

· 口腔医学研究 ·

## 姜黄素促进大鼠骨髓间充质干细胞的体外增殖及成骨分化

黄鉴栋<sup>1</sup>, 史凡<sup>1</sup>, 章非敏<sup>1\*</sup>, 王长青<sup>2\*</sup><sup>1</sup>南京医科大学口腔疾病研究江苏省重点实验室, 南京医科大学附属口腔医院修复科, 江苏 南京 210029; <sup>2</sup>南京医科大学, 江苏 南京 211166

**[摘要]** 目的: 研究姜黄素对大鼠骨髓间充质干细胞(rat bone marrow mesenchymal stem cell, rBMSC)生物学行为的影响。方法: 将含不同浓度梯度姜黄素溶液的完全培养基与 rBMSC 共培养, 通过 CCK-8 法检测细胞增殖情况, 确定姜黄素溶液的最适浓度; 将 rBMSC 与 4 μg/mL 姜黄素共孵育, 0 μg/mL 姜黄素处理组作为对照, 通过碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)染色和活性检测评估其早期成骨分化水平; 使用茜素红染色评估成骨分化晚期细胞外基质矿化情况; 利用实时荧光定量逆转录 PCR 检测细胞成骨诱导 7、14 d 时成骨指标骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein-2, Bmp2)、核心结合因子α1(core binding factor alpha 1, Runx2)、骨钙素(osteocalcin, Ocn)、骨桥蛋白(osteopontin, Opn)、成骨细胞特异基因(osterix, Osx)的表达。结果: CCK-8 结果显示含不同浓度姜黄素溶液的培养基中的 rBMSC 均能持续增殖, 4 μg/mL 姜黄素组对 rBMSC 增殖的促进作用最为显著(与对照组相比,  $P < 0.001$ ); ALP 活性检测及染色结果显示姜黄素组细胞的 ALP 活性高于对照组( $P < 0.001$ ); 茜素红染色结果显示姜黄素组的细胞外基质矿化水平高于对照组; 实时荧光定量逆转录 PCR 结果显示姜黄素组细胞的相关成骨基因 Bmp2、Runx2、Ocn、Opn、Osx 的表达均高于对照组( $P < 0.05$ )。结论: 姜黄素能够促进 rBMSC 的体外增殖及成骨分化。

**[关键词]** 姜黄素; 干细胞; 骨组织工程; 成骨分化**[中图分类号]** R318.08**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2020)01-1868-06**doi:** 10.7655/NYDXBNS20201226

## Curcumin promoted proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells *in vitro*

HUANG Jianli<sup>1</sup>, SHI Fan<sup>1</sup>, ZHANG Feimin<sup>1\*</sup>, WANG Changqing<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Jiangsu Key Laboratory of Oral Diseases, Department of Prosthodontics, the Affiliated Stomatological Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029; <sup>2</sup>Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

**[Abstract]** **Objective:** This study aims to observe the effect of curcumin on the biological behavior of rat bone marrow mesenchymal stem cells (rBMSC). **Methods:** Complete medium containing curcumin with different concentration gradient was co-cultured with rBMSC. Cell proliferation was detected by CCK-8 method to determine the optimal concentration of curcumin solution. rBMSC were co-incubated with 4 μg/mL curcumin and treated with 0 μg/mL curcumin as control group. The early osteogenic differentiation of rBMSC was evaluated by ALP staining and activity detection. Alizarin red staining was used to evaluate the mineralization of extracellular matrix in late osteoblast differentiation. Real-time fluorescence quantitative reverse transcription PCR was used to detect the expression of bone morphogenetic protein-2 (Bmp2), core binding factor alpha 1 (Runx2), osteocalcin (Ocn), osteopontin (Opn), and osteo-specific gene (Osterix, Osx) after 7 and 14 days of osteogenesis induction. **Results:** CCK-8 results showed that rBMSC in culture medium containing curcumin of different concentrations could proliferate continuously, and the promotion effect of 4 μg/mL curcumin on rBMSC was the most significant (compared with the control group,  $P < 0.001$ ). ALP activity in curcumin group was higher than that in control group ( $P < 0.001$ ). The results of alizarin red staining showed that the extracellular matrix level of curcumin group was higher than that of the control group. The expression of Bmp2, Runx2, Ocn, Opn and Osx in the curcumin group was higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Curcumin can promote the proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells *in vitro*.

