

· 论 著 ·

芝麻素通过 Wnt/ β -catenin 通路调控大鼠骨髓间充质干细胞成骨细胞分化预防骨质疏松的作用研究

马忠平 杨云* 张志峰 叶楠 杨毅峰

内蒙古医科大学第二附属医院关节外科, 内蒙古 呼和浩特 010030

中图分类号: R-332 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 01-0050-06

摘要: **目的** 探讨在体外环境下芝麻素对小鼠骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的影响。**方法** 从大鼠股骨中提取骨髓间充质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs), 诱导其向成骨细胞分化。使用 FH535 (1 μ mol/L) 沉默 Wnt/ β -catenin 信号通路, 建立沉默组, 同时建立非沉默组。两组同时给予芝麻素 (0、1 或 10 μ mol/L) 干预, 检测细胞增殖/毒性, 同时检查碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、成骨相关转录因子抗体(osterix, OSX)、SRY-box 9(SOX9)、Runt 相关转录因子 2(recombinant runt related transcription factor 2, RUNX2)、骨钙素(osteocalcin, OCN)、b-连环蛋白(β -catenin)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 5(low density lipoprotein receptor-related protein 5, LRP5)以及糖原合成酶激酶-3b(glycogen synthase kinase-3b, gsk-3b)的表达水平。**结果** 芝麻素对 BMSCs 的增殖无明显影响, 且无细胞毒性作用。较高浓度的芝麻素诱导 Wnt/ β -catenin 信号通路, 增加 ALP、OSX、SOX9、RUNX2 和 OCN 的表达($P < 0.05$)。沉默 Wnt/ β -catenin 后, RUNX2 和 OCN 表达减弱。**结论** 芝麻素有通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的趋势, 对重塑大鼠骨结构有一定影响。芝麻素对骨质疏松有治疗和预防作用。

关键词: 骨髓间充质干细胞; 成骨细胞; 芝麻素; Wnt 信号通路; 骨质疏松; 大鼠

Sesamin regulates the differentiation of osteoblasts by rat bone marrow mesenchymal stem cells through Wnt/ β -catenin pathway to prevent osteoporosis

MA Zhongping, YANG Yun*, ZHANG Zhifeng, YE Nan, YANG Yifeng

Department of Orthopaedics, the Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, China

* Corresponding author: YANG Yun, Email: 596224315@qq.com

Abstract: **Objective** To investigate the effect of sesamin on osteoblast differentiation in rat bone marrow stromal cells in vitro.

Methods Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) were extracted from rat femurs and induced to differentiate into osteoblasts. The Wnt/ β -catenin signal pathway was silenced by FH535 (1 μ mol/L). The silent group was established, and the non-silent group was established at the same time. Both groups were intervened with sesamin (0, 1 or 10 μ mol/L) at the same time. Cell proliferation/toxicity and alkaline phosphatase (ALP), osteoblast related transcription factor antibodies (OSX), SRY-box 9 (SOX9), Runt related transcription factor 2 (RUNX2), osteocalcin (OCN), β -catenin, low density lipoprotein receptor related protein 5 (LRP5), and glycogen synthase kinase 3b (Gsk-3b) were detected at the same time. **Results** Sesamin had no significant effect on the proliferation of BMSCs and had no cytotoxicity. Sesamin at higher concentration promoted the activity of Wnt/ β -catenin signaling pathway and increased the expression of ALP, OSX, SOX9, RUNX2, and OCN. After silencing Wnt/ β -catenin, the expression of RUNX2 and OCN decreased. **Conclusion** Sesamin has a tendency to promote rat bone marrow mesenchymal stem cells to differentiate into osteoblasts by activating Wnt/ β -catenin signal pathway, and has a certain effect on the remodeling of bone structure in rats. Sesamin has therapeutic and preventive effects on osteoporosis.

