

机械载荷对骨组织骨形态发生蛋白信号通路的影响

张玲莉 元宇 邹军*

(上海体育学院, 上海 200438)

摘要 骨骼内稳态受多个因素的影响, 其中机械载荷和生长因子信号通路影响颇多。该综述首先简单介绍了骨形态发生蛋白信号通路(bone morphogenetic protein signaling pathways, BMPs)的生理生化基础知识, 包括两条独立的主要通路以及通路上重要的蛋白质分子结构、信号转导。然后详细阐述了不同形式的机械载荷(包括重力、牵张力、压力、流体剪切力)对骨组织BMPs的影响, 不仅总结出机械刺激对BMPs某些重要的靶基因、蛋白质、生长因子的影响, 同时根据文献报道归纳出机械刺激对骨骼中BMPs的整体影响。通过研究机械载荷对离体细胞的影响, 有望将细胞外的物理信号通过不同的传导通路转化为细胞内的生物电信号的改变, 从而影响相关基因的表达。这些结论有助于该文进一步研究运动提高生长期的峰值骨量、维持或减缓老年期骨吸收速率, 从而为预防骨质疏松症发生提供了理论基础。

关键词 机械载荷; 骨骼; 骨形态发生蛋白信号通路

The Influence of Mechanical Load on Bone Morphogenetic Protein Signaling Pathways in Bone

Zhang Lingli, Yuan Yu, Zou Jun*

(Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

Abstract Bone homeostasis is affected by several factors, particularly mechanical loading and growth factor signaling pathways. This review simply introduces the physiological and biochemical basic knowledge of bone morphogenetic protein signaling pathways (BMPs), including the molecular structure of important proteins, signal transduction pathways and the two main independent pathways. Then, it introduces in detail the different forms of mechanical load (including gravity, pulling tension, stress, fluid shear) impact on BMPs in bone tissue. This review summarizes the mechanical stimulation has an effect on some important target genes, proteins, growth factors of BMPs. At the same time, through complementary literatures roughly, we induces mechanical stimulation has an impact on BMPs. We expect that extracellular physical signals turn into the biological electrical signals inside the cell changes by different pathways, through investigate the effect of the mechanical load on cells *in vitro*. We hope that this method could have an impact on the expression of related genes. It is helpful for us to study that exercise improve the growth period of peak bone mass, maintain or slow down the aging period, in order to prevent osteoporosis bone absorption.

Keywords mechanical load; bone; bone morphogenetic protein signaling pathways

收稿日期: 2016-03-22 接受日期: 2016-06-29

国家自然科学基金(批准号: 81572242)和上海市人类运动能力开发与保障重点实验室(批准号: 11DZ2261100)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-51253129, Email: zoujun777@126.com

Received: March 22, 2016 Accepted: June 29, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81170323) and Shanghai Key Laboratory of Human Sport Competence Development and Maintenance (Grant No.11DZ2261100)

*Corresponding author. Tel: +86-21-51253129, Email: zoujun777@126.com

网络出版时间: 2016-08-29 16:30:26 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160829.1630.004.html>

1 BMPs的概述

1.1 BMP的分子结构

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)是1965年由Urist发现的骨基质中的一种能诱导异位及常位成骨的活性蛋白质,它是由两个单体以一个二硫化物键结合而形成的一种二聚体分子,富含谷氨酸^[1]。除了BMP-1外,均属于转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β)基因超家族^[2-3]。

一般认为, BMP是骨生长的启动因子,成熟的BMP的活性形式为二聚体形式。对BMP进行生物活性分析后发现,活性的同源和异源二聚体BMP通过与未分化、有成骨潜能的间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)表面受体结合,使MSC发生化学趋向、聚集、分化形成软骨和骨,最后形成骨髓。目前已发现的BMP家族中BMP-2~BMP-7、BMP-9都具有诱导骨形成的能力,但并非BMP家族中的蛋白质都具有骨诱导能力^[4-5]。

1.2 BMPs的信号转导

骨形态发生蛋白信号通路(bone morphogenetic protein signaling pathways, BMPs)是通过BMP、信号途径和靶细胞基因组成的一个较完整的信号系统,发挥成骨诱导作用,这个系统的核心和启动位点是BMP。简单来说, BMP的生物效应是通过其分子的抗原决定簇与细胞膜上的受体形成聚复合物,并进一步将信号传递到下游。BMP受体激活后诱导细胞外募集反应和Smad(drosophila mothers against decapentaplegic)磷酸化,其信号通过Smad转导。

1.2.1 BMP的受体 BMP的受体属于TGF- β 受体超家族的成员,是膜蛋白受体,受体分子由细胞外区、跨膜区和细胞内区组成,具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶结构,有特异性膜结合受体-IA(bone morphogenetic protein receptor type-IA, BMPR-IA)、BMPR-IB和BMPR-II三类^[6-7]。BMP信号是通过BMPR介导的^[8],激活的BMPR通过Smad蛋白,且TGF- β 作为配体形成的受体复合物,激活Smad进入核内,共同激活或抑制它们特定的靶基因转录^[9]。