**[Key words]** curcumin; stem cells; bone tissue engineering; osteogenesis differentiation

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(01): 1868-1873]

**[基金项目]** 国家重点研发计划纳米科技重点专项(2016YFA0201704); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目(2018-87)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: fmzhang@njmu.edu.cn; cqwang@njmu.edu.cn

每年,全世界有2 000多万人因创伤、感染、肿瘤或先天性疾病等原因导致骨缺损<sup>[1]</sup>,骨再生的治疗是一个巨大的临床挑战<sup>[2]</sup>。目前,自体骨移植被认为是治疗骨缺损的“金标准”<sup>[3]</sup>。然而,从髂骨处获得的骨的体积有限,其并发症如取骨处的局部血肿、植入骨的塑形等问题都值得关注<sup>[4-5]</sup>。由于自体骨移植的局限性,临床上急需新的治疗方法或试剂来提高骨再生的疗效和效率。近年来,骨组织工程因具有良好的生物相容性、生物降解性和多孔性,能够提供足够的机械强度,促进血管化,成为一种很有前途的骨再生方法<sup>[6-7]</sup>,其核心因素是生长因子、支架材料以及种子细胞。

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)来源于中胚层,是成骨前体细胞的唯一来源<sup>[8]</sup>,具有取材方便、操作简单、增殖能力强等优点,且具有自我更新及多向分化潜能<sup>[9]</sup>,是骨组织工程理想的种子细胞。诱导BMSC向成骨分化是骨组织工程治疗的重要一步。

在众多诱导BMSC成骨分化的物质中,天然小分子化合物越来越多地受到人们的关注,其具有来源广泛、容易获取、数量充足、种类丰富、生物安全性好等明显优势,有利于骨组织工程疗法的大规模应用<sup>[10]</sup>,姜黄素就是其中的一种。姜黄素是从姜黄的根茎中提取出来的一种酚类天然产物,大量体外和体内研究表明姜黄素具有抗炎、抗菌、抗氧化、抗癌及调节骨代谢等作用<sup>[11-12]</sup>。姜黄素可以增加脂肪细胞线粒体生物合成并改善其功能,诱导白色脂肪细胞棕色化,有利于脂质代谢<sup>[13]</sup>;姜黄素可以调节不同的分子靶点,例如与骨重建过程有关的核因子(nuclear factor, NF)- $\kappa$ B,姜黄素能抑制NF- $\kappa$ B抑制剂(I $\kappa$ B)的磷酸化和降解,导致非活性NF- $\kappa$ B-I $\kappa$ B复合物的形成<sup>[14]</sup>;姜黄素还可以抑制与骨质疏松发生相关的TNF- $\alpha$ 在绝经女性体内升高<sup>[15]</sup>。最新研究表明,姜黄素可以通过增加Dlx5、核心结合因子 $\alpha$ 1(core binding factor alpha 1, Runx2)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、骨钙素(osteocalcin, Ocn)等基因的表达,诱导小鼠胚胎间充质干细胞(C3H10T1/2)的成骨细胞分化<sup>[16]</sup>。

本研究从细胞层面研究姜黄素对rBMSC的体外增殖及成骨分化能力的影响,为姜黄素应用于骨组织工程提供一定的实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

姜黄素(Sigma-Aldrich公司,美国);rBMSC

(P2)、rBMSC完全培养基及成骨诱导培养基(广州Cyagen);0.25%胰酶-EDTA(Gibco公司,美国);磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS, Hyclone公司,美国);CCK-8试剂盒(合肥Biosharp公司);Triton X-100(北京Solarbio公司);4%多聚甲醛固定液、BCIP/NBT碱性磷酸酶显色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);ALP测试盒(南京建成生物工程研究所);BCA蛋白定量试剂盒(北京雷根生物技术有限公司);茜素红染色液(广州赛业);RNA提取试剂盒、RT-PCR逆转录试剂盒、SYBR Green Premix Ex Taq II (TaKaRa公司,日本);Spectra Max 190酶标仪(Molecular device公司,美国);QuantStudio7荧光定量PCR仪(ABI公司,美国);细胞培养箱(Heraeus公司,德国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

