

## 破骨细胞的骨吸收机制

■ 云帆, 王瑞, 赵建宁

(南京大学附属医院南京军区南京总医院骨科, 江苏 南京 210002)

**【摘要】** 破骨细胞是一种巨大的多核细胞,起源于单核巨噬细胞/单核系造血前体细胞,在骨吸收过程中发挥重要作用。破骨细胞的形成和活性异常可导致骨质疏松、类风湿关节炎、关节置换后假体无菌性松动等许多疾病,因此破骨细胞是治疗这些疾病的靶点之一。目前对破骨细胞的分化形成研究较多,但对破骨细胞如何识别、降解骨组织方面的研究较少。骨盐被认为是破骨细胞识别的重要成分,但是近年来的研究发现骨基质不是破骨细胞激活的必需成分,玻连蛋白包被的培养皿也能使破骨细胞出现骨吸收的特有形态,玻连蛋白对破骨细胞的激活有重要的作用。此外,最近的研究证明骨基质降解产物的吞入和分泌对破骨细胞的分化和功能的保持有重要意义。这些分子机制的研究可能为骨骼疾病提供新的治疗靶点。

**【关键词】** 破骨细胞; 吸收; 玻连蛋白; 综述文献

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2014.06.021

**Mechanism of osteoclast in bone resorption** TI Yun-fan, WANG Rui, and ZHAO Jian-ning. Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, Jiangsu, China

**ABSTRACT** Osteoclast, a huge coenocytes, originates from mononuclear macrophages or monocytic series hematopoietic precursor cell, plays an important role in the progree of bone resorption. Formation and abnormal activity of osteoclast may cause osteoporosis, rheumatoid arthritis and aseptic loosening after arthroplasty. Therefore, osteoclast is the target for treating these disease. At present, a lot of study on formation of osteoclast were reported, but the study on how to identify and degradation of bone tissue is not yet reported. Bone mineral are seen as important component of identifying osteoclast, and the research suggested that bone matrix is not the essential ingredients of activating osteoclast, petri dish covered by vitronectin also can make osteoclast occure certain form of bone resorption, vitronectin plays an significant role in activating osteoclast. Otherwise, the research found that swallowing and secretion of bone matrix degradation products is benefit for differentiation of osteoclast and maintain of function, and this may be therapeutic target for treatment of musculoskeletal disorders.

**KEYWORDS** Osteoclasts; Absorption; Vitronectin; Review literature

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2014, 27(6): 529-532 www.zggszz.com

正常成人的骨骼中破骨细胞与成骨细胞处于动态平衡过程,使骨组织不断更新,以维持骨骼的硬度和弹性。骨的动态平衡被破坏后会导致骨的丢失,如骨质疏松;也会导致骨量的增加和骨结构的改变,如骨硬化。破骨细胞是惟一具有溶解骨组织能力的细胞,在骨重塑中有重要作用。骨代谢等疾病的研究,离不开对破骨细胞功能的深入探讨,为此医生应该特别关注破骨细胞的骨吸收机制,深入了解破骨细胞的溶骨过程,这对研究骨代谢疾病有非常重要的意义。

破骨细胞起源于造血细胞源的单核前体细胞,通过融合而成的一种直径 20~100 μm,含有 2~20 个细胞核,胞浆富含线粒体、溶酶体、核糖体及高尔基体等细胞器,有伪足和突起的形态不规则的细胞。破骨细胞形成后识别骨基质,通过足体固定在骨质表面,继而细胞发生细胞骨架重排,开始发挥骨溶解作用。破骨细胞吸收骨质时,极化的破骨细胞的膜可分为 4 部分:密封区(sealing zone, SZ),褶皱缘区(ruffled border,

RB),游离膜区(free membrane domain, FMD),功能分泌区(functional secretory domain, FSD),这些区域在破骨细胞溶解骨组织时分工协作相互配合共同完成溶骨过程。

