

· 综述 ·

骨形成过程中两条重要的信号传导通路

明磊国 陈克明

中图分类号: R-05 R730.53 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2011)03-0275-04

摘要: Wnt 信号通路与 BMP-2 信号通路能够促进成骨细胞的分化和成骨细胞分泌的胞外基质的生物矿化,在这一过程中起着极其重要的作用。本文主要综述了,近年来对这两条信号通路研究的最新进展。

关键词: Wnt 信号通路; BMP-2 信号通路; β -catenin; Smads; Runx2; Msx2; Osterix; p38MAPK

Two important signal transduction pathways in bone formation MING Leiguo, CHENG Keming.

Institute of Orthopaedics, Lanzhou General Hospital, Lanzhou 730050, China

Corresponding author: CHEN Keming, Email: chkeming@yahoo.com.cn

Abstract: Wnt signal transduction pathway and BMP-2 signal transduction pathway are important for osteoblastic differentiation and biomineralization. They are played important role in this process. This article major summarized some newest progression about this two signal transduction pathway.

Key words: Wnt Signal Transduction Pathway; BMP-2 Signal Transduction Pathway; β -catenin; Smads; Runx2; Msx2; Osterix; p38MAPK

骨质疏松的过程是一个复杂的生化反应过程,该过程包括破骨细胞(osteoclast, OC)介导的骨吸收和成骨细胞(osteoblast, OB)介导的骨形成。骨质疏松最主要的表现就是骨吸收快于骨形成,导致骨代谢失衡、骨量丢失、骨密度下降、骨折率升高。因此骨骼健康与否也是 OB 和 OC 相互作用的结果,在这个过程中,多种细胞因子参与调节成骨与破骨过程的平衡。因此,探究 OB 和 OC 的传导通路和相关因子对骨质疏松的防治具有重要的理论和实践意义。已有的分子和遗传学研究表明:骨髓间充质干细胞的分化及成骨细胞的定型、分化涉及到信号传导和基因表达转录调节等复杂信号网络的调控。很多因子和信号通道以一种网络方式被牵涉入成骨细胞分化的调控。骨形成是骨细胞和细胞外基质之间相互作用、相互诱导分化的过程,以下信号传导通路与骨髓间充质干细胞成骨性分化和成骨细胞分化成熟及矿化有着密切的关系。

1 Wnt 信号通路

Wnt 基因编码产物所介导的信号传导通路称为

Wnt 信号通路,是一条保守的信号传导途径,其成员具有高度同源性^[1]。目前认为 Wnt 信号通路的主要组分包括细胞外因子(Wnt)、跨膜受体(frizzled)、胞质蛋白(β -catenin)及核内转录因子(TCF/LEF)等一系列蛋白,亦有其他成分参加(Fig. 1),例如 LRP5, DKK1, sFRP5, GSK3 β 等。首先细胞外因子与受体结合后,通过一系列胞质蛋白的相互作用使 β -catenin 蛋白在胞质内累积,进而进入细胞核与转录因子 TCF/LEF 共同作用激活靶基因的转录。Wnt 通路的下游靶基因多数是参与细胞增生与凋亡的基因。越来越多的研究结果表明,Wnt 信号通路在胚胎发育及骨重建过程中起着至关重要的作用。Wnt 蛋白可被分为两类:第一类是激活经典的 Wnt 蛋白合成物(FZD)和低密度脂蛋白(LDL)受体相关蛋白 LRP5 或 LRP6 的形成^[2,3];非经典的 Wnt5a 结合 FZD 蛋白激活异源性三聚体 G-蛋白,增加了细胞内蛋白激酶 C 依赖机制的胞内钙浓度,或诱导肌动蛋白细胞骨架中依赖 Rho 或 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)的改变^[4]。

目前发现至少有 3 种信号传递途径:Wnt/ β -catenin 途径(经典的 Wnt 信号传导途径)、Wnt/ Ca^{2+} 途径和 Wnt/JNK/9 细胞骨架重排途径(planar cell polarity pathway, PCP pathway)。Bain 等^[5]发现

