

成骨细胞与破骨细胞共培养及其应用研究进展

廖乃顺¹, 陈文列^{1,2}, 黄云梅^{1,2}, 陈赛楠¹

(1. 福建中医药大学, 福建 福州 350122; 2. 福建中西医结合研究院, 福建 福州 350122)

【摘要】 成骨细胞与破骨细胞并非孤立存在, 两种细胞存在直接接触、分泌旁分泌因子、细胞与骨基质 3 种相互作用。成骨细胞与破骨细胞共培养技术有直接接触式、间接接触式 2 类方式, 它能最大程度地模拟体内微环境, 有利于研究两细胞间的相互作用, 探讨两者失衡在骨质疏松症等骨代谢疾病形成中的作用; 细胞共培养应根据病理状态下两细胞的比例选用种属来源一致的细胞。目前该技术主要用于探讨药物防治骨质疏松症的作用机制, 已有淫羊藿、三七、补骨脂、雷奈酸锶等既促进成骨细胞骨形成, 又抑制破骨细胞骨吸收活性的双重药理作用研究等报道。成骨细胞与破骨细胞共培养的一个新的应用方向, 将是应用于软骨下骨重建功能活动的探讨以及中西药干预骨性关节炎的研究。

【关键词】 成骨细胞; 破骨细胞; 共培养体系; 骨重建; 药理作用

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2013.04.022

Research progress of co-culture system of osteoblast with osteoclast and its applications LIAO Nai-shun, CHEN Wen-lie*, HUANG Yun-mei, and CHEN Sai-nan. *Fujian Academy of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, Fujian, China

ABSTRACT Osteoclasts and osteoblasts are not exist alone, while communicating with each other through direct contact, diffusible paracrine factors and cell-bone matrix interaction. Co-culture system of osteoblast with osteoclast, including direct co-culture and indirect co-culture. It should be according to the ratio of osteoclasts and osteoblasts under the pathology, choosing the same species. Compared with lonely culture of osteoblasts or osteoclasts, co-culture system is much closer to the microenvironment in vivo. It benefits to explain the interactions between osteoblasts and osteoclasts, exploring molecular communication in bone diseases. It was mainly used to investigate the pharmacological mechanism of herbal and western medicine in bone remodeling. Some osteoporosis drugs (such as epimedium, sanchi, fructus psoraleae, ranelate strontium) not only promoted osteoblastic bone formation, but also inhibited osteoclastic bone resorption in the system, so as to balance bone homeostasis. At the same time, it has been used to study medical physics and assess biomedical materials in recent years. Considerably, the coculture system will be used to study the subchondral bone remodeling and its pharmacological mechanism of herbal and western medicine in osteoarthritis.

KEYWORDS Osteoclast; Osteoblast; Co-culture system; Bone remodeling; Pharmacological effect

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(4): 349-353 www.zggszz.com

正常骨组织通过骨重建修复自身微损伤, 保持结构、载荷和钙的内稳态平衡^[1]。成骨细胞(Osteoblast, OB)和破骨细胞(Osteoclast, OC)是骨重建过程中的两种主要细胞, 调节 OB 与 OC 的生成、活性以及两者之间相互作用, 能协调骨形成与骨吸收的动态平衡。骨重建过程中, OB 与 OC 的功能活动并非孤立存在, 两细胞间存在相互作用。OB 与 OC 共培养对观察两细胞间的相互作用、作用方式及防治骨病药物的药理研究有重要意义。

1 OB/OC 共培养模式及意义

1.1 共培养模式 OB/OC 共培养, 即 OB 与 OC 的混(复)合培养, 模式有直接接触式、间接接触式。直接接触式培养是

OB 与 OC 按一定比例在同一培养皿中培养^[2-3](图 1); 间接接触式培养主要为玻片式^[4](培养皿上方放置的玻片接种 OC, 并与培养皿上的 OB 分隔开来, 图 2), Transwell 培养小室(上下两室分别接种 OB 与 OC, 图 3)^[5-6]等。在直接接触式共培养中, 细胞间的直接接触, 便于研究细胞间的直接作用, 但不利于研究单细胞的生理状态及活性。在间接接触式共培养中, 两细胞相对分开, 这便于研究单细胞的功能活动, 但无法观察两细胞的直接作用; 玻片式的共培养与 Transwell 培养小室相比, Transwell 培养小室的成本较高, 而操作相对方便。OB 和 OC 共存于骨组织中, 细胞间既有直接作用又有间接作用, 但二者属高度分化细胞, 间接作用是两者的主要信息交流^[7]。故在 OB/OC 共培养运用中, 间接接触式方法更有意义^[8]。当然, 在实际应用中, 应根据所需研究内容而定。

