

· 论 著 ·

C 反应蛋白激活原纤毛抑制颅骨成骨细胞的增殖和分化

许洁 刘杰 汪长东*

重庆医科大学生物化学与分子生物学教研室,肿瘤与分子医学中心,基础医学院,重庆 400016

中图分类号: Q257 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 08-1163-06

摘要: **目的** 研究 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)对原代培养 SD 大鼠颅骨成骨细胞(rat calvarial osteoblasts, ROB)增殖及成骨分化的影响。**方法** 取 SD 大鼠颅骨组织用胰蛋白酶和胶原蛋白酶 I 消化得到原代 ROB,随后将 ROB 用 α -MEM 培养基培养,传代 3 次后用于后续实验。在对照组和 5 mg/mL CRP 的处理组中,成骨分化培养基诱导 3 d 进行免疫荧光检测两组 Ki-67 和 acetylated- α -tubulin 和 γ -tubulin 表达情况;同时,蛋白质印迹分析 osteopontin(OPN)、alkaline phosphatase(ALP)、acetylated- α -tubulin 和 γ -tubulin 的表达;成骨分化培养基诱导 21 d 茜素红染色检测成骨基质矿化结节量。**结果** 免疫荧光显示,5 mg/mL CRP 抑制成骨细胞增殖,与对照组差异有统计学意义($P<0.001$);蛋白质免疫印迹和茜素红染色显示,处理组 OPN 和 ALP 表达降低($P<0.01$),矿化结节生成数量减少($P<0.001$),与对照组比较差异均有统计学意义;免疫荧光结果显示,细胞原纤毛长度增加($P<0.001$),免疫印迹结果显示 acetylated- α -tubulin 和 γ -tubulin 蛋白的表达均升高($P<0.001$)。**结论** 5 mg/mL CRP 显著抑制 ROB 增殖与成骨分化矿化并且显著激活细胞原纤毛。CRP 为炎症因子典型代表,这些数据表明炎症因子激活细胞原纤毛发挥其抑制成骨细胞的增殖与分化作用,提示抑制原纤毛或阻断炎症因子的释放可以治疗炎症引起的骨丢失疾病。

关键词: C 反应蛋白;颅骨细胞;增殖;分化;炎症

C-reactive protein inhibits the proliferation and differentiation of calvarial osteoblasts primary via cilia

XU Jie, LIU Jie, WANG Changdong*

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Chongqing Medical University, Center for Oncology and Molecular Medicine, Basic Medical College, Chongqing 400016, China

* Corresponding author; WANG Changdong, Email: wangchangdong@cqmu.edu.cn

Abstract: **Objective** To investigate the effect of C-reactive protein (CRP) on the proliferation and osteoblast differentiation of rat calvarial osteoblasts (ROB) in Sprague Dawley (SD) rats. **Methods** ROB was obtained from the skull tissue of SD suckling rats by digestion with trypsin and collagenase I. ROB was then cultured in α -MEM medium and subcultured 3 times for the follow-up experiment. The expression of Ki-67 and acetylated- α -tubulin, γ -tubulin were detected by using immunofluorescence in ROB with or without 5 mg/mL of CRP after 3 days induction. The expression of osteopontin (OPN), alkaline phosphate (ALP), acetylated- α -tubulin, and γ -tubulin proteins were analyzed with Western blotting. Alizarin red staining was used to detect the amount of matrix mineralized nodules after 21 days induction. **Results** Immunofluorescence result showed that 5 mg/mL of CRP inhibited the proliferation of osteoblasts, which was significant different from that of control group ($P<0.001$). Western blotting and Alizarin red staining result showed that the expression of OPN and ALP decreased in the treated group ($P<0.01$), and the number of mineralized nodules decreased ($P<0.001$), which were statistically significant compared with those in the control group. Immunofluorescence result showed that both the length of primary cilia and the expression of acetylated- α -tubulin and γ -tubulin increased ($P<0.001$). **Conclusion** CRP at a concentration of 5 mg/mL significantly inhibits the proliferation and osteoblast differentiation of ROB and activates the expression of cilia. CRP is a typical representative of inflammatory factors. These data indicate that inflammatory factors

基金项目: 重庆市研究生科研创新项目(CYS19204);2020 年重庆市渝中区科研计划第一批项目(20200112)

* 通信作者: 汪长东, Email: wangchangdong@cqmu.edu.cn

activate the primary cilia to inhibit the proliferation and differentiation of osteoblasts, suggesting that inhibiting primary cilia or blocking the release of inflammatory factors might be a possible treatment for inflammatory bone loss.

