

Wnt/ β -catenin 信号通路调节软骨代谢作用于骨坏死疾病的研究进展

谢健¹, 童培建², 肖鲁伟¹

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江省中医院骨伤科, 浙江 杭州 310053)

【摘要】 越来越多的学者认为骨坏死疾病的发生与软骨细胞代谢异常有关, 而 Wnt/ β -catenin 信号通路中 β -catenin 的激活能促进软骨细胞分化, 同时也能促进软骨分化中的细胞死亡。因此暗示该通路能够通过调节软骨代谢影响骨坏死疾病的发生发展。其次, 软骨细胞特异性 β -catenin 基因条件敲除小鼠模型的成功建立, 有助于阐明 Wnt/ β -catenin 信号通路调节软骨代谢的作用机制, 为骨坏死疾病的病机阐述以及针对性治疗提供支持。本文就 Wnt/ β -catenin 信号通路、软骨代谢与骨坏死三者间的关系展开综述。

【关键词】 软骨细胞; 代谢; 骨坏死; Wnt/ β -catenin 信号通路; 综述文献

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2013.07.021

Progress on Wnt/ β -catenin signal pathway regulating the cartilage metabolism in osteonecrosis XIE Jian, TONG Pei-jian, and Xiao Lu-wei*. *Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

ABSTRACT More and more scholars agreed with the viewpoint that osteonecrosis relates with the metabolic activity of chondrocyte. Moreover, the activation of β -catenin among Wnt/ β -catenin signal pathway can promote differentiation of chondrocyte and can promote differentiated cell death. So it suggests that this signal pathway should have an effect to occurrence and development of osteonecrosis by regulating the metabolic activity of chondrocyte. Through the establishment of conditional β -catenin knockout mice, it is helpful to understand the pathogenesis of Wnt/ β -catenin signal pathway regulating cartilage metabolism. By the way we can understand the pathogenesis of osteonecrosis and give a targeted treatment to the disease. This article reviewed the relationship of three aspects of Wnt/ β -catenin signal pathway, cartilage metabolism and osteonecrosis.

KEYWORDS Chondrocytes; Metabolism; Osteonecrosis; Wnt/ β -catenin signal pathway; Review literature

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(7): 613-616 www.zggszz.com

骨坏死(osteonecrosis)是骨科难治疾病之一, 人体任何骨骼部位均能发生, 尤其好发于负重大关节, 以股骨头坏死发生率最高^[1]。研究表明^[2], 软骨是骨坏死的主要病变区域之一, 在骨坏死疾病发生发展过程中常伴有软骨病变, 包括软骨的软化、肿胀、裂隙、脱落等。Wnt/ β -catenin 信号通路是目前骨科疾病的研究热点, 与骨细胞的发育、分化密切相关, 参与了多种生物过程的调控, 在软骨细胞的分化和再生中起着关键作用^[3]。通过 Wnt/ β -catenin 信号通路研究软骨代谢对骨坏死的相关作用, 有助于全面揭示骨坏死疾病发生发展的分子机制, 为骨坏死疾病的临床诊疗提供支持。

1 骨坏死与软骨代谢

骨骼的形成主要通过膜内成骨及软骨内成骨两种方式^[4]。骨骼组织包括 3 种细胞: 成骨细胞、破骨细胞、软骨细胞。正常情况下, 骨细胞处于凋亡与更新的平衡状态。骨细胞的代谢失衡与骨坏死的形成密切相关, 以前一直认为骨坏死导致软骨代谢异常, 目前有研究表明软骨代谢对骨坏死的形成发展起重要作用^[5]。