1.2 共培养时细胞选择 从理论上讲, 共培养体系中的 OB 应来源于临床骨病患者, 但此时的 OB 活性往往不强, 其增殖、分化及矿化能力较弱, 在进行体外分离、培养时, 不易获得成功。目前, 国内外骨病研究中的 OB 主要来源于新生动物

基金项目: 陈可冀中西医结合发展基金项目(编号: CKJ2011004、CKJ2009005); 福建省自然科学基金项目(编号: 2010J01200)

Foud program: Chen Ke-ji Integrative Development Fund of TCM and Western Medicine (No. CKJ2011004)

通讯作者: 陈文列 E-mail: chen.wl@163.com

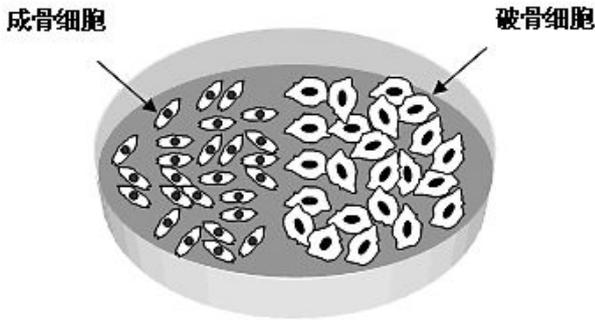


图 1 直接接触式培养
Fig.1 Direct co-culture

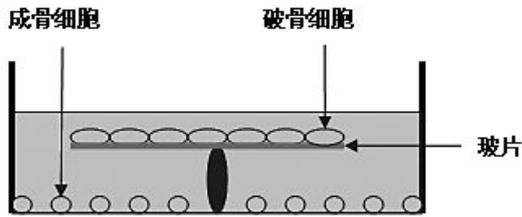


图 2 间接接触式培养(玻片式)
Fig.2 Indirect co-culture(slide model)

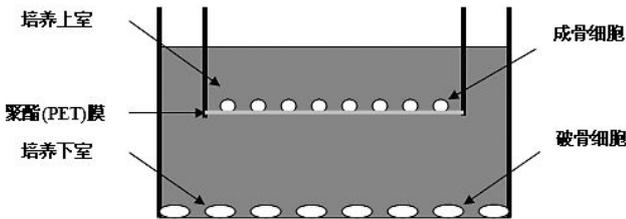


图 3 间接接触式培养(Transwell 培养小室)
Fig.3 Indirect co-culture(Transwell chamber culture system)

(大鼠、小鼠、兔等)或其胚胎颅骨,以及人的胚胎颅骨^[9-10];同时,也选用成骨样细胞株或细胞系,如小鼠成骨细胞株(MC3T3-E1)、大鼠成骨肉瘤细胞系(ROS17/2.8、UMR-106)、人成骨样细胞系(U2-OS、MG-63、OS-732、Saos-2)等^[11-15]。另外,成骨细胞还来源于骨髓间充质干细胞(BMSCs),该细胞具有很强的增殖能力与分化功能,也可用于 OB/OC 共培养。

OC 由单核造血干细胞分化而成,为高度分化的终末细胞,只能进行原代培养;培养方法有成熟 OC 直接分离培养法、破骨前体细胞诱导分化培养法。因 OC 存活时间较短,直接分离培养法难以获得大量 OC,不易满足研究需求,故实际应用时多为破骨前体细胞(如骨髓单核细胞、小鼠单核细胞 RAW264.7)的诱导分化培养。目前国内外公认的方法主要为巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)与核因子 κ B 受体活化因子配体(RANKL)的联合诱导^[16]。

