

Wnt/ β -catenin 信号通路在骨重建中的作用研究进展*

周 君^{1,2,3} 何成奇^{2,3,4}

骨重建包括骨吸收及其耦联的骨形成两方面,在正常情况下,成骨细胞介导的骨形成和破骨细胞介导的骨吸收维持动态平衡。Wnt/ β -catenin 信号通路在骨重建过程中起到重要的作用,与成骨细胞分化、增殖和骨形成密切相关,并通过不同途径影响破骨细胞及骨细胞的功能,现就 Wnt/ β -catenin 信号通路在骨重建过程中的作用作一综述。

Wnt/ β -catenin 信号通路,进化保守,在胚胎发育、器官形成中起到重要作用,参与肿瘤的形成,并在骨重建过程中起到重要作用^[1]。Wnt/ β -catenin 信号通路主要由以下几种蛋白构成:Wnts 蛋白、低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6(Low density lipoprotein receptor related protein 5/6, LRP5/6)、卷曲蛋白(Frizzled, Frz)、散乱蛋白(Dishevelled, Dsh)、糖原合成酶激酶-3 β (Glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、结直肠腺瘤性息肉蛋白(Adenomatous polyposis coli, APC)、 β -链蛋白(β -catenin)、轴蛋白(Axin)和核内转录因子 T 细胞因子(T cell factor, TCF)/淋巴样增强因子(Lymphoid enhancing factor, LEF)等^[1]。无 Wnts 信号时, Axin、GSK-3 β 、APC、 β -catenin 形成复合物,磷酸化 APC 有助于 APC 与 β -catenin 的结合,而 β -连环蛋白氨基端丝/苏氨酸的磷酸化,则是启动泛素系统降解 β -链蛋白的起始信号^[1]。而当有 Wnts 信号时, wnts 与膜受体 Frizzled、LRP5 结合后,通过 G 蛋白耦联受体将信号传入细胞内, GSK-3 β 活性受到抑制,使 β -catenin 在胞质内累积,当 β -catenin 蛋白累积到一定量,就可以转位进入细胞核内,并与 Tcf / Lef 转录因子共同作用激活和调控靶基因的转录^[1]。

1 Wnt/ β -catenin 信号通路与成骨细胞

成骨细胞起源于多能的骨髓间充质干细胞,骨髓间充质干细胞依次分化为骨祖细胞、前成骨细胞,最后分化为成骨细胞,在分化最后阶段,成骨细胞被矿化的骨基质包埋而成为骨细胞^[2]。Wnt/ β -catenin 信号通路主要通过调控成骨细胞定向分化和特异基因的表达,增强成骨细胞活性;促进细胞外基质的矿化,促进骨形成,调控骨重建。目前,对成骨细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路研究主要集中在 Wnts 及拮抗物 WIF-

1、sFRPs、Lrp5 及其拮抗物 DKK1、 β -链蛋白及其拮抗物 GSK3 β 上。

1.1 调控成骨细胞定向分化

在 C3H10T1/2、C2C12 和 ST2 细胞, Wnt1、Wnt2、Wnt3a 可以诱导碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)的表达^[3], Wnt10b 可以快速抑制向脂肪细胞分化^[4]。Wnt10b 与骨密度密切相关,小鼠 Wnt10b 过表达,不影响破骨细胞的数量和活性,但可促进成骨细胞生成,从而促进骨形成,增加骨量,而 Wnt10b^{-/-}小鼠引起血清骨钙素下降和小梁骨骨量下降^[5-6]。与 Wnt10b 类似, Wnt10a 表达增多稳定细胞质内 β -catenin 的含量,从而抑制前成脂肪细胞 3T3-L1 向脂肪细胞分化而促进向成骨细胞分化;而 Wnt6 基因敲除导致的促进向前成脂肪细胞分化和抑制向成骨细胞分化的程度比敲除 Wnt10a 或 Wnt10b 更重,提示 Wnt6 也是调控骨髓间充质干细胞命运的重要因素。敲除 β -catenin 基因后,完全阻止了 Wnt6、Wnt10a 和 Wnt10b 对成脂肪细胞的抑制作用和促进成骨细胞分化的作用^[7]。这些结果提示 Wnt6、Wnt10a 和 Wnt10b 依赖 β -catenin 的途径抑制骨髓间充质干细胞向成脂肪分化,促进向成骨细胞分化。Wnt16 影响皮质骨厚度、骨密度、骨强度,与骨质疏松性骨折相关^[8]。

