

天然小分子化合物诱导间充质干细胞向成骨分化的研究进展

王怡晴, 刘如明, 王诺鑫, 肖建辉*

遵义医科大学附属医院医药生物技术研究所 遵义市医药生物技术重点实验室, 贵州 遵义 563003

摘要: 骨缺损的修复一直是骨科领域的难点, 以干细胞移植为核心的再生医学的发展为攻克这一顽疾带来了希望。间充质干细胞具有很强的成骨分化潜能, 是骨组织工程优良的种子细胞。天然小分子化合物具有来源丰富、结构复杂多样及广泛而独特生物活性等特点。近年来, 发现天然小分子化合物是高效、定向诱导间充质干细胞向成骨细胞分化的天然诱导剂, 在干细胞治疗骨缺损中有重要应用前景。综述了近几年有关天然小分子诱导间充质干细胞成骨分化的研究进展, 可望加快间充质干细胞在骨缺损、骨组织工程中的临床应用提供新思路。

关键词: 天然小分子化合物; 间充质干细胞; 成骨分化; 骨缺损; 骨组织工程

中图分类号: R284; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)11-2728-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.11.033

Research progress on induction of osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells induced by natural small molecule compounds

WANG Yi-qing, LIU Ru-ming, WANG Nuo-xin, XIAO Jian-hui

Zunyi Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, Institute of Medical Biotechnology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, China

Abstract: The repair of bone defect has always been a difficulty in the field of orthopedics. The development of stem cell transplantation-based regenerative medicine has brought hope to overcome this disease. Mesenchymal stem cells (MSCs) have strong osteogenic differentiation potentials, which are excellent seed cells for bone tissue engineering. Natural small molecule compounds are characterized by abundant sources, complex structures, and extensive and unique biological activities. In recent years, it has been found to be a natural inducer for the efficient induction of differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts, and has important application prospects in the treatment of bone lesions by stem cells. In this paper, recent advances in the induction of osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by natural small molecules are reviewed. It is expected to accelerate the clinical application of mesenchymal stem cells in bone lesions and bone tissue engineering.

Key words: natural small molecule compound; mesenchymal stem cells; osteogenic differentiation; bone defect; bone tissue engineering

当前, 因各种原因造成骨缺损的发病率越来越高, 由此引起的肢体功能障碍已严重影响患者的生活质量。骨移植被作为一种常用的治疗手段, 但存在供源紧缺、完全愈合率低、术后并发症及免疫排斥反应等弊端, 因此在临床应用中严重受限^[1]。至今, 骨缺损尚无良好的治疗方法, 已成为全球亟待解决的医学难题。近些年, 以干细胞为核心的组织工程与再生医学的飞速发展, 在临床应用方面展示了巨大的潜力, 为治愈这一顽疾带来了新的希望。

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是一种具有自我更新能力的多能干细胞, 具有免疫调节功能、来源丰富、易获取等特点^[2], 是骨组织工程优良的种子细胞。诱导 MSCs 向成骨分化是骨组织工程治疗的重要步骤。在诱导干细胞成骨分化的众多方法中, 利用天然小分子化合物促进干细胞分化具有明显的优势。天然小分子化合物不仅来源广、种类多、数量足、易获得、结构可控, 而且可以高效、可逆、定向和准确地诱导细胞分化,

收稿日期: 2019-04-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660363); 国家高层次人才特殊支持计划 (国科发资 [2018] 29 号); 贵州省高层次创新型人才支持计划 [黔科合人才 (2015) 4028 号]

作者简介: 王怡晴, 女, 河南人, 医学硕士。E-mail: wangyiqing0804@163.com

*通信作者 肖建辉, 教授。E-mail: jhxiao@zmc.edu.cn

乃至实现体细胞重编程和转分化。这些优点为干细胞组织工程疗法的大规模应用提供了可能^[3-5]。近年来,天然小分子化合物诱导干细胞成骨分化越来越受到人们的关注。目前,已发现多种天然小分子化合物可高效、定向诱导 MSCs 向成骨细胞分化,为干细胞命运定向调控开辟了新的方向,并且可能会对解决干细胞在组织修复和再生医学中的关键问题提供全新的方案。本文对近几年天然小分子诱导间充质干细胞成骨分化的研究进展进行综述,以期天然小分子化合物联合 MSCs 在骨组织工程的临床应用提供启示。

