

· 论 著 ·

# 骨质疏松小鼠模型骨髓间充质干细胞特性的研究

汤贤春 涂雪芹 张天霞 李姣\*

遵义医科大学细胞生物学教研室, 贵州 遵义 563000

中图分类号: Q25 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 12-1669-07

**摘要:** **目的** 探讨骨质疏松小鼠模型骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)生物学特性的改变。**方法** 通过皮下注射地塞米松构建小鼠骨质疏松动物模型(OP组),同时设立对照(NC组),分离OP组及NC组骨髓MSCs进行体外培养;通过流式细胞术检测细胞表面分化抗原;运用CKK-8实验检测细胞增殖活力;通过脱氧核苷酸末端转移酶介导的dUTP缺口末端标记法(TUNEL)检测细胞凋亡水平;运用碱性磷酸酶(ALP)活性检测、油红O染色及Western blot法检测两组细胞成骨分化及脂肪分化能力。**结果** 经过骨组织学检测证明模型建立成功,体外培养OP组及NC组骨髓MSCs细胞形态无差异。OP-MSCs细胞表面分化抗原Scal1及CD44为阳性,CD34及CD11b为阴性,与NC-MSCs相似,但OP-MSCs增殖活力下降( $P < 0.05$ );此外两组细胞凋亡水平类似( $P > 0.05$ )。成骨分化诱导7d后OP-MSCs的ALP活性显著低于对照组( $P < 0.01$ ),21d后矿化小结明显减少( $P < 0.001$ );脂肪分化诱导8d后OP-MSCs形成更多脂滴( $P < 0.05$ )。Western blot结果显示OP-MSCs在成骨分化中低表达转录因子Runx2( $P < 0.05$ )及Osterix( $P < 0.001$ ),但在脂肪分化早期高表达PPAR $\gamma$ ( $P < 0.001$ )及C/EBP $\alpha$ ( $P < 0.01$ )。**结论** 骨质疏松小鼠骨髓MSCs的增殖及分化潜能显著下降。

**关键词:** 骨质疏松;间充质干细胞;细胞增殖;细胞分化

## Research of biological properties of MSCs from osteoporotic mouse model

TANG Xianchun, TU Xueqin, ZHANG Tianxia, LI Jiao\*

Department of Cell Biology, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

\* Corresponding author: LI Jiao, Email: owlj@163.com

**Abstract:** **Objective** This work discussed the changes of biological characters of mesenchymal stem cells (MSCs) in a osteoporotic mouse model. **Methods** Osteoporotic mouse model (OP group) and negative control (NC group) were established by subcutaneous dexamethasone (Dex) and saline injection, respectively. MSCs isolated from bone marrow of both groups were cultured in vitro. Flow cytometry was used to detect cell surface markers. The proliferation rate of MSCs was detected by CKK-8 assay. Cell apoptosis was detected by TUNEL assay. ALP activity assay, oil red O staining and western blot assay were used to detect the osteogenic and adipogenic properties of MSCs from both groups. **Results** Bone morphologic analysis showed that osteoporotic models had been successfully established. No difference was observed in cell morphology of MSCs isolated from bone marrow of OP and NC groups. Like NC-MSCs, OP-MSCs were Scal1 and CD44 positive, but lowly expressed CD34 and CD11b. The proliferation rate of OP-MSCs was significantly lower than NC-MSCs ( $P < 0.05$ ). However, no significant difference was noted in the apoptosis rate of MSCs from both OP and NC groups ( $P > 0.05$ ). We further found that OP-MSCs had much lower ALP activity ( $P < 0.01$ ), and formed much less mineralized nodules during osteoblastic differentiation ( $P < 0.001$ ). However, more lipid droplets were noticed in OP-MSCs during adipocytic differentiation ( $P < 0.05$ ). The Western blot result showed that osteoblastic transcription factors Runx2 ( $P < 0.05$ ) and Osterix ( $P < 0.001$ ) were lowly expressed in OP-MSCs during osteoblast differentiation. However, the expression levels of PPAR $\gamma$  ( $P < 0.001$ ) and C/EBP $\alpha$  ( $P < 0.01$ ) were significantly higher in OP-MSCs during adipocyte differentiation. **Conclusion** The proliferation and differentiation properties of osteoporotic MSCs were significantly down-regulated.

