

· 综述 ·

骨形态发生蛋白9在成骨分化中的作用与信号通路研究进展

沈思远, 梁 锋, 张云鹏, 肖守允, 丁惠民*

南京医科大学附属明基医院骨科, 江苏 南京 210019

[摘要] 骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)-9属于BMP家族,具有介导间充质干细胞、肌肉细胞和前成骨细胞等成骨分化的能力,还可以促进软骨形成。BMP-9诱导成骨分化的机制与传统的骨形态发生蛋白(BMP-2、BMP-4、BMP-7等)不完全相同。BMP-9诱导间充质干细胞成骨分化的能力明显强于其余BMP(如BMP-2、BMP-4、BMP-7等)。且传统的BMP抑制剂Noggin对于BMP-9促成骨分化能力无明显抑制作用。本文对BMP-9的结构和受体、成骨分化的作用和信号机制,以及成软骨分化进行了综述,并对其发展前景进行了展望。

[关键词] BMP-9;信号通路;成骨分化;成软骨分化

[中图分类号] R336

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2023)06-871-06

doi:10.7655/NYDXBNS20230619

Research progress on the role and signaling pathway of bone morphogenetic protein-9 in osteogenic differentiation

SHEN Siyuan, LIANG Feng, ZHANG Yunpeng, XIAO Shouyun, DING Huimin*

Orthopedic Department, the Affiliated BenQ Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210019, China

[Abstract] Bone morphogenetic protein (BMP) -9 belongs to the BMP family, which mediate the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells, muscle cells and preosteoblasts, and promote chondrogenesis. The mechanism of osteogenic differentiation induced by BMP-9 is not identical to that of traditional bone morphogenetic proteins (BMP-2, BMP-4, BMP-7, etc.). The ability of BMP-9 to induce osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells was significantly stronger than other BMP (such as BMP-2, BMP-4, BMP-7, etc.). The traditional BMP inhibitor Noggin has no significant inhibitory effect on the ability of BMP-9 to promote bone differentiation. In this review, the structure and receptor of BMP-9, the function and signaling mechanism of osteogenic differentiation, and chondrogenic differentiation are reviewed, and the development prospect of BMP-9 is prospected.

[Key words] BMP-9; signaling pathway; osteogenic differentiation; chondrogenic differentiation

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(06): 871-875, 892]

长久以来,各种因素造成的骨缺损是临床常见问题之一。较为复杂的骨缺损会增加不愈合或延迟愈合的风险,从而影响患者活动,降低生活质量,增加患者负担。因此如何促进骨形成具有重要临床意义和社会效益。

随着细胞信号通路研究的不断深入,利用生物活性分子和生物相容性材料的骨再生及骨组织工

程逐步向前发展。生长因子在骨再生中发挥重要作用。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)来自转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 超家族,在间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)成骨分化中起关键作用。BMP最早被发现可以诱导肌肉组织中的骨形成^[1]。

BMP-9是BMP家族的一员,其与目前研究较多的BMP-2、BMP-4、BMP-7相似,具有介导MSC成骨分化的能力。近几年研究表明,相比其他BMP蛋白,BMP-9具有更强的成骨分化潜能。既往研究表明,BMP-9主要通过SMAD依赖信号通路来介导干

[基金项目] 南京市卫生科技发展专项基金项目(YKK20215)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: Huimin.Ding@benq-medicalcenter.com

细胞成骨分化,但同时与其他信号通路之间也存在调控关系。由BMP触发的SMAD细胞信号通路通常被Noggin(诺金)抑制。然而,BMP-9所介导的SMAD通路不受Noggin抑制^[2],因此BMP-9可以更好地促进骨祖细胞向前成骨细胞和成骨细胞分化。本文主要对BMP-9配体、信号通路及成骨、成软骨分化能力进行综述。