Key words: bone marrow mesenchymal stem cells; osteoblasts; sesamin; Wnt signaling pathway; osteoporosis; rat

骨质疏松被定义为以骨骼强度降低、骨折风险

增加为特征的一类骨骼疾病。骨质疏松通常伴有轻微症状或无症状, 是临床病理性骨折的常见原因, 也是影响人类健康的高危因素之一^[1]。相关研究报道, 世界范围内骨质疏松的发病率在超过 50 岁人群

* 通信作者: 杨云, Email: 596224315@qq.com

中为 15%, 在 80 岁以上的人群中为 70%^[2-3]。骨质疏松的发病率具有性别特异性: 与男性相比, 女性的发病率更高^[4], 2%~8% 的男性和 9%~38% 的女性受到来自骨质疏松的不同程度的影响^[5]。研究指出, 美国近 1 000 万人患有骨质疏松, 超过 1 800 万人骨量低^[6]。而据国际骨质疏松基金会预测, 至 2050 年将有超过 50% 的骨质疏松性骨折发生在东亚和东南亚^[7]。且由于绝经后雌激素水平降低对骨量的影响, 老年妇女中骨质疏松的发病率将快速且持续上升^[8]。

骨髓是人体的主要造血器官, 由骨髓造血干细胞、骨髓脂肪组织和基质细胞组成^[9]。成骨细胞由骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 分化而来, 在骨形成中具有重要作用。研究指出, 与正常人相比, 骨质疏松患者成骨分化低于正常, 由此可知成骨细胞分化水平与骨质疏松病理过程的发生、发展与演变密切相关^[10]。Wnt/ β -catenin 是常见信号转导通路, 参与控制条件多种生物现象^[11-12]。成骨细胞分化已被证实受 Wnt/ β -catenin 途径的调节^[13-15]。研究指出, 成骨细胞的分化过程中同时受到一系列蛋白调节, 如碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、成骨相关转录因子抗体 (osterix, OSX)、SRY-box 9 (SOX9)、Runt 相关转录因子 2 (recombinant runt related transcription factor 2, RUNX2)、骨钙素 (osteocalcin, OCN)^[12]。目前未见研究报道并探讨成骨细胞分化过程中 Wnt/ β -catenin 信号通路及相关调节蛋白的相互关系。

芝麻油常用于膳食中的营养补充^[16-17]。芝麻素是一种从花椒植物中分离而来的木脂素, 是芝麻油中的一种常见成分 (约含 0.25%)。天然芝麻素为右旋体, 芝麻素亦可人工化学合成。Orawan 等^[18]证实芝麻素可以通过激活 p38-ERK (extracellular signal-regulated kinases)/MAPK (mitogen-activated protein kinase) 细胞信号传导通路来促进人类胎儿成骨细胞增殖以及人类脂肪来源干细胞的成骨分化。由此可知, 芝麻素与成骨细胞分化密切相关, 在骨质疏松的预防和治疗中可能发挥重要作用, 然而, 芝麻油作用于 BMSCs 进而影响骨形成的具体机制尚不十分清楚, 其对骨质疏松的作用影响也鲜有研究。

本研究应用芝麻素干预大鼠股骨分离的 BMSCs, 在沉默 Wnt/ β -catenin 或不沉默 Wnt/ β -catenin 的情况下检测 BMSCs 的成骨分化, 进而分析芝麻素对骨质疏松的作用。

1 材料和方法

1.1 芝麻素制备

芝麻素 (S9314; Sigma-Aldrich LLC., USA) 使用二甲基亚砜 (DMSO; Sigma) 溶解为 14.22 mmol/L 的溶液, 并储存于 -20℃。

1.2 Wnt/ β -catenin 信号通路阻断剂制备

FH535 (Sigma) 溶解于浓度为 10 mmol/L 的二甲基亚砜 (sigma) 中, 保存在 -2℃。

1.3 细胞培养

SD 大鼠 (4 周龄) 购自内蒙古医科大学第二附属医院医学实验动物中心。所有动物实验均按照“实验动物护理原则指南” (NIP 出版物 85-23, 1996 年修订) 进行, 并经内蒙古医科大学实验动物伦理委员会批准 (项目编号为 2017032, 日期为 2017 年 7 月 15 日)。