rBMSCs培养在37℃、5% CO<sub>2</sub>恒温培养箱中,每3 d换液,待其融合至80%左右传代。第3~5代细胞用于后续细胞实验。

#### 1.2.2 细胞增殖检测

将rBMSC以每孔 $3 \times 10^3$ 个的密度接种于96孔板中,培养24 h后,弃原培养基,加入含有不同浓度(0、1、2、3、4、5  $\mu$ g/mL)姜黄素溶液的完全培养基,其中,含0  $\mu$ g/mL姜黄素的完全培养基培养的细胞组设置为空白对照组。在分别培养至1、3、5、7 d时,弃原培养液,每孔加入100  $\mu$ L的工作液(CCK-8与完全培养基按1:10混合所得),37℃、5% CO<sub>2</sub>恒温培养箱中孵育2 h后,每孔吸出80  $\mu$ L液体至另一块96孔板中,所有样品的吸光度(optical density, OD)值在450 nm波长处使用酶标仪读取。

#### 1.2.3 ALP染色及活性检测

rBMSC以每孔 $2 \times 10^5$ 个的密度接种于6孔板中,待其融合至60%~70%,弃原培养基,加入含不同浓度(0、4  $\mu$ g/mL)姜黄素溶液的成骨诱导培养基,其中,含0  $\mu$ g/mL姜黄素的成骨诱导培养基培养的细胞组设置为空白对照组,每2~3 d换液。在成骨诱导第7天时,弃原培养基,PBS洗2遍,每孔加入1 mL 4%多聚甲醛固定30 min后,PBS洗2遍。按BCIP/NBT碱性磷酸酶显色试剂盒方法配好染液后,每孔加入1 mL染液,室温避光染色30 min,PBS轻洗2遍,扫描仪拍照观察。另取同样培养细胞至第4、7、14天时,弃原培养基,PBS洗2遍,每孔加入120  $\mu$ L 0.5% Triton X-100裂解20 min,超声后离心,收集上清液进行分析,ALP活性和总蛋白浓度分别按照ALP检测

试剂盒和BCA蛋白检测盒说明书进行检测。

### 1.2.4 茜素红染色

细胞分组和培养方法同前。成骨诱导至第21天时,弃原培养基,PBS洗2遍,每孔加入1 mL 4%多聚甲醛固定30 min后,PBS洗2遍。每孔加入1 mL茜素红染液,室温避光染色5~10 min后,弃染液,双蒸水轻洗2遍,扫描仪拍照观察。

### 1.2.5 实时荧光定量PCR

细胞分组和培养方法同1.2.3。成骨诱导至第7、14天时,弃原培养基,按照说明书的方法使用RNA提取试剂盒收集细胞并分离总RNA,将其逆转录为cDNA。采用TaKaRa SYBR Premix Ex Taq II试剂盒配成10  $\mu$ L反应体系在QuantStudio7荧光定量PCR仪上进行实时荧光定量PCR。引物由上海生工生物工程股份有限公司合成,管家基因GAPDH设为内参(表

1)。靶基因的相对表达量根据方程式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算。

### 1.3 统计学方法

采用统计分析软件SPSS 26.0分析,实验数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 姜黄素对rBMSCs增殖的影响

为了研究姜黄素对rBMSC增殖的影响,将不同浓度的姜黄素溶液(0、1、2、3、4、5  $\mu$ g/mL)与rBMSC共培养。CCK-8结果显示,各组细胞在7 d内数目均逐渐增加,呈稳定增殖状态。与对照组相比,4  $\mu$ g/mL姜黄素组对rBMSC增殖的促进作用最为显著( $P < 0.001$ ,图1),故后续成骨诱导实验均采用此药物浓度。

表1 qPCR的引物序列

Table 1 Primer sequences of qPCR

基因名	上游序列(5'→3')	下游序列(5'→3')
GAPDH	GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG	ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA
Runx2	GGGACCTGCCACTGTCACTGTAATA	CAAGTGGCCAGGTTCAACGA
Bmp2	CAGTGGGAGAGCTTTGATGT	ACCTGGCTTCTCCTCTAAGT
Ocn	TGCAAAGCCCAGCGACTCT	TTGAGCTCACACACCTCCCTGT
Opn	CCCAGGTGATAGCTTGGCTTA	TTGATAGCCTCATCGGACTCCTG
Osx	GGAGGCACAAAGAAGCCATA	GGGAAAGGGTGGGTAGTCAT

