

Zaangażowanie Autorów

- A – Przygotowanie projektu badawczego
B – Zbieranie danych
C – Analiza statystyczna
D – Interpretacja danych
E – Przygotowanie manuskryptu
F – Opracowanie piśmiennictwa
G – Pozyskanie funduszy

Author's Contribution

- A – Study Design
B – Data Collection
C – Statistical Analysis
D – Data Interpretation
E – Manuscript Preparation
F – Literature Search
G – Funds Collection

**Krzysztof H. Włodarski^(D,EF,G), Paweł K. Włodarski^(E,F),
Ryszard Galus^(E,F)**

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Centrum Biostruktury, Akademia Medyczna, Warszawa
Department of Histology and Embryology, Center for Biostructure Research, Medical University, Warszawa, Poland

Komórki osteogenne w przebiegu starzenia się. Przegląd informacji
Senescence of osteogenic cells. Review

Słowa kluczowe: komórki osteoprogenitorowe, proces starzenia się, szpik kostny

Key words: osteoprogenitor cells, ageing, bone marrow

STRESZCZENIE

U osobników w wieku podeszłym regeneracja tkanki kostnej jest upośledzona na skutek obniżenia aktywności osteoblastów, podczas gdy potencjał kościotwórczy komórek zrębowych szpiku kostnego, nie zmienia się. Liczba komórek osteoprogenitorowych z wiekiem nie zmniejsza się, ale osłabiona jest zarówno ich aktywność proliferacyjna, jak i sekrecyjna aktywność ich pochodnych – osteoblastów. U osobników starszych zdolność do samoodnowy komórek progenitorowych jest upośledzona, co prowadzi do spadku liczby osteoblastów. Z wiekiem ulegają przyspieszeniu także procesy starzenia się osteoblastów. U osób starszych zmiany w obrębie mikrośrodowiska szpiku kostnego zmniejszają aktywność kościotwórczą komórek osteoprogenitorowych, prowadząc do upośledzonego kościotworzenia, ale zdolność do kościotworzenia heterotopowego nie zmienia się z wiekiem. Niniejszy przegląd literatury przedstawia zmiany w zakresie kościotworzenia związane z wiekiem.

SUMMARY

In older individuals the regeneration of bone tissue is delayed due to the diminished activity of osteoblasts, while osteogenic potency of human bone marrow stromal cells, also capable of forming bone, does not change with age. The number of osteoprogenitor cells is not reduced in ageing subjects, but their proliferating rate and the activity of their derivatives – osteoblasts, is markedly diminished, since the self-renewing potential of these cells is hindered. The senescence of osteoblasts in ageing people is also accelerated. Changes within the bone marrow microenvironment reduce osteogenic potential of osteoprogenitor cells leading to impaired bone formation seen in senility, while the potency for ectopic osteogenesis does not change with age. This review summarizes documented mechanisms of changes in osteogenic activity of cells in elderly.

Liczba słów/Word count: 3144

Tabele/Tables: 0

Ryciny/Figures: 0

Piśmiennictwo/References: 22

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Prof. dr hab. med. Krzysztof H. Włodarski, e-mail: kwlodar@ib.amwaw.edu.pl
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Centrum Biostruktury Akademii Medycznej
02-004 Warszawa, ul. Chałubińskiego 5, tel./fax: 628-10-41 wew. 21

Otrzymano / Received 12.02.2006 r.
Zaakceptowano / Accepted 25.05.2006 r.

U osobników starszych regeneracja tkanki kostnej jest spowolniona, a przyczyna tego stanu leży w obniżonej aktywności osteoblastów. W szpiku, w obrębie przedziału komórek zrębowych, występują komórki progenitorowe dla osteoblastów. Ich wprowadzenie w miejsce ubytku kości u zwierząt starych powoduje naprawę uszkodzenia [1].

Potencjał kościotwórczy ludzkich komórek zrębowych nie zmienia się z wiekiem, co wykazały badania nad przeszczepianiem domięśniowym komórek zrębowych szpiku od ludzi młodych (24-30 lat) i starych (71-81 lat) myszom, niezdolnym do odpowiedzi immunologicznej. W obu przypadkach ilość wytworzonej tkanki kostnej była porównywalna, co wskazuje, że związany z wiekiem spadek kościotworzenia wywołany jest zmianami w mikrośrodoisku komórek kościotwórczych [2].

