

· 综述 ·

Hedgehog-Gli 信号通路在骨质疏松发生中作用的研究进展

王雨荷¹ 刘红¹ 李艳¹ 史婧儒¹ 付小卫² 王少君¹ 潘静华¹ 刘梅洁^{1*}

1. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700

2. 陕西中医药大学医学技术学院, 陕西 咸阳 712000

中图分类号: R336; R363.1+4; R34 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021)10-1550-04

摘要: 国内外骨质疏松患病率逐年增高, 因此对骨质疏松的研究也一直是医学热点。骨质疏松的发生发展是由多种细胞和信号通路共同作用的结果, 其中成骨细胞和破骨细胞的正常偶联是维持骨稳态防止骨质疏松发生的重要因素。Hedgehog-Gli 信号通路可以通过调控成骨细胞的增殖、分化及活性, 进而调控骨组织的形成, 另一方面它还可以通过刺激破骨细胞 RANKL 表达进而促进破骨细胞增殖分化, 从而调控骨吸收的过程, 因此对维持骨稳态亦发挥重要作用。本文主要归纳总结了近年来中外学者对 Hedgehog-Gli 信号通路在骨质疏松发生中作用机制的研究结果, 以期进一步明确在骨质疏松发生中 Hedgehog-Gli 信号通路的作用, 从而为骨质疏松的防治开拓新的思路 and 方向。

关键词: 骨质疏松 成骨细胞 破骨细胞 Hedgehog-Gli 信号通路

Research progress on the role of Hedgehog-Gli signaling pathway in osteoporosis

WANG Yuhe¹, LIU Hong¹, LI Yan¹, SHI Jingru¹, FU Xiaowei², WANG Shaojun¹, PANG Jinghua¹, LIU Meijie^{1*}

1. Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700

2. School of medical technology, Shaanxi University of traditional Chinese Medicine, Shaanxi 712000

* Corresponding author: LIU Meijie, Email: meimei64571@sina.com

Abstract: The prevalence of osteoporosis is increasing year by year at home and abroad, so the research on osteoporosis has always been a medical hot spot. The occurrence and development of osteoporosis is the result of a variety of cells and signal pathways. The normal coupling of osteoblasts and osteoclasts is an important factor to maintain bone homeostasis and prevent osteoporosis. Hedgehog-Gli signaling pathway can regulate the formation of bone tissue by regulating the proliferation, differentiation and activity of osteoblasts. On the other hand, it can also promote the proliferation and differentiation of osteoclasts by stimulating the expression of RANKL in osteoclasts, thus regulating the process of bone resorption. Therefore, it plays an important role in maintaining bone homeostasis. This paper summarizes the research result of hedgehog-Gli signaling pathway in the pathogenesis of osteoporosis in recent years, in order to further clarify the role of hedgehog-Gli signaling pathway in the occurrence of osteoporosis, so as to open up new ideas and directions for the prevention and treatment of osteoporosis.

Key words: osteoporosis; osteoblasts; osteoclast; Hedgehog-Gli signaling pathway

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以低骨量和骨组织微结构破坏为特征, 导致骨质脆性增加和易于骨折的全身性骨代谢疾病^[1]。目前, 全世界 OP 患者超过 2 亿人, 其中老年男性 OP 发病率约为 60.72%, 因为绝经后激素水平的变化, 老年女性 OP 发病率则高达 90.87%^[2]。同时, 因 OP 而发生

身体各处骨折的人数也越来越多, 并且 OP 还会给患者带来许多心理上的危害, 比如无休止的疼痛, 使患者生存质量下降等, 所以 OP 的预防和治疗刻不容缓, 因此探明 OP 发生机制也一直是国内外医学的研究热点。已有研究表明, Hedgehog-Gli 信号通路可以促进成骨细胞(osteoblast, OB)的分化, 也可以提高破骨细胞(osteoclast, OC 亦称 bone-resorbing cells)的活性, 从而在骨稳态中发挥重要作用, 因此, Hedgehog-Gli 信号通路在骨质疏松症发生中的作用

