·综述·

破骨细胞研究新进展

智信[1,2] 陈晓[2] 苏佳灿[2*]
1.海军军医大学基础医学院,上海 200433
2.海军军医大学附属长海医院创伤骨科,上海 200433

中图分类号: R329.28 **文献标识码**: A **文章编号**: 1006-7108(2019) 09-1327-04

摘要: 破骨细胞是起源于骨髓单核细胞的多核细胞,成熟的破骨细胞位于骨小梁和骨皮质内表面。骨组织稳态受成骨细胞产生的骨形成和破骨细胞引起的骨吸收之间的平衡调节。然而在病理状态下,多种因素,包括肿瘤坏死因子超家族配体和炎性蛋白质等都促进破骨细胞的形成,使骨代谢失去平衡,导致骨组织过度吸收和过度形成。破骨细胞过度活化常见于骨质疏松症,自身免疫性关节炎等骨代谢疾病。破骨细胞功能障碍同样会导致如石骨症等疾病。因此,破骨细胞是骨代谢疾病预防和治疗方面的重要靶点。随着研究的深入,近年来有关破骨细胞的研究有了新的发现。本文就破骨细胞最新研究进展做一综述。

关键词: 破骨细胞;RANKL;LGR4;micro RNA

Advances in the research on osteoclasts

ZHI Xin[1,2], CHEN Xiao[2], SU Jiacan[2*]
1.School of Basic Medical Sciences, Naval Medical University, Shanghai 200433, China
2.Department of Orthopedics, Changhai Hospital Affiliated to the Naval Medical University, Shanghai 200433, China
* Corresponding author: SU Jiacan, Email: drsujiacan@163.com

Abstract: Osteoclasts are multinucleated cells that differentiate from bone marrow mononuclear cells. Mature osteoclasts are located on the inner surface of the trabecular bone and cortical bone. Steady state of bone tissue is regulated by the balance between bone formation by osteoblasts and bone resorption by osteoclasts. However, under pathological conditions, various factors including tumor necrosis factor superfamily ligands and inflammatory proteins, promote the formation of osteoclasts, which could cause imbalance of bone metabolism, leading to the excessive bone resorption and bone remodeling. Osteoclastic hyperactivity is commonly seen in osteoporosis, autoimmune arthritis, and other bone metabolic diseases. Dysfunction of osteoclasts also causes diseases such as osteopetrosis. Therefore, osteoclasts are important targets for the prevention and treatment of bone metabolism diseases. With the deepening of research, new researches on osteoclasts have been made in recent years. This article summarizes the latest research progress in osteoclasts.

Key words: osteoclasts; RANKL; LGR4; micro RNA

破骨细胞是起源于骨髓单核细胞的多核细胞,破骨前体细胞在趋化因子的作用下进入血循环[1],到达处于吸收状态的骨组织部位,在M-CSF和RANKL的作用下分化成破骨细胞[2]。骨组织稳态受成骨细胞产生的骨形成和破骨细胞引起的骨吸收之间的平衡调节[3]。然而在病理状态下,多种因素,包括肿瘤坏死因子(TNF)超家族配体和炎性蛋白质等都促进破骨细胞的形成,使骨代谢失去平衡,导致骨组织过度吸收和过度形成[2]。破骨细胞过度活化常见于恶性骨肿瘤,骨质疏松症,自身免疫性关节炎等骨代谢疾病。破骨细胞功能障碍同样会导致如石骨症等疾病[4-5]。因此,破骨细胞是骨代谢疾病预防和治疗方面的重要靶点[6]。

