

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.02.010

柚皮苷和木犀草素联合应用对大鼠 BMSCs 诱导成骨过程中 Wnt/ β -canein 通路相关基因表达的影响*

周哲人^{1,2} 马 训² 么焕开³ 吴奇懂¹ 张心怡¹ 叶子欣¹ 杨 锋^{1,2Δ}

(1 徐州医科大学口腔医学院 江苏 徐州 221004; 2 徐州医科大学附属医院口腔科 江苏 徐州 221004;

3 徐州医科大学药学院 江苏 徐州 221004)

摘要 目的:探讨柚皮苷和木犀草素联合应用对大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)诱导成骨过程中 Wnt/ β -canein 通路相关基因表达的影响。**方法:**取大鼠股骨中提取的 BMSCs,分别建立 A 组(空白组)、B 组给予柚皮苷溶液 10 μ mol/L, C 组给予木犀草素溶液 5 μ mol/L; D 组给予骨碎补总黄酮溶液 10 mg/mL; E 组给予柚皮苷-木犀草素混合溶液配伍比为 10 μ mol/L:5 μ mol/L, 并诱导其向成骨细胞分化。应用碱性磷酸酶(ALP)染色及分光光度法检测第 7 d 各组细胞 ALP 活性。应用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测第 7 d 各组细胞 Wnt/ β -canein 通路相关基因及成骨基因的表达。**结果:**B 组、C 组、D 组、E 组细胞 562 nm 波长下光密度(OD)值显著高于 A 组, E 组细胞 562 nm 波长下 OD 值最高, 显著高于 B 组、C 组、D 组($P < 0.05$)。B 组、C 组、D 组、E 组细胞 ALP、骨钙素(OCN)、Runt 相关转录因子 2(RUNX2)基因表达水平显著高于 A 组, E 组 ALP、OCN、RUNX2 基因表达水平最高, 显著高于 B 组、C 组、D 组($P < 0.05$)。B 组、C 组、D 组、E 组细胞 β -catenin、Cyclin D1 基因表达水平显著高于 A 组; B 组、E 组 LEF-1 基因表达水平显著高于 A 组; E 组 β -catenin、LEF-1、Cyclin D1 基因表达水平最高, 显著高于 B 组、C 组、D 组($P < 0.05$)。**结论:**柚皮苷和木犀草素均具有促进大鼠 BMSCs 增殖和诱导其成骨向分化的作用, 柚皮苷和木犀草素联合应用诱导大鼠 BMSCs 增成骨作用最强, 其主要机制与 Wnt/ β -canein 通路激活有关。

关键词:柚皮苷; 木犀草素; 骨髓间充质干细胞; 成骨; Wnt/ β -canein 通路

中图分类号:R-33; R782.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)02-258-05

Combined Application of Naringin and Luteolin on the Osteogenesis of Rat BMSCs and Related Genes Expression of Wnt/ β -canein Pathway*

ZHOU Zhe-ren^{1,2}, MA Xun², YAO Huan-ka³, WU Qi-chong¹, ZHANG Xin-yi¹, YE Zi-xin¹, YANG Feng^{1,2Δ}

(1 School of Stomatology, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221004, China;

