

· 综述 ·

Rab 蛋白与骨质疏松症关系浅析

尹雨晴¹ 张洁¹ 陈燕^{2*}

1. 湖南中医药大学护理学院, 湖南 长沙 410208

2. 湖南省中医药研究院附属医院, 湖南 长沙 410006

中图分类号: R589 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 05-0717-04

摘要: 随着人口老龄化进程的不断推进, 骨质疏松症的发病率逐年升高。Rab 蛋白作为一类具有特殊生物学活性的小分子蛋白, 广泛存在于真核细胞中。骨髓间充质干细胞所分泌的外泌体可携带 Rab 蛋白, 并能定向运输到靶标以发挥其独有的生物学作用, 从而达到调控骨质疏松症发生、发展的目的。笔者基于近年来的国内外文献研究, 总结 Rab 蛋白与骨质疏松症之间的联系, 为骨质疏松症的防治提供新的研究方向。

关键词: Rab 蛋白; 骨质疏松; 相关性

Analysis of the relationship between Rab protein and osteoporosis

YIN Yuqing¹, ZHANG Jie¹, CHEN Yan^{2*}

1. School of Nursing, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208

2. Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Changsha 410006, China

* Corresponding author: CHEN Yan, Email: 969639737@qq.com

Abstract: With the continuous advancement of the aging process in the population, the incidence of osteoporosis is getting higher and higher. Rab protein is a kind of small molecule protein with special biological activity, which is widely expressed in eukaryotic cells. The exosomes secreted by bone marrow mesenchymal stem cells can carry Rab protein, and can transport it to the target to play its unique biological role, Resultsing in the regulation of the occurrence and development of osteoporosis. Based on recent national and international literature research, this article summarizes the link between Rab protein and osteoporosis and provides new research directions for the prevention and treatment of osteoporosis.

Key words: Rab protein; osteoporosis; correlation

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 作为一种常见的代谢性骨病^[1], 主要由多因素导致骨量减少及对骨微结构的破坏, 表现为脆性增加, 发病人群以绝经后妇女及老年人最为多见。改革开放以来, 随着我国社会经济发展水平的不断提高, 生活条件及医疗卫生水平日益改善, 加速了人口老龄化的进程, 呈现出骨质疏松的发生率逐年上升。因而, 人们对骨质疏松症的关注度越来越高, 世界卫生组织 (WHO) 将其列为三大老年病之一^[2]。

基于此现状, Rab 蛋白作为细胞间信息传递的重要媒介, 因其在骨质疏松症发生、发展过程中所扮演的角色而备受关注。Rab 蛋白, 作为 Ras 超家族中的一员, 是一种小 G 蛋白, 目前发现已有 70 余

种, 它们主要位于亚细胞器中, 对胞内蛋白质的囊泡转运起着尤为重要的作用。它们通过在 GTP 和 GDP 结合状态作为分子开关, 当与 GTP 结合时“开”, 当与 GDP 结合时“关”。Rab 蛋白被认为是细胞器标记, 每个 Rab 蛋白调节细胞内运输的不同环节, Rab 蛋白调节囊泡运输和外泌体形成与定向转运, 由此得以发挥其生物学功能^[3]。骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 是骨再生的种子细胞, 在发挥正常骨代谢功能中扮演着重要角色, 其成骨分化功能的缺陷是骨质疏松发生的重要原因。BMSCs 除了能直接分化成骨外, 其旁分泌物质 (白细胞介素 6、胰岛素样生长因子 1、碱性成纤维细胞生长因子等) 也能大大促进成骨细胞增殖、迁徙、分化和矿化的能力, 尤其是 BMSCs 分泌的外泌体 (exosome, Exo) 具有携带源细胞生物信息如蛋白质、小分子 RNA、Rab 蛋白等定

* 通信作者: 陈燕, Email: 969639737@qq.com

向运输到靶标发挥生物学功能。由此可知, BMSCs 可通过分泌外泌体调节成骨细胞增殖、迁徙、分化和矿化, 其生物学效能的发挥与其分泌的外泌体中携带的 Rab 蛋白密切相关。因此, 本文就 Rab 蛋白与骨质疏松症关系的研究进展作一综述。