1 黄酮类

黄酮类化合物多存在于植物的根、茎、叶、果实、种子中,多具有抗氧化和抗菌作用^[6]。近来研究发现,黄酮类化合物对干细胞的增殖、凋亡、分化亦具有调控作用,可抑制骨吸收和促进干细胞成骨分化^[7]。

1.1 槲皮素

槲皮素是一种具有广泛生理活性的黄酮类化合物^[8]。最近研究发现槲皮素通过雌激素(ER)介导的骨形态发生蛋白(BMP)信号转导,调节转录因子Runx2和Osx的表达并最终刺激小鼠骨髓间充质干细胞(mBMSCs)的成骨分化和矿化^[9]。槲皮素能激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路刺激BMP2的产生,从而诱导大鼠间充质干细胞(rBMSCs)的成骨分化,同时增加细胞外调节蛋白激酶(ERK)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、BMP2和核心结合因子 α 1(CBF α 1)的表达^[10]。尤其是在分化中后期,槲皮素通过调节ERK还可以随剂量增加而促进血管内皮生成因子(VEGF)和血管生成素-1(ANG-1)的分泌,而VEGF可增加小静脉数和小静脉的通透性,促进细胞质钙的积累,并诱导血管生成^[11]。研究表明,槲皮素通过VEGF可刺激rBMSCs的增殖和成骨,并通过刺激内皮细胞分泌骨合成代谢生长因子间接促进成骨细胞的增殖和分化^[12]。另外,负载槲皮素的微球显著增加了成骨细胞中碱性磷酸酶(ALP)活性,同时提高了RUNX2基因和蛋白的表达量^[13]。在成骨细胞分化中,槲皮素混合配体铜络合物处理可增加细胞水平的钙沉积和ALP活性,并在分子水平上刺激mRNA和蛋白的表达,ALP的mRNA和I型胶原mRNA表达^[14]。总之,槲皮素是骨缺损修复和再生有力的候选者,首先是因为其能促进干细胞成骨,其次还能诱导

VEGF和ANG-1的分泌,从而间接促进骨形成。

1.2 葛根素

葛根素是一种具有抗炎、抗肿瘤、肾保护等广泛药理作用的异黄酮^[15]。而且,葛根素有骨质保护和促进干细胞成骨分化的作用。研究表明,葛根素能通过抑制蛋白激酶B(Akt)活化,预防脂多糖(LPS)诱导的破骨细胞形成和骨丢失^[16]。其还可以通过MAPK信号传导途径促进rBMSCs的成骨分化,并且可以防止卵巢切除大鼠骨密度降低和改善股骨小梁骨结构^[17]。葛根素可增加分泌型糖蛋白5b(Wnt5b)的表达,诱导rBMSCs分化为成骨细胞,提示其成骨分化可能与分泌型糖蛋白(Wnt)信号通路有关^[18]。葛根素还可通过NO/环磷酸鸟苷(cGMP)/蛋白激酶GII(PKGII)信号传导途径起作用的雌激素受体介导,促进人骨髓间充质干细胞(hBMSCs)的增殖和成骨细胞分化^[19]。

2 酚类

多酚是植物界常见的天然产物,可改善神经退行性疾病、心血管疾病、癌症和骨质疏松症等疾病的症状^[20]。研究表明,白藜芦醇、姜黄素和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)等多酚类天然小分子化合物具有重要的促MSCs成骨效应。

2.1 白藜芦醇

白藜芦醇是具有二苯乙烯母核结构的非黄酮类多酚化合物,亦被认为是抵御病原菌入侵的植物抗毒素^[21]。研究结果提示,白藜芦醇能增加I型胶原N端前肽(P1NP)和骨保护素(OPG)的表达,并使ALP水平增加3倍,促进hBMSCs向成骨细胞分化^[22]。而且,其能够通过刺激组蛋白去乙酰化酶1/Runx转录因子2(Sirt-1/Runx2)调节成骨,并经由抑制核因子- κ B配体的受体激活剂(Rankl)表达来阻滞破骨细胞的分化^[23]。此外,白藜芦醇通过调节大鼠骨形态发生蛋白和骨桥蛋白基因表达来改善骨修复^[24]。进一步的研究表明,白藜芦醇可逆转肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的促凋亡作用并逆转TNF- α 诱导的成骨损伤,抑制TNF- α 激活的NF- κ B信号传导,缓解炎症细胞因子对成骨分化的抑制作用^[25]。白藜芦醇还可激活ER依赖性ERK1/2通路,促进hBMSCs的增殖和成骨分化^[26]。另外,白藜芦醇能增强Wnt信号途径,促进MSCs成骨分化和骨形成^[27]。