Starzenie się związane jest z upośledzoną zdolnością proliferacji komórek osteoprogenitorowych, lecz nie jest związane z liczbą komórek progenitorowych, znajdujących się w populacji zrębu szpiku [3]. Komórki osteoprogenitorowe szczurów wraz z wiekiem stają się mniej wrażliwe na mitogenne działanie czynnika wzrostu fibroblastów (b-FGF) [4]. Komórki zrębowe szpiku zawierają wspólne komórki prekursorowe dla osteoblastów i adipocytów, lecz spadek masy kostnej u osób starszych lub pacjentów osteoporotycznych nie jest wywołany zmianą ich różnicowaniem w kierunku adipocytarnym. Badania nad różnicowaniem się tych wspólnych dla osteoblastów i adipocytów prekursorów w zrębie szpiku, pochodzących od ludzi w różnym wieku oraz dotkniętych osteoporozą, wykazały brak różnic związanych z wiekiem czy statusem w zakresie liczby komórek prekursorowych, jak i ich zdolności do różnicowania się w kierunku osteogennym lub adipogennym pod wpływem odpowiednich czynników środowiskowych [5].

Komórki osteoblastyczne szpiku od osobników starych w warunkach hodowli *in vitro* ulegają szybciej procesom starzenia się, niż komórki uzyskane od ludzi młodych. Liczba komórek wykazujących aktywność beta galaktozydazy – markera procesu starzenia się komórek – jest jednakowa w populacji komórek uzyskanych od osobników młodych i starych, jednak komórki zrębowe szpiku pobrane od ludzi starych, w miarę liczby pasaży zawierały ich znacznie więcej, niż analogiczne pasáže szpiku pobranego od młodych ludzi. Tak więc proces starzenia się związany jest ze spadkiem zdolności proliferacyjnej komórek progenitorowych osteoblastów, co sugeruje, że nie upośledzenie funkcji, lecz spadek liczby komórek osteoblastycznych prowadzi do związanego z wiekiem osłabienia kościotworzenia [6].

U ludzi, bez względu na płeć, komórkowość szpiku zmniejsza się z wiekiem. Jednak u kobiet wraz z wiekiem obniża się w szpiku zawartość komórek progenitorowych dla osteoblastów, które w warunkach hodowli *in vitro* tworzą kolonie, charakteryzujące się wysoką aktywnością fosfatazy zasadowej – jednego z markerów osteogenezy. Spadku takiego nie obserwuje się w odniesieniu do szpiku od mężczyzn. To zjawisko może mieć odniesienie do ubytku masy kostnej związanego z wiekiem i menopauzą [7]. Jednak badania Laskela i wsp. nie potwierdziły spadku poten-

In older individuals the regeneration of bones is delayed due to the diminished activity of bone forming cells. Osteoblast progenitors reside in the stromal compartment of bone marrow, and these cells, when introduced into bone lesions of aged animals, repair bone defects [1].

The osteogenic potency of human bone marrow stromal cells maintains bone forming capacity *in vivo* regardless of age. Stromal cells recovered from young (24-30 years) and old (71-81 years) individuals produced the same amount of bone after intramuscular implantation into immunosuppressed mice. This indicates that impaired bone formation seen in older individuals is due to changes within the environment which reduce the osteogenic potential of osteoprogenitor cells [2].

Ageing processes are combined with impairment of the proliferative capacity of marrow stromal osteoprogenitor cells, but not with depletion of their number [3]. In aged rats, osteoprogenitor cells are less sensitive to the mitogenic effect of the basic fibroblast growth factor (bFGF) than those obtained from young animals [4]. A common precursor cell for osteogenic and adipocytic lineage is present in the population of bone marrow stroma. However the reduction of bone mass in older persons or in osteoporotic patients is not caused by a shift in differentiation of these precursors towards adipocytes. Investigations on the differentiation of these stromal precursors, of osteoblasts and adipocytes, derived from people at different ages and of osteoporotic patients, did not reveal differences in their number or in their ability to maintain a normal, proportional osteoblastic and adipocytic differentiation potential following environmental changes [5].

