

Wnt信号通路中的分子及配体参与成骨与破骨细胞间的转化**

王 晖, 陈晓东

Molecules and ligands of Wnt signaling pathway involved in the transformation between osteoblasts and osteoclasts

Wang Hui, Chen Xiao-dong

Abstract

BACKGROUND: Wnt signaling pathway regulates the balance of chondrocytes and osteoblasts, chondrocyte proliferation, ossification and degeneration in the degenerative changes of articular cartilage. It has been paid more and more attention.

OBJECTIVE: To summarize the role of Wnt signaling pathway in osteoarthritis.

METHODS: A computer-based online search of Wanfang and PubMed databases was performed for related articles published between 2001 and 2011, using key words of "Wnt, pathway, chondrocyte" in Chinese and English, respectively. A total of 24 articles in Wanfang database and 82 articles of PubMed database were collected, and 25 of them were retained according to inclusion criteria.

RESULTS AND CONCLUSION: A series of proteins and their ligands in secretory Wnt family play an important role in chondrocyte ossification, osteoblast phenotype maintenance and the suppression of bone mesenchymal stem cells proliferation. The classic Wnt/ β -actin signaling pathway participates in the regulation of osteoarthritis development by activating a series of signal molecules and inhibiting the cross and cascade reactions with other signaling pathways. Meanwhile, the molecules and their ligands in the Wnt signaling pathway are involved in the regulation of chondrocytes and osteoblasts balance, hyperosteogeny and bone reconstruction process.

Wang H, Chen XD. Molecules and ligands of Wnt signaling pathway involved in the transformation between osteoblasts and osteoclasts. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(20): 3789-3792. [http://www.crtcr.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 在关节软骨退行性病变中, Wnt 信号通路在调节软骨细胞与成骨细胞的失衡, 调控软骨细胞的增殖、骨化与退变的作用, 越来越被人们所重视。

目的: 综述 Wnt 信号通路在骨性关节炎中的作用。

方法: 应用计算机检索万方数据库 2001/2011 相关文章, 检索词为 "Wnt, 信号通路, 软骨细胞", 并限定文章语言种类为中文, 共检索到文献 24 篇。同时计算机检索 PubMed 数据库 2001/2011 相关文章, 检索词为 "Wnt, pathway chondrocyte", 并限定文章语言种类为 English, 共检索到文献 82 篇。最终纳入符合标准的文献 25 篇。

结果与结论: 分泌型 Wnt 家族中的一系列蛋白及其配体在软骨细胞骨化、成骨细胞表型维持、抑制骨髓间充质干细胞脂肪化等方面发挥着重要的作用。其经典的 Wnt/ β -actin 通路通过一系列信号分子的激活与抑制及与其他信号通路间的交叉和级联反应, 参与调控骨性关节炎的发展进程。同时, Wnt 通路中的分子及配体又参与调控成骨细胞与破骨细胞间转化的平衡、骨质增生与重建破坏等过程。

关键词: 骨性关节炎; 信号通路; 调控; 信号蛋白; 软骨细胞; 综述文献

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.20.040

缩略语: ER: estrogen receptor, 雌激素受体

王晖, 陈晓东. Wnt 信号通路中的分子及配体参与成骨与破骨细胞间的转化[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(20): 3789-3792. [http://www.crtcr.cn http://cn.zglckf.com]

Department of Orthopedics, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China

Wang Hui★, Studying for master's degree, Department of Orthopedics, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China wanghuiqk@163.com

Corresponding author: Chen Xiao-dong, Chief physician, Department of Orthopedics, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China chenxdmd@163.com

Supported by: the Research and Innovation Projects of Shanghai Education Commission, No. 08YZ37*

Received: 2011-08-14 Accepted: 2011-10-31

0 引言

骨性关节炎是影响人类健康最常见的一类关节类疾病。其主要病理学改变是关节面软骨的退行性变和继发性骨质增生。影像学表现为关节间隙变窄, 软骨下骨质致密, 硬化带和囊性变的形成等。后期骨端变形, 关节面凹凸不平, 关节内软骨剥落, 骨质碎裂进入关节, 形成关节内游离体。骨性关节炎的发生既涉及体内的全身性因素(年龄、性别、遗传、能量和雌激素摄入等)也与生物力学因素(肌肉萎缩、肥