Key words: C-reactive protein; skull cells; proliferation; differentiation; inflammation

骨是经历不断成骨细胞构建和破骨细胞降解的组织。炎症会扰乱骨骼的新陈代谢并促进骨丢失,如类风湿关节炎、多发性硬化症、炎症性肠病和其他疾病等^[1]。炎症性疾病对骨骼产生影响,增加骨折风险。炎症反应使得细胞因子被激活,如干扰素、白介素、趋化因子等,这些炎症性细胞因子激活骨骼降解并抑制骨骼生成。C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 是 Pentraxin 家族的一种古老且高度保守的蛋白。血浆 CRP 主要在肝脏中产生,由肝细胞对诸如白介素 IL-1 β 和 IL-6 炎症性细胞因子的响应而合成^[2]。临床实践中,CRP 是典型的急性期反应标志物,半衰期短。但 CRP 如何影响骨组织,至今仍不清楚。细胞原纤毛与骨发育联系密切。原纤毛是从细胞表面突出的基于微管的小型细胞器。它们充当触角,通过位于原纤毛膜上的各种表面受体来感应细胞外信号,如生长因子和激素,通过正向转运蛋白 Kinesin-II 将信号从原纤毛的底部转运到原纤毛的顶部,或者逆向转运蛋白 Dynein 将信号从原纤毛顶部转运到原纤毛底部^[3]。原纤毛缺陷会导致纤毛疾病,如室息性窘迫呼吸综合征和短肋骨多趾综合征 III,提示纤毛在骨骼发育中起着不可或缺的作用^[4-5]。CRP 体外是否影响成骨细胞增殖和分化以及是否通过原纤毛尚未报道。据此,笔者研究 CRP 对成骨细胞增殖、分化作用,进而发现炎症环境是否对成骨增殖和分化有影响以及如何影响,为 CRP 应用于检测炎症诱发的骨丢失疾病诊断提供理论依据,为治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 颅骨细胞获取

1.1.1 颅骨细胞分离、培养:动物操作按照重庆医科大学 IACUC 批准的规程进行。3~4 d 的 Sprague-Dawley (SD) 乳鼠通过二氧化碳安乐死。在无菌台中取出乳鼠的颅盖骨,去除骨膜及周围结缔组织, PBS 冲洗 4~5 次并剪成细小碎块。并将 I 型胶原酶 (2 mg/mL, EMD, Darmstadt, Germany) 和胰蛋白酶 (0.25%, Corning, Manassas, VA) 按 1:1 混合,全程在 37 °C 恒温水浴锅中消化 1~2 h。1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液保留沉淀。用 PBS 洗 2 次,然后离心分离并铺板于含 10% 胎牛血清 (FBS), 100 U/mL 青

霉素和 1 mg/mL 链霉素的 α -MEM 中。将细胞置于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养。24 h 后观察细胞贴壁状态,更换培养液,弃去未贴壁的细胞及残留的骨组织碎块,以后每 3 d 观察细胞状态,更换培养基一次。待细胞布满视野 80%,镜下观察细胞形态并拍照。

