

# Runx2 基因参与骨代谢相关通路的研究进展

陈伟健<sup>1</sup> 晋大祥<sup>2\*</sup> 谢炜星<sup>2</sup> 温龙飞<sup>1</sup> 李钺<sup>1</sup> 任东成<sup>1</sup> 丁金勇<sup>2</sup> 詹晓欢<sup>1</sup> 许伟鹏<sup>1</sup> 黄永青<sup>1</sup>

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405
2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405

中图分类号: R336 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 04-0557-04

**摘要:** 随着老龄化时代的到来,骨质疏松症成为人们研究的热点,而 Runx2 基因作为一种成骨分化特异性转录因子,参与多种信号通路调控成骨分化的过程。本文仅就 Runx2 基因参与转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)通路、Notch 信号通路及 Wnt 信号通路的研究进展进行综述。

**关键词:** Runx2 基因;骨代谢;信号通路

## Advance in the research of Runx2 gene in bone metabolism-related pathway

CHEN Weijian<sup>1</sup>, JIN Daxiang<sup>2\*</sup>, XIE Weixing<sup>2</sup>, WEN Longfei<sup>1</sup>, LI Yue<sup>1</sup>, REN Dongcheng<sup>1</sup>, DING Jinyong<sup>2</sup>, ZHAN Xiaohuan<sup>1</sup>, XU Weipeng<sup>1</sup>, HUANG yongqing<sup>1</sup>

1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405
2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

\* Corresponding author: JIN Daxiang, Email: jindaxiang@126.com

**Abstract:** With the coming of aging era, osteoporosis has become a hot topic. Runx2 gene, as a specific transcription factor of bone differentiation, is involved in a variety of signaling pathways regulating bone differentiation. This paper reviews the involvement of Runx2 gene in transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) / bone morphogenetic protein (BMPs) signaling pathway, Notch signaling pathway, and Wnt signaling pathway.

**Key words:** Runx2 gene; Bone metabolism; Signaling pathway

## 1 Runx2 的介绍

Runx2 称为核心结合因子 a1 或多瘤病毒增强子结合蛋白及急性骨髓性白血病因子 3,属于 runt 结构域基因家族成员之一。目前人类发现该家族有三个成员,即 Runx1、Runx2、Runx3。其中与骨代谢密切相关的是 Runx2。Runx2 基因根据起始氨基酸序列的不同分为 3 种蛋白异构体,分别是 Cbfa1/P56 (I 型 Runx2), Cbfa1/P57 (II 型 Runx2) 和 Osf2/Cbfa1 (III 型 Runx2)。虽然它们的 3' 端与 runt 结构域一样,但 5' 端即 N 端序列则不同,介导的转录调控也不同。Runx2 作为一种成骨分化特异性转录因

子,能够调控众多基因的转录。Runx2 表达是间质细胞向成骨细胞谱系分化的必要和充分条件,成骨细胞早期分化主要受 Runx2 的转录表达调控,成骨细胞(osteoblast, OB) Runx2 缺失,其分化完全被抑制,不发生骨膜成骨和软骨内成骨。研究<sup>[1,2]</sup>认为,在成骨细胞分化的初期,Runx2 基因触发骨基质蛋白的形成,如 I 型胶原、骨桥蛋白、骨钙素和骨涎蛋白等,但同时又使成骨细胞维持在较早期阶段而阻止其进一步分化,Runx2 的作用是提供大量的未成熟 OB。

## 2 Runx2 在骨代谢相关作用信号转导通路

骨髓间充质干细胞成骨分化是一个复杂的过程。第一,骨祖细胞分化为成骨前体细胞,形成成熟 OB。成熟 OB 可以分泌各种细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和矿化 ECM。在骨髓间充质干细胞成骨分化过程中,存在多种信号通路调

基金项目: 广东省科技厅资助项目(20160226);广东省中医药局科研课题(E1-KFJ110151K49);广东省医学科学技术研究基金项目(E1-6206-17-110-005)