基金项目: 国家自然科学基金(81660376);贵州省教育厅青年科技人才成长项目[黔教合KY字(2016)194];遵义医学院大学生创新训练计划项目[遵义科院(2015)3116,遵义科院20162302]

\* 通信作者: 李姣, Email: owlj@163.com

**Key words:** osteoporosis; mesenchymal stem cell; cell proliferation; cell differentiation

随着人口老龄化程度的加剧,骨质疏松症的发病率逐年上升,目前尚无有效的治疗方法<sup>[1]</sup>。该病因复杂,衰老、雌激素水平下降、糖皮质激素类药物的使用以及生物应力<sup>[2-4]</sup>下降都能导致骨质疏松。虽然各类骨质疏松的发病机理不同,但都表现为骨重建平衡的破坏,即骨形成减少,而骨吸收增加<sup>[5-6]</sup>。因此促进新骨形成以补充丢失的骨组织是从根本上治疗此类疾病的关键。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)分化形成成骨细胞并进一步形成骨组织,是机体内骨组织更新的唯一途径。导致骨质疏松的许多因素都能抑制成骨细胞的分化,因而 MSCs 向成骨细胞的分化调控成为骨质疏松领域的研究热点<sup>[7-8]</sup>。

干细胞的生物学特性会受到其周围微环境的精确调控<sup>[9]</sup>。骨质疏松患者的骨髓微环境受到严重的影响<sup>[10]</sup>,极有可能影响了 MSCs 的生物学特性,导致其难以分化为成骨细胞。然而相关研究却未见报道。本研究以地塞米松(dexamethasone, Dex)诱导的骨质疏松小鼠为模型,分离其 MSCs 来系统研究其增殖、迁移、分化、凋亡等生物学特性,并通过与正常 MSCs 的比较,探讨骨质疏松 MSCs 生物学特性的改变及其对新骨形成的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及材料

SPF 级 C57BL6/J 小鼠(雄性 18 只,4~6 周龄,体重 20~25 g)购自上海斯莱克实验动物有限公司[许可证号 SYXK(沪)2013-0062]。DMEM 高糖培养基、胎牛血清(FBS)、胰蛋白酶均购自 Hyclone 公司;荧光标记抗 CD34、CD44、Scal1 及 CD11b 抗体购自 BD Pharmingen 公司;Dex、抗坏血酸、 $\beta$ -磷酸甘油、胰岛素、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、茜素红、油红 O 均购自 Sigma 公司;TUNEL 染色试剂盒、碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒、CKK-8 检测试剂盒均购自碧云天公司;抗 Runx2 抗体、抗 Osterix 抗体、抗 C/EBP $\alpha$  抗体购自 Abcam 公司;抗 PPAR $\gamma$  抗体购自 Cell Signal Technology 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物模型建立:**小鼠适应性培养 1 周后随机分为两组:骨质疏松模型组(OP 组)及对照组(NC 组),每组 6 只。OP 组小鼠按 50 mg/kg 体质量皮下注射 Dex,每天 1 次,持续 5 周。NC 组小鼠注射同

等剂量生理盐水。

**1.2.2 骨组织学检测:**采用腹腔注射水合氯醛(5%,注射剂量 0.25 mL/g)麻醉小鼠后,将其四肢展开于双能 X 线吸收测量仪(Lunar 公司)平台上,通过小动物软件测定系统测定各组小鼠胫骨近心端骨密度(bone mineral density, BMD)。将小鼠处死后剥离股骨,用 4%多聚甲醛固定,经脱钙、脱水后常规石蜡包埋,做 5  $\mu$ m 连续切片。骨组织切片经苏木素-伊红(H&E)染色后观察骨组织形态。

**1.2.3 MSCs 分离培养:**将小鼠处死后于无菌环境下分离其双侧股骨、胫骨,分别剪去骨髓两端,用 5 mL 无菌注射器吸取 DMEM 高糖培养基冲出骨髓,离心收集,裂解红细胞后接种于含有 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养。3 d 后换液除去未贴壁细胞,贴壁细胞传代 3 次后用于实验。

**1.2.4 流式细胞术:**各组第 4 代 MSCs 长至 85%汇合度时,消化收集,将细胞用培养液稀释至  $5 \times 10^5$  个/mL,并分装于 EP 管中,每管 0.5 mL。按说明书每管分别加入荧光标记抗 CD34、CD44、Scal1 及 CD11b 抗体,室温避光孵育 1 h, PBS 洗 3 次后将细胞重悬于 200  $\mu$ L PBS 中,运用流式细胞仪 Cytomics FC 500(Beckman Coulter 公司)分析。每份样本分析  $1 \times 10^4$  个细胞,用软件 Flow Jo Ver.10 计算阳性细胞百分比。

