

## 综述

## 骨组织细胞与免疫细胞间相互作用的研究进展

杜勇勇<sup>1,2</sup> 呼延霆<sup>1,2</sup> 李京宝<sup>1,2</sup> 董丹丹<sup>1,2</sup> 杨建成<sup>1,2</sup> 商澎<sup>1,2,3\*</sup><sup>1</sup>西北工业大学生命学院, 西安 710072; <sup>2</sup>空间生物实验模拟技术国防重点学科实验室, 西安 710072;<sup>3</sup>西北工业大学深圳研究院, 深圳 518057)

**摘要** 骨作为一种特殊的结缔组织, 是组成骨骼系统的主要部分。成骨细胞的骨形成和破骨细胞的骨吸收作用受到内分泌、神经和免疫系统的调节。其中, 骨骼和免疫系统密切相关且共享许多调节分子, 如细胞因子和转录因子。骨组织细胞与免疫细胞间的相互调控在骨骼系统和免疫系统中均发挥了重要作用, 并产生了一个新兴的交叉学科——骨免疫学。该文综述了近年来骨组织细胞与免疫细胞间的相互调控及作用机制的研究进展并展望了未来该学科的发展方向。

**关键词** 骨免疫学; 成骨细胞; 破骨细胞; 免疫细胞; 细胞因子

## Research Progress on the Interactions between Bone Cells and Immune Cells

Du Yongyong<sup>1,2</sup>, Huyan Ting<sup>1,2</sup>, Li Jingbao<sup>1,2</sup>, Dong Dandan<sup>1,2</sup>, Yang Jiancheng<sup>1,2</sup>, Shang Peng<sup>1,2,3\*</sup><sup>1</sup>School of Life Sciences, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China;<sup>2</sup>Key Laboratory for Space Biosciences & Biotechnology, Xi'an 710072, China;<sup>3</sup>Institute for Research & Development in Shenzhen, Northwestern Polytechnical University, Shenzhen 518057, China)

**Abstract** As a special connective tissue, bone is the main part of the composition of the skeletal system. Bone formation of osteoblasts and bone resorption of osteoclasts are regulated by endocrine, nervous and immune systems. Skeletal and immune systems are closely related and share many regulatory molecules such as cytokines and transcription factors. The interactions between bone cells and immune cells play a very important role in skeletal system and immune system. An emerging interdisciplinary subject study on the interactions between bone cells and immune cells is called osteoimmunology. Herein, we reviewed the research progress of interplay and interactions and its underlying mechanism between the two kinds of cells and prospected the future development direction of osteoimmunology.

**Keywords** osteoimmunology; osteoblasts; osteoclasts; immune cells; cytokines

骨免疫学(osteoimmunology)的概念虽于2000年才被Arron等<sup>[1]</sup>提出, 但人们对该学科所涉及的内容即骨骼系统与免疫系统间相互影响、相互调控和互作关系的研究已有了相当长的历史。骨是脊椎动

物的重要器官, 可为机体提供机械支持、保护软组织和器官免受损伤、储存矿物质以及分泌激素。此外, 骨更是一种免疫器官, 多种免疫细胞在骨髓中起源, 与骨组织细胞共享同样的骨髓微环境、调控因

收稿日期: 2017-05-17 接受日期: 2017-07-19

国家自然科学基金(批准号: 31500688)和西北工业大学研究生创新创业种子基金(批准号: Z2017061)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 029-88491613, E-mail: shangpeng@nwpu.edu.cn

Received: May 17, 2017 Accepted: July 19, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31500688) and the Seed Foundation of Innovation and Creation for Graduate Students in Northwestern Polytechnical University (Grant No.Z2017061)

\*Corresponding author. Tel: +86-29-88491613, E-mail: shangpeng@nwpu.edu.cn

网络出版时间: 2017-09-08 16:40:56 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170908.1640.008.html>

子和受体。骨组织细胞和免疫细胞间存在复杂的相互作用, 通过核因子- $\kappa$ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL)/核因子- $\kappa$ B受体活化因子(receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B, RANK)/骨保护素(osteoprotegerin, OPG)这一关键信号通路, 二者间的相互调控也对骨和免疫系统的功能产生重要影响。因此, 骨免疫学的研究目标包括: (1)研究骨髓微环境怎样影响免疫细胞的发生及其后续的作用; (2)深入阐明生理或病理环境下, 免疫细胞怎样影响骨代谢的平衡, 为临床上解决类风湿性关节炎等严重自体免疫疾病奠定理论基础。本文综述了免疫细胞及细胞因子如何影响骨代谢平衡以及骨髓中骨组织细胞如何影响免疫细胞的前体——造血干细胞的数量和活性等骨免疫学方面的研究内容。

## 1 RANKL/RANK/OPG调控系统

人体的骨骼系统并非一成不变, 成年人的骨骼大约每7年就要全部更换一次。骨骼就是处于这样一种由成骨细胞(osteoblasts, OB)发挥的骨重建作用和破骨细胞(osteoclasts, OC)发挥的骨吸收作用的不断代谢更新过程中。OB起源于多能间充质干细胞, 而该细胞亦能分化成许多其他类型的细胞, 如软骨细胞、成肌细胞、腱细胞、神经元和脂肪细胞等。OC则起源于造血干细胞, 但一些其他类型的细胞, 如树突状细胞(dendritic cells, DC)、B细胞、单核细胞和巨噬细胞等在某种条件下也能分化为OC<sup>[2]</sup>。OC在人体内的主要功能就是分解骨质, 而与之功能相对应的就是OB负责制造骨质。

RANKL/RANK/OPG是骨代谢中最经典的调控系统之一。RANKL又称肿瘤坏死因子配体超家族成员-11(tumor necrosis factor ligand superfamily member-11, TNFSF-11)、TNF相关的活化诱导因子(TNF-related activation-induced cytokine, TRANCE)、骨保护素配体(osteoprotegerin ligand, OPGL)和破骨细胞分化因子(osteoclast differentiation factor, ODF), 它可以诱导OC的分化和发育, 最初由免疫学者在研究T细胞与树突状细胞相互调控时发现。RANKL是TNF家族的细胞因子, 主要由OC和一些免疫细胞分泌, 它可被破骨前体细胞上表达的RANK识别, 在有免疫受体DAP12或FcR $\gamma$ 等免疫受体酪氨酸激活序列(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)共刺激分子的存在下, 通过TNF受体相关的因子-6(TNF receptor