1.1.2 茜素红染色:OS 培养基诱导成骨分化 21 d。OS 培养基是由 α -MEM (Gibco) 其中包含 10% FBS, 10 mmol/L β -甘油磷酸 (Sigma, St Louis, MO), 50 μ g/mL 抗坏血酸 (Sigma) 和 10⁻⁸ mol/L 地塞米松 (Sigma) 组成的。在用 OS 培养基诱导 21 d,去除培养基, PBS 漂洗贴壁细胞 3 次,将细胞用 5% 多聚甲醛固定 10 min。PBS 漂洗 3 次,室温下用 40 mmol/L 茜素红 S 溶液 (pH 4.4) 染色,并用去离子水冲洗两次。细胞用 10 mmol/L 磷酸钠 (pH 7.0) 中的等量 10% (w/v) 的 cetylpyridinium chloride (sigma) 脱色 15 min。然后将等体积的所需溶液转移至 96 孔板,562 nm 测定吸光度。

1.2 免疫荧光

细胞爬片 (American) 用酒精消毒烤干放置于 24 孔板上,将细胞以 4 $\times$ 10⁴ 细胞/孔的密度接种, CRP (5 mg/mL) 处理细胞 3 d。PBS 洗涤 3 次,4% 甲醇固定 10 min, PBS 洗涤 3 次。为避免非特异性结合,5% BSA 孵育 60 min。Ki-67 抗体 (1:200, Santa cruz), α -微管蛋白抗体 (1:1 000, T6793, Sigma) 和 γ -微管蛋白抗体 (1:1 000, T3320, Sigma) 4 °C 孵育过夜。Alexa Fluor 568 偶联的抗兔抗体 (1:1 000, A-11011, Invitrogen) 和 Alexa Fluor 647 偶联的抗小鼠抗体 (1:1 000, A-21235, Invitrogen) 作为二抗室温孵育 1 h。DAPI 的抗褪色染液 (1:1 000, Sigma) 复染细胞核,使用 Leica DM4000 显微镜观察细胞并照像。

1.3 蛋白质印迹

收集 CRP 处理 3 d 后细胞的总蛋白, BCA 蛋白测定试剂盒 (Pierce, Rochford, IL) 测量蛋白浓度。10% SDS-PAGE 凝胶分离。25 mmol/L Tris, 192 mmol/L 甘氨酸和 20% 甲醇的缓冲液中,将蛋白质转移到 PVDF 膜上。用 5% 的牛奶封闭,一抗在 4 °C 孵育过夜,乙酰化的 α -微管蛋白抗体 (1:1 000, T6793, Sigma) 和 γ -微管蛋白抗体 (1:1 000, T3320,

Sigma) 检测原纤毛, OPN (1:200, 225952-1-AP, Proteintech) 和 ALP (1:1 000, Cat A5111, Selleckchem) 检测成骨分化, GAPDH (1:1 000, YT5052, ImmunoWay) 作为对照, 然后与辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的山羊抗兔 IgG 抗体 (1:10 000, A-11034, Novex, Carlsbad, CA) 或辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的山羊抗小鼠 IgG 抗体 (1:5 000, #7074, Cell Signaling Technology) 室温孵育 1 h。可视化使用 Western Bright ECL HRP (Advansta, San Jose, CA, USA) 进行。

1.4 统计学分析

所有数据均以平均值 $\pm$ 标准误差表示。对两组进行比较的 Student *t* 检验分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。使用 GraphPad Prism 程序 (GraphPad Software, Inc, San Diego, USA) 进行分析。

