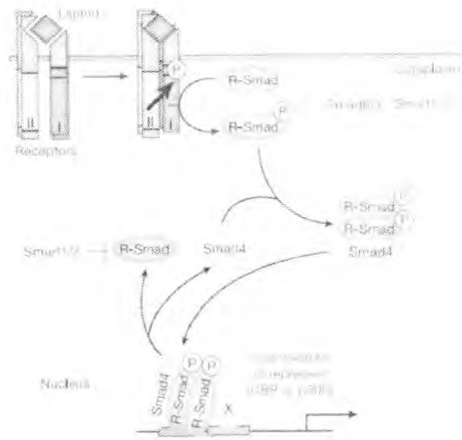


图1 Smad 信号转导通路

Fig.1 Smad signaling pathway

率也逐年增高,严重威胁着老年人的健康。OP 的发病机制主要是由 OB 介导的骨形成与 OC 介导的骨吸收之间的骨稳态失衡。OC 相对比 OB 活跃,即骨吸收的趋势大于骨形成的趋势。Smad 主要通过 TGF- β /BMP 通路直接参与诱导 OB 与 OC 的生成、分化,在调节骨代谢方面扮演着不可或缺的角色。

2.1 Smad 蛋白与成骨细胞

负责骨形成活动的 OB 是由骨髓间充质干细胞 (bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMSCs) 分化而来的,OB 增殖分化由多种生长因子调控,包括 TGF- β 、BMP、Smad 等。TGF- β 与 BMP 通路都能促进骨形成,而两者的信号转导都由 Smad 直接介导。

2.1.1 在 BMP 通路中 Smad 蛋白与成骨细胞

BMPs 是诱导 OB 分化和骨形成的有效的亲骨因子,在动物中已被证实能诱导骨形成。BMP-2 通过增加 OB 分化的标志酶-碱性磷酸酶 ALP 活化和骨钙蛋白等基因的表达,诱导 BMSCs 向 OB 分化,促进骨形成。在所有 Smad 蛋白中,与成骨细胞分化关系密切的是 Smad 1 和 Smad 5。Smad 1、5 通过与 BMP-I A 型或 I B 型受体结合后直接活化、磷酸化,接着与 2 个或 1 个 R-Smad 和 1 个 Smad 4 以异源三聚体或异源二聚体的形式进入细胞核内,作用于成骨细胞特异性转录因子 runx2、Osterix 等基因序列并上调其表达^[6-8]。另外,Smad 1 或 Smad 5 能特异地与 OB 分化密切相关的 PEBP 2 α A/AML 3/CBFA 1 基因启动子结合,一起诱导 OB 分化。在 BMP-2 缺乏的情况下,Smad 1 或 Smad 5 过表达,也可以诱导 ALP 的活化和 OB 分化。特异性地敲除

Smad1 会引起骨量的减少。部分学者发现,mi R-155 在 BMP-2 刺激后表达下调,具有抑制成骨细胞分化为骨细胞的能力,其机理正是通过与 Smad 5 mRNA 的 3'-UTR 端结合抑制其基因表达^[10]。Liu 等^[11]通过收集 50 位骨折的老年患者的骨样本,发现随着年龄增长,与年龄相关的 PLEKHO1 mRNA 水平上升会减少 Smad 1/5 (p-Smad1/5) 的磷酸化,抑制 OB 的生成。最近有学者研究发现,Notch 信号通路的配体 DLL1 在体内外都具有促进 BMP9 诱导 BMSCs 成骨分化的作用,且该效应可能通过影响 BMP9 信号通路的多个环节来实现。DLL1 能促进 BMP I 型受体 ALK2 的表达,同时也能上调 Smad1/5/8 磷酸化水平及 SBE 的转录活性^[12]。这些研究发现都说明了 Smad 蛋白是直接参与 BMP 通路诱导 OB 形成过程中的信号通路,OB 的形成与磷酸化的 Smad 密切相关。

