

· 综述 ·

RANK 信号调控破骨细胞分化与成熟的研究进展

梅良伟¹ 桑文华^{2*} 陈富春¹ 李晓春¹ 王登峰¹ 吴卓¹ 穆佐洲¹ 邵海龙¹

1. 陕西省第四人民医院骨科, 陕西 西安 710043

2. 陕西省第四人民医院病理科, 陕西 西安 710043

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 12-1652-05

摘要: 破骨细胞来源于微环境造血前体细胞, 它的生存、增殖、分化和激活需要巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)和核因子 κ B受体活化因子配体(RANKL)参与。RANKL与相应的RANK受体结合, 从而刺激破骨前体细胞分化成为破骨细胞。这一过程由不同的调节蛋白和激酶来调控, 并且依赖于RANKL-RANK信号。本文中, 笔者总结了目前已知的在破骨细胞发生过程中调节RANK信号的机制。在早期阶段, RANK信号的调节通过募集调节蛋白如肿瘤坏死因子受体相关因子6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6), 引起丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)以及转录因子核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)和激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)的活化。活化的NF- κ B进一步激活调节破骨细胞生成的重要因子-T细胞核因子1(nuclear factor of activated T-cells cytoplasmic 1, NFATc1)。在信号传递的中间阶段, 共刺激信号通过激活磷脂酶C γ 2(phospholipase C γ 2, PLC γ 2)连同c-Fos/AP-1引起钙离子(Ca^{2+})振荡, 同时 Ca^{2+} 信号促进NFATc1的产生。在破骨细胞生成的晚期阶段, NFATc1入核诱导大量的破骨细胞特异性靶基因的表达, 从而使细胞融合并发挥其功能。

关键词: 破骨细胞; 核因子 κ B受体活化因子; 肿瘤坏死因子受体相关因子6; NF- κ B激活T细胞核因子1

Research progress on the role of RANK signaling in the regulation of osteoclast differentiation and maturationMEI Liangwei¹, SANG Wenhua^{2*}, CHEN Fuchun¹, LI Xiaochun¹, WANG Dengfeng¹, WU Zhuo¹, MU Zuozhou¹, SHAO Hailong¹

1. Department of Orthopaedics, the Fourth People's Hospital of Shanxi, Shanxi 710043

2. Department of Pathology, the Fourth People's Hospital of Shanxi, Shanxi 710043

* Corresponding author; SANG Wenhua, Email: m3907834@163.com

Abstract: Osteoclasts are bone-resorbing cells that are derived from hematopoietic precursor cells and require macrophage-colony stimulating factor and receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) for their survival, proliferation, differentiation and activation. The binding of RANKL to its receptor RANK triggers osteoclast precursors to differentiate into osteoclasts. This process depends on RANKL-RANK signaling, which is temporally regulated by various adaptor proteins and kinases. Here we summarize the current understanding of the mechanisms that regulate RANK signaling during osteoclastogenesis. In the early stage, RANK signaling is mediated by recruiting adaptor molecules such as tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6), which leads to the activation of mitogen-activated protein kinases (MAPKs), and the transcription factors nuclear factor- κ B (NF- κ B) and activator protein-1 (AP-1). Activated NF- κ B induces the nuclear factor of activated T-cells cytoplasmic 1 (NFATc1), which is the key osteoclastogenesis regulator. In the intermediate stage of signaling, the co-stimulatory signal induces Ca^{2+} oscillation via activated phospholipase C γ 2 (PLC γ 2) together with c-Fos/AP-1, wherein Ca^{2+} signaling facilitates the robust production of NFATc1. In the late stage of osteoclastogenesis, NFATc1 translocates into the nucleus where it induces numerous osteoclast-specific target genes that are responsible for cell fusion and function.