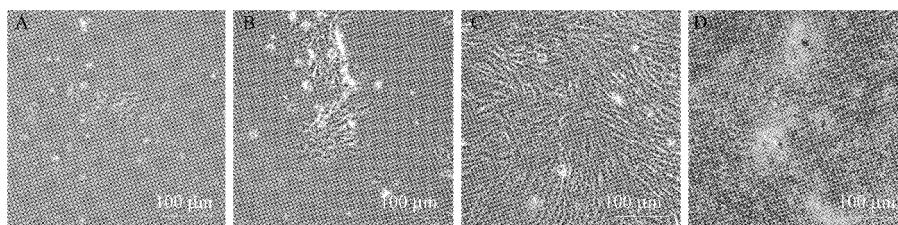


图 1 成功分离并培养原代 ROB

Fig.1 Successful separation and cultivation of primary ROB

2.2 CRP 抑制成骨细胞增殖

用或不用 CRP (5 mg/mL) 将 ROB 细胞处理 3 d。用 DAPI 复染细胞核, Ki-67 抗体与 ROB 胞浆上的 Ki-67 抗原结合, 表现为胞浆内散在分布的绿色荧光。比例尺为 100 μ m (图 2A); 用 Image J 对上述两组细胞 Ki67 相对荧光表达水平进行定量分析, 对照组与处理组相比 Ki-67 的平均表达量分别是 7.124 ± 0.580 、 2.360 ± 0.148 ($P<0.001$, $n=3$)。处理组荧光水平明显降低, 差异有统计学意义 ($P<0.001$, $n=3$; 图 2B)。这些数据表明, CRP 抑制 ROB 细胞的增殖。

2.3 CRP 抑制成骨细胞分化

单纯用 OS 培养基或与 5 mg/mL 的 CRP 作用 21 d 后对 ROB 进行茜素红染色。结果显示, 经过 21 d 成骨诱导培养基培养, CRP 处理组细胞钙结节沉积明显少于对照组未用 CRP 组的细胞钙结节 (图 3A); 显微镜下观察矿化结节。比例尺为 100 μ m (图 3B); 基于 3A 图的茜素红染色的定量矿化水平, 对照组茜素红定量为 4.06 ± 0.17 , 处理组茜素红定量为 2.54 ± 0.26 , 与对照组相比差异有统计学意

2 结果

2.1 成功分离并培养原代 ROB

取出生 3~4 d 的 SD 大鼠乳鼠颅骨组织提取原代 ROB, α -MEM 培养基培养。在倒置显微镜下, 刚分离的 ROB 呈圆球形漂浮在培养基内。24 h 后, 成骨细胞贴壁, 细胞展开 (图 1A), 3 d 后细胞布满视野, 贴壁的细胞呈梭形、三角形和多边形 (图 1B)。传代后细胞逐渐展开, 体积增大。细胞 5 d 能铺满培养皿底, 最后重叠生长, 呈铺路石状 (图 1C)。14 d 后成骨钙化结节在一定区域内堆集成灶, 与茜素红 S 溶液反应可见橙红色钙化结节, 着色中间深周围浅, 多个钙化结节可相互融合。比例尺为 100 μ m (图 1D)。

义 ($P<0.001$, $n=3$; 图 3C); 用或不用 5 mg/mL 的 CRP 处理 3 d 后, 对 ROB 中 OPN 和 ALP 表达的蛋白质印迹分析 (图 3D); 基于 3 d 免疫印迹中 OPN 和 ALP 蛋白水平的定量分析。OPN 和 ALP 的蛋白质水平被标准化为 GAPDH。蛋白免疫印迹显示, 对照组的 OPN 蛋白定量为 67.77 ± 3.39 , 处理组的 OPN 蛋白定量为 44.93 ± 2.25 , 与对照组相比差异有统计学意义 ($P<0.01$, $n=3$; 图 3E); 蛋白免疫印迹显示, 对照组的 ALP 蛋白定量为 151.65 ± 7.58 , 处理组的 ALP 蛋白定量为 103.77 ± 5.19 , 与对照组相比差异有统计学意义 ($P<0.001$, $n=3$; 图 3E)。这些数据表明, 5 mg/mL 浓度的 CRP 抑制 ROB 成骨分化。

2.4 CRP 激活成骨细胞原纤毛

对用或不用 CRP 处理的 ROB 中原纤毛长度进行免疫荧光分析。原纤毛用乙酰化 α -微管蛋白 (纤毛轴突, 绿色) 和 γ -微管蛋白 (基体, 红色) 抗体染色。该图显示了基体和轴突的高倍图像。DAPI 染色用作复染 (蓝色)。比例尺为 20 μ m (图 4A); 对细胞原纤毛长度进行定量分析。结果显示, 处理组