胖、重体力活动等)的失衡相关。骨性关节炎发生过程中, 软骨退行性变的发生涉及一系列信号通路的激活与传导。近年研究发现 Wnt 通路在软骨细胞的成熟、分化、迁移、凋亡及稳态维持方面起着重要作用。现就 Wnt 信号通路的构成及其在骨性关节炎中的作用机制作如下阐述。

1 资料和方法

1.1 资料来源 文章由第一作者于 2001/2011, 以中文 "Wnt, 信号通路, 软骨细胞" 为检索词对万方数据库进行检索(网址 <http://g.wanfang>

上海交通大学医学院附属新华医院骨科, 上海市 200092

王晖★, 男, 1986年生, 安徽省宿州市人, 汉族, 在读硕士, 主要从事软骨退变的研究。
wanghui@163.com

通讯作者: 陈晓东, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院骨科, 上海市 200092
chenxdmd@163.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2012)20-03789-04

收稿日期: 2011-08-14
修回日期: 2011-10-31
(20110814001/WL·LX)

data.com.cn/), 共检索到文章 24 篇。以英文“Wnt pathway chondrocyte”为检索词, 检索 PubMed 数据库 (网址 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), 共检索到文献 82 篇。

1.2 入选标准

纳入标准: ①有关软骨退变、骨性关节炎发生机制方面的研究资料。②有关 wnt 通路在骨性关节炎及软骨退变中作用的研究资料。③Wnt 信号通路及相关蛋白在软骨退变过程中修复的验证性研究资料。

排除标准: ①研究资料过于陈旧, 或者被后期研究覆盖。②文献报道与近期研究结果有明显出入。③重复研究或 Meta 分析。

1.3 资料提取 计算机初检得到 106 篇文献, 阅读标题和摘要进行初筛, 排除因研究目的与本文无关及内容重复的研究 81 篇, 共保留其中 25 篇归纳总结。

1.4 质量评估 共检索到 106 篇相关文献, 25 篇文献符合纳入标准, 排除的 81 篇为重复或 Meta 分析或与生物学相关性较低的文献。符合纳入标准的 25 篇文献中, 有 1 篇是国内的, 其余都是国外的相关研究报道。其中 5 篇为专著讨论 Wnt 信号通路参与软骨细胞发育、增殖与退变的研究现状, 7 篇涉及 Wnt 信号通路家族及相关信号蛋白的分类与介绍, 8 篇涉及 Wnt 相关信号蛋白参与软骨退变的修复及药物靶向治疗, 5 篇涉及 Wnt 通路在成骨-成软骨方面转化平衡方面的调节。

2 结果

2.1 Wnt 通路的构成与分类 Wnt 通路作为一条十分保守的信号传导通路, 从低等生物果蝇直至高等哺乳动物, 其成员都具有高度的同源性。目前认为 Wnt 通路的组成主要包括: 细胞外因子 (Wnt)、跨膜受体 (frizzled)、胞质蛋白 (β -catenin) 及核内转录因子 (TCF) 等一系列蛋白。Wnt 蛋白是一类由 Wnt 基因编码的富含半胱氨酸的分泌型糖蛋白, 通过自分泌或旁分泌发挥作用。Wnt 家族蛋白至少参与了 4 条细胞内信号通路: ①Wnt/ β -catenin 通路。②wnt/PCP(planner cellity pathway) 通路。③Wnt/ Ca^{2+} 通路。④Wnt/蛋白激酶 A (Wnt/PKA) 通路^[1-3]。

2.1.1 经典的 Wnt 信号通路 作为 Wnt 通路中最为经典的一种, Wnt/ β -catenin 信号通路是由配体 Wnt (至少包括 7 种 Wnt 蛋白: Wnt-1,

