

· 综述 ·

Elk-1 调节骨骼系统功能的研究进展

王艺璇 王可 张舒*

空军军医大学航空航天生物动力学教研室/航空航天医学教育部重点实验室, 陕西 西安 710032

中图分类号: R 852.22 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 12-1857-04

摘要: Elk-1 是一种转录因子, 属于 Ets 转录因子家族, 在基因表达调控中发挥着重要作用。最近的研究结果表明, Elk-1 参与调控骨组织细胞功能, 主要可促进成骨细胞分化及增殖, 并抑制成骨细胞凋亡。Elk-1 可影响骨肿瘤、骨质疏松症等骨性疾病的病理过程, 与骨肉瘤、骨尤文肉瘤、骨转移癌等多种骨肿瘤的侵袭、转移及预后不良密切相关, 且在骨质疏松症等骨性疾病中 Elk-1 的表达及转录活性异常。本文将对 Elk-1 调节骨骼系统功能的研究进展进行概述。

关键词: Elk-1; 骨骼系统; 成骨细胞

Research progress of Elk-1 regulating skeletal system function

WANG Yixuan, WANG Ke, ZHANG Shu*

Department of Aerospace Biodynamics, The Key Laboratory of Aerospace Medicine, Chinese Ministry of Education, Xi'an 710032, China

* Corresponding author: ZHANG Shu, Email: shuzhang@fmmu.edu.cn

Abstract: Elk-1 is a transcription factor, belonging to Ets transcription factor family, which plays an important role in gene expression regulation. Recent findings show that Elk-1 is involved in regulating the function of bone tissue cells, mainly promotes the differentiation and proliferation of osteoblasts, and inhibits the apoptosis of osteoblasts. Elk-1 can affect the pathological process of bone tumors, osteoporosis and other bone diseases. It is closely related to the invasion, metastasis and poor prognosis of many kinds of bone tumors, such as osteosarcoma, Ewing's sarcoma and metastatic cancer of bone. Moreover, the expression and transcriptional activity of Elk-1 are abnormal in osteoporosis and other bone diseases. This paper will summarize the research progress of Elk-1 regulating the skeletal system function.

Key words: Elk-1; skeletal system; osteoblast

Ets 转录因子属于进化上保守的最大的转录调节因子家族之一, 该家族由 30 多个成员组成, 可参与细胞内稳态的调节, 在人类生理和病理过程中发挥着重要的调节作用^[1]。转录激活因子 ETS 样蛋白 1 (ETS-like 1 transcription factor, Elk-1) 属于 Ets 结构域转录因子家族, 具有调控细胞增殖、分化和凋亡等功能, 在骨骼系统中也发挥着重要的作用^[2]。本文将对近年来关于 Elk-1 的生理作用及其调节骨骼系统功能的研究进行综述。

1 Elk-1 概述

根据 Ets 结构域的序列同源性, 人类 Ets 因子可

分为 12 个亚组: ETS、ERG、PEA3、ETV、TCF、GABP、ELF1、SPI1、TEL、ERF、SPDEF 和 ESE, Elk-1 属于三元复合因子 (ternary complex factor, TCF) 亚家族^[3]。TCF 是因其与靶 DNA 序列的血清效应元件 (serum response elements, SREs)、二级转录因子血清效应因子 (serum response factor, SRF) 结合形成三元复合物的能力而得名^[4]。除了 Elk-1, TCF 亚家族还包括 SAP-1 和 SAP-2/Net。每个 TCF 包含三个保守的结构域: 结合 DNA 的 N-末端 Ets 结构域、参与 SRF 相互作用的 B-盒结构域 (B-box region) 和包含 MAPK 多个磷酸化位点的 C-末端转录激活结构域。Elk-1 还具有一个抑制性结构域, 可被小泛素样修饰蛋白 (small ubiquitin-related modifier, SUMO) 结合, Elk-1 的 SUMO 化修饰是通过大量募集组蛋白脱乙酰酶来抑制转录活性。ERK 通路的激活可诱导 Elk-1 的磷酸化和去 SUMO 化, 从而使 Elk-1 从转录抑制型

