

TGF- β 调节破骨细胞性骨吸收的研究进展

赵宁侠 于世凤

摘要 本文介绍了转化生长因子(transforming growth factor- β TGF- β)及其受体的一般特点,并且就 TGF- β 对破骨细胞的形成、分化、破骨细胞性骨吸收及破骨细胞的趋化作用进行全面综述,同时也概述了破骨细胞合成、分泌及活化 TGF- β 的作用。此外,分析了 TGF- β_1 及其 I 型受体在骨巨细胞瘤中的表达和作用,就其中破骨细胞的来源进行了讨论。

关键词 TGF- β 转化生长因子 破骨细胞 骨吸收

自 Assoian 等^[1]首次发现一种 25kD 的蛋白(TGF- β)能改变正常鼠的肾脏成纤维细胞的表型以来,关于 TGF- β 的生物学功能的研究越来越多。TGF- β 可抑制上皮细胞、内皮细胞和造血细胞的增殖,同时又能促进一些间充质细胞如:平滑肌细胞的增殖。TGF- β 不仅能控制细胞的分化、趋化及分泌和构建细胞外基质,而且也可调节炎症和免疫反应。另外,在伤口愈合、纤维化过程、肿瘤发生以及胚胎发育过程中,同样有调节作用。

TGF- β 有五型(TGF- β_1 、TGF- β_2 、TGF- β_3 、TGF- β_4 、TGF- β_5),其中 TGF- β_{1-3} 在人和哺乳类中均可发现,而 TGF- $\beta_{4,5}$ 仅在鸡和有爪蟾见到。这些 TGF- β 是一些结构相关蛋白的超家族的成员之一,这个家族还包括 activins、decapentaplegic 及骨形态发生蛋白(Bon morphogenetic protein BMP)。各型 TGF- β 有相同的生物活性,只是在氨基酸水平以及基因调控区的位置上有差别。TGF- β_1 由位于 AP-1 位点的 Fos 和 Jun 调控,TGF- $\beta_{2,3}$ 由 AP-2 位点调控。分泌的 TGF- β 大多是非活化状态的 TGF- β 前体形式。它是由 12.5kD 的亚单位与一个或多个多肽片断非共价结合形成的二聚体。该 TGF- β 前体在实验中可使用蛋白酶或将其结合蛋白分离的方法活化,但在体内 TGF- β 活化的机理仍不清楚。

通过¹²⁵I-TGF- β_1 与细胞表面结合的实验,

发现了 TGF- β 的高亲和受体。大多哺乳类细胞都有 I、II、III 型 TGF- β 受体。TGF- β 的信号传递,首先通过与 II 型受体结合,再转至 I 型受体形成一个稳定的复合物,I 型受体再在 GS 区的丝氨酸和苏氨酸残基进行单向磷酸根转移,所以,II 型受体是该信息传递的主要成分,I 型受体是 II 型受体的底物或信息传递途径的下游元件。III 型受体不直接参与信号传递,它只是在信号接近传递的受体过程中,起调节作用。

1 TGF- β 调节破骨细胞成熟分化的作用

关于 TGF- β 的功能性研究较多,但对破骨细胞的调节作用,一直有争议。Chenu 等^[2]发现低浓度 TGF- β 可抑制人骨髓培养形成破骨细胞。Sumitani 等^[3]用 TGF- β 处理的 MC3T3-E₁ 成骨细胞的条件培养液,可抑制鼠骨髓培养形成破骨细胞,说明 TGF- β 也有间接的调节作用。但 Burger 等^[4]报道,根据解剖位置及 TGF- β 处理时间的差异,TGF- β 既可刺激又可抑制鼠骨髓培养形成抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)细胞。之后,Doron 等^[5]发现,低剂量 TGF- β (10~100pg/ml)可促进骨髓培养形成破骨细胞,而高剂量 TGF- β 抑制其形成破骨细胞,完全阻断剂量为 4ng/ml。Doron 还发现骨髓培养形成破骨细胞时,加入适量的 TGF- β 抗体可使破骨细胞量明显减少,说明其间有内源性的 TGF- β ,而且内源性 TGF- β 的生理剂量可促进破骨细胞的形成分化。尽管后来 Hattersley^[6]报道,TGF- β 可抑制骨髓形成降钙素受体阳性的细

胞,但其使用剂量未作报道。由此可见,TGF- β 对破骨细胞的形成与分化具有双向性作用,生理条件下或低剂量 TGF- β 有促进作用,而高剂量 TGF- β 则起抑制作用。