目前基础研究中常选用糖皮质激素制造骨坏死模型, 范永前等^[6]通过对激素性股骨头坏死小鼠的股骨头病理切片 HE 染色观察后, 发现激素注射 4 周后关节软骨表面呈现退行性改变, 股骨头外形变的不平滑; Micro-CT 观察显示: 在激素注射 1~3 周后骨髓处可见软骨内囊腔样改变, 股骨头三维重建显示股骨头表面呈现桔皮样改变; TUNEL 染色可见激素应用 4 周后的股骨头关节软骨表面有凋亡的软骨细胞。研究表明激素能够通过影响软骨细胞周期, 抑制 DNA 合成, 引起关节软骨细胞的活性及蛋白合成能力下降^[7]。激素作用下的软骨细胞贴壁与增殖变得缓慢, 这可能与抑制关节软骨细胞 II 型胶原和蛋白的合成有关^[8]。Kleiman 等^[9]研究发现糖皮质激素能下调软骨细胞的细胞分化、代谢和细胞外基质合成相关基因的表达。Chrysis 等^[10]则发现糖皮质激素在抑制软骨细胞分化的同时, 能引起软骨细胞的凋亡。软骨的存在避免了骨与骨之间的直接摩擦, 具有润滑和分散骨间应力的作用, 软骨代谢异常在骨坏死引起的骨塌陷发生之前就已产生^[11], 开始出现软骨增厚^[12], 逐渐改变骨间应力, 从而导致骨坏死。

2 Wnt/ β -catenin 信号通路与软骨代谢

2.1 Wnt/ β -catenin 信号通路 Wnt 信号通路是一条高度保守的信号传导通路, 存在于低等生物果蝇直至高等哺乳动物, 其成员具有高度同源性^[13]。Wnt 基因长度为 350~380 个氨基

基金项目: 浙江省自然科学基金(编号: LZ12H27001)

Fund program: National Natural Science Foundation(No. LZ12H27001)

通讯作者: 肖鲁伟 E-mail: xlw@139.com

酸,其后包含多个糖基化位点,含有 24 个半胱氨酸残基。现已发现 Wnt 蛋白家族 19 个成员^[14],分别是 Wnt1、Wnt2、Wnt2b/13、Wnt3、Wnt3a、Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt9a、Wnt9b、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt16。Wnt 信号通路由许多可调控 Wnt 信号分子合成的蛋白质组成,与受体结合后,通过与一系列胞质蛋白相互作用发挥效能,靶细胞生理反应与来源于胞内和胞外的 Wnt 配体有关。Wnt 信号通路主要由 3 条传导途径组成^[15]:①Wnt/ β -catenin 通路,通过 β -catenin 作用激活基因转录;②Wnt/PCP 通路,通过小 G 蛋白激活 c-Jun N 端激酶(JNK),调控细胞骨架重排;③Wnt/ Ca^{2+} 通路,通过胞内 Ca^{2+} 释放而影响细胞黏附和基因表达。其中 Wnt/ β -catenin 研究最多,亦称为经典通路。

Wnt/ β -catenin 信号通路由信号蛋白、跨膜受体、胞质蛋白、核内转录因子、下游靶基因组成^[16]。其中跨膜受体包括卷曲蛋白(Frizzled, Frz)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6(LRP5/6);胞质蛋白包括散乱蛋白(Dishevelled, Dsh 或 Dvl)、结肠腺瘤样息肉病蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)、糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β)、轴蛋白(Axin)、 β -连接蛋白(β -catenin);下游靶基因有骨形成发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、基质金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinase 13, MMP-13)等。该通路的各靶点对生理调控均起关键作用。