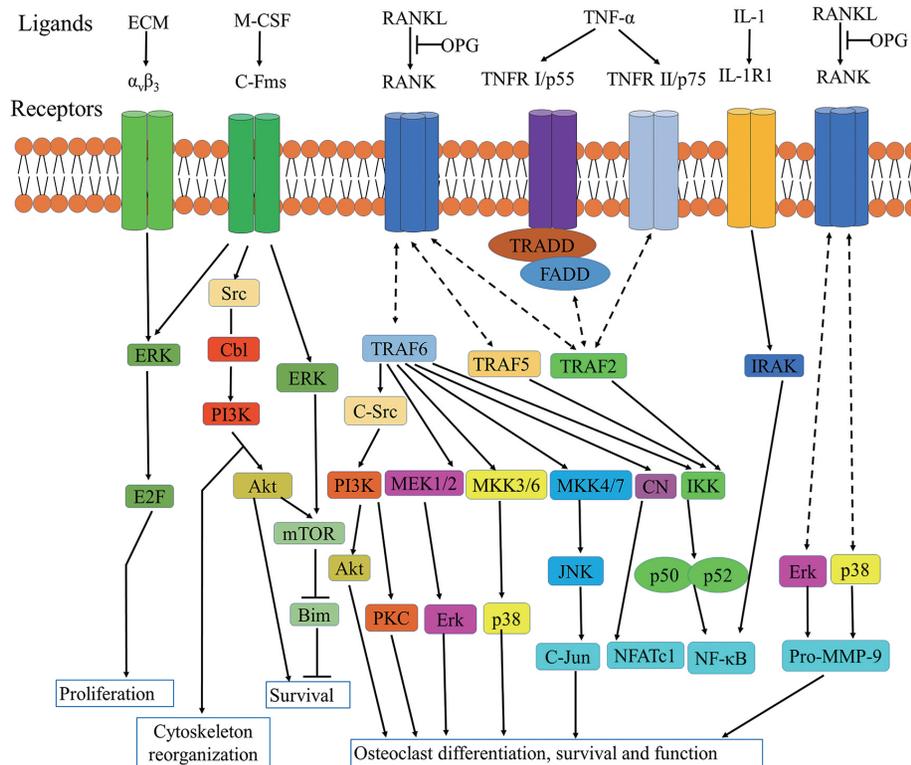
associated factor-6, TRAF-6)激活多种下游分子如核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、AP-1、转化生长因子激酶1(transforming growth factor beta-activated kinase 1, TAK1)和p38, 从而促进OC的分化和激活。OC被激活后则会触发转录因子NFATc1, 增加抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRACP)、组织蛋白酶K、树突状细胞特异性跨膜蛋白(dendritic cell-specific transmembrane protein, DC-STAMP)、金属基质蛋白酶9(matrix metallo-proteinase 9, MMP9)和 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白等与OC功能相关基因的表达并获得破骨的功能<sup>[3]</sup>。由OB分泌的巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)可与其受体c-fms结合, M-CSF与RANKL一起协调促进破骨前体细胞的增殖和生存。由OB、单核细胞、T细胞或B细胞分泌的OPG是RANKL的诱饵受体, 可以通过与RANKL竞争性结合RANK而明显拮抗RANKL的作用, 抑制OC生成, 进而抑制其骨吸收功能(图1)<sup>[4]</sup>。由此可见, OB和OC通过RANKL/RANK/OPG这条重要的信号通路直接调节着骨代谢的动态平衡。免疫细胞与骨组织细胞密切相关, 二者不仅有共同的起源, 而且可借助细胞因子、转录因子等发挥刺激或抑制作用, 进而通过RANKL/RANK/OPG系统直接或间接作用于骨代谢过程。

## 2 细胞因子对骨代谢的调控

由于免疫细胞可以分泌多种细胞因子, 这些细胞因子可以作用于OB或OC, 进而通过RANKL/RANK/OPG系统来调控骨代谢平衡, 因而本文先阐述各种细胞因子对骨代谢的调控作用。

### 2.1 干扰素(interferon, IFN)

干扰素主要包括IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 和IFN- $\gamma$ 。其中, IFN- $\gamma$ 主要由自然杀伤细胞(natural killer cells, NK)、NKT细胞(natural killer T cells, NKT)和激活的T细胞分泌, 是在骨微环境中产生的多效细胞因子。在正常生理条件下, IFN- $\gamma$ 能与OC上的受体结合, 干扰RANKL对OC的作用, 抑制OC的激活而发挥骨保护作用; 而在病理条件下, 如绝经后骨质疏松、炎症或者感染时, IFN- $\gamma$ 则能促进T细胞的活化和RANKL的表达而促进骨吸收<sup>[5]</sup>。在去卵巢诱导的骨质减少小鼠模型和假手术对照组小鼠中, 分别注射IFN- $\gamma$ 编码质粒(pIFN- $\gamma$ )后, 小鼠骨骼呈现病理状态, 并且随着骨髓细胞释放的促炎细胞因子的增加, 皮质骨和



ECM: 细胞外基质; M-CSF: 巨噬细胞集落刺激因子; RANKL: 核因子- $\kappa$ B受体活化因子配体; RANK: 核因子- $\kappa$ B受体活化因子; OPG: 骨保护素; TNF: 肿瘤坏死因子; TNFR: 肿瘤坏死因子受体; IL: 白细胞介素; TRADD: TNF受体相关的死亡域蛋白; FADD: Fas相关死亡域蛋白; ERK: 细胞外信号调节激酶; PI3K: 磷脂酰肌醇-3激酶; TRAF: TNF受体相关因子; MEK: MAPK/ERK激酶; MKK: MAPK激酶; CN: 钙调神经磷酸酶; IKK: I $\kappa$ B激酶; PKC: 蛋白激酶C; JNK: c-Jun氨基末端激酶; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; NFAT: 活化T细胞的核因子; NF: 核因子; IRAK: 白细胞介素-1受体相关激酶; MMP: 基质金属蛋白酶。

ECM: extracellular matrix; M-CSF: macrophage colony-stimulating factor; RANKL: receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand; RANK: receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B; OPG: osteoprotegerin; TNF: tumor necrosis factor; TNFR: tumor necrosis factor receptor; IL: interleukin; TRADD: TNF receptor-associated death domain protein; FADD: Fas-associated death domain protein; ERK: extracellular signal-regulated kinases; PI3K: phosphatidylinositol-3 kinase; TRAF: TNF-receptor-associated factor; MEK: MAPK/ERK kinase; MKK: MAPK kinase; CN: calcineurin; IKK: I $\kappa$ B kinase; PKC: protein kinase C; JNK: c-Jun amino terminal kinase; MAPK: mitogen-activated protein kinase; NFAT: nuclear factor of activated T cells; NF: nuclear factor; IRAK: IL-1 receptor associated kinase; MMP: matrix metalloproteinase.

图1 破骨细胞中RANKL/RANK/OPG信号转导途径(根据参考文献[4]修改)

Fig.1 RANKL/RANK/OPG signal transduction pathway in osteoclasts (modified from reference [4])

小梁骨微结构被破坏, 即使在非病理条件下, 骨髓中IFN- $\gamma$ 合成的增加也可能足以诱导炎症和分解代谢反应<sup>[6]</sup>。目前, 对IFN- $\alpha$ 和IFN- $\beta$ 的研究较少, 虽然已知骨细胞源性RANKL对OC发生至关重要, 但骨细胞也会产生IFN- $\beta$ 作为OC发生的抑制剂<sup>[7]</sup>。来自临床的研究也提示, 维生素D治疗骨丢失的作用机制可能与其能上调IFN- $\beta$ 的表达有关<sup>[8]</sup>。在正常条件下, IFN- $\alpha$ 似乎不参与骨代谢的调控。也有研究表明, 干扰素相关的发育调节因子-1(interferon-related developmental regulator-1, Ifrd-1)是细胞自主调节OB发生和OB依赖性调节OC发生的关键介质。Ifrd-1在OB中表达, 并通过调节NF- $\kappa$ B/Smad/Osx(Osterix)通路抑制OB发生, 通过 $\beta$ -catenin/OPG通路来活化OC发生<sup>[9]</sup>。

## 2.2 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)

肿瘤坏死因子有 $\alpha$ 和 $\beta$ 两种亚型, TNF- $\alpha$ 引起骨吸收并抑制关节炎和衰老过程中的骨形成<sup>[10]</sup>, 且TNF还能刺激骨髓基质细胞表达RANKL, 激活p38 MAPK信号通路, 增加M-CSF受体c-fms的表达而进一步促进OC的生成<sup>[11]</sup>。在糖尿病大鼠中, TNF- $\alpha$ 和RANKL可以抑制OB的增殖, 而对OC增殖影响不大, 它们也可以促进糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )基因的表达。TNF- $\alpha$ 、RANKL和GSK-3 $\beta$ 三者之间的相互作用打破了OB和OC之间的平衡, 导致骨质疏松症<sup>[12]</sup>。

