

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.02.026

[http://www.crter.org]

王慧, 孙惠强. 成骨细胞中雌激素与 Runx2 相互作用机制的研究与趋势[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(2): 331-336.

成骨细胞中雌激素与Runx2相互作用机制的研究与趋势**◆

王 慧, 孙惠强

山东大学口腔医学院, 山东省口腔生物医学重点实验室, 山东省济南市 250012

文章亮点:

- 1 此问题的已知信息: 雌激素与 Runx2 之间存在复杂的作用机制, 除 E2/ER 与 Runx2 直接作用外还涉及到许多信号系统。
- 2 本综述增加的新信息: 雌激素和 Runx2 相互作用通过许多其他信号通路而实现, 这些分子机制有待于进一步研究。
- 3 临床应用的意义: 对雌激素和 Runx2 在成骨细胞中相互作用的认识对阐明成骨细胞这一特殊群体的分化机制具有重要的意义, 在雌激素相关生理和病理过程研究中也具有重要的应用。

关键词:

组织构建; 组织构建学术探讨; 雌激素; 成骨特异性转录因子; 成骨细胞; 雌激素; 核因子 κ B; 成骨调控; 骨代谢; 信号通路; 省级基金

缩略语:

成骨特异性转录因子: runt-related transcription factor 2, Runx2

摘要

背景: 普遍认为雌激素和成骨特异性转录因子(runt-related transcription factor 2, Runx2)是骨骼形成和维持的重要调控因子。

目的: 分析总结目前有关成骨细胞中雌激素与 Runx2 相互作用的研究进展, 综述在成骨细胞中雌激素与 Runx2 相互作用的分子机制。

方法: 以“雌激素”、“成骨特异性转录因子”、“成骨细胞”、“Runx-2”、“Estrogen”为检索词, 检索 PubMed 数据库、中国生物医学文献数据库、维普期刊全文数据库、万方数据库有关文章。排除重复性研究及无关研究。计算机初步检索得到 62 篇文献, 经过进一步研读分析, 保留 22 篇进行总结。

结果与结论: 研究发现, 雌激素和 Runx2 在成骨细胞中并不是孤立的发挥作用, 而是通过多种方式相互协同, 共同发挥对成骨细胞的调控, 作用于骨代谢过程。雌激素与 Runx2 之间存在的复杂作用机制, 除 E₂/ER 与 Runx2 直接作用外还涉及到许多信号系统, 如转化生长因子 β 信号通路, Wnt/ β -连锁蛋白信号通路, Fas/FasL 信号通路和核因子 κ B 信号通路等。

Mechanism underlying interaction between estrogen and runt-related transcription factor 2 in osteoblasts

Wang Hui, Sun Hui-qiang

Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Biomedicine, Stomatological School of Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China

Abstract

BACKGROUND: It is widely believed that estrogen and runt-related transcription factor 2 (Runx2) are important regulatory factors in the formation and maintenance of bone.

OBJECTIVE: To summarize the recent research progresses and to elaborate the molecular mechanism of

王慧, 女, 1989年生, 山东省青岛市人, 汉族, 山东大学2008级在读学士。
wanghui-89@hotmail.com

通讯作者: 孙惠强, 博士, 硕士生导师, 副主任, 副教授, 山东大学口腔医院修复科, 山东省济南市250012
whitedove69@163.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:2095-4344
(2013)02-00331-06

收稿日期: 2012-04-10
修回日期: 2012-07-17
(20120410017W · W)

Wang Hui, Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Biomedicine, Stomatological School of Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China
wanghui-89@hotmail.com

Corresponding author: Sun Hui-qiang, Doctor, Master's supervisor, Associate professor, Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Biomedicine, Stomatological School of Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China
whitedove69@163.com

Supported by: the Natural Science Fund of Shandong Province, No. ZR2010HM035*; Shandong Province Medical and Health Technology Development Project, No. 2011WSB19002*

Received: 2012-04-10
Accepted: 2012-07-17

interaction between estrogen and Runx2 in osteoblasts.

