

Wnt 信号通路与成骨细胞

杨建虹 刘兢

中图分类号: R336 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)01-0072-03

摘要: 经典 Wnt 信号通路在成骨细胞的发生及骨形成过程中扮演重要角色。研究表明上调或下调 Wnt 通路中相关因子的表达或改变它们的功能,通过影响成骨细胞的发育、分化、骨基质的形成和矿化,间接影响破骨细胞的发生和骨吸收等,导致骨量减少或高骨量的变化。随着 Wnt 通路与成骨细胞发育及分化研究的深入,一系列新靶点的发现将有助于骨质疏松的治疗。笔者综述了目前 Wnt 通路与骨形成及相关疾病治疗的研究进展。

关键词: Wnt; 信号通路; 成骨细胞; 骨质疏松; 治疗

Wnt signaling pathway and osteoblast YANG Jianhong, LIU Jing. The School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China

Abstract: The Wnt/ β -catenin or canonical Wnt pathway plays an important role in the control of osteoblastogenesis and bone formation. Studies showed that the dysregulation of signaling pathways that affects osteoblast or osteoclast differentiation and function leads to either osteopenia or high bone mass. After a deep research on the Wnt signaling pathway and osteoblast, a series of new targets of anti-osteoporosis will be discovered. In the present review we summarized the current progression on the various components of the Wnt signaling pathway and bone formation as well as related disease therapy.

Key words: Wnt; Signaling pathway; Osteoblast; Osteoporosis; Therapy

骨骼系统的不断更新和改建称为骨重塑,此过程在系统或局部骨生长调节因子的作用下,处于动态平衡之中。如果成骨细胞的骨形成作用大于破骨细胞的骨吸收作用就表现为骨量增加,反之则表现为骨量减少,严重的骨量减少就会导致骨质疏松(osteoporosis, OP)。目前,抗骨质疏松的治疗主要集中在靶向破骨细胞,抑制骨吸收作用,但这并不能有效的增加骨密度及降低骨折发生的风险。因此,鉴定新的重要的成骨细胞生长调节因子,深入研究骨发育和骨重塑的分子机制,对于诊断、预防及治疗这类疾病具有重要的科学意义和社会意义。最近研究发现 Wnt 信号系统在成骨细胞的发育及分化过程中扮演重要角色。人类遗传学和动物研究表明: Wnt-LRP5/6 是骨量形成的重要调节因子,临床研究表明 Wnt 受体复合物的突变与骨密度的改变和骨质疏松性的发生密切相关,LRP5 失去功能的突变将导致

骨质疏松-假性神经胶质瘤综合征(osteoporosis-pseudoglioma syndrome, OPPG)^[1-3],而获得功能的突变将导致高骨量(high bone mass, HBM)的表型^[4,5];有关 Wnt 通路组分基因敲除和转基因鼠模型也表明经典 Wnt 通路调节成骨细胞的分化、骨基质的形成及矿化等环节并影响破骨细胞的发生和骨吸收等^[6-8]。因此, Wnt 通路与成骨细胞发育及分化的研究将有助于发现治疗骨质疏松的新靶点。笔者综述了目前 Wnt 信号系统与成骨细胞发育、分化及骨质疏松治疗等相关的研究进展。

1 Wnt 信号通路与骨疾病的治疗

随着 Wnt 信号通路与成骨细胞发育及分化研究的不断深入,以通路中的组分作为治疗骨病的靶点,吸引了众多科学家的关注。尽管激活 Wnt 通路将有可能导致肿瘤等疾病的发生,但是成骨细胞特异的 Wnt 通路的抑制因子 Dkk1 和 Sost 将可能成为首选的治疗靶点。

1.1 GSK-3 β

GSK-3 β 是丝氨酸/苏氨酸激酶,涉及多条信号通

作者单位: 230026 合肥,中国科学技术大学生命科学学院[杨建虹(目前在中国科学院研究生院生命科学院)、刘兢]

通讯作者: 刘兢, Email: yangjh@gucas.ac.cn

路包括 Wnt、受体酪氨酸激酶和 G 蛋白耦联受体等,与糖代谢、细胞周期调节、细胞增殖等相关。因此,作为骨病治疗的靶点,其特异性远低于文献[9]所报道的。GSK-3 β 的抑制剂锂和 6-溴-靛红-3'-脒(6-bromo-indirubin-3'-oxime)具有增强骨形成和骨量的作用^[10]。锂作为双极疾病的治疗已经历了半个世纪,证明了其安全性和有效性。而口服 GSK-3 α/β 双效抑制剂 LY603281-31-8 能够增强去卵巢大鼠胶原蛋白 $\alpha 1$ (I) 和 $\alpha 1$ (V)、骨连接素(osteonection)和 Runx2 的表达,明显增加皮质骨和松质骨的骨矿含量和骨密度,也使椎骨的机械性能得到改善^[11]。因此,口服小分子 GSK-3 β 抑制剂能够诱导成骨细胞的分化和骨形成,增强骨量和骨机械强度。然而,GSK-3 β 的抑制剂的特异性和剂量有待进一步研究。