Bone marrow – derived osteogenic cells of old people cultured *in vitro* senesce faster than cells obtained from young persons. The proportions of cells positive for beta glycosidase activity (a marker of cell ageing) are similar in populations of cells derived from old and of young persons, but with passaging *in vitro* of stromal cells obtained from old people, the population of beta-galactosidase positive cells increases more rapidly than in cultures from young donors. Thus the senescence of osteoblast progenitors is related to depletion of proliferative capacity, suggesting that reduction in osteoblastic cell numbers is responsible for age-depleted osteogenesis in these patients [6].

Bone marrow cellularity decreases in humans with advancing age regardless of gender. In women, however, with advanced age, the number of osteoprogenitor cells in bone marrow which are able to form *in vitro* colonies of alkaline phosphatase (osteoblastic cell marker) positive cells is reduced compared with similarly aged males. This is somehow related to the reduction of bone mass in aged and postmenopausal patients [7]. However, experiments performed on rats by Laskel et al. did not support such opinion [8].

Vertebral cell populations from aged and young rats exhibit similar growth characteristics: proliferation rate, differentiation and doubling time [9]. These similarities indicate that the depletion of osteoprogenitor numbers can be blamed for the bone loss observed in aged individuals. Cells derived from senescent rats cultured *in vitro* exhibit-

cjału osteogennej komórek zrębowych szpiku kobiet po menopauzie [8].

Analizując hodowle komórek izolowanych z kości kręgow szczerów młodych oraz starych, Bellow i wsp. wykazali, że czas podwojenia się populacji, charakterystyka wzrostu i liczba komórek osteoprogenitorowych w badanych populacjach izolatów od zwierząt młodych i starych są podobne [9]. To wskazuje, że związana z wiekiem utrata kości nie jest związana ze spadkiem liczby komórek osteoprogenitorowych. Jednak populacje uzyskane od szczerów starych cechowała zmniejszona zdolność do samoodnowy in vitro, co może skutkować np. zmniejszoną liczbą osteoblastów i być odpowiedzialną za spadek kościotwórczości u zwierząt starych.

Osteoblasty ludzkie, w miarę procesu starzenia się, określanego liczbą pasażu in vitro wykazują spadek ekspresji białek, wiążących insulino-podobny czynnik wzrostu IGF, który jest ważnym stymulatorem aktywności sekrecyjnej osteoblastów [10]. Natomiast osteoblasty, uzyskane od dzieci oraz ludzi starych, chociaż nie wykazują różnic w zakresie różnicowania i proliferacji, to od osób starszych wykazują zwiększoną liczbę receptorów dla transformującego czynnika wzrostu TGF- β , charakteryzujących się zmniejszonym powinowactwem do tego ligandu [11]. Podobnie Baxter i wsp. wykazali na materiale ludzkich komórek zrębowych szpiku, że w warunkach hodowli in vitro ulegają one szybko procesom starzenia się, tracąc zdolność do proliferacji na skutek utraty telomerów [12]. Każde to z ostrożnością podchodzić do wyników badań nad biologią komórek i interpolowania wyników do warunków in vivo. Skracanie telomerów w przebiegu starzenia się ludzkich osteoblastów hodowanych in vitro potwierdzają też badania Kveiborga i wsp. [13]. Jednak nie stwierdzano ubytków telomerów w limfocytach pacjentów z osteoporozą w odniesieniu do limfocytów osób zdrowych w podobnym wieku.

Głównymi komórkami resorbującymi kość są osteoklasty. Ich powstawanie, przeżycie i aktywność osteolityczna może być skutecznie hamowana przez osteoprotegerynę (OPG), rozpuszczalny receptor z rodziny TNF. Wraz z wiekiem komórki zrębowe szpiku ludzkiego wykazują zmniejszającą się ekspresję OPG, co powoduje zwiększoną zdolność komórek zrębowych (osteoblastów) do stymulacji osteoklastów [14]. Komórki zrębowe szpiku regulują, poprzez ekspresję białek RANKL, osteoprotegerynę (OPG) i cytokinę M-CSF, proces powstawania osteoklastów (osteoklastogenezę) [15]. Hodując in vitro komórki prekursorowe osteoklastów na zrębie szpiku, pobranego od zwierząt młodych, dojrzałych i starych, stwierdzono bardzo znamienny wzrost liczby osteoklastów pod wpływem kontaktu z komórkami zrębowymi od osobników starych w odniesieniu do hodowli z zastosowaniem zrębu osobników młodych. Wraz z wiekiem dawców zrębu szpiku zwiększa się w nim ekspresja RANKL oraz M-CSF, natomiast spada ekspresja OPG. Podanie RANKL i M-CSF zwiększa wytwarzanie osteoklastów z jednojądrzastych prekursorów, zwłaszcza w populacji komórek od zwierząt starych. Tak więc proces starzenia się znacznie wzmacnia osteoklastogenezę indukowaną przez komórki osteobla-