机制值得我们深入探讨。

1 Hedgehog-Gli 信号通路

Hh 蛋白最早是由 Christiane Nüsslein-Volhard 和 Eric F Wieschaus 在研究果蝇时作为一个“体节极性”基因发现的,该基因突变会导致果蝇胚胎呈多刺小球状,如同刺猬一般,故名“Hedgehog”^[3]。Hedgehog 信号通路由 Hedgehog 信号蛋白、Ptch (Ptc)、Smoothered (Smo) 特异性受体、Gli 蛋白和下游靶基因组成。已有研究发现,在没有 Hedgehog 蛋白的信号通路里,Ptc 与 Smo 结合并抑制其活性,下游靶基因的转录受抑制;而当通路中存在 Hedgehog 蛋白时,Hh 蛋白与 Ptc 结合,此时 Smo 的抑制作用解除,Smo 促进 Gli 与蛋白激酶 A (PKA) 形成复合物进入细胞核激活下游靶基因的转录。Gli 蛋白家族成员在脊椎动物中主要有 Gli1、Gli2 和 Gli3 三种,其中 Gli1 和 Gli2 在蛋白水平作用相似,主要激活 Hedgehog 信号,而 Gli3 主要作为抑制因子阻碍这一信号传导^[4]。实验证明,Hh 信号通路转导机制在人体多个系统组织中都有参与,叶泉英等^[5]在文章中提出,乳腺癌的发展和转移与 Hedgehog 信号通路异常传导有关;陈华林等^[6]研究发现 Hedgehog 信号通路相关蛋白表达与老年非小细胞肺癌患者放化疗敏感性有关,检测 Shh、Ptch、Gli1 等蛋白表达有可能筛选出对放化疗敏感的患者,从而使患者获得更好的预后。近些年来,有研究^[7-8]提出 Hh 信号通路可以调控成骨细胞和破骨细胞的分化,从而与骨质疏松症的发生发展有密切关系。

2 Hedgehog-Gli 信号通路在骨质疏松发生中的作用

成骨细胞和破骨细胞是骨重建过程的两种主要细胞,骨重建过程中,破骨细胞贴附在旧骨上,分泌酸性物质溶解旧骨,分泌蛋白酶消化骨基质,形成旧骨陷窝,而后成骨细胞移行至陷窝处,分泌骨基质,骨基质矿化形成新骨。因此调节 OB 与 OC 的生成、活性以及两者之间相互作用,能协调骨形成与骨吸收的动态平衡。所以 OB 和 OC 是维持骨稳态最重要的细胞^[9]。

2.1 Hedgehog-Gli 信号通路对成骨作用的调控

2.1.1 Hedgehog-Gli 信号通路对骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的调控:骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 是骨髓基质干细胞,具有多种分化潜能^[10],成骨细胞就是由

BMSCs 分化产生。已有研究发现,Hedgehog-Gli 信号通路在 BMSCs 向成骨细胞分化这一过程中有显著调控作用。Hedgehog-Gli 信号通路主要有三种同源蛋白,即 Sonic hedgehog (Shh)、Indian hedgehog (Ihh) 和 Desert hedgehog (Dhh)^[11],其中 Shh 和 Ihh 在成骨细胞生成分化中具有重要作用^[12]。很多科学家做了这方面的研究,Ma 等^[13]采用了 RT-PCR 和 Western blot 等技术检测分析了用地塞米松诱导 BMSCs 向成骨细胞分化过程中 Hedgehog 信号分子 Shh 的基因和蛋白表达活性,结果显示在地塞米松诱导下,BMSCs 向成骨细胞分化过程中 Hedgehog 信号分子 Shh 表达显著增强;Warzecha 等^[14]提出 Shh 参与了 BMSCs 早期向软骨分化的诱导过程,他们用重组 Sonic-Hedgehog 蛋白 (r-Shh) 和转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 体外处理 BMSCs 3 周,发现当用 Shh 或 TGF- $\beta 1$ 处理 BMSCs 时,显示有软骨标志物软骨蛋白聚糖、Sox9、CEP-68、II 型和 X 型胶原等的表达,提示 Shh 在 BMSCs 体外诱导软骨生成中起重要作用;Beloti 等^[15]也通过研究发现,purmorphamine (嘌呤吗啡胺) 作为一种 Hedgehog 信号通路激动剂,能够上调 BMSCs 向成骨细胞分化过程中标志物的表达,增强 ALP 的活性。通过以上研究,可以证明 Hedgehog-Gli 信号通路在 BMSCs 成骨过程中有正向调控作用。