1 破骨细胞调控新靶点

1.1 盘状结构域受体2

盘状结构域受体2(DDR2)是盘状结构域受体家族成员之一,是一种与肿瘤发展进程密切相关的酪氨酸激酶受体[7]。研究表明DDR2在多数肿瘤细

* 通信作者: 苏佳灿,Email: drsujiacan@163.com

胞和组织中高表达,能够促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移,其高表达往往作为不良预后的标志[8]。2015 年,Zhang 等[9]发现在骨基质的培养模型中,DDR2 的过表达抑制破骨细胞生成,破骨细胞成熟和破骨细胞介导的骨吸收。相反,通过 RNA 干扰敲低 DDR2 加速了小鼠中的破骨细胞分化和骨吸收。此外,研究人员将受体 Neuropilin-1(Nrp1)鉴定为 DDR2 相互作用蛋白,并发现 DDR2 通过形成 DDR2-Nrp1-PlexinA1 复合物促进 Nrp1 和共同受体 PlexinA1 的结合,阻断 PlexinA1 介导的破骨细胞生成刺激。同时 DDR2 阻止 PlexinA1 与受体 TREM2 和衔接子 DAP12 相互作用。Nrp1 能显著增强 DDR2 在促进小鼠成骨细胞分化和骨形成中的功能。最后体内实验表明,腺病毒介导的 DDR2 能缓解骨质疏松模型小鼠骨质流失,表明 DDR2 作为破骨细胞生成的抑制剂,以及成骨细胞生成的启动子,可能对骨质疏松症患者有治疗作用。

1.2 蛋白磷酸酶 2 A

蛋白磷酸酶 2 A(PP2A)是一种主要的丝氨酸-苏氨酸磷酸酶[10]。PP2A 存在于很多组织中,其底物都是信号传导级联反应中的癌蛋白,如 AKT、Raf 和 MKK[11]。2018 年,Wang 等[12]发现 PP2A 在人类假体周围界面中高度表达,是造成无菌性假体松动的主要原因。研究人员根据此现象,建立了钛颗粒刺激诱导的小鼠骨溶解模型,并发现 PP2A 高表达。使用 PP2A 抑制剂有效地缓解了溶骨部位的钛颗粒诱导的骨破坏。此外,与模型组动物相比,PP2A 抑制剂干预组导致的 PP2A 下调显着降低了小鼠股骨破骨细胞数量和 RANKL 表达。进一步研究发现,PP2A 选择性抑制剂通过抑制 RANKL 介导的 NF-κB 和 c-Jun N-末端激酶信号传导途径来抑制破骨细胞生成并减轻破骨细胞的骨吸收。抑制 PP2A 或敲减同样也抑制了下游 NFATc1 和 c-Fos 的表达。该研究结果表明了 PP2A 在破骨细胞生成过程中的重要性,未来有望将 PP2A 鉴定为治疗假体诱导或其他破骨细胞介导的骨吸收疾病的新靶点。

1.3 黏膜相关淋巴组织淋巴瘤易位 1 因子

黏膜相关淋巴组织淋巴瘤易位 1 因子(MALT1)是炎症性疾病的关键调节因子[13]。它在激活转录因子 NF-κB、产生 IL-2 以及 T 和 B 淋巴细胞增殖中发挥重要作用[14]。2018 年,Lee 等[15]发现 MALT1 选择性抑制剂强烈抑制小鼠体内单核细胞分化为破骨细胞,能够显著改善关节炎模型小鼠体内病理性骨侵蚀。进一步研究表明,MALT1 选择性抑制剂通过结合 MALT1,抑制 NF-κB,从而强烈抑制破骨细胞调节因子 NFATc1 的表达,减少破骨细胞分化。这项研究结果突出了 MALT1 在破骨细胞生成过程中对 NF-κB-NFATc1 信号轴的重要调节作用,并提示靶向 MALT1 是抑制破骨细胞的一种有前景的治疗方案。

1.4 LGR4

肿瘤坏死因子(TNF)超家族成员 11(TNFSF11,也称为 RANKL)调节多种生理或病理功能,包括破骨细胞分化和骨质疏松症。以往研究人员认为,RANK 是 RANKL 的唯一受体。在最近的一项研究中,Luo 等[16]证明富含亮氨酸重复序列的 G 蛋白偶联受体 4(LGR4)是 RANKL 的另一种受体。他们发现 LGR4 能够与 RANK 竞争性的结合 RANKL,并抑制破骨细胞分化期间经典的 RANKL 信号传导。RANKL 与 LGR4 结合后激活 $G\alpha_q$ 和 GSK3-β 信号通路,抑制 NFATc1 的表达和活性,导致破骨细胞生成减少。而 LGR4 条件敲除小鼠和全身敲除小鼠由于破骨细胞过度激活而骨量减少。此外,可溶性 LGR4 细胞外结构域(ECD)结合 RANKL 并在体内抑制破骨细胞分化。因此该研究表明 LGR4 是抑制破骨细胞生成的 RANKL 的第二种受体。