## 2.3 转化生长因子(transforming growth factor, TGF)

TGF- $\beta$ 家族包括 $\beta$ 1、 $\beta$ 2和 $\beta$ 3三个亚型, 但骨组

织中的主要亚型是 $\beta 1$ 。TGF- $\beta 1$ 是一种重要的免疫调节因子,能调节免疫细胞的增殖、存活、分化和迁移,对于天然存在的胸腺衍生的调节性T细胞(nTreg),TGF- $\beta 1$ 在其产生和发挥免疫抑制功能中起重要作用,从而有助于免疫稳态<sup>[13]</sup>。通过调节软骨细胞、OB和OC的复制和分化过程,TGF- $\beta$ 超家族对骨骼结构具有显著影响<sup>[14]</sup>。研究表明,TGF- $\beta 1$ 在骨形成、骨矿化和造血干细胞发生中起重要作用。TGF- $\beta 1$ 能够促进OB的增殖和分化、抑制其凋亡,调控其在细胞外基质中的分布及软骨前体细胞对蛋白聚糖的合成而促进骨形成<sup>[15]</sup>。Runt相关的转录因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)是一个DNA结合的转录因子,对骨细胞的形成有重要作用,Runx2能阻止成熟的OB分化为骨细胞,使其维持在静息状态<sup>[16]</sup>。TGF- $\beta(1/2)$ 或BMP受体的磷酸化可以激活细胞内下游TGF- $\beta$ /BMP信号的转导子Smads,这条信号通路由许多因子来调控,包括转录因子Runx2,而TGF- $\beta 1$ 能下调Runx2的表达,促进OB向骨细胞的发展<sup>[17]</sup>。TGF- $\beta 1$ 对OC的形成及骨吸收的作用比较复杂,把破骨前体细胞与OB共培养时,当TGF- $\beta 1$ 的浓度较高(1~10 ng/mL)时,OC的活性会受到抑制,而当TGF- $\beta 1$ 的浓度较低(0.001~0.010 ng/mL)时,它将会促进OC的成熟<sup>[18]</sup>。此外,TGF- $\beta 1$ 不仅起到软骨诱导作用,而且抑制了组织工程软骨的吸收<sup>[19]</sup>。在骨吸收过程中,OC从骨基质释放并激活TGF- $\beta 1$ ,TGF- $\beta 1$ 增加了OC的CXC趋化因子配体16(C-X-C motif chemokine ligand 16, CXCL16)的表达,促进OB迁移。此外,TGF- $\beta 1$ 也能直接刺激OB迁移,进而调节OB的募集,增加骨量,从而有助于骨吸收和骨形成的过程紧密耦合<sup>[20]</sup>。

#### 2.4 白细胞介素(interleukin, IL)

白细胞介素家族中的成员众多,前炎症因子类的白细胞介素如IL-1、IL-8、IL-11、IL-15、IL-17等被认为能促进OC的活性。

由巨噬细胞产生的IL-1有IL-1 $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 两种亚型,在体内或体外实验中均能促进骨吸收。IL-8是一种趋化因子,可由OC自身分泌或T细胞产生,在转移性骨病中能促进OC的生成<sup>[21]</sup>。IL-11通过刺激OC祖细胞的发育和存活从而在OC生成中起重要作用<sup>[22]</sup>。IL-17是一个新发现的前炎症因子,由Th17细胞分泌,具有IL-17(A~F)一系列亚型,该因子可上调RANKL的表达,发挥高效的促进OC生成的活性,在类风湿性关节炎引起的骨质疏松中起重要作用<sup>[23]</sup>。

IL-17A通过调节OB和骨细胞中的Wnt信号来影响骨形成,研究表明,牛皮癣患者中使用IL-17A阻断剂,可有效抵抗骨质流失<sup>[24]</sup>。由T细胞、巨噬细胞、单核细胞和DC分泌的IL-15与IL-17类似,也能促进骨吸收。IL-15具有趋化和促炎特性,并可能引起骨骼破坏,其与RANKL协同诱导OC发生,而且IL-15可能在破坏性关节炎骨疾病中发挥重要作用<sup>[25]</sup>。此外,IL-32是一个相对新发现的前炎症因子,能够刺激TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-8的产生,IL-32可促进OC的分化而非成熟<sup>[26]</sup>。

一些白介素(如IL-4、IL-10、IL-13和IL-18等)能够抑制OC的生成。IL-4和IL-13均能降低环氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的活性,抑制由IL-1 $\alpha$ 刺激的骨吸收,IL-4还能抑制由RANKL或TNF- $\alpha$ 激活的OC的生成并调控OB的活性<sup>[5]</sup>。IL-10由单核细胞、T细胞和B细胞分泌,是一种抗炎因子。它既能抑制OC的生成,也能抑制OB生成,并促进骨矿化。加入IL-10诱导的成骨样细胞(IL-10-iOB)的培养上清液,显著抑制了在RANKL刺激下Raw264.7细胞向OC的分化过程<sup>[27]</sup>。IL-18属于IL-1超家族,过量表达IL-18的小鼠显示出OC数量减少和骨吸收减少<sup>[28]</sup>。另一个IL-1超家族中的成员IL-33与IL-18作用类似,亦能够抑制OC的发生<sup>[29]</sup>。

另一些前炎症因子类的白介素,如IL-6、IL-7、IL-12和IL-23,则被认为具有双重的作用。它们的净效应在体内取决于骨的特定病理状态,在体外则由OC的发展阶段决定。

IL-6和TNF- $\alpha$ 对OC分化相关因子c-Fos的活性和表达具有协同作用,这两种细胞因子的组合可以诱导在体外和体内具有骨吸收活性的破骨样细胞<sup>[30]</sup>。Hattersley等<sup>[31]</sup>报道,在与OB共培养时,IL-6能够促进OC的发生;没有OB存在时,仅作用于高度纯化的OC时,IL-6并不能促进OC的发生。Yoshitake等<sup>[32]</sup>的研究则认为,IL-6能通过抑制NK- $\kappa$ B信号通路的受体激活而直接抑制OC的分化和生成。IL-7可由红骨髓中的基质细胞、胸腺、角质形成细胞和DC等非造血干细胞来源的细胞产生。体内实验发现,IL-7缺失的小鼠OC数量增加,骨小梁数量减少。体外实验发现,在有M-CSF和RANKL存在时,骨髓细胞培养体系中加入IL-7同样能够抑制OC的生成。然而,在银屑病或肿瘤这类病理条件下,IL-7具有刺激OC生成的作用<sup>[33]</sup>。IL-12是另一种对于OC的生成作用矛盾的细胞因子,IL-12能够引起Th1细胞的分化和

激活, 并产生IFN- $\gamma$ 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF), 间接抑制OC的生成。同时, IL-12又能抑制IL-4、IL-10等抑炎因子的产生, 减少这些因子对OC的负调控作用<sup>[34]</sup>。用IL-12处理人类牙周膜细胞(human periodontal ligament cells, hPDLs)后, RANKL的表达显著升高, 这支持了免疫和骨骼系统之间的密切相互关系并提示了IL-12在牙周病发病机制中的溶骨作用<sup>[35]</sup>。IL-23由巨噬细胞和DC产生, 在类风湿性关节炎引起的骨损伤中促进OC生成, 而在正常生理条件下, IL-23则起抑制OC生成的作用<sup>[36]</sup>。

### 3 免疫细胞对骨代谢的调控

在各种生理或病理条件下, 免疫细胞主要通过调节OC的活性影响骨代谢的平衡。

#### 3.1 T细胞

许多免疫细胞都能影响骨组织细胞的功能, 但其中最重要的就是T细胞。T细胞与OC一样起源于骨髓中的造血干细胞, 成熟后表达CD4或CD8分子。基于分泌细胞因子的不同, CD4<sup>+</sup>T细胞又可被细分为Th1、Th2和Th17细胞。T细胞在特定生理或病理条件下被激活后可分泌多种骨吸收因子, 如TNF- $\alpha$ 和RANKL。因此, T细胞被认为在骨质疏松病程中扮演重要的角色。T细胞衍生的细胞因子产生的抑制作用有助于抑制炎症性骨骼疾病中的OC分化, 而且有研究已经报道了两种机制来解释T细胞如何促成去卵巢(ovariectomized, OVX)诱导的骨质流失: 一是涉及T细胞活化的增加, 导致骨髓T细胞增加TNF的产生; 二是T细胞和基质细胞之间的调节串扰, 导致由基质细胞产生的OC生成细胞因子的增加<sup>[37]</sup>。也有研究认为, CD8<sup>+</sup>T细胞能够表达大量OPG, 显著抑制OC的生成, 对骨形成具有积极的作用。Th1和Th2细胞也被证明能够分别分泌IFN- $\gamma$ 和IL-4而抑制OC的生成<sup>[23]</sup>。炎症和关节破坏是类风湿性关节炎的主要症状, 炎症会导致OC分化和骨骼破坏。此外, 免疫相关分子(如炎症细胞因子)不仅会加剧炎症, 而且会加速类风湿性关节炎中的骨破坏<sup>[38]</sup>。Th17细胞是个相对新发现的CD4<sup>+</sup>T细胞亚群, 在类风湿性关节炎中起重要作用, 是骨免疫中的一个关键的细胞。Th17细胞能够分泌IL-17, 促进多种前炎症细胞因子和趋化因子的分泌而激活破骨前体细胞, 加重类风湿性关节炎的炎症和软骨的损伤, 而Th17的抗