由大鼠股骨分离 BMSCs, 将大鼠股骨与周围软组织分离并取出。使用 α -Minimum Essential 培养基 (α -MEM; Thermo Fisher Scientific, Ltd, 上海, 中国) 洗涤骨髓。将骨髓切片, 用含有 10% 胎牛血清 (FBS; Thermo)、100 U/mL 青霉素和 10 mg/mL 链霉素 (Sigma) 的 α -MEM 培养。去除未贴壁的细胞, 贴壁的 BMSCs 用于培养和扩增以及进一步的实验。当细胞培养汇合率接近 90% 时, 贴壁的 BMSCs 传代。之后将 2~4 代 BMSCs 用于研究实验。

1.4 骨髓间充质干细胞的成骨分化

BMSCs 种植于 6 孔细胞培养板, 细胞密度为 1×10^4 个/孔 (康宁公司, 上海, 中国)。经含 10% 胎牛血清、50 μ mol/L 抗坏血酸 (Sigma)、0.1 μ mol/L DMSO 和 10 mmol/L β -甘油磷酸酯 (Sigma) 的 α -MEM 诱导骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化 7 d。

1.5 CCK-8 检测细胞增殖/毒性以及 ALP 表达

BMSCs 种植于 96 细胞培养板, 细胞密度为 3×10^3 细胞/孔。24 h 后, 用芝麻素 (0、1 或 10 μ mol/L) 处理骨髓间充质干细胞 3 d, 以 0.1% 二甲基亚砜作为阴性对照 (NC)。使用 Caspase-8 比色分析试剂盒 (Abcam PLC., 上海, 中国) 进行细胞毒性测定。在 450 nm 处测量光密度 (OD) 值。

BMSCs 由 NBT-BCIP[®] 溶液 (Sigma) 染色, 用于检测成骨细胞 BMSCs 中的碱性磷酸酶 (ALP)。

1.6 免疫组织化学检测 Osterix (OSX) 表达

BMSCs 成骨分化后, 以 1×10^5 细胞/孔的密度接种于带盖玻片的 6 孔细胞培养板中。24 h 后, 应用芝麻素 (0 μ mol/L、1 μ mol/L 或 10 μ mol/L) 处理

细胞 3 d。之后细胞经 4%多聚甲醛(碧云天生物科技有限公司,上海,中国)在 25℃下固定 30 min。用预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)(碧云天)洗涤细胞,25℃下振荡 10 min,之后使用 3%的 H_2O_2 /甲醇(博士德生物技术有限公司,武汉,中国)于 25℃下孵育 20 min,后使用山羊血清(索莱宝科技有限公司,北京,中国)在 25℃下阻断 30 min。然后与兔抗 SP7/osterix(OSX)抗体(1:100)(ab22552, abcam)在 4℃的湿盒中孵育过夜。使用预冷的 PBS 洗涤细胞,后与山羊抗兔辣根过氧化物酶(HRP)偶联的二抗(1:100)(7071, Cell Signal Technology, Inc., 上海, 中国)于 25℃孵育 30 min。经二氨基联苯胺(DAB)(ZSGB-BIO, 北京, 中国)和苏木精(碧云天)染色后,使用树脂(索莱宝)密封载玻片并使用显微镜(BX43; Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan)观察。

1.7 免疫荧光检测 SRY-box9(SOX9)表达

BMSCs 成骨分化后,将 1×10^5 个细胞/孔接种于 6 孔细胞培养板上,盖盖玻片。24 h 后使用芝麻素(0、1 或 10 $\mu\text{mol/L}$)处理细胞 3 d。细胞经 4%多聚甲醛于 25℃固定 30 min。之后将细胞悬浮于 PBS 中并用 30 mmol/L 甘氨酸(Sigma)于 25℃下淬火 5 min,后经 0.5% Triton-X(索莱宝)于 25℃下渗透 5 min,使用 5%脱脂牛奶和 2%牛血清白蛋白(BSA)(Gen-View Scientific Inc., USA)在 25℃下封闭 1 h。应用 Sox9 兔单克隆抗体(1:100; #82630, Cell signal Technology, Inc.)于 25℃的湿盒中孵育细胞 24 h。后使用预冷 PBS 洗涤细胞,并与 Fluor[®]594 山羊抗兔(1:500; ZSGB-BIO)在 25℃黑暗中孵育 1 h。细胞经 4'6-二胺基-2-苯基吡啶二盐酸盐(DAPI; Sigma)染色,由共聚焦激光扫描显微镜(FV1000, OLYMPUS)观察。使用 Image-Pro Plus 软件(Media Cybernetics, Rockville, MD, USA)分析结果。

