

Sema 3A对骨重塑影响机制的研究进展

蔡丹霞, 罗朋立

青海大学研究生院, 青海 西宁

Email: 2214544393@qq.com

收稿日期: 2021年6月26日; 录用日期: 2021年7月19日; 发布日期: 2021年7月28日

摘要

骨骼是一个新陈代谢活跃的器官, 在人的一生中不断重塑。骨重塑是成骨细胞和破骨细胞在成人生长过程中以及骨折等损伤后对骨骼进行重塑和替代的动态、连续过程。骨重塑受多种因素影响, 如各种激素、细胞因子、趋化因子、生物机械刺激等。Sema 3A属于Semaphorins家族中的一员, 主要通过调节骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞、成骨细胞、破骨细胞、感觉神经等多种途径来影响骨重塑。该综述重点总结并介绍Sema 3A对骨重塑影响机制研究的最新进展, 以了解Sema 3A在骨骼系统中的作用。

关键词

Sema 3A, 骨重塑, 骨髓间充质干细胞, 脂肪间充质干细胞, 成骨细胞, 破骨细胞, 感觉神经

Research Progress on the Mechanism of the Effect of Sema 3A on Bone Remodeling

Danxia Cai, Pengli Luo

Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

Email: 2214544393@qq.com

Received: Jun. 26th, 2021; accepted: Jul. 19th, 2021; published: Jul. 28th, 2021

Abstract

Bone is an organ with active metabolism, which is constantly reshaped throughout a person's life. Bone remodeling is a dynamic and continuous process of bone remodeling and substitution of osteoblasts and osteoclasts during adult growth and after fracture and other injuries. Bone remode-

ling is affected by many factors, such as various hormones, cytokines, chemokines, biomechanical stimulation and so on. *Sema 3A* is a member of the Semaphorins family, mainly through the regulation of bone marrow mesenchymal stem cells, adipose mesenchymal stem cells, osteoblasts, osteoclasts, sensory nerves and other ways to affect bone remodeling. This review focuses on summarizing and introducing the latest progress in the research on the mechanism of the effect of *Sema 3A* on bone remodeling in order to understand the role of *Sema 3A* in the skeletal system.

Keywords

Sema 3A, Bone Remodeling, Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells, Adipose Mesenchymal Stem Cells, Osteoblasts, Osteoclasts, Sensory Nerves

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 背景

骨重塑主要包括两个过程：即成骨细胞性骨形成和破骨细胞性骨吸收。在健康成人中，骨形成和骨吸收在化学及力学等多种因素的调节下保持平衡状态，这种平衡对于维持正常骨量及全身矿物质动态平衡至关重要。相反，骨重塑异常可以导致骨质疏松症、骨坏死等骨骼疾病及血浆钙磷紊乱。以往研究表明骨重塑受多种因子调节，其主要包括甲状旁腺激素(PTH)、骨化三醇、骨形态发生蛋白(BMP)、肿瘤生长因子- β (TGF- β)、和其他激素，如生长激素、糖皮质激素、甲状腺激素和性激素等。近年有研究显示骨来源及神经来源的信号素 3A (*Sema 3A*)均在骨重塑过程中起着重要作用，其可通过调节骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞、成骨细胞、破骨细胞、感觉神经等多种途径来影响骨重塑[1] [2] [3] [4] [5]。本文就 *Sema 3A* 对骨重塑机制研究的最新进展作一综述。

2. *Sema 3A* 及其受体

2.1. *Sema 3A*

信号素(Semaphorins)是一类跨膜或分泌型蛋白，目前至少已发现 20 余种，根据结构特征和氨基酸序列可将 Semaphorin 家族成员分为 8 个亚类，所有信号素均含一个由 500 个氨基酸组成的 sema 结构域，介导信号素与相应受体特异性结合[6] [7] [8]。*Sema 3A* 是 Semaphorin 家族中的一员，属于分泌型蛋白，可来源于成骨细胞[2]、骨髓间充质干细胞[9]、周围神经元等。以往研究表明 *Sema 3A* 在神经再生、血管再生等方面起重要作用[10] [11]。而最近有研究表明 *Sema 3A* 及其受体在骨骼系统中具有重要意义。