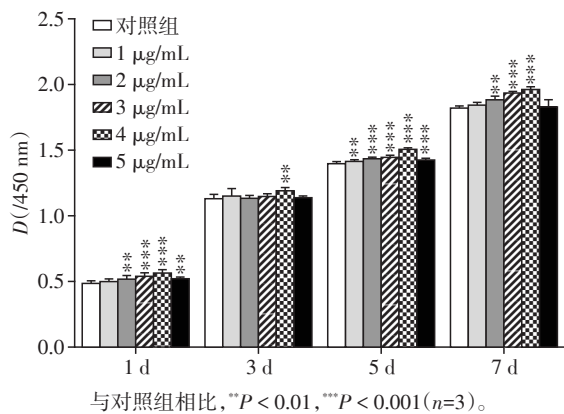


图1 姜黄素对rBMSC增殖的影响

Figure 1 Effect of curcumin on rBMSC proliferation

### 2.2 姜黄素对rBMSC ALP活性的影响

为了研究姜黄素对rBMSC早期成骨分化的影响,将rBMSC用两组不同培养基分别成骨诱导4、7和14 d,ALP活性检测结果显示,4 d时姜黄素组ALP活性为(56.14 $\pm$ 0.21)U/g,高于对照组(52.34 $\pm$ 0.57)U/g,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );7 d时姜黄素组ALP活性为(121.75 $\pm$ 0.14)U/g,高于对照组

(100.74 $\pm$ 0.25)U/g,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );14 d时姜黄素组ALP活性为(223.04 $\pm$ 0.52)U/g,高于对照组(190.69 $\pm$ 0.28)U/g,差异有统计学意义( $P < 0.001$ ,图2A)。7 d ALP染色结果与ALP活性检测结果一致(图2B)。

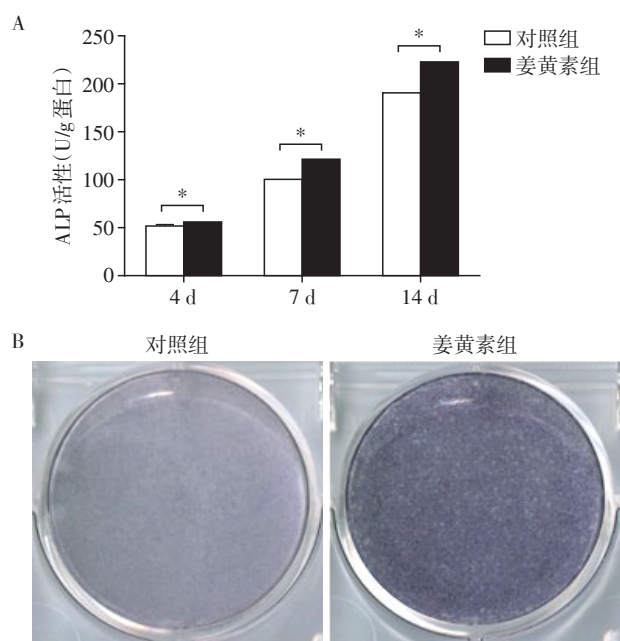
### 2.3 姜黄素对rBMSC细胞外基质矿化的影响

为研究姜黄素对rBMSC成骨分化晚期细胞外基质矿化的影响,使用茜素红染色检测各组细胞外基质的钙结节。结果表明,成骨诱导21 d后,对照组和姜黄素组均有矿化物沉积,对照组可见少量散在红色钙结节,而姜黄素组染色较深,可见大量连成片状的红色钙结节(图3)。

### 2.4 姜黄素对rBMSC成骨相关基因表达的影响

为了进一步探究姜黄素对rBMSC早期成骨的影响,将rBMSC用两组不同培养基分别成骨诱导7、14 d后,运用实时荧光定量PCR分析成骨分化基因的表达。结果显示,姜黄素组的成骨相关基因Runx2、Bmp2、Ocn、Opn、Osx的表达均高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图4)。

