

· 基础研究 ·

淫羊藿苷促前成骨细胞 MC3T3-E1
成骨分化的实验研究陈旭凤¹ 喻 澜² 夏 秦³

摘要 **目的** 探讨淫羊藿苷(icariin, ICA)促进前成骨细胞 MC3T3-E1 成骨分化的机制。**方法** 采用不同浓度(10^{-10} ~ 10^{-5} mol/L)的 ICA 干预前成骨细胞 MC3T3-E1 3、6、9 天后采用碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性检测试剂盒测定 ALP 活性,确定 ICA 最适促分化浓度。最适 ICA 浓度干预前成骨细胞 MC3T3-E1 7 天后应用实时定量 PCR 法(real time-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测骨形态发生蛋白(BMP)和 Wnt/ β -catenin 信号通路相关分子(BMP-2、Runx2、 β -catenin、cyclinD1)基因表达。ICA 分别与 BMP、Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂(Noggin、DKK-1)联合干预前成骨细胞 MC3T3-E1 后,茜素红钙结节染色观察钙化程度以及 Western blot 检测 BMP-2 蛋白表达变化。**结果** ICA 促进前成骨细胞 MC3T3-E1 成骨分化,且 10^{-9} mol/L ICA 促进分化的能力最强。与对照组比较,ICA 能明显上调 BMP 和 Wnt/ β -catenin 信号通路相关分子(BMP-2、Runx2、 β -catenin、cyclinD1) mRNA 表达($P < 0.01$)。Noggin 或 DKK-1 能抑制前成骨细胞 MC3T3-E1 钙化,且两者联合作用时抑制更加明显。与 ICA 单独作用比较,ICA 与 DKK1 联合干预后 BMP-2 蛋白表达水平下降($P < 0.01$)。**结论** ICA 可能通过 Wnt/ β -catenin/BMP-2 信号通路调控前成骨细胞 MC3T3-E1 的成骨分化。

关键词 淫羊藿苷;前成骨细胞 MC3T3-E1;成骨分化;Wnt/ β -catenin/BMP-2 信号通路

ICA Promoted Osteogenic Differentiation of Pre-osteoblast MC3T3-E1 through Wnt/ β -catenin/BMP-2 Signaling Pathway CHEN Xu-feng¹, YU Lan², and XIA Qin³ ¹ Department of Heart Function, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan (430030); ² Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan (430030); ³ General Department, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan (430030)

ABSTRACT **Objective** To observe the osteogenic differentiation mechanism of icariin (ICA) in promoting pre-osteoblasts MC3T3-E1 cells. **Methods** After incubating MC3T3-E1 cells by different concentrations of ICA (10^{-10} – 10^{-5} mol/L) for 3, 6, and 9 days, alkaline phosphatase (ALP) activity was detected using ALP activity kit, and then the optimal concentration of ICA was determined. After incubating MC3T3-E1 cells with the optimal concentration of ICA after 7 days, the gene expressions of bone morphogenetic protein (BMP) and Wnt/ β -catenin signal pathways related molecules such as BMP-2, Runx2, β -catenin, and cyclinD1 were detected using RT-PCR. After MC3T3-E1 cells were incubated by ICA + BMP, or ICA + Wnt/ β -catenin signal pathway inhibitors (Noggin, DKK-1), the calcification degree was observed using alizarin red S staining, and the BMP-2 protein expression level was detected using Western blot. **Results** ICA promoted osteogenic differentiation of MC3T3-E1 cells. The maximum stimulatory effect of ICA was observed at the concentration of 10^{-9} mol/L. Compared with the control group, mRNA expression levels of BMP-2, Runx2, β -catenin, and cyclinD1 could be obviously up-regulated by ICA ($P < 0.01$).