Key words: osteoclast; receptor activator of nuclear factor- κ B; tumor necrosis factor receptor-associated factors 6; nuclear factor of activated T-cells cytoplasmic 1

* 通信作者: 桑文华, Email: m3907834@163.com

健康骨骼通过骨的重塑来维持, 首先由破骨细胞行使骨吸收功能形成骨吸收陷窝, 接着成骨细胞

在腔隙内重新成骨,这是一个动态平衡的过程^[1]。因此,破骨细胞和成骨细胞的结合在空间和时间上都受到严格的调控。破骨细胞是一种具有骨吸收功能的多核巨细胞,其主要来源于骨髓中形成的造血前体细胞。M-CSF 和 RANKL 由成骨细胞或骨细胞表达,为破骨前体细胞分化为成熟破骨细胞所必需^[2]。M-CSF 刺激破骨前体细胞表面表达 RANK (由 *Tnfrsf11a* 编码),进而使 RANKL 与其受体 RANK 结合。*Tnfrsf11* 或 *Tnfrsf11a* 基因缺失的小鼠表现为严重的石骨症,同时伴有因破骨细胞完全死亡而导致的牙齿脱落缺陷^[3]。RANKL-RANK 信号也受到骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) (*Tnfrsf11b* 编码) 的负调控,OPG 是 RANKL 的一个可溶性诱导受体,能够阻碍 RANKL 与 RANK 的结合^[4]。

RANK 是肿瘤坏死因子受体 (TNFR) 超家族的一名成员,它缺乏激活下游信号分子所需的内在酶活性。因此,RANK 必须通过募集配体分子例如 TNFR 相关性因子 (TRAFs),进而激活 MAPKs 和 NF- κ B 传导细胞内信号^[5]。RANK 信号调控下游信号,从而导致单核细胞/巨噬细胞前体细胞向破骨细胞谱系的分化和成熟破骨细胞的激活。

在 RANK 信号的起始步骤,RANKL 与相应的受体 RANK 结合导致衔接蛋白如 TRAF6 的募集,从而形成 RANK 三聚体,同时快速激活 MAPKs、NF- κ B 和 AP-1^[6]。继而通过激活 AP-1 和协同刺激信号介导的细胞内 Ca^{2+} 振荡,放大 NFATc1 进行信号传递^[7]。最终,活化的 NFATc1 促使破骨细胞基因转录从而调控破骨细胞的多核和骨吸收功能。本文中笔者主要阐述目前已知的在这一过程中所涉及的分子机制,以及近期关于 RANK 信号调控破骨细胞的新发现。

1 RANK 信号和 TRAF 衔接蛋白

RANKL 与 RANK 结合促使 RANK 形成三聚体并募集衔接蛋白—TRAF6,从而启动下游信号的级联放大反应。TRAF 家族的其他成员如 TRAF2、TRAF3 和 TRAF5,也可以与 RANK 结合激活破骨细胞分化所需的转录因子。然而,对 TRAF6 缺陷小鼠的研究^[8]表明,TRAF6 是主要的衔接蛋白,主要负责 RANKL 激活引起的信号级联反应。活化的 TRAF6 通过激活 I κ B 激酶 (IKK) 复合体或者非典型蛋白激酶 C (aPKC) 或 TGF β 活化激酶 1 (TAK1) 依赖的磷酸化刺激 NF- κ B 的激活,同时这也是一个需要 IKK γ (也被称为 NEMO) 泛素化以实现最佳激活