基金项目: 国家自然科学基金 (31570939, 81701856, 31971171)

* 通信作者: 张舒, Email: shuzhang@fmmu.edu.cn

转变成转录激活型^[5]。ETS 转录因子可与含有 DNA 核心序列的 GGAA/T 识别并结合,该富含嘌呤核心的侧翼序列两端决定了 Ets 结构域蛋白与这个前导序列的亲合力。Ets 结构域的蛋白结合功能具有一定的冗余性。研究^[6]发现,Elk-1 基因缺陷小鼠和野生型小鼠在表型上无明显区别,组织学分析也未发现明显异常,表明其他的 TCF 具有代偿作用,在体内可补偿性替代 Elk-1 的作用。Elk-1 的部分靶基因与 SRF 并不相关,而这些靶点在不同的条件下也可以与其他 ET 结构域蛋白结合^[7]。此外,Elk-1 还可以参与调控非编码 RNA 的表达^[8-11]。

Elk-1 主要经有丝分裂原或生长因子(包括 EGF)刺激细胞而激活,由丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)所介导。EGF 与其受体 EGFR/HER1/c-erbB-1 结合,激活固有激酶结构域和特异酪氨酸残基的磷酸化,Grb2/Sos 复合物从细胞质重新定位到细胞膜,在细胞膜上 Grb2 被招募到 EGFR 的磷酸化残基。Grb2/Sos 复合物的移位促进了膜相关 Ras 与 Sos 的相互作用,激活 Ras 和 MAP3K,磷酸化细胞外信号调节激酶 1 和 2(ERK1/2),进而催化 Elk-1 等多种转录因子的磷酸化。EGFR 激活 PLC γ 或缓激肽与细胞表面 G 蛋白偶联受体 B2 结合,也可通过蛋白激酶 C(PKC)-ERK1/2 通路活化 Elk-1。同时,细胞经 IL-1 刺激后,Elk-1 也可以发生磷酸化。IL-1 与 IL-1 受体(IL-1RI)结合后,与 IL-1 受体辅助蛋白(IL-1RAcP)发生二聚反应,通过招募 MyD88、磷酸化 IL-1R 相关激酶(IRAKs)、激活丝裂原激活的蛋白激酶激酶(MAP2Ks),进而磷酸化 c-jun 氨基末端激酶(JNKs)和 p38 丝裂原激活蛋白激酶(p38 MAPK)。在 IL-1 刺激的细胞中,除 JNKs 和 MAPKs 外,ERK1/2 也可被激活。Elk-1 是 ERKs、JNKs 和 p38 MAPK 这三种 MAPK 通路共同的下游靶分子^[12]。一些短链非编码 RNA(microRNAs)及长链非编码 RNA(lncRNAs)也可直接参与调控 Elk-1 的表达^[12-14]。

2 Elk-1 调节骨组织细胞功能

成骨细胞由间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)分化而成,是骨组织中一类特殊的具有成骨潜能的细胞,可以增殖分化为骨细胞,促使新骨形成。研究表明,Elk-1 可促进成骨细胞分化。Zhang 等^[15]研究发现,在成骨细胞中 Elk-1 可增强 Runx2 的启动子活性,是内源性成骨分化关键因子 Runx2 的主要生理调节因子。Elk-1 可与 GC 域结

