

Wnt信号通路调控干细胞成软骨分化

汪建样^{1,2} 吴次虎³ 殷嫦嫦³ 殷明^{1*}

(¹南昌大学第二附属医院骨科, 南昌 330006; ²南昌大学研究生院医学部, 南昌 330006;

³九江学院基础医学院, 九江 332000)

摘要 Wnt信号通路调控细胞增殖、再生、分化等多种细胞生物学过程。近年来研究表明, Wnt信号通路参与干细胞成软骨分化的起始、间充质的凝集、分化和肥大等一系列阶段。阐明其具体机制对软骨损伤修复及软骨功能的维持十分重要。该文就经典和非经典Wnt信号通路调控干细胞成软骨分化的研究进展进行综述。

关键词 干细胞; Wnt信号通路; 成软骨分化

Wnt Signaling Pathway in Regulating Chondrogenic Differentiation of Stem Cells

Wang Jianyang^{1,2}, Wu Cihu³, Yin Changchang³, Yin Ming^{1*}

(¹Department of Orthopedics, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China; ²Medicine Graduate School, Nanchang University, Nanchang 330006, China; ³Basic Medical College, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China)

Abstract The Wnt signaling transduction regulates diverse processes such as cell proliferation, regeneration and differentiation. Recent studies have found that Wnt signaling pathway involved in a series stages of decision of differentiation, mesenchymal condensations, chondrogenic differentiation of stem cells and hypertrophy. Its mechanism is important to cartilage repair and cartilage function. This paper reviewed the progress in the canonical and non-canonical Wnt signaling pathway in the regulation of stem cell differentiation into cartilage.

Keywords stem cells; Wnt signaling pathway; chondrogenic differentiation

关节软骨属于透明软骨, 其营养供应和代谢产物的排泄均需要通过关节液, 一旦发生损伤难以自我修复和再生^[1]。利用软骨组织工程技术将干细胞定向分化成软骨细胞为关节软骨损伤的替代治疗提供了可能^[2]。研究表明, 许多细胞因子, 如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)家族、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)家族、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、印度刺猬因子(Indian hedgehog, IHH)、短多肽如甲状旁腺激素相关肽(parathyroid hormone

related peptide, PTHrP)和细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)抑制剂^[3]都参与诱导干细胞成软骨分化。此外, Wnt信号通路也参与调控干细胞分化成骨和软骨分化^[4]。然而, 目前Wnt信号通路对干细胞成软骨分化作用效果及其具体机制仍不十分明确, 而国内关于这方面的综述尚少。

1 Wnt信号通路的概述

Wnt蛋白家族是一类在进化上高度保守的分

收稿日期: 2015-07-02 接受日期: 2015-08-31

国家自然科学基金(批准号: 81160226)和江西省教育厅基金(批准号: GJJ13740)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0791-8698917, E-mail: yinming0791@aliyun.com

Received: July 2, 2015 Accepted: August 31, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81160226) and the Education Foundation of Jiangxi Province (Grant No.GJJ13740)

*Corresponding author. Tel: +86-791-8698917, E-mail: yinming0791@aliyun.com

网络出版时间: 2015-11-06 18:24:54 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20151106.1824.014.html>

泌型糖蛋白,参与细胞增殖、再生、分化、极性和细胞迁移等多种生物学过程^[5]。Wnt信号通路(图1)包括经典Wnt/ β -catenin信号通路和非经典通路。在经典Wnt信号通路中^[6]无Wnt蛋白结合时,一部分 β 连环蛋白(β -catenin)与包膜上的E-钙黏着蛋白(E-cadherin)结合参与细胞与细胞间的黏附;另一部分与结肠腺瘤样息肉蛋白(adenomatosis polyposis coli, APC)及核心蛋白(Axin)结合,经酪氨酸激酶Ia(tyrosine kinaseIa, CKIa)和糖原合酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)使 β -catenin磷酸化,从而导致磷酸化的 β -catenin经泛素化和蛋白酶体降解,进而使胞质中的游离 β -catenin浓度处于较低水平。当经典Wnt信号通路被激活时,Wnt蛋白结合细胞表面受体卷曲蛋白(frizzled protein, Fzd)和低密度脂蛋白受体相关蛋白5/6(low density lipoprotein receptor related protein 5/6, LRP5/6)通过酪蛋白激酶使散乱蛋白(dishevelled protein, Dvl)磷酸化,反过来抑制GSK-3 β 活性。未磷酸化的 β -catenin在胞质中是稳定的并且转移到细胞核中充当Tcf-Lef转录因子的共激活剂^[7]。 β -catenin/Tcf-Lef转录活化调控许多目的基因,如*Cyclin D1*、*c-jun*、*c-myc*、*E-cadherin*和基质金属蛋白酶基因(metal matrix proteinase, MMP)包括MMP7、MMP26^[8]。非经典Wnt信号通路主要指Wnt/Ca²⁺信号通路和Wnt/PCP信号通路。非经典Wnt信号通