OB/OC 共培养时,可直接经 OB 与破骨前体细胞共培养,通过 OB 自身分泌巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)、破骨细胞分化因子(RANKL)等调控因子来促进 OC 分化、形成,以实现 OB 与 OC 共培养^[4];也可在 OB 与破骨前体细胞共培养时,外加 M-CSF、RANKL 来诱导 OC 分化,进行 OB/OC 共培养^[2]。此外,由于种属间基因、蛋白表达的差异,在共培养时应选择种属来源一致的 OB 与 OC(如 MC3T3-E1 与 RAW264.7 共培养,ROS17/2.8 与大鼠骨髓单核细胞共培养等),以免种属差异而影响研

究结果的实际意义。

1.3 共培养的研究意义 OB、OC 是骨重建过程中的主要细胞,OB 主导骨形成,OC 主导骨吸收;正常情况下两者间存在动态平衡,一旦偶联失衡会导致骨代谢性疾病如骨质疏松症(Osteoporosis, OP)、骨性关节炎(Osteoarthritis, OA)等。OP 主要表现为 OC 主导骨吸收活跃,骨矿含量下降、骨密度降低。而 OA 早期,软骨下骨 OC 数量增加,骨吸收增强,局部骨质疏松;晚期,软骨下骨皮质终板硬化,硬化区软骨下骨 OB 矿化能力下降等^[17]。这说明 OA、OP 等骨病的发生发展过程均存在不同程度的骨重建异常。因此,通过 OB/OC 共培养,一方面研究 OA、OP 等骨病骨重建异常变化,有助于探讨 OA、OP 等骨病的病理机制;另一方面通过研究药物对 OB/OC 共培养影响,有利于探讨药物防治 OA、OP 等骨病的作用机制。

2 OB 与 OC 相互作用方式

骨重建即骨再生循环,分活化、吸收、逆转及骨形成 4 个过程。此过程中,OB 与 OC 存在相互作用^[18-20],主要有直接接触、分泌旁分泌因子、细胞与骨基质作用这 3 种作用方式^[20]。在直接接触中,一方面主要通过细胞膜受体与配体结合传导至细胞内。如近年来发现^[21-22]的 EphB4/ephrinB2 双向信号传导,就依赖于 OB 与 OC 直接接触,EphB4 的正向信号,促进 OB 分化及其骨形成活性;同时 ephrinB2 的反向作用,抑制 OC 分化及其骨吸收活性,进而调节骨重建作用^[23]。另一方面,OB 与 OC 通过缝隙连接进行细胞间通讯,许多与生长、分化密切相关小分子物质(<1 000Da)如 Ca^{2+} 、氨基酸 cAMP、IP3、单糖、氨基酸、核苷酸、维生素和激素等,可通过缝隙连接而影响两细胞的增殖、分化^[24]。OB 与 OC 相互作用中,两细胞间也通过旁分泌细胞因子影响对方生长、分化及成熟。如 OB 及前体细胞分泌的 RANKL,对 OC 分化、存活起重要作用^[25-27]。在骨重建逆转过程中,即骨吸收向骨形成转化过程中,OC 分泌细胞因子是 OB 活化的关键,如鞘氨醇 1 磷酸(SIP)、血小板衍生生长因子二聚体(PDGF-BB)和肝细胞生长因子(HGF)等^[20]。骨重建时,OC 溶解骨质并释放转化生长因子- β (TGF- β)、骨形态发生蛋白(BMP)、胰岛素样生长因子(IGF)等激活 OB 的骨形成;从体内骨基质提取 TGF- β 、BMP、IGF 等发现均能促进 OB 分化、促进骨形成^[20]。这说明骨基质是 OB 与 OC 相互作用的一个媒介,也是两细胞发挥效应的靶组织。

3 OB/OC 共培养在 OB、OC 间相互作用研究中的应用

OB/OC 共培养时,两细胞通过直接接触,分泌细胞因子等影响对方的生成与活性。关于 OC 对 OB 影响的文献报道不多,多数认为 OC 促进 OB 的增殖、分化^[8]。而 OB 对 OC 的影响既表现为对 OC 形成分化的促进作用,又有抑制作用。如大鼠骨髓单核细胞经 M-CSF、RANKL 诱导培养 6 d 后,与原代培养 3 d 的 OB 按 1:1 数量共培养,并加入 1,25-二羟基维生素 D_3 (1,25-[OH]₂D₃)、前列腺素 E_2 (PGE₂) 干预,发现 OB 对 OC 形成及分化有抑制作用^[28];而将小鼠骨髓单核细胞与 OB 按 10:1 共培养时,则表现为 OB 对 OC 的促进作用^[29]。这说明 OB 对 OC 的影响与共培养时 OB 与破骨前体细胞的接种比例相关。这可能与共培养时 OB 的生长状态相关,当 OB 占的比例较多时,表现为 OB 生长优势,使其正常分泌一些细胞因子促进 OC 的生成、活性;当 OC 生长优势时,使 OB 无法正常分泌细胞因子,从而表现为对 OC 的抑制作用。此外 OB