的过程^[9]。支架蛋白 p62 结合到 TRAF6 并与 aPKCs 相互作用,导致多聚蛋白复合物的形成并调节 IKK β ^[9]。TRAF6 还可与 TAK1、衔接蛋白 TAK1 结合蛋白 1 (TAB1) 和 TAB2 形成复合物^[10]。激活后,TAK1 使 IKK 复合物磷酸化,从而进一步激活 NF- κ B 通路^[11]。NF- κ B 信号对破骨细胞的形成至关重要,有研究表明,NF- κ B p50/p52 双敲除小鼠因无法生成破骨细胞而表现出严重的骨硬化性疾病^[12]。AP-1 转录因子包括 Fos (c-Fos、FosB、Fra-1 和 Fra-2)、Jun (c-Jun、JunB 和 JunD) 和 ATF (ATFa、ATF2、ATF4 和 B-ATF) 家族成员的激活也是通过衔接蛋白诱导 c-Fos 实现^[13]。c-Fos 基因敲除小鼠表现为严重的骨硬化病^[14]。这些结果表明,转录因子如 NF- κ B 和 AP-1 是早期 RANKL 信号通路重要的下游靶点。衔接蛋白的募集也导致 MAPKs 的激活,包括 c-Jun 氮端激酶 (JNK)、p38、细胞外信号调节激酶和 Akt/PKB^[15]。近期有研究^[16]发现,激活的 C 激酶 1 受体 (RACK1) 为 Trp-Asp⁴⁰ (WD40) 重复蛋白家族的一名成员,是破骨细胞分化的必要条件。RACK1 充当支架蛋白将 TRAF6-TAK1 复合物与 MKK6 而不是 MKK3 相结合,通过选择性地促进 p38 的激活在 RANKL 诱导的破骨前体细胞向破骨细胞分化过程中起重要作用。此外,考虑到 RACK1 在 RANKL 诱导下的表达方式及其与 β 1、 β 2 整合素亚单位和 c-Src 之间的关系,RACK1 可能参与到破骨细胞的骨吸收功能阶段。其他研究^[17]表明,Akt、JNK 和 NF- κ B 通路的激活需要生长因子受体结合蛋白 2 (Grb2)—相关性结合-2 (Gab2)。此外,磷脂酶 C γ 2 (PLC γ 2) 与 Gab2 形成复合物进而使 Gab2 磷酸化,同时调节 RANK 募集 Gab2。Lee 等^[18]的研究表明 RANK-TRAF6-Rac1-NADPH 氧化酶 1 依赖途径产生的活性氧是 MAPK 激活和破骨细胞形成的必要条件。

2 共刺激信号

在初始阶段 NF- κ B、c-Fos/AP-1 和 NFATc2 诱发 NFATc1 后,RANK 信号与免疫球蛋白样受体/免疫受体酪氨酸活化基序 (immunoglobulin-like receptor/immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM) 信号共同作用,这导致 NFATc1 的瀑布样放大并且移位入核结合到 DNA 上联同其他转录因子一起上调 NFATc1 靶基因的转录^[19]。大量的体内研究证明了 NFATc1 在破骨细胞形成中的重要作用。在动物实验中,破骨细胞特定 NFATc1 条件

性敲除小鼠表现出骨硬化和破骨细胞形成抑制^[20]。此外, NFATc1 不仅调节破骨细胞活性和骨形成, 还调节其他生物系统中细胞的活化和发育, 如免疫系统、心血管系统和骨骼肌系统^[21]。

除了 RANK 信号, 免疫球蛋白样受体如 2 型髓系细胞触发受体 (triggering receptor expressed in myeloid cells-2, TREM-2) 和破骨细胞相关受体 (osteoclast-associated receptor, OSCAR) 也可以诱导 NFATc1 信号^[22]。这些免疫受体具有短细胞质尾的特点, 并且与衔接蛋白如 DNAX-活化蛋白 12 (DNAX-activation protein 12, DAP12) 或 Fc 受体共同的 γ 亚基 (Fc receptor common γ subunit, FcR γ) 相关联, 其中就包含 ITAM^[19]。当 ITAM 由于 RANKL 的刺激发生酪氨酸磷酸化时, 一个含有酪氨酸激酶的复合物便形成, 这些酪氨酸激酶包括布鲁顿酪氨酸激酶 (Bruton's tyrosine kinase, Btk)/Tec、衔接分子 B 细胞连接蛋白 (adaptor molecules B cell linker protein, BLNK) 和 SLP-76, 这些复合物将 RANK 和 ITAM 下游信号融为一体, 最终激活 PLC γ 2 的磷酸化^[23]。Btk 和 Tec 缺陷小鼠由于破骨细胞分化被破坏、RANKL 诱导的 PLC γ 2 酪氨酸磷酸化高度抑制而表现为骨硬化表型^[23]。同时, 由于 Btk 和 Tec 缺陷, 使得 RANKL 诱导的 Ca^{2+} 振荡在细胞内消失。这表明, Btk 和 Tec 对破骨细胞形成至关重要, 并且这些激酶通过 PLC γ 2 和 Ca^{2+} 信号通路调节 NFATc1 的激活。当 DAP12 和 FcR γ 缺乏时, 在细胞内无法检测到 Btk/Tec 和 BLNK/SLP-76 复合物的形成, 这表明 Tec 激酶和 BLNK 复合物的形成均需要 ITAM 信号的激活, 该复合物可作为连接 RANK 和 ITAM 信号的分子开关。近期一项研究^[24]表明, 在破骨细胞形成过程中由 RANKL 刺激产生的早期雌激素基因 1 (EEIG1) 能够与 RANK 相互作用, 并且 RANKL 刺激后与 Gab2、PLC γ 2 和 Btk/Tec 激酶相连接。EEIG1 敲除导致 RANK 诱导的破骨细胞形成明显减少, 这是因为 RANKL 介导的 PLC γ 2 的活化和 NFATc1 的产生被抑制所引起。在 RANKL 的刺激下, RANK 形成了包括 EEIG1、Gab2、PLC γ 2 和 Btk/Tec 在内的信号复合物, 这表明, EEIG1 为一种衔接蛋白同时也是 RANK 和 ITAM 信号的连接蛋白^[24]。