基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(No. 2016CFB676)

作者单位:1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院心功能室(武汉 430030); 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院康复科(武汉 430030); 3. 华中科技大学同济医学院附属同济医院老年病科(武汉 430030)

通讯作者:夏 秦, Tel: 13971595550, E-mail: 463322755@qq.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20180205. 107

MC3T3-E1 calcification could be inhibited by Noggin or DKK-1. The reduction of calcium deposits was more obviously observed when they combined together. Compared with ICA alone, combined ICA and DKK-1 could decrease the BMP-2 protein level ($P < 0.01$). Conclusion The Wnt/ β -catenin/BMP-2 signal pathway might be responsible for the enhancing effect of ICA on osteogenic differentiation.

KEYWORDS icariin; MC3T3-E1 cell; osteogenic differentiation; Wnt/ β -catenin/BMP-2 signaling pathway

淫羊藿据《本草纲目》记载其有“益精气, 坚筋骨, 补腰膝, 强心力”之功效。有研究发现, 淫羊藿苷 (icariin, ICA) 是淫羊藿的主要活性成分, ICA 能促进骨折后骨愈合, 减缓骨丢失速度, 防止骨质疏松的发生^[1,2]。阐明 ICA 促成骨分化的分子机制, 是合理利用 ICA 治疗骨质疏松症的关键。骨形态发生蛋白 (BMP) 及 Wnt 信号通路在骨形成和骨代谢过程中均发挥着重要的调控作用^[3,4]。本实验旨在探讨 ICA 促进前成骨细胞 MC3T3-E1 成骨分化的分子机制, 并探讨 BMP 和 Wnt 信号通路在此过程中是否存在相互作用。

材料与方法

1 细胞 前成骨细胞 MC3T3-E1 细胞由同济医院骨科研究室惠赠。

2 药物 淫羊藿苷 (ICA, 启动子生物有限公司), 取 20 mg ICA 溶于 1 mL DMSO 中充分溶解, 从溶解液中取 10 μ L 溶于 19.6 μ L DMSO 中, 即得到 29.6 μ L 1×10^{-2} mol/L 原液, 再吸取原液 2 μ L 溶于 18 μ L DMSO 中, 得到 20 μ L 1×10^{-3} mol/L 存储液。按照上述稀释方式逐步稀释可分别得到 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-7} mol/L 的存储液。实验时用培养基稀释 1 000 倍制成不同浓度 ($10^{-5} \sim 10^{-10}$ mol/L) 的工作液。

3 试剂和仪器 α -MEM 培养基 (美国 Hyclone 公司); 青-链霉素和新生小牛血清 (美国 GIBCO 公司); 0.25% 胰酶 + 0.02% EDTA 溶液 (吉诺生物医药技术有限公司); 抗坏血酸和地塞米松 (武汉科瑞生物技术有限公司); 碱性磷酸酶 (ALP) 活性检测试剂盒 (南京建成生物有限公司); 二甲基亚砜 (DMSO, 美国 Amesco 公司); β -甘油磷酸钠和茜素红 (美国 Sigma-Aldrich); Wnt 信号通路抑制剂 (DKK-1) 细胞因子 (美国 R&D Systems); BMP 信号通路抑制剂 (Noggin) 细胞因子 (美国 PeproTech Inc); BMP-2 抗体 (美国 Santa Cruz); 蛋白分子量 Marker、逆转录试剂盒和荧光定量 PCR 试剂盒 (立陶宛 Fermentas); Trizol (美国 Life Technologies); 酶标仪 (美国 Bio-

Tek Instruments. Inc); 电泳仪和 Real-time PCR 仪 (美国 Bio-Rad); PCR 仪 (德国 Eppendorf); Olympus IX-70 型倒置显微镜 (日本 Olympus)。

4 方法

4.1 细胞培养 前成骨细胞 MC3T3-E1 培养于 α -MEM 培养基 (含有 10% 的新生小牛血清、100 U/mL 的青-链霉素) 或者成骨诱导培养基 (诱导条件为 1×10^{-2} mol/L β -甘油磷酸钠、0.05 mg/mL 抗坏血酸、 1×10^{-8} mol/L 地塞米松) 中, 置于 37 $^{\circ}$ C, 5.0% CO_2 恒温培养箱中。取对数生长期前成骨细胞 MC3T3-E1, 制成单细胞悬液, 进行细胞计数后, 分别以 3×10^3 个/孔及 7×10^4 个/孔浓度接种到 96 孔板及 12 孔板。