2.2. *Sema 3A* 相关受体

神经丛蛋白家族(Plexins)和神经粘连蛋白家族(Neuropilins, Nrps)是信号素的两个主要受体。Plexins 是一种跨膜型表面受体，根据其同源性可分为 A、B、C 和 D 四个亚类，其中 Plexin A 是 *Sema 3A* 的主要受体[7]。Nrps 是一种跨膜的细胞表面糖蛋白，包括 Nrp-1 和 Nrp-2 [12]。Nrps 具有较大的胞外结构域、单一的跨膜结构域和较短的细胞质尾巴，与 *Sema 3A* 及 Plexin A 结合的主要是胞外结构域[13]。通常 Plexin A 与 Nrp-1 或 Nrp-2 形成信号素受体复合物，而 *Sema 3A* 与受体复合物结合形成 *Sema3A/Nrp/PlexinA* 配体-受体复合物，从而进行信号转导[14] [15]。

3. Sema 3A 对骨重塑的调节

3.1. Sema 3A 对成熟骨细胞的影响

众所周知 NO-sGC-cGMP-PKG 通路在骨骼动态平衡中起重要作用, 该通路从激活一氧化氮合酶(NOS)开始。NOS 是细胞内合成一氧化氮(NO)的酶, 可升高 NO 水平, NO 水平升高使可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)激活增加, 从而增加环磷酸鸟苷(cGMP)的水平, cGMP 可激活蛋白激酶 G (PKG), 而 PKG 则有防止细胞凋亡的作用。

2012 年 Nisha Marathe 等人发现 sGC 诱导的 cGMP 依赖的蛋白激酶 G (PKG)活化具有抑制骨细胞凋亡的作用[16]。随后 Mikihiro Hayashi 等人[3]发现骨细胞中 Sema 3A 缺乏或其相关受体缺陷会导致成年小鼠的骨量下降及骨细胞数量减少, 体外实验表明 sGC 激活剂可使成骨细胞系特异性 Sema 3A 基因敲除小鼠的骨量丢失减少。Sema 3A 和 sGC 激活剂均可增加成熟骨细胞中 cGMP 的水平, 但在未分化的骨细胞中未观察到 Sema 3A 诱导的 cGMP 产生, 且 Sema 3A 和 sGC 激活剂诱导的 PKG 下游的 sGC 信号通路的激活(包括 ERK、Akt、Vasp)可被 PKG 抑制剂抑制。以上数据表明, Sema 3A 可通过激活 sGC-cGMP-PKG 信号通路使成熟骨细胞免受凋亡。

3.2. Sema 3A 对骨髓间充质干细胞的影响

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)可来源于许多组织, 如骨髓、脂肪组织、牙髓等组织, 其中骨髓是骨髓间充质干细胞的原始来源。BMSCs 具有多向分化潜能, 经过不同的转录因子调节, 可以分化为骨细胞、成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞。

近年有研究表明 Sema 3A 在骨髓间充质干细胞中显著表达, 并促进骨髓间充质干细胞成骨分化[9][17][18]。乔桥等人[4]通过体外细胞培养证实了 Sema 3A 可增加 BMSCs 成骨相关基因表达(包括 I 型胶原、碱性磷酸酶、Run 相关转录因子 2 (RUNX2)、骨形态发生蛋白(BMP)和骨钙素), 促进其向成骨细胞分化, 并表明 Sema 3A 可通过刺激 BMSC 细胞膜片来增强 2 型糖尿病大鼠的骨再生能力。Zhaoze Sun 等人[19]经过研究发现大肠杆菌脂多糖(LPS)刺激可增加骨髓间充质干细胞炎症因子的表达, 建立炎症环境, 且 LPS 可通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 降低 rBMSC 的成骨能力; 他们还通过在此炎症环境下体外培养大鼠骨髓间充质干细胞(rBMSCs)发现, Sema 3A 可减弱 LPS 降低 rBMSC 的成骨能力, Sema 3A 过表达不仅可以促进 rBMSC 增殖, 还可以通过降低 β -catenin 的表达来抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路, 从而减轻 LPS 介导的成骨分化抑制, 并促进 rBMSC 向成骨细胞分化。