作者单位: 730050 兰州,兰州军区兰州医院骨科研究所
通讯作者: 陈克明, Email: chkeming@yahoo.com.cn

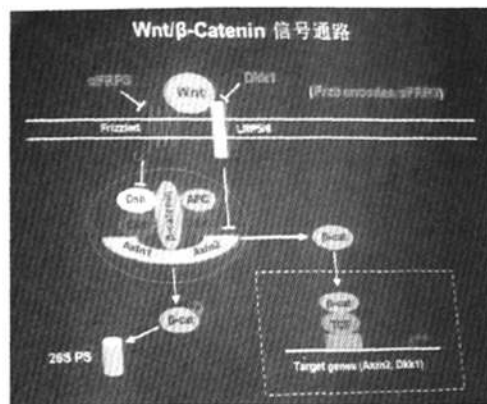


Fig. 1 Wnt signaling

C3H10T1/2(一种可以分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞等的多潜能干细胞系)在 BMP-2 的作用下可以分化为成骨细胞,在此过程中,BMP-2 可以上调 β -catenin,这表明 β -catenin 在成骨前体细胞及成骨细胞增殖分化过程中发挥作用,并受 BMP-2 的调节。Wnt/ β -catenin 信号途径对于未分化的间充质干细胞的作用在于增强其碱性磷酸酶(ALP)活性。Gabriel 等^[6]则认为, β -catenin 蛋白对于间充质干细胞的成骨分化提供了一种分子诱导信号,并且通过实验证实, β -catenin 通过增强间充质干细胞对于 BMP-2 的应答来诱导其向成骨细胞分化。值得注意的是,在发挥成骨作用过程中 β -catenin 起重要作用,是成骨细胞分化及骨形成中的枢纽分子。其作用包括更新干细胞^[7],刺激前成骨细胞复制,诱导成骨细胞形成^[8],及抑制成骨细胞和骨细胞凋亡等^[9]。这些不同结果的出现是因为 Wnt/ β -catenin 信号通过生命不同阶段不同机制调节骨发育^[10],大鼠模型在成骨细胞生成的早期和晚期定向摘除 β -catenin 的研究结果有力支持这一观点。 β -catenin 在成骨细胞形成早期阶段是必须的, β -catenin 缺乏使间充质细胞前体细胞的命运转向软骨形成^[10,11]。为了检测 β -catenin 在成骨细胞发展后期的重要性,Moon 等^[12]通过不同的大鼠模型证实了 β -catenin 通过影响骨保护素和 RANKL 的表达来调节成骨细胞分化。

2 BMP-2 信号通路

BMP 是一种广泛存在于骨基质中的酸性糖蛋白,是转化生长因子(TGF- β)超家族中最大的一族,目前已有 20 余种成员。其中 BMP-2 是促进骨形成和诱导成骨细胞分化最重要的细胞外信号分子之

一,它通过激活 Smads 信号传导和调节成骨基因转录而发挥成骨作用,可上调 66 种基因表达,其中包括 Smad6、Smad7、Msx2 等 13 种相关转录因子^[13]。Smads 家族是 BMP 信号传导蛋白,分为 Smad1~9,其中 Smad2 和 Smad3 可传递 TGF- β /激活素信号,Smad1、Smad5、Smad8 和 Smad9 调节 BMP 信号传导(Fig. 2)。Smads 蛋白家族可将 TGF- β 信号由细胞膜传至细胞核,BMP 激活 Smads,从而诱导核内成骨基因的表达^[14]。Runx 是调控间充质干细胞向成骨细胞分化的特异性转录因子,包括 Runx1、Runx2 和 Runx3,特别是 Runx2 是 BMP-2 的靶基因,是骨髓间充质干细胞(BMSCs)和 OB 分化、骨发育的重要调节因子,在成骨细胞分化过程中起重要作用^[15]。Msx 成员包括 Msx1、Msx2 和 Msx3,Msx2 是一种转录因子的同源结构域,存在于颅骨和股骨成骨细胞中;BMP 诱导的 Msx2 在骨形成和成骨细胞分化中起非常重要的作用,可刺激 MSCs 成骨性分化,但其成骨作用很复杂^[16]。BMP 诱导 p38MAPK 直接磷酸化转录因子 Runx2、Osterix,或间接激活另外一些激酶使下游基因磷酸化来表达成骨特异性分子^[17,18]。Osterix 是特殊蛋白转录家族成员,具有锌指结构,成骨细胞特异性转录因子,在所有发育的骨细胞和成骨细胞中表达。Osterix 受 BMP 调节,BMP-2 通过转录因子 Runx2 和 Msx2 调节 Osterix 的表达^[19]。