亦可通过 NO 产物抑制 OC 的生长,如在 OB/OC 共培养体系中,加入外源性的 PDGF-BB 时,可刺激 OB 中 NO 合成酶的活性,产生 NO 产物,抑制 OC 的骨吸收功能^[30]。正常情况下,OB 与 OC 间存在一定的偶联,使 OB、OC 间必然存在较为复杂的相互作用;而在病理状态下,这一平衡往往被打破,如 OP 下表现为 OC 的骨吸收活跃。故进行 OB 与 OC 共培养时,应根据病理状态下 OB 与 OC 比例,最大程度地模拟体内环境。

4 OB/OC 共培养在骨病药理研究中应用

OB 与 OC 之间存在相互作用,相对于单纯的 OB 或 OC 实验,OB/OC 共培养更能准确的反应骨代谢情况。观察药物对该体系的影响,可实现药物对 OB 骨吸收与 OC 骨形成的双重调控作用研究,进一步探讨药物防治 OP 等骨病的作用机制。

4.1 西药防治 OP 的双重药理作用 目前治疗 OP 的药物分两类:一类为抑制骨吸收药物,如二膦酸盐、雌激素、降钙素等;另一类为促进骨形成药物,如人重组甲状旁腺素。而雷尼酸锶具有以上两类药物的优点,同时有抑制骨吸收,促进骨形成的双重药理作用。OB/OC 共培养能同时观察药物对 OB 与 OC 的功能活动,有利于进一步阐述雷尼酸锶治疗 OP 的双重药理作用机制。在破骨前体细胞 RAW264.7 与人成骨细胞 SV-HFO 共培养体系中,雷奈酸锶既抑制 OC 抗酒石酸性磷酸酶(TRAP)基因表达,又促进 OB 碱性磷酸酶(ALP)、I 型胶原蛋白表达,同时提高 OB 的 OPG/RANKL 比例^[31]。这提示 OPG/RANKL 通路是雷奈酸锶防治 OP 的作用机制之一。

4.2 中药防治 OP 药理作用 中药防治 OP 等骨病研究中,多数围绕着中药对单一 OB 或 OC 的调控作用研究。近年来,随着中药现代化的开展,OB/OC 共培养技术逐渐用于中药防治骨病作用机制的探讨,成为骨病研究方法的焦点之一。目前 OB/OC 共培养多用于中药防治 OP 的药理、药效学研究。

多数利用 OB/OC 共培养研究中药复方治疗 OP 的药理作用,主要集中在补肾益骨中药对体系中 OC 骨吸收功能的影响。如抗骨松丹杞颗粒主要通过提高血钙水平,减少钙丢失从而达到治疗目的;通过共培养体系进一步发现其含药血清还能抑制 OC 的 TRAP 活性^[32]。益骨胶囊能作用于 OP 的各个环节,最终达到纠正机体激素失衡和负钙平衡的功效;应用共培养体系进一步验证其含药血清能抑制体系中 OC 活性,并诱导其凋亡^[33]。由鹿茸、骨碎补、菟丝子等组成的补肾中药也抑制 OB/OC 共培养体系中 OC 的骨吸收功能^[34]。说明多数补肾中药复方可通过抑制 OC 的生成与活性达到防治 OP 的疗效。利用 OB/OC 共培养也可研究中药复方对 OB 骨形成活动、OC 骨吸收功能影响等多重防治 OP 的药理作用。仙灵骨葆胶囊主要用于治疗瘀血阻滞所致的骨质疏松症,应用共培养体系研究发现仙灵骨葆含药血清可促进体系中 OB 的矿化作用,并提高 OPG/RANKL 比例抑制 OC 活性^[35],说明 OPG/RANKL 通路可能仙灵骨葆胶囊治疗 OP 的作用机制之一。中药复方成分较多,具有多作用、多靶点,可通过 OB/OC 共培养进一步阐述中药对骨重建过程中的多重作用机制,进而防治 OP。