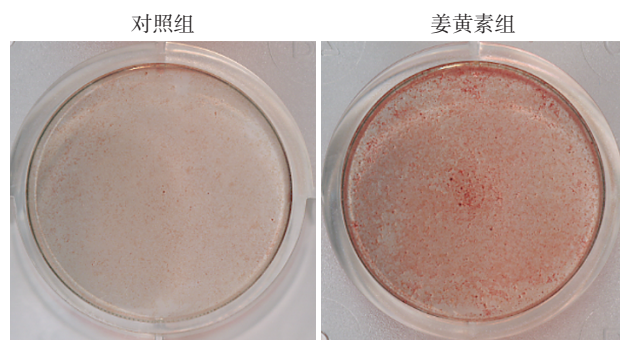




A: 成骨诱导4、7、14 d, 对照组和姜黄素组(4 μg/mL)rBMSC的ALP活力, 两组相比, \* $P < 0.001$  ( $n=3$ ); B: 成骨诱导7 d, 对照组和姜黄素组(4 μg/mL)rBMSC的ALP染色图。

图2 姜黄素对rBMSC ALP活性的影响

Figure 2 Effect of curcumin on ALP activity of rBMSC



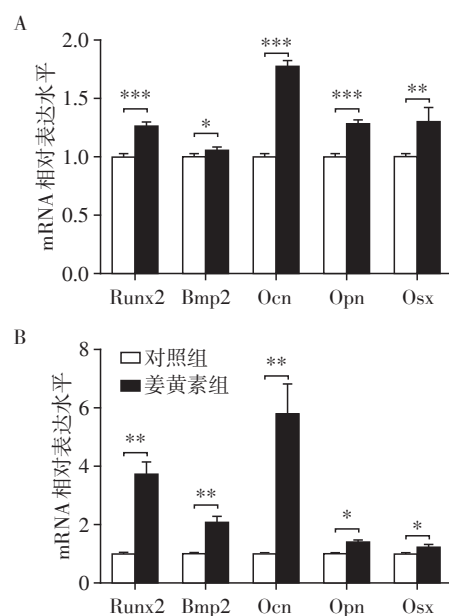
成骨诱导21 d, 对照组和姜黄素组(4 μg/mL)rBMSCs的茜素红染色图。

图3 姜黄素对rBMSC细胞外基质矿化的影响

Figure 3 Effect of curcumin on extracellular matrix mineralization of rBMSC

### 3 讨论

骨缺损一直是口腔颌面部修复及口腔种植修复的一大难题, 自体骨、同种异体骨、人工骨替代材料因取材不便、容易坏死、排斥反应等缺点而受限<sup>[17]</sup>。为解决这些问题, 骨组织工程应运而生, 为骨缺损修复提供了新思路, 将载有骨诱导能力的小分子化合物的生物支架植入骨缺损部位<sup>[18]</sup>, 诱导干细胞成骨分化, 引导骨组织再生, 最终修复缺损的骨组织。近年来发现, 天然小分子化合物能高效诱导间



A: 成骨诱导7 d, 对照组和姜黄素组(4 μg/mL)rBMSC成骨相关基因的表达情况, 两组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  ( $n=3$ ); B: 成骨诱导14 d, 对照组和姜黄素组(4 μg/mL)rBMSC成骨相关基因的表达情况, 两组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.001$  ( $n=3$ )。

图4 姜黄素对rBMSC成骨相关基因表达的影响

Figure 4 Effect of curcumin on the expression of osteogenic related genes in rBMSC

充质干细胞向成骨细胞分化, 且具有来源丰富、结构多样、生物活性独特等优点, 可以与聚合物一起溶解在有机溶剂中制造支架, 而不会显著丧失其生物活性, 在骨组织工程修复骨缺损中有重要应用前景。其中, 姜黄素作为研究最广泛的天然化学物质之一, 是一种具有β-二酮结构的多酚类化合物, 有研究表明它对癌症、糖尿病、关节炎、多发性硬化症、感冒、炎症等都有疗效<sup>[19-21]</sup>; 在骨骼系统中, 姜黄素可以通过调控多种靶分子来恢复破骨细胞与成骨细胞间的平衡, 从而预防骨质疏松的发生<sup>[22-23]</sup>。