2.2 姜黄素

姜黄素是一种具有 β -二酮结构的多酚类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗癌、抗菌等广泛的药理

作用^[28]。最新研究表明,姜黄素通过增加无远端同源框 5 (Dlx5)、Runx2、ALP 和 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^[29]。其还能增加血红素加氧酶 (HO)-1 表达,上调 ALP 活性和 Runx2 和 Ocn 等成骨细胞特异性因子转录水平的表达,调控 rBMSCs 成骨形成^[30]。其通过减弱氧化应激和抑制 Wnt/ β -catenin 信号传导,间接诱导人脂肪间充质细胞 (hADMSCs) 向成骨分化^[31]。

2.3 EGCG

EGCG 是茶多酚中最有效的活性成分,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗动脉硬化、抗血管增生等多种药理作用^[32]。有研究表明,EGCG 对向成骨谱系发展的 hBMSCs 具有强烈的刺激作用,特别是在 5 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下,显著增强 ALP 活性,促进成骨相关基因表达以及钙化结节的形成^[33]。而且,EGCG 能显著抑制缺氧诱导的 hBMSCs 凋亡,促进 ALP、BMP2、PINP 和 Runx2 的表达,这可能与上调 MicroRNA 210 的表达有关^[34]。EGCG 可预防 TNF- α 诱导 hBMSCs 的成骨抑制^[35]。EGCG 与共轭明胶缀合形成复合物凝胶,可在 14 d 内诱导 mBMSCs 的成骨生成^[36]。EGCG 对磷酸盐缓冲盐水悬浮后 hBMSCs 成骨能力也具有显著的影响,4 $^{\circ}\text{C}$ 下在磷酸盐缓冲盐水中悬浮 4 d, hBMSCs 仍显示出高活力和成骨分化能力^[37]。通过增加成骨相关基因的表达、ALP 活性和最终矿化,EGCG 增强 hBMSCs 的成骨分化^[38]。

3 生物碱

小檗碱是从黄连、黄柏中分离得到的一种广泛使用的生物碱,研究表明,其具有抗菌、抗肿瘤、抗高血脂、抗自噬等多种药理活性^[39]。在成骨方面,也具有独特的优势。小檗碱通过 ERK-核转录因子 (FOS) 途径促进人牙周膜干细胞 (hPDLSCs) 向成骨细胞分化^[40]。结合细胞膜色谱和在线 HPLC-MS 筛选,小檗碱可促进 ALP 的分泌,增强矿化结节的形成,显示出其成骨潜力^[41]。小檗碱通过活化 p38 促分裂原蛋白激酶和增加环氧合酶-2 的表达来促进成骨细胞分化^[42]。其不仅可以通过增强 Runx2 的表达,还可以通过激活经典的 Wnt/ β -catenin 信号通路,刺激 hBMSCs 的成骨分化^[43]。小檗碱通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进 rBMSCs 的成骨分化,显示出具有治疗牙周再生的潜力^[44]。

其他生物碱如可可碱、甜菜碱和胡椒碱等也具有成骨功能。可可碱促进 hBMSCs 的成骨形成,增

加股骨厚度和骨小梁参数,并且孕妇补充安全剂量的可可碱可加速其后代的骨骼发育^[45]。甜菜碱通过控制聚水凝胶的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD) 浓度,调节 hBMSCs 干性和成骨形成^[46]。胡椒碱通过 AMP 依赖的蛋白激酶 (AMPK) 依赖性调节 Runx2 表达诱导成骨分化^[47]。

4 三萜类

人参作为传统中药,药用历史悠久,其药用部位为根,主要活性成分是人参皂苷,属于三萜皂苷。人参皂苷 Rg₁ 是人参中含量最高的有效成分。有研究表明其在中枢神经、心血管、内分泌和免疫系统具有积极作用^[48]。其可增加成骨细胞的数量和 ALP 的活性及环磷酸腺苷 (cAMP) 的表达^[49]。其通过调节 BMP2/Smad 信号通路促进 rBMSCs 的成骨分化和大鼠胫骨骨折的愈合^[50];还可以通过改变基因表达促进人牙髓干细胞 (hDPSCs) 的增殖和成骨分化^[51]。增强人牙周韧带干细胞 (hPDLSCs) 的增殖和成骨分化的最佳浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ ^[52]。