合蛋白 SP1 相互作用,Elk-1 和 SP1 均可独立或联合激活 Runx2 转录。外源性增加 MC3T3-E1 小鼠成骨细胞中野生型 Elk-1 的表达,而不是 Elk-1 非磷酸化突变体,可诱导 Runx2 的表达,进一步证明 Elk-1 可能是通过转导 MAPK 级联信号来刺激 Runx2 表达。Wang 等^[12]研究发现,在 MC3T3-E1 中 Elk-1 作为 microRNA-139-3p 的靶基因,可参与成骨细胞的分化和凋亡。同时,Elk-1 的表达也受到 lncRNA ODSM 的调控^[14]。过表达 Elk-1 可促进成骨细胞分化,抑制成骨细胞凋亡。另有研究发现,MAPK 相关信号通路(包括 Elk-1)在成骨细胞分化中起着重要的调节作用,诱导成骨细胞分化的诸多因子均可通过该通路发挥作用。在人 MG-63 成骨细胞中,胶原蛋白水解物(Collagen hydrolysates)和卵黄衍生肽(YPEP)均可呈剂量依赖性增加成骨细胞增殖,并通过 MAPK/Elk-1 通路促进成骨细胞分化,增加 I 型胶原、碱性磷酸酶和骨桥蛋白等成骨分化因子的表达^[16-17]。鹿茸也可通过激活 ERK1/2、JNK1/2 和 p38,促使 Elk-1 磷酸化,进而促进成骨细胞的碱性磷酸酶活性、胶原合成和钙沉积^[18]。Hori 等^[19]研究发现,磷酸盐、过氧化氢均可增加大鼠 UMR-106 成骨细胞中 Elk-1 的表达,通过 ROS 产生和 ERK 通路促进成纤维细胞生长因子 23(FGF23)的表达。此外,淫羊藿苷可通过 MAPK 通路促进 Elk-1 和 c-Myc 表达的上调,促进骨髓间充质干细胞增殖^[20]。

同时 Elk-1 也参与破骨细胞的形成。Lee 等^[21]研究发现,抑制素-1(PHB)在破骨细胞中可抑制 p38-Elk-1-SRE 信号轴的活化,负向调控破骨细胞的形成。

3 Elk-1 在骨性疾病中的作用

3.1 Elk-1 在骨肿瘤中的作用

Elk-1 与肿瘤侵袭、转移及预后不良等密切相关^[22-24]。骨肉瘤(osteosarcoma, OS)是骨组织最常见的原发性恶性肿瘤。Hou 等^[25]研究发现,用血管生成诱导因子 61(Cyr61)处理 MG-63 细胞,将以时间依赖的方式增加 ERK1/2 和 Elk-1 的磷酸化和核转移,通过 Raf-1、MEK、ERK、Elk-1 信号转导途径调控 EMT 标志物,促进 OS 细胞侵袭及转移。研究发现,在人骨肉瘤细胞 U2OS 和 SAOS 中,p53 激动剂 nutlin-3 激活的 ERK1/2 可能通过激活 Elk-1,诱导抗凋亡 BCL2 蛋白家族的转录,而 BCL2A1 的表达可能有助于 ERK1/2 抑制 nutlin-3 诱导的细胞凋亡,从而构成 p53 诱导细胞凋亡的负反馈机制^[26]。而

油酸甘油酯与顺铂联合治疗则能激活 p38 MAPK/Elk-1 通路,诱导细胞凋亡,抑制肿瘤生长^[27]。此外,最新研究表明 Elk-1 也可以通过影响长链非编码 RNA(lncRNAs)的表达调控 OS 进展。Su 等^[10]研究发现,在 MG-63 和 143B 骨肉瘤细胞中,Elk-1 可以直接与 MIR100HG 的启动子区结合,Elk-1 诱导 lncRNA MIR100HG 的上调可以通过表观基因沉默 LATS1、LATS2 和失活 Hippo 途径促进 OS 的进展。骨肉瘤是儿童和青少年常见的一种骨肿瘤。在骨肉瘤[TC/siVEGF(7-1)]细胞中,基质细胞衍生因子 1 α (SDF-1 α)可使 Elk-1 活化,而激活的 Elk-1 可与血小板源性生长因子 B(PDGF-B)启动子区结合,上调 PDGF-B 的表达,诱导骨髓细胞向周细胞分化,挽救肿瘤的恶化^[28]。