过活化RhoGTP酶控制细胞极性或者通过 β -catenin非依赖机制增加细胞内Ca²⁺浓度。平面细胞极性(planar cell polarity, PCP)^[9]途径调控上皮细胞的正交极性活化小GTP酶RhoA和c-jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK),活化RhoGTP酶引起细胞骨架和微管改变从而调控细胞形状和黏附功能。Wnt/Ca²⁺通路^[10]在发育的早期阶段调控细胞的移动,其中,Fzd似乎激活磷脂酶C和磷酸二酯酶以增加细胞内游离钙和减少细胞内环鸟苷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)浓度。经典和非经典信号通路都参与调控胚胎骨骼发育包括干细胞分化成软骨和软骨细胞肥大成熟。

2 Wnt信号通路对干细胞的成软骨分化的影响

在胚胎发育中,软骨分化开始于软骨间质细胞凝集成软骨结节,随后分化成软骨细胞并产生软骨特异性细胞外基质(extracellular matrix, ECM)蛋白如II型胶原和蛋白聚糖;最后,软骨细胞经历一次单向扩散形成有序的平行列,退出细胞周期,变成预肥大、肥大的软骨细胞^[11]。多种经典和非经典Wnt信号通路成分在这个过程中发挥调节作用。

2.1 经典Wnt信号通路对干细胞成软骨分化的影响

经典信号通路主要由Wnt-1类,如Wnt1、Wnt3a、Wnt7a、Wnt8、Wnt8b等配体激活。病毒转染微

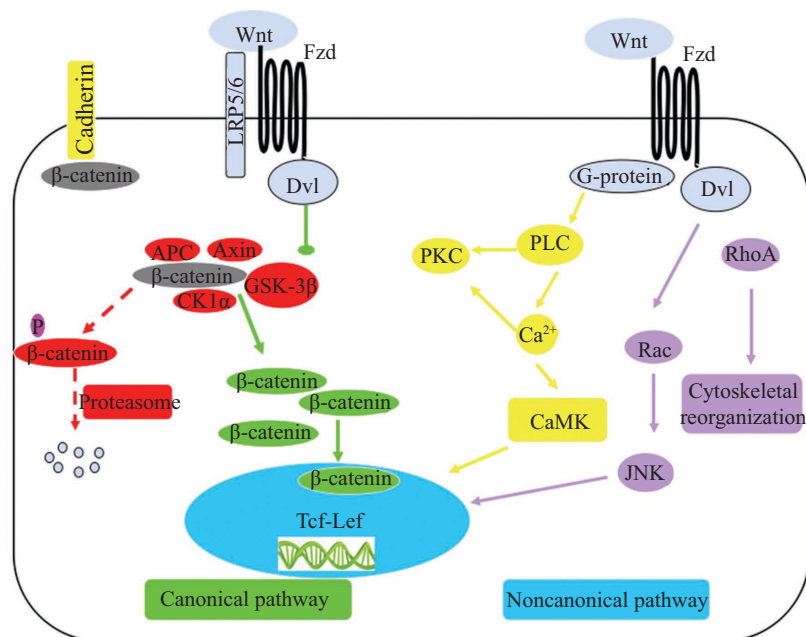


图1 Wnt信号通路

Fig.1 Wnt signaling pathway

团培养小鸡胚胎间充质干细胞过程中,持续表达Wnt7a抑制干细胞的凝集^[12];持续表达Wnt1^[13]、Wnt3a^[14]、Wnt7a^[13]或者Wnt14^[15]能够抑制凝集的间充质干细胞成软骨分化;Wnt8阻滞间充质干细胞成软骨分化但促进其肥大^[16];Wnt9a阻滞其成软骨分化和肥大^[17]。然而,在体内小鸡胚胎肢体发育过程中,Wnt信号通路主要表现为抑制软骨分化的成熟阶段^[18]而非微团培养条件下的主要抑制软骨分化的早期阶段。以上实验共同证明,经典Wnt信号通路在肢体发育过程中能抑制成软骨分化的不同阶段,包括间充质凝集阶段及其后的软骨分化成熟阶段。然而,Yano等^[19]用氯化锂(LiCl)处理或者腺病毒转染持续激活成人骨髓间充质细胞核内淋巴增强子-1(lymphoid enhancer factor-1, LEF-1),能够促进干细胞成软骨分化和肥大;持续抑制LEF-1或者沉默 β -catenin则能够抑制LiCl的促进效果。类似地,6-溴靛玉红-3-脞(6-bromoindirubin-3-oxim, BIO)能激活Wnt信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞体外成软骨^[20]。