2 Department of Stomatology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221004, China;

3 School of Pharmacy, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221004, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of naringin and luteolin on the osteogenesis of rat bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) and Wnt/ β -canein pathway expression. **Methods:** BMSCs extracted from rat femur were established. Group A (blank group) and group B were given naringin solution for 10 μ mol/L, group C was given luteolin solution for 5 μ mol/L, group D was given Rhizoma Drynariae total flavonoids solution 10 mg/mL, group E was given naringin luteolin mixed solution with a compatibility ratio of 10 μ mol/L: 5 μ mol/L, and induce it to differentiate into osteoblasts. Alkaline phosphatase (ALP) staining and spectrophotometry were used to detect the ALP activity of cells in each group on the 7th day. Wnt/ β -canein pathway related genes and osteogenic genes was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR). **Results:** The OD value of cells in group B, group C, group D and group E at 562 nm wavelength was significantly higher than that in group A. The OD value of cells in Group E at 562 nm wavelength was the highest, which was significantly higher than that in group B, group C and group D ($P < 0.05$). The expression levels of ALP, osteocalcin (OCN) and Runt related transcription factor 2 (RUNX2) genes in group B, C, D and E were significantly higher than those in group A. the expression levels of ALP, OCN and RUNX2 genes in Group E were the highest, which were significantly higher than those in group B, C and D ($P < 0.05$). β -catenin, Cyclin D1 in group B, group C, group D and group E were significantly higher than those in group A. The expression level of LEF-1 gene in group B and group E was significantly higher than that in group A. The gene expression levels of β -catenin, LEF-1, Cyclin D1 were the highest, which were significantly higher than those in group B, group C and group D ($P < 0.05$). **Conclusion:** Naringin and luteolin can promote the proliferation and osteogenic differentiation of rat BMSCs. The com-

* 基金项目:江苏省高等学校自然科学研究面上项目(20KJD320006);徐州市科技计划项目(KC211197);

江苏省大学生创新训练项目(202110313064Y)

作者简介:周哲人(1995-),男,硕士,住院医师,从事口腔修复学方向的研究, E-mail: zjj950805@163.com

△通讯作者:杨锋(1985-),男,硕士,副主任医师,硕士生导师,从事口腔修复学及种植学方向的研究, E-mail: yangfeng0909@126.com

(收稿日期:2022-04-23 接受日期:2022-05-18)

bined application of naringin and luteolin has the strongest osteogenic effect on rat BMSCs, and its main mechanism is related to Wnt/ β -cantinein activation pathway.

Key words: Naringin; Luteolin; Bone marrow mesenchymal stem cells; Osteogenesis; Wnt/ β -cantinein pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R782.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)02-258-05

前言

良好的牙槽骨骨质和骨量是种植义齿、可摘局部义齿及全口义齿等各类口腔修复治疗的基础,对后期修复效果起到了重要影响。一些先天性畸形、牙周病、肿瘤、代谢疾病及外伤等可以引起牙槽骨骨质和骨量的变化,影响治疗效果^[1,2]。目前,自体骨移植是临床上常用的牙槽骨缺损修复方法,也是临床的“金标准”^[3]。但自体骨移植受到患者供区骨量的影响以及病原体从供区传播到受植区的可能,加之取骨时会给患者带来一定痛苦,这可能会导致骨缺损修复失败。骨髓间充质干细胞(Bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是一种具有自我增殖和多向分化能力的多功能干细胞,近年来被广泛用于组织工程中^[4]。已有研究报道,通过 BMSCs 分化成骨细胞可以用于牙槽骨的再生^[5]。但 BMSCs 诱导成骨过程需要合适的药物或生物因子诱导,因此,寻找 BMSCs 诱导成骨过程有效的诱导药物是目前研究的热点。柚皮苷和木犀草素是中药材骨碎补的有效成分^[6,7]。研究表明,柚皮苷和木犀草素具有促进成骨、抗炎等多种功效,能够增加小鼠股骨中的骨矿物质含量,抑制破骨细胞分化^[8,9]。但两者联合应用对 BMSCs 诱导成骨过程的作用及机制仍不明确。Wnt/ β -catenin 信号通路是 BMSCs 成骨分化的关键调控途径,表现为通过参与成骨基因的转录和相关蛋白的合成,从而促进 BMSCs 增殖分化,并促进新骨的形成,这表明 BMSCs 的增殖和成骨向分化与 Wnt/ β -catenin 通路关系密切^[10]。本研究探讨柚皮苷和木犀草素联合应用对大鼠 BMSCs 诱导成骨过程中 Wnt/ β -cantinein 通路相关基因表达的影响,旨在提高缺损区牙槽骨的骨质和骨量,修复牙槽骨缺损,同时为实现牙槽骨再生提供新的研究思路。