2 破骨细胞调控新机制

2.1 骨髓脂肪组织调控破骨细胞生成

在骨髓腔中,有多种细胞如骨髓间充质干细胞、成骨细胞、软骨细胞、骨细胞等均可以分泌 RANKL 促进破骨细胞分化。2011 年,Xiong 等[21]声明来自于肥大软骨细胞的 RANKL 是初级骨小梁的破骨细胞生成及骨吸收的重要来源。骨细胞分泌的 RANKL 是松质骨中骨吸收及骨重建的重要来源。与传统认知相悖的是,该团队证明成骨细胞及其祖细胞产生的 RANKL 在正常生理性骨重建过程中不发挥作用,仅在病理条件下如钙缺乏等情况下会促进破骨细胞分化。

近年来,有关脂肪与骨量之间关系的研究越来越多,最经典的为瘦素相关研究。2013 年,Kajimura 等[17]表明,脂联素,一种脂肪细胞因子,能够抑制成骨细胞增殖,促进其凋亡。进一步研究发现,脂联素通过 PI3 激酶依赖的方式降低 FoxO1 的活性,从而调节成骨细胞活性,调节骨量。另一方面,脂联素通过 FoxO1 在神经元中发挥作用,减少交感神经张力,从而增加骨量并降低能量消耗。

2017年,Fan等[18]研究证明,骨髓脂肪组织在从骨髓间充质干细胞分化向前脂肪细胞时,分泌RANKL,从而增加骨髓内破骨细胞的表达。并且其余部位的脂肪组织不能分泌RANKL,说明骨髓脂肪组织是一种特别的脂肪组织,这种脂肪细胞的生成对骨髓破骨细胞的生成有显著的促进作用,从而降低骨量。以上研究颠覆了以往的认知,提出了脂肪调节成骨和破骨的新机制。

2.2 骨化三醇调控破骨细胞影响骨峰值

天然维生素D分子从饮食中摄入或通过皮肤合成,然后在肝脏和肾脏中活化为1,25-$(OH)_2D_3$。骨化三醇是维生素D的活性形式,也是体内的一种激素,在调节血钙与血磷水平方面有着重要作用[19],但在前期研究中维生素D如何发挥其功能仍不得而知。2017年,Li等[20]证明骨化三醇在健康小鼠体内通过增加Smad1转录激活BMP-Smad1通路,强烈抑制破骨细胞分化。另一方面Smad1与IκBα结合,调控RANKL-NF-κB-NFATc1信号通路,调节破骨细胞生成及成熟破骨细胞的骨吸收,从而增加骨量峰值。健康机体内骨量峰值提高有助于改善骨骼健康,有效减缓绝经以及衰老带来的骨量下降的影响。

2.3 CD200-CD200受体通路

CD200是I型膜糖蛋白,在包括间充质干细胞(MSC)的各种类型的细胞上表达的免疫球蛋白超家族成员[22]。CD200受体(CD200R)在骨髓细胞如单核细胞/巨噬细胞上表达,并包括介导下游信号传导的胞内结构域,通常传递抑制信号[23]。2013年,Varin等[24]发现可溶性CD200在体外抑制破骨细胞前体的分化。体内实验发现,CD200与骨髓巨噬细胞上的CD200R结合后抑制破骨细胞前体分化以及成熟破骨细胞的骨吸收。进一步研究发现,CD200-CD200R抑制了RANKL介导的NF-κB和MAPK通路,从而降低破骨细胞相关标志物的生成。此外,MSCs抑制破骨细胞生成,依赖于细胞-细胞接触及MSC表面上的CD200表达有关。该项研究进一步揭示了骨髓间充质干细胞在调节骨吸收和骨稳态中发挥着重要的作用,并表明CD200-CD200R在未来可能成为控制骨疾病的新靶标。

2.4 RANK-RNF146通路

目前研究人员认为RANKL主要通过活化T细胞c1(NFATc1)和NF-κB(2,3,7,8)的2个转录因子核因子发出信号[25]。2016年,Matsumoto等[26]认为RANKL能调节3BP2的表达。3BP2是激活SRC酪氨酸激酶所需的衔接蛋白,同时能协调β-catenin的衰减,这两者都是诱导破骨细胞发育所必需的。RANKL激活NF-κB后通过诱导E3泛素连接酶RNF-146的转录,调节3BP2的活化,抑制β-catenin,激活SRC通路,导致破骨细胞过度生成。该研究还表明RNF-146负调节LPS诱导的TNF-α的产生,有助于类风湿性关节炎的治疗。这些研究表明,RNF146充当RANKL的负调节开关,抑制破骨细胞生成和细胞因子产生。