**1.2.5 细胞增殖测定:**细胞增殖测定采用 CKK-8 法。取第 4 代 MSCs 接种于 96 孔板(每孔 5 000 个细胞),设 5 个复孔。细胞贴壁培养 12 h 后计时为 0,继续培养 6、12、24、48 h。每孔加入 CKK-8 试剂,培养箱中反应 2 h 后,在分光光度计上检测对应细胞孔 450 nm 波长处的吸光度(D)值,并根据培养时间和吸光度值绘制细胞增殖曲线。

**1.2.6 细胞凋亡测定:**培养第 4 代 MSCs 以  $1 \times 10^4$  个/mL 的密度接种制作细胞爬片,设定 3 个重复。贴壁培养 24 h 后细胞经 4%多聚甲醛固定,按照试剂盒说明书进行 TUNEL 染色,再用 Hoechst33258 染色液处理 10 min 对细胞核进行染色, PBS 洗 3 次后用抗荧光猝灭封片液进行封片,荧光显微镜下观察并随机选取 3 个视野对凋亡细胞进行计数。

**1.2.7 细胞分化诱导:**成骨细胞分化诱导:细胞以  $1 \times 10^4$  个/mL 的密度接种 6 孔板,贴壁培养 12 h 后更换培养液为成骨诱导液(DMEM 高糖培养基含

10% FBS、50  $\mu\text{mol/L}$  抗坏血酸、10  $\text{mmol/L}$   $\beta$ -磷酸甘油和 0.1  $\mu\text{mol/L}$  地塞米松),连续培养 21 d,每 3 天更换一次成骨诱导液。脂肪细胞分化诱导:细胞以  $1 \times 10^5$  个/mL 的密度接种 6 孔板,贴壁培养 12 h 后更换培养液成脂诱导液(DMEM 高糖培养基含 10  $\mu\text{g/mL}$  胰岛素、10% FBS, 0.5  $\text{mmol/L}$  3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、10  $\mu\text{mol/L}$  地塞米松),连续培养 8 d,每 3 天更换一次诱导液。

**1.2.8 Western blot:**细胞收集后用含 10% PMSF 的 RIPA 裂解液冰上裂解 30 min,收集上清总蛋白。BCA 试剂盒测定蛋白浓度。各组取 50  $\mu\text{g}$  蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,转印至 PVDF 膜上,5% 牛血清白蛋白(BSA)室温封闭 1 h 后,分别加入一抗:Runx2、Osterix、C/EBP $\alpha$ 、PPAR $\gamma$  以及内参  $\beta$ -actin (1:10 000 稀释),4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。次日洗膜 3 次后加入二抗(1:10 000 稀释)室温孵育 2 h,洗膜 3 次后采用辣根过氧化物酶标记的增强性化学发光法显色,X 胶片感光。

**1.2.9 碱性磷酸酶(ALP)活性检测:**ALP 活性采用试剂盒进行检测。消化收集成骨分化诱导 7 d 后的细胞,裂解后收集上清。每组样品取 50  $\mu\text{L}$  加入 96 孔板中,设定 3 个复孔,加入缓冲液及显色底物,37  $^{\circ}\text{C}$  显色反应 30 min 后终止反应,分光光度计上 405 nm 波长处测定吸光度值,通过与对照组样品吸光度的比值判断实验组样品 ALP 活性改变情况。

**1.2.10 茜素红染色:**细胞用 70% 的冰预冷乙醇固定 1 h,超纯水漂洗 3 次后以 40  $\text{mmol/L}$  茜素红染色液染色 15 min,漂洗后显微镜下观察。

**1.2.11 油红 O 染色:**用加入 3.7% 的中性甲醛固定细胞 10 min,0.5% 油红 O 染色 1 h,70% 乙醇漂洗多余染色液后显微镜观察。

### 1.3 统计学处理

采用 ImageJ 1.8.0 软件进行图像定量分析,数据以 SPSS 17.0 进行统计学分析,以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 Student's *t* 检验比较组间差异。检验水准( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 骨质疏松小鼠模型建立及检测

OP 组小鼠连续注射 Dex 5 周后,经检测发现 OP 组小鼠 BMD 低于 NC 组(表 1)。分别取两组小鼠股骨做骨组织切片,HE 染色后观察发现与 NC 组小鼠相比,OP 组小鼠骨小梁数目减少,小梁间间隙