4.2 ALP 活性检测 将前成骨细胞 MC3T3-E1 接种到 12 孔板, 次日分别加入含有 ICA 浓度为 0、 10^{-10} 、 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L α -MEM 培养基, 分为 7 组, 每组 3 个复孔。于第 6 天吸取细胞培养液, 2.5×10^3 r/min, 离心 10 min, 取上清液利用 ALP 活性检测试剂盒测定 ALP 活性。制备空白孔 (缓冲液 50 μ L, 基质液 50 μ L, 双蒸水 30 μ L)、标准孔 (缓冲液 50 μ L, 基质液 50 μ L, 0.02 mg/mL 酚标准应用液 30 μ L)、测定孔 (缓冲液 50 μ L, 基质液 50 μ L, 待测上清液 30 μ L)。充分混匀 37 $^{\circ}$ C 水浴 15 min。每孔加入显色剂 150 μ L, 轻轻震荡孔板混匀, 波长 520 nm 测定各孔 OD 值。

4.3 BMP-2、Runx2、 β -catenin、cyclinD1 mRNA 表达水平检测 采用实时定量 PCR (RT-PCR) 法。将前成骨细胞 MC3T3-E1 细胞接种到 12 孔板, 置于 37 $^{\circ}$ C, 5.0% CO_2 恒温培养箱中, 次日加入含有 ICA 浓度为 0 (对照组) 及 10^{-9} mol/L (ICA 组) 的 α -MEM 培养基。细胞分为两组, 每组 3 个复孔。干预 7 天后使用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA 后反转录为 cDNA。检测基因引物序列见表 1。反应体系为 20 μ L, 循环步骤: 95 $^{\circ}$ C 初始变性 7 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 72 $^{\circ}$ C 退火/延伸 15 s, 45 个循环。将两组检测基因与对应内参 β -actin 的数值之比值的均数作为检测基因 mRNA 相对表达量, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法进行计算。

表 1 引物序列表

基因名称	引物序列(5' -3')	引物长度(bp)
BMP-2	上游:CCAAGAGACATGTGAGGATT	708
	下游:TTAGTGGAGTTCAGGTGGTC	
Runx2	上游:GGAATGATGAGAACTA	175
	下游:ACCGTCCACTGTCACTTT	
β-catenin	上游:GATTTCAAGGTGGACGAGGA	150
	下游:CACTGTGCTTGGCAAGTTGT	
cyclinD1	上游:GAGAAATGTACTCTGCTTTGCTGAA	110
	下游:GGGCTGTAGGCACTGAGCAA	
β-actin	上游:AGATGTGGATCAGCAAGCAG	102
	下游:GCGCAAGTTAGGTTTTGTCA	

4.4 细胞钙化观察 采用茜素红染色法。将前成骨细胞 MC3T3-E1 接种到 12 孔板,使用成骨诱导培养基,置于 37℃,5.0% CO₂ 恒温培养箱中,次日按以下分组处理细胞对照组(0 mol/L ICA),ICA 组(10⁻⁹ mol/L ICA),I + N 组(10⁻⁹ mol/L ICA + 200 ng/mL Noggin),I + D 组(10⁻⁹ mol/L ICA + 200 ng/mL DKK1),I + N + D 组(10⁻⁹ mol/L ICA + 200 ng/mL Noggin + 200 ng/mL DKK1)。每隔 2 天换液,连续培养 21 天。弃去培养基,4%多聚甲醛固定 30 min,PBS 洗 3 遍,1%茜素红溶液染色 10 min,双蒸水洗 3 遍。肉眼、显微镜下观察钙结节。