2.1.2 Hedgehog-Gli 信号通路对成骨细胞的增殖、分化和活性的调控:骨组织的发生主要依赖成骨细胞的增殖分化,成骨细胞是骨组织形成中最活跃的细胞,具有合成和分泌骨胶纤维和基质的功能。Hedgehog-Gli 信号通路可以通过调控成骨细胞的增殖分化进而调控骨组织的形成。杨楠等^[16]在文章中提及在骨重建过程中,Hedgehog 信号通路在成骨细胞中其关键作用,Ihh 的表达水平明显增加。在 Cai 等^[17]研究了通过重组 Shh-N 末端 (rShh-N) 对体外培养的大鼠的成骨分化的影响,实时 PCR 显示 200ng/ml rShh-N 可上调骨钙素、ALP 和 I 型胶原基因的表达,这表明 rShh-N 对调控成骨细胞分化具有一定潜力。Gao 等^[18]用 Exendin-4 处理成骨细胞,结果显示 Exendin-4 可以通过 Hedgehog-Gli 信号通路显著的促进成骨细胞的分化,也证明了在成骨细胞分化过程中 Hedgehog-Gli 信号通路发挥着重要作用。但是 Hedgehog-Gli 信号通路对成骨细胞的调控并不一直是正向的:在成骨细胞刚开始生长分化时,Hedgehog-Gli 信号通路能促进成骨细胞的分化,但这一过程并不是持续不变的。当成骨细胞分化到一

定程度, Hedgehog-Gli 信号通路的表达也会随之下降^[19]。

综上, Hedgehog-Gli 信号通路可以通过双向调控成骨细胞的分化能力来维持骨稳态。

2.2 Hedgehog-Gli 信号通路在破骨细胞发挥功能中的作用

破骨细胞是一种具有骨吸收功能的多核巨细胞,在骨代谢方面具有关键的作用^[20]。破骨细胞的功能失常与骨质疏松关系密切,当破骨细胞数量增多和(或)功能增强时,骨吸收活动超过骨生成,骨代谢紊乱,骨质疏松的风险增加^[21]。Lv 等^[22]研究发现, Hedgehog-Gli 转导可上调成骨细胞中甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)的表达,进而激活其下游靶核因子活化 T 细胞(NFAT)和 cAMP 反应元件结合蛋白(CREB),使 CREB 和 NFAT 协同增加 RANKL 的表达和破骨细胞的形成。张洪洋^[23]通过敲除破骨细胞 SMO 基因来抑制 Hedgehog-Gli 信号通路活性,发现被敲除 SMO 基因的破骨细胞的分化能力和融合能力都明显下降。厉晓杰等^[24]利用绝经后骨质疏松模型的小鼠对比假手术小鼠细胞 Hedgehog 信号通路活性,发现绝经后骨质疏松模型小鼠的 Hedgehog 信号活性水平较高,同时又通过 TRAP 和 F-actin 染色观察破骨细胞数目,发现模型组破骨细胞数量较多,推测可能是因为雌激素对 Hedgehog 信号通路有抑制作用,当缺乏雌激素时, Hedgehog-Gli 信号通路活性增强,此时破骨细胞数量也增多,这也说明 Hedgehog-Gli 信号通路能促进破骨细胞的生长分化。Li 等^[25]研究发现在绝经后骨质疏松症的破骨细胞中 Hedgehog-Gli 信号通路被上调,17β-雌二醇也通过下调 Hedgehog-Gli 信号通路抑制破骨细胞的发生和诱导破骨细胞凋亡,由此也可以说明 Hedgehog-Gli 信号通路可以抑制破骨细胞的生长分化及其功能。Matsumoto 等^[26]通过对比年轻小鼠(5 周龄)和老年小鼠(60 周龄)在骨折愈合过程中 Hedgehog-Gli 信号通路的表达情况,发现在老年小鼠中, Hedgehog-Gli 信号通路可以直接刺激破骨细胞的形成,而在年轻小鼠中, Hedgehog-Gli 信号通路则可通过骨保护素的表达间接抑制破骨细胞的形成。

2.3 Hedgehog-Gli 信号通路与成脂分化的关系

除了成骨细胞和破骨细胞功能失衡以外,成脂分化与骨质疏松(尤其是糖尿病性骨质疏松)的发生发展过程也密切相关^[27]。BMSCs 是脂肪细胞的前体细胞,具有成脂分化的能力^[28]。在骨质疏松症