扩大,骨髓脂肪组织增加(图 1 A)。骨计量学参数统计发现 OP 组小鼠骨小梁平均厚度(Tb.Th)、骨小梁面积百分比(Tb.A)以及骨小梁数目均明显低于生理盐水组对照(Tb.N),且差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。说明成功建立骨质疏松小鼠模型。分别从 OP 组及 NC 组小鼠的骨髓中分离 MSCs 进行体外培养,3 代后发现两组细胞均贴壁生长,呈长梭形,且两组细胞形态无明显差异(图 1 B)。

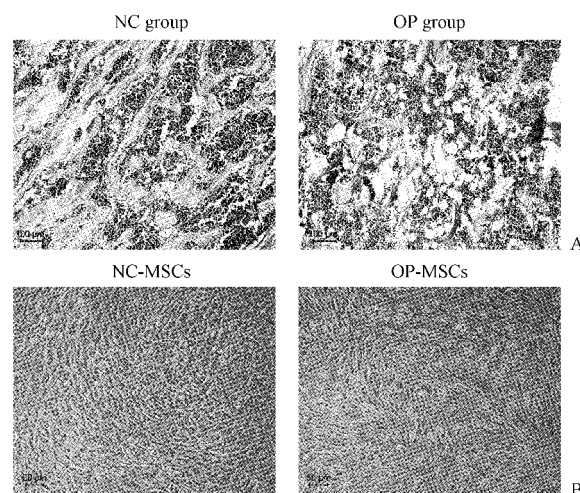


图 1 两组小鼠骨组织形态及骨髓 MSCs 细胞形态  
A:骨组织学形态;B:骨髓 MSCs 细胞形态。

**Fig.1** Bone morphology and cell morphology of bone marrow MSCs of mice in both groups

A: Bone morphology; B: Cell morphology of bone marrow MSCs.

表 1 两组小鼠骨计量学参数比较( $\bar{x} \pm s$ )

**Table 1** Comparison of bone histomorphometrical parameters of mice in both groups ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别 | BMD/<br>( $\text{mg}/\text{cm}^{-3}$ ) | Tb.Th/mm           | Tb.A/%            | Tb.N/ $\text{mm}^{-1}$ |
|----|----------------------------------------|--------------------|-------------------|------------------------|
| NC | 326.47 $\pm$ 12.48                     | 0.061 $\pm$ 0.005  | 48.31 $\pm$ 2.67  | 6.23 $\pm$ 0.59        |
| OP | 261.31 $\pm$ 9.57*                     | 0.048 $\pm$ 0.003* | 26.14 $\pm$ 1.79* | 4.17 $\pm$ 0.22*       |

注:与 NC 组相比,\* $P < 0.05$ 。

### 2.2 OP-MSCs 的干细胞表面分化抗原表达水平检测

两组小鼠 MSCs 传代 4 次后以流式细胞术鉴定干细胞表面分化抗原的表达情况。结果发现,NC-MSCs 细胞表面高表达干细胞表面阳性抗原 CD44 及 Scar1,而阴性抗原 CD11b 及 CD34 表达量都很低。OP-MSCs 细胞表面分化抗原表达情况与 CN-BMSCs 类似。见图 2。