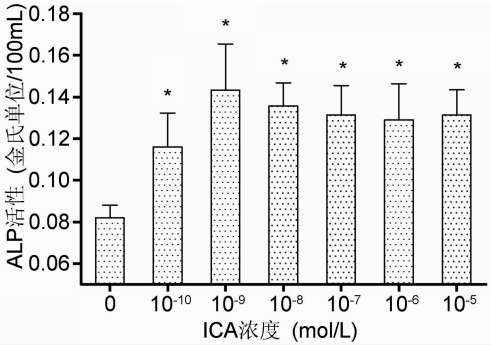
4.5 BMP-2 蛋白表达水平检测 采用 Western blot 法。将前成骨细胞 MC3T3-E1 接种到 12 孔板,置于 37℃,5.0% CO₂ 恒温培养箱中,次日按以下分组处理细胞,对照组(0 mol/L ICA),ICA 组(10⁻⁹ mol/L ICA),D 组(200 ng/mL DKK1),I + D 组(10⁻⁹ mol/L ICA + 200 ng/mL DKK1)。干预 7 天后收集细胞,加入适量的 RIPA 蛋白裂解液提取细胞总蛋白,使用 BCA 法检测蛋白浓度,配制聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE),调整蛋白浓度,上样,对照孔中加入蛋白 Marker 标记,电泳后转膜,取出 PVDF 膜置于用含有 5%脱脂奶粉的 TBST 稀释的一抗,摇床上 4℃孵育过夜,洗膜后置于用含有 5%脱脂奶粉的 TBST 稀释的 HRP 标记的二抗,摇床上室温孵育 2 h。洗膜后化学发光、显影、定影。检测各组 BMP-2 蛋白表达水平。

5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间差异采用单因素方差分析,两组间比较采用 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

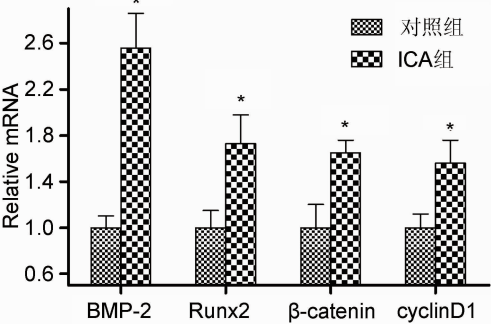
1 不同浓度 ICA 对前成骨细胞 MC3T3-E1 ALP 活性的影响(图 1) 与 0 mol/L ICA 组比较,ICA 不

同浓度组能增强前成骨细胞 MC3T3-E1 ALP 活性(*P* < 0.05)。10⁻⁹ mol/L ICA 组 ALP 活性较其他浓度组高,但差异无统计学意义(*P* > 0.05)。因此将 10⁻⁹ mol/L 定为 ICA 最适促分化浓度(*P* < 0.01)。