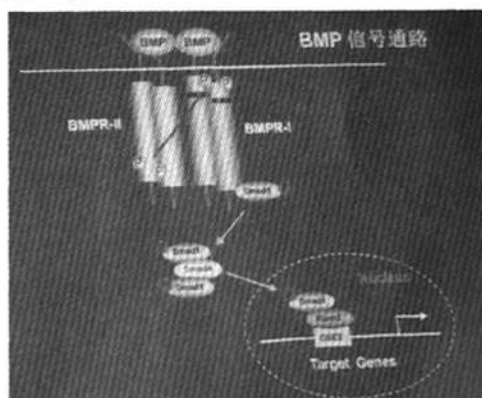


Fig. 2 BMP signaling

2.1 BMP-2/Smads/Runx2/Osterix 通路

BMP 信号主要通过 BMP 与以异二聚体形式存在的 I 型和 II 型苏氨酸/丝氨酸激酶受体结合而传导,激活细胞核上的 Smads 复合物而调节靶基因;BMP 信号受 R-Smad(Smad1、Smad5、Smad8) 和 Co-Smad(Smad4) 调节,两者的复合物特异性增强序列

的相互作用并激活基因表达。BMP 激活 Smads 后通过远端启动子和近端启动子启动 Runx2 的表达, Runx2 羧基端在调节成骨细胞基因表达方面涉及 G 蛋白偶联受体^[20], 其中第 391 ~ 432 位氨基酸区域是 BMP-2 信号所必须的^[21]; Galindo 等^[22]研究发现 Runx2 的水平对细胞周期的影响, G1 期最高, S 期和有丝分裂期最低。Runx2 的水平决定了骨骼成熟程度及转换率^[23]。

Smads 与 Runx2 相互作用可以诱导成骨细胞分化, 且 BMP-2 与 Runx2 对成骨细胞的分化具有协同作用。Yang^[24] 和 Phimpililai 等^[25] 分别通过 Runx2 转导和转染研究发现, 多种成骨细胞标志蛋白增加, BMP 增强 Runx2 的转录, Osterix 作为 Runx2 的下游基因发挥成骨作用, 启动成骨基因。BMP 在一定条件下可以诱导 Runx2 的表达, 但 BMP 并不依赖于 Runx2 的表达。

2.2 BMP-2/Smads/Msx2/Osterix 通路

Matsubara 等^[26] 的研究发现, Runx2 低表达时, BMP-2 也可以上调 Msx2, 通过 Smads 信号传导发挥成骨作用。Msx2 能够双向调节成骨细胞的分化, 通过上调 Osterix 来发挥成骨作用。Msx2 对成骨细胞成骨性分化影响较复杂, Cheng 等^[27] 发现 Msx2 也可以增强 Wnt 信号通路促进骨源细胞向成骨细胞分化。Msx2 这种成骨作用不依赖于 Runx, 而是直接通过 Smads 信号传导, 激活 Osterix 发挥作用。