因此,在胚胎肢体发育过程中经典Wnt信号通路主要表现出抑制软骨分化的效应,而在成体干细胞体外分化实验模型中激活经典Wnt信号通路主要表现为促进成软骨分化效应。综上所述,经典Wnt信号通路对成软骨分化的调控作用可能与干细胞的来源及所处实验条件密切相关,还需进一步深入研究。

β -catenin是经典Wnt信号通路的关键信号分子^[6]。Sox9[SRY (sex determining region Y)-box 9]是一个决定软骨细胞命运所必需的高迁移率族(high mobility group, HMG)转录因子,也是间质祖细胞成软骨分化早期阶段的标志^[21]。 β -catenin和Sox9间的相互作用在干细胞成软骨分化过程中十分重要。Akiyama等^[11]研究发现,软骨细胞中Sox9过表达的突变小鼠出现的软骨发育异常表型与软骨细胞中 β -catenin被沉默小鼠相类似;相反,软骨细胞中 β -catenin稳定表达导致的表型改变与软骨细胞中Sox9等位基因被沉默的小鼠相类似。一方面,Sox9通过与 β -catenin竞争结合Tcf-Lef位点抑制 β -catenin/Tcf-Lef的活化,通过泛素化/26S蛋白酶体通路形成Sox9- β -catenin复合物促进 β -catenin降解,共同作用于wnt信号通路下游靶基因细胞周期蛋白D1(CyclinD1)引起软骨细胞增殖抑制和延迟软骨细胞肥大;另一方面,Sox9- β -catenin复合物的形成反

过来引起Sox9的降解,从而抑制软骨分化但加速软骨肥厚性分化。Sox9表达和经典Wnt信号通路之间的相互抑制表明软骨细胞的分化可能是由一个正反馈循环机制调控:首先,抑制经典Wnt信号通路引起Sox9的表达,而Sox9进一步抑制Wnt信号和成骨分化从而促进软骨细胞的完全分化^[22]。综上所述,经典Wnt信号通路与Sox9之间的动态平衡对于干细胞成骨或者成软骨分化可能起决定性作用,抑制Wnt/ β -catenin信号可能是促进干细胞成软骨细胞对抗成骨细胞分化的关键因素,从而参与管理软骨细胞增殖和分化。

β -catenin还有一种通过钙黏着蛋白作用于细胞间黏附的胞质蛋白,其中钙黏着蛋白是软骨间充质凝集过程中细胞间相互作用的重要分子,它在软骨发育过程中参与形成钙黏着蛋白连环蛋白-肌动蛋白黏附复合物^[23]。Catenin蛋白能够分层次与N-钙黏着蛋白相互作用: β -catenin结合N-钙黏着蛋白的胞质尾端随后结合 α -catenin,而后者锚定肌动蛋白细胞骨架复合物从而调节间充质干细胞的变形和迁移^[24]。类似的是,LiCl抑制GSK-3 β 增加 β -catenin的积聚,从而通过稳定细胞与细胞间黏附抑制成软骨分化^[25];在小鸡微孔培养系统中,Wnt3a或者 β -catenin的积聚通过稳定细胞与细胞间的黏附抑制软骨形成,而这种作用要依赖 β -catenin蛋白本身,但是不需要 β -catenin的转录活化^[26]。因此,经典Wnt信号通路还通过钙黏着蛋白参与干细胞成软骨分化。