Wnt-2, Wnt-3, Wnt-3b, Wnt-4, Wnt-8, Wnt-10b) 与 7 次穿膜蛋白 Frizzled 及其共同受体 LRP-5/6 结合后激活胞内 Dvl(dishevelled) 蛋白, 从而释放信号抑制糖原合成激酶 3 (glycogen synthase kinase 3, GSK-3) 的激活, 使 β -Catenin 在胞质中稳定积累, 并可进入细胞核与 T 淋巴细胞因子 (TCF) 形成复合物, 从而启动下游靶基因转录^[4]。如果缺少 Wnt 蛋白, 则胞内的 β -catenin 由 GSK-3、大肠腺瘤息肉蛋白 (Adenomatosis polyposis coli protein, APC) 和轴向蛋白 (Axin) 所形成的复合体磷酸化后经泛素化途径被蛋白酶体 (Proteo-some) 降解。经典 Wnt 通路的激活在胚胎内骨骼关节发育形成中起到了重要的作用。但除此以外, 在骨骼肌肉生长过程中, 在体内细胞扩增、形态发育的维持过程中, Wnt 通路中经典及非经典途径均扮演了重要的角色。

2.1.2 非经典 Wnt 信号通路 目前认为非经典 Wnt 信号通路主要是调节细胞内 Ca^{2+} 浓度与细胞极性, 该通路是由 Wnt5a、Wnt11 等多种 Wnt 家族信号蛋白通过结合胞膜表面 Fz 受体家族及其协同受体如 ROR2、RYK 所诱导激活的, 并通过 G 蛋白激酶激活磷脂酶 C 和蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)、 Ca^{2+} 调蛋白依赖的蛋白激酶 II, 引起细胞内 Ca^{2+} 浓度增加、cGMP 水平降低, 从而调节细胞运动和细胞黏附性^[5]。研究发现该通路也可以通过促进 β -catenin 降解来阻断经典 Wnt 通路。在 Wnt/PCP 通路中, Wnt 信号蛋白通过 Fz 受体家族介导的细胞骨架非对称活动并通过调节肌动蛋白活性来改变细胞极化。这 2 条独立的路径是通过激活 GTPases Rho and Rac 实现的^[6]。而 Wnt/PKA 通路是通过激活 cAMP 反应元件激活蛋白 (cAMP response element binding protein, CREB), 进而激活 CREB 介导的 PKA 依赖性胞内转录过程。该非经典路径在机体生长过程中调节肌源性基因表达^[7]。

2.2 Wnt 通路与软骨细胞 骨性关节炎被认为是一类涉及关节软骨、软骨下骨、软骨滑膜和关节滑液的综合性、退行性退变。患者的关节软骨多伴有不同程度的磨损和纤维化增生, 其组织学表现主要包括: 关节软骨细胞的骨化、滑膜纤维化增生、软骨下骨增厚、滑膜内层细胞肥大等^[8]。影像学上表现为: 关节间隙狭窄、软骨下骨骨化及关节周围骨赘形成。已有研究表明 Wnt 信号通路在骨发育、软骨及骨生物学中起着关键作用, 同时对不同生长阶段、不同

部位软骨形成过程中起着正负双向调节作用^[9]。Frzb 基因敲除的小鼠中研究发现, Frzb(-)小鼠关节面较同型野生型小鼠丢失更多软骨, 且发现该类小鼠关节软骨内基质金属蛋白酶 3 表达的增强^[14-15], 从而证明 Frzb 可能参与了基质金属蛋白酶 3 基因表达的抑制。