### 1 破骨细胞的分化

破骨细胞是特异分化的巨噬细胞,由巨噬细胞克隆刺激因子(M-CSF)、核因子卡巴 B 配体激活受体(RANKL)刺激分化产生。在前体破骨细胞, M-CSF 结合到其受体 c-Fms 上,为前体破骨细胞的增殖提供必要的信号; RANKL 则与 RANK 结合主要引发前体破骨细胞向成熟破骨细胞的分化。在体外用 M-CSF 和 RANKL 可将骨髓造血单核细胞或巨噬细胞诱导为成熟的破骨细胞,这种诱导方法可以稳定的诱导出较多量的破骨细胞,有研究证实<sup>[1]</sup>这种方法诱导出的破骨细胞可在骨片上形成骨吸收陷凹,并能通过 TRAP 染色方法来鉴定诱导出的破骨细胞。熊琦等<sup>[2]</sup>研究发现 57 岁以上女性 RANKL 的血清水平明显升高,这与老年女性出现骨质疏松的时间基本一致,说明体内 RANKL 的增高与破骨细胞的激活存在一定相关性。目前这种诱导方法已普遍应用于研究破骨细胞的实验中,逐渐取代共培养获得破骨细胞的方法。

RANKL-RANK-OPG 是诱导破骨细胞分化的重要途径。

通讯作者:赵建宁 E-mail: zhaojianning.0207@163.com

Corresponding author: ZHAO Jian-ning E-mail: zhaojianning.0207@163.com

Simonet 等<sup>[3]</sup>发现骨保护素(OPG)的过表达阻碍了小鼠中破骨细胞的形成,而缺少 OPG 的小鼠中破骨细胞则加速形成,并能导致严重的骨质疏松。骨保护素可与 RANK 竞争结合 RANKL, RANKL/OPG 的比率对破骨细胞的分化起关键作用,能调控前体破骨细胞中 RANKL 的活性,从而调控骨吸收量。朱亮亮等<sup>[4]</sup>证实重组人源性 rhOPG-Fc 及 rhRANK 可通过阻碍 RANKL 与前体破骨细胞表面的 RANK 结合而对破骨细胞的形成产生抑制作用, rhRANK 与 RANKL 结合的能力约为 rhOPG 与 RANKL 结合能力的 200 倍,因此, rhRANK 对破骨细胞的分化的抑制作用比 rhOPG-Fc 更明显。目前有对许多激素和药物就是通过调控 RANKL 和 OPG 来促进或抑制破骨细胞的分化<sup>[5]</sup>。

## 2 骨基质的识别

骨基质包括有机物和无机物,无机物通常称为骨盐,在电镜下呈细针状结晶。这些骨盐结晶大都沉积在胶原纤维中。结晶衔接成链,并沿纤维长轴平行排列,在其排列方向显示出很强的抗压力效能。Chambers 等<sup>[6]</sup>发现兔的破骨细胞在不含有有机质的骨上能形成吸收凹陷,而在去除矿物质的骨上不能形成吸收凹陷。骨的无机物占骨组织干重的 65%~75%,其中 95%是固体钙和磷,钙磷固体是一种结晶度很差的羟基磷灰石,这是破骨细胞识别骨组织的重要成分。

破骨细胞与骨组织结合,细胞骨架重组,细胞出现明显极化。破骨细胞接种在塑料或者玻璃上,与其形成许多连接,称为足突小体(podosome)。足突小体主要是由微丝(actin)组成,它能通过自身机制逐渐演变为不稳定的小微丝环(actin ring),目前认为微丝环不一定与吸收直接相关,而与破骨细胞的固定和迁移有关<sup>[7]</sup>。接下来小的微丝环融合为大的环状结构,最后在微管的作用下形成沿着细胞外缘分布的足体带(podosome belts),而足体带与破骨细胞吸收作用有关。乙酰化的相对稳定的微管在足体带的形成过程中起重要作用。