3.3. Sema 3A 对脂肪间充质干细胞的影响

脂肪源性的间充质干细胞(adipose mesenchymal stem cells, ASCs)是一种来源于脂肪组织并具有多向分化潜能的成体干细胞。

Kaixiu Fang 等人[5]经过研究发现暴露在 Sema 3A 刺激下的 ASCs 形态和增殖能力保持不变, 但 Sema 3A 可通过上调成骨相关基因的表达水平(ALP 和 COL1A1 mRNA), 增强 ASCs 的成骨能力。Xiangwei Liu 等人[9]通过体外研究表明, Sema 3A 在 ASCs 培养基中过表达显著增强了成骨标志物(ALP、Runx2 和 Colla1)的表达和细胞外基质钙沉积, 并使碱性磷酸酶活性增强, Sema 3A 基因转染的 ASCs 骨基质分泌增多。以上数据表明 Sema 3A 可诱导 ASCs 产生 BMSCs 表型, Sema 3A 过表达可使脂肪间充质干细胞向成骨细胞转变。为了进一步阐明 Sema 3A 如何将 ASCs 重新编程为 BMSCs 样表型的分子机制, 他们研究了与成骨分化和成脂分化密切相关的 Wnt/ β -catenin 信号通路。结果表明, Sema 3A 可使 ASCs 细胞核内 β -catenin 表达明显增强, 此外, 一些上下游的 Wnt 途径基因(如 Wnt3a、Wnt10a 和 Axin2)表达也增加,

这些数据表明 Sema 3A 通过调控多个 Wnt 途径基因来激活 Wnt 通路, 使 ASCs 在一定程度上被重新编程为具有 BMSCs 表型, 促进其成骨分化, 增加其成骨能力, 从而起到有效的成骨诱导剂的作用。综上所述, Sema 3A 通过激活 Wnt 通路将 ASCs 重新编程为具有 BMSCs 表型, 并使其向成骨表型转化来促进体内骨再生。

3.4. Sema 3A 对成骨细胞的影响

成骨细胞主要起源于骨髓间充质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs), 可通过合成细胞外基质蛋白形成新骨, 在骨重塑方面起着重要作用。

Wnt 蛋白是一个分泌蛋白家族, 可在细胞生长、分化、功能和死亡等许多方面进行调节。在 Wnts 激活的信号通路中, Wnt/ β -catenin 信号通路可通过一系列机制增加骨量, 包括刺激成骨细胞复制、诱导成骨细胞生成、抑制成骨细胞和骨细胞凋亡等。Wnt/ β -catenin 信号通路的激活可保护 β -catenin 不被磷酸化, 而未被磷酸化的 β -catenin 从胞浆移位并聚集在细胞核中, 然后与 T 细胞因子/淋巴增强因子结合, 形成转录因子复合体, 促进成骨细胞特异性基因的表达, 增加其分化[20] [21]。

Mikihito Hayashi 等人[2]对 Sema 3A 基因敲除小鼠的颅骨细胞进行基因表达谱分析显示其 Wnt 信号通路和 Wnt 相关信号通路的基因集表达显著下调, 且通过转录形成 β -catenin 的 mRNA 表达下降及 Wnt 诱导的 β -catenin 核聚集受到抑制。Sema 3A 信号通路通过 FARP2 可诱导小 G 蛋白 rac1 活化, 而 rac1 可促进 β -catenin 核聚集[2] [22]。与野生型对照细胞相比, Sema 3A 基因敲除的小鼠颅骨细胞给予 Wnt 处理后 rac 的激活显著降低, 但给予 Sema 3A 处理后, 可促进 rac 激活从而促进 β -catenin 核转移[2]。Sevinç Kenan 等人[23]也通过实验表明局部应用 Sema 3A 可使骨形成活性增强, 且 Sema 3A 可增强 β -catenin 的表达。Mikihito Hayashi 等人[2]还发现 Sema 3A 通过与其相应受体 Nrp1 结合来促进成骨细胞分化。综上所述, Sema 3A 对成骨细胞分化影响机制可能为 Sema 3A 与其受体 Nrp1 结合后激活 Wnt/ β -catenin 信号通路及促进 rac 激活从而增加 β -catenin 核转移来促进骨细胞分化。