WIF-1^[9]和 sFRPs^[10]是 Wnts 的拮抗物,与 Wnts 结合而抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路, sFRP-1^{-/-}小鼠表现出小梁骨增加^[10]。DKK1 通过抑制 Wnt、Frizzled 受体和 LRP5 共受体复合物,减弱 Wnt 信号级联^[3]。Wnt3a 和 DKK1 的基因突变可能与原发性骨质疏松的易感性相关^[11]。Wnt 拮抗剂 sFRP4 的基因多态性与激素治疗韩国绝经后骨质疏松症的疗效密切相关^[12]。

LRP5 基因敲除小鼠,成骨细胞增殖分化受抑制,表现为骨密度下降;LRP5 基因的第三外显子如果发生一碱基点突变,使 LRP5 蛋白的第 171 位甘氨酸变为缬氨酸,可以导致高骨量的表型;LRP5 基因的不同类型突变,可导致两种截然相反的表型,即功能获得性基因突变能够使骨量增加,而功能丧失性基因突变可以导致骨量下降,LRP5 基因突变可能导致 Wnt 信号通路活性下降诱发原发性骨质疏松^[13]。另外,

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2015.05.024

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(NO.81171865);湖南省卫生厅资助项目(B2014-052)

1 南华大学附属第一医院康复科,湖南衡阳,421001; 2 四川大学华西医院康复科; 3 康复医学四川省重点实验室; 4 通讯作者
作者简介:周君,男,博士,主治医师; 收稿日期:2014-03-15

LRP5的多态性与骨质疏松性骨折相关,LRP6的多态性与低骨量相关,提示骨质疏松与遗传有关^[14]。

基于基因芯片技术的生物信息学研究发现 β -catenin是成骨细胞分化和增殖的关键基因^[15]。通过遗传手段使 β -链蛋白在成骨细胞发育的不同阶段缺失,结果发现Wnt/ β -catenin信号通路在不同发育阶段,通过不同的作用机制调控成骨细胞增值分化和骨形成^[16]。在胚胎发育早期,特异性缺失 β -链蛋白的间充质干细胞中骨形成相关标志物的表达水平降低。培养来源于敲除 β -catenin基因小鼠的骨髓细胞,结果显示骨髓间充质干细胞向脂肪细胞分化增多而向成骨细胞分化减少^[16]。GSK3 β 通过磷酸化 β -链蛋白、Axin和APC复合物,从而抑制 β -链蛋白在细胞浆内的聚集和向核转位。口服GSK3 β 抑制剂AZD2858,可以增加SD大鼠小梁骨及皮质骨的骨量,提高骨的生物力学性能^[17];能通过促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化,促进骨痂的生长,从而促进骨折的愈合,提示抑制GSK3 β 促进骨形成^[18]。

1.2 增强成骨细胞活性

LRP5可以增强Wnt/ β -catenin信号通路对成骨细胞的效应,缺少细胞膜上的LRP5分子会抑制成骨细胞的增殖,LRP5^{-/-}实验动物单位骨面积的总成骨细胞数比较少,而骨形成和骨基质附着速度下降约50%^[4,19]。

1.3 Wnt/ β -catenin信号通路可能决定了BMPs对成骨细胞的形成作用

研究发现骨形态发生蛋白(BMPs)能诱导骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化,经典Wnt信号通路与BMPs信号通路在成骨分化过程中存在复杂的“串话”^[20]。Wnt/ β -catenin信号通路诱导成骨细胞BMP2的表达,Wnt信号通路和BMPs信号通路的串话决定BMPs信号通路的活性、成骨细胞的分化以及骨的形成,提示在成骨细胞分化的过程中,Wnt信号通路是BMPs通路的上游信号通路^[21]。尽管对骨生成的调控机制有一定程度的研究,而对于整个的调控网络的研究少有涉及。有学者在动物实验中探讨经典的Wnt信号通路和依赖Smad的BMPs信号通路在骨生成过程中不同阶段的作用机制,早期,BMPs信号通路诱导多潜能骨髓间充质干细胞向骨软骨原细胞分化,接着Wnt信号通路诱导骨软骨原细胞向成骨细胞分化,随后,通过不同的机制,Wnt/ β -catenin信号通路和依赖Smad的BMPs信号通路促进成骨细胞的分化^[22]。