1 BMP-9介导成骨分化的配体及信号通路

BMP-9在调控间充质干细胞成骨分化的过程中,与BMP I型受体(type I bone morphogenetic protein receptor, BMPRI)和BMP II型受体(type II bone morphogenetic protein receptor, BMPRII)相结合,进而激活下游的信号通路,引发级联反应。BMP-9可以与BMPRI中的间变性淋巴瘤激酶1(anaplastic lymphoma kinase 1, ALK1)和间变性淋巴瘤激酶2(anaplastic lymphoma kinase 2, ALK2)相结合,其中与ALK1有较高的亲和性,与ALK2亲和性较弱^[3-4]。对于BMPRII, BMP-9可以与它的多个亚型结合^[4-6]。这些受体多数为跨膜蛋白受体,包含细胞膜外面富含半胱氨酸的胞外结合区域、跨膜区域蛋白和胞浆

内富含丝氨酸与苏氨酸的胞内区域^[5-7]。

BMP-9的信号转导过程通常是由BMP-9形成的同源二聚体特异性地结合到BMPRI、BMPRII异源二聚体复合物上,进而形成异源四聚体聚合物,从而引起富含甘氨酸-丝氨酸基序列的BMPRII胞内区域的磷酸化,从而激活BMPRI及其下游信号通路^[7]。相关研究表明,BMP-9可以通过作用于多条信号通路从而调控不同组织来源的MSC的成骨分化过程(图1)。

1.1 BMP-9-SMAD 信号通路

BMP-9-SMAD途径,是BMP-9调控干细胞成骨分化的经典信号通路。细胞内SMAD的激活是该信号通路级联反应的关键靶点。其主要机制为BMP-9与BMP受体结合形成异源四聚体复合物,并招募细胞内信号激酶SMAD-1/5/8,随后启动磷酸化过程。磷酸化的SMAD-1/5/8复合物结合SMAD-4,形成SMAD-1/5/8-SMAD-4复合物,其随后易位到细胞核,从而调控下游成骨相关基因组的表达^[8]。

除SMAD-1/5/8-SMAD-4复合物外,SMAD-6/7同样参与了BMP-9-SMAD信号通路。SMAD-6/7又被称作抑制性SMAD(inhibitory SMAD, I-SMAD),在