体能有效地减轻类风湿性关节炎的症状。Th17细胞通过在滑膜成纤维细胞中上调RANKL可以有效诱导OC发生, 表明T细胞与滑膜成纤维细胞之间的协同作用在骨破坏中起主要作用<sup>[39]</sup>。FoxP3是T调节细胞(Treg)的标志, FoxP3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>Treg细胞虽不能直接影响OC的存活, 但其能作用于成熟的OC, 抑制肌动蛋白环的形成, 帮助维持骨代谢平衡<sup>[40]</sup>。

#### 3.2 B细胞

除T细胞外, B细胞在骨免疫中也发挥重要作用。早期B细胞也由骨髓产生, 与早期的OC或OB共享同样的细胞因子、趋化因子、受体和下游信号通路。研究表明, 雌激素缺乏会导致一系列事件, 如松质骨丢失、骨髓B细胞数量的增加, 但B细胞的作用不是作为破骨细胞祖细胞, 而是作为破骨细胞支持细胞<sup>[41]</sup>。研究发现, 在小鼠的骨髓中, B细胞家族(包括前体B细胞、非成熟B细胞和基质细胞)产生了骨髓中64%的OPG<sup>[42]</sup>, 这一发现推翻了早期骨免疫学中OB是OPG的主要来源这一经典认知。B细胞产生的OPG有利于维持RANKL/RANK/OPG之间的平衡进而维持骨代谢的平衡。人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)中B细胞和T细胞的改变, 导致了OB的OPG并有助于OC生成与骨吸收的细胞因子RANKL之间的失衡<sup>[43]</sup>。在炎症情况下, B细胞能吸收RANKL, 降低其水平, 抑制OC的生成<sup>[44]</sup>。B细胞不仅在骨内稳态中具有重要作用, 而且在类风湿性关节炎关节破坏中也具有潜在作用, 这将是未来类风湿性关节炎的理想治疗靶点<sup>[45]</sup>。临床研究发现, 在绝经导致骨质疏松的妇女中, CD19<sup>+</sup>B细胞和记忆B细胞亚群的数量与健康对照组相比显著减少<sup>[46]</sup>。通过大数据比对, 绝经导致骨质疏松妇女和卵巢切除小鼠模型的基因组表达水平发现, 两者变化相似的基因包括许多与B细胞功能和发育相关的基因<sup>[47]</sup>。这些结果提示, 一些会导致骨量减少和骨质疏松疾病的发病机理均可能与B细胞的异常有关。

#### 3.3 树突状细胞(DC)、自然杀伤细胞(NK)和中性粒细胞(neutrophil)

正常情况下, DC似乎很少参与骨代谢调控, 缺失DC的小鼠并未显示出骨骼异常。在病理条件下, 如类风湿性关节炎患者中, DC则会侵入病变部位, 与RANKL/RANK通路作用, 通过调节T细胞的功能间接参与炎症因子引起的骨丢失过程<sup>[48]</sup>。Rivollier等<sup>[49]</sup>研究发现, 在有M-CSF和RANKL存在的情况

下, 血单核细胞起源的DC能够分化成OC, 说明DC亦能直接作用于骨形成。

NK细胞可能在与炎症性关节炎相关的骨破坏中起重要作用, NK细胞能够表达RANKL和M-CSF。研究表明, 当滑膜NK细胞在体外与单核细胞共培养时, 会引起单核细胞分化成OC<sup>[50]</sup>。IL-15激活的NK细胞以剂量依赖的方式触发OC凋亡, 导致骨侵蚀急剧减少, 抑制骨侵蚀需要NK细胞和OC之间的接触, 由此表明, IL-15激活的NK细胞可能直接影响生理和病理条件下的骨侵蚀<sup>[51]</sup>。也有研究提到, 作为一种NK细胞的子集, NKT细胞能够促进OC的发生和成熟, 并增强其活性<sup>[52]</sup>。

中性粒细胞是一种重要的白细胞, 参与先天性免疫。正常情况下, 中性粒细胞存在于血液中; 而在病理条件下, 中性粒细胞成为最先响应炎症的细胞, 聚集到炎症部位。中性粒细胞与Th1型T淋巴细胞、B细胞、巨噬细胞一样, 通过上调促炎介质的产生和RANKL表达通路的激活来促进骨丢失<sup>[53]</sup>。在人与小鼠的骨损伤模型中, 可看到在骨损伤部位有大量中性粒细胞的聚集。在人牙周炎和类风湿性关节炎模型中, 也能发现中性粒细胞涉及其中<sup>[54]</sup>。虽然寿命较短且合成能力有限, 但在炎症环境下, 中性粒细胞却可分泌大量的蛋白和脂类, 参与炎症过程<sup>[55]</sup>。人和小鼠的中性粒细胞受到脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)调控时都可表达RANKL而促进OC生成和骨吸收<sup>[56]</sup>。

## 4 免疫细胞和免疫因子对骨组织细胞分化发育的调控

免疫细胞和免疫因子在骨代谢中至关重要, 在骨组织细胞的分化发育过程中也发挥重要的调控作用。

### 4.1 OB的分化及调节

间充质干细胞分化为OB的过程涉及很多时期, 经历了增殖、细胞外基质的成熟和最终基质矿化。在这一过程中, 从成骨祖细胞到前成骨细胞并最终分化为OB。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)定向进入OB谱系, 骨原细胞需要在促有丝分裂生长因子的作用下增殖, 以保证生成足够量的OB进行成骨; 同时, 骨原细胞还要分化为成熟的OB进行成骨。这些过程涉及各种细胞因子和系统激素, 它们可以通过相关的信号通路将信号传递到转录效应子, 从而控制OB不同分化阶段特异性基因的表达, 进而控制OB处于不同的分化阶段。

Wnt(经典与非经典)、BMP/Smads、Hedgehog和Notch这四条信号通路是OB分化中起关键作用的通路。Milat等<sup>[57]</sup>提到, OB在分化过程中能够分泌多种Wnts, 其中Wnt7b在OB分化中显著升高; Wnt10b能够诱导间充质干细胞中Runx2、Osx的表达, 抑制过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR $\gamma$ )的表达, 使得MSC向OB分化。Miyazono等<sup>[58]</sup>阐述了TGF- $\beta$ 超家族成员在OB分化过程中与Runx2的协同作用, R-Smads-co-Smads寡聚复合体能够与Runx2结合共同激活靶基因的表达。目前已知, Hedgehog信号在胚胎发育、软骨内成骨的过程中, 对于间充质干细胞向OB的分化发育是必需的。Oldershaw等<sup>[59]</sup>的研究表明, Notch信号在间充质干细胞早期分化选择中起重要作用, Notch信号可能刺激了间充质干细胞向OB分化同时抑制了其向软骨细胞分化。此外, 胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)家族包括IGF1和IGF2两个成员, 均在OB中表达, 可以刺激OB的分化和骨基质的沉积, IGF1可以和PGE2共同作用, 使前成骨细胞变成成熟的OB, 表达骨钙素、胶原和骨唾液酸蛋白I型和II型<sup>[60]</sup>。Rifas等<sup>[61]</sup>解释了在慢性炎症中活化的T细胞通过促进OB分化有助于增强骨转换的假说, 其研究表明, T细胞可产生诱导骨髓基质细胞中碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性以及Runx2和骨钙素mRNA表达升高的可溶性因子, 表明T细胞衍生因子能够促进OB分化<sup>[62]</sup>。来自造血干细胞的B淋巴细胞发育所需的转录因子对于适当的骨骼发育至关重要, 尽管尚未涉及OB分化。研究发现, 表达于OB中的O/E-1是B细胞发育必不可少的转录因子, 在控制OB发育中发挥关键作用; O/E-1缺陷小鼠发育迟缓, 骨形成参数增加, OB明显增加<sup>[63]</sup>。