Wnt 通路中的不同成分已被研究证实可以在间充质干细胞初期, 调控软骨分化及软骨细胞表型的生成, 且 Wnt 家族中的某些成员可以逆向调控骨性关节炎或类风湿关节炎患者中关节面骨质的破坏与重建。但 Wnt 家族里也有成员会抑制软骨细胞的成熟与扩增, 例如: 表达在关节软骨中的 Wnt4 及表达于软骨滑膜中的 Wnt5a 均可以促进软骨细胞陷窝的增生、肥大及软骨细胞的骨化^[10], 动物实验研究发现患有骨性关节炎的成年小鼠关节滑膜和软骨中 Wnt 诱导分泌蛋白 (Wnt-induced secreted protein-1, WISP-1) 的表达明显上调, 而且近期研究发现在患有骨性关节炎的患者关节软骨和滑膜中也检测到了 WISP-1 表达量的上升, 并且用重组的 WISP-1 刺激巨噬细胞与软骨细胞可以上调白细胞介素 1、基质金属蛋白酶和蛋白聚糖酶的表达, 从而加重骨性关节炎患者关节软骨的损伤^[11-13]。可见 Wnt 通路对软骨细胞的这种正负调节作用维持着一种微妙的平衡作用; 外伤、高强度应力刺激、老化、感染等都可能成为导致失衡的刺激因素。

2.3 Wnt 通路与成骨细胞 在间充质干细胞的成骨方向分化及骨性关节炎患者关节软骨下骨骨化过程中, Wnt 信号转导通路的激活, 起到了重要作用。例如 Wnt-3a、Wnt-10b 被认为可以独自或借助成骨细胞转化因子 Cbfa-1, Dlx-5 等来促进骨髓间充质细胞的成骨方向分化; 关节处骨表面骨膜和骨小梁产生的 LRP5 参与调控成骨细胞的扩增与活性, 且相比野生型对照组, 在小鼠体内选择性的阻断 LRP-5 可以发现成骨细胞表面密度明显降低。也有报道发现 LRP-5 位点突变的个体, 多伴有不同程度的骨质疏松和反复骨折^[16]。在小鼠体内也通过研究证实: Wnt7b 与 Wnt10b 参与其骨骼的代谢平衡过程, 而 Wnt7b 敲除的基因, 会导致小鼠体内软骨、骨生长发育的缺陷; Wnt10b 基因敲除的小鼠体内, 骨质骨含量明显降低。而且通过抑制 Wnt 通路中 β -actine 的活性, 会使成骨细胞分化受阻。从而再次证明了 Wnt 通路与成骨细胞间的联系^[17-19]。

2.4 骨性关节炎中 Wnt 及与其他通路间的相互作用 骨性关节炎的发生机制中是否还有其他信号通路与机制参与? 及这些通路与 Wnt 通路间有无相互作用, 一直是备受争论的话题。Srikanth 等 meta 分析研究证实: 围绝经年龄段女性髌膝骨关节炎发病率高于同年龄段男性; Sims 等^[20]发现大于 50 岁后, 女性较男性更易患膝关节炎, 该疾病中的患者中男女比例接近 4:1, 美国大范围的临床统计资料显示: 在 45~64 岁

年龄段的人群里, 如以影像学表现作为界定标准, 女性膝关节炎的发病率甚至是男性的近 10 倍, 更有实验研究发现采用雌激素替代疗法能有效降低绝经后女性的骨性关节炎发生风险。说明也许骨性关节炎中牵涉到性激素尤其是雌激素相关信号通路的调控。机体内很多器官或组织表面存在雌激素受体 (estrogen receptor, ER), 且随着人体的衰老, ER 的数量也在减少。体外研究表明 ER 的相关抑制剂可以阻断由于持续应力刺激诱发的 Wnt 通路内 β -catenin 的积累, 并且从基因微点阵分析发现在 $Era^{-/-}$ 类型小鼠中由于力学加载所诱导的 Wnt 相关基因蛋白表达量发生显著降低, 从而提高了骨性关节炎的发病风险^[21-23]。此外 Zhou 等^[24]的研究发现通过激活 TGF- β /Smad 通路可以上调 Wnt2、Wnt4、Wnt5a、Wnt7a、Wnt10a 及 Wnt 协同受体: LRP5, 它可促进 β -actenin 的核内富集, 从而促进骨髓间充质细胞向软骨方向分化, 逆转骨性关节炎的进程。近年来研究发现: Osteoblast-Osteoclast 平衡的打破可能也是骨性关节炎和类风湿性关节炎的发病机制之一, 且在该类疾病患者的关节滑膜和关节滑液中发现: LPR5/LPR6 的受体抑制剂 DDK-1 表达量较健康对照组明显升高, 该指标的升高与作为 TNF 受体家族成员之一的 NF- κ B (RANK) 及配体 RANKL 通路的激活相关, 且可以通过 TNF 通路的激活诱导产生, 共同导致骨性关节炎和类风湿关节炎患者中骨关节面的破坏与重建。此外, Wnt 通路的激活可以诱导成骨细胞表达骨保护素, 其可通过调节 RANKL 信号通路来抑制破骨细胞的产生与激活, 从而逆转非正常的骨质代谢^[25]。