注:与 0 mol/L ICA 组比较,**P* < 0.05;*n* 为 3
图 1 不同浓度 ICA 对前成骨细胞 MC3T3-E1 ALP 活性的影响

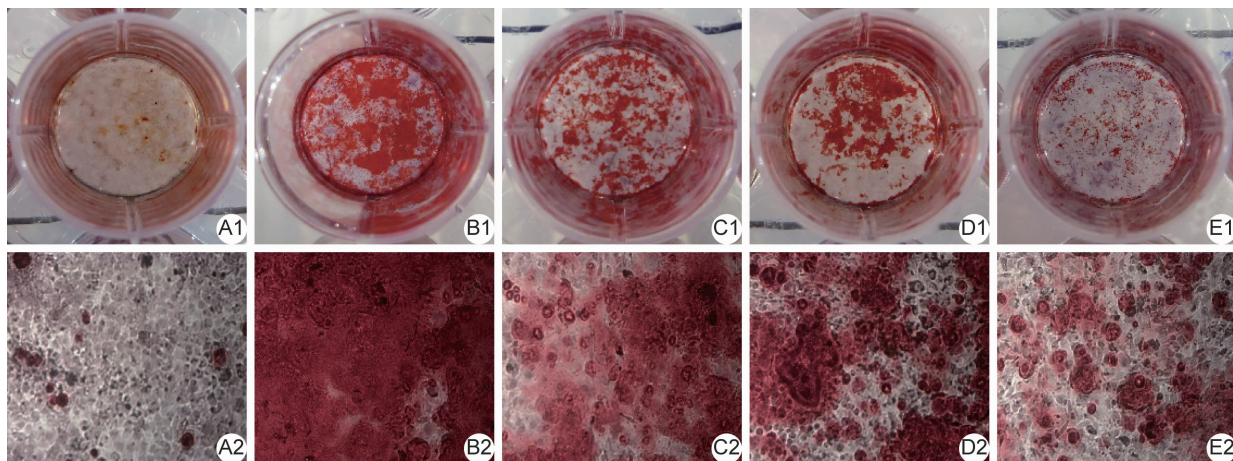
2 ICA 对前成骨细胞 MC3T3-E1 成骨分化相关基因(BMP-2、Runx2、β-catenin、cyclinD1) mRNA 表达的影响(图 2) 与对照组比较,最适促分化浓度 10⁻⁹ mol/L ICA 作用前成骨细胞 MC3T3-E1 细胞 7 天后,BMP-2、Runx2、β-catenin、cyclinD1 mRNA 表达均有不同程度的增加(*P* < 0.01)。



注:与对照组比较,**P* < 0.01;*n* 为 3
图 2 ICA 对前成骨细胞 MC3T3-E1 成骨分化相关基因(BMP-2、Runx2、β-catenin、cyclinD1)表达水平的影响

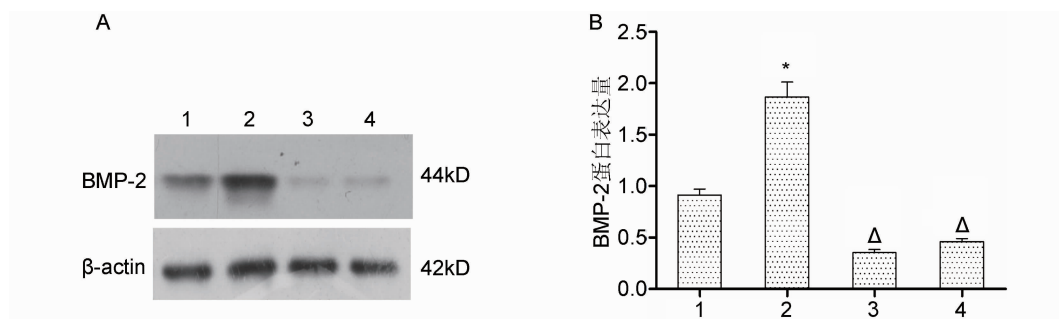
3 ICA 联合抑制剂干预前成骨细胞 MC3T3-E1 后对细胞钙化的影响(图 3) ICA 组钙化结节数量明显高于其他各组。分别抑制 BMP 及 Wnt/β-catenin 信号通路后(I + N、I + D 组)钙化数量减少。联合抑制后(I + N + D 组)钙化减少最明显。

4 各组 BMP-2 蛋白表达水平比较(图 4) 与对照组比较,ICA 组 BMP-2 表达上调(*P* < 0.05);与 ICA 组比较,D、I + D 组 BMP-2 表达均明显减弱(*P* < 0.01)。



注:A 为对照组;B 为 ICA 组;C 为 I+N 组;D 为 I+D 组;E 为 I+N+D 组;其中 A1、B1、C1、D1、E1 为茜素红染色肉眼下;A2、B2、C2、D2、E2 为茜素红染色,放大倍数 $\times 100$