### 2.3 OP-BMSCs 的增殖能力检测

采用 CKK-8 法检测 OP-MSCs 的增殖能力。结

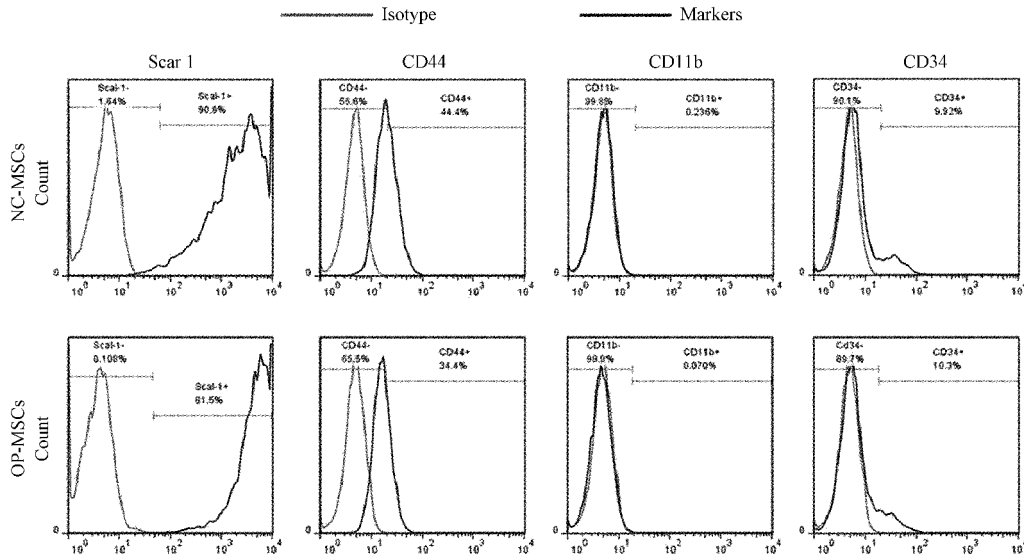


图2 NC-MSCs及OP-MSCs细胞表面分化抗原

Fig.2 Cell surface markers of NC- and OP-MSCs detected

果显示,在贴壁后6~48 h的生长过程中,OP-MSCs的活细胞数量明显低于NC-MSCs组,以吸光度值和检测时间点绘制的增殖曲线显示OP-MSCs的增殖活性降低,且差异具有统计学意义(图3)。

#### 2.4 OP-MSCs的凋亡水平检测

以脱氧核苷酸末端转移酶介导的dUTP缺口末端标记法(TUNEL)检测两组细胞的凋亡水平。荧光显微镜下观察发现NC-MSCs组细胞凋亡数量较少,而OP-MSCs组细胞凋亡水平与NC-MSCs类似。统计发现两组细胞凋亡数量差异并无统计学意义。见图4。

#### 2.5 OP-MSCs的多向分化能力检测

对两组细胞分别进行成骨和成脂肪分化诱导。结果显示,在成骨分化诱导7 d后,OP-MSCs细胞内碱性磷酸酶(ALP)活性低于NC-MSCs(图5A)。在

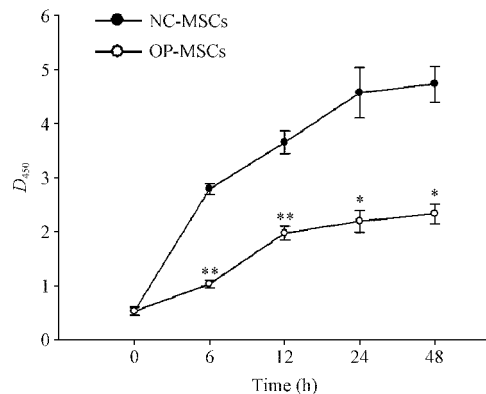
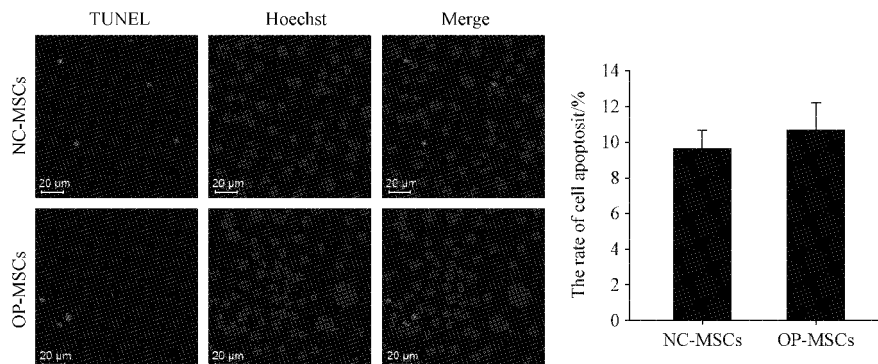
图3 NC-MSCs及OP-MSCs的细胞增殖能力(与NC-MSCs组相比,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ )Fig.3 Cell proliferation rate of both NC- and OP-MSCs (vs NC-MSCs, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ )

图4 NC-MSCs及OP-MSCs细胞凋亡水平

Fig.4 Cell apoptosis of NC- and OP-MSCs

成骨分化诱导 21 d 后,茜素红染色发现 NC-MSCs 形成大量矿化小结,说明已分化为成骨细胞,而 OP-MSCs 矿化小结明显减少(图 5B)。成脂肪分化诱导过程中 OP-MSCs 更容易形成脂滴,油红 O 阳性细胞