2.1.2 在 TGF- β 通路中 Smad 蛋白与成骨细胞

除了 BMP 通路,Smad 也能通过 TGF- β 通路促进 OB 形成。在该通路转导过程中,TGF- β 先结合其 II 型受体,再激活其 I 型受体,组成受体复合物,受体复合物携带信号进入细胞膜后,因 Smad 受体激活锚蛋白在细胞膜及早期内涵体膜上已锚定 Smad2 或 Smad3 蛋白,激活的 TGF- β 识别并结合活化 Smad 2 或 Smad 3 蛋白^[13]。Smad 2 或 Smad 3 活化后与 Smad 4 形成复合物异位入核,启动细胞内信号反应的级联传导,通过 MH1 区的发夹样结构与 DNA 上的 SBE 直接结合,诱导和调节靶基因转录,影响成骨细胞的增殖、分化及 I 型胶原蛋白的合成。有学者报道,葛根素促进骨形成正是通过刺激 Smad 2/3 mRNA 的表达和刺激 TGF- β 1 的分泌和合成^[14]。此外,TGF- β 还可诱导 OB 自身表达并诱导 BMP-2 在 OB 中的表达,增加其成骨能力。

2.2 Smad 蛋白与破骨细胞

负责骨吸收活动的 OC 起源于造血干细胞,OC 的形成依赖于核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator for nuclear factor- κ B Ligand, RANKL) 和集落刺激因子 1 (colony stimulating factor-1, CSF-1) 的协同作用,两者都源于 OB 的分泌。CSF-1 在未成熟的 OC 表面结合其受体激活信号通路对于破骨细胞前体的增殖与存活必不可少;而 RANKL 对于 OC 的成熟、分化更是起核心作用,RANKL 在破骨细胞前体细胞表面与 RANK 通过可溶性或膜结合,促使成熟 OC 的形成,激活和存活。

2.2.1 在 TGF- β 通路中 Smad 蛋白与破骨细胞

至今为止,人们知道 TGF- β 对 OC 的生成有密切联系, TGF- β 可以直接作用于骨髓巨噬细胞 (bone marrow macrophages, BMMs) 并促进 OC 的形成, RANKL 与巨噬细胞集落刺激因子结合诱导 OC 生成,在这一过程中内源性的 TGF- β 是关键。TGF- β 能招募破骨细胞前体到骨环境中并在 RANKL 的帮助下推动 OC 分化,促进骨吸收。在破骨细胞分化过程中, TGF- β 与其 II 型受体结合并招募和磷酸化 I 型受体,导致 smad 2 和 Smad 3 的磷酸化,负责 TGF- β 通路下游的信号转导。具体而言, TGF- β 增强了 RANKL 介导 smad 2 或 Smad 3 与 Smad 4 组成的复合体易位到细胞核并与 Nfatc1 靶基因结合,驱动 Nfatc1 的表达,这是调控 OC 分化的关键因素,在这过程中,肿瘤坏死因子受体连接因子 6 与 Smad 3 的 MH2 结构域结合也起着关键的作用^[15]。然而有趣的是, TGF- β 又会影响 BMMs 周围的基质细胞而间接抑制 OC 的形成。其次, TGF- β 能促进 OB 分泌骨保护素,通过结合 RANK 而影响 RANK 与 RANKL 的相互作用,进而抑制 OC 的活性和分化^[16]。Yasui 等^[17] 研究发现当阻挡 Smad 通路后, RANKL 诱导 OC 形成受到抑制,此时激活的突变 Smad 2 或 Smad 3 能翻转这一效应。免疫沉淀分析发现, Smad 2/3 直接与 TRAF6-TAB1-TAK1 组成复合物,该复合物能刺激 RANKL 并对 OC 分化起关键作用。阻挡 TGF- β 信号通路,却未发现 TRAF6-TAB1-TAK1 复合物。进一步分析发现 Smad3 的 MH2 区对于 TRAF6-TAB1-TAK1 形成复合体是必要的。可见, TGF- β 刺激激活 Smad2 或 Smad 3, Smad 2 或 Smad3 直接与 TRAF6-TAB1-TAK1 结合形成复合物,可促使 RANKL 诱导 OC 形成。