BMP家族中,只有当两个I型和两个II型受体形成异源二聚体时,才能与配体有高亲和性。BMP配体与异源二聚体结合可以激活Smad蛋白依赖性BMP信号转导途径。当与I型或II型受体组成的同源二聚体结合时,激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-

activated protein kinase, MAPK)途径^[10]。

1.2.2 BMP跨膜信号转导 BMP跨膜信号转导的实现过程:一是BMP与受体的膜外结构域结合;二是丝氨酸/苏氨酸激酶的激活^[11]。

BMP家族的配体先与相应的BMPR-I和BMPR-II复合体识别结合, BMPR-II被BMPR-I所识别激活,形成BMPR-I配体BMPR-II异源三聚体, BMPR-II蛋白激酶活性催化BMPR-I的GS区(富含甘氨酸和丝氨酸的区域)的丝氨酸/苏氨酸残基磷酸化^[12-13],继而激活BMPR-I的激酶,能使胞内的底物激活而信号向胞内转导^[14]。同时BMPR-I可以直接与BMP的配体结合。

1.2.3 BMP胞内信号转导 Smad是BMPs下游重要的信号分子。同源基因*Mad*和*Sma*,它们编码的蛋白质是丝氨酸/苏氨酸激酶受体下游的转录调节物,在信号转导中发挥着重要作用,将脊椎动物中与*Mad*和*Sma*同源的基因统称为*Smad*。*Smad*家族蛋白质在将TGF- β 信号从胞膜表面受体转导至胞核的过程中发挥关键作用,且*Smad*不同介导的TGF- β 家族成员的信号转导也不同^[15-16]。根据其结构可以分为受体活化型或通路限制性*Smad*(restrict-Smads, R-Smads, 即*Smad2*、*Smad3*),共同通路型*Smad*(Co-Smad, 即*Smad4*),抑制性*Smad*(instruct Smads, I-Smad, 即*Smad6*、*Smad7*)。配体激活受体复合物可与*Smad1*、*Smad5*和*Smad8*蛋白结合,并磷酸化*Smad1*、*Smad5*、*Smad8* C-端的丝氨酸,使之活化。*Smad4*扮演合作伙伴角色,*Smad6*、*Smad7*则参与基因表达的负调控^[17-18]。

BMP是一种生长因子,可以使*Smad1*、*Smad5*和*Smad8*蛋白磷酸化,一旦被磷酸化*Smad*复合物激活后,就会转移到核内,在核内吸收其他转录因子并且刺激相关基因功能的表达。*Smads*进入核后有三种调节转录的方式:直接与DNA结合、与其他转录因子协同作用以及与转录活化复合物或抑制物结合。BMP主要应用于骨缺损、骨不连、脊柱融合、口腔和整形外科中。

1.3 BMPs的两条主要通路

BMP家族大部分成员在软骨内成骨区域表达,BMP信号属于激酶转导系统,

BMPs与多种骨代谢的过程有关,主要通过典型的*Smad*蛋白依赖性途径(*Smads*途径, TGF- β /BMP配体、受体和*Smads*)和非典型*Smad*独立信号通路

(MAPK途径, MAPK信号转导TGF- β /BMPs的p38丝裂原活化蛋白激酶信号通路)发挥作用^[19]。

以BMP-2信号转导通路为例, Smads途径: 当BMP-2与细胞表面受体BMPR结合时, BMPR-II即被激活, 激活的BMPR-II使BMPR-I的膜内区磷酸化, 活化的BMPR-I作用于下游的Smad5和Smad8, 使其C-端丝氨酸磷酸化而被激活。激活的Smad5和Smad8与Smad4结合形成复合体并转位至细胞核内与不同的DNA结合蛋白结合, 包括共激活因子和抑制因子, 引起下游BMP相关的基因转录, 从而调控骨细胞的分化, 而Smad6、Smad7可与BMP受体结合竞争性地抑制Smad5和Smad8的活化^[17](图1)。

MAPKs途径: 丝裂原活化蛋白激酶通路是一条独立于Smad信号通路。大多数细胞内都存在促分裂原活化蛋白激酶信号通路(MAPKs), 是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 能将细胞外信号转导至细胞及其核内, 通过保守的三级级联反应激活转录因子(MAPKKK、MAPKK、MAPK), MAPK被激活后, 促使Runx2基因转录, 激活Smad1/5/8, 从而巩固