1 材料和方法

1.1 主要材料与仪器、试剂

5 只 SD 雄性大鼠(4 周龄)购自徐州医科大学医学实验动物中心,动物许可证号为[(SYXK(苏)2021-002)],动物伦理委员会伦理审批号为(210211),体重(67.24 $\pm$ 5.87)g,饲养条件严格按照 SPF 级实验动物的规范要求,温度 20 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C,相对湿度 50%~70%,饲喂的鼠粮为 SPF 级小鼠标准饲料,饮用水为灭菌的纯净水。骨碎补药材购自中国玉林市康华中药饮片有限公司,胎牛血清、 α -MEM 培养基、0.25%胰蛋白酶、均购自美国 Gibco 公司,碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)染色试剂盒、ALP 活性检测试剂盒购自南京建成生物科技有限公司,逆转录试剂盒、实时荧光定量聚合酶链反应(Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)试剂盒、TP600 梯度 PCR 仪均购自日本 Takara 公司,6000i 大容量冷冻离心机购自美国 Thermofisher 公司,elx808 酶标仪购自德国 BioTek 公司。

1.2 方法

1.2.1 大鼠 BMSCs 的获取、培养及传代 取 SD 雄性大鼠(4 周龄)处死后置于 75%乙醇中浸泡,无菌条件下分离双侧胫骨和股骨,采用 α -MEM 培养基+10%胎牛血清+1%青霉素配成完全培养基,并反复向双侧胫骨和股骨髓腔中冲洗,收集到培养皿中进行细胞培养,条件为:37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、饱和湿度。常规细胞换液,细胞融合至 80%时进行细胞传代。传代后可加入新的完全培养基中培养,待细胞生长状态良好时可冻存备用。

1.2.2 柚皮苷和木犀草素的提取与鉴定 将 5 kg 骨碎补放入 75%乙醇中加热、溶解并回流提取,共 3 次,将提取液合并后浓缩,可获得骨碎补总黄酮溶液;再分别加入石油醚、正丁醇萃取获得石油醚萃取物和正丁醇萃取物,再将正丁醇萃取物加入硅胶柱色谱分离可获得 Fr.1-6, Fr.6, 经硅胶柱色谱分离及 ODS 反向柱色谱分离得到 G1、G2、G3; Fr.4 经硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, Sephadex LH-20 纯化获得 G5、G6、G7,其中 G1 为柚皮苷, G6 为木犀草素,可装入不透光的塑料瓶中 4 $^{\circ}$ C 下保存。

1.2.3 实验分组及细胞诱导 分别建立 A 组(空白组), B 组给予柚皮苷溶液 10 μ mol/L, C 组给予木犀草素溶液 5 μ mol/L, D 组给予骨碎补总黄酮溶液 10 mg/mL, E 组给予柚皮苷-木犀草素混合溶液配伍比为 10 μ mol/L: 5 μ mol/L, 每组均进行 3 次实验,取其平均值。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、饱和湿度条件下进行细胞培养,并诱导其向成骨细胞分化。

1.2.4 ALP 活性的检测 将培养的细胞用胰酶消化,细胞变圆脱落后,加入完全培养基 2 mL 终止消化,细胞重悬调整密度至 2 $\times$ 10⁴ 个/mL,接种于 24 孔板,按照分组各组加入相应的溶液,诱导细胞分化,培养 7 d 后吸出培养基, PBS 洗涤,加入 4%多聚甲醛固定 30 min,洗涤 3 次,加入 ALP 显色剂避光条件下反应 30 min。将溶液在冷冻离心机 4 $^{\circ}$ C 下 12000 rpm 离心 10 min,取上清,并加入 96 孔板,每孔加入上清液 20 μ L,加入配好的 BCA 工作液,37 $^{\circ}$ C 条件下避光孵育 30 min,放入酶标仪在 562 nm 波长下测定液体分光光度值,计算上清液蛋白浓度。并按照说明书加入 ALP 活性检测试剂,在 562 nm 波长下测定光密度(optical density, OD)值。