3 总结与展望

骨性关节炎作为一种严重影响生活质量的疾病, 目前的治疗手段往往局限于: 关节腔内药物注射、非负重区的关节软骨移植、关节面截骨、关节假体置换等。随着对 Wnt 通路在骨性关节炎中对成骨、软骨细胞的影响、Osteoblast-Osteoclast 的平衡, 以及它与多种信号通路在骨性关节炎过程中的调控作用了解的深入, 使人们认识到 Wnt 通路在骨性关节炎疾病发生机制中的重要调节作用。但鉴于 Wnt 通路的复杂性, 及其对下游通路影响的多变性, 如何确定 Wnt 通路中各分子及配体家族及调节因子表达的部位、作用浓度与时间、明确不同信号通路间可能存在的交叉级联反应及是否存在竞争抑制或协同作用等问题都还需要去逐步证实。在尝试利用 Wnt 及其他通路在骨性关节炎患者中正性调节机制的治疗研究过程中, 也应该谨慎: 过快过强的反向影响骨破坏与骨重建, 可能还会产生一些非正常的骨合成与代谢类疾病, 如: 关节骨质增生、强直性脊柱炎等。长期阻滞 DKK-1 可能导致产生的骨质瘤变作用也同样值

得警惕。尽管如此, 仍有理由相信, 未来控制骨性关节炎疾病进展的研究重点将转向如何从分子机制上靶向调控 Wnt 及其他通路间的分子及配体的致软骨骨化、破骨细胞活化的激活路径; 改变成骨细胞-破骨细胞的平衡; 逆转软骨细胞骨化、骨质破坏、增生的进程, 实现从影像学表现到临床症状真正意义上的治疗。

4 参考文献

- [1] Chen Y, Alman BA. Wnt pathway, an essential role in bone regeneration. *J Cell Biochem*. 2009;106(3):353-362.
- [2] Milat F, Ng KW. Is Wnt signalling the final common pathway leading to bone formation? *Mol Cell Endocrinol*. 2009;310(1-2):52-62.
- [3] Peifer M, Polakis P. Wnt signaling in oncogenesis and embryogenesis--a look outside the nucleus. *Science*. 2000;287(5458):1606-1609.
- [4] 贾瑞平, 徐宏光, 张大海. Wnt信号通路对软骨细胞影响研究进展[J]. 国际骨科学杂志, 2010, 31(4): 00-202.
- [5] Kikuchi A, Yamamoto H. Tumor formation due to abnormalities in the beta-catenin-independent pathway of Wnt signaling. *Cancer Sci*. 2008;99(2):202-208.
- [6] Dzamba BJ, Jakab KR, Marsden M, et al. Cadherin adhesion, tissue tension, and noncanonical Wnt signaling regulate fibronectin matrix organization. *Dev Cell*. 2009;16(3):421-432.
- [7] Chen AE, Ginty DD, Fan CM. Protein kinase A signalling via CREB controls myogenesis induced by Wnt proteins. *Nature*. 2005;433(7023):317-322.
- [8] Arden N, Nevitt MC. Osteoarthritis: Epidemiology. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2006;20(1):3-25.
- [9] Velasco J, Zarrabeitia MT, Prieto JR, et al. Wnt pathway genes in osteoporosis and osteoarthritis: differential expression and genetic association study. *Osteoporos Int*. 2010;21(1):109-118.
- [10] Montcouquiol M, Crenshaw EB 3rd, Kelley MW. Noncanonical Wnt signaling and neural polarity. *Annu Rev Neurosci*. 2006;29:363-386.
- [11] Blom AB, Brockbank SM, van Lent PL, et al. Involvement of the Wnt signaling pathway in experimental and human osteoarthritis: prominent role of Wnt-induced signaling protein 1. *Arthritis Rheum*. 2009;60(2):501-512.
- [12] Bondeson J. Activated synovial macrophages as targets for osteoarthritis drug therapy. *Curr Drug Targets*. 2010;11(5):576-585.
- [13] Alcaraz MJ, Megías J, García-Arnandis I, et al. New molecular targets for the treatment of osteoarthritis. *Biochem Pharmacol*. 2010;80(1):13-21.
- [14] Goldring MB, Otero M, Plumb DA, et al. Roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism: signals and multiple effectors converge upon MMP-13 regulation in osteoarthritis. *Eur Cell Mater*. 2011;21:202-220.
- [15] Nam J, Perera P, Liu J, et al. Transcriptome-wide gene regulation by gentle treadmill walking during the progression of monoiodoacetate-induced arthritis. *Arthritis Rheum*. 2011;63(6):1613-1625.