1.8 Western blot 检测 RUNX2、OCN 以及 Wnt/ β -catenin 通路相关抗原表达

成骨细胞分化后,将 1×10^5 细胞/孔接种于 6 孔细胞培养板上培养 24 h,后在有或无 FH535(1 $\mu\text{mol/L}$)的情况下用芝麻素(0、1 或 10 $\mu\text{mol/L}$)处理 3 d。收集细胞并使用皮尔斯[™]细胞裂解液于 4℃下裂解 20 min 后提取蛋白质。用 10%的分离凝胶和 5%的浓缩凝胶进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),然后转移蛋白质到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(Merch Millipore Corporation)上。使用

5%的脱脂牛奶在 25℃下封闭 2 h,后与小鼠抗 RUNX2 抗体(1:5000; ab76956, abcam),小鼠抗骨钙素(OCN)抗体(1:3000; ab13420, abcam),小鼠抗 β -actin 抗体(1:5000; abcam)孵育; ab8226, abcam),兔抗低密度脂蛋白受体相关蛋白 5(LRP5)抗体(1:1000; ab38311, abcam),小鼠抗糖原合成酶激酶-3b(gsk-3b)抗体(1:2000; ab93926, abcam),兔抗 β -连环蛋白抗体(1:5000; ab32572, abcam)分别孵育 24 h。加入山羊抗兔或山羊抗鼠二抗(1:3000; Jackson Immuno Research Laboratory, Inc., USA),并在 25℃下孵育 1 h。使用电化学发光(ECL)分析。

1.9 统计学分析

定量资料以均值 $\pm$ 标准差表示。应用 GraphPad “PRISM”软件(版本 5.0; GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)分析数据。单因素方差分析(ANOVA)或 t 检验用于分析多组或两组间的统计学差异。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 芝麻素对细胞增殖无影响且无细胞毒性

BMSCs 成骨分化后用芝麻素(1 $\mu\text{mol/L}$ 或 10 $\mu\text{mol/L}$)处理骨髓间充质干细胞,以 0.1%二甲亚砜处理后作为正常对照(NC)组。图 1 A 显示 NC 组、芝麻素(1 $\mu\text{mol/L}$)组和芝麻素(10 $\mu\text{mol/L}$)组之间的 OD 值,无显著差异($F = 0.0683$, $P = 0.9343$)。以上结果表明芝麻素对 BMSCs 无有细胞增殖及毒性作用。

2.2 芝麻素通过 Wnt/ β -catenin 通路促进 BMSCs 成骨分化

图 1B 显示了芝麻素在没有 FH535(1 $\mu\text{mol/L}$)沉默的情况下对 RUNX2($F = 113.7$, $P < 0.0001$)和 OCN($F = 89.29$, $P < 0.0001$)的显著促进作用。高浓度芝麻素可显著增强 RUNX2 和 OCN 的表达($P < 0.05$)。FH535 沉默后,芝麻素对 RUNX2 和 OCN 的促进作用均减弱。虽然其表达增加,但与 NC 组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

图 1C 显示在没有 FH535(1 $\mu\text{mol/L}$)沉默的情况下,芝麻素(1 $\mu\text{mol/L}$ 或 10 $\mu\text{mol/L}$)对 Wnt/ β -catenin 通路有显著的促进作用,表现为 β -catenin($F = 128.60$, $P < 0.0001$)和 LRP5($F = 191.3$, $P < 0.0001$)的显著增加以及 gsk-3b 的显著减少($F = 69.54$, $P < 0.0001$)。较高浓度的芝麻素可进一步促进 Wnt/ β -catenin 通路活性($P < 0.05$)。FH535(1 $\mu\text{mol/L}$)沉默后, Wnt/ β -catenin 活性受到抑制,芝麻