本实验通过检测与姜黄素共培养的rBMSC的体外增殖和成骨分化水平, 评估姜黄素对rBMSC增殖及成骨分化的促进能力。CCK-8结果显示, 在细胞培养的7 d内, 对照组和姜黄素组的细胞数目均随时间稳定增长, 且4 μg/mL姜黄素组对rBMSC增殖的促进作用最为显著, 故后续促成骨实验均采用了此药物浓度。ALP是成骨细胞功能性酶, 是干细胞成骨分化的早期标志之一<sup>[24]</sup>, 本实验分别在成骨培养第4、7、14天时检测ALP活性, 姜黄素组细胞的ALP活性均显著高于对照组, 并于第7天时进行ALP染色, 其结果也与活性检测结果一致。成骨诱导21 d时, 茜素红染色结果显示姜黄素组细胞和对

照组细胞均有矿化物沉积,且姜黄素组较对照组颜色更深,说明姜黄素组细胞外基质矿化程度强于对照组。Runx2是成骨细胞分化的关键转录因子,是骨形成或再生的最早和最关键的生物标志物<sup>[25-26]</sup>,Bmp2是新骨形成的关键因子<sup>[27]</sup>,Ocn是特异性骨形成标志物,是评价骨代谢的主要指标之一<sup>[28]</sup>,Opn是Runx2的下游靶点,调节基质矿化<sup>[29-30]</sup>,Osx是成骨细胞分化的非选择性转录因子,在成骨细胞分化和成熟中有重要作用<sup>[31]</sup>,本实验在成骨诱导第7、14天分别检测了这些关键的成骨调节基因的表达水平,荧光定量PCR结果显示,细胞成骨诱导7、14 d后,姜黄素组细胞的成骨指标Runx2、Bmp2、Ocn、Opn、Osx的表达均显著高于对照组,结果均有统计学差异,说明姜黄素对rBMSC的早期成骨分化有显著的促进作用。

综上,本实验证明了姜黄素能够促进rBMSC的体外增殖及成骨分化,是用于骨组织工程治疗骨缺损很有前景的候选方案。然而,作为小分子化合物,姜黄素本身无法靶向识别成骨细胞,骨组织吸收的药量往往达不到促进缺损部位新骨形成所需要的剂量,因此在后续研究中将进一步探究姜黄素与合适的药物缓释体系及生物支架的联合运用,使其持续稳定、高效准确地作用于骨组织缺损部位,引导骨组织再生,最终修复缺损的骨组织。