Wnt/ β -catenin 信号分子的受体是 Frizzled,而其辅助受体为 LRP5/6。 β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 信号通路的下游枢纽信号分子。当胞外存在 Wnt 信号通路特异性抑制物(如 DKK1 等)时,Wnt 蛋白与其受体的结合受到抑制,细胞质中的 β -catenin 将结合于 APC、GSK-3 β 和 Axin 三者共同形成的降解复合物。与此同时,该降解复合物上的 GSK-3 β 可使 β -catenin 磷酸化,磷酸化后的 β -catenin 通过泛素化途径被蛋白酶降解,最终导致细胞质中的 β -catenin 水平显著降低。胞外不存在 Wnt 信号通路抑制物时,Wnt 蛋白则与细胞膜上的 Frizzled 和 LRP 5/6 受体结合,进而通过两方面的作用抑制胞质内的 β -catenin 降解:一是通过激活胞质中的 Dvl,直接抑制 GSK-3 β 的活性,使其不能磷酸化 β -catenin;二是引起 Axin 不稳定,阻碍 APC、GSK-3 β 和 Axin 的降解复合物形成,从而抑制 β -catenin 的磷酸化,最终引起 β -catenin 在胞质内聚集。当 β -catenin 聚集达到一定量时,可向细胞核内转移,并与细胞核中的 T 细胞因子(T cell factor, TCF)/淋巴增强因子(lymphoid enhancer factor, LEF)转录复合物结合,该复合物作为转录激活因子可引起 Wnt/ β -catenin 信号通路的靶基因表达,从而发挥调控作用^[7]。在正常机体内,这两种情况同时存在,维持动态平衡,并与机体生长状态相适应。

受 Wnt/ β -catenin 信号通路调节的下游靶基因主要表达 BMP 和 MMP-13 两种蛋白,与软骨代谢调节有关。BMP 属于转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)受体超家族成员,在软骨细胞发育中起重要作用^[17]。 β -catenin 信号通过激活 BMP 信号,能够诱导间质细胞分化为软骨细胞形成软骨组织^[18]。基质金属蛋白酶(MMPs)属于锌肽酶超家族,是一类结构高度同源的肉肽酶,MMP-13 属于 MMPs 中胶原酶类的一种,它可以直接降解关节软骨基质中最具特征、含量最多的 II 型胶原,可以认为 MMP-13 的变化最能反映软骨基质的代谢变化,是关节软骨破坏中的限速酶。Wnt/ β -catenin 信号通路的激活,可以提高 MMP-13 的表达^[19],导致软骨丢

失。机体在不同阶段可以根据需要通过 Wnt/ β -catenin 信号通路对软骨代谢进行调控。

2.2 Wnt/ β -catenin 信号通路对软骨代谢的调控作用 软骨由软骨细胞和富含胶原蛋白及蛋白聚糖的胞外基质构成。胶原蛋白呈网状分布,能维持软骨弹性;蛋白聚糖填充其中,可保持基质间水分。软骨病变最初出现局部水肿和纤维化病灶,而后纤维化程度加剧、软骨细胞增生肥大,后期纤维化区域裂解、软骨发生病变降解。Wnt/ β -catenin 信号通路对早期软骨形成及软骨细胞分化与成熟具有重要作用^[20],作用包括正向调节与负向调节。

Ning 等^[3]研究发现,2 周龄大鼠软骨细胞中 β -catenin 信号高表达,此时可促进软骨细胞成熟,之后 β -catenin 信号表达逐渐降低,在大鼠 8 周龄时人为诱导 β -catenin 信号高表达,发现软骨细胞凋亡增加,同时 MMP-13 表达增加。研究发现^[21],持久的 Wnt7a 表达对 Wnt/ β -catenin 信号通路起抑制作用,短上调 hMSC 中 Wnt7a 的表达则可促进软骨细胞分化。Wnt/ β -catenin 信号通路对软骨细胞外基质也有影响,有研究^[22]在体外培养软骨细胞并激活该信号通路的表达,结果发现氨基葡聚糖含量显著下降,细胞外基质合成明显减少。Wnt/ β -catenin 基因在关节软骨的形成中起重要作用^[23]。Yasuhara 等^[24]研究发现,通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路能够增加关节软骨的厚度,促进蛋白多糖的表达,并减缓软骨细胞循环;若关闭此信号通路则得到相反的效果^[25]。Zhu 等^[26]通过敲除位于 β -catenin 基因上的外显子 3,从而沉默 GSK-3 β 对 β -catenin 蛋白的磷酸化修饰,利用 Col2a1-CreER(T2)体系建立 β -catenin 过表达小鼠模型,发现该小鼠 5 周龄时软骨含量降低,8 周龄时软骨组织出现表面纤维化、骨赘形成等代谢紊乱表现。