骨分化信号^[20]。目前在哺乳类动物细胞中发现三种MAPK信号转导通路: 一是细胞外信号调控激酶(extracellular-signal regulated kinases, ERKs)通路, 二是JNKs(Jun N-端激酶)通路, 三是p38MAPK通路^[6,21]。后两者是两个应激活性蛋白激酶。以BMP-2信号转导通路为例, 当BMP-2与细胞表面具有高亲和性的BMPR-I连接形成复合体, 并通过BMPR-I招募胞质中游离的BMPR-II共同形成异聚体BISC(BMP-2 induced signaling complex), BMPR-I通过桥蛋白——XIAP(the X-linked inhibitor of apoptosis protein)、TAB1(TAK1-binding protein)再与TAK1(TGF- β -activated kinase 1)间接连接, TAK1激活p38MAPK, 转导BMP信号途径^[17](图1)。TAK1是参与BMP调节骨生成的一个微调因子^[22], 成骨细胞分化过程中如果缺少TAK1容易导致锁骨发育不全^[23]。

2 不同力学刺激方式对BMPs的影响

骨骼内稳态受多个因素的影响, 特别是机械载荷和生长因子信号通路影响颇多^[24]。BMP信号转

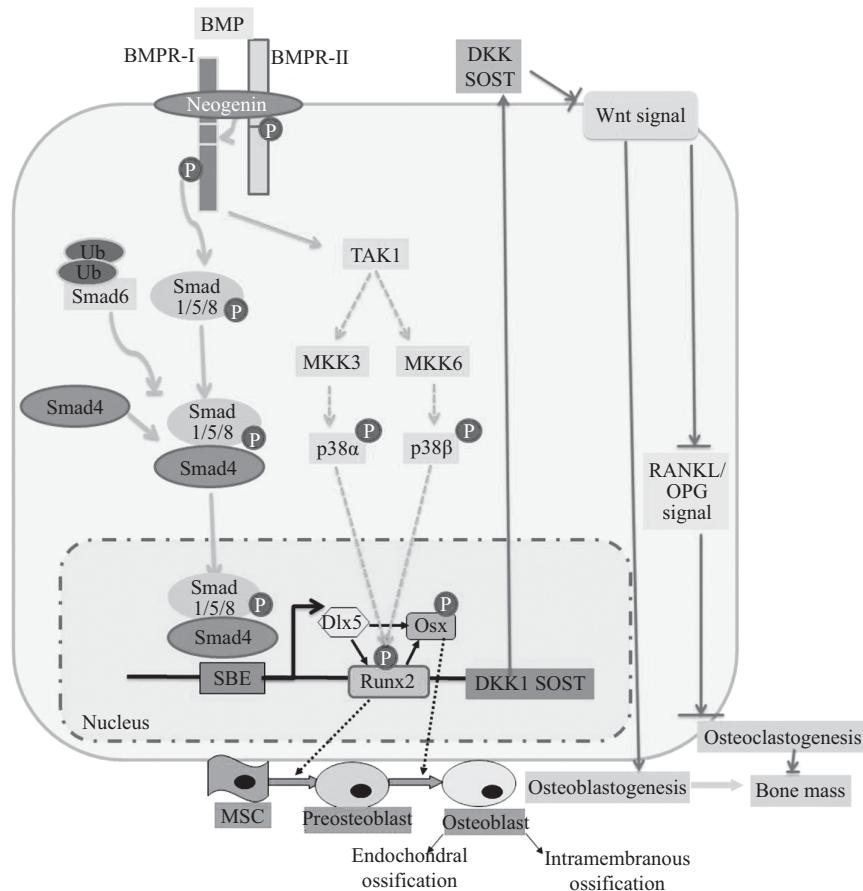


图1 BMPs与骨形成的调节(根据参考文献[17]修改)

Fig.1 BMP signaling and regulation in bone formation (modified from reference [17])

导受多种细胞内外因素的调节,如BMP受体寡聚化形式、受体磷酸化与去磷酸化作用^[25]、细胞内吞作用方式^[26]、与其他信号通路间的交互作用。BMPs的信号转导受多个水平的负调控。在细胞外,BMPs可通过刺激细胞分泌一些可溶性的细胞外抑制因子,如头蛋白(noggin)、chordin蛋白、骨硬化蛋白(sclerostin)、卵泡抑制蛋白(follistatin)、扭曲原肠胚形成(twisted gastrulation, TSG)蛋白等下调信号转导^[27];在细胞质中,可通过抑制性Smad(如Smad6、Smad7、Smad8)、Smads遍在蛋白化调控因子(Smad ubiquitin regulatory factor, Smurf)等来调控胞内的信号传导^[10];在细胞核中,可刺激Tob蛋白(transducer of ErbB-2)、CIZ锌指蛋白等辅助转录抑制因子来参与调节信号转导^[28]。