素的干预对 β -catenin、LRP5 或 gsk-3b 的表达水平的影响无显著性。

图 2 显示了芝麻素对 ALP(图 2 A)($F=23.81$, $P<0.0001$)、OSX(图 2B)($F=73.65$, $P<0.0001$)和

SOX9(图 2C)($F=139.1$, $P<0.0001$)的显著促进作用。随着芝麻素浓度的升高,对 BMSCs 成骨分化的促进作用显著增强($P<0.05$)。

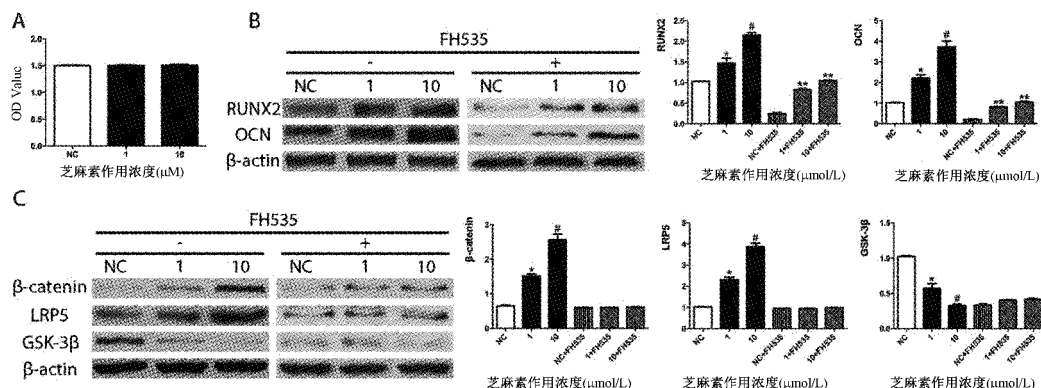


图 1 A:各浓度芝麻素处理骨髓间充质干细胞后所得的 CCK8 吸光度;B:阻断通路与未阻断通路状态下,各浓度芝麻素处理骨髓间充质干细胞后 RUNX2 和 OCN 的 WB 表达;C:阻断通路与未阻断通路状态下,骨髓间充质干细胞中 Wnt/ β -catenin 通路相关蛋白的 WB 表达

Fig.1 A: CCK8 absorbance of bone marrow mesenchymal stem cells treated with sesamin at various concentrations; B: Expression of RUNX2 and OCN after treatment of bone marrow mesenchymal stem cells with sesamin at different concentrations in the blocked and unblocked pathways; C: WB expression of Wnt/ β -catenin pathway-related proteins in bone marrow mesenchymal stem cells under blocked and unblocked pathways.

注:NC 组:阴性对照组,0.1%二甲亚砜处理;1 组:1 $\mu\text{mol/L}$ 芝麻素处理;10 组:10 $\mu\text{mol/L}$ 芝麻素处理;与 NC 组比较, * $P<0.05$;与 NC 组和 1 组比较, # $P<0.05$;与 NC+FH535 组比较, ** $P>0.05$ 。