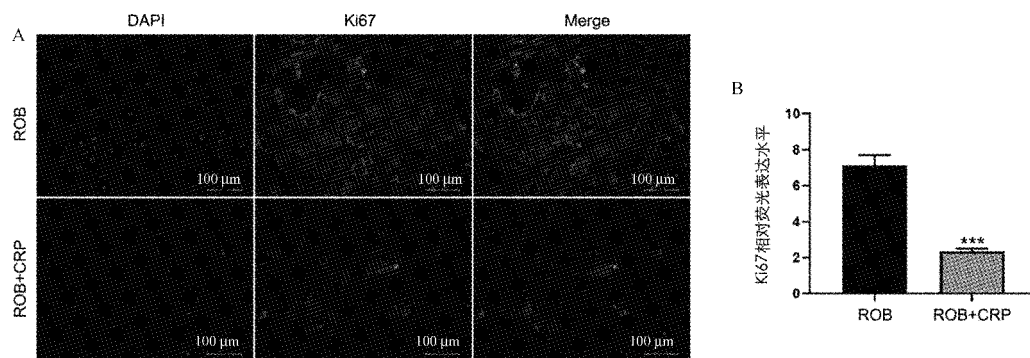


图 2 CRP 抑制成骨细胞增殖
Fig.2 CRP inhibits osteoblast proliferation

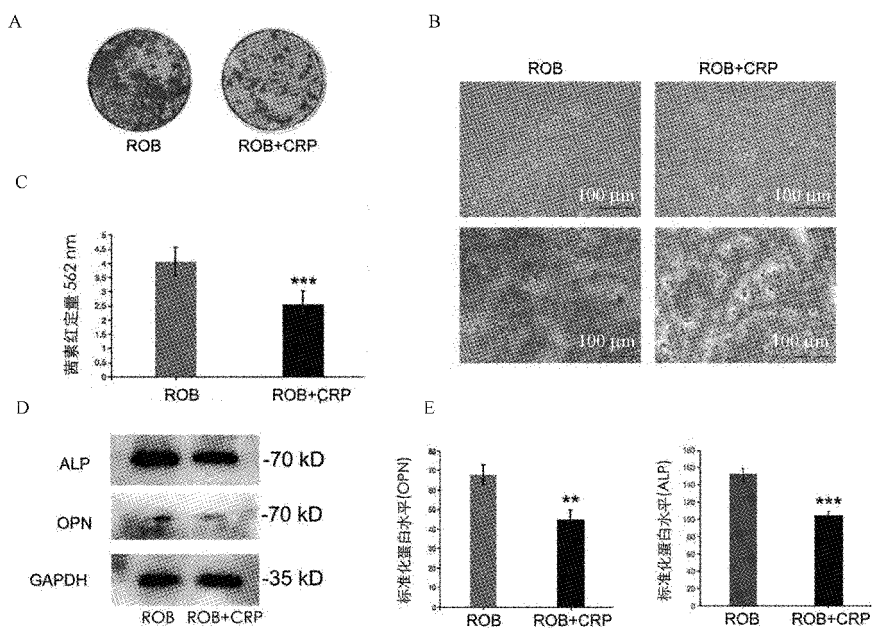


图 3 CRP 抑制成骨细胞分化
Fig.3 CRP inhibits osteoblast differentiation

原纤毛长度长于对照组原纤毛长度,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.001, n = 3$;图 4B);用或不用 CRP 处理 ROB,对原纤毛代表蛋白进行免疫荧光分析。比例尺为 100 μm (图 4C);用 Image J 对图 4C 视野上的纤毛表达量进行定量分析。处理组荧光强度强于对照组,相比差异有统计学意义($P < 0.001, n = 3$;图 4D);对原纤毛代表蛋白进行蛋白质印迹分析(图 4E);基于图 4D 免疫印迹结果的定量分析。纤毛蛋白水平用 GAPDH 标准化。蛋白免疫印迹显示,处理组乙酰化 α-微管蛋白和 γ-微管蛋白表达高于对照组,相比差异有统计学意义($P < 0.001, n = 3$;图 4F);这些数据表明,5 mg/mL 浓度的 CRP 异常激活了 ROB 原纤毛。