stów, co prowadzi do zmniejszonej zdolności do samoodnowy, co z kolei może skutkować wyczerpaniem osteoblastów, a tym samym być odpowiedzialnym za zmniejszenie osteogenezy u zwierząt starszych.

W procesie ludzkiej osteoblastycznej senescencji, jak określono liczbą pasażu in vitro wykazują spadek ekspresji białek, wiążących insulino-podobny czynnik wzrostu IGF, który jest ważnym stymulatorem aktywności sekrecyjnej osteoblastów [10]. IGF jest ważnym stymulatorem aktywności sekrecyjnej osteoblastów.

Choć osteoblasty pochodzące od dzieci i dorosłych nie wykazywały różnic w zakresie proliferacji i różnicowania, osteoblasty od zwierząt starszych były charakteryzowane przez zwiększoną liczbę receptorów dla transformującego czynnika wzrostu TGF- β . Te receptory, mimo to, miały zmniejszoną powinowactwość do liganda [11]. Podobnie Baxter et al. [12] analizując ludzkie komórki szpiku kostnego wykazały, że ich szybka senescencja in vitro jest związana z utratą telomerów. Dlatego należy być ostrożnym w odniesieniu do wyników badań in vitro, które nie uwzględniają sytuacji in vivo. Ponadto Kveiborg et al. [13] zgłosił skrócenie telomerów w procesie starzenia się ludzkiej osteoblastycznej in vitro. Ciekawie jest, że utrata telomerów nie została wykazana w leukocytach pacjentów z osteoporozą.

Kość jest resorbowana głównie przez osteoklasty. Ich powstawanie, przeżycie i osteolityczna aktywność jest hamowana przez osteoprotegerynę (OPG), rozpuszczalny receptor z rodziny TNF. OPG jest produktem osteoblastycznym, w tym szpiku kostnego. Ekspresja OPG przez komórki szpiku kostnego zmniejsza się z wiekiem, co koreluje z zwiększoną aktywnością osteoklastów [14]. Komórki szpiku kostnego regulują, poprzez ekspresję białek RANKL, osteoprotegerynę (OPG) i cytokinę M-CSF, proces powstawania osteoklastów (osteoklastogenezę) [15].

W hodowli komórek prekursorów osteoklastów na warstwie szpiku kostnego od zwierząt młodych, dojrzałych i starych, stwierdzono, że najwyższa osteoklastogeneza jest obserwowana, gdy komórki prekursorowe są hodowane na warstwie szpiku kostnego od zwierząt starszych. Wraz z wiekiem zwierząt, ekspresja RANKL i M-CSF zwiększa się, natomiast ekspresja OPG zmniejsza się. Dodanie do hodowli RANKL i M-CSF zwiększa tworzenie osteoklastów z komórek prekursorowych, szczególnie z komórek prekursorowych od zwierząt starszych. Senescencja jest związana z zwiększeniem osteoklastogenezy indukowanej przez komórki osteoblastyczne [16,17].

Ludzkie osteoblasty od zwierząt młodych i starszych proliferują różnie, gdy są narażone na chemokiny, co wskazuje na rolę senescencji jako modulatora odpowiedzi osteogenicznej [18]. W celu rozwiązania pytania, dlaczego regeneracja kości u młodszych zwierząt jest szybsza niż u starszych, Cowan et al. [19] przeanalizowała niektóre parametry biologicznej aktywności osteoblastów od 2-letniego dziecka i 60-letniego człowieka. W osteoblastach pochodzących z dziecka, w podgrupie słabo zróżnicowanych komórek z niską ekspresją osteoklastyczną, stwierdzono, że osteoblasty lepiej przylegały do naczynia i proliferowały szybciej niż osteoblasty od zwierząt starszych.

styczne (zrębowe szpiku), a także zwiększa pulę prekursorów komórek osteoblastycznych [16,17].