2.2.2 在 BMP 通路中 Smad 蛋白与破骨细胞

在 BMPs 中, BMP-2 与 OC 的形成有密切关系, 并且 BMP-2 可刺激 OC 的骨吸收活动。BMP-2 主要可以诱导 CSF-1 的表达促进 OC 的形成, 而专门介导 BMP 通路的 Smad 与 CREB 结合蛋白协同作用能增加 CSF-1 的表达, CSF-1 的表达的上调能促进 OC 的生成。而与 OC 形成和分化密切相关的 RANKL, BMP-2 在白细胞介素-1 α 的作用下可增加其表达以此来促进 OC 的形成, 并提高 OC 的存活率和促进 OC 的分化。然而 BMP-2 自身并不具备使 OC 的存活率提高的作用。Yoshikawa^[18] 等发现在敲除 Smad1 的初代 OB 中 BMP-2 所诱导 RANKL mRNA 的表达受到抑制, 导致 OC 的形成减少。

除了负责介导 TGF- β 信号通路的 Smad 2 或

Smad 3 和负责介导 BMP 通路的 Smad 1 和 Smad 5 被报道与 OC 的形成有关系外, Smad 4 作为 Co-Smad 与因 TGF- β /BMP 刺激而磷酸化的 R-Smads 结合形成复合物参与转录反应, 也与 OC 的形成密切相关。Amy 等^[19] 研究发现分别敲除 Smad 1、4、5 后, OC 的骨吸收的活动减弱, OC 分化的标记物表达减少, 由此可见 Smad 1、4、5 的表达对于 OC 的分化是必要的。另外, Li 等^[20] 用敲除 Smad7 基因外显子 1 的小鼠模拟 Smad7 部分功能缺失, 与正常小鼠对照, 左股骨干骺端的形态和长度没有明显差别, 但骨量与骨小梁比对照组减少, 在显微镜下发现 OC 比对照组多。由此说明, Smad7 部分功能缺失会抑制骨形成, 促进骨吸收。由此看出, Smad7 似乎也与 OC 的形成有某种密切的关系。

3 Smad 在骨质疏松研究中的前景

综上所述, OP 的发病机制主要是由 OB 介导的骨形成与 OC 介导的骨吸收之间的骨稳态失衡。而 Smad 在不同因素下通过 TGF- β /BMP 通路直接参与诱导 OB 与 OC 的生成、分化, 在调节骨代谢方面作用显著。然而目前对 Smad 的研究仍处于初级阶段, 对骨形成与骨吸收的研究主要还只是局限在动物研究方面, 较少直接对骨质疏松患者进行研究探讨, 对其精确的调节机制也未完全清楚, 在 TGF- β /BMP 通路下参与调节的 Smad 都有促进 OB 和 OC 形成的作用, 究竟在其中哪些因素能诱导 Smad 促进 OB 形成, 哪些因素能诱导 Smad 促进 OC 形成, 现在也未完全清楚。今后仍需通过相关研究, 探究 Smad 在骨形成和骨吸收方面发挥作用的具体机理和影响因素, 如何促进 OB 的形成而又避免促进 OC 的形成, 更是今后防治骨质疏松症的药物研究的一个热点。

【参 考 文 献】

- [1] Dineen A, Gaudet J. TGF- β signaling can act from multiple tissues to regulate *C. elegans* body size. BMC Developmental Biology, 2014, 14(1):43.
- [2] 姜宇, 徐又佳. BMP-TGF β 信号通路. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(11):1485-1487.
Jiang Y, Xu YJ. BMP-TGF beta signaling pathway. Chin J Osteoporos, 2016, 22(11): 1485-1487. (in Chinese)
- [3] Conidi A, Cazzola S, Beets K, et al. Few Smad proteins and many Smad-interacting proteins yield multiple functions and action modes in TGF β /BMP signaling in vivo. Cytokine Growth Factor Rev, 2011, 22(5):287-300.
- [4] Zhang J, Zhang X, Xie F, et al. The regulation of TGF- β /