### 4.2 OC的分化及调节

OC是一种组织特异性的多核巨噬细胞, 而RANKL/RANK/OPG系统是OC分化成熟的信号转导系统的核心环节, 多种信号通路参与调节OC的形成、分化和成熟过程, 如M-CSF和ITAM信号通路。在IL-3、IL-6、IL-11、干细胞因子(stem cell factor, SCF)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, GCSF)、巨噬细胞衍生的生长因子(macrophage-derived growth factor, MDGF)、GM-CSF和M-CSF八种细胞因子中, 只有M-CSF能够与OPGL协同作用, 体外诱导小鼠骨髓细胞分化为OC<sup>[64]</sup>。将IL-6直接

添加到由50 ng/mL RANKL诱导的Raw 264.7细胞中可以抑制成熟OC的分化, 具有进一步降低骨质溶解的作用; 用IL-6联合OPG治疗骨质疏松是一种更有效的策略<sup>[65]</sup>。RANKL/RANK信号通路中的各种转录因子(NF- $\kappa$ B、NFATc1、AP-1和Mittf)在OC分化中起到关键性作用。其中, AP-1家族中的*c-Fos*被认为是体内OC、巨噬细胞分向分化的决定基因。IL-3可以抑制用RANKL处理的骨髓来源的巨噬细胞中*c-Fos*和*NFATc1*的表达, 在OC分化中起抑制作用, 并发挥抗骨侵蚀作用<sup>[66]</sup>。IFN- $\gamma$ 以剂量依赖的方式显著增加了前破骨细胞(pOC)的融合, 用IFN- $\gamma$ 刺激的pOC骨吸收面积明显高于对照组。此外, IFN- $\gamma$ 诱导DC-STAMP的表达, 后者导致pOC的融合<sup>[67]</sup>。在支持细胞和骨髓破骨细胞前体共培养体系中, 低剂量的TGF- $\beta$ 能够提高体系中RANKL/OPG的比率而促使OC分化, 而高剂量则会降低该比率, 进而抑制OC分化。TGF- $\beta$ 诱导型早期基因-1(TGF- $\beta$  inducible early gene-1, *TIEG-1*)通过抑制NFATc1通路的活化来控制OC分化, 并通过抑制AKT和MEK/ERK信号传导来减少OC存活<sup>[68]</sup>。免疫细胞(如T细胞和NK细胞)通过产生RANKL来增强OC形成。研究表明, 活化的T细胞支持OC发生, 且T细胞活化产生的RANKL可以显著促进佐剂诱发性关节炎的骨丢失, 静息T细胞可以抑制OC分化<sup>[69]</sup>。B细胞通过分泌TGF- $\beta$ 来抑制OC的形成并缩短成熟OC的寿命<sup>[61]</sup>。

## 5 骨组织细胞对免疫系统的调控

骨组织细胞不仅与骨代谢平衡相关, 它更是免疫系统中的一部分, 免疫细胞可以调节骨组织细胞的活性, 骨组织细胞对免疫细胞同样具有调节作用。

### 5.1 OB对免疫系统的调控

OB起源于多能间充质干细胞, 直接参与骨代谢的RANKL由OB、基质细胞分泌, 通过旁分泌方式发挥作用。RANKL作为一种重要的细胞因子, 对免疫系统发育起重要作用, 能调节T细胞和DC的生长和功能, 参与淋巴结形成及淋巴细胞的发育。此外, RANKL还能促进早期阶段B细胞的发育, 提示RANKL在B细胞分化中也具有重要的作用。OB具有合成细胞因子、刺激T淋巴细胞的功能, 因此被认为是一种特殊的免疫细胞。OB是骨髓中造血干细胞龛(Niche)的组成部分, 在调控造血干细胞数量和功能中发挥重要作用<sup>[70]</sup>。OB和骨细胞表达的促血

管新生蛋白因子-1(Angiopoietin-1)能够促使造血干细胞紧密结合在造血干细胞龛中, 使其保持静默状态, 帮助维持造血干细胞的数量<sup>[71]</sup>。OB也能够分泌造血干细胞促进因子和IL-10, 促进造血干细胞在造血干细胞龛中的自我更新<sup>[72]</sup>。处于发育初期的OB前体细胞还能通过分泌多种细胞因子调控血细胞的生成, 而OB对造血干细胞的调控作用可能是通过Notch及其配体Jagged-1的相互作用实现的<sup>[73]</sup>。

### 5.2 OC对免疫系统的调控

OC的主要作用为骨吸收, 能够启动骨重塑并清除旧的骨基质, 在骨重塑周期中发挥着重要作用。OC的功能紊乱会导致骨重塑失衡, 从而引发各种骨相关疾病, 如类风湿性关节炎、骨质疏松和牙周病等。OC除了特有的骨吸收作用之外, 还对骨髓中的其他细胞有调节作用。OC可以作为抗原呈递细胞来活化T细胞; OC可以分泌IL-10、IL-6、TGF- $\beta$ 及TNF- $\alpha$ , 并以MHC受限的方式呈递外来抗原, 从而活化CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>同种异体反应性T细胞;  $\gamma\delta$ T细胞是涉及各种炎症状态的非CD4<sup>+</sup>T细胞的一个子集, 而当其与OC共培养时, OC通过释放可溶性因子以及直接的细胞间相互作用来影响 $\gamma\delta$ T细胞的功能<sup>[74]</sup>。目前, 关于OC对免疫系统的调控效应研究较少, 关于OC对造血干细胞龛的作用研究也不多, OC或许能通过修饰造血干细胞龛而调节造血干细胞的代谢, 同时, 维持骨髓基底细胞的数量, 进而发挥免疫调节和抗原呈递作用<sup>[75]</sup>。

## 6 免疫细胞与骨组织细胞相互作用的分子机制

不仅免疫系统可以调节骨重建, 骨组织细胞也能影响甚至执行许多免疫功能, 如细胞因子的生成和抗原呈递。因此, 骨组织细胞与免疫细胞通过共享信号通路外, 还可通过细胞因子网络进行相互调控。

在生理和病理条件下, 存在于骨髓中的T淋巴细胞是调节骨重建和骨组织细胞对甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)的响应性的关键免疫细胞。在炎症性疾病或低级系统性炎症(如绝经期和衰老)相关疾病中, OC骨吸收由活化的T细胞产生的炎症细胞因子驱动。然而, 骨髓T细胞还通过与骨组织细胞的直接相互作用诱导骨形成来维持骨骼内稳态, 涉及两种机制: (1)T细胞共刺激分子与骨组织细胞及其前体上的反受体的结合; (2)在OB谱系中激活Wnt信号传导的细胞因子和Wnt配体的释放。T细

细胞对骨骼的最终影响取决于其活化状态及其特异性表型。Th17细胞通过分泌IL-17、RANKL、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6以及低水平的IFN- $\gamma$ 诱导OC发生, 刺激骨吸收; IL-17通过OB和骨细胞刺激RANKL的释放, 并在OC上上调RANK表达; T调节细胞(Treg)通过产生抑制性细胞因子IL-4、IL-10和TGF- $\beta$ 来抑制OC发生并支持骨形成<sup>[76]</sup>。主要的免疫细胞, 如活化的T细胞、B细胞和树突状细胞表达主要的成骨细胞因子RANKL, 免疫激活可以直接通过RANKL诱导OC形成, RANKL通过NFATc1刺激骨吸收<sup>[77]</sup>。

OC相关受体(osteoclast associated receptor, OSCAR)属于免疫球蛋白样受体家族, 介导OB和OC之间的相互作用, 同时也参与了适应性和先天性免疫的调节<sup>[78]</sup>。OC导向蛋白4D(Sema 4D)通过抑制OB的形成维持骨吸收。Sema 4D作为一种骨免疫调节剂, 调节多种免疫功能, 如抗原呈递、B淋巴细胞活化和单核细胞趋化作用<sup>[79]</sup>。RANKL和CD40L在T细胞、抗原呈递细胞、基质细胞和OB中表达, 分别激活破骨细胞前体和OB中的同源受体RANK和CD40。CD40/CD40L信号促进了巨噬细胞的激活和分化、抗体类别转换以及B细胞记忆的发展。B细胞中CD40活化促进了B细胞OPG产生, 从而减少了骨吸收; CD40L也增加了MSC向OB谱系的定型; T细胞通