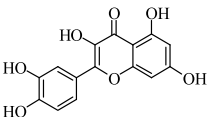
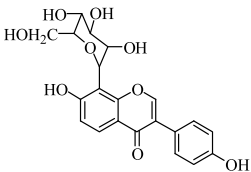
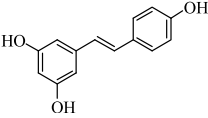
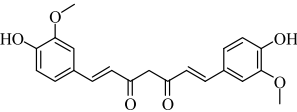
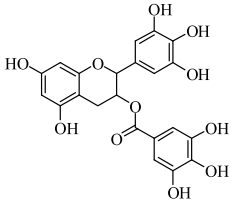
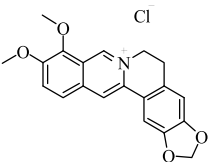
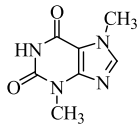
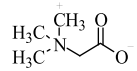
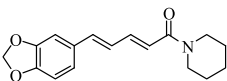
此外,其他三萜类化合物也具有成骨效应。齐墩果酸在卵巢切除诱导的骨质疏松大鼠中发挥骨保护作用,并在体外刺激 rBMSCs 的成骨分化^[53]。柴胡皂苷 A 在体外刺激 mBMSCs 的成骨分化,体内促进成骨标志物的表达,并通过 Wnt/ β -连环蛋白途径发挥针对卵巢切除术诱导的骨丢失的保护作用^[54]。三七皂苷是一种抗骨质疏松剂,具有增强骨矿物质密度和骨强度的作用,并防止切除卵巢的大鼠骨质流失^[55]。研究表明,其通过激活 Wnt 信号通路改变 rBMSCs 中 Rankl 和 OPG 的水平,促进细胞增殖,增加矿化和 ALP 活性,从而诱导 rBMSCs 的成骨形成^[56]。

5 其他

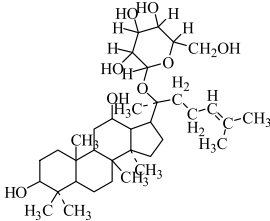
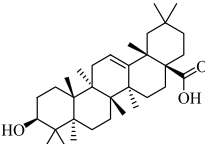
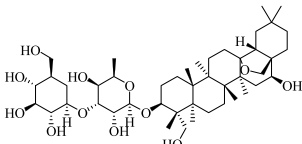
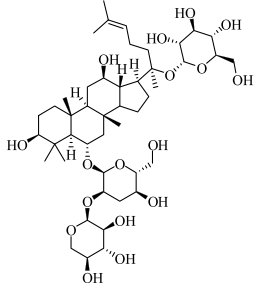
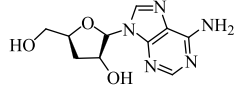
除了上述的小分子外,还有其他天然小分子化合物能够诱导 MSCs 的成骨分化。例如,虫草素已被证明在骨相关疾病中也具有明显的效应。虫草素通过激活 Wnt 通路介导对过氧化氢诱导的 hBMSCs 成骨抑制具有保护作用^[57]。虫草素还可以通过直接减少 NF- κB 抑制蛋白 (I $\kappa\text{B}\alpha$) 磷酸化而抑制 TNF- α 激活的核转录因子- κB (NF- κB) 信号通路,达到抗炎的目的,同时在细胞疗法中促进 hADMSCs 的成骨分化^[58]。在糖尿病性骨病中,虫草素可以剂量依赖的方式恢复循环血糖,同时增加糖尿病大鼠中骨矿物质含量和骨矿物质密度^[59]。诱导 MSCs 成骨分化的天然小分子化合物见表 1。

表 1 诱导 MSCs 成骨分化的天然小分子化合物

Table 1 Natural small molecule compounds induced osteogenic differentiation of MSCs