PLC γ 2 也通过其高度保守域与 RANK 相互作用, 并且与 Gab2 和 TRAF6 形成复合物, 从而表现为一种信号依赖方式的磷酸化。ITAM 信号与 RANK 信号一起介导长期的感应性 PLC γ 2 激活。活化的

PLC γ 2 通过分解磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸产生 1,4,5-三磷酸肌醇 (IP_3), IP_3 与内质网 (ER) 表面的 IP_3 受体结合。因此, 储存在内质网中的 Ca^{2+} 被释放到胞质中, 并诱导产生 Ca^{2+} 振荡^[25]。NFATc1 的诱导也受其亚细胞定位的调控, 这依赖于其丝氨酸残基的磷酸化^[26]。在缺乏 RANKL 刺激条件下, NFATc1 主要由位于细胞质中的活性糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β) 磷酸化。当 RANK 信号在其抑制性丝氨酸残基 (GSK-3 β 的 Ser9) 处诱导 GSK-3 β 磷酸化后, GSK-3 β 即被灭活。这使 NFATc1 通过钙依赖磷酸酶去磷酸化, 随后转移进入细胞核。在细胞核中, NFATc1 诱导靶基因的表达。在破骨细胞过表达 GSK-3 β 的突变型转基因小鼠中, 由于体内破骨细胞数量的减少以及体外破骨细胞形成和 NFATc1 感应受损而表现出骨硬化病^[27]。此外, 抑制 3-磷酸肌醇激酶可以降低破骨细胞的形成, 减弱 NFATc1 的表达。GSK-3 β 因磷酸化增加而失活, Akt 在破骨细胞前体中过表达也可以引起 NFATc1 的表达及其核定位。最近的一项研究^[28]表明, PKC β 通过灭活 GSK-3 β 调控 NFATc1 的激活, 从而导致破骨细胞生成。这些结果表明, 在破骨细胞分化过程中, GSK-3 β /NFATc1 级联信号在 RANK 信号通路内具有重要作用。

3 破骨细胞分化晚期的主要信号

在 RANK 信号后期, 扩增的 NFATc1 激活和诱导破骨细胞特异性基因表达, 这些基因能够编码与破骨细胞分化、融合和功能相关的蛋白。此外, 在破骨细胞分化过程中, NFATc1 的正性或负性调节因子得到增强或抑制。在 RANKL 诱导的破骨细胞分化过程中, 负性调节因子的表达下调: v-maf 肌肉筋膜纤维肉瘤癌基因家族、蛋白 B (MafB)、干扰素调节因子-8 (IRF8) 以及 B 细胞淋巴瘤 6 (Bcl6) 等在破骨细胞分化过程中抑制 NFATc1 表达^[29-31]。所有负性调节因子都被转录抑制因子 B 淋巴细胞诱导的成熟蛋白 1 (Blimp1) 下调^[32]。在破骨细胞分化过程中, Blimp1 是由 RANKL 刺激引起的, 而在破骨细胞中缺乏 Blimp1 的小鼠, 由于破骨细胞严重破坏而表现出骨硬化表型^[33]。最近有研究结果^[32]表明, sirtuin 6 (Sirt6) 是一种核组蛋白去乙酰化酶, 通过 Blimp1 直接抑制抗破骨基因的表达。在造血细胞中, Sirt6 的特异性消融可以通过降低破骨细胞的分化而增加骨体积。RANKL 诱导的 NFATc1 上调了 Sirt6 的表达, 而诱导的 Sirt6 通过抑制 MafB 与