破骨细胞在骨基质上培养时细胞骨架的状态与塑料板上培养的破骨细胞骨架不同。破骨细胞形成的微丝环有 2 种形式,一种是在塑料或玻璃片上培养时形成的薄而规则的微丝环,另一种是在骨片或牙本质上培养时较厚的微丝环形成的密封区<sup>[8-10]</sup>。Saltel 等<sup>[9]</sup>为了比较 2 种微丝的不同,在骨片、牙片、包被磷灰石-胶原复合体的玻璃片上培养破骨细胞,通过 actin-GFP 观察微丝的变化,结果显示在这些基质上均能形成足体带和密封区,并且形成的过程很迅速。而用盐酸浸泡磷灰石-胶原复合体的玻璃片,去除磷灰石晶体后的玻璃片上培养的破骨细胞则不能再形成密封区,这说明破骨细胞识别骨组织与磷灰石晶体有关。

传统观点认为骨基质是破骨细胞识别必不可少的因素。当破骨细胞与骨基质接触时,破骨细胞发生极化,可观察到细胞骨架出现明显的重组过程,形成褶皱缘区和密封区,褶皱缘区和密封区的形成是破骨细胞发挥骨溶解作用的关键。因此,骨基质的成分被认为是破骨细胞极化发挥溶骨功能的必要条件。这个过程可能是某些受体通过识别骨基质中的特定成分引起破骨细胞发生细胞骨架的重组,继而破骨细胞发生极化,骨基质对破骨细胞的激活有明显的作用,所以人们猜想可能存在一种矿物受体参与了破骨细胞的识别过程。

近年来发现破骨细胞的识别并不一定需要骨基质。只有在血清存在的条件下破骨细胞才能固定在骨基质上,这提示

这个过程中还可能存在某种分子机制参与。Engelman 等<sup>[11]</sup>研究发现,不论在体内还是体外用玻连蛋白受体  $\alpha\beta 3$  的抗体 echistatin 可以明显的抑制破骨细胞的吸收,这说明  $\alpha\beta 3$  在破骨细胞的骨吸收过程中起着重要作用。不过  $\alpha\beta 3$  并不是与破骨细胞吸收惟一相关的整合素。Schmidt 等<sup>[12]</sup>发现多种整合素与吸收作用相关。还有研究证明用玻连蛋白(vitronectin)包被的培养皿培养破骨细胞,可出现有吸收状态的破骨细胞形态结构,诱使足体带, RB 区和 SZ 区的形成,并能增加 TRAP 等水解酶的释放<sup>[13]</sup>。此外, Geblinger 等<sup>[14]</sup>用方解石处理的粗糙的基板培养破骨细胞,比光滑的基板培养的破骨细胞微丝环更大更稳定,这说明骨质的粗糙程度也可能是影响破骨细胞吸收功能的一个重要因素。

目前,人们对破骨细胞的研究主要集中在分化成熟方面,但是对破骨细胞如何识别骨组织,如何激活破骨细胞发挥溶骨能力的研究较少。骨盐被认为是破骨细胞识别骨组织的成分,很多学者推测,破骨细胞可能表达识别磷灰石晶体的受体。但最近有研究发现破骨细胞的激活不一定需要骨基质,玻连蛋白与其受体  $\alpha\beta 3$  是破骨细胞识别骨组织的重要因素,破骨细胞并不是直接识别骨基质,可能是通过识别玻连蛋白来辨别骨组织。玻连蛋白及  $\alpha\beta 3$  可能是破骨细胞识别信号通路中的关键点,这为研究破骨细胞的识别通路提供了新的方向。

## 3 破骨细胞的骨吸收

破骨细胞的功能是降解骨组织中的有机质和无机矿物质,这使得破骨细胞成为骨质破坏类疾病研究的关键靶点。当成熟的破骨细胞接触到骨基质后开始向骨表面分泌  $H^+$ , 细胞骨架发生重组,随后形成密封区和褶皱缘区,使破骨细胞紧密的结合在骨表面。目前研究认为破骨细胞吸收功能的发挥需要细胞骨架中的微丝形成密封区,这个结构的作用是使破骨细胞锚定在骨基质表面,在细胞与基质之间形成一个独立的骨吸收区域,破骨细胞的骨吸收作用就在这个区域内发生。