1 骨质疏松症的发病机制

骨质疏松症大致可分为原发性(绝经后骨质疏松症和老年型骨质疏松症)、继发性 and 特发性三大类。引发各类骨质疏松的骨丢失病因繁杂, 并且骨质疏松的发病机制没有被系统地报道过, 但任何原因所致的峰值(BMI)下降, 骨吸收增加和形成不足都可以引起骨量降低和骨脆性增加, 从而导致骨质疏松症的发生。研究表明, 激素调控(尤其是雌激素)^[4-5]、相关细胞因子[如 TGF-13、白细胞介素、肿瘤坏死因子(TNF)等]的影响^[1]、年龄^[6]、运动^[7-8]等因素都与骨质疏松的发生密切相关。其中, 雌激素对骨质疏松症的产生与发展尤为重要, 雌激素通过 ER 介导刺激成骨细胞增值、分化, 抑制破骨细胞活性, 从而调控骨再建周期中骨形成和骨吸收的平衡。有报道^[9]指出, 人骨组织上 ER 的数量在一定程度上决定了是否发生骨质疏松及发病的严重程度。同时, 也有学者^[10-11]提出氧化应激(oxidative stress, OS)和炎症是绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP)的重要发病机制, 其结论的得出主要是由于相关的叉头框蛋白 Fox O 转录因子、Nox(NADPH 氧化酶)、白介素-17 等出现相应变化。

2 Rab 蛋白与骨质疏松关系研究

2.1 Rab 蛋白

Rab 蛋白是小 GTP 酶属 Ras 超家族, 每一个 Rab 蛋白都特异地分布在控制细胞内囊泡运输的不同亚细胞的膜结构上, 并发挥着独特的调控作用。真核细胞中广泛存在着的一类分子量为 20~27 kDa 之间的小分子 Rab 蛋白, 依赖 GTP 激活的一类小 GTP 酶。所有 Rab 蛋白的共同的生物效应机制就是 GTP 分子开关, 这些 GTPases 在与 GDP 结合时, 处于失活状态, 当与 GTP 结合时处于激活状态, 两种状态的转换由特定的调节因子完成。其参与细胞内囊泡运输, 可以到达指定的效应位点, 这和 Rab 蛋白准确、精细的靶向运输密切相关, 调控胞外分泌, 包括外泌体的释放, 定向作用于靶细胞, 由此以发挥其生物学作用^[12], 但目前对于 Rab 蛋白如何精

准到达指定位点的相关机制尚不明确。另外, Rab 蛋白的异常表达与多种疾病的发生、发展密切相关。例如, Rab1a 与舌癌细胞^[13], Rab5a、Rab7 与甲状腺腺癌细胞^[14], Rab25 与前列腺癌、膀胱移行上皮细胞癌、侵袭性乳腺肿瘤细胞以及卵巢上皮细胞^[15-19], 均有相关研究证实以上 Rab 蛋白亚型对相应肿瘤细胞的增殖、分化及其转移能力影响较大, 在对应疾病的发生、发展中有不可忽视的作用。

2.2 Rab 蛋白与骨质疏松症关系的研究进展

谈及骨质疏松症的发生与防治, 不可忽视的是 BMSCs 对于成骨分化的作用。BMSCs 是具有多向分化潜能的间质干细胞, 源于中胚层间充质, 主要分布在全身结缔组织及器官间质中, 尤以骨髓组织含量最为丰富, 具有向骨源性干细胞分化的潜能, 进而分化形成软骨细胞、成骨细胞, 以完成骨的构建过程^[20]。研究^[21]表明, 当 BMSCs 数量逐渐减少时, 成骨细胞减少, 骨组织不断丢失、骨含量减少, 从而导致骨质疏松症, 这与 BMSCs 分泌的外泌体可携带源细胞生物信息(如 Rab 蛋白、小分子 RNA 等)并且能定向运输到靶标以发挥其生物学功能的能力下降有着密切联系。而从另一方面看, 有研究指出^[22], 破骨细胞的存活依赖于 Rab 家族 GTP 酶的活性, 并且广泛用于临床治疗骨质疏松症的双膦酸盐药物是通过阻止小 GTP 酶的异戊二烯化作用, 抑制破骨细胞活性, 并诱导破骨细胞凋亡, 从而达到治疗骨质疏松的目的。然而, 并非所有的 Rab 蛋白都与骨质疏松症存在联系, 也并非所有 Rab 蛋白对骨质疏松的影响都是一致的, 现主要介绍三个与 BMSCs 关系密切的 Rab 蛋白, 即 Rab27a、Rab27b 及 Rab23。