2.3 BMP-2/p38MAPK/Runx2/Osterix 通路

此途径是与 Smads 途径并列存在的途径, BMP-2 信号与 BMPR 结合后, 不经过 Smads 传导而与之相并列独立的途径。当 BMP-2 与细胞表面具有高亲和性的 BMPR-I 连接形成复合体, 并通过 BMPR-I 结合胞质中游离的 BMPR-II 共同形成异聚体 BISC (BMP-2 induced signaling complex), BMPR-I 通过桥蛋白 XIAP、TAB1 再与 TAK1 间接连接, TAK1 激活 p38 MAPK, 转导 BMP 的信号途径^[28]。实验证明, 抑制 p38 MAPK 可抑制碱性磷酸酶、骨钙素的表达, 成骨分化延迟; p38 MAPK 通过直接磷酸化转录因子 Runx2、Osterix, 或间接激活另外一些激酶继而使下游基因磷酸化, 表达成骨特异性分子^[29]。

3 小结

成骨细胞的分化成熟及矿化是骨发生和骨折愈合的基础, 该过程通过主要的信号传导途径来启动骨特异性转录因子和生长因子的表达, 进而促进成骨并完成骨修复功能。本文综述了影响成骨细胞

成熟分化的 Wnt 通路与 BMP-2 信号转导通路及其影响因素, 两条通路在骨髓基质干细胞向成骨细胞分化和成骨细胞的分化成熟方面起重要作用; 两者之间的关系也有所研究 (Fig. 3), 但之间的确切关系还有待深入研究, 研究通路相关蛋白和影响通路的因子可能作为开发抗骨质疏松类药物或促进骨愈合药物的靶标, 为临床应用提供依据, 同时也为抗骨质疏松药物研究和其分子机制的研究提供依据。

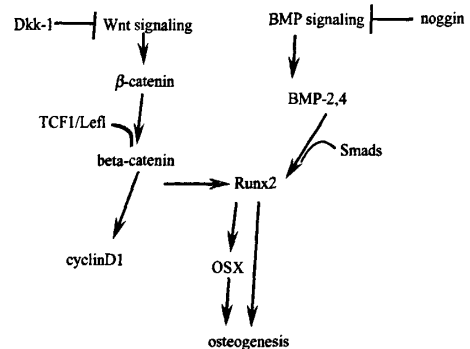


Fig. 3 Wnt signaling and BMP signaling

【参考文献】

- [1] Cadigan KM, Nusse R. Wnt signaling: a common theme in animal development. *J Genes*, 1997, 11:3286-3305.
- [2] Tamai KM, Semenov Y, Kato C, et al. LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *J Nature*, 2000, 407:530-535.
- [3] He XM, Semenov K, Tamai, et al. LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/beta-catenin signaling: arrows point the way. *J Development*, 2004, 131:1663-1677.
- [4] Veeman MT, Axelrod RT, Moon. Functions and mechanisms of betacatenin-independent Wnt signaling. *J Dev Cell*, 2003, 5: 367-377.
- [5] Bain G, Muller T, Wang X, et al. Activated beta-catenin induces osteoblast differentiation of 3H10T1/2 cells and participates in BMP2 mediated signal transduction. *J Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 301 (1): 84.
- [6] Gabriel M, Shaimin S, Joseph P, et al. β-catenin and BMP-2 Synergize to Promote Osteoblast Differentiation and New Bone Formation. *J Cellular Biochemistry*, 2005, 94: 403.
- [7] Reya T, Clevers H. Wnt signaling in stem cells and cancer. *J Nature*, 2005, 434:843-850.
- [8] Kato M. Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. *J Cell Biol*, 2002, 157:303-314.
- [9] Bodine PV. The Wnt antagonist secreted frizzled-related protein-1 is a negative regulator of trabecular bone formation in adult mice.