细胞外基质磷酸化糖蛋白(matrix extracellular phosphoglycoprotein,Mepe)是矿化成骨细胞和骨细胞的特有的标志物,Wnt3a显著增加MEPE mRNA表达,在 β -catenin基因敲除的情况下,Wnt3a不能刺激Mepe mRNA表达,而 β -catenin基因过表达显著增加Mepe mRNA表达,甚至在缺乏Wnt3a的情况下也能增加Mepe mRNA表达,同时也发现Wnt3a能上调BMP2的表达。总之,Wnt3a通过直接激活 β -catenin的

Wnt经典信号通路和间接通过激活BMP2自分泌环路机制促进Mepe的表达,进一步提示Wnt信号通路和BMP2信号通路在骨生成的调控机制中有交互作用^[23]。

2 Wnt/ β -catenin信号通路与破骨细胞

破骨细胞是一个高度分化的多核巨细胞,来源于单核细胞/巨噬细胞谱系细胞,直接参与骨吸收,是执行骨吸收功能的唯一细胞,在维持骨重建平衡中起到重要作用。Wnt/ β -catenin信号通路在骨吸收的生理和病理过程也起到重要的作用^[24]。在新生的小鼠, β -catenin不仅可以促进成骨细胞介导的骨形成,而且还可以抑制破骨细胞介导的骨吸收^[25]。特异性缺失 β -链蛋白的间充质干细胞,在成骨分化晚期,成骨细胞没有受到影响,反而破骨细胞的活性受到抑制^[19]。

因为RANKL/RANK/OPG信号通路是各种信号通路调节骨吸收的最后通路^[26],大多数研究^[27-28]显示Wnt/ β -catenin信号通路对破骨细胞介导骨吸收的影响是通过RANK/RANKL/OPG信号系统来实现的。从细胞和分子层面研究显示 β -catenin能够上调成骨细胞表达OPG,从而能抑制破骨细胞的分化,抑制骨吸收。在成骨细胞发育后期,Wnt3b、LRP6和 β -链蛋白的表达增高可以抑制RANKL的活性,从而减少破骨细胞的数量和抑制破骨细胞骨吸收活性^[29]。Wnt/ β -catenin信号通路还可以通过增加OPG/RANKL的比例抑制破骨细胞形成和破骨细胞的活性,从而抑制骨吸收^[27-28]。

3 Wnt/ β -catenin信号通路与骨细胞

在成骨分化的终末阶段,成骨细胞被矿化的骨基质包埋而成为骨细胞,在成熟骨组织中,骨细胞占有所有细胞成分的90%—95%,骨细胞可以分泌可溶性因子,不仅可以影响骨组织局部,还可以对其他组织如肾、肌肉等产生影响^[2]。尽管机制尚未完全明了,骨细胞能调控破骨细胞的生成,从而影响骨吸收^[30],而且,骨细胞还可以通过影响Wnt/ β -catenin信号通路对成骨细胞的功能产生作用。因此,骨细胞对维持骨和其他组织、器官的正常功能起到重要的作用,特别是在骨折修复和骨重建中起到重要的作用^[2]。Wnt/ β -catenin信号通路与骨细胞的联系主要是通过骨细胞分泌骨硬化蛋白来实现。骨细胞分泌的骨硬化蛋白,是由Sost基因编码的Wnt信号拮抗剂,通过抑制Wnt信号通路抑制成骨细胞介导的骨形成,从而影响骨重建。拮抗骨硬化蛋白可以解除对Wnt信号通路的抑制,从而促进骨形成,缓解骨质疏松的症状,这为临床治疗骨质疏松等疾病提供了新思路与新方法。短期使用骨硬化蛋白抗体,通过Wnt/ β -catenin信号通路刺激成骨细胞活性,增加骨密度,减少长骨骨折^[31]。临床研究表明骨硬化蛋白通过抑制Wnt信号通路调控骨形成,低血骨硬化蛋白浓度与骨密度增加有关,研究表明高血骨硬化蛋白水平是绝经