3 讨论

炎症是局部和全身性骨质流失的主要且高度被忽视的原因,最终可能导致残疾和死亡。本研究结果表明,炎症因子 CRP 可以抑制成骨细胞增殖和成骨分化从而导致骨丢失,这是通过增加细胞原纤毛表达介导的。炎症的特征是产生炎症因子,其可以激活骨分解并抑制骨生成^[6]。CRP 是炎症和组织损伤的敏感的全身性标志物,文献表明,炎症性疾病与全身性骨质疏松症和骨折率增加有关^[7]。本研究在 SD 乳鼠 ROB 细胞中检查了 CRP 在骨组织中的作用,发现 CRP 抑制 SD 乳鼠 ROB 增殖和成骨分化。

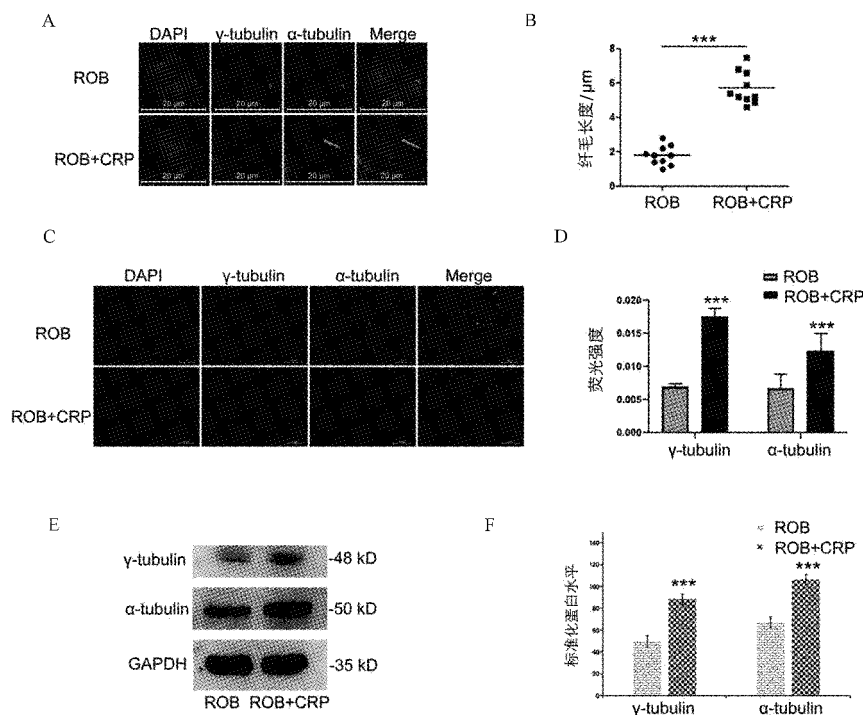


图4 CRP 激活成骨细胞原纤毛
Fig.4 CRP activates osteoblastic primary cilia

参照 Fang 等^[8]、Yoshida 等^[9]、Jimenez 等^[10] 的研究,本实验提取出生 3~4 d SD 乳鼠颅骨原代细胞 ROB,用 5 mg/mL 浓度的 CRP 处理 ROB。结果显示,与对照组比,CRP 处理的 ROB 在 3 d 时免疫荧光检测 Ki-67 荧光强度明显降低,表明 CRP 抑制成骨细胞增殖,与 Chen 等^[7] 的结果相符。与本研究结果一致的是,Jimenez 等^[11] 确定了 CRP 显著增强了髓样衍生细胞抑制 CD3/CD28 刺激的 T 细胞增殖的能力。重要的是,CRP 还使新鲜分离的原代人中性粒细胞能够抑制自体 T 细胞的增殖,加剧小鼠急性肾损伤。同样,Tang 等^[12] 发现,在急性肾脏损伤 (AKI) 缺血/再灌注小鼠模型中 CRP 含量明显增加且抑制肾小管上皮细胞 (TEC) 再生,在人 TEC 系 (HK-2) 中添加 CRP 也同样抑制 G1/S 依赖的 TEC 增殖再生。但是,不管在体内或体外,关于 CRP 对成骨细胞增殖的影响的数据很少,CRP 对骨组织的影响研究不明朗。这项研究结果进一步表明,CRP 可能是炎症引发的骨丢失的重要因素,CRP 抑制成骨细胞增殖。