天然小分子	类别	化学结构	作用细胞	作用机制	文献
槲皮素	黄酮类		mBMSCs	通过 ER 介导的 BMP 信号转导, 上调转录因子 Runx2 和 Osx 的表达;	9
			rBMSCs	MAPK 信号通路的激活刺激 BMP2, 增加 ERK、TGF- β 1、BMP-2 和 CBF α 1 基因的表达	10
葛根素	黄酮类		rBMSCs	通过 MAPK 信号传导途径; 增加 Wnt5b 的表达, 可能与 Wnt 信号通路有关	17-18
			hBMSCs	通过 NO/cGMP/PKG II 信号传导途径发挥作用	19
白藜芦醇	酚类		hBMSCs	上调 PINP、OPG 和 ALP 的表达	22
			cADMSCs	刺激 Sirt-1/Runx2 调节成骨	23
			mBMSCs	抑制 TNF- α 激活的 NF- κ B 信号传导	25
			hBMSCs	激活 ER 依赖性 ERK1/2 通路	26
			mPMSCs	增强 Wnt 信号途径	27
姜黄素	酚类		C3H10T1/2	增加 Dlx5、Runx2、ALP 和 Ocn	29
			rBMSCs	增加 HO-1 表达, 上调 ALP、Runx2 和 Ocn 等成骨细胞特异性因子转录水平的表达	30
			hADMSCs	Wnt/ β -连环蛋白信号途径	31
EGCG	酚类		hBMSCs	增强 ALP 活性, 促进成骨相关基因表达以及钙化结节的形成	33
			hBMSCs	促进 ALP、BMP2、PINP 和 Runx2 的表达水平, 这可能与上调 miR-210 表达有关	34
			hBMSCs	激活 TNF- α	35
			mBMSCs	增加 BMD、BV/TV 和 BMC/TV 水平	36
			hBMSCs	增加矿化、ALP 活性和 Ocn 表达	37
			hBMSCs	增加成骨相关基因的表达, ALP 活性和最终矿化	38
小檗碱	生物碱		hPDLSCs	通过 ERK-FOS 途径介导	40
			hPDLSCs	增强矿化结节的形成	41
			mBMSCs	通过 p38 MAPK 激活 Runx2	42
			hBMSCs	通过增强 Runx2 的表达, 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路	43
可可碱	生物碱		hBMSCs	增加股骨厚度和骨小梁参数	44
甜菜碱	生物碱		hBMSCs	增加 ALP 和 BSP 的表达	45
胡椒碱	生物碱		MC3T3-E1	通过 AMPK 依赖性调节 Runx2 表达	46

续表 1

天然小分子	类别	化学结构	作用细胞	作用机制	文献
人参皂苷 Rg ₁	三萜类		rBMSCs hDPSCs	调节 BMP2/SMAD 信号通路 改变成骨相关基因表达	49 50
齐墩果酸	三萜类		rBMSCs	增加成骨细胞数量, 骨钙素和 Runt2 蛋白水平	52
柴胡皂苷 A	三萜类		mBMSCs	通过 Wnt/β-catenin 途径促进成骨标志物的表达	53
三七皂苷	三萜类		rBMSCs	通过激活 Wnt 信号通路, 促进细胞增殖, 增加矿化和 ALP 活性	55
虫草素	其他		hBMSCs hADMSCs	通过激活 Wnt 通路介导 通过直接减少 IκBα 磷酸化而抑制 TNF-α 激活的 NF-κB 信号通路	56 57

6 结语

综上所述,天然小分子化合物可以显著影响干细胞的命运,并驱使它们进入成骨分化。这些小分子与细胞膜上的受体相互作用或进入细胞以激活信号通路,然后调节靶基因的表达以诱导干细胞成骨。同时,各种研究中已经引入了许多将天然小分子与不同类型的支架或载体组合的方案,使得这些小分子的组织工程应用进入了新的阶段。鉴于天然小分子对 MSCs 的影响,它们的组合是用于干细胞组织工程治疗和未来治疗骨缺损很有前景的候选方案。此外,将天然小分子化合物用于骨骼系统疾病治疗,也可作为其他组织工程、靶向治疗和癌症等其他致命疾病的治疗提供范本,从而扩大天然小分子的应用范围。

然而,要进一步深化天然小分子化合物的临床应用,需要解决以下问题。首先,目前的研究多集

中在天然小分子化合物在细胞水平和分子水平的体外影响,而体内研究较少,后期需要更多的体内实验来加以验证,为小分子化合物联合 MSCs 在骨组织工程的临床应用奠定基础。其次,目前天然小分子化合物影响 MSCs 成骨分化的分子机制的研究主要集中于 BMP、MAPK 或 Wnt 等少数几条信号通路,是否存在其他信号通路,各信号通路间交互的作用机制,以及不同 MSCs 成骨分化分子机制间差异的原因都值得进一步研究。最后,天然小分子化合物和干细胞在组织工程应用中的标准化问题目前研究尚不足,尚未建立有效的标准化操作技术体系,加之各大医院治疗水平不平衡,导致其临床应用受限,因此需要完善标准化的技术体系和加强以干细胞移植为核心的再生医学在治疗骨缺损修复方案及评估的标准化。总之,天然小分子化合物在骨骼系统疾病中更深层次地应用,还需继续寻找具有