后妇女骨质疏松性骨折的独立危险因素^[32]。

4 各种干预措施对骨代谢过程中Wnt/ β -catenin信号通路的影响

有学者为了探讨绝经后骨质疏松症发病过程中Wnt/ β -catenin信号通路的激活情况,结果发现大鼠切除卵巢4周后,血清雌二醇水平明显下降,骨密度降低,而且骨组织中LRP5、 β -catenin和骨形成关键基因Runx2 mRNA表达水平明显减少;因为LRP5和 β -catenin是经典Wnt信号通路的重要组成部分,LRP5和 β -catenin表达的下降,说明去势大鼠骨组织中Wnt/ β -catenin信号通路受到抑制,提示Wnt/ β -catenin信号通路的抑制有可能是绝经后骨质疏松症发病机制之一^[33]。然而,也有一项研究表明大鼠去卵巢12周后Wnt/ β -catenin信号通路被激活^[34]。究其原因,Wnt/ β -catenin信号通路在去势大鼠中的功能状态可能与去卵巢的时间有关。

与野生型比较,使用应力轴向刺激LRP5 A214V转基因小鼠,可以显著增加骨膜反应,促进骨形成,提示LRP5获得性变异可以提高机械刺激对骨形成的效应^[35]。把Long-Evans大鼠在低浓度铅的环境中暴露18个月,结果显示铅能导致骨密度下降、容易发生骨折。分子生物学显示骨硬化蛋白、PPAR- γ 表达增高,而 β -catenin和Runx2相应降低,提示铅可能通过抑制Wnt信号通路,使骨髓间充质干细胞向脂肪细胞分化增多,向成骨细胞分化减少,最后导致骨形成下降,骨量降低^[36]。

淫羊藿的黄酮类成分呈浓度依赖地增加骨髓间充质干细胞ALP,骨钙素、I型胶原及成骨细胞早期分化因子如Runx2的表达,增加Wnt信号相关分子 β -catenin, LRP5和TCF蛋白的表达,而抑制与向脂肪细胞分化相关因子如PPAR γ -2和C/EBP α 的表达。在培养液中加入Wnt信号抑制剂DKK1后,成骨分化相关因子表达下降而脂肪分化相关因子表达上升,并且Wnt信号通路的 β -catenin, LRP5和TCF蛋白的表达也受到抑制。以上结果提示淫羊藿的黄酮类成分通过激活Wnt信号通路来调节骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化和脂肪细胞分化的动态平衡,促进向成骨细胞分化、抑制向脂肪细胞分化,是淫羊藿的黄酮类成分治疗骨质疏松的作用机制^[37]。骨碎补总黄酮诱导大鼠骨髓间充质干细胞,向成骨细胞分化,伴随Wnt/ β -catenin信号通路相关因子 β -catenin、淋巴增强因子1(LEF-1)、细胞周期蛋白D(cyclin D) mRNA的表达均增加^[38]。周君等^[39]研究电针对去卵巢大鼠骨质疏松动物模型的影响,结果显示电针能增加骨密度、改善骨组织的形态结构,提高骨的生物力学性能,而且电针还能上调骨髓细胞LRP5和 β -catenin的表达,提示电针可能通过激活Wnt/ β -catenin信号通路的机制抑制去卵巢大鼠骨量的丢失。

去卵巢大鼠经过平板训练后,通过调节磷酸化的GSK-3 β 调控骨重建,促进骨形成,从而使腰椎的生物力学性能得到改善,而成脂肪的标志物PPAR γ 蛋白表达下降,提示运动训练通过激活Wnt/ β -catenin信号通路抑制去卵巢大鼠的骨量下降^[40]。周君等^[41]研究脉冲电磁场(pulsed electromagnetic fields, PEMFs)对去卵巢大鼠骨质疏松动物模型的影响,用频率为8Hz、强度为3.82mT的脉冲电磁场,每天干预1次,每周5天,共干预12周,结果显示PEMFs能上调Wnt3a、LRP5、 β -catenin、c-myc和Runx2的表达,下调DKK1的表达,提示PEMFs可以通过激活Wnt/ β -catenin信号通路的机制防治去卵巢大鼠骨量的丢失及骨的生物力学性能下降。

Wnt/ β -catenin信号通路在骨重建过程中起着关键的作用,Wnt/ β -catenin信号通路主要通过调控成骨细胞定向分化和特异基因的表达、增强成骨细胞活性、促进细胞外基质的矿化等机制促进骨形成,并且可以影响到破骨细胞及骨细胞的功能,从而调控骨重建过程。