- [16] Chen Y, Alman BA. Wnt Pathway, an essential role in bone regeneration. *J Cell Biochem*. 2009;106(3):353-362.
- [17] Kubota T, Michigami T, Ozono K. Wnt signaling in bone metabolism. *J Bone Miner Metab*. 2009;27(3):265-271.
- [18] Velasco J, Zarrabeitia MT, Prieto JR, et al. Wnt pathway genes in osteoporosis and osteoarthritis: differential expression and genetic association study. *Osteoporos Int*. 2010;21(1):109-118.
- [19] Tsang KY, Cheung MC, Chan D, et al. The developmental roles of the extracellular matrix: beyond structure to regulation. *Cell Tissue Res*. 2010;339(1):93-110.
- [20] Sims EL, Carland JM, Keefe FJ, et al. Sex differences in biomechanics associated with knee osteoarthritis. *J Women Aging*. 2009;21(3):159-170.
- [21] Wu Q, Zhu M, Rosier RN, et al. β -catenin, cartilage, and osteoarthritis. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1192:344-350.
- [22] Blom AB, van Lent PL, van der Kraan PM, et al. To seek shelter from the WNT in osteoarthritis? WNT-signaling as a target for osteoarthritis therapy. *Curr Drug Targets*. 2010;11(5):620-629.
- [23] Roman-Blas JA, Castañeda S, Largo R, et al. Osteoarthritis associated with estrogen deficiency. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(5):241.
- [24] Zhou S, Eid K, Glowacki J. Cooperation between TGF- β and Wnt pathways during chondrocyte and adipocyte differentiation of human marrow stromal cells. *J Bone Miner Res*. 2004;19(3):463-470.
- [25] Choi Y, Arron JR, Townsend MJ. Promising bone-related targets for rheumatoid arthritis therapy. *Nat Rev Rheumatol*. 2009;5(10):543-548.

基金声明: 上海市教育委员会科研创新项目(08YZ37)。

作者贡献: 资料收集、成文、审校均由第一作者及通讯作者共同完成, 第一作者对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

此问题的已知信息: Wnt 通路及其相关蛋白参与调控成骨细胞-破骨细胞; 成骨细胞-成软骨细胞之间的转化平衡及在软骨细胞的退变过程中起着重要作用。

本综述增加的新信息: Wnt 信号通路是未来骨科疾病治疗的重要新靶点, 可采用去甲基化、基因敲除、干扰 RNA 等技术、削弱或阻断 Wnt 信号通路。从而确立此靶点。

临床应用的意义: 关节软骨退变是一种涉及 Wnt 信号通路、PTH 信号通路、雌激素受体等多因素相互作用的结果。在今后的研究中应注意软骨退变与强制性脊柱炎、关节骨质增生、骨性肿瘤发生的分子机制之间的相互作用与联系。在临床中注意收集相关患者血液及骨髓标本, 以供今后的相关实验研究。针对软骨致退变作用的关键基因位点的靶向治疗将成为未来临床科研研究的热点。