- SMAD signaling by protein deubiquitination. *Protein & Cell*, 2014, 5(7):503-517.
- [5] Guzman A, Zelmanfemiak M, Boergermann J H, et al. SMAD versus non-SMAD signaling is determined by lateral mobility of bone morphogenetic protein (BMP) receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(47):39492-39504.
- [6] Tao SJ, Sampath K. Alternative splicing of SMADs in differentiation and tissue homeostasis. *Dev Growth Differ*, 2010, 52(4):335-342.
- [7] Andrea C, Veronique VDB, Danny H. Aptamers and their potential to selectively target aspects of EGF, Wnt/ β -catenin and TGF β - Smad family signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(4):6690.
- [8] Kopf J, Paarmann P, Hiepen C, et al. BMP growth factor signaling in a biomechanical context. *Biofactors*, 2014, 40(2):171.
- [9] 李安娜. BMP-Smad 信号通路在成骨与破骨细胞生成中的作用. 山东大学, 2014.
- Li AN. The role of BMP-Smad signaling pathway in osteogenesis and osteoclast formation. Shandong University, 2014. (in Chinese)
- [10] 邱诗阳, 付希佳, 白晓雪, 等. miR-155 通过抑制 SMAD5 调控成骨细胞骨分化. *中国组织工程研究*, 2017, 21(4):538-544.
- Qiu SY, Bai XX, Fu XJ, et al. MiR-155 SMAD5 by inhibiting the regulation of osteoblast differentiation of. *China Tissue Engineering Research*, 2017, 21(4):538-544. (in Chinese)
- [11] Liu J, Liang C, Guo B, et al. Increased PLEKH01 within osteoblasts suppresses Smad - dependent BMP signaling to inhibit bone formation during aging. *Aging Cell*, 2017, 16(2):360-376.
- [12] 廉静, 杨伦韵, 曹俊杰, 等. DLL1 在骨形态形成蛋白 9 诱导骨髓间充质干细胞成骨分化中的作用. *第三军医大学学报*, 2016, 38(1):38-43.
- Lian J, Yang LY, Cao JJ, et al. The role of DLL1 in the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells induced by bone morphogenetic protein 9. *Journal of Third Military Medical University*, 2016, 38(1):38-43. (in Chinese)
- [13] Runyan C E, Liu Z, Schnaper H W. Phosphatidylinositol 3-kinase and Rab5 GTPase inversely regulate the Smad anchor for receptor activation (SARA) protein independently of transforming growth factor- β 1. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(43):35815-35824.
- [14] 钱康琦, 孙玉明, 詹秀琴. 实时荧光定量 PCR 法研究葛根素对成骨细胞 TGF- β 1 及 Smad2/3mRNA 表达的影响. *辽宁中医药大学学报*, 2013(9):46-49.
- Qian KQ, Sun YM, ZHAN XQ, et al. Study on the effect of puerarin on the expression of TGF- 1 and Smad2/3mRNA in osteoblasts by real time fluorescent quantitative. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2013(9):46-49. (in Chinese)
- [15] Powers SE, Taniguchi K, Yen W, et al. Tgfr1 and Tgfr2 regulate Nodal signaling and are required for gastrulation. *Development*, 2010, 137(2):249-259.
- [16] Fennen M, Pap T, Dankbar B. Smad-dependent mechanisms of inflammatory bone destruction [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2016, 18(1):279.
- [17] Yasui T, Kadono Y, Nakamura M, et al. Regulation of RANKL-induced osteoclastogenesis by TGF- β through molecular interaction between Smad3 and Traf6. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(7):1447-1456.
- [18] Yoshikawa Y, Yoshizawa T, Domae E, et al. RNA interference-mediated knockdown of Smad1 inhibits receptor activator of nuclear factor κ B ligand expression induced by BMP-2 in primary osteoblasts. *Arch Oral Biol*, 2015, 60(9):1319-1326.
- [19] Amy Tasca, Melissa Stemig, Aaron Broege, et al. Smad 1/5 and Smad 4 Expression Are Necessary for Osteoclast Differentiation. *J Cellular Biochemistry*, 2015, 116(7):1350-1360.
- [20] Li N, Lee WY, Lin SE, et al. Partial loss of Smad7 function impairs bone remodeling, osteogenesis and enhances osteoclastogenesis in mice. *Bone*, 2014, 67:46-55.

(收稿日期: 2017-01-27; 修回日期: 2017-04-09)