比 NC-MSCs 多(图 5D)。定量分析发现两组细胞茜素红染色和油红 O 染色的差异均具有统计学意义(图 5C、5E)。

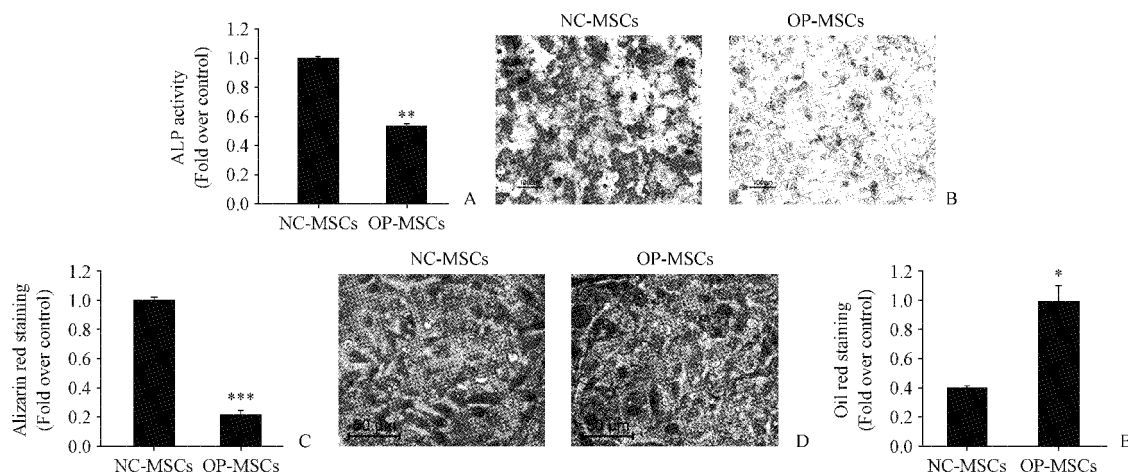


图 5 两组细胞成骨分化及脂肪分化能力比较(\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ )

Fig.5 Osteoblastic and adipocytic differentiation properties of both MSC groups(\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ )

## 2.6 OP-MSCs 中成骨细胞及脂肪细胞转录因子的表达水平

MSCs 分化为不同的细胞系由相关转录因子驱动。因此本研究在诱导两组 MSCs 向成骨细胞及脂肪细胞分化的过程中以 Western blot 分别检测相关转录因子的表达水平。结果显示,在成骨分化过程中成骨细胞转录因子 Osterix 及 Runx2 在 NC-MSCs 均呈现高表达状态,但在 OP-MSCs 中的表达量却很低。而成脂肪分化过程,脂肪细胞转录因子 PPAR $\gamma$  及 C/EBP $\alpha$  在 OP-MSCs 中的表达水平均高于 NC-MSCs,且表达差异均具有统计学意义。见图 6。

## 3 讨论

从干细胞角度出发,促进患者自身骨髓 MSCs 对骨组织进行修复被认为是临床上有效治疗骨质疏松的方法之一<sup>[7-8]</sup>。然而骨质疏松患者骨髓微环境被改变,炎症因子含量增高,氧化应激增加<sup>[10]</sup>。在此种病理微环境下 MSCs 的生物学活性极有可能受到影响,从而抑制其向成骨细胞的分化以及对骨组织的修复。前期研究<sup>[11]</sup>发现来自骨质疏松模型动物的 OP-MSCs 在正常成骨环境中也难以分化为成骨细胞,说明长期处于病理骨髓微环境下 MSCs 已发生改变。本研究通过检测 MSCs 表面分化抗原、细胞增殖、凋亡以及多向分化等多种生物学指标,以期系统探究长期处于病理微环境下 MSCs 生物学特

性的改变。

本研究首先以过量糖皮质激素来诱发小鼠的骨质疏松病理表型。各种骨组织计量学参数检测统计的结果证明模型建立成功。分离培养的 OP 组 MSCs 在形态上与正常的 NC 组小鼠 MSCs 并无明显差异。进一步对比两组细胞表面分化抗原的表达情况,发现对于被测抗原两组 MSCs 表达类似,而且表达水平也无明显差异。这些结果说明两组 MSCs 具有相似的表型,而病理骨髓微环境并不会改变 MSCs 的表型。

增殖能力及分化潜能是干细胞的两大特性。有研究<sup>[12-13]</sup>证实来自骨质疏松患者的 MSCs 在体外增殖能力下降。本研究也发现 OP-MSCs 的增殖活性明显降低,在贴壁后 6 h 内其增殖的细胞数就显著低于正常的 NC-MSCs。此后在检测的 48 h 内都保持低水平增长。由于对增殖的检测采用的是 CKK-8 实验,而 CKK-8 主要检测活细胞数量。因此 OP-MSCs 组吸光度值低同样可能是由于凋亡细胞数增多导致。为验证此可能性,笔者进一步检测了两组细胞在体外培养过程中的凋亡水平。TUNEL 实验发现 OP-MSCs 的凋亡程度与 NC-MSCs 相似,并未表现出凋亡水平增加。这些结果不仅证实 CKK-8 实验检测的结果是细胞增殖数目增加所致,即长期处于病理微环境下 MSCs 增殖能力下降,而且说明此病理微环境中的 MSCs 在体外正常培养中并不会