- J Mol Endocrinol, 2004, 18:1222-1237.
- [10] Krishnan, Macdougald. Regulation of bone mass by Wnt signaling. J Clin Invest, 2006, 116:1202-1209.
- [11] Hill TP, Spater D, Taketo MM, et al. Canonical Wnt/beta-catenin signaling prevents osteoblasts from differentiating into chondrocytes. J Dev Cell, 2005, 8:727-738.
- [12] Glass DA. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. J Dev Cell, 2005, 8:751-764.
- [13] Liu T, Gao Y, Sakamoto K, et al. BMP-2 promotes differentiation of osteoblasts and cobondroblasts in Runx2-deficient cell lines. J Cell Physiol, 2007, 211(3):728-735.
- [14] Nohe A, Keating E, Knaus P, et al. Signal transduction of bone morphogenetic protein receptors. J Cell Signal, 2004, 16(3):291-299.
- [15] Jeon EJ, Lee KY, Choi NS, et al. Bone morphogenetic protein-2 stimulates Runx2 acetylation. J Biol Chem, 2006, 281(24):16502-16511.
- [16] Ichida F, Nishimura R, Hata K, et al. Reciprocal roles of Msx2 in regulation of osteoblast and adipocyte differentiation. J Biol Chem, 2004, 279(32):34015-34022.
- [17] Hu YY, Chan E, Wang SX, et al. Activation of p38 mitogenactivated protein kinase is required for osteoblast differentiation. J Endocrinology, 2003, 144:2068-2074.
- [18] Lee KS, Kim HJ, Li QL, et al. Runx2 is a common target of transforming growth factor β_1 and bone morphogenetic protein2, and cooperation between Runx2 and Smad5 induces osteoblast-specific gene expression in the pluripotent mesenchymal precursor cell line C2C12. J Mol Cell Biol, 2000, 20:8783-8792.
- [19] Ulsamer A, Orton MJ, Ruiz S, et al. BMP-2 induces Osterix expression through up-regulation of Dlx5 and its phosphorylation by p38. J Bio Chem, 2008, 238(7):3816-3826.
- [20] Teplyuk NM, Galindo M, Teplyuk VI, et al. Runx2 determines G protein-coupled signaling pathways to control growth of osteoblast progenitors. J Bio Chem, 2008, 283(41):27585-27597.
- [21] Bae JS, Gutierrez S, Narla R, et al. Reconstitution of Runx2/Cbfa1-null cells identifies a requirement for BMP-2 signaling through a Runx2 functional domain during osteoblast differentiation. J Cell Biochem, 2007, 100(2):434-449.
- [22] Galindo M, Pratap J, Young DW, et al. The bone specific expression of Runx2 oscillates during the cell cycle to support a G1-related antiproliferative function in osteoblast progenitors. J Bio Chem, 2005, 280(21):20274-20285.
- [23] Maruyama Z, Yoshida CA, Furuichi T, et al. Runx2 determines bone maturity and turnover rate in postnatal bone development and is involved in bone loss in estrogen deficiency. J Dev dyn, 2007, 236(7):1876-1890.
- [24] Yang S, Wei D, Wang D, et al. *In vitro* and *in vivo* synergistic interactions between the Runx2 and transcription factor and bone morphogenetic protein-2 in stimulating osteoblast differentiation. J Bone Miner Res, 2003, 18(4):705-715.
- [25] Phimpilai M, Zhao Z, Boules H, et al. BMP signal is required for Runx2 dependent induction of the osteoblast phenotype. J Bone Miner Res, 2006, 21(4):637-646.
- [26] Matsubara T, Kida K, Yamaguchi A, et al. BMP2 regulates Osterix through Msx2 and Runx2 during osteoblast differentiation. J Bio Chem, 2008, 283(43):29119-9125.
- [27] Cheng SL, Shao JS, Cai J, et al. Msx2 exerts bone anabolism via canonical Wnt signaling J Bio Chem, 2008, 283(29):20505-20522.
- [28] Hagsel S, Schmitt S, Hartung A, et al. Initiation of Smad-dependent and Smad-independent signaling via distinct BMP receptor complexes. J Bone Joint Surg Am, 2003, 85:44-51.
- [29] Hu YY, Chart E, Wang SX, et al. Activation of p38 mitogenactivated protein kinase is required for osteoblast differentiation. J Endocrinology, 2003, 144:2068-2074.

(收稿日期: 2010-09-06)