的药物治疗过程中,促进 BMSCs 向成骨分化,抑制其向成脂分化是一个新的治疗思路^[29]。李佩仪^[30]通过研究提出抑制 Hedgehog 信号通路可以促进成脂分化,激活 Hedgehog 信号通路可以抑制成脂分化。周鑫等^[31]提出氧化应激可以通过抑制 Hedgehog 通路的方式来抑制 BMSCs 向成骨分化而促进其向成脂分化。占秀文等^[32]也同样提出激活的 Hedgehog 信号可以抑制成脂基因表达的观点。综上我们可以得出,骨质疏松与 BMSCs 向成脂分化关系密切,而 Hedgehog 信号通路可以调控 BMSCs 成骨成脂分化之间的平衡。

3 结论与展望

在正常情况下, Hedgehog-Gli 信号通路促进成骨细胞不断生长分化成熟,使骨量不断增多^[33]。随着成骨细胞的成熟, Hedgehog-Gli 信号通路的活性会逐渐降低,同时可以上调细胞内甲状旁腺素相关蛋白的表达量,促使相关细胞因子的表达,进而促进破骨细胞内 RANKL 的表达,使破骨前体细胞分化成破骨细胞,进而促进骨吸收过程。综上所述, Hedgehog-Gli 信号通路一方面可以促进成骨细胞的生长分化,从而促进骨组织的生长,新骨的形成。同时 Hedgehog-Gli 信号通路在破骨细胞内又可以增强破骨细胞活性,使骨质被吸收,进而保证成骨细胞和破骨细胞之间维持稳定平衡的状态。正因为 Hedgehog-Gli 信号通路能同时调控骨形成和骨吸收,所以它在骨发育、骨吸收、骨重建过程中发挥了重要作用。骨组织的正常生长发育维持离不开 Hedgehog-Gli 信号通路的正常调控作用。

骨完整性是通过骨形成和骨吸收两者之间的平衡完成的^[34],骨质疏松主要是由于骨形成和骨吸收的失衡^[35],因此我们可以以 Hedgehog-Gli 信号为切入点,通过调控该信号通路的活性,来达到对骨质疏松的预防与治疗。然而, Hedgehog-Gli 的作用靶点我们尚未完全清楚,仍然需要我们继续探究,进一步挖掘 Hedgehog-Gli 信号通路在防治骨质疏松等骨代谢疾病中的潜力。

【参考文献】

[1] 冯秋花,陈嘉. 骨质疏松患者就医选择的影响因素分析及干预研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2020,26(8):1114-1118.
[2] 冯晓原,尚显文. PVP 和 PKP 治疗骨质疏松性椎体压缩性骨折的研究进展[J]. 当代医学,2020,17:192-194.
[3] 汤颖,程雁.Hedgehog 通路信号转导机制的研究进展[J]. 生理学报,2014,66(4):415-422.