3.5. Sema 3A 对破骨细胞的影响

骨髓来源的单核/巨噬细胞前体细胞(Bone marrow-derived Monocyte/m-acrophage precursor cells, BMMs)是破骨细胞的前体细胞。成骨细胞产生的核因子受体激活剂- β 配体(RANKL)和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)是刺激破骨细胞分化的关键因子, 其分别与 BMMs 表达的 c-FMS (M-CSF 受体)和 RANK (RANKL 受体)结合可使 BMMs 分化为破骨细胞, 而成骨细胞产生的骨保护素(OPG)则与 RANKL 结合来抑制破骨细胞生成[24] [25]。

Aránzazu Mediero 等人[26]通过研究表明 Sema 3A 可抑制破骨细胞前体细胞向破骨细胞分化。K Yang 等人[27]也表示信号素 3A 基因治疗可显著增加成骨细胞的数量和活性, 减少破骨细胞的数量, 最终抑制骨质疏松症小鼠的骨丢失。

Mikihito Hayashi 等人[2]通过研究表明 Sema 3A 通过与其受体 Nrp1 结合来抑制破骨细胞分化。有研究表明 PlexinA1 通过形成 PlexinA1-TREM2-DAP12 复合物与 Sema 6D 结合, 激活 ITAM 信号, 从而促进破骨细胞分化[28]。然而 Nrp1 可与 TREM2 竞争结合 PlexinA1, 形成 PlexinA1-Nrp1 受体复合物并与 Sema 3A 结合形成 Sema3A/Nrp-1/PlexinA1 配体 - 受体复合物, 抑制破骨细胞分化[2] [6]。RANKL 可通过下调 Nrp1 使 PlexinA1 从 PlexinA1-Nrp1 复合物中释放出来, 从而促进 Plexin1-TREM2-DAP12 复合物的形成来诱导破骨细胞分化; 而 Sema 3A 处理可诱导 Nrp1 内化并抑制 RANKL 的表达, 对抗 RANKL 诱导的 Nrp1 下调, 从而维持 PlexinA1-Nrp1 复合物形成来平衡 RANKL 作用, 抑制破骨细胞分化[2] [23]。

3.6. *Sema 3A* 通过神经调节骨重塑

骨组织上神经分布密集, 有研究表明中枢及外周神经系统均参与调节骨重塑[29]。

Toru Fukuda 等人[1]提出神经元来源的 *Sema 3A* 不但对正常神经系统发育具有重要作用, 还通过调节感觉神经纤维间接影响骨重塑。他们经过研究证明骨骼微环境中 *Sema 3A* 的水平是由支配骨骼的感觉神经系统及骨细胞共同决定的, 神经元特异性 *Sema 3A* 敲除的小鼠表现出低骨量表型, 且骨量的减少与感觉神经的减少一致。因此感觉神经纤维的异常可能是导致神经元特异性 *Sema 3A* 敲除小鼠骨量异常的原因。

以往有研究表明, 坐骨神经提供支配股骨和胫骨的神经纤维, 单侧坐骨神经切除术可导致废用性骨质疏松, 但其机制尚不明确[30][31]。Xinlong Ma 等人[32]通过试验研究表明, 与假手术组相比, 单侧坐骨神经切除术后的大鼠股骨远端骨密度明显降低、同侧胫骨中 *Sema 3A* mRNA、 β -catenin mRNA、*Nrp1* mRNA 表达降低, 且 *Sema 3A* 蛋白、活性 β -catenin 蛋白水平也降低。如前所述, *Sema 3A* 通过与 *Nrp1* 结合激活 Wnt/ β -catenin 信号通路从而诱导成骨细胞分化, 而 β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 信号级联中的一个重要分子, 故坐骨神经切除术后大鼠 *Sema 3A* 及活性 β -catenin 蛋白水平降低, 可导致 Wnt/ β -catenin 信号通路激活减弱, 成骨细胞分化减少, 从而参与废用性骨质疏松症的发生发展。

3.7. 其他

骨肉瘤是起源于间质细胞的恶性成骨性肿瘤, 可发生骨溶解和异位“编织”骨形成等骨骼并发症。近年有研究表明骨肉瘤细胞系过度表达 *Nrp1* 和 *Nrp2*, 且表达程度与肿瘤的进展及预后有关[33][34]。还有研究表明 *Nrp2* 在人骨肉瘤细胞系中可抑制肿瘤的生长, 在小鼠中可减少肺转移[35]。Daniëlle de Ridder 等人经过研究证明人重组 *Sema 3A* 可抑制骨肉瘤细胞的迁移、成骨和溶骨功能, 骨肉瘤来源的 *Sema 3A* 可降低骨肉瘤细胞引起异位骨形成的能力。他们还证明外源性和肿瘤来源的 *Sema 3A* 在体外均可抑制骨肉瘤细胞系及 RANKL 诱导的破骨细胞的形成[36], 但具体机制尚不明确。