BMP具有异位成骨能力,能刺激MSC向成软骨细胞和成骨细胞分化。骨细胞可以对骨骼变形做出检测和应答,研究认为,这些细胞可以将机械性刺激转变为特殊的化学性刺激传给成骨细胞。应力均可刺激成骨细胞的形成和发展,其生物学机制主要通过骨组织感受力学刺激——应力敏感通道和整合素蛋白-细胞骨架结构完成^[29]。推测的机械性刺激转变为化学性刺激的两种途径为G蛋白偶联受体感受器途径,跨膜整合蛋白、细胞骨架和核转录之间的直接联系。机械载荷通过激活细胞膜上Ca²⁺通道引起胞外Ca²⁺内流,促进胞内Ca²⁺释放,细胞在接受到机械信号后先被跨膜的表面受体如整合蛋白、G蛋白偶联受体或离子通道等传递到细胞质内,这样机械信号转换为胞质中的生化信号^[30],通过调节第二信使或活化信号分子最终调控细胞迁移、生长、分化和基质重建等行为^[31-32]。

系统研究细胞对力学刺激信号的转导和响应主要建立于体外特定力学传导装置下细胞培养的基础上^[33],是将机械载荷转化为体内生化反应的过程,主要包括重力、牵张力、压力和流体剪切力^[34]。力学刺激有多种不同的设备装置,包括纵向拉伸、压力、弯曲、流体剪切力、轴对称基质膨胀、平面衬底膨胀、基质膨胀和流体剪切力结合^[33]。

2.1 重力刺激对BMPs的影响

Runx2是BMPs的靶目标,是调节成骨细胞分化的重要因子。研究报道,机械离心力刺激MC3T3-E1细胞中Runx2表达水平升高,提示BMPs参与成骨细胞对机械离心力刺激的生理生化响

应过程^[35]。随着离心力刺激的时间延长,Runx2 mRNA的表达增加,转速为180 r/min组的Runx2 mRNA表达最高^[36-37]。

正常重力下,机械负荷作用于细胞表面整合蛋白结合的细胞外基质,激活黏着斑激酶,之后激活MEK/ERK通路,增强Runx2的活性。相对地,p38MAPK的磷酸化可以活化过氧化物酶体增殖激活受体 γ 2(the peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2, PPAR γ 2)。PPAR γ 2和其他一些与脂肪细胞形成相关的蛋白质的高表达则会抑制Runx2的表达^[38]。微重力条件下,人体间充质细胞的细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性下降,Runx2和胶原I(collagen I, ColI)等成骨标志基因水平降低,p38MAPK活性和PPAR γ 2 mRNA水平升高,促进脂肪酶、油脂形成^[38-42]。

失重可通过抑制BMSC和成骨细胞的增殖、分化及促进破骨细胞成熟分化而抑制骨形成,造成骨质丢失^[43]。实验证明,回转器模拟失重降低对BMP-2诱导的大鼠骨肉瘤成骨样细胞(ROS17/2.8)中诱导的ERK的活性,且抑制了*c-fos*和*c-jun*的基因表达^[44];同时,降低BMP-2诱导的成骨细胞MAPK信号通路中丝裂原激活的蛋白激酶/细胞外信号调节激酶的激酶1(extracellular signal-regulated protein kinase 1, MEK1)的活性^[45]。

2.2 机械牵张力对BMPs的影响

BMP是机械力刺激成骨细胞的重要反应。BMP/Smad信号通路已被证实在机械信号传导成骨细胞过程中发挥监管作用。Sumanasinghe等^[46]的研究发现,在牵张应力的作用下,嵌在3D胶原蛋白基质中的MSC细胞中的BMP-2表达上调。Guo等^[47]对体外培养的成骨细胞施加机械牵张力后发现,细胞外基质中的BMP-2和BMP-4的表达增多,并且循环的牵张力增加了骨胶原,刺激了ALP活性,上调Runx2和Osteocalcin mRNA的表达。Lu等^[48]的研究发现,12%机械牵张力可以上调MC3T3-E1细胞中BMP-2、ALP以及ColI mRNA的表达水平。

目前对于MAPK信号通路在机械负荷刺激下成骨细胞分化的作用研究还比较少,Wang等^[49]通过对MC3T3-E1细胞进行机械牵拉发现,通过机械刺激早期激活p38MAPK和nuclear factor(NF)- κ B的信号传导通路达到BMP-2和BMP-4的表达量。

2.3 压力对BMPs的影响

Kopf等^[50]通过对人类胎儿成骨细胞加压和/或BMP-2刺激的研究发现,机械信号与BMPs相结合时增强了早期Smad通路,且不依赖于自分泌配体的分泌物。又有研究表明,生物力学(主要指动态压力)在BMPs上通过BMPR-I刺激成骨细胞激活Smad1/5/8,并可能提高骨移植Smad独立成骨的基因^[51]。杜静等^[52]经过连续4 d、每天1 h的压力刺激兔BMSCs后,发现BMP-2、Smad1、Smad5的基因表达和蛋白质水平均明显增加,表明BMP/Smads信号通路介导了压力刺激兔BMSCs成软骨响应的过程。