参考文献

- [1] Clevers H, Nusse R. Wnt/beta-catenin signaling and disease [J]. Cell,2012,149: 1192—1205.
- [2] Bonewald LF. The amazing osteocyte[J]. J Bone Miner Res, 2011,26: 229—238.
- [3] Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases[J]. Gene, 2004, 341: 19—39.
- [4] Krishnan V, Bryant HU, Macdougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signaling[J]. J Clin Invest, 2006,116: 1202—1209.
- [5] Bennett CN, Longo KA, Wright WS, et al. Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 3324—3329.
- [6] Bennett CN, Ouyang H, Ma YL, et al. Wnt10b increases postnatal bone formation by enhancing osteoblast differentiation[J]. J Bone Miner Res, 2007, 22: 1924—1932.
- [7] Cawthorn WP, Bree AJ, Yao Y, et al. Wnt6, Wnt10a and Wnt10b inhibit adipogenesis and stimulate osteoblastogenesis through a beta-catenin-dependent mechanism[J]. Bone, 2012, 50: 477—489.
- [8] Zheng HF, Tobias JH, Duncan E, et al. WNT16 influences bone mineral density, cortical bone thickness, bone strength, and osteoporotic fracture risk[J]. PLoS Genet, 2012, 8: e1002745.
- [9] Hsieh JC, Kodjabachian L, Rebbert ML, et al. A new secreted protein that binds to Wnt proteins and inhibits their activities[J]. Nature, 1999, 398: 431—436.
- [10] Bodine PV, Zhao W, Kharode YP, et al. The Wnt antagonist secreted frizzled-related protein-1 is a negative regulator of trabecular bone formation in adult mice[J]. Mol Endocrinol, 2004, 18: 1222—1237.
- [11] Korvala J, Loija M, Makitie O, et al. Rare variations in WNT3A and DKK1 may predispose carriers to primary osteoporosis[J]. Eur J Med Genet, 2012, 55: 515—519.