1.2.5 qRT-PCR 检测各组细胞成骨基因及 Wnt/ β -cantinein 通路相关基因表达 取各组细胞,方法同 1.2.4,加入 Trizol 1 mL 裂解细胞,按照说明书提取总 RNA 分子,再应用逆转录试剂盒生成 cDNA,然后进行基因扩增。细胞成骨基因包括:ALP、骨钙素(osteocalcin, OCN)、Runt 相关转录因子 2(Runt-associated transcription factor 2, RUNX2); Wnt/ β -cantinein 通路相关基因包括: β -catenin、淋巴增强因子 1(Lymphoid enhancer factor 1, LEF-1)、细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)。qRT-PCR 所用的引物序列见表 1,扩增体系为:5 $\times$ SYBRGreenI 缓冲液 10 μ L,上游引物(Forward)、下游引物(Reverse)各 10 pmol/ μ L, Taq 酶(3U/L)

1 μ L,cDNA 5 μ L,ddH₂O 3 μ L。反应条件为:93℃预变性 3 min, 以 GAPDH 为内参,应用公式 $RQ=2^{-\Delta\Delta C_T}$ 得到所有目的基因。然后 93℃变性 30 s,55℃退火 45 s,72℃延伸 45 s,共 40 循环。

表 1 qRT-PCR 所用的引物序列
Table 1 Primer sequences used in qRT-PCR

Genes	Sequences of primer (5'-3')
GAPDH	Forward: 5'-AGGGCTGCCTTTCTTGTGA-3'
	Reverse: 5'-AACTTGCCTGGGTAGA-3'
ALP	Forward: 5'-CACGTTGACTGTGGTTACTGCTGA-3'
	Reverse: 5'-CCTTGTAAACCAGGCCGTTG-3'
OCN	Forward: 5'-AGGGCAGCGAGGTAGTGAA-3'
	Reverse: 5'-TCCTGAAAGCCGATGTGGT-3'
RUNX2	Forward: 5'-TCTACTAGGCACTTCGTCAGG-3'
	Reverse: 5'-GCTTCCATCAGCGTCAACAC-3'
β -catenin	Forward: 5'-GGCATAGAGGCTCTGTGCG-3'
	Reverse: 5'-TGATGTCGGCTGGTCAGATG-3'
LEF-1	Forward: 5'-ATAAAGTGCCGGTGGTGACG-3'
	Reverse: 5'-TGTGTGACGGGTGAGACCCT-3'
Cyclin D1	Forward: 5'-AATCTCTCAACGACCGGGT-3'
	Reverse: 5'-TGGATGGCACAATCTCCCTC-3'

1.3 统计学方法

应用 SPSS25.0 统计学软件进行分析。经 K-S 检验符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组数据比较应用单因素方差分析,两组数据比较应用 LSD-t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义;结果经 GraphPad Prism5 软件绘图分析,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$,***表示 $P<0.001$ 。

2 结果

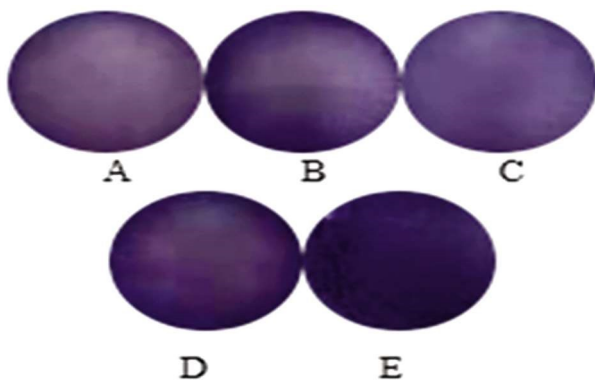


图 1 各组细胞第 7 d ALP 染色结果

Fig. 1 ALP staining results of cells in each group on the 7th day

2.1 各组细胞 ALP 活性检测结果

各组细胞培养 7 d,各组细胞 ALP 染色见图 1,酶标仪检测结果显示,B 组、C 组、D 组、E 组细胞 562 nm 波长下 OD 值显著高于 A 组,E 组细胞 562 nm 波长下 OD 值最高,显著高于 B 组、C 组、D 组($P<0.05$),见图 1,2。表明 E 组细胞的 ALP 活性最高。