2.4 流体剪切力对BMPs的影响

另有研究提示,BMP-2通路是流体剪切力信号转导的重要通路,适宜的流体剪切力刺激通过BMP-2表达增强而引起Smad4在胞质内积聚。Sharp等^[53]通过低频率的脉动流刺激BMSC,分析骨基质中骨胶原蛋白、骨桥蛋白、骨钙素(osteocalcin, OCN)、骨涎蛋白(bone sialoprotein, BSP)的表达,发现所有的mRNA均上调,此外,BMP-2、BMP-7、TGF- β 1、血管内皮生长因子-A(vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)均显著上调。Kido等^[54]通过流体剪切力作用于小鼠主要成骨细胞一系列实验发现,PKC δ -BR-Smads信号通路在细胞内信号响应机械应力的过程中发挥着重要作用,同时PKC δ -BR-Smads和 Δ FosB/JunD信号通路协同刺激*IL-11*(interleukin-11)基因转录激活Smad,响应机械应力。

2.5 其他力学刺激对BMPs的影响

除了上述提到的重力、牵张力、压力和流体剪切力对BMPs的影响外,还有其他形式的力刺激BMPs从而促进成骨细胞的分化。譬如,詹静等^[55]通过观察BMP-2以及BMP细胞内信号转导的重要介质Smads信号分子在下颌前导后适应性改建的变化,探讨机械应力对兔下颌髁突软骨中BMP/Smads信号传导通路表达的改变,发现下颌前导后,BMP-2和Smad1/5、Smad4、Smad6明显上调,促进了髁突的软骨内成骨。可见,BMP/Smads信号通路可能参与了机械应力信号向基本生命活动信号的转变,并发挥着重要作用。Wang等^[56]通过四点弯曲系统对MC3T3-E1细胞施加机械刺激,RT-PCR和Western blot检测细胞BMP-2、BMP-4、Smad1、Smad5、Smurf1和Smurf2 mRNA水平和蛋白质水

平的变化,发现机械刺激增加ALP的表达,可能通过BMP/Smad信号通路促进成骨细胞分化,同时机械刺激使Smurf1水平下调,导致Smad蛋白积累,从而增强BMP/Smad信号活性。

综上所述,不同形式的力学主要在BMPs/Smad信号通路上调通路上的启动位点BMP、相关靶基因Runx2和osterix的表达来促进成骨细胞的分化。同时,机械刺激有可能在胞质内抑制Smurf等来调控胞内的信号转导,导致Smad蛋白积累,增强BMP/Smad信号。此外,机械刺激早期激活p38MAPK和NF- κ B的信号转导通路增加BMP的表达量。BMP在将机械载荷转换为生物化学效应的信号通路中起着重要的调节作用。

不同方式、不同强度的机械力学作用于细胞,类似于人体骨骼在日常中所处于的环境,通过研究机械载荷对离体细胞的影响,有望将细胞外的物理信号通过不同的转导通路转化为细胞内的生物电信号的改变,从而影响相关基因的表达。因此,研究机械载荷对骨组织BMPs的影响,有助于我们进一步研究运动提高生长期的峰值骨量和维持或减缓老年期骨吸收速率,从而预防骨质疏松症发生。

参考文献 (References)

- 1 Urist MR. Bone: Formation by autoinduction. *Science* 1965; 150(3698): 893-9.
- 2 安新玲, 韩金祥, 王世立. 骨形态发生蛋白的研究进展. *食品与药品*(An Xinling, Han Jinxiang, Wang Shili. Progress on bone morphogenetic protein. *Food and Drug*) 2009; 11(11): 69-73.
- 3 杨洁, 李玉坤. 骨形态发生蛋白与骨代谢. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*(Yang Jie, Li Yukun. Bone morphogenetic protein and bone metabolism. *Chin J Osteoporosis & Bone Miner Res*) 2013; 6(1): 89-94.
- 4 Jadlowiec JA, Celil AB, Hollinger JO. Bone tissue engineering: Recent advances and promising therapeutic agents. *Expert Opin Biol Ther* 2003; 3(3): 409-23.
- 5 Yoon ST, Boden SD. Osteoinductive molecules in orthopaedics: Basic science and preclinical studies. *Clin Orthop Relat Res* 2002; (395): 33-43.
- 6 梁源, 常新. 骨形态发生蛋白的信号传导通路及其拮抗因子. *大连医科大学学报*(Liang Yuan, Chang Xin. Signal transduction and antagonists of bone morphogenetic proteins. *Journal of Dalian Medical University*) 2011; 33(2): 187-91.
- 7 Miyazono K, Maeda S, Imamura T. BMP receptor signaling: Transcriptional targets, regulation of signals, and signaling cross-talk. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16(3): 251-63.
- 8 Miyazawa K, Shinozaki M, Hara T, Furuya T, Miyazono K. Two major Smad pathways in TGF-beta super family signaling. *Genes Cells* 2002; 7(1): 1191-204.
- 9 Yun YR, Jang JH, Jeon E, Kang W, Lee S, Won JE, *et al.*