成骨诱导活性的新型天然小分子, 并持续研究其构效关系等。

参考文献

- [1] Jakoi A M, Iorio J A, Cahill P J. Autologous bone graft harvesting: A review of grafts and surgical techniques [J]. *Muscul Surg*, 2015, 99(3): 171-178.
- [2] Bianco P. "Mesenchymal" stem cells [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2013, 30(6): 677-704.
- [3] Lyssiotis C A, Lairson L L, Boitano A E, *et al.* Chemical control of stem cell fate and developmental potential [J]. *Angew Chem*, 2011, 50(1): 200-242.
- [4] 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.
- [5] Zhang Y, Li W, Laurent T, *et al.* Small molecules, big roles-the chemical manipulation of stem cell fate and somatic cell reprogramming [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 23): 5609-5620.
- [6] Brandi M L. Flavonoids: Biochemical effects and therapeutic applications [J]. *Bone Mineral*, 1992, 19(Suppl 1): S3-S14.
- [7] Ming L G, Chen K M, Xian C J. Functions and action mechanisms of flavonoids genistein and icariin in regulating bone remodeling [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 228(3): 513-521.
- [8] Chen S, Jiang H, Wu X, *et al.* Therapeutic effects of quercetin on inflammation, obesity, and type 2 diabetes [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016(3): 1-5.
- [9] Pang X G, Cong Y, Bao N R, *et al.* Quercetin stimulates bone marrow mesenchymal stem cell differentiation through an estrogen receptor-mediated pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018(2): 1-11.
- [10] Li Y, Wang J, Chen G, *et al.* Quercetin promotes the osteogenic differentiation of rat mesenchymal stem cells via mitogen-activated protein kinase signaling [J]. *Exp Therap Med*, 2015, 9(6): 2072-2080.
- [11] Dvorak H F, Sioussat T M, Brown L F, *et al.* Distribution of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in tumors: Concentration in tumor blood vessels [J]. *J Exp Med*, 1991, 174(5): 1275-1278.
- [12] Zhang L F, Qi J, Zuo G, *et al.* Osteoblast-secreted factors promote proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells via VEGF/heme-oxygenase-1 pathway [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99946.
- [13] Lee H, Nguyen T T, Jeong J H, *et al.* Evaluation of the effects of biodegradable microspheres loaded with quercetin on adipogenic and chondrogenic differentiation of cellular spheroids [J]. *Macromol Res*, 2018, 26(6): 1-5.
- [14] Vimalraj S, Rajalakshmi S, Raj P D, *et al.* Mixed-ligand copper (II) complex of quercetin regulate osteogenesis and angiogenesis [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 83: 187-194.
- [15] Song X, Li Z, Liu F, *et al.* Restoration of autophagy by puerarin in lead-exposed primary rat proximal tubular cells via regulating AMPK-mTOR signaling [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2017, doi: 10.1002/jbt.21869.
- [16] Zhang Y, Yan M, Yu Q F, *et al.* Puerarin prevents LPS-induced osteoclast formation and bone loss via inhibition of Akt activation [J]. *Biol Pharm Bull*, 2016, 39(12): 2028-2035.
- [17] Yang X, Yang Y, Zhou S, *et al.* Puerarin stimulates osteogenic differentiation and bone formation through the ERK1/2 and p38-MAPK signaling pathways [J]. *Curr Mol Med*, 2018, 17(7): 488-496.
- [18] 张志明, 罗善峰. Wnt5b 在葛根素促进成骨分化中的作用 [J]. *上海口腔医学*, 2016, 25(2): 187-190.
- [19] Lv H, Che T, Tang X, *et al.* Puerarin enhances proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow stromal cells via a nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 2283-2290.
- [20] Torre E. Molecular signaling mechanisms behind polyphenol-induced bone anabolism [J]. *Phytochem Rev*, 2017, 16(6): 1183-1226.
- [21] Safaeinejad Z, Kazeminasab F, Kiani-Esfahani A, *et al.* Multi-effects of resveratrol on stem cell characteristics: Effective dose, time, cell culture conditions and cell type-specific responses of stem cells to resveratrol [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 155: 651-657.
- [22] Ornstrup M J, Harsløf T, Sørensen L, *et al.* Resveratrol increases osteoblast differentiation *in vitro* independently of inflammation [J]. *Calcified Tissue Int*, 2016, 99(2): 155-163.
- [23] Shakibaei M, Shayan P, Busch F, *et al.* Resveratrol mediated modulation of Sirt-1/Runx2 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells: Potential role of Runx2 deacetylation [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35712.
- [24] Casarin R C, Casati M Z, Pimentel S P, *et al.* Resveratrol improves bone repair by modulation of bone morphogenetic proteins and osteopontin gene expression in rats [J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2014, 43(7): 900-906.
- [25] Zhang A, Zhang X, Tan X, *et al.* Resveratrol rescued the TNF- α -induced impairments of osteogenesis of bone-marrow derived mesenchymal stem cells and