总之,在胚胎发育过程中经典Wnt信号通路通过 β -catenin与Sox9相互作用抑制软骨细胞外基质相关基因如蛋白聚糖、COL2等基因表达;通过 β -catenin作用于下游靶基因Tcf-Lef抑制CyclinD1,进而抑制软骨细胞增殖;通过钙黏着蛋白稳定细胞与细胞间黏附抑制成软骨分化,从而共同调控干细胞成软骨分化。

2.2 非经典Wnt信号通路对干细胞成软骨分化的影响

非经典Wnt信号通路主要由Wnt5a类,如Wnt4、Wnt5a、Wnt11等激活。携带Wnt5a功能缺失的突变小鼠表现出肢体生长的缺陷^[27]。携带Wnt受体ror2灭活的小鼠与Wnt5a^{-/-}小鼠表型相似,而ror2是通过非经典Wnt信号通路转导信号^[9]。同样地,体外病毒转染微团培养小鸡胚胎间充质干细胞中,Wnt5a和Wnt5b在体外通过增加软骨结节形成促进早期成软

骨^[16], 同时通过差异性调节细胞周期蛋白D1和p130的表达协调软骨细胞增殖和分化^[28]。过表达Wnt11抑制间质干细胞增殖导致周期G₀/G₁期阻滞, Wnt11转染的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)蛋白聚糖和II型胶原表达水平明显增加^[29]。过表达Wnt3a促进BMSCs增殖, 抑制其成软骨分化, 同时, 引起经典Wnt信号通路 β -catenin表达上调、胞质中钙离子浓度升高, 并导致磷酸化CaMKII浓度增加; 经典途径阻滞剂Dickkopf(DKK1)处理后BMSCs增殖回归到正常水平, 而成软骨分化还是处于低水平; 非经典Wnt信号通路阻滞剂KN93处理后BMSCs增殖能力不受影响, 而基质蛋白聚糖显著增加, COL2A1、蛋白聚糖、Sox9的mRNA水平显著上调^[30]; 以上结果表明, 持续表达Wnt3a可通过经典Wnt信号通路促进BMSCs增殖, 但主要通过非经典的Ca²⁺/CaMKII信号通路抑制BMSCs成软骨分化。在人骨髓间充质干细胞成软骨分化集落培养中, Wnt4和Wnt5a广泛分布在体外成软骨过程中的晚期阶段(14 d和21 d), 并且与II型、X型胶原的表达同步; 而多孔海绵胶培养免疫定位显示II型和X型胶原在培养第7 d表达, Wnt4和Wnt5a在整个hMSCs/明胶海绵结构外围整个过程中均匀分布, Wnt4、Wnt5a蛋白的不同时空表达模式提示, 它们与人骨髓间充质干细胞体外成软骨分化过程中II型、X型胶原合成并没有功能上的联系^[31]。因此, 可以证明非经典Wnt信号通路也参与成软骨分化, 但其具体作用效果和作用机制还不是很明确, 并且可能跟诱导的微环境密切相关, 还需进一步规范实验模型使其接近于组织工程替代疗法的体内微环境, 进而更好地促进干细胞治疗软骨疾病。

2.3 Wnt信号通路与其他信号通路共同作用于干细胞成软骨分化

间质干细胞的分化是由信号网络协调激活调控的^[17]。Bradley等^[32]研究发现, Wnt5b能够引起软骨祖细胞迁移显著增加并调节成软骨培养团块的大小, 而这个效果能被JNK抑制剂阻滞, 但不能被其他Wnt5b反应因子抑制剂阻滞, 表明Wnt5b能够通过JNK依赖途径调节细胞迁移调节软骨的分化; 体外运用TGF β 诱导人骨髓间充质干细胞分化成软骨细胞, TGF β 激活TGF β /Smad通路基因, 同时, 上调Wnt2、Wnt4、Wnt5a、Wnt7a、Wnt10a和Wnt共受体LRP基因表达, 表明TGF- β 能够激活Wnt信号通路促进hBMSCs成软骨分化^[33]; BMP2能够通过激活

p38丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)促进小鸡肢芽间质干细胞成软骨分化, 后者反过来下调Wnt7a/ β -catenin信号通路, 进而上调Sox9蛋白的表达, 从而促进其成软骨分化^[34]。此外, Wnt/ β -catenin信号通路通过干细胞的更新和增殖直接控制干细胞数量, 通过平衡成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)和BMP信号通路间接调节细胞谱系专向成骨/成软骨分化^[35]。因此, JNK信号通路、TGF β /Smad信号通路、P38MAPK信号通路、FGF信号通路均与Wnt信号通路相互作用从而调控干细胞成软骨分化。