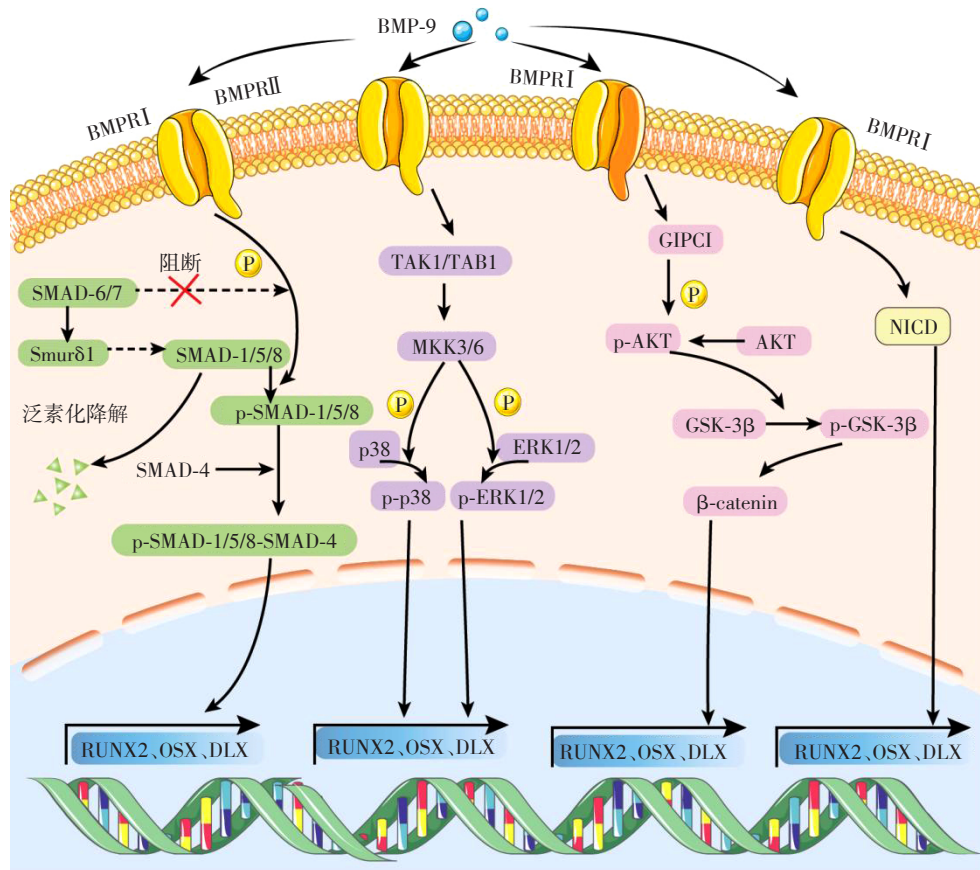


图1 BMP-9信号通路

Figure 1 BMP-9 signaling pathway

BMP-9-SMAD信号通路中,过表达的SMAD-6/7可以抑制BMP-9对干细胞成骨分化的影响。当BMP-9刺激时,过表达的SMAD-6/7从细胞核进入细胞质。SMAD-6/7竞争性结合I型受体,抑制SMAD-1/5/8的磷酸化过程,同时抑制SMAD-1/5/8和SMAD-4复合物的形成和活性。SMAD-6/7还可以调控泛素连接酶Smurf 1的表达水平,使其与I型受体结合,促进SMAD-1/5/8泛素化,从而抑制BMP-9-SMAD信号的转导^[9]。

1.2 BMP-9-丝裂原活化蛋白激酶(BMP-9-mitogen-activated protein kinase, BMP-9-MAPK)信号通路

BMP-9-MAPK信号通路是BMP-9信号通路的重要组成部分之一,MAPK成员包括细胞外信号相关激酶1/2(extracellular regulated protein kinases, ERK1/2)和ERK5、c-Jun氨基(N)末端激酶1/2(JNK1)以及p38亚型(p38 α 、p38 β 、p38 γ 和p38 δ)。当BMP-9与BMPRII相结合后,BMPRII受体会激活转化生长因子 β 激活激酶-1(transforming growth factor- β -activated kinase-1, TAK-1)/转化生长因子激活激酶1结合蛋白(transforming growth factor-activated kinase binding protein, TAB-1)复合物,从而激活丝裂原活化蛋白激酶激酶-3/6(mitogen-activated protein kinase-3/6, MKK-3/6),进而激活下游的p38或ERK-1/2并使其磷酸化,最终启动下游信号转导^[10]。p38选择性抑制剂可以明显抑制BMP-9介导的C3H10T1/2细胞成骨分化过程。BMP-9介导的C3H10T1/2细胞成骨分化过程中,磷酸化的p38表达上调。使用SB203580(p38抑制剂)后,C3H10T1/2细胞的成骨分化能力下调,提示p38在BMP-9介导的成骨分化过程中可能发挥重要作用^[11]。

1.3 BMP-9-Wnt/ β -catenin信号通路

Wnt/ β -catenin信号通路具有调节骨组织代谢、介导成骨分化及促进软骨发育的作用^[12]。Wnt配体首先与Frizzled和LRP-5/6受体相结合,随后磷酸化Dvl蛋白,进而募集糖原合成酶激酶3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)、Axin、APC、CK1,从而形成GSK3 β /Dvl/Axin/APC/CK1复合物,未被抑制的 β -catenin进入细胞核内结合到TCF/LEF转录因子上,启动下游成骨分化相关基因的转录^[7,12]。BMP-9可以介导 β -catenin表达和调控其磷酸化过程,进而增强磷酸化的GSK3 β 水平,从而促进高磷酸盐状态下血管平滑肌细胞中成骨标志物Runt相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, RUNX2)、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、骨钙蛋白(osteocalcin,

OCN)的表达,增加矿化作用^[13]。有研究表明,BMP-9可以通过Wnt/ β -catenin信号通路来介导牙胚来源的间充质干细胞(tooth germ mesenchymal cell, TGMC)成骨分化,当敲低 β -catenin时,BMP-9组的碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性和OCN表达水平下降^[14]。