- inhibited the TNF- α -activated NF- κ B signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 26(2): 409-415.
- [26] Dai Z, Li Y, Quarles L D, *et al.* Resveratrol enhances proliferation and osteoblastic differentiation in human mesenchymal stem cells via ER-dependent ERK1/2 activation [J]. *Phytomedicine*, 2007, 14(12): 806-814.
- [27] Zhou H, Shang L, Li X, *et al.* Resveratrol augments the canonical Wnt signaling pathway in promoting osteoblastic differentiation of multipotent mesenchymal cells [J]. *Exp Cell Res*, 2009, 315(17): 2953-2962.
- [28] Abdollahi E, Momtazi A A, Johnston T P, *et al.* Therapeutic effects of curcumin in inflammatory and immune-mediated diseases: A nature-made Jack-of-all-trades? [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 233(2): 830-848.
- [29] 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.
- [30] Qiaoli G, Yan C, Chen H, *et al.* Curcumin increases rat mesenchymal stem cell osteoblast differentiation but inhibits adipocyte differentiation [J]. *Pharmacog Magazine*, 2012, 8(31): 202-208.
- [31] Wang N, Wang F, Gao Y, *et al.* Curcumin protects human adipose-derived mesenchymal stem cells against oxidative stress-induced inhibition of osteogenesis [J]. *J Pharmacol Sci*, 2016, 132(3): 192-200.
- [32] Xu L L, Li W W, Chen Z Q, *et al.* Inhibitory effect of epigallocatechin-3-*O*-gallate on α -glucosidase and its hypoglycemic effect via targeting PI3K/AKT signaling pathway in L6 skeletal muscle cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 125: 605-611.
- [33] Jin P, Wu H, Xu G, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) as a pro-osteogenic agent to enhance osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from human bone marrow: An *in vitro* study [J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 356(2): 381-390.
- [34] Qiu Y, Chen Y, Zeng T, *et al.* EGCG ameliorates the hypoxia-induced apoptosis and osteogenic differentiation reduction of mesenchymal stem cells via upregulating miR-210 [J]. *Mol Biol Rep*, 2016, 43(3): 183-193.
- [35] Liu W, Fan J B, Xu D W, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate protects against tumor necrosis factor α induced inhibition of osteogenesis of mesenchymal stem cells [J]. *Exp Biol Med*, 2016, 241(6): 658-666.
- [36] Honda Y, Tanaka T, Tokuda T, *et al.* Local controlled release of polyphenol conjugated with gelatin facilitates bone formation [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(6): 14143-14157.
- [37] Kashiwa K, Kotobuki N, Tadokoro M, *et al.* Effects of epigallocatechin gallate on osteogenic capability of human mesenchymal stem cells after suspension in phosphate-buffered saline [J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(1): 91-100.
- [38] Chen C H, Ho M L, Chang J K, *et al.* Green tea catechin enhances osteogenesis in a bone marrow mesenchymal stem cell line [J]. *Osteop Int*, 2005, 16(12): 2039-2045.
- [39] Ahmadiankia N, Moghaddam H K, Mishan M A, *et al.* Berberine suppresses migration of MCF-7 breast cancer cells through down-regulation of chemokine receptors [J]. *Iranian J Basic Med Sci*, 2016, 19(2): 125-131.
- [40] Liu J, Zhao X, Pei D, *et al.* The promotion function of Berberine for osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells via ERK-FOS pathway mediated by EGFR [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2848.
- [41] Liu J, Yang J, Wang S, *et al.* Combining human periodontal ligament cell membrane chromatography with online HPLC/MS for screening osteoplastic active compounds from *Coptidis Rhizoma* [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 904(2): 115-120.
- [42] Lee H W, Suh J H, Kim H N, *et al.* Berberine promotes osteoblast differentiation by Runx2 activation with p38 MAPK [J]. *J Bone Mineral Res*, 2010, 23(8): 1227-1237.
- [43] Tao K, Xiao D, Weng J, *et al.* Berberine promotes bone marrow-derived mesenchymal stem cells osteogenic differentiation via canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Toxicol Lett*, 2016, 240(1): 68-80.
- [44] Zhang R, Yang J, Wu J, *et al.* Berberine promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells with therapeutic potential in periodontal regeneration [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 851: 144-150.
- [45] Clough B H, Ylostalo J, Browder E, *et al.* Theobromine upregulates osteogenesis by human mesenchymal stem cells *in vitro* and accelerates bone development in rats [J]. *Calcified Tissue Int*, 2017, 100(3): 298-310.
- [46] Chien H W, Fu S W, Shih A Y, *et al.* Modulation of the stemness and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by controlling RGD concentrations of poly(carboxybetaine) hydrogel [J]. *Biotechnol J*, 2014, 9(12): 1613-1623.
- [47] Kim D Y, Kim E J, Jang W G. Piperine induces osteoblast differentiation through AMPK-dependent Runx2 expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(1): 1497-1502.
- [48] Zheng H Z, Fu X K, Shang J L, *et al.* Ginsenoside Rg₁ protects rat bone marrow mesenchymal stem cells against ischemia induced apoptosis through miR-494-3p and