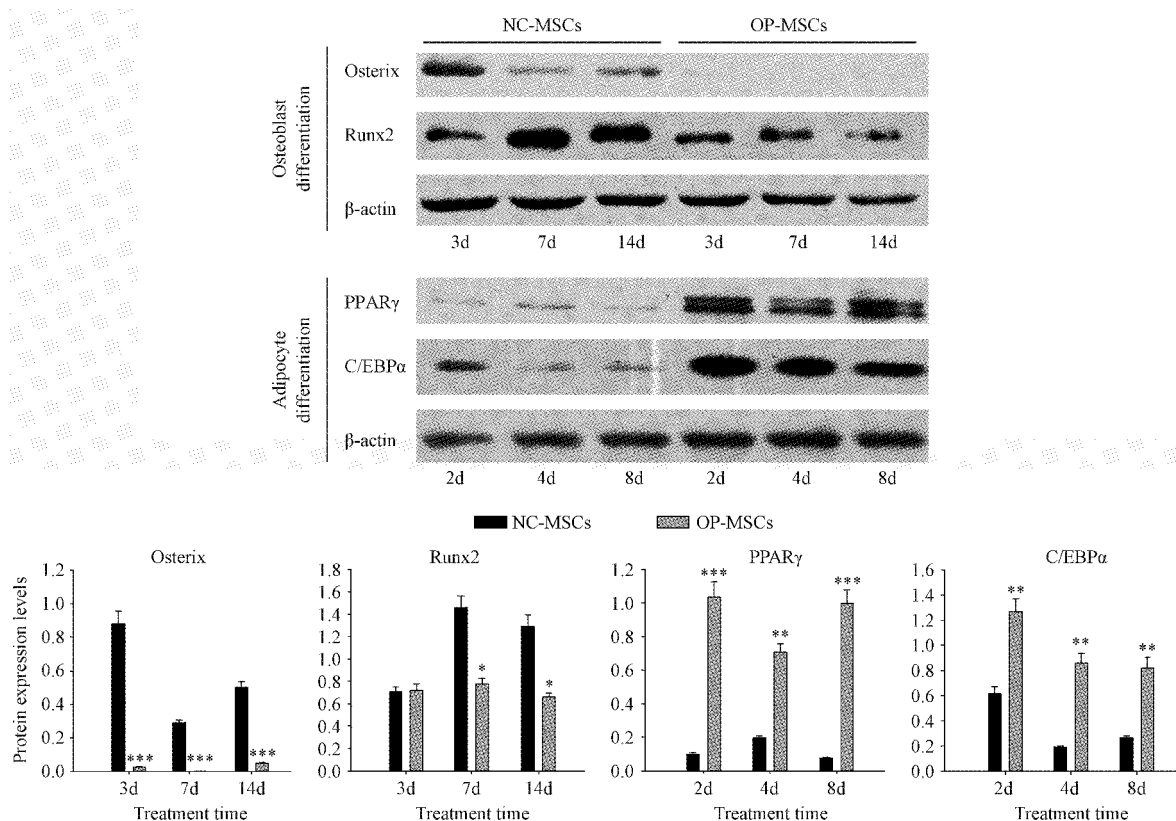


图 6 两组细胞成骨分化及脂肪分化中转录因子表达水平 (\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ )

**Fig.6** The expression levels of transcription factors during osteoblastic and adipocytic differentiation of both MSC groups (\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ )

发生细胞过度凋亡。

MSCs 具有多向分化潜能,在适当诱导条件下能分化为多种中胚层细胞表型。其中向成骨细胞及脂肪细胞的分化过程中存在一种相互制约的平衡关系<sup>[14-15]</sup>。前期研究<sup>[8]</sup>发现在成骨环境下 OP-MSCs 仍然能分化为脂肪细胞,说明 OP-MSCs 的分化潜能被改变。本研究进一步比较了 OP-MSCs 与 NC-MSCs 向成骨细胞及脂肪细胞的分化能力。结果发现,在相同的诱导条件下,OP-MSCs 难以分化为成骨细胞,却更易分化为脂肪细胞,说明长期处于骨质疏松病理微环境下的 MSCs 表型虽未发生改变,但分化潜能已与正常 MSCs 有所差别,而这可能是导致骨质疏松症的原因之一。