\* 通讯作者: 晋大祥, Email: jindaxiang@126.com

控成骨分化过程<sup>[3]</sup>,其中 Runx2 是重要的成骨转录因素,在早期成骨分化起决定性作用并已成为其分化标志物。一些信号通路和细胞因子参与细胞分化,而成骨微环境也影响成骨分化。越来越多的研究发现 Runx2 参与这些通路,与之密切相关的信号通路有 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路、Notch 信号通路及 Wnt 信号通路,Runx2 在这些通路中充当一个连接点<sup>[4]</sup>。

### 2.1 Runx2 与 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路

BMP 是 TGF- $\beta$  家族的成员之一。这种从骨提取的细胞外因子是骨形态发生最早期的信号分子,其中与骨形成最密切相关的是 BMP-2。BMP 可通过增加 OB 分化标志酶-碱性磷酸酶的活化和骨钙蛋白等基因的表达,诱导未分化的骨髓间充质干细胞分化成骨,并可促进 OB 成熟 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路包括 I 型和 II 型丝氨酸苏氨酸激酶受体激活,从而磷酸化细胞内 Smad 蛋白<sup>[5]</sup>。BMP 可通过内分泌和旁分泌方式诱导成骨。细胞外 BMP 可能与磷酸化受体(如 BMPR-IA 和 BMPR-IB)来激活骨髓间充质干细胞下游细胞因子包括 Smad1/5/8,丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK),使信号通路激活。

这些途径中,Smad1/5/8 信号通路是一个典型的成骨相关通路。Smad1、Smad 5 通过与 I 型和 II 型丝氨酸苏氨酸激酶受体结合后直接磷酸化,接着与 2 个或 1 个 R-Smad 和 1 个 Smad 4 以异源三聚体或异源二聚体的形式形成 Smads 复合物,然后转移到细胞核内。这种复合物可能与核内 Runx2 协作或单独作用诱导成骨相关基因表达,调控骨髓间充质干细胞成骨分化<sup>[6]</sup>。Smads 复合物可以识别并结合到 Runx2 在 C 端的 Smad 结合区域(Smad interacting domain, SMID)和核基质转导信号结合位点(nuclear matrix targeting signal, NMTS)起作用,显著增加 Runx2 的转录特异性,增加 Runx2 的转录表达<sup>[7]</sup>。Dai 等<sup>[8]</sup>研究证实金雀异黄酮可通 BMP2/SMAD5/RUNX2 通路促进成骨分化。Smad 复合物也能激活 JunB(Runx2 上游因子)间接地激活 Runx2 的表达。该通路被 Smad6、7 负反馈调控,Smad6、7 从细胞核进入细胞质,与 I 型受体结合,竞争性干扰 Smad1/5/8 募集和磷酸化,并同时抑制 Smad 复合物形成和活性。Smad6、7 可与泛素化连接酶 Smurf E3 相作用,使其结合到 I 型受体,导致受体降解,终止信号传导<sup>[9]</sup>。这些途径都间接抑制 Runx2 表达。