2.2.1 Rab 蛋白与成骨细胞的关系: Rab27a、Rab27b, 此二者同属 Rab27 系列, Rab27a 在氨基酸水平上与 Rab27b 有 71% 的同一性, 并且在某些情况下对 Rab27b 生物学功能的发挥具有补偿作用^[23-24]。有研究^[25-26]报道, Rab27a 和 Rab27b 在成骨细胞中表达并且参与刺激依赖型 RANKL 从成骨细胞中的分泌溶酶体中释放。并且有研究^[27]表明, Rab27b 介导的抗坏血酸可诱导成骨细胞, 这对于涉及骨蛋白分泌和沉积缺陷的疾病有着重要意义。

2.2.2 Rab 蛋白与破骨细胞的关系: Rab 蛋白对破骨细胞亦有调节作用。有研究^[28]在 MC3T3-E1 细胞(鼠成骨细胞前体细胞系)、RAW-D 细胞(鼠巨噬细胞系 RAW264.7 的亚克隆, 其具有高分化成 OCLs 的亚克隆)中均测得 Rab27a 和 Rab27b 的 mRNA 水

平,定量时PCR分析显示RAW-D细胞中Rab27a的mRNA水平比MC3TC-E1细胞中的高4.5倍。而破骨细胞是由分化的巨噬细胞形成的多核细胞,由此可见Rab27a与破骨细胞关系更为密切。并且,Rab27a缺陷型破骨细胞其骨吸收活性明显受损,由此表明Rab27a在维持破骨细胞的正常功能具有重要作用。该研究^[28]还指出,Rab27a缺陷诱导多核巨细胞,其中各种破骨细胞标记基因(例如RANK, Ctsk和CTR)的mRNA水平,与对照组相比显著增高。若通过干扰Rab27a RNA的释放来降低OVX小鼠(卵巢切除小鼠)中的循环外来体的水平,在体内实验中可以观察到成骨细胞活性的上调^[29],但是,其破骨细胞活性却随之增强,并且随着Rab27a水平降低,破骨细胞中miR-214水平增加。另外,Rab27a的消耗会导致破骨细胞表型异常,对于破骨细胞中的调节多核和溶酶体相关细胞器的细胞表面受体的正常转运,具有调节作用^[25,28]。

2.2.3 Rab蛋白与软骨细胞的关系:软骨形成是一个多步骤的复杂过程,通过协调控制骨髓间充质细胞促使其分化为由II型胶原(Col2)和其他细胞外基质蛋白表达所标记的成熟软骨细胞,而这些成熟的细胞又可以成为由X型胶原蛋白表达标记的肥大软骨细胞。然后,肥大软骨细胞发生凋亡,在软骨内成骨过程中留下成骨细胞或破骨细胞侵入的支架。有研究^[30]表明,软骨细胞的分化主要受转录因子如Sox9控制。有实验通过逆转录病毒插入对ATDC5细胞进行诱变,并分离出两个不能分化的突变克隆,对这些克隆进行逆向PCR分析揭示逆转录病毒DNA被插入Rab23的启动子区域基因,导致Rab23表达增加。其研究结果显示,Rab23的上调确实可以抑制软骨形成分化,同时伴随着基质基因如II型胶原蛋白和聚集蛋白聚糖的下调。另外,Rab23的siRNA表达降低也会导致软骨形成分化受到抑制,以及促使软骨形成的主要调节因子Sox9的下调。然而,Sox9表达与Gli1相关,该研究^[31]发现Rab23表达的下降也会使软骨细胞中Gli1的表达降低。由于Rab23被认为参与细胞内蛋白质运输的重要媒介^[32-33],不能排除Sox9的表达可能需要通过Rab23这一关键因素的可能性,并Rab23的缺失将是导致Sox9下调的一个重要因素。