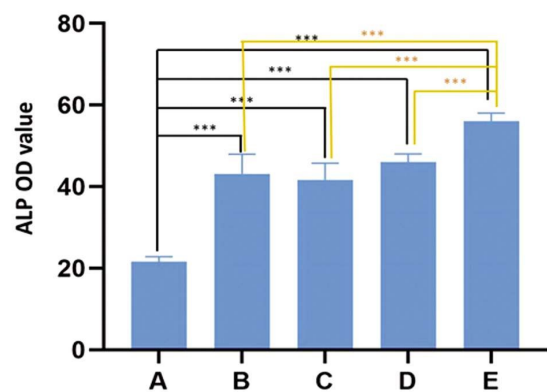


图 2 各组细胞第 7 d ALP 562 nm 波长下 OD 值

Fig. 2 OD value of cells in each group at ALP 562 nm wavelength on the 7th day

2.2 各组细胞成骨基因的表达

B 组、C 组、D 组、E 组细胞 ALP、OCN、RUNX2 基因表达水平显著高于 A 组,E 组 ALP、OCN、RUNX2 基因表达水平最高,显著高于 B 组、C 组、D 组($P<0.05$),见表 2。

2.3 各组细胞 Wnt/ β -catenin 通路相关基因表达情况

B 组、C 组、D 组、E 组细胞 β -catenin、Cyclin D1 基因表达水平显著高于 A 组($P<0.05$);B 组、E 组 LEF-1 基因表达水平显著高于 A 组 ($P<0.05$);E 组 β -catenin、LEF-1、Cyclin D1 基

因表达水平最高,显著高于B组、C组、D组($P<0.05$),C组与A组LEF-1基因表达水平无统计学差异($P>0.05$),见表3。

表2 各组细胞成骨基因的表达($\bar{x} \pm s$)Table 2 Expression of osteogenic genes in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	ALP	OCN	RUNX2
Group A	3	1.003 $\pm$ 0.131 [#]	1.011 $\pm$ 0.113 [#]	1.013 $\pm$ 0.112 [#]
Group B	3	1.432 $\pm$ 0.156 ^{*#}	1.353 $\pm$ 0.135 ^{*#}	1.396 $\pm$ 0.144 ^{*#}
Group C	3	1.345 $\pm$ 0.123 ^{*#}	1.397 $\pm$ 0.144 ^{*#}	1.335 $\pm$ 0.165 ^{*#}
Group D	3	1.496 $\pm$ 0.156 ^{*#}	1.303 $\pm$ 0.174 ^{*#}	1.405 $\pm$ 0.137 ^{*#}
Group E	3	1.751 $\pm$ 0.174	1.684 $\pm$ 0.181	1.714 $\pm$ 0.153
F		7.114	6.552	6.832
P		0.000	0.001	0.000

Note: *compared with group A, $P<0.05$. #compared with group E, $P<0.05$.

表3 各组细胞 Wnt/ β -caneitin 通路相关基因的表达($\bar{x} \pm s$)Table 3 Wnt/ β -caneitin pathway related genes in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	β -catenin	LEF-1	Cyclin D1
Group A	3	1.008 $\pm$ 0.103 [#]	1.003 $\pm$ 0.112 [#]	1.002 $\pm$ 0.101 [#]
Group B	3	1.355 $\pm$ 0.113 ^{*#}	1.234 $\pm$ 0.009 ^{*#}	1.283 $\pm$ 0.128 ^{*#}
Group C	3	1.375 $\pm$ 0.127 ^{*#}	1.006 $\pm$ 0.106 [#]	1.251 $\pm$ 0.112 ^{*#}
Group D	3	1.254 $\pm$ 0.135 ^{*#}	1.209 $\pm$ 0.114 [#]	1.402 $\pm$ 0.106 ^{*#}
Group E	3	1.503 $\pm$ 0.127	1.428 $\pm$ 0.183	1.531 $\pm$ 0.201
F		5.098	4.552	5.220
P		0.033	0.042	0.028

Note: *compared with group A, $P<0.05$. #compared with group E, $P<0.05$.