**3.1 破骨细胞的极化** 破骨细胞通过整合素与骨基质形成连接,是最重要的整合素是玻连蛋白受体  $\alpha\beta 3$ -integrin<sup>[15-16]</sup>,其作用是介导微丝通过聚合作用形成足突小体。Destaing 等<sup>[17]</sup>通过 FRAP 实验证实足体中的微丝不是不变的,而是处于持续变化更新的动态平衡中,这对细胞功能的维持有着重要作用。足突小体是由 F-actin 组成的圆柱状核心与其他微丝相关蛋白组成的,这些相关蛋白有:Wasp, Arp2/3, cortactin, gelsolin, 在这些密集的圆柱状微丝周围有大量的黏附分子,如:整合素, adaptors(paxillin, SH3P2, Cbl 等), 激酶(c-Src, Pyk2), 小 GTP 酶(Pho, Rac), 内吞调节因子(dynamin, endophilin2)。Rho GTP 酶, c-Src, Pyk2, Cbl 复合体在足突小体的形成中有重要作用。

在破骨细胞与骨基质接触后整合素招募许多种蛋白,如非受体酪氨酸激酶 c-Src, Pyk2 和 Syk, 泛素连接酶 c-Cbl<sup>[18-21]</sup>。M-CSF 在整合素信号通路中也起一定作用,这个信号通路依次是 c-Fms, c-Src, Syk, PI3K, Cbl, 最后引起细胞骨架的重排,破骨细胞发生极化。这些微丝相关蛋白对调控微丝引起细胞极化和破骨细胞功能的发挥有着密切的联系。现在用于临床的药物双磷酸盐进入体内后与骨基质紧密结合,在骨吸收的同时进入破骨细胞破坏微丝环并诱导细胞凋亡。这些微丝相关蛋白是现在研究破骨细胞调控其功能的研究热点, 研究人

员希望通过影响破骨细胞对骨基质的识别和阻止细胞极化来抑制破骨细胞的功能,而这些蛋白都是未来调控破骨细胞功能的潜在靶点。

**3.2 骨吸收微环境的酸化** 褶皱缘区与骨基质之间的吸收微环境发生酸化是启动酶降解骨基质所必需的。褶皱缘区是分泌囊泡运送到密封区内的细胞膜上与其融合后形成的特殊区域,是破骨细胞的溶骨器官。这些囊泡由小 GTP 酶 Rab7, Rab3D 和 Rac1 介导,沿着微管定向运输,然后转运到微丝上<sup>[22-23]</sup>。这些囊泡的膜上有 V-ATP 酶和 ClC-7 氯离子通道,氢离子和氯离子在褶皱缘区排出细胞外<sup>[24]</sup>。吸收陷凹内的低 pH 环境是由 V-ATP 酶质子泵形成的,这个酸化的区域内 pH 在 4~6,酸性环境可使骨组织中的矿物质降解。因此,可以通过药物抑制 V-ATP 酶等方法来阻止褶皱缘外的微环境 pH 的降低来降低破骨细胞的溶骨能力。

ReveromycinA 是一种从链霉菌属中提取的含 3 个羧基的化合物,它能阻断异亮氨酸-tRNA 合成酶来抑制蛋白合成,Woo 等<sup>[25]</sup>证明 ReveromycinA 能诱导有功能的破骨细胞凋亡,不能诱导无功能的破骨细胞凋亡,并指出这种现象是与细胞外 pH 有关,低 pH 能促使 ReveromycinA 进入细胞。

**3.3 基质降解酶** 除了吸收陷凹内的低 pH 环境,骨质的降解还依赖于破骨细胞分泌的各种酶类,这些酶包括蛋白激酶 K,金属基质蛋白酶(MMPs),抗酒石酸酸性磷酸酶<sup>[26]</sup>。蛋白激酶 K 是破骨细胞分泌的特殊酶,它能在酸性环境下降解 I 型胶原,是破骨细胞降解有机成分的最重要的酶。MMP-9 对骨质的降解作用并不明显,但它能降解骨衬胶原,使蛋白激酶 K 更好地发挥降解骨质的作用<sup>[27]</sup>。现在已有特异的蛋白激酶 K 的抑制药 odanacatib,对蛋白激酶 K 有明显的抑制作用<sup>[28]</sup>,并在临床试验中证明有显著的疗效,能使绝经后低骨密度妇女的骨密度水平增高<sup>[29]</sup>。但更多的机制和药物不良反应还需要进一步深入研究和观察。