3 Wnt调控软骨细胞的成熟和肥大

分化的软骨细胞永久地保持软骨细胞的属性是软骨细胞工程需要解决的关键问题之一。而Wnt信号在调控软骨细胞成熟肥大过程中十分重要。过表达Wnt8c、Wnt9a和 β -catenin能够上调X型胶原蛋白^[36]。TGF- β 诱导间充质干细胞C3H10T1/2微团培养成软骨分化3周, DKK1抑制经典Wnt信号通路导致II型胶原和蛋白聚糖表达增加但是并不影响X型胶原的表达^[37], 说明Wnt抑制剂并没有引起长时间成软骨分化培养中软骨细胞的肥大。

对于非经典信号通路, Wnt5a在增殖和肥大软骨细胞和软骨膜的边界表达, Wnt5b在预肥大软骨细胞中表达^[28]。强制表达Wnt5a和Wnt5b除了能够促进早期软骨发生还能抑制软骨细胞的肥大成熟^[16]。Bradley等^[38]认为, 非经典信号蛋白如Wnt5a还通过激活磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3 kinases, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)依赖途径抑制软骨细胞肥大。Runx2(Runt-related transcription factor 2)是骨生成的关键转录因子并且能够结合骨钙素启动子中成骨细胞特异性作用元件(osteoblast-specific cisacting element, OSE2)、Colla1、骨涎蛋白(bone sialo-protein, BSP)、骨桥蛋白, Runx2还能调节软骨细胞的成熟和肥厚^[36]。对于Sox9杂合子突变小鼠胚胎的不同阶段的研究证明, Sox9和Runx2控制软骨细胞的预肥大向肥大的转型^[39]。Sox9能抑制Runx2的反式激活, 相应的Runx2对Sox9的反式激活发挥相应的抑制作用, 二者之间的相互作用共同调控干细胞由成软骨分化向肥大的转化^[40], 而Sox9基因的表达与 β -catenin密切相关。此外, β -catenin/Tcf-Lef复合物还能促进Runx2

表达引起软骨细胞肥大^[36]。因此,经典和非经典Wnt信号通路都参与调控分化后的软骨细胞的成熟和肥大。

4 结语与展望

综上所述,Wnt信号通路参与干细胞成软骨分化起始决定、间充质的凝集及其后的成软骨分化和肥大的所有阶段,并且通过经典途径中的 β -catenin与Sox9、CyclinD1、Tcf-Lef、Cadherin等基因相互作用从而发挥调控作用,通过非经典Ca²⁺/CaMKII信号通路抑制BMSCs成软骨分化。Wnt信号通路还与TGF β /Smad、MAPK/P38、FGF等信号通路共同调控成软骨分化及肥大。此外,随着人口老龄化进程加速和交通生活方式的改变,由风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、骨关节炎(osteoarthritis, OA)及创伤引起的关节软骨损伤持续增加。传统的治疗方案只能缓解疼痛、维持关节的功能,但不能恢复软骨的结构和生物力学特性。利用组织工程技术将干细胞定向分化成软骨细胞用于替代受损的关节软骨以期恢复受损软骨的结构和生物力学特性,从而更大程度的减轻疼痛改善患者生活质量,延缓关节退变及人工关节置换。由于成软骨分化同时受经典和非经典信号通路及多种其他信号通路形成的网络共同调控,而这个调控网络受细胞内外多种因素的影响,其具体机制更是错综复杂。因此,如何建立稳定可靠的模仿体内的Wnt蛋白微量变化的模型是今后进一步研究Wnt蛋白在软骨组织工程中的应用需要解决的问题,从而进一步规范试验模型使其接近于组织工程替代疗法的体内微环境,进而更好地促进干细胞治疗软骨疾病。随着Wnt蛋白对软骨分化作用具体机制的进一步研究,Wnt信号通路在软骨组织工程中软骨组织的替代治疗过程中的应用前景将会更加广阔。