骨骼也是肺癌、乳腺癌等其他系统肿瘤常见的转移部位。Hsu 等^[29]研究发现,乳腺肿瘤相关成骨细胞(TAOBs)是促进肿瘤进展的重要因子,在成骨细胞中抑制 CXCL5 可以减少 TAOBs 介导的癌症进展。而 TAOBs 分泌的 CXCL5 诱导肿瘤进展与 Raf/MEK/ERK 激活、Elk-1 磷酸化相关。Elk-1 在锌指结构转录抑制因子 Snail 的启动子区有结合位点,激活 Elk-1 有助于促进 Snail 启动子区组蛋白 H3 的乙酰化和磷酸化,上调 Snail 表达,诱导乳腺癌上皮-间质转化、迁移和侵袭。

3.2 Elk-1 在骨质疏松症等骨性疾病中的作用

日前研究认为 Elk-1 在骨质疏松症等其他骨性疾病中也发挥着一定的作用。在骨质疏松症研究中,Liu 等^[30]通过筛选分析骨质疏松症患者和正常对照骨髓间充质干细胞中差异表达基因,发现包括 Elk-1、REL 相关蛋白(RELA)和上游刺激因子 1(USF1)等 9 个转录因子表达明显升高。Cheung 等^[31]在女性低密度脂蛋白受体相关蛋白 5(LRP5)的基因单核苷酸多态性与骨密度的相关性研究中发现,LRP5 启动子的常见变异与女性的骨密度有关,最具预测性的 rs682429 位于 5' UTR 区,与 Elk-1 结合元件的共识位点相邻,可能影响 Elk-1 的转录活性,进而影响骨密度。Peng 等^[32]在自发性骨折的研究中发现,过量维生素 A 处理的皮质骨髓样本中 E2F 转录因子 1(E2F1)、GA 结合蛋白转录因子(GABP)、核转录因子 NRF2 和 Elk-1 等转录因子明显表达增加,这些转录因子以及它们的靶基因 Ube2d3、Uba1、Phb2 和 Tomm22 可能在过量维生素 A 诱导的自发性骨折中起着重要作用。在骨关节炎的研究中发现,人关节软骨细胞中 Elk-1 是 MAPK、

NF κ B 的直接下游靶点,碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)可激活 MAPK 和 NF κ B 信号通路的 Elk-1,诱导产生基质金属蛋白酶-13(MMP-13),导致软骨基质过度降解^[33]。在胶原诱导关节炎小鼠模型中,敲除 JNK 相互作用蛋白 3 可抑制 JNK/ELK-1 通路激活,减轻关节组织病理学改变^[34]。此外,髓核细胞减少是椎间盘退变主要病理表现,而低氧诱导下大鼠髓核细胞中 ERK 通路活化,Elk-1 磷酸化增加,有利于髓核细胞在缺氧环境存活^[35]。

4 结语与展望

转录因子 Elk-1 可由 ERKs、JNKs 和 p38 MAPK 等通路激活,从转录抑制型转变成转录激活型,在基因表达调控中发挥着重要作用。研究已证实,Elk-1 可以调节骨组织细胞功能,主要可促进成骨细胞分化及增殖,并抑制成骨细胞凋亡。Elk-1 在骨骼系统相关疾病中也发挥着一定的作用,其与骨肉瘤、骨肉瘤、骨转移瘤等多种骨肿瘤的侵袭、转移及预后不良密切相关,且在骨质疏松症、自发性骨折及骨关节炎等骨性疾病中也可观测到 Elk-1 转录活性异常,但 Elk-1 在其中的具体作用机制尚需进一步明确。当前,Elk-1 在骨骼系统中作用的研究尚不完善,成骨细胞中 Elk-1 的作用机制,以及在体干预其在成骨细胞中的表达后,能否影响成骨细胞功能,进而促进骨质生成,改善骨质疏松症状等骨性疾病尚待进一步深入研究。同时,Elk-1 在破骨细胞、骨细胞中的作用尚不明确,其在骨骼系统中与 Ets 家族其他成员的相互作用也有待进一步研究。因此对 Elk-1 的深入研究有助于从分子水平探寻其影响骨骼系统功能的具体机制,从而为辅助诊断、治疗骨骼系统疾病提供新的思路。