METHODS: “Estrogen”, “runt-related transcription factor 2 (Runx2)” and “osteoblast” were used as search terms in Chinese and English to retrieve PubMed, China Biology Medicine disc, VIP journal full-text database, WanFang database. Repeatability studies and irrelevant researches were excluded. Totally 62 literatures were obtained with preliminary retrieval and 22 were reserved after further study and analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: A mass of scientific researchers have found that estrogen and Runx2 do not function independently in osteoblasts but interact with each other through multiple patterns to co-regulate osteoblasts. There exist a complex mechanism of interaction between estrogen and Runx2. Various pathways are involved besides the direct action between estrogen/estrogen receptor and Runx2, such as transforming growth factor- β pathway, Wnt/ β -catenin pathway, Fas/Fas ligand pathway and nuclear factor kappa B pathway.

Key Words: tissue construction; academic investigation in tissue construction; osteoblast-specific transcription factor; osteoblasts; estrogen; nuclear factor kappa B; regulation of osteogenesis; bone metabolism; signaling pathway; provincial grants-supported paper

Wang H, Sun HQ. Mechanism underlying interaction between estrogen and runt-related transcription factor 2 in osteoblasts. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(2): 331-336.

0 引言

骨骼系统是雌激素全身作用的重要靶点。雌激素作用于多个环节而影响骨骼的生长和重构, 这些环节包括成骨细胞和破骨细胞的增殖与分化、钙化、骨基质沉积、凋亡等^[1]。雌激素通过激活雌激素受体 α 和雌激素受体 β 对成骨细胞发挥生物学效应^[2]。多种信号系统或信号分子参与了成骨细胞中雌激素与成骨特异性转录因子(runt-related transcription factor 2, Runx2)的相互作用, 如转化生长因子 β /Smad信号通路, Wnt/ β -连锁蛋白信号通路, Fas/FasL信号通路, 核因子 κ B信号通路等。

Runx2属于Runt结构域家族, 其基因定位于人染色体6p12-p21位点上, 是控制成骨细胞分化的关键的特异性转录因子。Runx2可以诱导间充质干细胞向成骨细胞分化, 促进成骨细胞的成熟并影响其功能, 还能通过刺激多种基因的表达促进成骨细胞介导的破骨细胞形成和骨吸收^[3]。敲除Runx2的大鼠只有软骨组织而缺乏正常骨组织^[4]。多种细胞因子、激素、药物可以调节Runx2的表达。

以往关于雌激素和Runx2单独对成骨细胞作用的研究比较多, 近年来雌激素和Runx2的相互作用机制逐渐引起重视。大剂量雌激素的成骨作用在老年RUNX2^{+/-}鼠中明显减弱^[5], 说明Runx2参与E2介导的成骨作用。更多的研究报道雌激素可增加Runx2的表达和活性, 二者的相互作用涉及到复杂的调控机制, 文章就此研究进行综述。

1 资料和方法

1.1 资料来源

检索人相关内容: 第一作者。

检索时间范围: 1999年1月至2012年3月。

检索词: 中文检索词“雌激素”、“成骨特异性转录因子”、“成骨细胞”; 英文检索词“Runx-2”、“Estrogen”。

检索数据库: PubMed 数据库、中国生物医学文献数据库、维普期刊全文数据库、万方数据库

检索文献量: 共检索到 62 篇文章。

1.2 检索方法

纳入标准: ①与成骨细胞内雌激素与 Runx2 相互作用密切相关的文献。②选择近 5 年发表或在权威杂志上发表的文章。

排除标准: 重复性研究及无关研究的文献。

质量评估: 计算机初检得到 62 篇文献。通过阅读标题和摘要进行初步筛选, 排除无关研究的文献 26 篇, 重复性研究的文献 14 篇, 最后保留其中 22 篇进行进一步的分析总结。

2 结果

2.1 转化生长因子 β /Smad 信号通路

雌激素和转化生长因子 β 是骨骼系统的非常重要的两种调控因子, 目前已有许多报道阐明二者之间的信号通路^[6-7]。雌激素可通过多种途径影响转化生长因子 β 信号通路的活性, 继而通过转化生长因子 β 信号通路中的多个组成成分影响 Runx2 的表达和活性。首先, 很多研究在成骨细胞和非成骨细胞^[8-9], 比如人前列腺基质细胞, 大鼠骨细胞等, 证明雌激素可诱导转化生长因子 β 基因表达而激活转化生长因子 β 信号通路。