- Administration of growth factors for bone regeneration. *Regen Med* 2012; 7(3): 369-85.
- 10 Sapkota G, Alarcon C, Spagnoli FM, Brivanlou AH, Massagué J. Balancing BMP signaling through integrated inputs into the Smad1 linker. *Mol Cell* 2007; 25: 441-54.
- 11 Wagner DO, Sieber C, Bhushan R, Börgemann JH, Graf D, Knaus P. BMPs: From bone to body morphogenetic proteins. *Sci Signal* 2010; 3(107): mr1.
- 12 杨柳青, 林正梅. BMP-Smads信号转导通路及其调节. 国际病理科学与临床杂志(Yang Liuqing, Lin Zhengmei. BMP-Smads signaling pathway and its regulation. *International Journal of Pathology and Clinical Medicine*) 2006; 26(5): 413-6.
- 13 杨 鹏, 杨 飞, 曲彦隆. 骨形态发生蛋白信号通路及调控的研究进展. 医学综述(Yang Peng, Yang Fei, Qu Yanlong. Research progress of the signal pathway of bone morphogenetic protein and regulation. *Medical Recapitulate*) 2012; 18(23): 3920-3.
- 14 章军辉, 陈永强. 骨形态发生蛋白分子信号转导的研究进展. 国外医学: 骨科学分册(Zhang Junhui, Chen Yongqiang. Review on BMP signaling pathway.) 2003; 24(4): 235-7.
- 15 蔡 明, 邓廉夫. Smads在骨形态发生蛋白诱导成骨中的作用. 国际骨科学杂志(Cai Ming, Deng Lianfu. The role of Smads in BMP induced osteogenesis. *International Journal of Orthopaedics*) 2007; 28(3): 180-2, 196.
- 16 Zimmerman CM, Padgett RW. Transforming growth factor beta signaling mediators and modulators. *Gene* 2000; 249(1/2): 17-30.
- 17 赵 贤, 李世昌, 李小英. 骨形成因子及其信号传导通路述评. 中国骨质疏松杂志(Zhao Xian, Li Shichang, Li Xiaoying. Factors affecting bone formation and corresponding signal transduction. *Chin J Osteoporosis*) 2008; 14(9): 680-4.
- 18 周 燕, 李世昌, 马 涛. 运动对骨组织TGF- β /Smads的影响. 山西师大体育学院学报(Zhou Yan, Li Shichang, Ma Tao. Effects of movements on bone mineral density and TGF- β /Smads. *Journal of Physical Education Institute of Shanxi Normal University*) 2011; 26(3): 115-9.
- 19 Chen G, Deng C, Li YP. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *Int J Biol Sci* 2012; 8(2): 272-88.
- 20 Sieber C, Kopf J, Hiepen C, Knaus P. Recent advances in BMP receptor signaling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20: 343-55.
- 21 Weston CR, Lambright DG, Davis RJ. Signal transduction. MAP kinase signaling specificity. *Science* 2002; 296(5577): 2345-7.
- 22 Hoffmann A, Preobrazhenska O, Wodarczyk C, Medler Y, Winkel A, Shahab S, *et al.* Transforming growth factor-beta-activated kinase-1 (TAK1), a MAP3K, interacts with Smad proteins and interferes with osteogenesis in murine mesenchymal progenitors. *J Biol Chem* 2005; 280: 27271-83.
- 23 Greenblatt MB, Shim JH, Zou W, Sitara D, Schweitzer M, Hu D, *et al.* The p38 MAPK pathway is essential for skeletogenesis and bone homeostasis in mice. *J Clin Invest* 2010; 120: 2457-73.
- 24 Iura A, Mc Nerny EG, Zhang Y, Kamiya N, Tantillo M, Lynch M, *et al.* Mechanical loading synergistically increases trabecular bone volume and improves mechanical properties in the mouse when BMP signaling is specifically ablated in osteoblasts. *PLoS One* 2015; 10(10): e0141345.