【参 考 文 献】

- [1] 曾红,杨洋,安瑜,等. Ets 转录因子的生理作用研究进展[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(12): 1645-1650.
- [2] Kasza A. Signal-dependent Elk-1 target genes involved in transcript processing and cell migration[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1829(10): 1026-1033.
- [3] Findlay VJ, LaRue AC, Turner DP, et al. Understanding the role of ETS-mediated gene regulation in complex biological processes[J]. Adv Cancer Res, 2013, 119: 1-61.
- [4] Treisman R. Ternary complex factors: growth factor regulated transcriptional activators[J]. Curr Opin Genet Dev, 1994, 4(1): 96-101.
- [5] Yang SH, Sharrocks AD. Convergence of the SUMO and MAPK pathways on the ETS-domain transcription factor Elk-1[J]. Biochem Soc Symp, 2006, (73): 121-129.

- [6] Cesari F, Brecht S, Vintersten K, et al. Mice deficient for the ets transcription factor elk-1 show normal immune responses and mildly impaired neuronal gene activation [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(1): 294-305.
- [7] Boros J, O'Donnell A, Donaldson IJ, et al. Overlapping promoter targeting by Elk-1 and other divergent ETS-domain transcription factor family members[J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(22): 7368-7380.
- [8] Huang B, Chang C, Wang BL, et al. ELK1-induced upregulation of lncRNA TRPM2-AS promotes tumor progression in gastric cancer by regulating miR-195/HMGA1 axis[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(10): 16921-16933.
- [9] Sheng K, Lu J, Zhao H. ELK1-induced upregulation of lncRNA HOXA10-AS promotes lung adenocarcinoma progression by increasing Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(3): 612-618.
- [10] Su X, Teng J, Jin G, et al. ELK1-induced upregulation of long non-coding RNA MIR100HG predicts poor prognosis and promotes the progression of osteosarcoma by epigenetically silencing LATS1 and LATS2[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 788-797.
- [11] Cho CY, Huang JS, Shiah SG, et al. Negative feedback regulation of AXL by miR-34a modulates apoptosis in lung cancer cells [J]. *RNA*, 2016, 22(2): 303-315.
- [12] Wang Y, Wang K, Hu Z, et al. MicroRNA-139-3p regulates osteoblast differentiation and apoptosis by targeting ELK1 and interacting with long noncoding RNA ODSM[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11): 1107.
- [13] Qin B, Shu Y, Xiao L, et al. MicroRNA-150 targets ELK1 and modulates the apoptosis induced by ox-LDL in endothelial cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2017, 429(1-2): 45-58.
- [14] Wang Y, Wang K, Zhang L, et al. Targeted Overexpression of the Long Noncoding RNA ODSM Can Regulate Osteoblast Function in Vitro and in Vivo [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 133.
- [15] Zhang Y, Hassan MQ, Xie RL, et al. Co-stimulation of the bone-related Runx2 P1 promoter in mesenchymal cells by SP1 and ETS transcription factors at polymorphic purine-rich DNA sequences (Y-repeats) [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(5): 3125-3135.
- [16] Kim HK, Kim MG, Leem KH. Collagen hydrolysates increased osteogenic gene expressions via a MAPK signaling pathway in MG-63 human osteoblasts [J]. *Food Funct*, 2014, 5(3): 573-578.
- [17] Kim HK, Kim MG, Leem KH. Effects of egg yolk-derived peptide on osteogenic gene expression and MAPK activation[J]. *Molecules*, 2014, 19(9): 12909-12924.
- [18] Kim JH, Jung TY, Seo J, et al. Involvement of MAPK signaling pathway in the osteogenic gene expressions of Cervi Pantotrichum Cornu in MG-63 human osteoblast-like cells[J]. *Life Sci*, 2014, 94(1): 45-53.
- [19] Hori M, Kinoshita Y, Taguchi M, et al. Phosphate enhances Fgf23 expression through reactive oxygen species in UMR-106 cells[J]. *J Bone Miner Metab*, 2016, 34(2): 132-139.