前列腺素(PG)在 TGF- β 调节破骨细胞形成中起关键作用。Doron 发现骨髓培养破骨细胞时,无论是低剂量还是大剂量 TGF- β 作用,培养液内皆有 PGE₂产生并随着外源性 TGF- β 增加而增加。在低剂量 TGF- β 作用下,PG 阻断剂 indomethacin (250ng/ml)可阻断破骨细胞的形成,而加入外源性 PGE₂又可发生逆转,使破骨细胞继续形成。在大剂量 TGF- β 作用下,PGE₂阻断剂不能改变其阻断破骨细胞形成的效应。Chenu 等^[7]也曾报道大剂量的 TGF- β 对破骨细胞形成的抑制作用与 PGE₂的介导无关。由此可见,在 TGF- β 的双向作用中,其刺激作用由 PGE₂介导,而阻断作用可能是 TGF- β 的直接作用,与 PGE₂无关。

Fiorelli 等^[10]在一种白血病细胞株 FLG29.1 培养形成破骨细胞时发现,低剂量 TGF- β_1 使细胞贴壁增加,TRAP 酶活性增高,细胞对降钙素反应也明显增强。促分化的 TPA 刺激 FLG29.1 细胞后,TGF- β_1 的 mRNA 及培养液中的 TGF- β_1 蛋白增高,而 TGF- β 的抗体可阻断 TPA 诱导分化的作用,细胞 TRAP 活性及对降钙素的反应下降。因此,FLG29.1 细胞可自泌 TGF- β ,并对破骨细胞的成熟分化起促进作用,TPA 的诱导分化作用是通过 TGF- β 的介导

2 TGF- β 对破骨细胞性骨吸收的作用

TGF- β 对破骨细胞性骨吸收的作用一直存在争议。由于实验中采用的动物种类不同,或同种动物而发育阶段以及解剖位置不同,各学者的报道众说纷纭,有时结果甚至相反。在使用器官培养的模型中,Tashia 等用新生鼠颅骨培养,TGF- β (0.1~20ng/ml)可刺激 Ca²⁺释放,该作用由 PG 介导。而 Pfeischieter 等发现,在胎鼠长骨培养中,TGF- β (50~100ng/ml)不仅不刺激骨吸收,反而抑制其骨吸收,而且该作用

不依赖 PG 的介导。使用机械分离破骨细胞与骨片培养的模型中,Oreffo REC^[5]发现骨诱导因子(Osteoinductive Factor OIF 50~100ng/ml)和 TGF- β (10~20ng/ml)可抑制破骨细胞的 TRAP 酶活性,并降低自由氧离子的产生,OIF 可降低破骨细胞形成的骨吸收陷窝面积和数量,而 TGF- β 对骨吸收无任何影响。Hattersley 报道,尽管 TGF- β 抑制降钙素受体阳性细胞的形成,但这些阳性细胞骨吸收的能力却增加。为了证实 TGF- β 在不同骨组织中对骨吸收的影响,Ducudonne^[3]培养了胎鼠的长骨和颅骨,并比较其释放的 Ca²⁺浓度,结果发现,无论是颅骨还是长骨,只要骨髓腔已形成,TGF- β_1 (4~10ng/ml)促进 Ca²⁺释放,PGE₂的阻断剂可部分阻断其释放,而在破骨细胞还没进入骨髓腔形成吸收陷窝时,TGF- β_1 (1~4ng/ml)抑制 Ca²⁺释放,PGE 的阻断剂 indomethacin 对其无影响,并且,在骨膜和软骨膜中大量单核 TRAP+细胞堆积,说明 TGF- β_1 可抑制这些 TRAP+细胞-破骨细胞的前体细胞从骨膜向骨髓腔内迁移及相互融合。这与前面所述的大剂量 TGF- β 可抑制破骨细胞形成一致。由此可知,TGF- β_1 在调节破骨细胞性骨吸收中也有双向性作用,而且有 PG 介导和非 PG 介导两种方式,至于 TGF- β 采用何种作用方式,取决于破骨细胞的干细胞、前体细胞及成熟的破骨细胞在研究的组织中所占的比例。

以上可以看出 TGF- β 对破骨细胞前体抑制,而对成熟的破骨细胞骨吸收起促进作用。Berghuis^[4]等也发现,在未形成骨髓腔吸收陷窝的胎鼠长骨培养中,TGF- β_2 抑制 Ca²⁺释放和破骨细胞的移动。但不同剂量的 TGF- β 对分离的破骨细胞骨吸收影响,至今尚未见有关报道。