Wnt/ β -catenin 与某些因子的相互作用对软骨细胞代谢有很大影响。比如软骨细胞再生和分化中起关键作用的 Dvl 需通过 Wnt 信号通路发挥作用,体外应用 siRNA 敲除软骨细胞中的 Dvl,细胞再生和分化不完全抑制,软骨细胞标志物 Col II、Col X 和 Sox-9 表达下降,抑制非磷酸化 β -catenin 蛋白核聚集^[27]。 β -catenin 蛋白可与关节形成所必需的转录因子 Sox-9 相关联,调节软骨细胞分化^[28]。成熟软骨细胞中 β -catenin 信号激活可刺激软骨细胞增生、基质矿化、MMP-13 和血管内皮生长因子的表达^[29]。笔者发现,成年小鼠关节软骨细胞 β -catenin 信号通路的激活会导致软骨细胞过早分化和类似于骨性关节炎的表型。

3 Wnt/ β -catenin 信号通路调节软骨代谢在骨坏死疾病中的应用

3.1 骨坏死转基因动物模型 转基因就是将目的基因导入受体细胞的过程。转基因动物模型现今所采用的基因打靶技术产生于 20 世纪 70~80 年代,是在胚胎干细胞(ES)技术和同源重组技术的基础上产生和发展起来的,它是一种定向改变细胞或者生物个体遗传信息的实验手段。利用同源重组将外源基因定点整合到靶细胞基因组上某一确定位点,以达到对细胞基因组进行定点修饰的目的。基因打靶在精确改造小鼠基因组中的应用已十分成熟。在基因打靶技术 10 多年的发展和应用过程中,呈现出 3 个明显的发展趋势^[30]:①通过条件基因剔除技术在时间和空间上对基因剔除进行调控;②发展满足大规模基因功能研究需要的随机基因剔除技术;③通过

基因敲除技术在基因组上引入精细突变以研制精确模仿人类疾病的动物模型。第 1 代小鼠模型正在被基于条件基因剔除技术的第 2 代小鼠模型所替代。基于 Cre-LoxP 系统的第 2 代小鼠模型可以模拟与人类疾病相关的体细胞突变,并对突变进行时空上的调控,提供了激动人心的新机会,研究已知或者未知基因在疾病的起始、发生和治疗过程中的作用及其机制。

具有软骨细胞特异性的 Col2-Cre 小鼠已经应用于骨细胞代谢及疾病研究^[31]。目前已获得转基因动物模型 Col 2a1-CreERT2 小鼠^[32],其 Cre 重组酶与突变的人类雌激素受体(ER)的配体结合域融合,由 Col 2a1 启动子指导其表达。软骨细胞中表达的该融合蛋白只对他莫昔芬(Tamoxifen, TM)或其体内的活性代谢产物 4-OH-TM 产生应答,然后进入细胞核,Cre 重组酶将基因组中 Floxed 基因删除(经基因操作改造,两侧带有 LoxP 位点的基因),完成基因敲除(称为可诱导的条件性基因敲除)。这种转基因动物模型是研究动物软骨细胞中特定基因功能的重要工具。通过 Col 2a1-CreERT2 工具,可以在任何时间诱导 β -catenin 基因的敲除^[33]。