过破骨细胞前体中CD80/86信号抑制OC分化<sup>[76]</sup>。

甲状旁腺激素是钙磷代谢的内分泌调节因子, 原发性甲状旁腺功能亢进加速骨质流失、骨转换增加, 继发性甲状旁腺功能亢进与老年性骨质疏松的发病机制有关。PTH可以与基质细胞、OB、骨细胞、T细胞和巨噬细胞上相关受体结合, 通过OB和基质细胞增加RANKL的产生、减少OPG的产生, 来介导PTH的分解代谢过程。PTH的合成代谢通过Wnt信号通路的激活介导: PTH增加OB中 $\beta$ -catenin水平, 促进LRP6信号, 降低硬骨素的产生。PTH刺激骨组织细胞和免疫细胞释放生长因子和细胞因子, 如IL-6和TNF- $\alpha$ , 诱导Th17细胞的分化和IL-17的产生, TNF- $\alpha$ 通过多种机制刺激OC的形成和活性, 包括增加RANKL的产生。此外, TNF- $\alpha$ 上调OB和基质细胞中CD40的表达, 增加CD40对PTH的灵敏度并抑制OPG<sup>[76]</sup>。

### 7 结语与展望

骨骼系统和免疫系统相互独立却又严格关联, 而骨生物学和免疫学两者交叉形成的骨免疫学在跨学科领域既具有自身的复杂性又具有挑战性。骨免疫学与RANKL/RANK/OPG系统之间具有复杂的关系, 免疫细胞的细胞因子对骨代谢具有重要的调控作用, 而骨组织细胞反过来又可以作用于免疫细胞(图2)<sup>[80]</sup>。

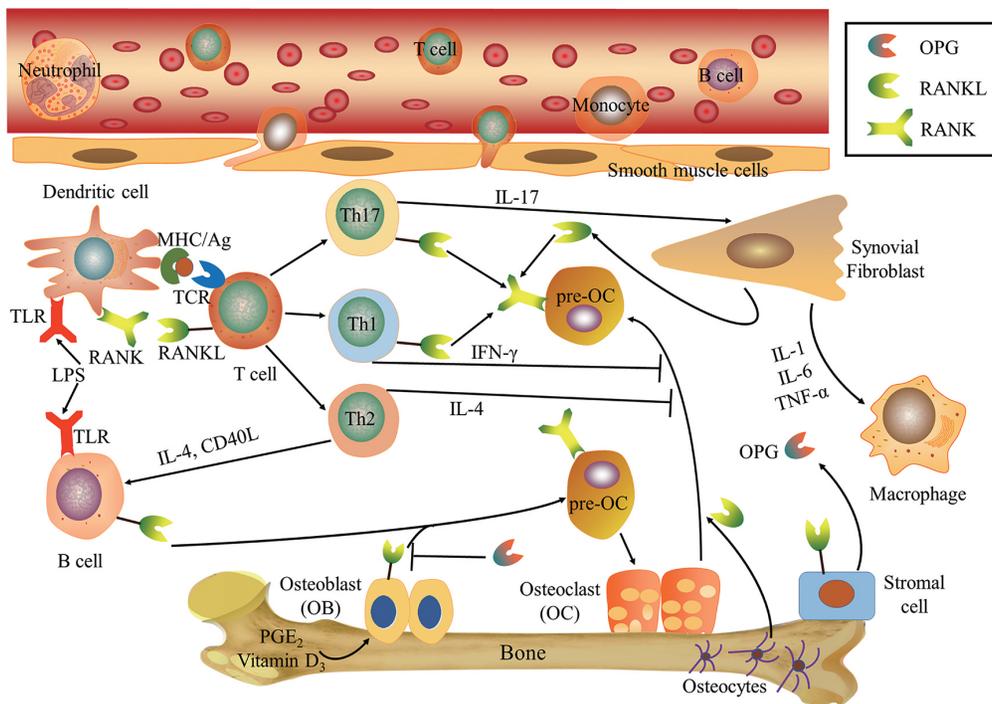


图2 骨免疫学与RANKL/RANK/OPG系统(根据参考文献[80]修改)

Fig.2 Osteoimmunology and RANKL/RANK/OPG system (modified from reference [80])

因此,骨免疫学领域的内容有待进一步探究。在目前的骨免疫学研究中,大多数的研究结果仍来自动物模型,来自人体的研究结果十分匮乏。在未来的研究中,基于人体实验的研究成果应该得到增加。对于骨免疫学未来的研究方向,主要包括以下几方面:(1)RANKL/RANK/OPG信号通路是骨免疫学研究领域的一个关键通路,如何借助该通路进一步阐明骨组织细胞和免疫细胞之间相互作用的分子机制,仍有待深入研究;(2)重点关注免疫和骨骼系统之间的潜在机制和相互关系,进一步明确骨组织细胞和免疫细胞间的交流方式及潜在的作用分子与靶点是骨免疫学研究的重点;(3)关于OC的发生、发育、激活及功能调控的一些争论还有待进一步研究;(4)近年来关于胞外囊泡的研究比较多,那么胞外囊泡介导的骨组织细胞和免疫细胞间通讯也将是骨免疫学的一个新兴的重要研究领域。

随着科技的飞速发展,相信骨骼系统和免疫系统结合的一种新系统——骨免疫系统必将诞生。最终,通过对骨免疫的深入研究来揭示骨的构建和骨重塑调控机制,为骨相关疾病提供有效的治疗靶点。整个骨免疫调控图谱的完善将为阐明严重骨免疫疾病的分子机制并开发相应的药物奠定基础。