2.5 microRNA调控

MicroRNA(miRNA)是一类由内源基因编码的长度约为22个核苷酸的非编码单链RNA分子,它们在动植物中参与基因的转录后调控。近年来,有众多研究表明miRNA能调节破骨细胞分化。2017年,Yin等[27]表明,miR-30a通过抑制DC-STAMP-c-Fos-NFATc1信号通路的激活,抑制破骨细胞生成。2018年,Cai等[28]表明,miRNA124通过调节IL-1的水平,抑制破骨细胞生成,抑制乳腺癌骨转移。Sang等[29]表明,miRNA-16-5p通过抑制RANKL介导的下游通路的激活抑制破骨细胞形成,缓解骨巨细胞瘤骨侵蚀。此外,最新研究表明,还有miRNA376c、miRNA-302a-3p、miRNA21、miRNA182等均可以调节破骨细胞的分化。

3 总结与展望

近年来,研究人员对破骨细胞生成及其功能提出了新靶点、新机制、新通路。在破骨细胞生成过程中盘状结构域受体2、蛋白磷酸酶2A、黏膜相关淋巴组织淋巴瘤易位1因子等新靶点发挥着重要的作用。经典研究认为骨代谢中成骨和破骨相互耦联,而最新研究认为,脂肪细胞也与破骨细胞相互耦联,通过分泌RANKL调节破骨细胞的生成,说明骨髓中的脂肪可能是破骨细胞激活RANKL的重要来源。此外,研究人员在经典RANKL-RANK通路中找到了新的受体,即RANKL也能与LGR4相互结合,发挥与经典RANKL-RANK通路相反的作用,能够抑制破骨细胞生成。总之,破骨细胞功能及其机制研究已初步明了,但是还伴随着诸多问题,有待进一步研究。

【参考文献】

[1] Adachi JD, Lyles KW, Colon-Emeric CS, et al. Zoledronic acid results in better health-related quality of life following hip fracture: the HORIZON-Recurrent Fracture Trial[J]. Osteoporos

Int, 2011, 22(9): 2539-2549.

[2] Anaraki PK, Patecki M, Tkachuk S, et al. Urokinase receptor mediates osteoclastogenesis via M-CSF release from osteoblasts and the c-Fms/PI3K/Akt/NF-kappa B pathway in osteoclasts [J]. J Bone Miner Res, 2015, 30(2): 379-388.

[3] Alippe Y, Wang C, Ricci B, et al. Bone matrix components activate the NLRP3 inflammasome and promote osteoclast differentiation[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):6630.

[4] Cao Z, Moore B T, Wang Y, et al. MiR-422a as a potential cellular microRNA biomarker for postmenopausal osteoporosis [J]. PLoS One, 2014, 9(5):e97098.

[5] Amiche MA, Levesque LE, Gomes T, et al. Effectiveness of oral bisphosphonates in reducing fracture risk among oral glucocorticoid users: three matched cohort analyses[J]. J Bone Miner Res, 2018,33(3):419-429.

[6] Chandra A, Wang L, Young T, et al. Proteasome inhibitor bortezomib is a novel therapeutic agent for focal radiation-induced osteoporosis[J]. FASEB J, 2018,32(1):52-62.

[7] Jin H, Ham IH, Oh HJ, et al. Inhibition of discoidin domain receptor 1 prevents stroma-induced peritoneal metastasis in gastric carcinoma[J]. Mol Cancer Res, 2018, 16(10):1590-1600.

[8] Luczynski MT, Harrison PT, Lima N, et al. Spatial localisation of discoidin domain receptor 2 (DDR2) signalling is dependent on its collagen binding and kinase activity[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 501(1): 124-130.

[9] Zhang Y, Su J, Wu S, et al. DDR2 (discoidin domain receptor 2) suppresses osteoclastogenesis and is a potential therapeutic target in osteoporosis[J]. Sci Signal, 2015, 8(369): ra31.