3.2 对骨坏死的治疗 骨坏死患者存在关节软骨形态改变向功能障碍发展的病变过程,而软骨的改变是可以逆转的,这种逆转使骨坏死保守治疗成为可能^[34]。

Kuroki 等^[35]研究表明创伤与骨坏死造成的软骨损伤特点差别很小,尤其在疾病后期,软骨移植术能保证骨表面软骨的完整性以及一定的软骨厚度,对骨坏死的治疗有积极效果,但其对疾病的长期影响仍需进一步观察研究。Cler 等^[36]研究 1 例膝关节置换术失败的女性,年龄 17.5 岁, MRI 显示严重骨坏死,股骨内侧髁软骨完全剥离,采用自体软骨细胞移植的方法治疗后,至今为止各项功能指标都有所改善,但软骨再生以及骨重塑在治疗上的效用,仍处于长期的临床观测当中。软骨移植在骨坏死治疗领域中的应用越来越多,从正面说明了软骨代谢调节在骨坏死病变治疗中的重要性。但是,自体移植软骨仍存在缺陷,它对患者造成的二次损伤以及治愈率仍待商榷,无法进一步推广。目前,基因治疗在骨与关节疾病领域的运用也有相关报道。比如 Sen 等^[37]应用显性沉默 TCF(dnTCF)、显性沉默 LEF(dn LEF)、显性沉默 β -catenin(dn β -catenin)可阻断或限制 β -catenin 与 LEF/LCF 结合,进而影响靶基因的表达,这可以用于调控骨性关节炎(OA)的进程。这为基因治疗骨坏死疾病提供了研究方向。迄今,通过 Wnt/ β -catenin 信号通路作用于软骨来治疗骨坏死疾病的相关报道极少,需要深入探讨。

4 展望

骨坏死疾病发生发展过程中的软骨代谢改变较明显,通过调节软骨代谢可以治疗骨坏死。目前, Wnt/ β -catenin 信号通路是国内外研究软骨代谢的新热点,该信号通路对早期软骨形成及体外软骨细胞分化、成熟以及凋亡具有重要作用。通过建立软骨细胞特异条件性 β -catenin 基因敲除小鼠模型,研究 Wnt/ β -catenin 信号通路对骨坏死疾病的影响,可以深入对骨坏死疾病发病机制的了解,探索骨坏死疾病诊疗的新靶点。至今仍无一种安全有效的手段治疗骨坏死疾病,而通过调节软骨代谢治疗骨坏死的临床研究已展开,软骨移植以及基因调控等治疗方法的发展也为骨坏死疾病治疗提供了新的思路。另外 Wnt/ β -catenin 信号通路与骨坏死之间是否存在相关性,是否可以通过调控该信号通路相关基因与蛋白质的