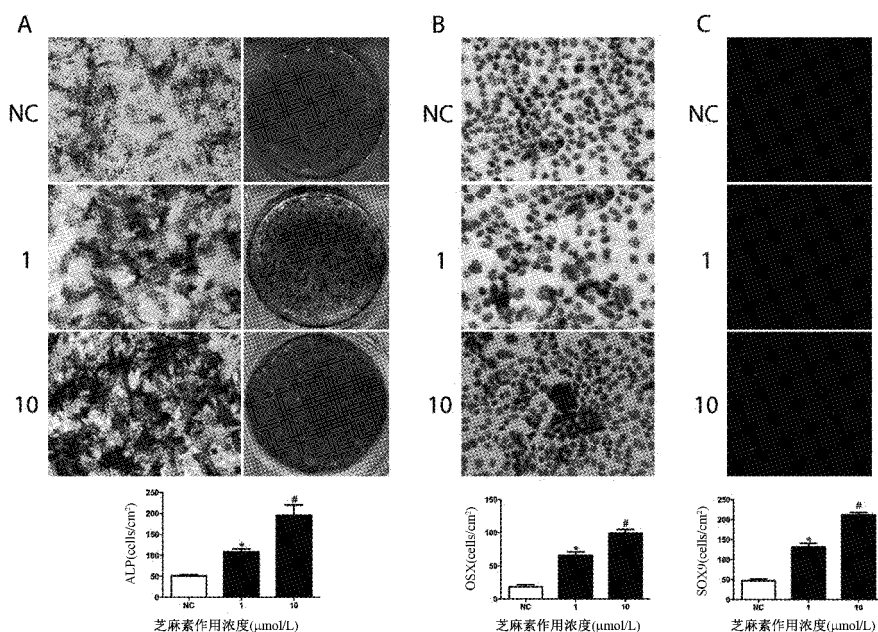


图 2 A:各浓度芝麻素处理骨髓间充质干细胞后 ALP 的染色表达;B:各浓度芝麻素处理骨髓间充质干细胞后 OSX 的免疫组化表达;C:各浓度芝麻素处理骨髓间充质干细胞后 SOX9 的免疫荧光表达

Fig.2 A: ALP staining and expression in bone marrow mesenchymal stem cells treated with sesamin at various concentrations; B: Immunohistochemical expression of OSX in bone marrow mesenchymal stem cells treated with sesamin at different concentrations; C: Immunofluorescence expression of SOX9 after treatment in bone marrow mesenchymal stem cells.

注:NC 组:阴性对照,0.1%二甲亚砜处理;1 组:1 $\mu\text{mol/L}$ 芝麻素处理;10 组:10 $\mu\text{mol/L}$ 芝麻素处理;与 NC 组比较, * $P<0.05$;与 NC 组和 1 组比较, # $P<0.05$ 。

以上结果表明,本实验条件下,芝麻素激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,并促进 BMSCs 向成骨细胞分化。

3 讨论

本研究应用不同浓度的芝麻素(1 $\mu\text{mol/L}$ 或 10 $\mu\text{mol/L}$)干预由 SD 大鼠股骨分离而来的骨髓间充质干细胞,共 3 d。结果表明,芝麻素处理后细胞 ALP、OSX、SOX9、RUNX2 和 OCN 的表达均显著增强。此外,10 $\mu\text{mol/L}$ 的芝麻素对上述蛋白表达的促进作用高于 1 $\mu\text{mol/L}$ 的芝麻素。通过 Western blotting 检测 Wnt/ β -catenin 通路表达,结果显示芝麻素对 β -catenin 和 LRP5 水平的上调,但对 GSK-3 β 水平的下调,呈浓度依赖性。为证实 Wnt/ β -catenin 在芝麻素促进 BMSCs 成骨分化中的关键作用,研究使用 FH535(1 $\mu\text{mol/L}$)沉默 Wnt/ β -catenin,后测定相关蛋白的表达。Western blotting 结果显示,沉默 Wnt/ β -catenin 通路后芝麻素干预组与非沉默空白对照组相比,RUNX2 和 OCN 的表达无显著差异。以上结果表明芝麻素通过调节 Wnt/ β -catenin 途径促进 BMSCs 的成骨分化。

一些生物标志物已被证实在骨质疏松的发展中发挥重要作用。ALP^[19]、OSX^[20]、SOX9^[21]、RUNX2^[22-23] 和 OCN^[23] 已被证实与骨质疏松有关。与健康人相比,骨质疏松患者的 ALP、OSX、SOX9、RUNX2 和 OCN 通常较低。此外,RUNX2 在调节成骨细胞和软骨细胞分化中起关键作用^[24-25]。因此,ALP、OSX、SOX9、RUNX2 和 OCN 可作为骨质疏松或成骨分化的生物标志物。先前的研究已经证明 Wnt/ β -catenin 途径在骨质疏松的发病和进展中具有关键作用,也被认为是治疗骨质疏松的靶点^[26-30]。本研究中,芝麻素处理提高了 ALP、OSX、SOX9、RUNX2 和 OCN 水平,并激活了 BMSCs 中的 Wnt/ β -catenin 信号通路。以上结果表明芝麻素具有促进成骨细胞分化的能力,并具有通过调节 Wnt/ β -catenin 途径对骨质疏松具有治疗和预防作用,故而芝麻素可能是治疗骨质疏松的新靶点。

综上,本研究初步证实芝麻素具有调节 Wnt/ β -catenin 通路促进 BMSCs 向成骨细胞分化的潜能,显示了其对骨质疏松的潜在治疗和预防作用。

【参 考 文 献】

[1] Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine[M]. 3rd ed. New York: McGraw-Hill Education Medical, 2012.