### 参考文献 (References)

- 1 Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature* 2000; 408(6812): 535-6.
- 2 Long CL, Humphrey MB. Osteoimmunology: the expanding role of immunoreceptors in osteoclasts and bone remodeling. *Bonekey Rep* 2012; 1. pii: 59.
- 3 Kim JH, Kim N. Regulation of NFATc1 in osteoclast differentiation. *J Bone Metabol* 2014; 21(4): 233-41.
- 4 Baud' huin M, Duplomb L, Ruiz Velasco C, Fortun Y, Heymann D, Padrines M. Key roles of the OPG-RANK-RANKL system in bone oncology. *Exp Rev Anticancer Ther* 2007; 7(2): 221-32.
- 5 Gao Y, Grassi F, Ryan MR, Terauchi M, Page K, Yang X, *et al.* IFN-gamma stimulates osteoclast formation and bone loss *in vivo* via antigen-driven T cell activation. *J Clin Invest* 2007; 117(1): 122-32.
- 6 Agas D, Gusmão S G, Laus F, Marchegiani A, Capitani M, Vullo C, *et al.* INF- $\gamma$  encoding plasmid administration triggers bone loss and disrupts bone marrow microenvironment. *J Endocrinol* 2017; 232(2): 309-21.
- 7 Hayashida C, Ito J, Nakayachi M, Okayasu M, Ohyama Y, Hakeda Y, *et al.* Osteocytes produce interferon- $\beta$  as a negative regulator of osteoclastogenesis. *J Biol Chem* 2014; 289(16): 11545-55.
- 8 Sakai S, Takaishi H, Matsuzaki K, Kaneko H, Furukawa M, Miyauchi Y, *et al.* 1-Alpha, 25-dihydroxy vitamin D3 inhibits osteoclastogenesis through IFN-beta-dependent NFATc1 suppression. *J Bone Miner Metab* 2009; 27(6): 643-52.
- 9 Iezaki T, Onishi Y, Ozaki K, Fukasawa K, Takahata Y, Nakamura Y, *et al.* The transcriptional modulator interferon-related developmental regulator 1 in osteoblasts suppresses bone formation and promotes bone resorption. *J Bone Miner Res* 2016; 31(3): 573-84.
- 10 Gilbert L C, Chen H, Lu X, Nanes MS. Chronic low dose tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF) suppresses early bone accrual in young mice by inhibiting osteoblasts without affecting osteoclasts. *Bone* 2013; 56(1): 174.
- 11 Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000; 289(5484): 1504-8.
- 12 Qi J, Hu KS, Yang HL. Roles of TNF- $\alpha$ , GSK-3 $\beta$  and RANKL in the occurrence and development of diabetic osteoporosis. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(10): 11995-2004.
- 13 Hadashchik EN, Enk AH. TGF- $\beta$ 1-induced regulatory T cells. *Human Immunol* 2015; 76(8): 561-4.
- 14 Sefat F, Khaghani SA, Nejatian T, Genedy M, Abdeldayem A, Moghaddam ZS, *et al.* Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) isomers influence cell detachment of MG-63 bone cells. *Tissue Cell* 2015; 47(6): 567-74.
- 15 Maeda S, Dean DD, Gomez R, Schwartz Z, Boyan BD. The first stage of transforming growth factor beta1 activation is release of the large latent complex from the extracellular matrix of growth plate chondrocytes by matrix vesicle stromelysin-1 (MMP-3). *Calcif Tissue Int* 2002; 70(1): 54-65.
- 16 Zhou S. TGF-beta regulates beta-catenin signaling and osteoblast differentiation in human mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem* 2011; 112(6): 1651-60.
- 17 Rahman MS, Akhtar N, Jamil HM, Banik RS, Asaduzzaman SM. TGF- $\beta$ /BMP signaling and other molecular events: regulation of osteoblastogenesis and bone formation. *Bone Res* 2015; 3(1): 11-30.
- 18 Takai H, Kanematsu M, Yano K, Tsuda E, Higashio K, Ikeda K. Transforming growth factor-beta stimulates the production of osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow stromal cells. *J Biol Chem* 1998; 273(43): 27091-6.
- 19 Li C, Bi W, Gong Y, Ding X, Guo X, Sun J, *et al.* Transforming growth factor-beta1 inhibits tissue engineering cartilage absorption via inducing the generation of regulatory T cells. *J Tissue Eng Regen Med* 2016; 10(2): E113-20.
- 20 Ota K, Quint P, Weivoda MM, Ruan M, Pederson L, Westendorf JJ, *et al.* Transforming growth factor beta 1 induces CXCL16 and leukemia inhibitory factor expression in osteoclasts to modulate migration of osteoblast progenitors. *Bone* 2013; 57(1): 68-75.
- 21 Bendre MS, Montague DC, Peery T, Akel NS, Gaddy D, Suva LJ. Interleukin-8 stimulation of osteoclastogenesis and bone resorption is a mechanism for the increased osteolysis of metastatic bone disease. *Bone* 2003; 33(1): 28-37.
- 22 McCoy EM, Hong H, Pruitt HC, Feng X. IL-11 produced by breast cancer cells augments osteoclastogenesis by sustaining the pool of osteoclast progenitor cells. *BMC Cancer* 2013; 13(1): 16.
- 23 Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, *et al.* Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med* 2006; 203(12): 2673-82.
- 24 Uluçkan Ö, Jimenez M, Karbach S, Jeschke A, Graña O, Keller J, *et al.* Chronic skin inflammation leads to bone loss by IL-17-

- mediated inhibition of Wnt signaling in osteoblasts. *Sci Trans Med* 2016; 8(330): 330-7.
- 25 Okabe I, Kikuchi T, Mogi M, Takeda H, Aino M, Kamiya Y, *et al.* IL-15 and RANKL play a synergistically important role in osteoclastogenesis. *J Cell Biochem* 2017; 118(4): 739-47.
- 26 Djaafar S, Pierroz DD, Chicheportiche R, Zheng XX, Ferrari SL, Ferrari-Lacraz S. Inhibition of T cell-dependent and RANKL-dependent osteoclastogenic processes associated with high levels of bone mass in interleukin-15 receptor-deficient mice. *Arthritis Rheum* 2010; 62(11): 3300-10.
- 27 Fujioka K, Kishida T, Ejima A, Yamamoto K, Fujii W, Murakami K, *et al.* Inhibition of osteoclastogenesis by osteoblast-like cells genetically engineered to produce interleukin-10. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 456(3): 785-91.
- 28 Kawase Y, Hoshino T, Yokota K, Kuzuhara A, Nakamura M, Maeda Y, *et al.* Bone malformations in interleukin-18 transgenic mice. *J Bone Miner Res* 2003; 18(6): 975-83.
- 29 Schulze J, Bickert T, Beil FT, Zaiss MM, Albers J, Wintges K, *et al.* Interleukin-33 is expressed in differentiated osteoblasts and blocks osteoclast formation from bone marrow precursor cells. *J Bone Miner Res* 2011; 26(4): 704-17.
- 30 Yokota K, Sato K, Miyazaki T, Kitaura H, Kayama H, Miyoshi F. Combination of tumor necrosis factor  $\alpha$  and interleukin-6 induces mouse osteoclast-like cells with bone resorption activity both *in vitro* and *in vivo*. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66(1): 121-9.
- 31 Hattersley G, Dorey E, Horton MA, Chambers TJ. Human macrophage colony-stimulating factor inhibits bone resorption by osteoclasts disaggregated from rat bone. *J Cell Physiol* 1988; 137(1): 199-203.
- 32 Yoshitake F, Itoh S, Narita H, Ishihara K, Ebisu S. Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF- $\kappa$ B signaling pathways. *J Biol Chem* 2008; 283(17): 11535-40.
- 33 Colucci S, Brunetti G, Cantatore FP, Oranger A, Mori G, Quarta L, *et al.* Lymphocytes and synovial fluid fibroblasts support osteoclastogenesis through RANKL, TNF $\alpha$ , and IL-7 in an *in vitro* model derived from human psoriatic arthritis. *J Pathol* 2007; 212(1): 47-55.
- 34 Queiroz-Junior CM, Silva MJ, Correa JD, Madeira MF, Garlet TP, Garlet GP, *et al.* A controversial role for IL-12 in immune response and bone resorption at apical periodontal sites. *Clin Develop Immunol* 2010; 2010: 327417.
- 35 Na Ayuthaya BI, Everts V, Pavasant P. Interleukin-12 (IL-12) induces receptor activator of nuclear factor Kappa-B ligand (RANKL) expression by human periodontal ligament cells. *J Periodontol* 2017; 88(7): e109-19.
- 36 Quinn JM, Sims NA, Saleh H, Miroso D, Thompson K, Bouralexis S, *et al.* IL-23 inhibits osteoclastogenesis indirectly through lymphocytes and is required for the maintenance of bone mass in mice. *J Immunol* 2008; 181(8): 5720-9.
- 37 Pacifici R. Role of T cells in ovariectomy induced bone loss-revisited. *J Bone Miner Res* 2012; 27(2): 231-9.
- 38 Komatsu N. Immune molecules and the mechanism of joint destruction. *Clin Calcium* 2016; 26(5): 683-9.
- 39 Komatsu N. Mechanism of bone destruction and the contribution of T lymphocytes. *Nihon Rinsho* 2016; 74(6): 907-12.
- 40 Buchwald ZS, Kiesel JR, DiPaolo R, Pagadala MS, Aurora R. Osteoclast activated FoxP3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T-cells suppress bone resorption *in vitro*. *PLoS One* 2012; 7(6): e38199.
- 41 Fujiwara Y, Piemontese M, Liu Y, Thostenson JD, Xiong J, O'Brien CA, *et al.* RANKL produced by osteocytes is required for the increase in B cells and bone loss caused by estrogen deficiency in mice. *J Biol Chem* 2016; 291(48): 24838-50.
- 42 Li Y, Toraldo G, Li A, Yang X, Zhang H, Qian WP, *et al.* B cells and T cells are critical for the preservation of bone homeostasis and attainment of peak bone mass *in vivo*. *Blood* 2007; 109(9): 3839-48.
- 43 Mcginty T, Mirmonsef P, Mallon PW, Landay AL. Does systemic inflammation and immune activation contribute to fracture risk in HIV? *Current Opinion in Hiv and Aids* 2016; 11(3): 253-60.
- 44 Weitzmann MN. The role of inflammatory cytokines, the RANKL/OPG axis, and the immunoskeletal interface in physiological bone turnover and osteoporosis. *Scientifica (Cairo)* 2013; 2013: 125705.
- 45 Meednu N, Zhang H, Owen T, Sun W, Wang V, Cistrone C, *et al.* Production of RANKL by memory B cells: A link between B cells and bone erosion in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2016; 68(4): 805-16.
- 46 Breuil V, Ticchioni M, Testa J, Roux CH, Ferrari P, Breittmayer JP, *et al.* Immune changes in post-menopausal osteoporosis: the Immunos study. *Osteoporos Int* 2010; 21(5): 805-14.
- 47 Pineda B, Serna E, Laguna-Fernandez A, Noguera I, Panach L, Hermenegildo C, *et al.* Gene expression profile induced by ovariectomy in bone marrow of mice: a functional approach to identify new candidate genes associated to osteoporosis risk in women. *Bone* 2014; 65: 33-41.
- 48 Cirrincione C, Pimpinelli N, Orlando L, Romagnoli P. Lamina propria dendritic cells express activation markers and contact lymphocytes in chronic periodontitis. *J Periodontol* 2002; 73(1): 45-52.
- 49 Rivollier A, Mazzorana M, Tebib J, Piperno M, Aitsiselmi T, Rabourdin-Combe C, *et al.* Immature dendritic cell transdifferentiation into osteoclasts: A novel pathway sustained by the rheumatoid arthritis microenvironment. *Blood* 2004; 104(13): 4029-37.
- 50 Söderström K, Stein E, Colmenero P, Purath U, Müller-Ladner U, de Matos CT, *et al.* Natural killer cells trigger osteoclastogenesis and bone destruction in arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(29): 13028-33.
- 51 Feng S, Madsen SH, Viller NN, Neutzsky-Wulff AV, Geisler C, Karlsson L, *et al.* Interleukin-15-activated natural killer cells kill autologous osteoclasts via LFA-1, DNAM-1 and TRAIL, and inhibit osteoclast-mediated bone erosion *in vitro*. *Immunology* 2015; 145(3): 367-79.
- 52 Hu M, Bassett JH, Danks L, Howell PG, Xu K, Spanoudakis E, *et al.* Activated invariant NKT cells regulate osteoclast development and function. *J Immunol* 2011; 186(5): 2910-7.
- 53 Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S. Mechanisms of bone resorption in periodontitis. *J Immunol Res* 2015; 2015: 615486.
- 54 Hasturk H, Kantarci A, Ohira T, Arita M, Ebrahimi N, Chiang N, *et al.* RvE1 protects from local inflammation and osteoclast-mediated bone destruction in periodontitis. *FASEB J* 2006; 20(2): 401-3.
- 55 Poubelle PE, Chakravarti A, Fernandes MJ, Doiron K, Marceau AA. Differential expression of RANK, RANK-L, and osteoprotegerin by synovial fluid neutrophils from patients with rheumatoid