表达有效干预骨坏死疾病,这些都需要进一步证实。

参考文献

- [1] Assouline-Dayana Y, Chang C, Greenspan A, et al. Pathogenesis and natural history of osteonecrosis[J]. Semin Arthritis Rheum, 2002, 32(2):94-124.
- [2] McCarthy J, Puri L, Barsoum W, et al. Articular cartilage changes in avascular necrosis: an arthroscopic evaluation[J]. Clin Orthop Relat Res, 2003, 406(1):64-70.
- [3] Ning B, Wang P, Pei X, et al. Dual function of β -catenin in articular cartilage growth and degeneration at different stages of postnatal cartilage development[J]. Int Orthop, 2012, 36(3):655-664.
- [4] Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate[J]. Nature, 2003, 423(6937):332-336.
- [5] 陈一凡, 林苏, 孙宇. 股骨头坏死早期的关节软骨改变[J]. 中国伤残医学, 2010, 18(4):8-10.
Chen YF, Lin S, Sun Y. Studies on the articular cartilage changes of femoral head for early stage of ONFH[J]. Zhongguo Shang Can Yi Xue, 2010, 18(4):8-10. Chinese.
- [6] 范永前, 齐进, 邓廉夫, 等. 小鼠激素性股骨头坏死的组织学演变[J]. 中华实验外科杂志, 2006, 23(8):980-981.
Fan YQ, Qi J, Deng LF, et al. The histological development in murine model of glucocorticoid induced osteonecrosis of femoral head[J]. Zhonghua Shi Yan Wai Ke Za Zhi, 2006, 23(8):980-981. Chinese.
- [7] 汤晨逢, 李国新, 温健, 等. 地塞米松磷酸钠对兔关节软骨细胞体外培养的影响[J]. 中国热带医学, 2008, 8(2):213-215.
Tang CF, Li GX, Wen J, et al. Effects of dexamethasone sodium phosphate on rabbit articular chondrocytes cultured in vitro[J]. Zhongguo Re Dai Yi Xue, 2008, 8(2):213-215. Chinese.
- [8] Li GX, Tang F, Wen J, et al. Effects of dexamethasone sodium phosphate on the proliferation of in vitro cultured rabbit articular chondrocytes[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2009, 13(50):9984-9986.
- [9] Kleiman A, Tuckermann JP. Glucocorticoid receptor action in beneficial and side effects of steroid therapy: Lessons from conditional knock out mice[J]. Mol Cell Endocrinol, 2007, 275(1-2):98-108.
- [10] Chrysis D, Zaman F, Chagin AS, et al. Dexamethasone induces apoptosis in proliferative chondrocytes through activation of caspases and suppression of the Akt-Phosphatidylinositol 3'-kinase signaling pathway[J]. Endocrinology, 2005, 146(3):1391-1396.
- [11] Liu ZH, Guo WS, Yang D, et al. Cartilage changes of femoral head osteonecrosis in stage II and III as detected by dGEMRIC[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2011, 91(21):1467-1470.
- [12] 孙强三, 徐青, 孙昭辉, 等. 超短波早期治疗对兔激素性股骨头缺血性坏死病理变化的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29(4):227-230.
Sun QS, Xu Q, Sun ZH, et al. The effects of early intervention with ultrashortwave diathermy on pathologic changes in hormone-induced is-chemic necrosis of the femoral head[J]. Zhonghua Wu Li Yi Xue Yu Kang Fu Za Zhi, 2007, 29(4):227-230. Chinese.
- [13] Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways[J]. Science, 2004, 303(5663):1483-1487.
- [14] Nusse R. Wnt signaling in disease and in development[J]. Cell Res, 2005, 15(1):28-32.
- [15] Strutt D. Frizzled signalling and cell polarization in Drosophila and vertebrates[J]. Development, 2003, 130(19):4501-4513.

[16] Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases[J]. *Gene*, 2004, 341: 19-39.

[17] Chen M, Zhu M, Awad H, et al. Inhibition of beta-catenin signaling causes defects in postnatal cartilage development[J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(9): 1455-1465.

[18] 林佳声, 赵承斌. BMP/bFGF 对关节软骨损伤修复的作用[J]. *中国伤残医学*, 2009, 17(2): 131-133.
Lin JS, Zhao CB. Recovery effect of BMP/bFGF on cartilage injury [J]. *Zhongguo Shang Can Yi Xue*, 2009, 17(2): 131-133. Chinese.

[19] Ye S, Wang J, Yang S, et al. Specific inhibitory protein Dkk-1 blocking Wnt/ β -catenin signaling pathway improve protectives effect on the extracellular matrix[J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2011, 31(5): 657-662.

[20] 高宁阳, 曹月龙, 刘婷, 等. Wnt 信号通路与骨关节炎[J]. *中国骨伤*, 2010, 23(4): 320-323.
Gao NY, Cao YL, Liu T, et al. Wnt signaling pathways and osteoarthritis[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2010, 23(4): 320-323. Chinese.

[21] Tuli R, Tuli S, Nandi S, et al. Transforming growth factor-beta-mediated chondrogenesis of human mesenchymal progenitor cells involves N-cadherin and mitogen-activated protein kinase and Wnt signaling cross-talk[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(42): 41227-41236.