3 讨论

牙槽骨骨质和骨量受到多方面因素的影响。牙周炎、颌面部外伤、肿瘤等疾病可能导致牙列缺损和缺失,进而影响牙槽骨骨质和骨量。骨质疏松等全身性疾病也会导致牙槽骨骨质和骨量变化,影响口腔修复治疗效果^[11]。BMSCs是一种存在于骨髓中的具有多向分化潜能的非造血干细胞,也是目前组织细胞工程中最常用的干细胞^[12]。研究发现,BMSCs可以从骨髓中进入外周血液循环,并到达靶组织,通过多向分化和增殖起到修复组织缺损的作用^[13]。然而,BMSCs的骨向分化是一个非常复杂的过程,不仅需要合适的药物或生物因子诱导,同时受到多种生长因子、细胞因子、趋化因子的影响。骨碎补是临床常用的中药材,具有散瘀止痛、接骨续筋的功效,是治疗腰痛、牙痛等常用药材^[14]。现代药理学研究表明,骨碎补总黄酮是其主要的成分,而柚皮苷和木犀草素是骨碎补总黄酮中具有成骨活性的重要化学物质^[15]。覃浩然等报道,柚皮苷可以通过调节OPG/RANKL信号等促进成骨反应^[16]。李苑荟等报道,木犀草素可以促进牙周炎大鼠骨改建^[17]。

本研究通过对大鼠股骨中提取的BMSCs进行分组,并分别应用柚皮苷溶液10 μ mol/L,木犀草素溶液5 μ mol/L,骨碎补总黄酮溶液10 mg/mL,柚皮苷-木犀草素混合溶液(10 μ mol/L;5 μ mol/L)进行诱导成骨过程,同时设立空白对照组。

结果发现细胞培养7 d后,B组、C组、D组、E组细胞ALP活性显著高于A组,E组细胞的ALP活性最高。ALP是成骨细胞的表型标志物之一,可以直接反映成骨细胞的功能状况和活性^[18]。研究表明,ALP具有生物催化作用,它可以促进钙盐在骨骼中的沉积^[19]。目前对于骨碎补各种成分对大鼠BMSCs诱导成骨的作用差别还缺乏相关报道。本研究结果显示,无论柚皮苷、木犀草素、骨碎补总黄酮还是柚皮苷-木犀草素混合溶液均可以诱导BMSCs成骨,但柚皮苷-木犀草素混合溶液诱导细胞的ALP活性最高,诱导成骨的作用也最强。

本研究还对各组细胞成骨基因的表达情况进行了分析,结果发现各组细胞ALP基因表达与ALP活性实验类似,B组、C组、D组、E组细胞ALP表达水平显著升高,E组ALP基因表达水平最高,这一结果说明柚皮苷、木犀草素、骨碎补总黄酮、柚皮苷-木犀草素混合溶液可以在基因水平调控ALP的表达,从而诱导BMSCs成骨。另外,B组、C组、D组、E组细胞OCN、RUNX2基因表达水平显著高于A组,E组OCN、RUNX2基因表达水平最高,显著高于B组、C组、D组。OCN基因表达产物骨钙素是骨质矿化的重要物质,研究表明骨钙素可以促进骨细胞合成非胶原蛋白,促进骨转化^[20]。RUNX2是成骨细胞特异性转录因子,在骨组织的形成和重建中发挥重要作用^[21]。研究表明RUNX2可以调控BMSCs向成骨细胞分化,促进软骨细胞成熟^[22,23]。本研究结果提示柚皮苷、木犀草素、骨碎补总黄酮、柚