- [12] Kim H, Lee DO, Ku SY, et al. The association between polymorphisms in Wnt antagonist genes and bone response to hormone therapy in postmenopausal Korean women[J]. *Menopause*, 2012, 19: 1008—1014.
- [13] Korvala J, Juppner H, Makitie O, et al. Mutations in LRP5 cause primary osteoporosis without features of OI by reducing Wnt signaling activity[J]. *BMC Med Genet*, 2012, 13: 26.
- [14] Riancho JA, Olmos JM, Pineda B, et al. Wnt receptors, bone mass, and fractures: gene-wide association analysis of LRP5 and LRP6 polymorphisms with replication[J]. *Eur J Endocrinol*, 2011, 164: 123—131.
- [15] Yu W, Zhang Y, Xu L, et al. Microarray-based bioinformatics analysis of osteoblasts on TiO₂ nanotube layers[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2012, 93: 135—142.
- [16] Song L, Liu M, Ono N, et al. Loss of wnt/beta-catenin signaling causes cell fate shift of preosteoblasts from osteoblasts to adipocytes[J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27: 2344—2358.
- [17] Marsell R, Sisask G, Nilsson Y, et al. GSK-3 inhibition by an orally active small molecule increases bone mass in rats [J]. *Bone*, 2012, 50: 619—627.
- [18] Sisask G, Marsell R, Sundgren-Andersson A, et al. Rats treated with AZD2858, a GSK3 inhibitor, heal fractures rapidly without endochondral bone formation[J]. *Bone*, 2013, 54: 126—132.
- [19] Hartmann C. A Wnt canon orchestrating osteoblastogenesis [J]. *Trends Cell Biol*, 2006, 16: 151—158.
- [20] Lee JH, Kim BG, Ahn JM, et al. Role of PI3K on the regulation of BMP2-induced beta-Catenin activation in human bone marrow stem cells[J]. *Bone*, 2010, 46: 1522—1532.
- [21] Zhang R, Oyajobi BO, Harris SE, et al. Wnt/beta-catenin signaling activates bone morphogenetic protein 2 expression in osteoblasts[J]. *Bone*, 2013, 52: 145—156.
- [22] Marcellini S, Henriquez JP, Bertin A. Control of osteogenesis by the canonical Wnt and BMP pathways in vivo: cooperation and antagonism between the canonical Wnt and BMP pathways as cells differentiate from osteochondroprogenitors to osteoblasts and osteocytes[J]. *Bioessays*, 2012, 34: 953—962.
- [23] Cho YD, Kim WJ, Yoon WJ, et al. Wnt3a stimulates Mepe, matrix extracellular phosphoglycoprotein, expression directly by the activation of the canonical Wnt signaling pathway and indirectly through the stimulation of autocrine Bmp-2 expression[J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227: 2287—2296.
- [24] Maeda K, Takahashi N, Kobayashi Y. Roles of Wnt signals in bone resorption during physiological and pathological states[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91: 15—23.
- [25] Chen J, Long F. Beta-catenin promotes bone formation and suppresses bone resorption in postnatal growing mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28: 1160—1169.
- [26] Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 473: 139—146.
- [27] Chen B, Li XD, Liu DX, et al. Canonical Wnt signaling is required for Panax notoginseng saponin-mediated attenuation of the RANKL/OPG ratio in bone marrow stromal cells during osteogenic differentiation[J]. *Phytomedicine*, 2012, 19: 1029—1034.
- [28] Glass 2nd DA, Bialek P, Ahn JD, et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation[J]. *Developmental cell*, 2005, 8: 751.
- [29] Spencer GJ, Utting JC, Etheridge SL, et al. Wnt signalling in osteoblasts regulates expression of the receptor activator of NFkappaB ligand and inhibits osteoclastogenesis in vitro [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119: 1283—1296.
- [30] O'Brien CA, Nakashima T, Takayanagi H. Osteocyte control of osteoclastogenesis[J]. *Bone*, 2013, 54: 258—263.
- [31] Sinder BP, Eddy MM, Ominsky MS, et al. Sclerostin antibody improves skeletal parameters in a Brl/+ mouse model of osteogenesis imperfecta[J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28: 73—80.
- [32] Ardawi MS, Rouzi AA, Al-Sibiani SA, et al. High serum sclerostin predicts the occurrence of osteoporotic fractures in postmenopausal women: the center of excellence for osteoporosis research study[J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27: 2592—2602.
- [33] 王燕, 刘岩, 马剑侠, 等. Wnt/LRP5/β-catenin 信号通路在绝经后骨质疏松发病中的作用[J]. *中华妇产科杂志*, 2011, 46: 769—772.
- [34] 周君, 何红晨, 刘慧芳, 等. 去卵巢对大鼠 Wnt/β-catenin 信号通路的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34: 2152—2154.
- [35] Niziolek PJ, Warman ML, Robling AG. Mechanotransduction in bone tissue: The A214V and G171V mutations in Lrp5 enhance load-induced osteogenesis in a surface-selective manner[J]. *Bone*, 2012, 51: 459—465.
- [36] Drevelle O, Daviau A, Lauzon MA, et al. Effect of BMP-2 and/or BMP-9 on preosteoblasts attached to polycaprolactone functionalized by adhesive peptides derived from bone sialoprotein[J]. *Biomaterials*, 2013, 34: 1051—1062.
- [37] Xu YX, Wu CL, Wu Y, et al. Epimedium-derived flavonoids modulate the balance between osteogenic differentiation and adipogenic differentiation in bone marrow stromal cells of ovariectomized rats via Wnt/beta-catenin signal pathway activation[J]. *Chin J Integr Med*, 2012, 18: 909—917.
- [38] 郭英, 李佩芳, 舒晓春, 等. 骨碎补总黄酮对骨髓间充质干细胞成骨分化过程中 Wnt/β-catenin 信号通路的影响[J]. *中华医学杂志*, 2012, 92: 2288—2291.
- [39] Zhou J, Chen S, Guo H, et al. Electroacupuncture prevents ovariectomy-induced osteoporosis in rats: a randomised controlled trial[J]. *Acupunct Med*, 2012, 30: 37—43.
- [40] Bu S, Chen Y, Wang S, et al. Treadmill training regulates beta-catenin signaling through phosphorylation of GSK-3beta in lumbar vertebrae of ovariectomized rats[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2012, 112: 3295—3304.
- [41] Zhou J, He H, Yang L, et al. Effects of pulsed electromagnetic fields on bone mass and Wnt/beta-catenin signaling pathway in ovariectomized rats[J]. *Arch Med Res*, 2012, 43: 274—282.