#### 4 降解产物的转运

破骨细胞降解骨质后产生大量的钙、磷酸和胶原片段,这些物质的积累会对破骨细胞产生毒性。破骨细胞通过内吞把骨质的降解产物吸收到细胞内经蛋白酶处理后释放,能防止降解产物积累影响破骨细胞功能,促进破骨细胞的骨吸收<sup>[30]</sup>。内吞作用可以调节很多细胞过程,包括与质膜有关的信号传导<sup>[31]</sup>。目前,已经发现破骨细胞内的 6 条物质转运途径,其中 2 种内吞转运途径直接参与骨吸收作用。

**4.1 穿胞转运(transcytotic)途径** 破骨细胞产生的吸收陷凹内大量的矿物质和有机质降解后的产物含有大量的钙、磷酸和胶原片段,这些降解产物需要被清除以减少对破骨细胞的毒性。通过光学及电子显微镜对破骨细胞的研究证实胶原片段和钙在褶皱缘区被吞入细胞,沿微管运输到与褶皱缘区相对的功能分泌区释放<sup>[32]</sup>。由于含降解物质的内吞囊泡大小不一,所以内吞(endocytosis)和胞饮(macropinocytosis)被认为都参与了降解产物的吸收机制<sup>[33]</sup>。AP-2 的分子接头——网格蛋白(clathrin)和大 GTP 酶 dynamin 都定位在 RB 区的中央,最近的研究认为网格蛋白介导的出芽方式是胞转小泡(transcytotic vesicle)形成的起始步骤<sup>[33]</sup>。在胞转小泡内,被吞噬的骨基质被抗酒石酸酸性磷酸酶和蛋白激酶 K 进一步消化。有学者<sup>[34]</sup>认为破骨细胞的穿胞转运途径在处理 and 释放骨组织降解产物的同时,还可能伴随着 TGF- $\beta$  和胰岛素样生长因子的

释放,这些生长因子可增强成骨细胞的活性,促进骨组织的生成,对骨的重塑有重要意义。

**4.2 内吞转运(endocytic trafficking)途径** 与破骨细胞吸收骨基质降解产物的相关的另外一个重要的途径是内吞转运,这个途径是从基底膜(basal membrane)到褶皱缘区,这与褶皱缘区的质膜更替有关,对保持褶皱缘区质膜的平衡有重要作用。抑制溶酶体的生物合成和转运能减弱内吞材料向褶皱缘区的运输,抑制褶皱缘区的内吞作用,这种现象表明两个途径间可能存在相互作用<sup>[35]</sup>,但其相互作用的机制目前还不清楚,有待深入的研究。

#### 5 小结

近年对破骨细胞的研究已有较大进展,在破骨细胞分化成熟方面已确认破骨细胞是在 RANKL 和 M-CSF 的共同刺激下形成,这种方法已为破骨细胞的研究提供了稳定大量的破骨细胞来源。破骨细胞接触骨质后进行引起细胞骨架重排、形成足体并与骨组织紧密结合、细胞内囊泡运输降解骨组织的酶类在 RB 区释放方面的研究较多,这些研究主要集中在细胞骨架重组的引发和微丝环的形成,但微管如何介导微丝形成环状、细胞骨架重排后在破骨细胞吸收分泌中作用的研究还有待深入,玻连蛋白及其受体  $\alpha v \beta 3$  在破骨细胞激活中的作用越来越受到重视,这有可能成为未来破骨细胞分子水平研究的方向。近几年细胞内吞和分泌功能在破骨细胞的分化和溶骨能力上的作用开始受到关注,破骨细胞的分泌功能,尤其是溶酶体的分泌,不仅参与骨组织的降解,还极有可能与骨组织的矿化沉积、骨的重塑耦联有关,更重要的是现已确定导致骨骼疾病的编码调节内吞和分泌的突变基因,研究破骨细胞中这些突变基因相关的分子机制可能为以后的治疗骨组织疾病提供新的靶点。