皮苷-木犀草素混合溶液可以促进骨细胞合成非胶原蛋白;调控 BMSCs 向成骨细胞分化。

Wnt/ β -catenin 通路是经典的信号通路,有学者发现,Wnt/ β -catenin 通路参与成骨的调控,并得到医学研究者的关注^[24,25]。研究表明,在成骨的早期 β -catenin 可以通过调控 BMSCs 分化为成骨细胞、破骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞等^[26,27]。 β -catenin 还可以促进 ALP、RUNX2 表达,促进成骨细胞的增殖^[28]。LEF-1 和 Cyclin D1 是 Wnt/ β -catenin 通路的重要分子,Wnt/ β -catenin 通路激活后可以诱导 LEF-1 和 Cyclin D1 表达,影响骨细胞的分化和骨的形成改建^[29,30]。本研究结果发现柚皮苷、木犀草素、骨碎补总黄酮、柚皮苷-木犀草素混合溶液可以通过调控 β -catenin、Cyclin D1 表达诱导 BMSCs 诱导成骨。但值得注意的是木犀草素对 LEF-1 调控功能较低,与空白对照并无统计学差异,因此推断木犀草素可能通过调控 β -catenin、Cyclin D1 表达诱导 BMSCs 成骨,但柚皮苷还可以通过调控 LEF-1 诱导 BMSCs 成骨。

综上所述,柚皮苷和木犀草素均具有促进大鼠 BMSCs 增殖和诱导其成骨向分化的作用,其作用强度不同,其中柚皮苷和木犀草素联合应用诱导大鼠 BMSCs 增殖成骨作用最强,柚皮苷和木犀草素与促进大鼠 BMSCs 增殖和诱导其成骨向分化的作用与 Wnt/ β -catenin 通路激活有关。

参考文献(References)