- 25 Satow R, Kurisaki A, Chan T, Hamazaki TS, Asashima M. Dullard promotes degradation and dephosphorylation of BMP receptors and is required for neural induction. *Dev Cell* 2006; 11(6): 763-74.
- 26 Hartung A, Bitton-Worms K, Rechtman MM, Wenzel V, Boergemann JH, Hassel S, *et al.* Different routes of bone morphogenic protein (BMP) receptor endocytosis influence bmp signaling. *Mol Cell Biol* 2006; 26(20): 7791-805.
- 27 Carreira AC, Lojudice FH, Halsik E, Navarro RD, Sogayar MC, Granjeiro JM. Bone morphogenetic proteins: Facts, challenges, and future perspectives. *J Dent Res* 2014; 93(4): 335-45.
- 28 Shen ZJ, Nakamoto T, Tsuji K, Nifuji A, Miyazono K, Komori T, *et al.* Negative regulation of bone morphogenetic protein/Smad signaling by Cas-interacting zinc finger protein in osteoblasts. *J Biol Chem* 2002; 277(33): 29840-6.
- 29 田振军, 马德媛, Zhang Ping, Hiroki Yokota. 不同方式刺激与运动训练的成骨作用机理研究. 中国体育科技(Tian Zhenjun, Ma Deyuan, Zhang Ping, Hiroki Yokota. Osteogenetic mechanism of different stimulation and sports training. *China sport science and technology*) 2009; 45(1): 115-20.
- 30 Mammoto T, Ingber DE. Mechanical control of tissue and organ development. *Development* 2010; 137(9): 1407-20.
- 31 Alenghat FJ, Tytell JD, Thodeti CK, Derrien A, Ingber DE. Mechanical control of cAMP signaling through integrins is mediated by the heterotrimeric Galphas protein. *J Cell Biochem* 2009; 106(4): 529-38.
- 32 王玉峰, 张赐童, 罗雯静, 梁先烈, 王晓容. 细胞对机械刺激感知的生物力学机制. 现代生物医学进展(Wang Yufeng, Zhang Citong, Luo Wenjing, Liang Xianlie. Biomechanical mechanism for cells to perceive mechanical stimuli. *Progress in Modern Biomedicine*) 2015; 15(20): 3979-81.
- 33 Brown TD. Techniques for mechanical stimulation of cells *in vitro*: A review. *J Biomech* 2000; 33(1): 3-14.
- 34 艾江平, 谭光宏, 余德涛, 邢祯全, 张福聪, 王佳斌, 等. 机械刺激对骨质疏松症的影响的研究进展. 实用医学杂志(Ai Jiangping, Tan Guanghong, Yu Detao, Xing Zhenquan, Zhang Fucong, Wang Jiabin, *et al.* Review on the effects of mechanical stimulation to osteoporosis. *The Journal of Practical Medicine*) 2012; 28(20): 3474-6.
- 35 关 键, 程宗生, 王健平, 李德超, 邓慧鑫. 成骨细胞中Runx2对机械离心力刺激的响应. 华西口腔医学杂志(Guan Jian, Cheng Zongsheng, Wang Jianping, Li Dechao, Deng Huixin. Bone morphogenetic protein signal transduction pathway regulates Runx2 expression in MC3T3 -E1 osteoblasts *in vitro* induced by centrifugation. *West China Journal of Stomatology*) 2010; 28(1): 38-40, 44.
- 36 段 峰, 关 键, 杨红岩, 王心戩, 张国梁, 朱 杨. 机械离心力对成骨细胞骨形态发生蛋白信号通路中Runx-2 mRNA的影响. 中国组织工程研究(Duan Feng, Guan Jian, Yang Hongyan, Wang Xinyu, Zhang Guoliang, Zhu Yang. Effect of mechanical centrifugal force on Runx-2 mRNA in osteoblasts' bonemorphogenetic protein signal pathway. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*) 2014; 18(33): 5305-9.
- 37 陈 铭, 关 键, 段 峰, 朱丽萍, 岳长军, 王建波. 机械离心力对成骨细胞骨形态发生蛋白信号通路的影响. 中国组织工程研究(Chen Ming, Guan Jian, Duan Feng, Zhu Liping, Yue Changjun, Wang Jianbo. Effect of mechanical centrifugal force on the signaling pathways of osteoblast bone morphogenetic protein. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*) 2012;