图 3 ICA 联合抑制剂对前成骨细胞 MC3T3-E1 钙化影响



注: A 为各组 BMP-2 蛋白转录表达电泳图;B 为各组 BMP-2 蛋白相对表达量(β -actin 为 1; n 为 3);1 为对照组;2 为 ICA 组;3 为 D 组;4 为 I+D 组;与对照组比较, * $P < 0.05$;与 ICA 组比较, $\Delta P < 0.01$

图 4 各组 BMP-2 蛋白表达比较

讨 论

现有抗骨质疏松药物存在一些不良反应^[5],越来越多的学者开始从植物中提取出不良反应少但疗效显著的抗骨质疏松的天然化合物。中医学认为“肾主骨”,因此传统的补虚壮阳中药淫羊藿成为主要研究对象之一。ICA 是淫羊藿的一种重要的活性成分,其抗骨质疏松作用的机制逐渐成为研究热点。Chen KM 等^[6]用 ICA 干预大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)时发现,ICA 能促进细胞的增殖,增强 ALP 活性。除此之外,还有研究表明 ICA 能抑制破骨细胞的功能并促进其凋亡,进而减少骨量的丢失^[7,8]。ICA 在体内实验中也表现出抗骨质疏松的活性^[9,10]。

本实验发现 ICA 能促进前成骨细胞 MC3T3-E1 成骨分化,增强 ALP 活性,且 10^{-9} mol/L ICA 促分化能力较其他浓度高。翟远坤等^[11]发现 ICA 促进 BM-

SCs 成骨分化最适浓度为 1×10^{-5} mol/L。产生此浓度差异可能是由 ICA 来源不同及细胞种类的不同造成。

BMP 是脊椎动物体内能诱导成骨的一类酸性多肽,可诱导未定型和定型成骨细胞经过趋化、分裂、分化等过程,不可逆的分化成骨。BMP 家族目前已有 20 余种成员,其中 BMP-2 被认为是活性最强的唯一能单独诱导成骨的因子。Smads 蛋白是 BMPs 在细胞内信号传导过程中起重要作用的中介因子,学者研究 ICA 的抗骨质疏松的分子机制主要集中在 BMP/Smad 信号通路。Hsieh TP 等^[12]发现 ICA 干预成骨细胞后,BMP-2、Smad4、Runx2、OPG mRNA 表达增高。近期研究发现 ICA 能提高 BMP-2、Runx2 表达,显著促进三维立体培养的成骨细胞的分化^[13]。傅淑平等^[14]用 ICA 处理 BMSCs 后,Runx2 及骨钙素表达增高。笔者发现 ICA 能上调前成骨细胞 MC3T3-E1 BMP 信号通路相关因子 BMP-2、Runx2 mRNA

表达,联合使用 Noggin 后钙结节生成减少。证实 ICA 可通过 BMP 信号通路促进成骨分化。

Wnt 信号通路广泛参与人体发育、生长和分化调控,经典 Wnt/ β -catenin 信号通路参与调控成骨细胞的分化及骨形成,与骨质疏松症的发生有着密切关系^[4]。Li XF 等^[15]发现 ICA 能通过 Wnt/ β -catenin 信号通路促进骨保护素(osteoprotegerin, OPG)基因敲除小鼠的骨形成。近期研究发现 ICA 能促进 BMSCs^[16]及大鼠成骨肉瘤细胞系(UMR-106)^[17]的成骨分化,并发现 Wnt/ β -catenin 信号通路相关基因及蛋白的表达增高。笔者使用 ICA 处理前成骨细胞 MC3T3-E1 后 β -catenin 及 cyclinD1 表达增高。加用 DKK-1 干预细胞后钙结节明显减少。提示 Wnt 信号通路参与 ICA 促进成骨分化。