在利用 OB/OC 共培养体系探讨中药防治 OP 的药理作用时,发现多数中药也表现为既促进 OB 骨形成作用,又抑制 OC 骨吸收活性的双重药理作用。如活血化瘀中药三七,有止血、保肝、抗炎、镇痛等功效,通共培养体系进一步发现三七可

促进 OB/OC 共培养体系中的 OB 增长并分泌 IGF-1,抑制 OB 分泌 IL-6,从而抑制 OC 增长,抑制骨吸收功能^[36],说明三七对 OP 也有一定的治疗效果,而其具体的有效部位,尚未进一步报道。一些补肾中药的单体化合物也有该作用,如淫羊藿中的淫羊藿苷可以增强共培养体系中的 OB 活性,抑制 OC 功能^[6];补骨脂的补骨脂素能促进 OB/OC 共培养体系中的 OB 增殖,并提高 ALP 活性、IL-11 mRNA 表达,同时抑制 OC 的活性^[37]。中药的单体化合物,成分单一,应进一步多层次研究其防治 OP 的药理作用,开发防治 OP 新药。

5 在医学物理学与生物医学材料中应用

近年来,发现脉冲电磁场(PEME)在 OP 等骨病的防治中发挥了重要作用,常常用于辅助治疗。OB/OC 共培养也可应用于 PEME 防治骨病的作用机制研究,发现 PEME 干预 OB/OC 共培养体系,可作用于 OB Na⁺通道引致细胞去极化,并开放电压依赖型 Ca²⁺通道而升高细胞内 Ca²⁺浓度;同时 Ca²⁺作为细胞内第二信使,介导 PEME 对 OB 功能的调节作用^[38];还可促进共培养体系中 OB 增殖、分化、矿化作用^[6]。这些均提示 PEME 可促进 OB 骨形成作用,从而防治 OP。此外,OB/OC 共培养还用于生物医学材料的筛选与评价^[2,5]。

6 结语

综上所述,OB/OC 共培养已经取得初步进展,它与单一 OB 或 OC 培养研究相比,能更好模拟相关细胞相互作用及其相关因子间调控作用的体内环境,同时使 OB 骨形成与 OC 骨吸收这一复杂的对立统一过程简单化,有利于研究 OB 与 OC 之间的相互作用,并探讨其在相关骨病及骨重塑中的作用机制,也有利于在此基础上进行中西药的药效与药理研究。但它还存在一些不足:①因 OC 细胞为终末细胞不增殖,没有建株/系,在进行共培养时往往需要诱导,故 OB/OC 共培养比 OB 或 OC 单独培养更为不易;②OB 与 OC 在不同疾病不同病理过程中,其对应的比例不一致,与建立好病理状态下的 OB/OC 共培养有一定距离;③采用 Transwell 培养板进行 OB/OC 共培养时,上层细胞要进行显微结构观察时较为不易。为此,一方面要从理论上进一步发现各种骨病状态下 OB 与 OC 相关基因、蛋白等表征变化,为建立好病理状态下的 OB/OC 共培养提供依据;另一方面要充分利用现代细胞与分子生物学技术,研究共培养体系中 OB 与 OC 相关基因、蛋白、信号转导通路等,来探讨药物、生物医学材料等调控 OB 与 OC 的活性、分化或相互作用机制。

目前,关于 OB/OC 共培养多见于药物防治 OP 作用机制研究,在 OA 及其药理研究中少有报道。近年来研究发现软骨下骨病变在 OA 发生发展中起重要作用^[39],并先于软骨退变,是发生 OA 的始动因素^[40],而软骨下骨病变主要表现为骨重建异常^[41];同时改善软骨下骨代谢可减少关节软骨的破坏^[42]。因此,将 OB/OC 共培养应用于 OA 病因学、药物防治 OA 作用机制等探讨,具有良好研究前景。

参考文献

- [1] Deal C. Potential new drug targets for osteoporosis[J]. Nat Clin Pract Rheumatol, 2009, 5(1): 20-27.
- [2] Jones GL, Motta A, Marshall MJ, et al. Osteoblast; osteoclast co-cultures on silk fibroin, chitosan and PLLA films[J]. Biomaterials, 2009, 30(29): 5376-5384.
- [3] Orlandini SZ, Formigli L, Benvenuti S, et al. Functional and struc-