骨折骨痂中血管的及时形成对加速骨再生至关重要。有研究表明 *Sema 3A* 过表达可抑制血管生成[37], 而 HIF1 α 可促进血管生成[38]。Li 等人[37]通过实验表明 *Sema 3A*-HIF1 α 共表达的多能干细胞来源的间充质干细胞(IPSC-MSCs)在体外具有良好的成骨和血管分化能力, 可促进新生骨和胶原纤维的形成进而促进小鼠颅骨缺损修复。Li 等人[39]还通过研究表明 *Sema 3A* 单独过表达虽可促进 IPSC-MSCs 的成骨分化, 但抑制细胞存活。而 *Sema 3A*-HIF1 α 共过表达不仅能促进其成骨分化, 还能提高 IPSC-MSCs 的存活率, 但其具体机制尚不明确。

4. 小结

Sema 3A 可由多种细胞表达, 其受体广泛分布于骨骼系统、神经系统, *Sema 3A* 与其相应受体结合可产生多种作用。近年来 *Sema 3A* 在骨骼系统中的作用成为研究热点。众多学者经过研究表明, *Sema 3A* 与其相关受体结合后通过保护成熟骨细胞免受凋亡、促进成骨细胞分化、抑制破骨细胞分化、促进 rBMSC 成骨分化、将 ASCs 重新编程为具有 BMSCs 表型及调节感觉神经等多种途径参与骨重塑。还有研究表明 *Sema 3A* 有抑制骨肉瘤的转移、溶骨等作用, *Sema 3A*-HIF1 α 共过表达可使 IPSC-MSCs 更好的成骨分化及血管分化, 但其具体机制需要我们进一步研究。由此可见, *Sema 3A* 可能是一种骨质疏松及骨肉瘤等骨病的新型治疗剂。

参考文献

- [1] Fukuda, T., *et al.* (2013) Corrigendum: *Sema3A* Regulates Bone-Mass Accrual through Sensory Innervations. *Nature*,