[2] Annicchiarico R. Enhancing service delivering, improving quality of life, preserving independence through assistive technology[J]. Stud Health Technol Inform, 2016, 180(1): 14-18.

[3] Khatib J, Stote K, Gosmanov AR. Utility of DXA screening for diagnosis of osteoporosis in US veterans aged 70 years and oldery [J]. J Investig Med, 2017, 66(2): 298-303.

[4] Henry YM, Eastell R. Ethnic and gender differences in bone mineral density and bone turnover in young adults: Effect of bone size[J]. Osteoporos Int, 2000, 11(6): 512-517.

[5] Wade SW, Strader C, Fitzpatrick LA, et al. Estimating prevalence of osteoporosis: Examples from industrialized countries[J]. Arch Osteoporos, 2014, 9(1): 182.

[6] Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, et al. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005 - 2025 [J]. J Bone Miner Res, 2010, 22(3): 465-475.

[7] Mithal A, Bansal B, Kyer C, et al. The Asia-Pacific regional audit-epidemiology, costs, and burden of osteoporosis in India 2013: A report of International Osteoporosis Foundation [J]. Indian J Endocrinol Metab, 2014, 18(4): 449-454.

[8] 张悦,李运峰.骨质疏松症动物模型研究进展[J].中国骨质疏松杂志, 2020, 26(1): 152-156.

[9] Arber DA. Pathology of bone marrow and blood cells[J]. Am J Surg Pathol, 2010, 34(3): 445.

[10] Kovach AE. Rubin's pathology, clinicopathologic foundations of medicine[J]. Am J Surg Pathol, 2008, 32(2): 1376-1377.

[11] Cho SW, Yang JY, Her SJ, et al. Osteoblast-targeted overexpression of PPARgamma inhibited bone mass gain in male mice and accelerated ovariectomy-induced bone loss in female mice[J]. J Bone Miner Res, 2011, 26(8): 1939-1952.

[12] Clevers H, Nusse R. Wnt/b-catenin signaling and disease[J]. Cell, 2012, 149(6): 1192-1205.

[13] Day TF, Guo X, Garrett-Beal L, et al. Wnt/b-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis[J]. Dev Cell, 2005, 8(5): 739-750.

[14] Heo JS, Lee SY, Lee JC. Wnt/b-catenin signaling enhances osteoblastogenic differentiation from human periodontal ligament fibroblasts[J]. Mol Cells, 2010, 30(5): 449-454.

[15] Saidak Z, Le Henaff C, Azzi S, et al. Wnt/b-catenin signaling mediates osteoblast differentiation triggered by peptide-induced $\alpha 5 \beta 1$ integrin priming in mesenchymal skeletal cells[J]. J Biol Chem, 2015, 290(11): 6903-6912.

[16] Kamal-Eldin A, Moazzami A, Washi S. Sesame seed lignans. Potent physiological modulators and possible ingredients in functional foods & nutraceuticals [J]. Recent Pat Food Nutr Agric, 2011, 3(1): 17-29.

[17] Siratoyasumoto S, Katsuta M, Okuyama Y, et al. Effect of sesame seeds rich in sesamin and sesamol on fatty acid oxidation in rat liver [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(5): 2647-2651.