此外,Fiorelli 等^[10]发现 FLG29.1 细胞中有与放射标记的 TGF- β_1 结合的 TGF- β 1、II 型受体,但是经 TPA 处理分化成熟的破骨样细胞与 TGF- β_1 结合减少,说明分化成熟的细胞 TGF- β 受体表达下降,使 FLG29.1 细胞在自分泌的 TGF- β 诱导分化成熟后,对 TGF- β

的反应降低,因此,TGF- β 主要对分化早期的细胞起作用,而分化后期的成熟细胞主要以旁分泌的形式作用于其他细胞,其本身对 TGF- β 的反应降低。

在动物实验中,Christian^[11]-Beck^[12]等发现局部注射 TGF- β 促进骨质形成,而且由 P γ 介导。Beaudreuil^[13]等发现局部注射 TGF- β_1 可降低去势鼠的骨吸收。这表明 TGF- β 在体内和体外的作用有一定差异。

3 TGF- β 对破骨细胞的趋化作用

在 TGF- β 多种的功能中,还有一种十分重要的作用,即对细胞趋化的调节作用。曾经报道 TGF- β 对体外培养成纤维细胞、成骨细胞、单核细胞有趋化作用,近期 MingZheng^[14]发现,骨巨细胞瘤的条件培养液对正常鼠的破骨细胞有趋化作用,该趋化作用可被 TGF- β 的抗体部分阻断。经原位杂交发现骨巨细胞瘤中有 TGF- β_1 mRNA 表达,因此推测 TGF- β 对破骨细胞也有趋化作用。另外 TGF- β 可刺激产生细胞外基质蛋白,如胶原和纤维粘连素以及这些基质蛋白的受体,所以为细胞的迁移提供物质基础。

4 破骨细胞合成、分泌及活化 TGF- β 的作用

在破骨细胞骨吸收与成骨细胞骨形成的过程中,需要有许多因子进行调节。现已发现成骨细胞可以合成和分泌许多细胞因子,破骨细胞中是否也存在着这些细胞因子呢? Oreffo^[15]等发现破骨细胞对骨源性 TGF- β 前体有活化作用,因此人们开始研究破骨细胞中是否也存在 TGF- β 的合成和表达。Oursler^[16]发现破骨细胞中不仅有 TGF- β mRNA 的表达,在条件培养液中也有 TGF- β 蛋白,主要是 TGF- β_1 ,并且破骨细胞及其条件培养液对 TGF- β 的前体都有活化作用,该活化作用可被蛋白酶抑制剂阻断,因此认为其活化作用主要是通过蛋白酶的作用。随后 Robinson^[17]等发现在雌激素处理的破骨细胞及其条件培养液中 TGF- β 增高,且由 TGF- β_2 为主转变为 TGF- β_1 为主,该效应可通

过雌激素拮抗剂阻断,因而说明在雌激素治疗骨质疏松症时是通过 TGF- β 的介导作用。

Fiorelli 发现在 TPA 刺激 FLG29.1 细胞株诱导分化成破骨细胞时,该细胞也有 TGF- β_1 mRNA 的合成及表达,而且其分泌形式也是非活化状态的 TGF- β ,使用抗 TGF- β_1 抗体发现细胞分化受阻,因而说明破骨细胞在分化过程中有自泌及自我活化 TGF- β_1 的功能。

以上结果表明,在骨吸收及骨形成的局部微环境中成骨细胞和破骨细胞都有自泌、旁泌和活化 TGF- β 的功能,这一功能对细胞成熟分化及活化具有调节作用。

5 TGF- β 与骨巨细胞瘤

骨巨细胞瘤是发生在骨组织中由许多破骨样细胞和梭形及圆形单核细胞构成的肿瘤,许多研究发现骨巨细胞瘤中多核破骨样细胞与正常的破骨细胞一样都有降钙素受体、抗酒石酸性磷酸酶(TRAP)阳性以及在体外培养有骨吸收陷窝形成,因而认为骨巨细胞瘤中多核破骨样细胞以及少数圆形单核细胞是反应性细胞,而梭形单核细胞是肿瘤的实质成分,其中圆形单核细胞是多核破骨样细胞的前体细胞。但是骨巨细胞瘤中为什么会如此多的破骨细胞,其存在的意义又如何?至今尚不清楚。