[10] Nakatsumi H, Oka T, Higa T, et al. Nuclear-cytoplasmic shuttling protein PP2A(B56) contributes to mTORC1-dependent dephosphorylation of FOXK1[J]. Genes Cells, 2018,23(7): 599-605.

[11] Hoffman A, Taleski G, Qian H, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency deregulates regional brain amyloid-beta protein precursor and phosphorylation levels[J]. J Alzheimers Dis, 2018,64(1):223-237.

[12] Wang L, Guo X, Zhou W, et al. Protein phosphatase 2A as a new target for downregulating osteoclastogenesis and alleviating titanium particle-induced bone resorption[J]. Acta Biomater, 2018, 73: 488-499.

[13] Choi YJ, Kim N, Paik JH, et al. Characteristics of helicobacter pylori-positive and helicobacter pylori-negative gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma and their influence on clinical outcome[J]. Helicobacter, 2013, 18(3): 197-205.

[14] Kuo SH, Tsai HJ, Lin CW, et al. The B-cell-activating factor signalling pathway is associated with Helicobacter pylori independence in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma without t(11;18)(q21;q21)[J]. J Pathol, 2017, 241(3): 420-433.

[15] Lee CH, Bae SJ, Kim M. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation 1 as a novel therapeutic target for rheumatoid arthritis[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 11889.

[16] Luo J, Yang Z, Ma Y, et al. LGR4 is a receptor for RANKL and negatively regulates osteoclast differentiation and bone resorption [J]. Nat Med, 2016, 22(5): 539-546.

[17] Kajimura D, Lee HW, Riley KJ, et al. Adiponectin regulates bone mass via opposite central and peripheral mechanisms through FoxO1[J]. Cell Metab, 2013, 17(6): 901-915.

[18] Fan Y, Hanai JI, Le PT, et al. Parathyroid hormone directs bone marrow mesenchymal cell fate[J]. Cell Metab, 2017, 25(3): 661-672.

[19] Yeung TL, Sheng J, Leung CS, et al. Systematic identification of druggable epithelial-stromal crosstalk signaling networks in ovarian cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2019,111(3):272-282.

[20] Li A, Cong Q, Xia X, et al. Pharmacologic calcitriol inhibits osteoclast lineage commitment via the BMP-Smad1 and IkappaB-NF-kappaB pathways[J]. J Bone Miner Res, 2017, 32(7): 1406-1420.

[21] Xiong J, Onal M, Jilka RL, et al. Matrix-embedded cells control osteoclast formation[J]. Nat Med, 2011, 17(10): 1235-1241.

[22] Lago N, Pannunzio B, Amo-Aparicio J, et al. CD200 modulates spinal cord injury neuroinflammation and outcome through CD200R1[J]. Brain Behav Immun, 2018,73:416-426.

[23] Ting YS, Smith S, Brown DA, et al. CD200 is a useful diagnostic marker for identifying atypical chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry[J]. Int J Lab Hematol, 2018. doi: 10.1111/ijlh.12857.

[24] Varin A, Pontikoglou C, Labat E, et al. CD200R/CD200 inhibits osteoclastogenesis: new mechanism of osteoclast control by mesenchymal stem cells in human[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e72831.

[25] Ahern E, Harjunpaa H, O'donnell JS, et al. RANKL blockade improves efficacy of PD1-PD-L1 blockade or dual PD1-PD-L1 and CTLA4 blockade in mouse models of cancer [J]. Oncoimmunology, 2018, 7(6): e1431088.

[26] Matsumoto Y, Larose J, Kent OA, et al. RANKL coordinates multiple osteoclastogenic pathways by regulating expression of ubiquitin ligase RNF146[J]. J Clin Invest, 2017, 127(4): 1303-1315.

[27] Yin Y, Tang L, Chen J, et al. MiR-30a attenuates osteoclastogenesis via targeting DC-STAMP-c-Fos-NFATc1 signaling[J]. Am J Transl Res, 2017, 9(12): 5743-5753.

[28] Cai WL, Huang WD, Li B, et al. microRNA-124 inhibits bone metastasis of breast cancer by repressing Interleukin-11[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 9.

[29] Sang S, Zhang Z, Qin S, et al. MicroRNA-16-5p inhibits osteoclastogenesis in giant cell tumor of bone[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 3173547.

(收稿日期: 2018-07-15;修回日期: 2018-11-14)