1.4 BMP-9与Notch信号通路

Notch信号被认为是骨形成的重要调节分子,涉及胚胎发育、细胞增殖分化和细胞稳态等多个生物学过程。Notch信号通路主要由5种配体(JAG1、JAG2、DLL1、DLL3和DLL5)和4种受体(Notch1~4)构成^[15]。在骨相关病症中,Notch受体或配体通常发生表达异常;以往研究也表明,在成骨、成软骨和破骨分化过程中Notch信号广泛表达^[15]。Notch信号由Notch受体结合的配体激活,随后Notch被金属蛋白酶肿瘤坏死因子转化酶(TNF- α converting enzyme, TACE)裂解,然后被早老素1(presenilin 1)和早老素2(presenilin 2)的 γ -分泌酶复合物进一步裂解,成为Notch细胞内结构域(intracellular domain, NICD)。NICD易位进入细胞核并与DNA结合蛋白CSL(CBF1/Suppressor of hairless/LAG-1)相互作用并调节下游基因,从而介导细胞内的信号转导过程^[16]。

2 BMP-9的成骨分化能力

BMP-9具有促进成骨细胞分化及诱导体内外成骨的作用。Fujioka-Kobayashi等^[17]使用抗鼠核因子- κ B配体受体激活剂(monoclonal anti-murine receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, RANKL)的单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)在小鼠体内建立抗体介导的抗再吸收(antibody-mediated antiresorptive therapy, AMART)模型。在第3天和第14天时,与对照组比较,rhBMP-9治疗组的成骨标志物RUNX2、ALP、OSX(osterix)和OCN的mRNA表达水平显著升高。随后,将rhBMP-9与胶原蛋白膜填充至小鼠颅骨缺损处,辅以mAb治疗。28 d时,显微CT和组织学分析显示,相比对照组,rhBMP-9+mAb组新骨形成更多。Lu等^[18]发现BMP-9可以诱导小鼠胚胎骨髓间充质干细胞(C3H10T1/2细胞)成骨分化,且与沉默交配型信息调节器2同源物-1(silent mating type information regulator 2 homolog-1, SIRT1)的激活剂SRT2104联合应用,BMP-9的成骨能力明显增强。之后用BMP-9与GFP分别处理C3H10T1/2细胞,发现与对照组相比,BMP-9组的成骨标志物OCN、 α 1-I型胶原蛋白(collagen type I alpha 1,

COL1A1)及RUNX2表达水平更高。此外, Lu等^[18]用BMP-9+SRT2104处理C3H10T1/2细胞, 在处理5、7 d时发现与单纯使用BMP-9相比, BMP-9+SRT2104组的OCN、COL1A1及RUNX2表达水平明显增强, 同时PCR检测结果也证实了这一结论。

BMP-9可以促进间充质干细胞成骨分化, 因此在骨组织工程、颅骨修复、骨缺损愈合中发挥重要作用。Freitas等^[19]利用簇状规则间隔短回文重复序列相关核酸酶Cas-9(clustered regularly interspaced short palindromic repeats/associated nuclease Cas-9, CRISPR-Cas9)技术对MSC进行基因编辑, 使其过表达BMP-9, 同时构建了大鼠颅骨缺损模型, 结果显示, BMP-9组的RUNX2、OSX、ALP等成骨标志物基因表达水平较对照组更高, 同时注射后第21天时观察到更强的细胞外基质矿化作用。显微CT结果显示, 与对照组相比, BMP-9处理组的颅骨缺损处新骨形成更多。Wang等^[20]发现在体内, 相比对照组, 负载BMP-9和P-15肽水凝胶的聚乳酸-乙醇酸(poly-lactic acid glycolic acid, PLGA)支架处理的MSC表达更高水平的ALP、RUNX2、OCN。这提示BMP-9能更好地促进MSC的成骨分化。同时, 该研究还观察到在兔骨缺损模型中, BMP-9+P-15肽水凝胶+PLGA组的新骨形成更多。Shi等^[21]研究报道, 联合应用生物活性玻璃(Bioglass)+BMP-9能够更好地促进成骨分化。观察到在体内, 相比单独使用Bioglass, BMP-9+Bioglass组ALP活性更高, 且在BMP-9存在的情况下, RUNX2、OSX表达水平也显著上调。同时, 在大鼠牙齿缺损模型中, 也可以观测到BMP-9+Bioglass组新骨形成更多。