MAPK 是一组丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,MAPK 信号通路则是一个非典型的 BMP 信号通路,MAPK 通路主要包括 MAPK 激酶激酶(MAP kinase kinase, MKKK)、MAPK 激酶(MAP kinase kinase, MKK)和 MAPK,这三种激酶能依次激活,其中 MAPK 由胞外信号调节激酶 1(extracellular signal-related kinase 1, ERK1)、ERK 2、p38 MAPK、JNK 和 ERK5 等组成。ERK 和 p38 MAPK 可促进 Runx2 磷酸化,诱导骨髓间充质干细胞成骨分化。在近年人和大鼠骨髓间充质细胞实验中发现力学信号传导可通过 MAPK 信号通路转变成生物学信号,使 Runx2 磷酸化,促进成骨,进一步解释力学刺激如何在增加骨密度和强度方面起重要的作用,Runx2 基因表达的增强更被认为是力学刺激在成骨细胞内作用的“终点”<sup>[1]</sup>。血管内皮生长因子-C(vascular endothelial growth factor-c, VEGF-C)对骨缺损修复具有潜在的治疗价值。研究发现 VEGF-C 干预能显著增加 Runx2 的表达,促进骨髓间充质干细胞矿化的。进一步研究知道,VEGF-C 诱导骨髓间充质干细胞的 VEGFR2 和 VEGFR3 的磷酸化。此外,抑制 ERK 信号通路有效地抑制 VEGF-C 诱导 Runx2 表达。这些结果表明,VEGF-C 是通过 VEGFR2 和 VEGFR3 介导,以及激活 ERK 信号通路促进 Runx2 表达,诱导骨髓间充质干细胞成骨的<sup>[10]</sup>。胰岛素样生长因子又称生长调节素,能激活 ERK1/2,进而激活 MAPK 通路,使 Runx2 的活性增加,Runx2 mRNA 表达明显上调,对骨形成有很强的促进作用,但阻断 MAPK 通路后,可完全阻断对 Runx2 的作用。越来越多的证据发现成骨细胞分泌大量的生长因子如成纤维细胞生长因子-2、类胰岛素生长因子-1 等可通过 MAPK 通路来调节 Runx2 的表达<sup>[11]</sup>。而肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )抑制成骨的机制也正是通过该通路。TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$  在 MAPK 信号通路上可能结合并激活 p38, ERK1/2 和 JNK1/2,抑制 Runx2 的表达,从而抑制成骨。Huang 等<sup>[2]</sup>研究证实 TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$  可激活 MAPK 通路减少 BMP-2 诱导 Runx2 的表达,导致成骨分化抑制。

### 2.2 Runx2 与 Notch 信号通路

Notch 信号通路包括 Notch 配体(DSL 蛋白),Notch 受体,CSL-DNA 结合蛋白和 Notch 效应分子。Notch 信号通路是一种保守的信号传导通路,参与多种细胞过程。当 Notch 配体结合其受体,Notch 信号通路被激活,Notch 受体被酶切于细胞膜外,然后释放出与 Notch 配体连接的胞外部分,随后在  $\gamma$ -

分泌酶作用下胞内段被酶切,形成可溶性的 NICD (notch intracellular domain, NICD) 转移到细胞核,结合转录因子 CSL,形成 NICD/CSL 转录激活复合物,然后激活下游靶基因主要以 HES 家族成员为主,包括 HES1, HES5, HEY1 等,发挥相应转录反应<sup>[12]</sup>。Notch 信号通路既能促进成骨分化也能抑制成骨分化。目前许多学者认为,Notch 的成骨潜能可能会随时间变化的,Notch 信号通路在早期成骨分化阶段可能起促进作用,而在后期成骨分化阶段却抑制成骨分化,以此来维持骨髓间充质干细胞未分化状态,促进骨髓间充质干细胞增殖,增加干细胞池的细胞,提高其成骨潜能<sup>[13-14]</sup>。在 Notch 信号通路中,受体 Notch-1 和配体 Jagged-1 蛋白的表达增加,Notch 信号通路被激活,进而促进 Runx2 表达增高,促进成骨分化。内源性甲状旁腺素 (parathyroid hormone, PTH) 是一种由甲状旁腺分泌的多肽类激素,PTH 在骨形成中有重要作用。研究<sup>[15]</sup>发现 PTH 可提高骨髓间充质干细胞中 Notch 信号通路表达,通过 Jagged1/Notch1 通路,使 Runx2 表达增高,促进成骨细胞分化,增强成骨细胞功能。Notch 信号通路介导抑制成骨分化时,HEY 与 HES 的效应分子可结合到 Runx2,并抑制其转录活性,抑制成骨分化。相反,Runx2 的 N-末端结构域能与 Notch1 的 N-末端结构域结合并使 Notch1-IC-RBP-Jk 复合物分离,抑制 Notch1 的转录反应,在成骨分化过程中作为 Notch 信号通路的一个抑制因子<sup>[16]</sup>。