- 497, 490-493. <https://doi.org/10.1038/nature12115>
- [2] Hayashi, M., Nakashima, T., Taniguchi, M., *et al.* (2012) Osteoprotection by Semaphorin 3A. *Nature*, **485**, 69-74. <https://doi.org/10.1038/nature11000>
- [3] Mikihiro, H., *et al.* (2019) Autoregulation of Osteocyte Sema3A Orchestrates Estrogen Action and Counteracts Bone Aging. *Cell Metabolism*, **29**, 627-637. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.12.021>
- [4] 乔桥, 宋应亮, 李凤兰. 信号素 3A 刺激的干细胞膜片对 2 型糖尿病大鼠骨再生作用的研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2018, 53(5): 333-338.
- [5] Fang, K., Song, W., Wang, L., *et al.* (2016) Semaphorin 3A-Modified Adipose-Derived Stem Cell Sheet May Improve Osseointegration in a Type 2 Diabetes Mellitus Rat Model. *Molecular Medicine Reports*, **14**, 2449-2456. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5568>
- [6] Semaphorin Nomenclature Committee (1999) Unified Nomenclature for the Semaphorins/Collapsins. *Cell*, **97**, 551-552. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80766-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80766-7)
- [7] Janssen, B.J., Robinson, R.A., Pérez-Branguli, F., *et al.* (2010) Structural Basis of Semaphorin-Plexin Signalling. *Nature*, **467**, 1118-1122. <https://doi.org/10.1038/nature09468>
- [8] Feiner, L., Koppel, A.M., Kobayashi, H., *et al.* (1997) Secreted Chick Semaphorins Bind Recombinant Neuropilin with Similar Affinities but Bind Different Subsets of Neurons *in Situ*. *Neuron*, **19**, 539-545. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80370-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80370-0)
- [9] Liu, X., Tan, N., Zhou, Y., *et al.* (2016) Semaphorin 3A Shifts Adipose Mesenchymal Stem Cells towards Osteogenic Phenotype and Promotes Bone Regeneration *in Vivo*. *Stem Cells International*, **2016**, Article ID: 2545214. <https://doi.org/10.1155/2016/2545214>
- [10] Min, Z., Qiang, Z., Luo, Y., *et al.* (2018) Semaphorin3A Induces Nerve Regeneration in the Adult Cornea—A Switch from Its Repulsive Role in Development. *PLoS ONE*, **13**, e0191962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191962>
- [11] Adi, S.D., Eiza, N., Bejar, J., *et al.* (2019) Semaphorin 3A Is Effective in Reducing Both Inflammation and Angiogenesis in a Mouse Model of Bronchial Asthma. *Frontiers in Immunology*, **10**, 550. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00550>
- [12] Rochlin, M.W. and Farbman, A.I. (1998) Trigeminal Ganglion Axons Are Repelled by Their Presumptive Targets. *Journal of Neuroscience*, **18**, 6840-6852. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-17-06840.1998>
- [13] Janssen, B.J.C., Malinauskas, T., Weir, G.A., *et al.* (2012) Neuropilins Lock Secreted Semaphorins onto Plexins in a Ternary Signaling Complex. *Nature Structural & Molecular Biology*, **19**, 1293-1299. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-17-06840.1998>
- [14] Kruger, R.P., Aurrandt, J. and Guan, K.L. (2005) Semaphorins Command Cells to Move. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **6**, 789-800. <https://doi.org/10.1038/nrm1740>
- [15] Yazdani, U. and Terman, J.R. (2006) The Semaphorins. *Genome Biology*, **7**, 211. <https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-3-211>
- [16] Marathe, N., Rangaswami, H., Zhuang, S., *et al.* (2012) Pro-Survival Effects of 17 β -Estradiol on Osteocytes Are Mediated by Nitric Oxide/cGMP via Differential Actions of cGMP-Dependent Protein Kinases I and II. *Journal of Biological Chemistry*, **287**, 978-988. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.294959>
- [17] Liu, L., Wang, J., Song, X., *et al.* (2018) Semaphorin 3A Promotes Osteogenic Differentiation in Human Alveolar Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **15**, 3489-3494. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.5813>
- [18] Tian, T., Tang, K., Wang, A., *et al.* (2019) The Effects of Sema 3A Overexpression on the Proliferation and Differentiation of Rat Gingival Mesenchymal Stem Cells in the LPS-Induced Inflammatory Environment. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **12**, 3710-3718.
- [19] Sun, Z., Yan, K., Liu, S., *et al.* (2021) Semaphorin 3A Promotes the Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Inflammatory Environments by Suppressing the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *Journal of Molecular Histology*. <https://doi.org/10.1007/s10735-020-09941-1>
- [20] Tian, J., He, H. and Lei, G. (2014) Wnt/ β -Catenin Pathway in Bone Cancers. *Tumor Biology*, **35**, 9439-9445. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2433-8>
- [21] Krishnan, V., Bryant, H.U. and Macdougald, O.A. (2006) Regulation of Bone Mass by Wnt Signaling. *Journal of Clinical Investigation*, **116**, 1202-1209. <https://doi.org/10.1172/JCI28551>
- [22] Wu, X., Tu, X., Joeng, K.S., Hilton, M.J., *et al.* (2008) Rac1 Activation Controls Nuclear Localization of Beta-Catenin during Canonical Wnt Signaling. *Cell*, **133**, 340-353. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.052>
- [23] Kenan, S., Onur, Ö.D., Solakoğlu, S., *et al.* (2019) Investigation of the Effects of Semaphorin 3A on New Bone For-