参考文献 (References)

- Counsel PD, Bates D, Boyd R, Connell DA. Cell therapy in joint disorders. *Sports Health* 2015; 7(1): 27-37.
- Ahmed TA, Hincke MT. Mesenchymal stem cell-based tissue engineering strategies for repair of articular cartilage. *Histol Histopathol* 2014; 29(6): 669-89.
- Im GI, Quan Z. The effects of Wnt inhibitors on the chondrogenesis of human mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A* 2010; 16(7): 2405-13.
- Wang Y, Li YP, Paulson C, Shao JZ, Zhang X, Wu M, *et al.* Wnt and the Wnt signaling pathway in bone development and disease. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2014; 19: 379-407.
- Pei Y, Brun SN, Markant SL, Lento W, Gibson P, Taketo MM, *et al.* WNT signaling increases proliferation and impairs differentiation of stem cells in the developing cerebellum. *Development* 2012; 139(10): 1724-33.
- Clevers H, Nusse R. Wnt/beta-catenin signaling and disease. *Cell* 2012; 149(6): 1192-205.
- Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006; 127(3): 469-80.
- Willert K, Jones KA. Wnt signaling: Is the party in the nucleus? *Genes Dev* 2006; 20(11): 1394-404.
- Lopez-Escobar B, Cano DA, Rojas A, de Felipe B, Palma F, Sanchez-Alcazar JA, *et al.* The effect of maternal diabetes on the Wnt-PCP pathway during embryogenesis as reflected in the developing mouse eye. *Dis Model Mech* 2015; 8(2): 157-68.
- Kohn AD, Moon RT. Wnt and calcium signaling: Beta-catenin-independent pathways. *Cell Calcium* 2005; 38(3/4): 439-46.
- Akiyama H, Lyons JP, Mori-Akiyama Y, Yang X, Zhang R, Zhang Z, *et al.* Interactions between Sox9 and beta-catenin control chondrocyte differentiation. *Genes Dev* 2004; 18(9): 1072-87.
- Daumer KM, Tufan AC, Tuan RS. Long-term *in vitro* analysis of limb cartilage development: Involvement of Wnt signaling. *J Cell Biochem* 2004; 93(3): 526-41.
- Rudnicki JA, Brown AM. Inhibition of chondrogenesis by Wnt gene expression *in vivo* and *in vitro*. *Dev Biol* 1997; 185(1): 104-18.
- Reinhold MI, Kapadia RM, Liao Z, Naski MC. The Wnt-inducible transcription factor Twist1 inhibits chondrogenesis. *J Biol Chem* 2006; 281(3): 1381-8.
- Hartmann C, Tabin CJ. Wnt-14 plays a pivotal role in inducing synovial joint formation in the developing appendicular skeleton. *Cell* 2001; 104(3): 341-51.
- Church V, Nohno T, Linker C, Marcelle C, Francis-West P. Wnt regulation of chondrocyte differentiation. *J Cell Sci* 2002; 115(Pt 24): 4809-18.
- Augello A, De Bari C. The regulation of differentiation in mesenchymal stem cells. *Hum Gene Ther* 2010; 21(10): 1226-38.
- Yates KE, Shortkroff S, Reish RG. Wnt influence on chondrocyte differentiation and cartilage function. *DNA Cell Biol* 2005; 24(7): 446-57.
- Yano F, Kugimiya F, Ohba S, Ikeda T, Chikuda H, Ogasawara T, *et al.* The canonical Wnt signaling pathway promotes chondrocyte differentiation in a Sox9-dependent manner. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 333(4): 1300-8.
- Baghaban EM, Fallah N. Small molecule-bio accelerates and enhances marrow-derived mesenchymal stem cell *in vitro* chondrogenesis. *Iran J Med Sci* 2014; 39(2): 107-16.
- Cao L, Yang F, Liu G, Yu D, Li H, Fan Q, *et al.* The promotion of cartilage defect repair using adenovirus mediated Sox9 gene transfer of rabbit bone marrow mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 2011; 32(16): 3910-20.
- Day TF, Guo X, Garrett-Beal L, Yang Y. Wnt/beta-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis. *Dev Cell* 2005; 8(5): 739-50.