3 BMP-9的成软骨作用

BMP-9具有介导软骨祖细胞(chondroprogenitor, CPC)、MSC等成软骨分化的潜能。Kawin等^[22]研究了BMP-9在CPC成软骨分化中的作用。该研究分别用1-34甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)和BMP-9处理CPC, 结果表明BMP-9组的成软骨标志物SRY相关的高迁移率族框-9(SRY-type high-mobility-group box-9, SOX-9)、蛋白聚糖(aggrecan, ACAN)、 α 1-II型胶原(collagen type I alpha 1, COL2A1)的mRNA表达水平, 相比1-34PTH组升高, 其中以COL2A1最为明显。随后, 通过阿尔新蓝、藏红O染色和甲苯胺蓝染色测定糖胺聚糖沉积, 研究显示BMP-9组对糖胺聚糖表现出更大的摄取量。同样, 免疫组化分析也表明BMP-9组的COL2A1沉

积也更显著。Morgan等^[23]从未成熟牛软骨中筛选出关节软骨源性祖细胞, 分别用TGF和BMP-9诱导, 发现BMP-9处理的祖细胞的ACAN和COL2A1基因表达分别比对照组高11倍和5倍, 培养14 d后的基因表达定量分析也证实了这一点。由此可见, BMP-9可以促进成软骨分化, 但其诱导软骨形成的机制目前尚不明确。

4 BMP-9的特性

与其他BMP家族成员相比, BMP-9的成骨分化能力最强。Bipin等^[24]研究发现, 在大鼠颅骨缺损模型中, 使用甲基纤维素(MC)和海藻酸钙(Alg)的可注射给药系统联合搭载不同剂量(0.5、1.5 μ g)的rhBMP-2或rhBMP-9的凝胶系统, 相同剂量下, rhBMP-9组相比rhBMP-2组表现出更好的骨缺损修复效果, 同时还观察到0.5 μ g rhBMP-9组骨缺损修复效果弱于1.5 μ g rhBMP-9组。Fujioka-Kobayashi等^[25]构建新西兰兔颅骨缺损模型, 在该模型中通过脱蛋白牛骨骨粉搭载不同质量(5、20 μ g)的rhBMP-2或rhBMP-9, 结果表明, 5 μ g rhBMP-9组表现出最佳的修复骨结构。相较于5 μ g rhBMP-9组, 20 μ g rhBMP-2组与20 μ g rhBMP-9组的骨修复效果较差, 而5 μ g rhBMP-2组则不能完全修复骨缺损。

此外, 不同于其他BMP(如BMP-2、BMP-4、BMP-7), BMP-9不能被经典的BMP受体拮抗剂Noggin所抑制。据报道, Noggin抑制BMP信号通路的机制是通过与BMPRI和BMPRII中的配体结构域结合, 从而阻碍BMP与其受体上的结合位点相结合。既往相关研究表明, Noggin对BMP-9诱导的干细胞成骨分化过程无明显影响^[26]。研究发现, 在Noggin存在的情况下, 用BMP-2和BMP-9刺激肌肉前体细胞系C2C12细胞, 免疫荧光检测发现与BMP-2处理组相比, BMP-9处理组能够在细胞核中观察到更高水平的Smad-1/5/8^[2]。与此同时, 测定Smad-6/7的表达水平, 发现Noggin存在时, 与其他BMP相比, BMP-9更能诱导Smad-6/7的表达, 这一结果表明BMP-9不受Noggin抑制, 且相比其他BMP, 能够更好地促进BMP-SMAD信号通路。此外, 还发现BMP-9刺激的C2C12细胞或小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblast, MEF)出现较多的异位骨形成, 而BMP-2、BMP-4、BMP-6、BMP-7刺激的细胞异位骨形成较少或可忽略, 这也证实了Noggin对除BMP-9以外的其他BMP家族蛋白有明显抑制作用。苏木精和伊红染色结果表明, BMP-9能够在无或存在Noggin的