- mation in a Rat Calvarial Defect Model. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, **47**, 473-483. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2018.12.010>
- [24] Yamashita, T., Takahashi, N. and Udagawa, N. (2012) New Roles of Osteoblasts Involved in Osteoclast Differentiation. *World Journal of Orthopedics*, **3**, 175-181. <https://doi.org/10.5312/wjo.v3.i11.175>
- [25] Simonet, W.S., Lacey, D.L., Dunstan, C.R., *et al.* (1997) Osteoprotegerin: A Novel Secreted Protein Involved in the Regulation of Bone Density. *Cell*, **89**, 309-319. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80209-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80209-3)
- [26] Mediero, A., Wilder, T., Shah, L., *et al.* (2018) Adenosine A2A Receptor (A2AR) Stimulation Modulates Expression of Semaphorins 4D and 3A, Regulators of Bone Homeostasis. *The FASEB Journal*, **32**, 3487-3501. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80209-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80209-3)
- [27] Yang, K., Miron, R.J., Bian, Z., *et al.* (2018) A Bone-Targeting Drug-Delivery System Based on Semaphorin 3A Gene Therapy Ameliorates Bone Loss in Osteoporotic Ovariectomized Mice. *Bone*, **114**, 40-49. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2018.06.003>
- [28] Takegahara, N., Takamatsu, H., Toyofuku, T., *et al.* (2006) Plexin-A1 and Its Interaction with DAP12 in Immune Responses and Bone Homeostasis. *Nature Cell Biology*, **8**, 615-622. <https://doi.org/10.1038/ncb1416>
- [29] Karsenty, G. and Ferron, M. (2012) The Contribution of Bone to Whole-Organism Physiology. *Nature*, **481**, 314-320. <https://doi.org/10.1038/nature10763>
- [30] Kingery, W.S., Offley, S.C., Guo, T.Z., *et al.* (2003) A Substance P Receptor (NK1) Antagonist Enhances the Widespread Osteoporotic Effects of Sciatic Nerve Section. *Bone*, **33**, 927-936. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2003.07.003>
- [31] Komori, T. (2015) Animal Models for Osteoporosis. *European Journal of Pharmacology*, **759**, 287-294. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.028>
- [32] Ma, X., Lv, J., Sun, X., *et al.* (2016) Naringin Ameliorates Bone Loss Induced by Sciatic Neurectomy and Increases Semaphorin 3A Expression in Denervated Bone. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 4562. <https://doi.org/10.1038/srep24562>
- [33] Zhu, H., Cai, H., Tang, M., *et al.* (2014) Neuropilin-1 Is Overexpressed in Osteosarcoma and Contributes to Tumor Progression and Poor Prognosis. *Clinical and Translational Oncology*, **16**, 732-738. <https://doi.org/10.1007/s12094-013-1141-y>
- [34] Boro, A., Arlt, M.J., Lengnick, H., *et al.* (2015) Prognostic Value and *in Vitro* Biological Relevance of Neuropilin 1 and Neuropilin 2 in Osteosarcoma. *American Journal of Translational Research*, **7**, 640-653.
- [35] Ji, T., Guo, Y., Kim, K., *et al.* (2015) Neuropilin-2 Expression Is Inhibited by Secreted Wnt Antagonists and Its Down-Regulation Is Associated with Reduced Tumor Growth and Metastasis in Osteosarcoma. *Molecular Cancer*, **14**, 86. <https://doi.org/10.1186/s12943-015-0359-4>
- [36] de Ridder, D., Marino, S., Bishop, R.T., *et al.* (2018) Bidirectional Regulation of Bone Formation by Exogenous and Osteosarcoma-Derived Sema3A. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 6877. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25290-2>
- [37] Li, J., Wang, T., Li, C., *et al.* (2020) Sema3A and HIF1 α Co-Overexpressed iPSC-MSCs/HA Scaffold Facilitates the Repair of Calvarial Defect in a Mouse Model. *Journal of Cellular Physiology*, **235**, 6754-6766. <https://doi.org/10.1002/jcp.29569>
- [38] Ou, M., Sun, X., Liang, J., *et al.* (2017) A Polysaccharide from *Sargassum thunbergii* Inhibits Angiogenesis via Downregulating MMP-2 Activity and VEGF/HIF-1 α Signaling. *International Journal of Biological Macromolecules*, **94**, 451-458. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.046>
- [39] Li, J.Y., Wang, T.T., Li, C., *et al.* (2020) Semaphorin 3A-Hypoxia Inducible Factor 1 Subunit Alpha Co-Overexpression Enhances the Osteogenic Differentiation of Induced Pluripotent Stem Cells-Derived Mesenchymal Stem Cells *in Vitro*. *Chinese Medical Journal*, **133**, 301-309. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000612>