### 2.3 Runx2 和 Wnt 信号通路

Wnt 家族属于原癌基因,由至少 19 个保守的分泌糖蛋白组成。根据 Wnt 蛋白转导信号的方式,Wnt 信号转导途径可分为经典 Wnt 信号通路和非经典的 Wnt 信号通路。在经典 Wnt 信号通路中,Wnt 与 Frizzled 受体结合并募集 LRP5/6 受体,形成复合体促进 GSK-3 $\beta$  磷酸化,抑制细胞内糖原合成酶激酶  $\beta$  的活性,阻断  $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 降解,导致  $\beta$ -catenin 积累。积累的  $\beta$ -catenin 转移到细胞核中,激活 TCF/LEF 转录。非经典 Wnt 信号通路则是独立的  $\beta$ -catenin,磷脂酶 C (phospholipase C, PLC) 和蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 可能释钙进入细胞质发挥作用。Wnt 信号通路具有强大的诱导成骨功能。Wnt3a 和 Wnt 10 a 可激活经典 Wnt 信号通路,而 Wnt4a 和 Wnt 5 a 可激活非经典 Wnt 信号通路。这两种途径均可促进 Runx2 表达,促进成骨分化,抑制 Wnt 信号通路能抑制骨形成<sup>[17,18]</sup>。成纤维细胞生长因子 -2 (Fibroblast growth factor-2,

FGF-2) 除了 ERK 信号通路,还能通过 PKC 信号通路来激活 Runx2 和诱导其表达,因此被认为是 Runx2 的靶基因<sup>[19]</sup>。Cai 等<sup>[20]</sup> 研究发现 Wnt / $\beta$ -catenin 信号通路能直接调节 Runx2 基因在高磷环境下表达促进血管平滑肌细胞成骨分化。Wnt 信号通路对 Runx2 的不同影响可能与不同的细胞类型和不同分化阶段相关。如 OB 在 FGF-2 长期作用下,其矿化被明显抑制<sup>[21]</sup>。

综上所述,Runx2 能通过参与 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路、Notch 信号通路及 Wnt 信号通路调节骨代谢,对骨代谢及骨重塑研究具有十分重要的意义。但 Runx2 的研究仍处于初级阶段,对其精确的调节机制也未完全清楚,并且在多种骨代谢通路下发现参与调节骨代谢的 Runx2 在骨形成有促进作用也有抑制作用,具体机理也未完全清楚。探究 Runx2 在骨形成方面双向调节的具体机理和影响因素,如何提高促进 OB 分化及避免抑制 OB 分化,是今后防治骨质疏松症的药物研究的一个方向和热点。

### 【参 考 文 献】

- [1] 唐欢,许海甲,侯煜东,等. Runx2 基因对骨代谢调控的研究进展. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(12): 1501-1505.  
Tang H, Xu HJ, Hou YD, et al. Progress in the study of the regulation of Runx2 gene on bone metabolism. Chin J Osteoporos, 2014, 20 (12): 1501-1505. (in Chinese)
- [2] Huang RL, Yuan Y, Tu J, et al. Opposing TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$ - and BMP-2-activated MAPK signaling pathways converge on Runx2 to regulate BMP-2-induced osteoblastic differentiation. Cell Death & Disease, 2014, 5(4): e1187.
- [3] 张艳苹,沈志强. 骨质疏松相关信号通路的研究进展. 中华骨科杂志, 2017, 37(1): 59-64.  
Zhang YP, Shen ZQ. Progress of research on related signal pathways of osteoporosis. Chinese Journal of Department of Orthopedics, 2017, 37 (1): 59-64. (in Chinese)
- [4] Vishal M, Vimalraj S, Ajeetha R, et al. MicroRNA-590-5p stabilizes Runx2 by targeting Smad7 during osteoblast differentiation. Journal of Cellular Physiology, 2017, 232 (2): 371.
- [5] 姜宇,徐又佳. BMP-TGF $\beta$  信号通路. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(11): 1485-1487.  
Jiang Y, Xu YJ. BMP-TGF beta signaling pathway. Chin J Osteoporos, 2016, 22 (11): 1485-1487. (in Chinese)
- [6] Kopf J, Paarmann P, Hiepen C, et al. BMP growth factor signaling in a biomechanical context. Biofactors, 2014, 40 (2): 171.
- [7] Liu DD, Zhang JC, Zhang Q, et al. TGF- $\beta$ /BMP signaling pathway is involved in cerium-promoted osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. Journal of Cellular Biochemistry,