综上所述,由于破骨细胞在骨重塑过程中的重要性,破骨细胞一直是骨质疏松、类风湿性关节炎等疾病的研究重点,近年来研究发现破骨细胞活性增强在假体置换后的无菌松动也起重要作用,抑制破骨细胞活性可以减少假体松动的发生。随着现代技术的不断进步,人们能更精确地观察到破骨细胞发挥功能的过程,未来的研究可以通过细胞的体外培养和建立转基因小鼠模型来发现更多的破骨细胞在骨生理和病理过程中的作用。通过利用最先进的生化和生物物理技术,特别是多荧光标签标记的活细胞成像系统,可能为阐明激素、生长因子等影响骨平衡的分子机制提供新的途径和平台。

#### 参考文献

- [1] Lacey D, Timms E, Tan H, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation [J]. *Cell*, 1998, 93(2): 165-176.
- [2] 熊琦, 张里程, 张立海, 等. 重组人骨保护素与重组核因子  $\kappa B$  活化因子受体蛋白对破骨前体细胞分化的影响 [J]. *中国骨伤*, 2013, 26(4): 324-327.  
Xiong Q, Zhang LC, Zhang LH, et al. Effects of recombinant human osteoprotegerin and recombinant RANK protein on the differentiation of osteoclast precursors [J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2013, 26(4): 317-323. Chinese with abstract in English.
- [3] Simonet W, Lacey D, Dunstan C, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density [J]. *Cell*, 1997, 89(2): 309-319.