情况下诱导C2C12和MEF的骨形成^[2]。

5 结论与展望

近年的研究表明BMP-9在骨再生及骨组织工程中起重要作用。现有的研究表明,BMP-9可以通过多条信号通路(如BMP-9-SMAD、BMP-9-MAPK、BMP-9-TGF β 、BMP-9-Wnt/ β -catenin与BMP-9-Notch信号通路)发挥调控作用^[8-16]。但BMP-9调控干细胞成骨分化的具体机制目前尚不明确,有待进一步探究。调节BMP-9的SMAD信号通路不受Noggin影响^[2,26],这是BMP-9相比其他BMP家族蛋白的优势之一。多项体内外研究都是借助过表达BMP-9基因的载体来探索BMP-9在骨形成和骨再生过程中的作用,例如质粒、腺病毒,或是搭载rhBMP-9蛋白或腺病毒的支架材料,如琼脂糖、磷酸钙、石墨烯、胶原膜、凝胶等^[7]。一些研究也可以明显看出rhBMP-9可以有效修复大鼠的颅骨缺损。且与目前了解较多的BMP(如BMP-2)相比,BMP-9在低剂量时便能很好地介导足够的新骨形成^[24-25]。低剂量BMP-9的应用效果表明,在局部缺损区域优化BMP的释放动力学是控制BMP-9介导骨再生的关键因素之一;当BMP介导的成骨分化效率可能因BMP摄取量较低和/或BMP从载体中快速释放而降低时,通常需要更高剂量的BMP掺入。未来的研究可能会涉及各种生物聚合物复合材料,如纳米材料等,从而能够更好地吸附BMP-9以及延长其释放时间。

[参考文献]

- [1] WANG R N, GREEN J, WANG Z L, et al. Bone morphogenetic protein (BMP) signaling in development and human diseases [J]. *Genes Dis*, 2014(1): 87-105
- [2] WANG Y, HONG S Q, LI M, et al. Noggin resistance contributes to the potent osteogenic capability of BMP9 in mesenchymal stem cells [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(11): 1796-1803
- [3] SANCHEZ-DUFFHUES G, WILLIAMS E, GOUMANS M J, et al. Bone morphogenetic protein receptors: structure, function and targeting by selective small molecule kinase inhibitors [J]. *Bone*, 2020, 138: 115472
- [4] KIM J H, PEACOCK M R, GEORGE S C, et al. BMP9 induces EphrinB2 expression in endothelial cells through an Alk1-BMPRII/ActRII-ID1/ID3-dependent pathway: implications for hereditary hemorrhagic telangiectasia type II [J]. *Angiogenesis*, 2012, 15(3): 497-509
- [5] YU L, DAWSON L A, YAN M Q, et al. BMP9 stimulates joint regeneration at digit amputation wounds in mice [J].

Nat Commun, 2019, 10(1): 424

- [6] ZHENG W, CHEN Q, ZHANG Y, et al. BMP9 promotes osteogenic differentiation of SMSCs by activating the JNK/Smad2/3 signaling pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(4): 2851-2863
- [7] 汪 鏊, 宋东哲, 黄定明. 骨形态发生蛋白9调控干细胞分化与骨再生 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(19): 3064-3070
- [8] SAMPATH T K, VUKICEVIC S. Biology of bone morphogenetic protein in bone repair and regeneration: a role for autologous blood coagulum as carrier [J]. *Bone*, 2020, 141: 115602
- [9] ZOU M L, CHEN Z H, TENG Y Y, et al. The Smad dependent TGF-beta and BMP signaling pathway in bone remodeling and therapies [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 593310
- [10] RODRÍGUEZ-CARBALLO E, GÁMEZ B, VENTURA F. p38 MAPK signaling in osteoblast differentiation [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2016, 4: 40
- [11] DENG Y, LI L, ZHU J H. COX-2 promotes the osteogenic potential of BMP9 through TGF β 1/p38 signaling in mesenchymal stem cells [J]. *Aging*, 2021, 13(8): 11336-11351
- [12] OICHI T, OTSURU S, USAMI Y, et al. Wnt signaling in chondroprogenitors during long bone development and growth [J]. *Bone*, 2020, 137: 115368
- [13] HE F, WANG H, REN W Y, et al. BMP9/COX-2 axial mediates high phosphate-induced calcification in vascular smooth muscle cells via Wnt/beta-catenin pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(3): 2851-2863
- [14] LUO W, ZHANG L, HUANG B, et al. BMP9-initiated osteogenic/odontogenic differentiation of mouse tooth germ mesenchymal cells (TGMCS) requires Wnt/beta-catenin signalling activity [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(5): 2666-2678
- [15] ZIEBA J T, CHEN Y T, LEE B H, et al. Notch signaling in skeletal development, homeostasis and pathogenesis [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 332
- [16] MARIA P. YAVROPOULOU J G Y. The role of notch signaling in bone development and disease [J]. *Hormones*, 2014, 13(1): 24-37
- [17] FUJIOKA-KOBAYASHI M, MARJANOWSKI S D, KONO M, et al. Osteoinductive potential of recombinant BMP-9 in bone defects of mice treated with antiresorptive agents [J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2022, 51(4): 566-575
- [18] LU Y, MA Z X, DENG R, et al. The SIRT1 activator SRT2104 promotes BMP9-induced osteogenic and angiogenic differentiation in mesenchymal stem cells [J]. *Mech Ageing Dev*, 2022, 207: 111724