Blimp1 的结合,对 NFATc1 的转录产生了积极的调控作用^[32]。因此, NFATc1 通过诱导其靶基因 Blimp1 和 Sirt6 的表达来维持其自身的表达,并下调负调节因子的表达。

树突状细胞特异性跨膜蛋白(DC-STAMP)、液泡质子泵亚单位 Atp6v0d2 和 c-Src 底物 Tks5 等几种蛋白参与破骨细胞间的融合;其表达受 NFATc1 与 PU.1、小眼畸形相关转录因子(MITF)和 c-Fos 的调控。DC-STAMP 缺陷型小鼠表现为中度的骨硬化,这与大量 TRAP 阳性破骨细胞不同的是虽具有骨吸收功能,但吸收能力不完全^[34]。同样, Atp6v0d2 缺陷型小鼠由于缺乏多核 TRAP 阳性破骨细胞也表现为中度骨硬化;然而,这些小鼠主要是单核 TRAP 阳性细胞^[35]。 $\alpha V\beta 3$,一种整合素受体,能够与骨基质中的维甲酸结合,通过募集 c-Src 酪氨酸激酶的合成导致骨吸收^[36]。接下来, c-Src 使 Syk 磷酸化, Syk 通过募集 DAP12 和 SLP-76 形成衔接蛋白复合物,激活包括 Rac 在内的小 Rho 家族 GTP 酶。这些相互作用通过溶酶体分泌囊泡与细胞质膜融合,导致皱褶边界膜的形成。至于骨吸收, H 离子通过皱褶边界被泵出,并与 Cl 离子形成 HCl 将骨基质分解,同时激活各种水解酶如蛋白酶 K、CLC-7 氯离子通道和 TRAP^[7]。

Kim 等^[37]认为,细胞质内的 RANK 通过调节破骨细胞的肌动蛋白骨架和存活,特异性地参与破骨细胞的形成和功能。他们使用了一种细胞通透性 RANK 受体抑制剂(RRI)靶向作用于细胞质内的 RANK。RRI 肽可阻断 RANKL 诱导的破骨细胞形成,并通过 Vav3、Rac1 和细胞分裂周期 42 破坏下游 RANK 信号,从而破坏破骨细胞形成过程中产生的肌动蛋白环。此外, RRI 抑制破骨细胞的骨吸收作用和增强破骨细胞的凋亡。RRI 肽并不能消除任何 TRAF6 介导的蛋白激酶级联反应,亦不能改变 NFATc1 和破骨细胞特异性基因的表达。这些结果表明, RRI 肽作用于 NFATc1 和破骨细胞形成的高度特异性调控之后,主要作用于破骨细胞形成的晚期,而不影响参与免疫信号等多种信号通路的其他信号分子。

4 总结

RANK 信号是调控破骨细胞分化和功能的关键分子信号。这一发现使破骨细胞在体外培养过程中能够产生几乎纯合的种群,从而促进了对包括细胞分化和功能在内的细胞内机制和信号网络的解析。