- tural interactions between osteoblastic and preosteoclastic cells in vitro[J]. *Cell Tissue Res*, 1995, 281(1): 33-42.
- [4] 鲁秀敏, 陈林, 苏楠, 等. 小鼠成骨细胞和破骨细胞共培养模型的建立[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2008, 14(3): 159-163.
Lu XM, Chen L, Su N, et al. Establishment of co-culture model of mouse osteoblasts and osteoclasts[J]. *Zhongguo Gu Zhi Shu Song Za Zhi*, 2008, 14(3): 159-163. Chinese.
- [5] Boanini E, Torricelli P, Gazzano M, et al. The effect of zoledronate-hydroxyapatite nanocomposites on osteoclasts and osteoblast-like cells in vitro[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(2): 722-730.
- [6] 王建钧, 张晓荣, 李晓冬. 淫羊藿苷对 SD 大鼠成骨-破骨细胞共育体系的影响[J]. *江西中医学院学报*, 2010, 22(2): 75-77.
Wang JJ, Zhang XR, Li XD. Effect of icariin on osteoblast and osteoclast co-cultured system[J]. *Jiang Xi Zhong Yi Xue Yuan Xue Bao*, 2010, 22(2): 75-77. Chinese.
- [7] 邹守平, 魏国文. 脉冲电磁场在成骨细胞-破骨细胞共育培养体系中的生物学作用[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(34): 37-39.
Zou SP, Wei GW. Biological effects of pulsed electric-magnetic fields in the osteoblast-osteoclast co-culture system[J]. *Zhongguo Lin Chuang Kang Fu*, 2005, 9(34): 37-39. Chinese.
- [8] 杨德鸿, 金大地, 陈建庭, 等. 共育体系中成骨细胞和破骨细胞生物学特性观察[J]. *中华骨科杂志*, 2001, 21(11): 676-680.
Yang DH, Jin DD, Chen JT, et al. The biological characteristics of osteoblasts and osteoclasts in co-culture system[J]. *Zhonghua Gu Ke Za Zhi*, 2001, 21(11): 676-680. Chinese.
- [9] Zhang J, Sun J, Zhang D, et al. Effects of Er3+ on the proliferation, differentiation and mineralization function of primary mouse osteoblasts in vitro[J]. *J Rare Earth*, 2011, 29(5): 507-510.
- [10] Zhou J, Ming LG, Ge BF, et al. Effects of 50 Hz sinusoidal electromagnetic fields of different intensities on proliferation, differentiation and mineralization potentials of rat osteoblasts[J]. *Bone*, 2011, 49(4): 753-761.
- [11] Kim do Y, Park YG, Quan HY, et al. Ginsenoside Rd stimulates the differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells by activating AMP-activated protein kinase via the BMP-2 signaling pathway[J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(1): 215-222.
- [12] Iida T, Kawato T, Tanaka H, et al. Sodium butyrate induces the production of cyclooxygenases and prostaglandin E₂ in ROS 17/2.8 osteoblastic cells[J]. *Arch Oral Biol*, 2011, 56(7): 678-686.
- [13] Nijs-De Wolf N, Karmali R, Bergmann P. PTHrP could be involved in transducing the stimulatory effect of strontium on mineralization in UMR 106.1 osteoblast-like cells[J]. *Bone*, 2011, 48(S2): S117.
- [14] Cui J, Ma C, Qiu J, et al. A novel interaction between insulin-like growth factor binding protein-6 and the vitamin D receptor inhibits the role of vitamin D3 in osteoblast differentiation[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 338(1-2): 84-92.
- [15] Arbon KS, Christensen CM, Harvey WA, et al. Cadmium exposure activates the ERK signaling pathway leading to altered osteoblast gene expression and apoptotic death in Saos-2 cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(2): 198-205.
- [16] Moon HJ, Ko WK, Han SW, et al. Antioxidants, like coenzyme Q10, selenite, and curcumin, inhibited osteoclast differentiation by suppressing reactive oxygen species generation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 418(2): 247-253.