- arthritis and by healthy human blood neutrophils. *Arthritis Res Ther* 2007; 9(2): R25.
- 56 Chakravarti A, Raquil MA, Tessier P, Poubelle PE. Surface RANKL of Toll-like receptor 4-stimulated human neutrophils activates osteoclastic bone resorption. *Blood* 2009; 114(8): 1633-44.
- 57 Milat F, Kong WN. Is Wnt signalling the final common pathway leading to bone formation? *Mol Cell Endocrinol* 2009; 310(1/2): 52-62.
- 58 Miyazono K, Maeda S, Imamura T. Coordinate regulation of cell growth and differentiation by TGF-beta superfamily and Runx proteins. *Oncogene* 2004; 23(24): 4232-7.
- 59 Oldershaw RA, Tew SR, Russell AM, Meade K, Hawkins R, McKay TR, *et al.* Notch signaling through Jagged-1 is necessary to initiate chondrogenesis in human bone marrow stromal cells but must be switched off to complete chondrogenesis. *Stem Cells* 2010; 26(3): 666-74.
- 60 Titorencu I, Pruna V, Jinga VV, Simionescu M. Osteoblast ontogeny and implications for bone pathology: an overview. *Cell Tissue Res* 2014; 355(1): 23-33.
- 61 Weitzmann MN, Cenci S, Haug J, Brown C, DiPersio J, Pacifici R. B lymphocytes inhibit human osteoclastogenesis by secretion of TGF-beta. *J Cell Biochem* 2000; 78(2): 318-24.
- 62 Rifas L, Arackal S, Weitzmann MN. Inflammatory T cells rapidly induce differentiation of human bone marrow stromal cells into mature osteoblasts. *J Cell Biochem* 2003; 88(4): 650-9.
- 63 Horowitz MC, Lorenzo JA. B lymphocytes and the skeleton. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1117(1): 82-93.
- 64 Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, *et al.* Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93(2): 165-76.
- 65 Wang X, Luo Y, Liao WB, Zhang J, Chen TM. Effect of osteoprotegerin in combination with interleukin-6 on inhibition of osteoclast differentiation. *Chin J Traumatol* 2013; 16(5): 277-80.
- 66 Oh J, Lee MS, Yeon JT, Choi SW, Kim HS, Shim H, *et al.* Inhibitory regulation of osteoclast differentiation by interleukin-3 via regulation of c-Fos and Id protein expression. *J Cell Physiol* 2012; 227(5): 1851-60.
- 67 Kim JW, Lee MS, Lee CH, Kim HY, Chae SU, Kwak HB, *et al.* Effect of interferon-gamma on the fusion of mononuclear osteoclasts into bone-resorbing osteoclasts. *BMB Rep* 2012; 45(5): 281-6.
- 68 Cicek M, Vrabel A, Sturchio C, Pederson L, Hawse JR, Subramaniam M, *et al.* TGF-beta inducible early gene 1 regulates osteoclast differentiation and survival by mediating the NFATc1, AKT, and MEK/ERK signaling pathways. *PLoS One* 2011; 6(3): e17522.
- 69 Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, *et al.* Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999; 402(6759): 304-9.
- 70 Takayanagi H. New developments in osteoimmunology. *Nat Rev Rheumatol* 2012; 8(11): 684-9.
- 71 Le Blanc K, Mougiakakos D. Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. *Nat reviews Immunol* 2012; 12(5): 383-96.
- 72 Kang YJ, Yang SJ, Park G, Cho B, Min CK, Kim TY, *et al.* A novel function of interleukin-10 promoting self-renewal of hematopoietic stem cells. *Stem Cells* 2007; 25(7): 1814-22.
- 73 Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW, Weber JM, Olson DP, Knight MC, *et al.* Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 2003; 425(6960): 841-6.
- 74 Pappalardo A, Thompson K. Novel immunostimulatory effects of osteoclasts and macrophages on human gamma delta T cells. *Bone* 2015; 71(2): 180-8.
- 75 Miyamoto K, Yoshida S, Kawasumi M, Hashimoto K, Kimura T, Sato Y, *et al.* Osteoclasts are dispensable for hematopoietic stem cell maintenance and mobilization. *J Exp Med* 2011; 208(11): 2175-81.
- 76 Pacifici R. T cells, osteoblasts, and osteocytes: interacting lineages key for the bone anabolic and catabolic activities of parathyroid hormone. *Ann N Y Acad Sci* 2016; 1364(1): 11-24.
- 77 Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000; 289(5484): 1504-8.
- 78 Barrow AD, Raynal N, Andersen TL, Slatter DA, Bihan D, Pugh N, *et al.* OSCAR is a collagen receptor that costimulates osteoclastogenesis in DAP12-deficient humans and mice. *J Clin Invest* 2011; 121(9): 3505-16.
- 79 Yang YH, Buhamrah A, Schneider A, Lin YL, Zhou H, Bugshan A, *et al.* Semaphorin 4D promotes skeletal metastasis in breast cancer. *PLoS One* 2016; 11(2): e0150151.
- 80 Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone, and beyond. *Front Immunol* 2014; 5: 511.