就成骨分化而言,茜素红染色实验是检测成骨细胞分化成熟的最重要指标。骨桥蛋白 (OPN) 是在骨形成过程中矿化过程的后期产生的,是成骨分化过程的关键蛋白。碱性磷酸酶是一种膜结合酶,

用于水解焦磷酸盐,为细胞提供必需的无机磷酸盐 (Pi)。本研究结果显示 5 mg/mL 的 CRP 处理组均出现了比对照组明显减少的矿化结节数以及 OPN 和 ALP 含量的降低。实验结果证实 CRP 显著减弱成骨细胞的矿化能力。与本研究观点相符的是,Liang 等^[13] 在类风湿关节炎中发现,来氟米特可以诱导 AHR-ARNT 相互作用,从而抑制 CRP 关节炎大鼠的肝 CRP 产生并减轻骨侵蚀。同样,Liang 等^[13] 向 CRP H CIA 大鼠关节内注射 PBS,IgG 对照或抗 CRP 抗体。发现与 IgG 或 PBS 相比,抗 CRP 抗体可减轻 CRP H 大鼠的骨质侵蚀和骨吸收,并防止骨质流失,充分说明 CIA 大鼠通过 CRP 导致骨侵蚀^[13]。有研究直接指出,CRP 可以诱发关节炎兔的炎症延长,并直接促进破骨细胞的形成,引起骨丢失^[14]。这些研究表明,CRP 和骨丢失之间有着密切的联系,尽管 CRP 的因果作用仍然不确定。

众所周知,原纤毛的结构影响物质交换。原纤毛长度变化预示原纤毛功能改变^[15]。本研究的一个新的重要发现是 CRP 通过增加细胞原纤毛的表达来引起骨丢失,原纤毛是骨组织损伤的关键。研究发现,ROB 被 CRP 处理后,细胞原纤毛比以往的成骨细胞增长甚至变多,提示炎症可能导致成骨细胞原纤毛发生变化,从而导致骨丢失。Zhou 等^[16]

发现经由 Wnt10b/ β -catenin 信号传导的成骨促进作用取决于成骨细胞中原纤毛的功能完整性。Moore 等^[17]发现骨膜祖细胞促进成年小鼠负荷诱导的骨形成,并需要原纤毛感知机械刺激。另一方面,Baek 等^[18]通过研究脂多糖诱导产生的神经炎症发现原纤毛调控了炎症介质的表达。同样,Wann 等^[19]发现在炎症因子白细胞介素-1(IL-1)作用下原纤毛的增长,测试原纤毛参与介导下游炎症反应,结果表明原纤毛调节炎症因子反应。这些发现表明,原纤毛参与了炎症与骨丢失的调节,而本研究发现 CRP 通过激发细胞原纤毛表达破坏骨生成过程。

大多数慢性炎症性疾病的原因尚不清楚,因此必须使用专门针对炎症过程的治疗策略。如上所述,促炎细胞因子不仅在炎症的最终途径中起作用,而且还影响成骨细胞的活性,导致全身性骨丢失。因此,减少和理想地消除炎症仍然是重要的治疗目标。本研究应用酶消化法获得 SD 大鼠乳鼠颅骨细胞,传代 2 次后用于后续实验,主要研究了 5 mg/mL 的 CRP 对 SD 大鼠乳鼠颅骨细胞 ROB 的增殖、成骨分化和基质矿化的作用。结果发现,在 5 mg/mL 浓度下 CRP 对细胞增殖能力,成骨分化抑制。同时,CRP 使细胞原纤毛蛋白含量急剧增多,细胞原纤毛数量增加,长度变长,CRP 促进了细胞原纤毛的表达。总之,本研究结果表明,CRP 可能不仅是炎症标志物,还是导致骨丢失的致病介质。CRP 通过促进细胞原纤毛的表达来抑制成骨细胞增殖和成骨分化,因此 CRP 或可成为检测骨丢失的指标之一,成骨细胞原纤毛可能为炎症引起的一系列骨病提供潜在的治疗靶点。