- [4] 朱明亮,包倪荣,周利武,等.正常健康人群外周血液中 OPG 和 sRANKL 浓度测定[J].中国骨伤,2010,23(2):87-89.  
Zhu LL, Bao NR, Zhou LW, et al. Concentration measurement of the OPG and sRANKL of peripheral blood among normal healthy people [J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2010, 23(2): 87-89. Chinese with abstract in English.
- [5] Hofbauer LC, Schopper M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases [J]. JAMA, 2004, 292(4):490-495.
- [6] Chambers TJ, Thomson BM, Fuller K. Effect of substrate composition on bone resorption by rabbit osteoclasts [J]. J Cell Sci, 1984, 70:61-71.
- [7] Jurdic P, Saltel F, Chabadel A, et al. Podosome and sealing zone: specificity of the osteoclast model [J]. Eur J Cell Biol, 2006, 85(3-4):195-202.
- [8] Destaing O, Saltel F, Geminard JC, et al. Podosomes display actin turnover and dynamic self-organization in osteoclasts expressing actin-green fluorescent protein [J]. Mol Biol Cell, 2003, 14(2):407-416.
- [9] Saltel F, Destaing O, Bard F, et al. Apatitemediated actin dynamics in resorbing osteoclasts [J]. Mol Biol Cell, 2004, 15(12):5231-5241.
- [10] Luxenburg C, Geblinger D, Klein E, et al. The architecture of the adhesive apparatus of cultured osteoclasts; from podosome formation to sealing zone assembly [J]. PLoS One, 2007, 2(1):e179.
- [11] Engelman VW, Nickols GA, Ross FP, et al. A peptidomimetic antagonist of the alpha (v)beta (3) integrin inhibits bone resorption in vitro and prevents osteoporosis in vivo [J]. J Clin Invest, 1997, 99(9):2284-2292.
- [12] Schmidt S, Nakehbandi I, Ruppert R, et al. Kindlin-3-mediated signaling from multiple integrin classes is required for osteoclast-mediated bone resorption [J]. J Cell Biol, 2011, 192(5):883-897.
- [13] Fuller K, Ross JL, Szweczyk KA, et al. Bone is not essential for osteoclast activation [J]. PLoS One, 2010, 5(9):e12837.
- [14] Geblinger DL, Addadi L, Geiger B. Nano-topography sensing by osteoclasts [J]. J Cell Sci, 2010, 123(Pt 9):1503-1510.
- [15] Duong LT, Lakkakorpi P, Nakamura I, et al. Integrins and signaling in osteoclast function [J]. Matrix Biol, 2000, 19(2):97-105.
- [16] Faccio R, Novack DV, Zallone A, et al. Dynamic changes in the osteoclast cytoskeleton in response to growth factors and cell attachment are controlled by beta3 integrin [J]. J Cell Biol, 2003, 162(3):499-509.
- [17] Destaing O, Saltel F, Geminard JC, et al. Podosomes display actin turnover and dynamic selforganization in osteoclasts expressing actin-green fluorescent protein [J]. Mol Biol Cell, 2003, 14(2):407-416.
- [18] Soriano P, Montgomery C, Geske R, et al. Targeted disruption of the c-src proto-oncogene leads to osteopetrosis in mice [J]. Cell, 1991, 64(4):693-702.
- [19] Tanaka S, Takahashi N, Udagawa N, et al. Osteoclasts express high levels of p60c-src, preferentially on ruffled border membranes [J]. FEBS Lett, 1992, 313(1):85-89.
- [20] Horne WC, Neff L, Chatterjee D, et al. Osteoclasts express high levels of pp60c-src in association with intracellular membranes [J]. J Cell Biol, 1992, 119(4):1003-1013.
- [21] Lowe C, Yoneda T, Boyce BF, et al. Osteopetrosis in Src-deficient mice is due to an autonomous defect of osteoclasts [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(10):4485-4489.
- [22] Coxon FP, Taylor A. Vesicular trafficking in osteoclasts [J]. Semin Cell Dev Biol, 2008, 19(5):424-433.
- [23] Sun Y, Büki KG, Ettl O, et al. Possible role of direct Rac1-Rab7 interaction in ruffled border formation of osteoclasts [J]. J Biol Chem, 2005, 280(37):32356-32361.
- [24] Supancharit C, Kornak U. Ion channels and transporters in osteoclasts [J]. Arch Biochem Biophys, 2008, 473(2):161-165.
- [25] Woo JT, Kawatani M, Kato M, et al. Reveromycin A, an agent for osteoporosis, inhibits bone resorption by inducing apoptosis specifically in osteoclasts [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(12):4729-4734.
- [26] Saftig P, Hunziker E, Everts V, et al. Functions of cathepsin K in bone resorption. Lessons from cathepsin K deficient mice [J]. Adv Exp Med Biol, 2000, 477:293-303.
- [27] Delaissé JM, Andersen TL, Engsig MT et al. Matrix metalloproteinases (MMP) and cathepsin K contribute differently to osteoclastic activities [J]. Microsc Res Tech, 2003, 61(6):504-573.
- [28] Bone HG, McClung MR, Roux C, et al. Olanacatib, a cathepsin-K inhibitor for osteoporosis; a two-year study in postmenopausal women with low bone density [J]. J Bone Miner Res, 2010, 25(5):937-947.
- [29] Eisman JA, Bone HG, Hosking DJ, et al. Olanacatib in the treatment of postmenopausal women with low bone mineral density: three-year continued therapy and resolution of effect [J]. J Bone Miner Res, 2011, 26(2):242-251.
- [30] Zhao H. Membrane trafficking in osteoblasts and osteoclasts; new avenues for understanding and treating skeletal diseases [J]. Traffic, 2012, 13(10):1307-1314.
- [31] Mellman I. Endocytosis and molecular sorting [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 1996, 12:575-625.
- [32] Nesbitt SA, Horton MA. Trafficking of matrix collagens through bone-resorbing osteoclasts [J]. Science, 1997, 276(5310):266-269.
- [33] Mulari MT, Zhao H, Lakkakorpi PT, et al. Osteoclast ruffled border has distinct subdomains for secretion and degraded matrix uptake [J]. Traffic, 2003, 4(2):113-125.
- [34] Tang Y, Wu X, Lei W, et al. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation [J]. Nat Med, 2009, 15(7):757-765.
- [35] Zhao H, Väinänen HK. Pharmacological sequestration of intracellular cholesterol in late endosomes disrupts ruffled border formation in osteoclasts [J]. J Bone Miner Res, 2006, 21(3):456-465.

(收稿日期:2013-11-03 本文编辑:李宜)