该信号始于 RANKL 与 RANK 的结合,并通过募集大量的衔接蛋白如 TRAF6 和激酶形成一系列的信号复合物,从而促进信号转导的调节。RANK 信号与免疫受体/ITAM 信号相互作用,这是破骨细胞生成所需的另一个信号通路。RANKL 信号与 ITAM 介导的 Ca^{2+} 信号一起,最终诱导 NFATc1 的扩增和破骨细胞相关基因的表达。正因如此,针对这些信号的分子药物,不仅会抑制破骨细胞的生成,也可能对其他系统如免疫系统造成影响,探讨破骨细胞生成、分化及功能的机制,寻找真正的特异性靶基因及靶分子尤为关键。然而,关于共同分子的调节以确保破骨细胞形成所需的特定信号转导方式尚不清楚。因此,通过对 RANK 信号通路机制的探讨, TRAF6、ITAM、 Ca^{2+} 以及 NFATc1 等作为调控破骨细胞分化与成熟的潜在新靶点,将为今后骨科相关疾病的诊治和药物研发提供新的选择。

【参考文献】

- [1] Reppe S, Datta HK, Gautvik KM. Omics analysis of human bone to identify genes and molecular networks regulating skeletal remodeling in health and disease[J]. Bone, 2017, 101:88-95.
- [2] 刘连勇, 郑胜喜, 甄燕, 等. 原发性骨质疏松症的骨骼免疫机制研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(7): 912-917.
- [3] Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development[J]. Genes Dev, 1999, 13(18):2412-2424.
- [4] Martin TJ, Sims NA. RANKL/OPG; Critical role in bone physiology[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2015, 16(2): 131-139.
- [5] Jules J, Wang S, Shi Z, et al. The IVVY Motif and Tumor Necrosis Factor Receptor-associated Factor (TRAF) Sites in the Cytoplasmic Domain of the Receptor Activator of Nuclear Factor κB (RANK) Cooperate to Induce Osteoclastogenesis[J]. J Biol Chem, 2015, 290(39):23738-23750.
- [6] Tan EM, Li L, Indran IR, et al. TRAF6 mediates suppression of osteoclastogenesis and prevention of ovariectomy-induced bone loss by a novel prenylflavonoid[J]. J Bone Miner Res, 2017, 32(4):846-860.
- [7] Song F, Zhou L, Zhao J, et al. Eriodictyol inhibits RANKL-induced osteoclast formation and function via inhibition of NFATc1 activity[J]. J Cell Physiol, 2016, 231(9):1983-1993.
- [8] Lomaga MA, Yeh WC, Sarosi I, et al. TRAF6 deficiency results in osteopetrosis and defective interleukin-1, CD40, and LPS signaling[J]. Genes Dev, 1999, 13(8):1015-1024.
- [9] Swarnkar G, Chen TH, Arra M, et al. NUMBL interacts with TAK1, TRAF6 and NEMO to negatively regulate NF- κB signaling during osteoclastogenesis[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):12600.