3 小结

近年来,人们对骨质疏松症防治的关注度越来越高,且随着干细胞技术的发展,越来越多的专家、

学者运用间充质干细胞、脂肪干细胞等移植技术治疗多种疾病。有文献^[34]报道,通过移植BMSCs可逆转骨质疏松。由此可见,BMSCs对成骨分化的重要作用。除此之外,BMSCs旁分泌物质也能大大促进成骨细胞增殖、迁徙、分化和矿化的能力,其旁分泌物质主要有白细胞介素6、胰岛素样生长因子1、碱性成纤维细胞生长因子、血管内皮生长因子、转化生长因子 β 等;另外,BMSCs分泌的外泌体携带的Rab蛋白定向运输到靶点精准发挥其生物学作用,对成骨分化具有重要影响。并且,不同亚型的Rab蛋白其作用亦不相同,Rab27b与成骨细胞联系密切,Rab27a对破骨细胞具有独特地调节作用,而Rab23的表达则与软骨细胞的分化密切相关。综上所述,对Rab蛋白进行有针对性的深入研究具有重要的现实意义,且Rab蛋白有望成为防治骨质疏松症药物开发的新靶点。

【参考文献】

- [1] 张智海,张智岩,刘忠厚,等.中国大陆地区以-2.0SD为诊断标准的骨质疏松症发病率回顾性研究[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(1):1-8.
- [2] 鲁尚德.骨质疏松症病因病机研究概况[J].世界最新医学信息文摘,2016,16(38):44-45,51.
- [3] Blanc L, Vidal M. New insights into the function of Rab GTPases in the context of exosomal secretion[J]. Small GTPases. 2018, 9(1-2):95-106.
- [4] 张岩.预防老年人骨质疏松[J].护士进修杂志,2010,25(3):195-197.
- [5] Boivin G, Veldi S, Purdie DW, et al. Influence of estrogen therapy at conventional and high doses on the degree of mineralization of iliac bone tissue: a quantitative micro-radiographic analysis in postmenopausal women[J]. Bone, 2005, 36(3):562-567.
- [6] 姚锦容,李彬强.1500例中老年妇女骨密度调查[J].社区医学杂志,2011,9(15):63-64.
- [7] Bailey DA, McKay HA, Mirwald RL, et al. A six-year longitudinal study of the relationship of physical activity to bone mineral accrual in growing children: the university of Saskatchewan bone mineral accrual study[J]. J Bone Miner Res. 1999, 14(10):1672-1679.
- [8] Vuori IM. Dose-response of physical activity and low back pain, osteoarthritis, and osteoporosis[J]. Med Sci Sports Exerc. 2001, 33(6 Suppl):S551-S586.
- [9] 宋东伟,徐斌,王玉姝,等.选择性雌激素受体调节剂组织选择性作用研究进展[J].现代药物与临床,2014,29(2):206-210.
- [10] Cervellati C, Bonaccorsi G, Cremonini E, et al. Oxidative stress and bone resorption interplay as a possible trigger for postmenopausal osteoporosis [J]. Biomed Res Int, 2014(2014):569563.