1.2 Dkk1 和 Sost

激活成骨细胞特异性的 Wnt 通路,增加骨量,对于骨质疏松及相关疾病引起的骨量减少的治疗具有重要意义。在成骨细胞分化晚期,Sfrp2、Wif1、Dkk1 等 Wnt 信号调节因子表达上调,表明对成骨细胞的分化、成熟具有反馈调节作用^[12,13]。而 Dkk1 和 Sost 蛋白仅在成体鼠的成骨细胞和/或骨细胞中表达^[14,15]。因此,系统处理 Dkk1 和 Sost 将可能只影响骨组织的 Wnt 信号通路,增强骨形成,而不影响其他器官。靶向 Dkk1 和 Sost 的人源化单克隆抗体将取得良好的治疗效果。

1.2.1 Dkk1:Dickkopfs (Dkks)是分泌性的糖蛋白,人类基因组中包括 DKK1-4。Dkk1 和 Dkk4 可能抑制 Wnt 信号,Dkk2 作为 Wnt 信号的激动剂或拮抗剂,而 Dkk3 对 Wnt 通路没有影响^[16]。Dkk 与其跨膜受体 Kremen(Kremen-1 和 Kremen-2)结合,并直接结合 LRP5/6 形成三聚体后,内化,从细胞膜上除去 LRP,抑制 Wnt 信号通路。因此,Dkk1 封闭 Wnt/ β -catenin 信号诱导的成骨发生。

一系列的研究表明靶向 Dkk1 的治疗,能够增强绝经后或老年性骨质疏松,骨发育不全或癌症引起的骨丢失等骨病的骨量^[17,18]。Dkk1 的反义寡核苷酸可以增加成骨细胞的数量,降低 RANKL 的表达,减少破骨细胞的发生,增强去卵巢大鼠股骨的骨矿含量和骨密度^[19]。在黑色素瘤引起的骨病中,抗 Dkk1 的单克隆抗体将阻止骨吸收引起的骨量减少,增强骨形成,并助于控制黑色素瘤的生长^[20]。另外,炎症引起 Dkk1 的表达,抑制 Wnt 信号通路,与骨关节的损伤有关^[21]。因此,Dkks 已成为治疗骨质疏松、癌症引起的骨丢失以及骨关节疾病等制药工业

前景良好的药靶。然而,靶向 Dkk1 的治疗,对骨骼外其他器官的毒副作用仍是研究的关键。

1.2.2 Sost Sclerosteosis 是一种常染色体隐性疾病,类似于 HBM 疾病,由于编码 Sclerostin 的基因 SOST 突变所致。Sclerostin 是 Sost (sclerosteosis)基因的蛋白产物,定位于 17q12-q21,属于 CCN 蛋白家族,通过结合 LRP5/6 下调 Wnt 信号,多数还具有拮抗 BMP 的活性^[22]。丢失 Sclerostin 将导致硬化性狭窄和全身性骨皮质增生症(Sclerosteosis and van Buchem disease)^[23],表现为骨量增加。成体中 Sclerostin 的表达高度集中在骨细胞,与骨钙素(osteocalcin)的表达时间相似。由于 Sclerostin 几乎只在成骨细胞中表达,因此,成为抗骨质疏松的首选靶标。抗 Sclerostin 的单克隆抗体,在大、小鼠模型中具有良好的骨形成促进作用^[24],显示了良好的药物动力参数^[25],不久将进入临床研究。

2 展望

Wnt 信号通路通过调节成骨细胞的增殖、分化和功能等影响出生后个体骨组织的生长和发育。上调或下调这条途径中相关因子的表达或改变它们的功能将导致成骨细胞功能的改变及骨量的变化;并通过调节 OPG/RANKL 的表达,间接调节破骨细胞的功能。因此,Wnt 通路中的组分已成为抗骨质疏松治疗的靶点,受到科学家们的关注。然而,骨质疏松这类慢性疾病的治疗需要严格的安全措施,而 Wnt 通路的激活与癌症的发生密切相关,所以,靶向骨组织特异的 Wnt 通路中的组分,激活骨组织特异的 Wnt 通路的基因表达,是增加骨量,有效治疗骨质疏松及其他疾病引起的骨量减少的关键。一方面,成骨细胞特异的 Wnt 信号通路还有待进一步的研究,这将有助于发现新的成骨细胞特异的治疗靶点。另一方面,靶向成骨细胞特异的抗骨质疏松的治疗将进入一个新的阶段,预计 Sclerostin 和 Dkk1 的单克隆抗体不久将进入临床研究,特异靶向的小分子药物及其他类型的药物将层出不穷。