- 16(20): 3626-9.
- 38 黄国平, 郑强, 杨金凤, 郭春娟, 沈丹, 石东燕, 等. 模拟微重力对人骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化中细胞信号通路影响的分析. 空间科学学报(Huang Guoping, Zheng Qiang, Yang Jinfeng, Guo Chunjuan, Shen Dan, Shi Dongyan, *et al.* Analysis of effects of simulated micro gravity on signaling pathways involved in osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. Chin J Space Sci) 2008; 28(1): 87-96.
- 39 Huang Y, Dai ZQ, Ling SK, Zhang HY, Wan YM, Li YH. Gravity, a regulation factor in the differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. J Biomed Sci 2009; 16: 87.
- 40 黄懿文, 杨锐, 陈思, 孙嘉, 陈容平, 黄震. PPAR γ 通路对模拟微重力条件下大鼠骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的影响. 南方医科大学学报(Huang Yiwen, Yang Rui, Chen Si, Sun Jia, Chen Rongping, Huang Zhen. Role of PPAR γ signaling pathway in osteogenic differentiation of rat bone marrow derived mesenchymal stem cells in simulated microgravity. J South Med Univ) 2013; 33(4): 573-7.
- 41 Sheyn D, Pelled G, Netanel D, Domany E, Gazit D. The effect of simulated microgravity on human mesenchymal stem cells cultured in an osteogenic differentiation system: a bioinformatics study. Tissue Eng Part A 2010; 16(11): 3403-12.
- 42 毛新建, 宋关斌, 罗庆, 张晨. 微重力效应对骨髓间充质干细胞增殖分化影响的研究进展. 医用生物力学(Mao Xinjian, Song Guanbin, Luo Qing, Zhang Chen. Progress of microgravity effects on proliferation and differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. Journal of Medical Biomechanics) 2013; 28(1): 121-6.
- 43 徐沁, 张丽君, 王永春, 张舒, 闫铭. 失重或模拟失重对骨形成影响的研究进展. 解放军医学院学报(Xu Qin, Zhang Lijun, Wang Yongchun, Zhang Shu, Yan Ming. Advances in effects of weightlessness or simulated weightlessness on bone formation. Acad J Chin PLA Med Sch) 2015; 36(3): 291-3.
- 44 王冰, 曹新生, 吴燕红, 杨志, 张舒. 模拟失重对骨形态发生蛋白2(BMP-2)诱导的ROS17/2.8细胞中ERK活性的影响. 航天医学与医学工程(Wang Bing, Cao Xinsheng, Wu Yanhong, Yang Zhi, Zhang Zhi, Zhang Shu. Effects of Simulated Weightlessness on Activity of ERK Induced by BMP-2 in ROS17/2.8 Cells. Space Medicine & Medical Engineering) 2006; 19(6): 399-402.
- 45 王冰, 吴燕红, 张舒, 吴兴裕. 模拟失重条件下骨形态发生蛋白-2诱导的成骨细胞蛋白激酶MEK1活性的变化. 中华航空航天医学杂志(Wang Bing, Wu Yanhong, Zhang Shu, Wu Xingyu. Effects of simulated weightlessness on the kinase activity of MEK1 induced by bone morphogenetic protein-2 in rat osteosarcoma cells. Chin J Aerospace Med) 2005; 16(1): 1-4.
- 46 Sumanasinghe RD, Bernacki SH, Lobo EG. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells in collagen matrices: Effect of uniaxial cyclic tensile strain on bone morphogenetic protein (BMP-2) mRNA expression. Tissue Eng 2006; 12(12): 3459-65.
- 47 Guo Y, Zhang CQ, Zeng QC, Li RX, Liu L, Hao QX, *et al.* Mechanical strain promotes osteoblast ECM formation and improves its osteoinductive potential. Biomed Eng Online 2012; 11: 80.
- 48 Lu HF, Mai ZH, Xu Y, Wang W, Ai H. Mechanical loading induced expression of bone morphogenetic protein-2, alkaline phosphatase activity, and collagen synthesis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. Chin Med J (Engl) 2012; 125(22): 4093-7.
- 49 Wang L, Li JY, Zhang XZ, Liu L, Wan ZM, Li RX, *et al.* Involvement of p38MAPK/NF- κ B signaling pathways in osteoblasts differentiation in response to mechanical stretch. Ann Biomed Eng 2012; 40(9): 1884-94.
- 50 Kopf J, Petersen A, Duda GN, Knaus P. BMP2 and mechanical loading cooperatively regulate immediate early signalling events in the BMP pathway. BMC Biol 2012; 10: 37.
- 51 Rath B, Nam J, Deschner J, Schaumburger J, Tingart M, Grässel S, *et al.* Biomechanical forces exert anabolic effects on osteoblasts by activation of SMAD 1/5/8 through type 1 BMP receptor. Biorheology 2011; 48(1): 37-48.
- 52 杜静, 程百祥, 陈慧, 李轶杰, 王忠山, 张旻, 等. BMPs信号通路在压力调控兔BMSCs成软骨响应中的作用. 牙体牙髓牙周病学杂志(Du Jing, Cheng Baixiang, Chen Hui, Li Yijie, Wang Zhongshan, Zhang Min, *et al.* The role of BMPs signal pathway in chondrogenic mechanotransduction in BMSCs. Chin J Conserv Dent) 2013; 23(4): 218-24.
- 53 Sharp LA, Lee YW, Goldstein AS. Effect of low-frequency pulsatile flow on expression of osteoblastic genes by bone marrow stromal cells. Ann Biomed Eng 2009; 37(3): 445-53.
- 54 Kido S, Kuriwaka-Kido R, Umino-Miyatani Y, Endo I, Inoue D, Taniguchi H, *et al.* Mechanical stress activates Smad pathway through PKC δ to enhance interleukin-11 gene transcription in osteoblasts. PLoS One 2010; 5(9): pii: e13090.
- 55 詹静, 吴慧玲, 冯剑颖, 谷志远, 刘丽, 吴刚. BMP/Smads信号传导通路在兔下颌持续前导后髁突的表达. 浙江大学学报(医学版)(Zhan Jing, Wu Huiling, Feng Jianying, Gu Zhiyuan, Liu Li, Wu Gang. Expression of BMP/Smads in rabbit condylar cartilage during mandibular forward positioning. Journal of Zhejiang University Medical Science, Medical Science Edition) 2006; 35(5): 485-90.
- 56 Wang L, Zhang X, Guo Y, Chen X, Li R, Liu L, *et al.* Involvement of BMPs/Smad signaling pathway in mechanical response in osteoblasts. Cell Physiol Biochem 2010; 26(6): 1093-102.