- [17] 张立智, 张先龙, 王琦, 等. 骨关节炎软骨下骨的成骨细胞生物学表型研究[J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(10): 1003-1007.
Zhang LZ, Zhang XL, Wang Q, et al. Study on biological characteristics of subchondral bone osteoblasts in osteoarthritis patients[J]. *Di San Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2011, 33(10): 1003-1007. Chinese.
- [18] Atanga E, Dolder S, Dauwalder T, et al. TNF α inhibits the development of osteoclasts through osteoblast-derived GM-CSF[J]. *Bone*, 2011, 49(5): 1090-1100.
- [19] Park H, No AL, Lee JM, et al. PDE4 inhibitor upregulates PTH-induced osteoclast formation via CRE-mediated COX-2 expression in osteoblasts[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(1): 173-180.
- [20] Matsuo K, Irie N. Osteoclast-osteoblast communication[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 473(2): 201-209.
- [21] Pasquale EB. Eph receptor signalling casts a wide net on cell behaviour[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(6): 462-475.
- [22] Vearing CJ, Jackmann M. Eph receptor signaling; dimerisation just isn't enough[J]. *Growth Factors*, 2005, 23(1): 67-76.
- [23] Zhao C, Irie N, Takada Y, et al. Bidirectional ephrinB2-EphB4 signaling controls bone homeostasis[J]. *Cell Metab*, 2006, 4(2): 111-121.
- [24] Hoptak-Solga AD, Klein KA, DeRosa AM, et al. Zebrafish shortfin mutations in connexin43 lead to aberrant gap junctional intercellular communication[J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(17): 3297-3302.
- [25] Odkhuu E, Koide N, Haque A, et al. Inhibition of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)-induced osteoclast formation by pyrroloquinoline quinone (PQQ)[J]. *Immunol Lett*, 2012, 142(1-2): 34-40.
- [26] Kim AR, Kim HS, Lee JM, et al. Arctigenin suppresses receptor activator of nuclear factor κ B ligand (RANKL)-mediated osteoclast differentiation in bone marrow-derived macrophages[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 628(1-3): 29-36.
- [27] Kwak HB, Lee BK, Oh J, et al. Inhibition of osteoclast differentiation and bone resorption by rotenone, through down-regulation of RANKL-induced c-Fos and NFATc1 expression[J]. *Bone*, 2010, 46(3): 724-731.
- [28] 刘文佳, 王晓庚, 周洪, 等. 体外大鼠成骨细胞对破骨细胞形成的影响[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2008, 29(3): 281-284.
Liu WJ, Wang XG, Zhou H, et al. Effects of osteoblasts on the formation of osteoclasts in vitro[J]. *Xi An Jiao Tong Da Xue Xue Bao (Yi Xue Ban)*, 2008, 29(3): 281-284. Chinese.
- [29] Lee SW, Kwak HB, Chung WJ, et al. Participation of protein kinase C β in osteoclast differentiation and function[J]. *Bone*, 2003, 32(3): 217-227.
- [30] 张忠民, 陈建庭, 金大地, 等. 血小板衍生生长因子-BB 在成骨细胞-破骨细胞培养体系中的生物学作用[J]. *中华医学杂志*, 2001, 81(7): 425-428.
Zhang ZM, Chen JT, Jin DD, et al. The biological function of platelet-derived growth factor-BB in the osteoblast-osteoclast co-culture system[J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2001, 81(7): 425-428. Chinese.
- [31] Driel MV, Van Leeuwen JP. Strontium ranelate promotes osteoblast differentiation and increases OPG/RANKL ratio in osteoblast-osteoclast co-cultures[J]. *Bone*, 2010, 47(S1): 134.
- [32] 武密山, 赵素芝, 李恩, 等. 抗骨松丹颗粒含药血清对成骨-破骨细胞共培养体系中破骨细胞功能的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(8): 1635-1636, 1639.