- [20] Qin S, Zhou W, Liu S, et al. Icarin stimulates the proliferation of rat bone mesenchymal stem cells via ERK and p38 MAPK signaling[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5): 7125-7133.
- [21] Lee CH, Choi SW, Kim JY, et al. Overexpression of prohibitin-1 inhibits RANKL-induced activation of p38-Elk-1-SRE signaling axis blocking MKK6 activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 463(4): 1028-1033.
- [22] Xu Z, Zhu C, Chen C, et al. CCL19 suppresses angiogenesis through promoting miR-206 and inhibiting Met/ERK/Elk-1/HIF-1 α /VEGF-A pathway in colorectal cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 974.
- [23] Zhao J, Ou B, Han D, et al. Tumor-derived CXCL5 promotes human colorectal cancer metastasis through activation of the ERK/Elk-1/Snail and AKT/GSK3 β / β -catenin pathways [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 70.
- [24] Liu CY, Hsieh FS, Chu PY, et al. Carfilzomib induces leukaemia cell apoptosis via inhibiting ELK1/KIAA1524 (Elk-1/CIP2A) and activating PP2A not related to proteasome inhibition [J]. *Br J Haematol*, 2017, 177(5): 726-740.
- [25] Hou CH, Lin FL, Hou SM, et al. Cyr61 promotes epithelial-mesenchymal transition and tumor metastasis of osteosarcoma by Raf-1/MEK/ERK/Elk-1/TWIST-1 signaling pathway [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 236.
- [26] Lee SY, Choi HC, Choe YJ, et al. Nutlin-3 induces BCL2A1 expression by activating ELK1 through the mitochondrial p53-ROS-ERK1/2 pathway [J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(2): 675-682.
- [27] Yong L, Ma Y, Zhu B, et al. Oleandrin synergizes with cisplatin in human osteosarcoma cells by enhancing cell apoptosis through activation of the p38 MAPK signaling pathway [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2018, 82(6): 1009-1020.
- [28] Hamdan R, Zhou Z, Kleinerman ES. SDF-1 α induces PDGF-B expression and the differentiation of bone marrow cells into pericytes[J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(11): 1462-1470.
- [29] Hsu YL, Hou MF, Kuo PL, et al. Breast tumor-associated osteoblast-derived CXCL5 increases cancer progression by ERK/MSK1/Elk-1/snail signaling pathway [J]. *Oncogene*, 2013, 32(37): 4436-4447.
- [30] Liu L, Zhu Q, Wang J, et al. Gene expression changes in human mesenchymal stem cells from patients with osteoporosis[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 981-987.
- [31] Cheung CL, Huang QY, Chan V, et al. Association of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) promoter SNP with peak bone mineral density in Chinese women[J]. *Hum Hered*, 2008, 65(4): 232-239.
- [32] Peng C, Yang Q, Wei B, et al. Identification of potential target genes and related regulatory transcription factors in spontaneous hairline fracture induced by hypervitaminosis A [J]. *Injury*, 2017, 48(7): 1475-1479.
- [33] Muddasani P, Norman JC, Ellman M, et al. Basic fibroblast growth factor activates the MAPK and NF κ B pathways that converge on Elk-1 to control production of matrix metalloproteinase-13 by human adult articular chondrocytes[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(43): 31409-31421.
- [34] Guo H, Lei H, Zhang B, et al. c-Jun NH2-terminal kinase (JNK)/stress-activated protein kinase-associated protein 1 is a critical regulator for arthritis progression by mediating inflammation in mice model [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81: 106272.
- [35] Risbud MV, Guttapalli A, Albert TJ, et al. Hypoxia activates MAPK activity in rat nucleus pulposus cells: regulation of integrin expression and cell survival [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2005, 30(22): 2503-2509.