在胚胎发育以及肿瘤发生的过程中 BMP 和 Wnt 信号通路发挥重要的作用,且两者存在交互作用。激活 Wnt 信号通路能促进 BMP 家族中 BMP-2、BMP-4 和 BMP-7 的表达,并能上调 BMP 的靶基因^[18]。有研究发现在胃癌细胞中 β -catenin 能刺激 BMP-2 的生成^[19]。Verhoeven MC 等^[20]在研究斑马鱼的心脏房室管的形成过程中发现,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路能促进 BMP 的形成。他们通过遗传分析证实 Wnt/ β -catenin 信号通路位于 BMP 的上游。Cho YD 等^[21]用含有 Wnt3a 的条件培养基诱导前成骨细胞 MC3T3-E1 时在培养基中发现了分泌至胞外的 BMP-2。Zhang R 等^[22]发现 BMP 和 Wnt/ β -catenin 信号通路在成骨细胞、前成骨细胞的骨形成和骨分化过程中存在交互作用,并且还发现 Wnt/ β -catenin 信号通路能作为上游激活 BMP-2 的形成。基于以上研究现状,笔者从蛋白水平发现抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路后,ICA 促进 BMP-2 生成的能力明显减弱,提示 BMP 与 Wnt/ β -catenin 信号通路可能存在交互作用,ICA 可能通过 Wnt/ β -catenin/BMP-2 信号通路调控前成骨细胞 MC3T3-E1 的成骨分化。

综上,BMP 和 Wnt/ β -catenin 信号通路参与 ICA 促成骨分化过程,且两通路之间存在交互作用,可能通过 Wnt/ β -catenin/BMP-2 信号通路调控前成骨细胞 MC3T3-E1 的成骨分化,其他通路是否参与 ICA 的促成骨分化待进一步研究证实。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Qin L, Zhang G, Hung WY, et al. Phytoestrogen-rich herb formula "XLGB" prevents OVX-induced deterioration of musculoskeletal tissues at the hip in old rats [J]. J Bone Miner Metab, 2005, 23 (Suppl): 55-61.
- [2] Mok SK, Chen WF, Lai WP, et al. Icariin protects against bone loss induced by oestrogen deficiency and activates oestrogen receptor-dependent osteoblastic functions in UMR106 cells [J]. Br J Pharmacol, 2010, 159(4): 939-949.
- [3] 梁广胜,陈伟才,殷嫦嫦,等.淫羊藿总黄酮对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化过程 BMP-2/RunX2/OSX 通路的影响[J].中国中西医结合杂志,2016,36(5): 614-618.
- [4] 牛素生,李楠,张燕,等.龟鹿二仙胶诱导大鼠骨髓基质干细胞成骨分化作用及对 Wnt 通路的影响[J].中国中西医结合杂志,2017,37(1): 72-78.
- [5] Khosla S, Burr D, Cauley J, et al. Bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw: Report of a Task Force of the American Society for Bone and Mineral Research [J]. J Bone Miner Res, 2007, 22(10): 1479-1491.
- [6] Chen KM, Ge BF, Ma HP, et al. Icariin, a flavonoid from the herb *Epimedium* enhances the osteogenic differentiation of rat primary bone marrow stromal cells [J]. Pharmazie, 2005, 60 (12): 939-942.
- [7] Chen KM, Ge BF, Liu XY, et al. Icariin inhibits the osteoclast formation induced by RANKL and macrophage-colony stimulating factor in mouse bone marrow culture [J]. Pharmazie, 2007, 62 (5): 388-391.
- [8] Huang J, Yuan L, Wang X, et al. Icaritin and its glycosides enhance osteoblastic, but suppress osteoclastic differentiation and activity *in vitro* [J]. Life Sci, 2007, 81(10): 832-840.
- [9] Zheng D, Peng S, Yang SH, et al. The beneficial effect of icariin on bone is diminished in osteoprotegerin-deficient mice [J]. Bone, 2012, 51 (1): 85-92.
- [10] Yin S, Gao H, Xiang LU, et al. Antiosteoporotic effect of icariin in ovariectomized rats is mediated via the Wnt/ β -catenin pathway [J]. Exp Ther Med, 2016, 2(1): 279-287.
- [11] 翟远坤,葛宝丰,马慧萍,等.淫羊藿苷促进体外培养大鼠骨髓间充质干细胞的成骨性分化[J].中国中药杂志,2010,35(23): 3219-3222.
- [12] Hsieh TP, Sheu SY, Sun JS, et al. Icariin isolated from *Epimedium pubescence* regulates osteoblasts anabolism through BMP-2, SMAD4, and