- [10] Moon G, Kim J, Min Y, et al. Phosphoinositide-dependent kinase-1 inhibits TRAF6 ubiquitination by interrupting the formation of TAK1-TAB2 complex in TLR4 signaling[J]. *Cell Signal*, 2015, 27(12):2524-2533.
- [11] Weng T, Koh CG. POPX2 phosphatase regulates apoptosis through the TAK1-IKK-NF- κ B pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(9):e3051.
- [12] Franzoso G, Carlson L, Xing L, et al. Requirement for NF- κ B in osteoclast and B-cell development[J]. *Genes Dev*, 1997, 11(24):3482-3496.
- [13] Caputto BL, Cardozo Gizzi AM, Gil GA. c-Fos: an AP-1 transcription factor with an additional cytoplasmic, non-genomic lipid synthesis activation capacity[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1841(9):1241-1246.
- [14] 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(4):475-484.
- [15] 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, 22(10):1336-1340.
- [16] Lin J, Lee D, Choi Y, et al. The scaffold protein RACK1 mediates the RANKL-dependent activation of p38 MAPK in osteoclast precursors[J]. *Sci Signal*, 2015, 8(379):ra54.
- [17] Jeong E, Choi HK, Park JH, et al. STAC2 negatively regulates osteoclast formation by targeting the RANK signaling complex[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(8):1364-1374.
- [18] Lee NK, Choi YG, Baik JY, et al. A crucial role for reactive oxygen species in RANKL-induced osteoclast differentiation[J]. *Blood* 2005, 106(3):852-859.
- [19] Li S, Miller CH, Giannopoulou E, et al. RBP-J imposes a requirement for ITAM-mediated costimulation of osteoclastogenesis[J]. *J Clin Invest* 2014, 124(11):5057-5073.
- [20] Aliprantis AO, Ueki Y, Sulyanto R, et al. NFATc1 in mice represses osteoprotegerin during osteoclastogenesis and dissociates systemic osteopenia from inflammation in cherubism[J]. *J Clin Invest* 2008, 118(11):3775-3789.
- [21] Baur J, Otto C, Steger U, et al. The transcription factor NFATc1 supports the rejection of heterotopic heart allografts[J]. *Front Immunol*, 2018, 9:1338.
- [22] Humphrey MB, Daws MR, Spusta SC, et al. TREM2, a DAPI2-associated receptor, regulates osteoclast differentiation and function[J]. *J Bone Miner Res*, 2006, 21(2):237-245.
- [23] Shinohara M, Koga T, Okamoto K, et al. Tyrosine kinases Btk and Tec regulate osteoclast differentiation by linking RANK and ITAM signals[J]. *Cell* 2008, 132(5):794-806.
- [24] Choi HK, Kang HR, Jung E, et al. Early estrogen-induced gene 1, a novel RANK signaling component, is essential for osteoclastogenesis[J]. *Cell Res*, 2013, 23(4):524-536.
- [25] Baek JM, Kim JY, Lee CH, et al. Methyl gallate inhibits osteoclast formation and function by suppressing Akt and Btk-PLC γ 2-Ca²⁺ signaling and prevents lipopolysaccharide-induced bone loss[J]. *Int J Mol Sci* 2017, 18(3):E581.
- [26] Wu M, Chen W, Lu Y, et al. G α 13 negatively controls osteoclastogenesis through inhibition of the Akt-GSK3 β -NFATc1 signalling pathway[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:13700.
- [27] 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(45):39043-39050.
- [28] Shin J, Jang H, Lin J, et al. PKC β positively regulates RANKL-induced osteoclastogenesis by inactivating GSK-3 β [J]. *Mol Cells*, 2014, 37(10):747-752.
- [29] Kim K, Kim JH, Lee J, et al. MafB negatively regulates RANKL-mediated osteoclast differentiation[J]. *Blood*, 2007, 109(8):3253-3259.
- [30] Miyauchi Y, Ninomiya K, Miyamoto H, et al. The Blimp1-Bcl6 axis is critical to regulate osteoclast differentiation and bone homeostasis[J]. *J Exp Med*, 2010, 207(4):751-762.
- [31] Saito E, Suzuki D, Kurotaki D, et al. Down-regulation of Irf8 by Iyz2-cre/loxP accelerates osteoclast differentiation in vitro[J]. *Cytotechnology*, 2017, 69(3):443-450.
- [32] Park SJ, Huh JE, Shin J, et al. Sirt6 cooperates with Blimp1 to positively regulate osteoclast differentiation[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:26186.
- [33] Miyauchi Y, Ninomiya K, Miyamoto H, et al. The Blimp1-Bcl6 axis is critical to regulate osteoclast differentiation and bone homeostasis[J]. *J Exp Med* 2010, 207(4):751-762.
- [34] Chiu YH, Ritchlin CT. DC-STAMP: a key regulator in osteoclast differentiation[J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(11):2402-2407.
- [35] Kim T, Ha H, Kim N, et al. ATP6v0d2 deficiency increases bone mass, but does not influence ovariectomy-induced bone loss[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 403(1):73-78.
- [36] Izawa T, Zou W, Chappel JC, et al. c-Src links a RANK/ α v β 3 integrin complex to the osteoclast cytoskeleton [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(14):2943-2953.
- [37] Kim H, Choi HK, Shin JH, et al. Selective inhibition of RANK blocks osteoclast maturation and function and prevents bone loss in mice[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(4):813-825.

(收稿日期: 2018-08-07;修回日期: 2018-09-03)