Wu MS, Zhao SZ, Li E, et al. Effect of kang gu song dan qi instant granules contained serum on the activity of osteoclasts in osteoblasts and osteoclasts co-culture system[J]. Zhongguo Bing Li Sheng Li Za Zhi, 2010, 26(8): 1635-1636, 1639. Chinese.

[33] 张荣华, 徐立群, 傅淑平, 等. 益骨胶囊含药血清对共育体系中破骨细胞活性和凋亡的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(5): 1001-1004.

Zhang RH, Xu LQ, Fu SP, et al. Effect of BBC-containing serum on the activity and apoptosis of osteoclasts in osteoblasts and osteoclasts co-culture system[J]. Zhongguo Bing Li Sheng Li Za Zhi, 2006, 22(5): 1001-1004. Chinese.

[34] 唐井钢, 李娟, 吴贺勇, 等. 饲补肾中药大鼠血清对成骨细胞-破骨细胞共育系中破骨细胞功能的影响[J]. 白求恩医学院学报, 2006, 4(2): 68-69.

Tang JG, Li J, Wu HY, et al. Effects of serum from kidney tonifying traditional Chinese drug fed rats on osteoclasts in the osteoblast-osteoclast co-culture system[J]. Bai Qiu En Jun Yi Xue Yuan Xue Bao, 2006, 4(2): 68-69. Chinese.

[35] 张燕, 杨光, 孙国珍. 仙灵骨葆含药血清对小鼠成骨-破骨细胞共培养系统的影响[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(14): 2670-2673.

Zhang Y, Yang G, Sun GZ. The experiment study of the effect of Xian ling gu bao medicated serum on the co-culture system of mouse osteoblast and osteoclast[J]. Zhongguo Lao Nian Xue Za Zhi, 2011, 31(14): 2670-2673. Chinese.

[36] 郭福. 三七对骨重建偶联中细胞因子 IGF-1, IL-6 表达影响[J]. 中医临床研究, 2011, 3(15): 20-21.

Guo F. Expression and effects of panax on cytokines IGF-1, IL-6 in coupling of bone remodeling[J]. Zhong Yi Lin Chuang Yan Jiu, 2011, 3(15): 20-21. Chinese.

[37] 林资淳. 补骨脂素在 OB-OC 共育体系中对 OB 活性及 IL-11 mRNA 表达的影响[D]. 广州: 暨南大学, 2008.

Lin ZC. The effect for the activity and expression of IL-11 mRNA on osteoblast with the psoralen in the osteoblasts-osteoclasts co-culture system[D]. Guang Zhou: Ji Nan Da Xue, 2008. Chinese.

[38] 陈建庭, 谭小云, 杨春露, 等. 脉冲电磁场对成骨细胞-破骨细胞复合培养体系中成骨细胞膜电位及细胞内钙离子的影响[J]. 中国临床康复, 2004, 8(5): 870-872.

Chen JT, Tan XY, Yang CL, et al. Influence of the pulsed electric magnetic field on cell membrane potential and calcium ions of osteoblast in the osteoblast osteoclast co-culture system[J]. Zhongguo Lin Chuang Kang Fu, 2004, 8(5): 870-872. Chinese.

[39] 庞坚, 曹月龙, 石印玉. 骨关节炎软骨下骨研究进展[J]. 中国骨伤, 2011, 24(8): 702-704.

Pang J, Cao YL, Shi YY. Subchondral bone in osteoarthritis: a review[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2011, 24(8): 702-704. Chinese with abstract in English.

[40] Blair-Levy JM, Watts CE, Fiorentino NM, et al. A type I collagen defect leads to rapidly progressive osteoarthritis in a mouse model[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(4): 1096-1106.

[41] Karsdal MA, Leeming DJ, Dam EB, et al. Should subchondral bone turnover be targeted when treating osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2008, 16(6): 638-646.

[42] 黄云梅, 陈文列, 刘献祥, 等. 透骨消痛颗粒对骨性关节炎影响的组织化学研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2011, 19(1): 1-3.

Huang YM, Chen WL, Liu XX, et al. Histochemical study of osteoarthritis treated by *Tougu Xiaotong* granule[J]. Zhongguo Zhong Yi Gu Shang Ke Za Zhi, 2011, 19(1): 1-3. Chinese.

(收稿日期: 2012-09-16 本文编辑: 李宜)

广告目次

- | | |
|---|-------------------------|
| 1. 盘龙七片(陕西盘龙制药集团有限公司) …………… (封2) | 3. 颈痛颗粒(山东明仁福瑞达制药有限公司) |
| 2. 同息通, 曲安奈德注射液(广东省医药进出口公司珠海公司) …………… (对封2) | …………… (对中文目次 1) |
| | 4. 奇正消痛贴膏(西藏奇正藏药股份有限公司) |
| | …………… (封底) |