- Cbfa1 expression [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17 (6): 414–423.
- [13] 谢艳芳, 王鸣刚, 陈克明, 等. 淫羊藿苷促进胶原水凝胶三维立体培养成骨细胞的成熟分化[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2015, 44(3): 301–307.
- [14] 傅淑平, 杨丽, 洪浩, 等. 淫羊藿苷促 SD 大鼠骨髓间充质干细胞骨向分化作用的实验研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35(7): 839–846.
- [15] Li XF, Xu H, Zhao YJ, et al. Icariin augments bone formation and reverses the phenotypes of osteoprotegerin-deficient mice through the activation of Wnt/ β -Catenin-BMP signaling [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, (10): 1–13.
- [16] Wei Q, Zhang J, Hong G, et al. Icariin promotes osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells by activating the ER α -Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 17(84): 931–939.
- [17] Li M, Zhang ND, Wang Y, et al. Coordinate regulatory osteogenesis effects of icariin, timosaponin B II and ferulic acid from traditional Chinese medicine formulas on UMR-106 osteoblastic cells and osteoblasts in neonatal rat calvaria cultures [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 185 (6): 120–131.
- [18] Hill TP, Taketo MM, Birchmeier W, et al. Multiple roles of mesenchymal beta-catenin during murine limb patterning [J]. *Development*, 2006, 133(7): 1219–1229.
- [19] Kim JS, Crooks H, Dracheva T, et al. Oncogenic beta-catenin is required for bone morphogenetic protein 4 expression in human cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(10): 2744–2748.
- [20] Verhoeven MC, Haase C, Christoffels VM, et al. Wnt signaling regulates atrioventricular canal formation upstream of BMP and Tbx2 [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2011, 91(6): 435–440.
- [21] 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 (6): 2287–2296.
- [22] Zhang R, Oyajobi BO, Harris SE, et al. Wnt/ β -catenin signaling activates bone morphogenetic protein 2 expression in osteoblasts [J]. *Bone*, 2012, 52(1): 145–156.

(收稿: 2017-05-23 在线: 2018-04-23)

责任编辑: 段碧芳

英文责编: 张晶晶

中国中西医结合杂志社获第四届中国出版政府奖先进出版单位奖

我国新闻出版领域的最高奖——第四届中国出版政府奖 2018 年 1 月 17 日正式公布! 中国中西医结合杂志社获先进出版单位奖!

中西医结合医学, 是我国经历了半个多世纪的自主创新研究, 在世界上首创的一门新兴交叉学科, 是我国为数不多的在世界上独创的新学科之一。中西医结合医学已赢得国内及国际公认, 促进越来越多的国家重视开展传统医药与现代医药结合研究, 涌现出如日本的结合医学、韩国结合医学、美国结合医学研究等不同特点的结合医学, 表明全球性结合医学研究正在兴起。这些不同特点的结合医学均源于中国的中西医结合医学研究, 体现了我国中西医结合医学在世界范围的示范和带动作用。

中国中西医结合杂志社创办于 1981 年, 现出版《中国中西医结合杂志》和 *Chinese Journal of Integrative Medicine* 两本期刊。在三十多年里, 中国中西医结合杂志社在主编陈可冀院士的带领下以及编辑部努力下, 不断发展壮大并获得无数荣誉。同时为中西医结合以及中医的发展做出了重要贡献。

杂志社的发展也离不开广大作者、读者以及专家的关心与厚爱, 离不开主办单位和主管单位的大力支持。杂志社愿与诸位同道继续前行, 齐心合力共同发展中西医结合与中医事业!