【参考文献】

- [1] Holmen SL, Giambernardi TA, Zylstra CR, et al. Decreased BMD and limb deformities in mice carrying mutations in both Lrp5 and Lrp6. J Bone Miner Res, 2004, 19(12): 2033-2040.
- [2] Kato M, Patel MS, Levasseur R, et al. Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. J Cell Biol, 2002, 157(2): 303-314.
- [3] Fujino T, Asaba H, Kang MJ, et al. Low-density lipoprotein

- receptor-related protein 5 (LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(1) :229-234.
- [4] Little RD, Carulli JP, Del Mastro RG, et al. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(1) :11-19.
 - [5] Van Wesenbeeck L, Cleiren E, Gram J, et al. Six novel missense mutations in the LDL receptor-related protein 5 (LRP5) gene in different conditions with an increased bone density. *Am J Hum Genet*, 2003, 72(3) :763-771.
 - [6] Bennett CN, Longo KA, Wright WS, et al. Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(9) :3324-3329.
 - [7] Babji P, Zhao W, Small C, et al. High bone mass in mice expressing a mutant LRP5 gene. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(6) :960-974.
 - [8] Yu HM, Jerchow B, Sheu TJ, et al. The role of Axin2 in calvarial morphogenesis and craniosynostosis. *Development*, 2005, 132(8) :1995-2005.
 - [9] Harwood AJ. Regulation of GSK-3: a cellular multiprocessor. *Cell*, 2001, 105(7) :821-824.
 - [10] Clement-Lacroix P, Ai M, Morvan F, et al. Lrp5-independent activation of Wnt signaling by lithium chloride increases bone formation and bone mass in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(48) :17406-17411.
 - [11] Kulkarni NH, Onyia JE, Zeng Q, et al. Orally bioavailable GSK-3 α / β dual inhibitor increases markers of cellular differentiation *in vitro* and bone mass *in vivo*. *J Bone Miner Res*, 2006, 21(6) :910-920.
 - [12] Kalajic I, Staal A, Yang WP, et al. Expression profile of osteoblast lineage at defined stages of differentiation. *J Biol Chem*, 2005, 280(26) :24618-24626.
 - [13] Vaes BL, Dechering KJ, van Someren EP, et al. Microarray analysis reveals expression regulation of Wnt antagonists in differentiating osteoblasts. *Bone*, 2005, 36(5) :803-811.
 - [14] Li J, Sarosi I, Cattle RC, et al. Dkk1-mediated inhibition of Wnt signaling in bone results in osteopenia. *Bone*, 2006, 39(4) :754-766.
 - [15] Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J*, 2005, 19(13) :1842-1844.
 - [16] Glass DA 2nd, Karsenty G. Molecular bases of the regulation of bone remodeling by the canonical Wnt signaling pathway. *Curr Top Dev Biol*, 2006, 73 :43-84.
 - [17] Tian E, Zhan F, Walker R, et al. The role of the Wnt-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med*, 2003, 349(26) :2483-2494.
 - [18] Roodman GD. New potential targets for treating myeloma bone disease. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(20 pt 2) :6270s-6273s.
 - [19] Wang FS, Ko JY, Lin CL, et al. Knocking down dickkopf-1 alleviates estrogen deficiency induction of bone loss. A histomorphological study in ovariectomized rats. *Bone*, 2007, 40(2) :485-492.
 - [20] Yacoby S, Ling W, Zhan F, et al. Antibody-based inhibition of DKK1 suppresses tumor-induced bone resorption and multiple myeloma growth *in vivo*. *Blood*, 2007, 109(5) :2106-2111.
 - [21] Diarra D, Stolina M, Polzer K, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nat Med*, 2007, 13(2) :156-163.
 - [22] Semenov M, Tamai K, He X. SOST is a ligand for LRP5/LRP6 and a Wnt signaling inhibitor. *J Biol Chem*, 2005, 280(29) :26770-26775.
 - [23] Balemans W, Ebeling M, Patel N, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Hum Mol Genet*, 2001, 10(5) :537-543.
 - [24] Ominsky M, Warmington KS, Asuncion FJ, et al. Sclerostin monoclonal antibody treatment increases bone strength in aged osteopenic ovariectomized rats. *J Bone Miner Res*, 2006, 21 (Suppl 1) :44.
 - [25] Ominsky M, Stouch B, Doellgast G, et al. Administration of sclerostin monoclonal antibodies to female Cynomolgous monkeys results in increased bone formation, bone mineral density, and bone strength. *J Bone Miner Res*, 2006, 21 (Suppl 1) :44.