[22] Shortkroff S, Yates KE. Alteration of matrix glycosaminoglycans diminishes articular chondrocytes' response to a canonical Wnt signal[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2007, 15(2): 147-154.

[23] Wu QQ, Zhu M, Rosier RN, et al. β -catenin, cartilage, and osteoarthritis[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, 1192(1): 344-350.

[24] Yasuhara R, Ohta Y, Yuasa T, et al. Roles of β -catenin signaling in phenotypic expression and proliferation of articular cartilage superficial zone cells[J]. *Lab Invest*, 2011, 91(12): 1739-1752.

[25] Eisenberg LM, Eisenberg CA. Wnt signal transduction and the formation of the myocardium[J]. *Dev Biol*, 2006, 293(2): 305-315.

[26] Zhu M, Tang DZ, Wu QQ, et al. Activation of beta-catenin signaling in articular chondrocytes leads to osteoarthritis-like phenotype in adult beta-catenin conditional activation mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(1): 12-21.

[27] Zhong N, Gersch RP, Hadjiargyrou M. Wnt signaling activation during bone regeneration and the role of Dishevelled in chondrocyte proliferation and differentiation[J]. *Bone*, 2006, 39(1): 5-16.

[28] Akiyama H, Lyons JP, Mori-Akiyama Y, et al. Interactions between Sox9 and beta-catenin control chondrocyte differentiation[J]. *Genes Dev*, 2004, 18(9): 1072-1087.

[29] Tamamura Y, Otani T, Kanatani N, et al. Developmental regulation of Wnt/beta-catenin signals is required for growth plate assembly, cartilage integrity, and endochondral ossification[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(19): 19185-19195.

[30] 杨晓. 利用基因打靶技术研制人类疾病小鼠模型[J]. *实验动物科学*, 2003, 20(z1): 63-64.
Yang X. Study of human disease mouse model by gene target [J]. *Shi Yan Dong Wu Ke Xue*, 2003, 20(z1): 63-64. Chinese.

[31] Yan Y, Tang D, Chen M, et al. Axin2 controls bone remodeling through the beta-catenin-BMP signaling pathway in adult mice [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 19): 3566-3578.

[32] Chen M, Lichtler AC, Sheu TJ, et al. Generation of a transgenic mouse model with chondrocyte-specific and tamoxifen-inducible expression of Cre recombinase[J]. *Genesis*, 2007, 45(1): 44-50.

[33] Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease [J]. *Cell*, 2006, 127(3): 469-480.

[34] Magnussen RA, Guilak F, Vail TP. Articular cartilage degeneration in post-collapse osteonecrosis of the femoral head. Radiographic staging, macroscopic grading, and histologic changes[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2005, 87(6): 1272-1277.

[35] Kuroki H, Nakaqawa Y, Mori K, et al. Ultrasound properties of articular cartilage immediately after osteochondral grafting surgery: in cases of traumatic cartilage lesions and osteonecrosis[J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2009, 17(1): 11-18.

[36] Cler H, Pascher A, Kastner N, et al. Matrix-assisted autologous chondrocyte implantation into a 14cm² cartilage defect, caused by steroid-induced osteonecrosis[J]. *Knee*, 2010, 17(3): 255-257.

[37] Sen M, Reifert J, Lauterbach K, et al. Regulation of fibronectin and metalloproteinase expression by Wnt signaling in rheumatoid arthritis synoviocytes[J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(11): 2867-2877.

(收稿日期:2012-09-14 本文编辑:李宜)

·读者·作者·编者·

本刊关于“通讯作者”有关事宜的声明

本刊要求集体署名的文章必须明确通讯作者。凡文章内注明通讯作者的稿件,与该稿件相关的一切事宜均与通讯作者联系。如文内未注明通讯作者的文章,按国际惯例,有关稿件的一切事宜均与第一作者联系,特此声明!

《中国骨伤》杂志社