- 23 Mahmoudifar N, Doran PM. Chondrogenesis and cartilage tissue engineering: the longer road to technology development. *Trends Biotechnol* 2012; 30(3): 166-76.
- 24 Rhee J, Buchan T, Zukerberg L, Lilien J, Balsamo J. Cables links Robo-bound Abl kinase to N-cadherin-bound beta-catenin to mediate Slit-induced modulation of adhesion and transcription. *Nat Cell Biol* 2007; 9(8): 883-92.
- 25 Huang X, Xu J, Huang M, Li J, Dai L, Dai K, *et al.* Histone deacetylase1 promotes TGF-beta1-mediated early chondrogenesis through down-regulating canonical Wnt signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 453(4): 810-6.
- 26 Hwang SG, Yu SS, Lee SW, Chun JS. Wnt-3a regulates chondrocyte differentiation via c-Jun/AP-1 pathway. *Febs Lett* 2005; 579(21): 4837-42.
- 27 Yamaguchi TP, Bradley A, McMahon AP, Jones S. A Wnt5a pathway underlies outgrowth of multiple structures in the vertebrate embryo. *Development* 1999; 126(6): 1211-23.
- 28 Yang Y, Topol L, Lee H, Wu J. Wnt5a and Wnt5b exhibit distinct activities in coordinating chondrocyte proliferation and differentiation. *Development* 2003; 130(5): 1003-15.
- 29 Liu S, Zhang E, Yang M, Lu L. Overexpression of Wnt11 promotes chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in synergism with TGF-beta. *Mol Cell Biochem* 2014; 390(1/2): 123-31.
- 30 Qu F, Wang J, Xu N, Liu C, Li S, Wang N, *et al.* WNT3A modulates chondrogenesis via canonical and non-canonical Wnt pathways in MSCs. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2013; 18: 493-503.
- 31 Nishioka K, Dennis JE, Gao J, Goldberg VM, Caplan AI. Sustained Wnt protein expression in chondral constructs from mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol* 2005; 203(1): 6-14.
- 32 Bradley EW, Drissi MH. Wnt5b regulates mesenchymal cell aggregation and chondrocyte differentiation through the planar cell polarity pathway. *J Cell Physiol* 2011; 226(6): 1683-93.
- 33 Zhou S, Eid K, Glowacki J. Cooperation between TGF-beta and Wnt pathways during chondrocyte and adipocyte differentiation of human marrow stromal cells. *J Bone Miner Res* 2004; 19(3): 463-70.
- 34 Jin EJ, Lee SY, Choi YA, *et al.* BMP-2-enhanced chondrogenesis involves p38 MAPK-mediated down-regulation of Wnt-7a pathway. *Mol Cells* 2006; 22(3): 353-9.
- 35 Maruyama T, Mirando AJ, Deng CX, Hsu W. The balance of WNT and FGF signaling influences mesenchymal stem cell fate during skeletal development. *Sci Signal* 2010; 3(123): a40.
- 36 Dong YF, Soung DY, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Drissi H. Wnt induction of chondrocyte hypertrophy through the Runx2 transcription factor. *J Cell Physiol* 2006; 208(1): 77-86.
- 37 Im GI, Lee JM, Kim HJ. Wnt inhibitors enhance chondrogenesis of human mesenchymal stem cells in a long-term pellet culture. *Biotechnol Lett* 2011; 33(5): 1061-8.
- 38 Bradley EW, Drissi MH. WNT5A regulates chondrocyte differentiation through differential use of the CaN/NFAT and IKK/NF-kappaB pathways. *Mol Endocrinol* 2010; 24(8): 1581-93.
- 39 Bi W, Huang W, Whitworth DJ, Deng JM, Zhang Z, Behringer RR, *et al.* Haploinsufficiency of Sox9 results in defective cartilage primordia and premature skeletal mineralization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(12): 6698-703.
- 40 Cheng A, Genever PG. SOX9 determines RUNX2 transactivity by directing intracellular degradation. *J Bone Miner Res* 2010; 25(12): 2680-9.