- ROCK-1 [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 822: 154-167.
- [49] Gong Y S, Chen J, Zhang Q Z, *et al.* Effect of 17 β -oestradiol and ginsenoside on osteoporosis in ovariectomised rats [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2006, 8(7): 649-656.
- [50] Gu Y, Zhou J, Wang Q, *et al.* Ginsenoside Rg₁ promotes osteogenic differentiation of rBMSCs and healing of rat tibial fractures through regulation of GR-dependent BMP-2/SMAD signaling [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 25282.
- [51] Wang P, Wei X, Zhang F, *et al.* Ginsenoside Rg₁ of *Panax ginseng* stimulates the proliferation, odontogenic/osteogenic differentiation and gene expression profiles of human dental pulp stem cells [J]. *Phytomed Int J Phytother Phytopharmacol*, 2014, 21(2): 177-183.
- [52] Yin L, Cheng W, Qin Z, *et al.* Effects of ginsenoside Rg-1 on the proliferation and osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells [J]. *Chin J Integr Med*, 2015, 21(9): 676-681.
- [53] Bian Q, Liu S F, Huang J H, *et al.* Oleanolic acid exerts an osteoprotective effect in ovariectomy-induced osteoporotic rats and stimulates the osteoblastic differentiation of bone mesenchymal stem cells *in vitro* [J]. *Menop J North Am Menop Soc*, 2012, 19(2): 225-233.
- [54] Huang W, Zheng X, Yang X, *et al.* Stimulation of osteogenic differentiation by saikosaponin-A in bone marrow stromal cells via WNT/ β -catenin pathway [J]. *Calcified Tissue Int*, 2017, 100(4): 392-401.
- [55] Yang S. Alleviation of ovariectomy-induced osteoporosis in rats by *Panax notoginseng* saponins [J]. *J Nat Med*, 2010, 64(3): 336-345.
- [56] Chen B, Li X D, Liu D X, *et al.* Canonical Wnt signaling is required for *Panax notoginseng* saponin-mediated attenuation of the RANKL/OPG ratio in bone marrow stromal cells during osteogenic differentiation [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(11): 1029-1034.
- [57] Wang F, Yin P, Lu Y, *et al.* Cordycepin prevents oxidative stress-induced inhibition of osteogenesis [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(34): 35496-35508.
- [58] Yang J, Cao Y, Lv Z, *et al.* Cordycepin protected against the TNF- α -induced inhibition of osteogenic differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2015, 28(3): 296-307.
- [59] Qi W, Zhang Y, Yan Y, *et al.* The protective effect of cordymin, a peptide purified from the medicinal mushroom *Cordyceps sinensis*, on diabetic osteopenia in alloxan-induced diabetic rats [J]. *Evid-Based Compl Alternat Med*, 2013, 2013(6): 985636.