(下转第892页)

[11] CHIDA R E, SHIMURA M, NISHIMATA S, et al. Efficacy of ketogenic diet for pyruvate dehydrogenase complex deficiency [J]. *Pediatr Int*, 2018, 60 (11) : 1041-1042

[12] ZWEERS H, VAN WEGBERG A M J, JANSSEN M C H, et al. Ketogenic diet for mitochondrial disease: a systematic review on efficacy and safety [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2021, 16(1):295

[13] KARISSA P, SIMPSON T, DAWSON S P, et al. Compari-

son between dichloroacetate and phenylbutyrate treatment for pyruvate dehydrogenase deficiency [J]. *Br J Biomed Sci*, 2022, 79:10382

[14] ILONA K, SALEH M, NATALIA M, et al. Phenylbutyrate administration reduces changes in the cerebellar Purkinje cells population in PDC-deficient mice [J]. *Acta Neurobiol Exp*, 2020, 80(3):305-321

[收稿日期] 2023-02-21
(本文编辑:陈汐敏)

(上接第 875 页)

[19] FREITAS G P, LOPES H B, SOUZA A T P, et al. Mesenchymal stem cells overexpressing BMP-9 by CRISPR-Cas9 present high *in vitro* osteogenic potential and enhance *in vivo* bone formation [J]. *Gene Ther*, 2021, 28 (12):748-759

[20] WANG X M, CHEN W J, CHEN Z, et al. Preparation of 3D printing PLGA scaffold with BMP-9 and P-15 peptide hydrogel and its application in the treatment of bone defects in rabbits [J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2022, 2022:1081957

[21] SHI P K, ZHOU W T, DONG J B, et al. Scaffolds of bioactive glass (Bioglass®) combined with recombinant human bone morphogenetic protein-9 (rhBMP-9) for tooth extraction site preservation [J]. *Heliyon*, 2022, 8(1):08796

[22] KAWIN P, MANICKAM A S, GRACE R, et al. Supplementation of articular cartilage-derived chondroprogenitors with bone morphogenic protein-9 enhances chondrogenesis without affecting hypertrophy [J]. *Biotechnol Lett*, 2022, 44(9):1037-1049

[23] MORGAN B J, GUILLERMO B M, GARDNER OLIVER F W, et al. Bone morphogenetic protein-9 is a potent chondrogenic and morphogenic factor for articular cartilage chondroprogenitors [J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29 (14) : 882-894

[24] BIPIN G, ANGSHUMAN B, UNAGOLLA J M, et al. Evaluation of the optimal dosage of BMP-9 through the comparison of bone regeneration induced by BMP-9 versus BMP-2 using an injectable microparticle embedded thermosensitive polymeric carrier in a rat cranial defect model [J]. *Mater Sci Eng C*, 2021, 127:112252

[25] FUJIOKA-KOBAYASHI M, ABD EL RAOUF M, SAULACIC N, et al. Superior bone-inducing potential of rhBMP9 compared to rhBMP2 [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2018, 106(6):1561-1574

[26] JAY G, JASON G, EZRA W, et al. Structural basis of BMP signalling inhibition by the cystine knot protein Noggin [J]. *Nature*, 2002, 420(6916):636-42

[收稿日期] 2022-11-03
(本文编辑:陈汐敏)