- [1] 周敏月,聂敏海,陈潇,等.组织工程修复牙槽骨临界骨缺损的研究进展[J].西南军医,2020,22(1): 51-54
- [2] Tetè G, D'Orto B, Nagni M, et al. Role of induced pluripotent stem cells (IPSCs) in bone tissue regeneration in dentistry: a narrative review[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2020, 34(6 Suppl. 3): 1-10
- [3] 李冀寅,贺平.自体牙骨移植材料在牙槽骨缺损修复中的应用进展[J].口腔医学研究,2019,35(3): 212-214
- [4] 沈梦杰,杨琨,刘琪.不同来源干细胞在口腔骨再生中的应用[J].中国组织工程研究,2019,23(25): 4068-4074
- [5] Mohamed-Ahmed S, Fristad I, Lie SA, et al. Adipose-derived and bone marrow mesenchymal stem cells: a donor-matched comparison[J]. Stem Cell Res Ther, 2018, 9(1): 168
- [6] 周群,曾弦,黄丹,等.骨碎补化学成分和生物活性研究进展[J].世界科学技术-中医药现代化,2021,23(8): 2727-2741
- [7] 于大鹏,孙卫强.骨碎补及其提取物应用于骨科疾病的药理作用研究概况[J].环球中医药,2021,14(4): 761-766
- [8] 韦敏,杨中林,李萍.柚皮苷及其磷脂复合物促进成骨细胞活性和小肠段吸收比较[J].中国天然药物,2007,5(5): 366-369
- [9] 尚丹,王辉,韩晔,等.木犀草素对小鼠体外培养前成骨细胞 MC3 T3-E1 增殖、分化、矿化和 Wnt 通路的影响[J].蚌埠医学院学报,2017,42(1): 44-47
- [10] 吴铭,张岩.调控骨髓间充质干细胞成骨分化的 Wnt/ β -catenin 信号通路及相关因素[J].中国组织工程研究,2021,25(1): 116-122
- [11] 杨锋,孙玉华,刘佃滨,等.骨质疏松患者骨碱性磷酸酶、钙、磷代谢变化及与牙槽骨骨密度的相关性[J].中国骨质疏松杂志,2017,23(9): 1160-1166
- [12] 周维维,李豆豆,张洁云,等.Periostin 表达上调对去势大鼠骨髓间充质干细胞生物学行为的作用[J].现代生物医学进展,2019,19(10): 1864-1869
- [13] Wang J, Liu S, Li J, et al. Roles for miRNAs in osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 197
- [14] 钱茜.骨碎补化学成分和药理作用研究进展[J].中国生化药物杂志,2015,30(3): 186-188
- [15] 湛顺清,梁伟,张雪妹,等.骨碎补化学成分和药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2021,46(11): 2737-2745
- [16] 覃浩然,宋泉生,覃海鹰,等.柚皮苷对兔骨髓基质细胞成骨分化、增殖和迁移及对 OPG/RANKL 信号通路的调节作用[J].西部医学,2022,34(1): 51-56
- [17] 李苑荟,邢孔才,王怡婷,等.木犀草素对牙周炎大鼠 NLRP3/IL-1 β 信号通路及骨改建的影响[J].口腔医学研究,2020,36(12): 1117-1122
- [18] Balbaied T, Moore E. Overview of Optical and Electrochemical Alkaline Phosphatase (ALP) Biosensors: Recent Approaches in Cells Culture Techniques[J]. Biosensors (Basel), 2019, 9(3): 102
- [19] Brun LR, Brance ML, Lombarte M, et al. Regulation of intestinal calcium absorption by luminal calcium content: role of intestinal alkaline phosphatase[J]. Mol Nutr Food Res, 2014, 58(7): 1546-1551
- [20] Lee YC, Chan YH, Hsieh SC, et al. Comparing the Osteogenic Potentials and Bone Regeneration Capacities of Bone Marrow and Dental Pulp Mesenchymal Stem Cells in a Rabbit Calvarial Bone Defect Model[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(20): 5015
- [21] Xu X, Zhang C, Trotter TN, et al. Runx2 Deficiency in Osteoblasts Promotes Myeloma Progression by Altering the Bone Microenvironment at New Bone Sites[J]. Cancer Res, 2020, 80(5): 1036-1048
- [22] Valenti MT, Mottes M, Cheri S, et al. Run x2 overexpression compromises bone quality in acromegalic patients[J]. Endocr Relat Cancer, 2018, 25(3): 269-277
- [23] Shan Y, Wang L, Li G, et al. Methylation of bone SOST impairs SP7, RUNX2, and ER α transactivation in patients with postmenopausal osteoporosis[J]. Biochem Cell Biol, 2019, 97(4): 369-374
- [24] 沈振国,赵荣权,欧琳琳,等.微环境下 Wnt/ β -catenin 通路参与牙周膜干细胞骨向分化机制的研究进展[J].安徽医科大学学报,2021,56(3): 497-500
- [25] 王秋霏,顾叶,彭育沁,等.人工假体磨损颗粒作用下 Wnt/ β -catenin 信号通路对成骨细胞的影响[J].中国组织工程研究,2021,25(24): 3894-3901
- [26] Wang Y, Zhang X, Shao J, et al. Adiponectin regulates BMSC osteogenic differentiation and osteogenesis through the Wnt/ β -catenin pathway[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 3652
- [27] Shares BH, Busch M, White N, et al. Active mitochondria support osteogenic differentiation by stimulating β -catenin acetylation[J]. J Biol Chem, 2018, 293(41): 16019-16027
- [28] Haxaire C, Haÿ E, Geoffroy V. Runx2 Controls Bone Resorption through the Down-Regulation of the Wnt Pathway in Osteoblasts[J]. Am J Pathol, 2016, 186(6): 1598-609
- [29] Wang X, Luo E, Bi R, et al. Wnt/ β -catenin signaling is required for distraction osteogenesis in rats[J]. Connect Tissue Res, 2018, 59(1): 45-54
- [30] Georgiou KR, King TJ, Scherer MA, et al. Attenuated Wnt/ β -catenin signalling mediates methotrexate chemotherapy-induced bone loss and marrow adiposity in rats[J]. Bone, 2012, 50(6): 1223-1233