MSCs 向子代细胞的分化是由少数几个转录因子驱动相关基因表达而启动的<sup>[16-18]</sup>。Western blot 结果证实成骨诱导过程中成骨细胞特异性转录因子 Runx2 及 Osterix 在 OP-MSCs 中呈现持续低水平表达。相反在成脂肪诱导早期 OP-MSCs 中就开始高表达 C/EBP $\alpha$  及 PPAR $\gamma$ 。这些转录因子异常表达极有可能是 OP-MSCs 分化潜能改变的原因。而其

中的分子机制仍有待更深入的研究。

综上,本研究发现长期处于病理微环境下 MSCs 的形态及表面分化抗原并未发生改变,即仍具有 MSCs 正常表型。但其增殖能力及多向分化潜能都与正常 MSCs 有明显差异。本研究结果说明骨质疏松病理微环境对患者 MSCs 生物学特性有一定的影响,在临床上通过促进自身 MSCs 增殖并分化为成骨细胞来修复骨组织时应考虑到病理微环境的影响以及 MSCs 生物学特性的改变。

#### 【参 考 文 献】

- [1] Manolagas SC. The quest of osteoporosis mechanisms and rational therapies: how far we've come, how much further we need to go [J]. J Bone Miner Res, 2018, 33(3): 371-385.
- [2] 林源,陶天遵,陶树清,等.衰老骨髓间充质干细胞中端粒缩短与成骨能力下降相关性研究[J].中国骨质疏松杂志, 2018,24(10):1317-1323.
- [3] 赵常红,李世昌,孙彭,等.运动力学次级对骨质量影响的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(6):820-825.
- [4] 惠亚玲,何勇,郭丽.大鼠卵巢去势后颌骨和股骨骨髓基质干细胞性能观察[J].中国骨质疏松杂志,2017,23(5):570-573,590.

- [ 5 ] Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling[J]. Ann N Y Acad Sci, 2006, 1092: 385-396.
- [ 6 ] Xiao W, Li S, Pacios S, et al. Bone remodeling under pathological conditions[J]. Front Oral Biol, 2016, 18: 17-27.
- [ 7 ] Shao J, Zhang W, Yang T. Using mesenchymal stem cells as a therapy for bone regeneration and repairing[J]. Biol Res, 2015, 48(1): 62-69.
- [ 8 ] Clines GA. Prospects for osteoprogenitor stem cells in fracture repair and osteoporosis[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2010, 15(1): 73-78.
- [ 9 ] Kuhn NZ, Tuan RS. Regulation of stemness and stem cell niche of mesenchymal stem cells: implications in tumorigenesis and metastasis[J]. J Cell Physiol, 2010, 222(2): 268-277.
- [ 10 ] Li J, Liu X, Zuo B, et al. The role of bone marrow microenvironment in governing the balance between osteoblastogenesis and adipogenesis[J]. Aging Dis, 2016, 7(4): 514-525.
- [ 11 ] Li J, Zhang N, Huang X, et al. Dexamethasone shifts bone marrow stromal cells from osteoblasts to adipocytes by C/EBPalpha promoter methylation[J]. Cell Death Dis, 2013, 4(10): e832.
- [ 12 ] Veronesi F, Torricelli P, Borsari V, et al. Mesenchymal stem cells in the aging and osteoporotic population[J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2011, 21(4): 363-377.
- [ 13 ] Rodríguez JP, Ríos S, Fernández M, et al. Differential activation of ERK1,2 MAP kinase signaling pathway in mesenchymal stem cell from control and osteoporotic postmenopausal women[J]. J Cell Biochem, 2004, 92(4): 745-754.
- [ 14 ] Muruganandan S, Roman AA, Sinal CJ. Adipocyte differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells: cross talk with the osteoblastogenic program[J]. Cell Mol Life Sci, 2009, 66(2): 236-253.
- [ 15 ] Abdallah BM, Kassem M. New factors controlling the balance between osteoblastogenesis and adipogenesis[J]. Bone, 2012, 50(2): 540-545.
- [ 16 ] Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. Osterix/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation[J]. Cell, 1997, 89(5): 747-754.
- [ 17 ] Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, et al. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation[J]. Cell, 2002, 108(1): 17-29.
- [ 18 ] Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P et al. Transcriptional regulation of adipogenesis[J]. Genes Dev, 2000, 14(11): 1293-1307.

(收稿日期: 2018-10-23;修回日期: 2019-01-07)