- 2013, 114(5):1105-1114.
- [ 8 ] Dai J, Li Y, Zhou H, et al. Genistein promotion of osteogenic differentiation through BMP2/SMAD5/RUNX2 signaling. *International Journal of Biological Sciences*, 2013, 9(10):1089-1098.
- [ 9 ] Zhang J, Zhang X, Xie F, et al. The regulation of TGF- $\beta$ /SMAD signaling by protein deubiquitination. *Protein & Cell*, 2014, 5(7):503-517.
- [10] Murakami J, Ishii M, Suehiro F, et al. Vascular endothelial growth factor-C induces osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells through the ERK and RUNX2 pathway. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2017, 484(3):710-718.
- [11] Meng Q, Shapiro P, Kumar R, et al. Insulin-like growth factor-1 regulates endogenous RUNX2 activity in endothelial cells through a PI3K/ERK-dependent and Akt-independent signaling pathway. *J Biol Chem*, 2004, 279(41):42709-42718.
- [12] 李永贤, 张顺聪, 郭丹青. Notch 信号通路调控 OPG/RANKL/RANK 系统对骨质疏松椎体骨折影响的研究进展. *中国中医骨伤科杂志*, 2015(11):73-77.  
Li YX, Zhang SC, Guo DQ. Progress of Notch signaling pathway regulating OPG/RANKL/RANK system on osteoporotic vertebral fractures. *Chinese Journal of Orthopaedics and Traumatology of Chinese Medicine*, 2015 (11): 73-77. (in Chinese)
- [13] Grogan SP, Olee T, Hiraoka K, et al. Repression of chondrogenesis through binding of notch signaling proteins HES-1 and HEY-1 to N-box domains in the COL2A1 enhancer site. *Arthritis & Rheumatism*, 2014, 58(9):2754-2763.
- [14] Hilton MJ, Tu X, Wu X, et al. Notch signaling maintains bone marrow mesenchymal progenitors by suppressing osteoblast differentiation. *Nat Med*, 2008, 14: 306-314.
- [15] 王维东. 内源性甲状旁腺素和 Notch 信号通路调控骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化. 南京医科大学, 2015.  
Wang WD. Endogenous parathyroid hormone and Notch signaling pathways regulate the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into osteoblasts. *Nanjing Medical University*, 2015. (in Chinese)
- [16] Ann EJ, Kim HY, Choi YH, et al. Inhibition of Notch1 signaling by Runx2 during osteoblast differentiation. *Journal of Bone & Mineral Research*, 2011, 26(2):317-330.
- [17] 贾忠宝, 张柳, 田发明. Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路主要因子与成骨细胞研究进展. *中国骨质疏松杂志*, 2012, 18(1):90-94.  
Jia ZB, Zhang L, Tian FM. Research progress of the main factors of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and osteoblast. *Chin J Osteoporos*, 2012, 18(1):90-94. (in Chinese)
- [18] Chen Y, Hu Y, Yang L, et al. Runx2 alleviates high glucose-suppressed osteogenic differentiation via PI3K/AKT/GSK3 $\beta$ / $\beta$ -catenin pathway. *Cell Biol Int*, 2017, 41(8):822-832.
- [19] Xiao G, Jiang D, Gopalakrishnan R, et al. Fibroblast growth factor 2 induction of the osteocalcin gene requires MAPK activity and phosphorylation of the osteoblast transcription factor, Cbfa1/Runx2. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(39):36181.
- [20] Cai T, Sun D, Ying D, et al. WNT/ $\beta$ -catenin signaling promotes VSMCs to osteogenic transdifferentiation and calcification through directly modulating Runx2 gene expression. *Experimental Cell Research*, 2016, 345(2):206.
- [21] 刘超. 成纤维细胞生长因子-2 对成骨细胞矿化的影响及其机制研究. 济南大学, 2014.  
Liu C. Effect of fibroblast growth factor-2 on mineralization of osteoblasts and its mechanism. *University of Jinan*, 2014. (in Chinese)

(收稿日期: 2017-05-29; 修回日期: 2017-07-19)