- traumatic rat knee model[J]. *Osteoarthritis & Cartilage*, 2016, 37(8):1063-1071.
- [9] Li G, Bu J, Zhu Y, et al. Curcumin improves bone microarchitecture in glucocorticoid-induced secondary osteoporosis mice through the activation of microRNA-365 via regulating MMP-9[J]. *Int J Clin Exper Pathology*, 2015, 8(12):15684.
- [10] 马如风. 姜黄素通过调节组织蛋白酶 K 改善高脂诱导 C57BL/6J 小鼠骨结构和骨质量的实验研究[J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(10):1446-1451.
- [11] Zhou Z, Zhang L. The mechanism of NF- κ B signaling pathway in the development of osteoarthritis[J]. *Chin J Osteoporos*, 2012, 18(1): 78-82.
- [12] Geng CM, Chen QG, Zhang J, et al. Clinical observation of tendon acupuncture combined with exercise training in the treatment of primary osteoporosis low back pain[J]. *Chin National Folk Med*, 2019, 28(12): 108-110.
- [13] Chen MS, Lin TC, Jiang BC. Aerobic and resistance exercise training program intervention for enhancing gait function in elderly and chronically ill Taiwanese patients[J]. *Public Health*, 2015, 23(8):1114-1124.
- [14] Ray Marks DG. Postmenopausal osteoporosis and aerobic exercise: A review of the literature[J]. *Current Rheumatology Reviews*, 2006, 2(3):289-301.
- [15] Zhao C, Hou H, Chen Y, et al. Effect of aerobic exercise and raloxifene combination therapy on senile osteoporosis[J]. *J Phys Ther Sci*, 2016, 28(6):1791-1794.
- (收稿日期: 2020-03-18; 修回日期: 2020-05-28)
-
- (上接第 54 页)
- [18] Wanachewin O. Sesamin stimulates osteoblast differentiation through p38 and ERK1/2 MAPK signaling pathways[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2012, 12: 71.
- [19] Iba K, Takada J, Yamashita T. The serum level of bone-specific alkaline phosphatase activity is associated with aortic calcification in osteoporosis patients[J]. *J Bone Miner Metab*, 2004, 22(6): 594-596.
- [20] Kabaek IA, Soung DY, Naik A, et al. Teriparatide (1 - 34 human PTH) regulation of Osterix during fracture repair[J]. *J Cell Biochem*, 2010, 105(1): 219-226.
- [21] Horiuchi K, Kimura T, Miyamoto K, et al. Conditional inactivation of TACE by a Sox9 promoter leads to osteoporosis and increased granulopoiesis via dysregulation of IL-17 and G-CSF1[J]. *J Immunol*, 2009, 182(4): 2093-2101.
- [22] Khalid O, Baniwal SK, Purcell DJ, et al. Modulation of Runx2 activity by estrogen receptor- α : Implications for osteoporosis and breast cancer [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(12): 5984-5995.
- [23] Handschin AE, Egermann M, Trentz O, et al. Cbfa-1 (Runx-2) and osteocalcin expression by human osteoblasts in heparin osteoporosis in vitro[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2006, 12(4): 465-472.
- [24] Franceschi RT, Xiao G. Regulation of the osteoblast-specific transcription factor, Runx2: Responsiveness to multiple signal transduction pathways [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 88(3): 446-454.
- [25] 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- α [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(4): 2695-26701.
- [26] Caudio A, Privitera F, Battaglia K, et al. Sclerostin levels associated with inhibition of the Wnt/b-catenin signaling and reduced bone turnover in type 2 diabetes mellitus [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(10):3744-3750.
- [27] Rossini M, Catti D, Adami S. Involvement of WNT/b-catenin signaling in the treatment of osteoporosis [J]. *Calcif Tissue Int*, 2013, 93(2):121-132.
- [28] Burgers TA, Williams BO. Regulation of Wnt/b-catenin signaling within and from osteocytes[J]. *Bone*, 2013, 54(2): 244-249.
- [29] Zhou J, He H, Yang L, et al. Effects of pulsed electromagnetic fields on bone mass and Wnt/b-catenin signaling pathway in ovariectomized rats[J]. *Arch Med Res*, 2012, 43(4): 274-282.
- [30] 陈清河, 陈闻佳, 曾维铨. 骨质疏松合并骨关节炎患者血清中 Wnt 通路调节因子研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(12):1721-1724, 1729.
- (收稿日期: 2020-02-09; 修回日期: 2020-03-23)