Ming Zheng 等发现骨巨细胞瘤中破骨样细胞和单核细胞都有 TGF- β_1 mRNA 的表达,而 TGF- β II 型受体 mRNA 只在破骨细胞及圆形单核细胞中有表达,说明梭形单核细胞与破骨样细胞和圆形单核细胞之间的差异。骨巨细胞瘤的条件培养液对正常破骨样细胞及其前体有趋化作用,该趋化作用可被 TGF- β_1 抗体阻断,说明骨巨细胞瘤能合成分泌 TGF- β_1 ,并对骨髓内破骨细胞及前体有趋化作用,所以该瘤的破骨细胞是来源于骨髓的破骨细胞前体融合而成的正常破骨细胞。

由于对 TGF- β_1 无反应的细胞无 I、II 型受体,因而说明 I、II 型受体是介导 TGF- β_1 的主要受体。TGF- β II 型受体在破骨细胞及圆形单核细胞中的表达,说明该受体对破骨细胞的

趋化作用也有调节功能

以上结果表明骨巨细胞瘤是一种间质细胞性肿瘤,其中的圆形单核细胞和多核破骨细胞是由骨巨细胞瘤分泌的 TGF- β_1 趋化作用下,来源于骨髓的反应细胞,其在骨巨细胞瘤中出现的意义可能与肿瘤的生物特性有关,还有待进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 Assoian, Komoriya, Meyers. Transforming growth factor β in human platelets identification of a major storage site purification and characterization. *J Biol Chem*, 1983, 258(5):7155.
- 2 Chenu, Pefitschiter, Mundy. Transforming growth factor inhibits formation of osteoclast-like cells in long-term human marrow culture. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85:5683.
- 3 Sumitani, Hiura, Kawata. Effect of TGF- β on osteoclast formation in vitro. *J Bone Mineral Res*, [suppl.]1989, 4: s119 (Abstract).
- 4 Burger, Dieudonne, Foo. Multiple effects of TGF- β on osteoclast (oc) development and 45 -Calcium release in fetal mouse long bone rudiments. *J Bone Mineral Res*, [suppl.] 1989, 4: s289 (Abstract).
- 5 Doron, Shinar, Gideon. Biphasic effects of transforming growth factor- β on the production of osteoclast-like cells in mouse bone marrow cultures; the role of prostaglandins in the generation of these cells. *Endocrinology*, 1990, 126(6):3153.
- 6 Hattersley, Cham-Bers. Effects of transforming growth factor- β on the regulation of osteoclastic development and function. *J Bone Mineral Res*, 1991, 6(2):165.
- 7 Chenu, Kurihara, Mundy. Prostaglandin E_2 inhibits formation of osteoclast-like cells in long-term human marrow cultures but is not a mediator of the inhibitory effects of transforming growth factor- β . *J Bone Mineral Res*, 1990, 5(7):677.
- 8 Dieudonne, Foo, Vanzoelen. Inhibiting and stimulating effects of TGF- β_1 on osteoclastic bone resorption in fetal mouse bone organ cultures. *J Bone Mineral Res*, 1991, 6(5):479.
- 9 Berghuis, Dieudonne, Goes. Effects of TGF- β_2 on mineral resorption in cultured embryonic mouse long bones. 45 Ca release and osteoclast differentiation and migration. *Eur J Orthod*, 1994, 16(2):130.
- 10 Fiorelli, Ballock, Wakefield. Role for autocrine TGF- β_1 in regulating differentiating of a human leukemic cell line toward osteoclast-like cells. *J Cellular Physiology*, 1994, 160(3):482.
- 11 Christian, Yates, Mundy. In vitro effects of human recombinant Transforming growth factor- β on bone turnover in normal mice. *J Bone Mineral Res*, 1990, 5(10):1087.
- 12 Beck, Ammann, Aufdemorte. In vitro induction of bone by recombinant human Transforming growth factor-beta. *J Bone Mineral Res*, 1991, 6(9):951.
- 13 Beaudreuil, Mbalaviele, Cohen. Short-term local injections of Transforming growth factor-beta decrease ovariectomy-stimulated osteoclastic resorption in vivo in rats. *J Bone Mineral Res*, 1995, 10(6):971.
- 14 Ming Zheng, Ying Fan, Stan. Gene expression of Transforming growth factor-beta and its type I receptors in giant cell tumours of bone. *American J Pathol*, 1994, 145(5):1095.
- 15 Oreffo, Mundy, Seyedin. Activation of bone-derived latent TGF complex by isolated osteoclasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989, 158:817.
- 16 Oursler. Osteoclast synthesis and secretion and activation of latent Transforming growth factor-beta. *J Bone Mineral Res*, 1994, 9(4):443.
- 17 Robinson, Riggsb, Spelsberg. Osteoclasts and transforming growth factor-beta; estrogen-mediated isoform-specific regulation of production. *Endocrinology*, 1996, 137(2):615.