Osteoblasty ludzkie osób młodych i starych wykazują różnice w zakresie odpowiedzi proliferacyjnej na niektóre chemokiny, co świadczy o roli procesu starzenia się w modulowaniu odpowiedzi komórek osteogennych [18]. Cowan i wsp. badając różnice leżące u podstaw szybszej regeneracji kości u ludzi młodych dokonali oceny aktywności biologicznej hodowli osteoblastów od ludzi młodych (2 dniowych!) i dorosłych w wieku 60 lat [19]. Osteoblasty dziecięce zawierały subpopulację komórek słabo zróżnicowanych, o niskiej ekspresji osteokalcyny. Osteoblasty dziecięce cechowała lepsza przylepność do podłoża i zwiększona proliferacja, a po stymulacji czynnikiem wzrostu FGF-2 – zwiększona ekspresja kolagenu typu I (pięciokrotna), osteopontyny (trzynastokrotna) i osteokalcyny (szesnastokrotna) w stosunku do osteoblastów od ludzi dorosłych. Ponadto osteoblasty noworodkowe produkowały znacznie więcej białek macierzy kostnej i wytwarzały więcej ognisk osteogenezy (tzw. „bone nodules”).

Wiek nie wpływa zasadniczo na zdolność pobudzania osteogenezy przez białka morfogenetyczne kości – BMP. Wprowadzenie tych białek pod okostną zwierząt 10, 30 i 70-tygodniowych dawało jednakowy lokalny przyrost masy tkanki kostnej [20]. Osteoblasty szczurów starych, 80-tygodniowych, silnie reagują na podanie ogólnoustrojowe lub do środowiska hodowlanego prostaglandyny E2. Już po kilkunastu dniach od podania bardzo szybko zwiększa się ich liczba oraz ilość wytwarzanego osteoidu, a komórki zrębowe szpiku starych zwierząt, poddane hodowli in vitro w obecności tej prostaglandyny wykazują zwiększoną ekspresję fosfatazy zasadowej i wytwarzają więcej ognisk osteogenezy („bone nodules”) [21,22].

ones, and following stimulation by FGF-2, the expression of collagen type 1 increased fivefold, of osteopontin 13-fold and of osteocalcin – 16-fold in comparison with the adult-derived osteoblasts. Moreover, newborn-derived osteoblasts produced more bone matrix proteins and generated more bone nodules in vitro than adult osteoblasts.

The stimulation of osteogenesis by bone morphogenetic proteins (BMP) is not age-dependent.

Subperiosteal injection of these proteins in rats aged 10, 30 and 70 weeks gave the same yield of periosteal osteogenesis [20]. Osteoblasts derived from very old (80 weeks) rats intensively responded to systemically administered prostaglandin E2 or when PGE2 was added to the tissue culture medium. Within several days the number of osteoblasts and the amount of newly synthesized osteoid increased, and the bone marrow stromal cells of aged animals cultured in vitro in the presence of PGE-2 expressed more alkaline phosphatase and produces more foci of osteogenic aggregates, named "bone nodules", than cultures of bone marrow stroma of young rats [21,22].

We thank dr Wynn Parry for linguistic revision of the text.

PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

1. Srouji S, Livne E. Bone marrow stem cells and biological scaffold for bone repair in aging and disease. *Mech Ageing Dev* 2005; 126: 281-7.
2. Stenderup K, Rosada C, Justesen J, Al-Soubky T, Dagnaes-Hansen F, Kassem M. Aged human bone marrow stromal cells maintaining bone forming capacity in vivo evaluated using an improved method of visualization. *Biogerontology* 2004; 5: 107-18.
3. Stenderup K, Justesen J, Eriksen EF, Rattan SI, Kassem M. Number and proliferative capacity of osteogenic stem cells are maintained during aging and patients with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1120-9.
4. Tanaka H, Ogasa H, Barnes J, Liang CT. Action of bFGF on mitogenic activity and lineage expression in rat osteoprogenitor cells: effect of age. *Mol Cell Endocrinol* 1999; 150: 1-10.
5. Justesen J, Stenderup K, Eriksen EF, Kassem M. Maintenance of osteoblastic and adipocytic differentiation potential with age and osteoporosis in human marrow stromal cell cultures. *Calcif Tissue Int* 2002; 71: 36-44.
6. Stenderup K, Justesen J, Clausen C, Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone* 2003; 33: 919-26.
7. Muschler GF, Nitto H, Boehm CA, Easley KA. Age- and gender-related changes in the cellularity of human bone marrow and the prevalence of osteoblastic progenitors. *J Orthop Res* 2001; 19: 117-25.
8. Laskela HV, Risteli J, Niskanen S, Koivunen J, Ivaska KK, Lehenkari P. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311: 10083-13.
9. Bellows CG, Pei W, Jia Y, Heersche JN. Proliferation, differentiation and self-renewal of osteoprogenitors in vertebral cell populations from aged and young female rats. *Mech Ageing Dev* 2003; 124: 747-57.
10. Kveiborg M, Flyvbjerg A, Rattan SI, Kassem M. Changes in the insulin-like growth factor-system may contribute to in vitro age-related impaired osteoblast functions. *Exp Gerontol* 2000; 35: 1061-74.
11. Batge B, Feydt A, Gebken J i wsp. Age-related differences in the expression of receptors for TGF-beta in human osteoblast-like cells in vitro. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000; 108: 311-5.
12. Baxter MA, Wynn RF, Jowitt SN, Wraith JE, Fairbairn LJ, Bellantuono I. Study of telomere length reveals rapid aging of human marrow stromal cells following in vitro expansion. *Stem Cells* 2004; 22: 675-82.

13. Kveiborg M, Kassem M, Langdahl B, Eriksen EF, Clark BF, Rattan SI. Telomere shorteninf during aging of human osteoblasts in vitro and leukocytes in vivo: lack of excessive telomere loss in osteoporotic patients. *Mech Ageing Dev* 1999; 106: 261-71.
14. Makhluf HA, Mueller SM, Mizuno S, Glowacki J. Age-related decline in osteoprotegerin expression by human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 268: 669-72.
15. Włodarski KH, Włodarski P. Fuzja prekursorów osteoklastów oraz regulacja aktywności osteoklastów dojrzałych. *Postępy Biologii Komórki* 2006; 33: 273-284.
16. Cao J, Venton L, Sakata T, Halloran BP. Expression of RANKL and OPG correlates with age-related bone loss in male C57BL/6 mice. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 270-7.
17. Cao JJ, Wronski TJ, Iwaniec U i wsp. Aging increases stromal/osteoblastic cell-induced osteoclastogenesis and alters the osteoclast precursor pool in the mouse. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 1659-68.
18. Lisignoli G, Piacentini A, Toneguzzi S I wsp. Age-associated changes in functional response to CXCR3 and CXCR5 chemokine receptors in human osteoblasts. *Biogerontology* 2003; 4: 309-17.
19. Cowan CM, Quarto N, Warren SM, Salim A, Longaker MT. Age-related changes in the biomolecular mechanisms of calvarial osteoblast biology affect fibroblast growth factor-2 signaling and osteogenesis [errata opublikowana w: *J Biol Chem.* 2003; 278: 45040]. *J Biol Chem* 2003; 278:32005-13.
20. Matsumoto A, Yamai K, Kawanami M, Kato H. Effect of aging on bone formation induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2 combined with fibrous collagen membraned at subperiosteal sites. *J Periodontal Res* 2001; 36: 175-82.
21. Cui L, Ma YF, Yao W i wsp. Cancellous bone of aged rats maintains its capacity to respond vigorously to the anabolic effects of prostaglandin E2 by modeling-dependent bone gain. *J Bone Miner Metab* 2001; 19: 29-37.
22. Keila S, Kelner A, Weinreb M. Systemic prostaglandin E2 increases cancellous bone formation and mass in aging rats and stimulates their bone marrow osteogenic capacity in vivo and in vitro. *J Endocrinol* 2001; 168: 131-9.