- [11] 张晶,付勤. IL-17 在绝经后骨质疏松方面的相关研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2013, 19(3): 310-313.
- [12] 杨剑. Rab3D 蛋白促进肿瘤转移和 Hsp90 α 质膜转运信号的研究[D]. 北京:清华大学, 2015.
- [13] Shimadal K, Uzawa K, Kato M, et al. Aberrant expression of RAB1A in human tongue cancer[J]. Br J Cancer, 2005, 92(10): 1915-1921.
- [14] Croizet Berger K, Daumerie C, Couvreur M, et al. The endocytic catalysts, Rab5a and Rab7, are tandem regulators of thyroid hormone production[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(12): 8277-8282.
- [15] Calvo A, Xiao N, Kang J, et al. Alterations in gene expression profiles during prostate cancer progression: functional correlations to tumorigenicity and downregulation of selenoprotein-P in mouse and human tumors[J]. Cancer Res, 2002, 62(18): 5325-5335.
- [16] Mor O, Nativ O, Stein A, et al. Molecular analysis of transitional cell carcinoma using c DNA microarray[J]. Oncogene, 2003, 22(48): 7702-7710.
- [17] Wang W, Wyckoff JB, Frohlich VC, et al. Single cell behavior in metastatic primary mammary tumors correlated with gene expression patterns revealed by molecular profiling[J]. Cancer Res, 2002, 62(21): 6278-6288.
- [18] Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(14): 8418-8423.
- [19] Schaner ME, Ross DT, Ciaravino G, et al. Gene expression patterns in ovarian carcinomas[J]. Mol Biol Cell, 2003, 14(11): 4376-4386.
- [20] Cha BH, Jung MJ, Moon BK, et al. Administration of taurour-sodeoxycholic acid enhances osteogenic differentiation of bone marrow derived mesenchymal stem cells and bone regeneration[J]. Bone, 2015(83): 73-81.
- [21] Li C, Wei G, Gu Q, et al. Donor Age and Cell Passage Affect Osteogenic Ability of Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells[J]. Cell Biochemistry & Biophysics, 2015, 72(2): 543-549.
- [22] Itzstein C, Coxon FP, Rogers MJ. The regulation of osteoclast function and bone resorption by small GTPases [J]. Small GTPases. 2011, 2(3): 117-130.
- [23] Pereira-Leal JB, Seabra MC. Evolution of the Rab family of small GTP-binding proteins[J]. J Mol Biol, 2001, 313(4): 889-901.
- [24] Barral DC, Ramalho JS, Anders R, et al. Functional redundancy of Rab27 proteins and the pathogenesis of Griscelli syndrome[J]. J Clin Invest, 2002, 110(2): 247-257.
- [25] Kariya Y, Honma M, Hanamura A, et al. Rab27a and Rab27b Are Involved in Stimulation-Dependent RANKL Release From Secretory Lysosomes in Osteoblastic Cells[J]. JBMR, 2011, 26(4): 689-703.
- [26] Y. Kariya, M. Honma, H. Suzuki. RANKL secretion from secretory lysosomes in osteoblastic cells — The involvement of small GTPase Rab27a/b [J]. Bone, 2009, 44 (Supplement 1): S140.
- [27] Nabavi N, Pustynnik S, Harrison RE. Rab GTPase Mediated Procollagen Trafficking in Ascorbic Acid Stimulated Osteoblasts [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e46265.
- [28] Shimada-Sugawara M, Sakai E, Okamoto K, et al. Rab27A regulates transport of cell surface receptors modulating multinucleation and lysosome-related organelles in osteoclasts [J]. Scientific Rep, 2015(5): 9620.
- [29] Tang L, Yin Y, Liu J, et al. MiR - 124 Attenuates Osteoclastogenic Differentiation of Bone Marrow Monocytes Via Targeting Rab27a [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(4): 1663-1672.
- [30] Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate[J]. Nature, 2003, 423(6937): 332-336.
- [31] Yang L, Clinton JM, Blackburn ML, et al. Rab23 regulates differentiation of ATDC5 chondroprogenitor cells [J]. J Biol Chem, 2008, 283(16): 10649-10657.
- [32] Wang Y, Ng EL, Tang BL. Rab23: what exactly does it traffic? [J]. Traffic, 2006, 7(6): 746-750.
- [33] Evans TM, Ferguson C, Wainwright BJ, et al. Rab23, a negative regulator of hedgehog signaling, localizes to the plasma membrane and the endocytic pathway[J]. Traffic, 2003, 4(12): 869-884.
- [34] Antebi B, Pelled G, Gazit D. Stem cell therapy for osteoporosis [J]. Curr Osteoporosis Rep, 2014, 12(1): 41-47.

(收稿日期: 2018-06-10; 修回日期: 2018-09-05)