【参 考 文 献】

- [1] Redlich K, Smolen JS. Inflammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2012, 11(3):234-250.
- [2] Zhe-Kun J, Hai-Yun L, Yu-Lin L, et al. Monomeric C-reactive protein binds and neutralizes receptor activator of NF- κ B ligand-induced osteoclast differentiation [J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9:234.
- [3] Ichikawa M, Liu D, Kastiris PL, et al. Subnanometre-resolution structure of the doublet microtubule reveals new classes of microtubule-associated proteins [J]. *Nature Communications*, 2017, 8:15035.
- [4] Liu H, Kiseleva AA, Golemis EA. Ciliary signalling in cancer [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2018, 18:511-524.
- [5] Michael Higgins, Ismael Obaidi, Tara McMorrow. Primary cilia and their role in cancer [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(3):3041-3047.
- [6] Watson J, Round A, Hamilton W. Raised inflammatory markers [J]. *BMJ*, 2012, 344:e454.
- [7] Chen J, Jin J, Song M, et al. C-reactive protein down-regulates endothelial nitric oxide synthase expression and promotes apoptosis in endothelial progenitor cells through receptor for advanced glycation end-products [J]. *Gene*, 2012, 496(2):128-135.
- [8] Fang Z, Lv J, Wang J, et al. C-reactive protein promotes the activation of fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis [J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11:958.
- [9] Yoshida T, Ichikawa J, Giuroiu I, et al. C reactive protein impairs adaptive immunity in immune cells of patients with melanoma [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1):e000234.
- [10] Jimenez RV, Wright TT, Jones NR, et al. C-reactive protein impairs dendritic cell development, maturation, and function: Implications for peripheral tolerance [J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9:372.
- [11] Jimenez RV, Kuznetsova V, Connelly AN, et al. C-reactive protein promotes the expansion of myeloid derived cells with suppressor functions [J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10:2183.
- [12] Tang Y, Huang XR, Lv J, et al. C-reactive protein promotes acute kidney injury by impairing G1/S-dependent tubular epithelium cell regeneration [J]. *Clin Sci*, 2014, 126(9):645-659.
- [13] Liang C, Li J, Lu C, et al. HIF1 α inhibition facilitates Leflunomide-AHR-CRP signaling to attenuate bone erosion in CRP-aberrant rheumatoid arthritis [J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1):4579.
- [14] Kim KW, Kim BM, Moon HW, et al. Role of C-reactive protein in osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2015, 17(1):41.
- [15] McMurray RJ, Akt W, Thompson CL, et al. Surface topography regulates wnt signaling through control of primary cilia structure in mesenchymal stem cells [J]. *Scientific Reports*, 2013, 3(12):3545.
- [16] Zhou J, Gao YH, Zhu BY, et al. Sinusoidal electromagnetic fields increase peak bone mass in rats by activating wnt10b/ β -catenin in primary cilia of osteoblasts [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(7):1336-1351.
- [17] Moore ER, Xing ZY, Seul RH, et al. Periosteal progenitors contribute to load-induced bone formation in adult mice and require primary cilia to sense mechanical stimulation [J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2018, 9(1):190.
- [18] Baek H, Shin HJ, Kim JJ, et al. Primary cilia modulate TLR4-mediated inflammatory responses in hippocampal neurons [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1):189.
- [19] Wann AK, Knight MM. Primary cilia elongation in response to interleukin-1 mediates the inflammatory response [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(17):2967-2977.

(收稿日期:2020-06-28;修回日期:2020-09-02)