#### [参考文献]

- [1] HABIBOVIC P. Strategic directions in osteoinduction and biomimetics [J]. *Tissue Eng Part A*, 2017, 23 (23-24): 1295-1296
- [2] LIU M, LV Y. Reconstructing bone with natural bone graft: a review of *in vivo* studies in bone defect animal model [J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2018, 8(12): 999
- [3] MARTIN V, BETTENCOURT A. Bone regeneration: biomaterials as local delivery systems with improved osteoinductive properties [J]. *Mat Sci Eng C-Mater*, 2018, 82: 363-371
- [4] HO-SHUI-LING A, BOLANDER J, RUSTOM LE, et al. Bone regeneration strategies: engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives [J]. *Biomaterials*, 2018, 180: 143-162
- [5] SOHN H S, OH J K. Review of bone graft and bone substitutes with an emphasis on fracture surgeries [J]. *Biomater Res*, 2019, 23: 9
- [6] IAQUINTA M R, MAZZONI E, MANFRINI M, et al. Innovative biomaterials for bone regrowth [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3): E618
- [7] MAJIDINIA M, SADEGHPOUR A, YOUSEFI B. The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(4): 2937-2948
- [8] 陈晓, 苏佳灿. 骨质疏松研究热点: 骨髓间充质干细胞分化命运 [J]. *第二军医大学学报*, 2017, 38(4): 397-404
- [9] DENG W, OBROCKA M, FISCHER I, et al. In vitro differentiation of human marrow stromal cells into early progenitors of neural cells by conditions that increase intracellular cyclic AMP [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 282(1): 148-152
- [10] WANG Y, ZHU G, LI N, et al. Small molecules and their controlled release that induce the osteogenic/ chondrogenic commitment of stem cells [J]. *Biotechnol Adv*, 2015, 33(8): 1626-1640
- [11] GIORDANO A, TOMMONARO G. Curcumin and cancer [J]. *Nutrients*, 2019, 11(10): 2376
- [12] KIM Y, CLIFTON P. Curcumin, cardiometabolic health and dementia [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2018, 15(10): 2093
- [13] 朱晓蕾, 杜苏苏, 严琴慧, 等. 姜黄素诱导小鼠皮下前脂肪细胞棕色化的作用及机制 [J]. *南京医科大学学报 (自然科学版)*, 2020, 40(6): 796-802
- [14] TONG W, WANG Q, SUN D, et al. Curcumin suppresses colon cancer cell invasion via AMPK-induced inhibition of NF- $\kappa$ B, uPA activator and MMP9 [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 4139-4146
- [15] SAHEBKAR A, CICERO A, SIMENTAL-MENDIA L, et al. Curcumin downregulates human tumor necrosis factor- $\alpha$  levels: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 107: 234-242
- [16] SON H E, KIM E J, JANG W G. Curcumin induces osteoblast differentiation through mild-endoplasmic reticulum stress-mediated such as BMP2 on osteoblast cells [J]. *Life Sci*, 2017, 193: 34-39
- [17] SUN X, ALTALHI W, NUNES S S. Vascularization strategies of engineered tissues and their application in cardiac regeneration [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 96: 183-194
- [18] BALMAYOR E R. Targeted delivery as key for the success of small osteoinductive molecules [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 94: 13-27
- [19] RAVINDRAN J, PRASAD S, AGGARWAL B B. Curcumin and cancer cells: how many ways can curry kill tumor cells selectively? [J]. *AAPS J*, 2009, 11: 495-510
- [20] JACKSON J K, HIGO T, HUNTER W L, et al. The antioxidants curcumin and quercetin inhibit inflammatory processes associated with arthritis [J]. *Inflammation Res*, 2006, 55: 168-175

- [21] WEISBERG S P, LEIBEL R, TORTORIELLO D V. Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabetes [J]. *Endocrinology*, 2008, 149: 3549-3558
- [22] CHEN Z, XUE J, SHEN T, et al. Curcumin alleviates glucocorticoid-induced osteoporosis through the regulation of the Wnt signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(2): 329-338
- [23] Cho D C, Ryu K, Kim K T, et al. The therapeutic effects of combination therapy with curcumin and alendronate on spine fusion surgery in the ovariectomized rats [J]. *Korean J Spine*, 2017, 14(2): 35-40
- [24] AUBIN J E, LIU F, MALAVAL L, et al. Osteoblast and chondroblast differentiation [J]. *Bone*, 1995, 17(2 Suppl): 77S-83S
- [25] KOMORI T. Runx2, an inducer of osteoblast and chondrocyte differentiation [J]. *Histochem Cell Biol*, 2018, 149(4): 313-323
- [26] KOMORI T. Regulation of proliferation, differentiation and functions of osteoblasts by Runx2 [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7): 1694
- [27] ZHANG J, WEI W, YANG L, et al. Stimulation of cell responses and bone ingrowth into macro-microporous implants of nano-bioglass/polyetheretherketone composite and enhanced antibacterial activity by release of hinokitiol [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2018, 164: 347-357
- [28] AI-RIFAI O, CHOW J, LACOMBE J, et al. Proprotein convertase furin regulates osteocalcin and bone endocrine function [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(11): 4104-4117
- [29] CHEN X, WANG L, ZHAO K, et al. Osteocytogenesis: roles of physicochemical factors, collagen cleavage and exogenous molecules [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2018, 24(3): 215-225
- [30] MARTIN V, RIBEIRO I A, ALVES M M, et al. Engineering a multifunctional 3D-printed PLA-collagen-minocycline-nanoHydroxyapatite scaffold with combined antimicrobial and osteogenic effects for bone regeneration [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 101: 15-26
- [31] MOGHADDAM T, NESHATI Z. Role of microRNAs in osteogenesis of stem cells [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 14136-14155

[收稿日期] 2020-11-03



欢迎关注本刊微博、微信公众号!