- [4] Hilton MJ. Ihh controls cartilage development by antagonizing Gli3, but requires additional effectors to regulate osteoblast and vascular development [J]. *Development*, 2005, 132 (19): 4339-4351.
- [5] 叶英, 罗嘉惠, 王文希, 等. Hedgehog 信号通道与乳腺癌侵袭转移的研究进展[J]. *黑龙江医学*, 2018, 42 (2): 188-189, 192.
- [6] 陈华林, 杨东红, 王永存, 等. Hh 信号通路相关蛋白表达对老年局部晚期非小细胞肺癌放疗敏感性的预测价值[J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40 (18): 3858-3862.
- [7] 许琳培, 李江. 破骨细胞分化调控相关信号通路研究进展[J]. *科技经济导刊*, 2020, 28 (1): 13-15, 19.
- [8] 高举会, 林庶茹, 尚德阳. 右归丸含药血清对骨髓间充质干细胞 Hedgehog 信号通路影响[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2019, 21 (10): 44-46.
- [9] 徐佳莹, 李炜琦, 林莉. 破骨细胞及其活性因子在口腔骨破坏疾病中作用的研究进展[J]. *中国实用口腔科杂志*, 2020, 13 (1): 51-54.
- [10] 吉明明, 常峰, 高刚, 等. 骨髓间充质干细胞在脊髓损伤中的作用研究[J]. *河北医药*, 2020, 42 (19): 2990-2994, 2999.
- [11] McMahon AP, Ingham PW, Tabin CJ. Developmental roles and clinical significance of hedgehog signaling [J]. *Cur Topics Develop Biol*, 2003, 53 (2): 1-114.
- [12] 陈祥和, 李世昌, 严伟良, 等. Hedgehog 信号通路对成骨细胞分化和骨形成的影响及不同方式运动的调控[J]. *北京体育大学学报*, 2015, 38 (11): 59-64.
- [13] Ma X, Zhang X, Jia Y, et al. Dexamethasone induces osteogenesis via regulation of hedgehog signalling molecules in rat mesenchymal stem cells [J]. *Int Orthop*, 2013, 37 (7): 1399-1404.
- [14] Warzecha J, Gttig S, Christian Brünig, et al. Sonic hedgehog protein promotes proliferation and chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in vitro [J]. *J Orthop Sci*, 2006, 11 (5): 491-496.
- [15] Beloti Márcio M, Bellesini LS, Rosa AL. Purmorphamine enhances osteogenic activity of human osteoblasts derived from bone marrow mesenchymal cells [J]. *Cell Biol Int*, 2005, 29 (7): 537-541.
- [16] 杨楠, 陈跃平, 章晓云. 分子信号通路及细胞层面的骨折愈合机制[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 20: 3188-3194.
- [17] Cai J, Huang Y, Chen X, et al. Sonic hedgehog enhances the proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. *Cell Biol Int*, 2012, 36 (4): 349-355.
- [18] Gao Liu, Li Shilun, Li Yukun. Exendin - 4 promotes the osteogenic differentiation of osteoblasts via the Hedgehog/Gli1 signaling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10 (1): 315-324.
- [19] 陈梦阳, 谢菊英. 骨质疏松症发病机制的研究进展[J]. *湘南学院学报(医学版)*, 2018, 20 (1): 63-66.
- [20] 宋才渊, 彭冰, 沈佳怡, 等. 破骨细胞分化调节机制的研究进展[J]. *中国骨伤*, 2015, 28 (6): 580-584.
- [21] 王少峰, 孔祥东, 沙勇, 等. 紫草素抑制破骨细胞分化及改善去卵巢诱导的小鼠骨质疏松[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17 (24): 4645-4649.
- [22] Lv WT, Du DH, Gao RJ, et al. Regulation of hedgehog signaling offers a novel perspective for bone homeostasis disorder treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (16): 3981.
- [23] 张洪洋. Hedgehog 信号通路对体内破骨细胞及整体骨量调控作用的研究[D]. 西安: 空军军医大学, 2018.
- [24] 厉晓杰, 杨柳, 刘建, 等. 绝经后骨质疏松小鼠中 Hedgehog 信号对破骨细胞的作用[J]. *中国骨与关节杂志*, 2015, 4 (5): 383-387.
- [25] Li Xiaojie, Jie Qiang, Zhang Hongyang, et al. Disturbed MEK/ERK signaling increases osteoclast activity via the Hedgehog-Gli pathway in postmenopausal osteoporosis [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2016, 122 (2): 101-111.
- [26] Matsumoto Kenichi, Shimo Tsuyoshi, Kurio Naito, et al. Expression and role of sonic hedgehog in the process of fracture healing with aging [J]. *In Vivo*, 2016, 30 (2): 99-105.
- [27] 刘中胜, 杨建虹. 未羧化骨钙素对高糖条件下小鼠骨髓间充质干细胞成骨与成脂分化的调控效应[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 13: 2039-2046.
- [28] 杨信信. ERK5 信号通路调控骨髓间充质干细胞成脂分化和成骨分化的机制研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2020.
- [29] 王皓沿, 海鑫. 白藜芦醇对小鼠骨髓间充质干细胞成骨/成脂分化的影响[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2018, 52 (2): 99-104.
- [30] 李佩仪. ICK 对前脂肪细胞 Hedgehog 信号通路及成脂分化的影响[D]. 广州: 南方医科大学, 2020.
- [31] 周鑫, 赵佳佳, 陈莉莉. 调节骨髓间充质干细胞成骨成脂分化的因素[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 17: 2759-2765.
- [32] 占秀文, 杨磊, 郑美蓉, 等. 骨髓间充质干细胞成脂成骨平衡调控研究进展[J]. *解剖学报*, 2019, 50 (3): 400-404.
- [33] 许周媚, 王清辉, 查旋, 徐道华. 刺猬因子信号通路与骨质疏松症关系的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23 (4): 534-540, 547.
- [34] Sakae Tanaka. Signaling axis in osteoclast biology and therapeutic targeting in the RANKL/RANK/OPG system [J]. *Am J Nephrol*, 2007, 27 (5): 466-478.
- [35] 陈晓, 苏佳灿. 骨质疏松研究热点: 骨髓间充质干细胞分化命运[J]. *第二军医大学学报*, 2017, 38 (4): 397-404.

(收稿日期: 2020-10-16; 修回日期: 2021-01-08)