转化生长因子 β 信号系统主要通过 Smads 和转化生长因子 β 诱导早期基因(TIEG)影响 Runx2 的表达和活性。Smads 家族蛋白在将转化生长因子 β 信号从细胞表面受体传导至细胞核的过程中起到关键性作用, 且不同的 Smad 介导不同的转化生长因子 β 家族成员的信号转导, 如 Smad2/3 可以与 Runx2 形成异质二聚体, 从而介导雌激素和 Runx2 之间的作用^[9]。转化生长因子 β 诱导早期基因(TIEG)属于 KLF 家族, 通过其锌指结构与 DNA 结合从而影响基因的表达。如图 1: 转化生长因子 β 与其受体结合后, 激活转化生长因子 β 信号通路, 引起 Smad2 和 Smad3 结合形成二聚体, 此二聚体与 Smad4 结合形成的复合物进入核内作用于 TIEG 基因, 上调 TIEG 的表达。在人和鼠成骨细胞中 TIEG 不但可直接诱导 Runx2 的表达, 而且可与 Runx2 结合而刺激依赖 Runx2 的基因的表达^[9]。在这个通路中, Runx2 与 Smad 结合形成的异二聚体还可以反过来下调 Runx2 的表达。Runx2 与雌激素受体结合形成的异二聚体可以增强转化生长因子 β /Smad 信号通路的活性。

2.2 Wnt/ β -连锁蛋白信号通路

Wnt 信号通路是骨骼系统发育、成熟、重构的一个重要信号系统, 可以引起胞内 β -

连锁蛋白的积累。Chandar 等^[10]发现雌激素作用于 ROS17/2.8 细胞可显著上调由 Wnt 通路介导的 β -连锁蛋白和碱性磷酸酶, 而雌激素受体调节剂 ICI 182780 和三苯氧胺及雌激素受体 α 敲除可终止上述现象^[11]。这说明 Wnt/ β -连锁蛋白信号通路参与雌激素对成骨细胞的调控。

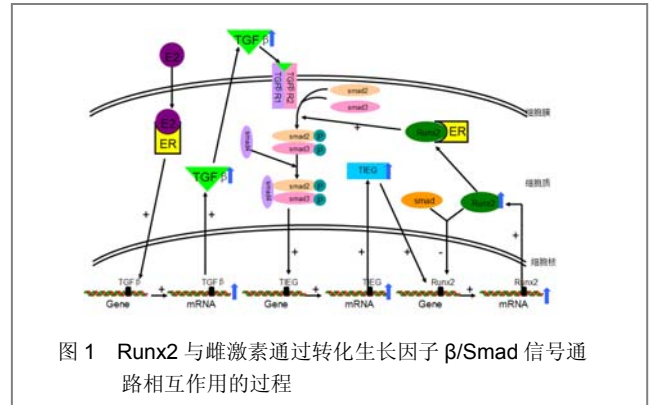
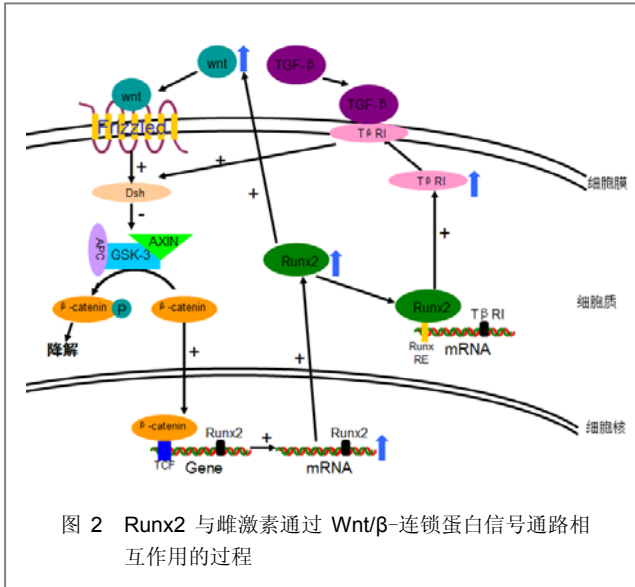


图 1 Runx2 与雌激素通过转化生长因子 β /Smad 信号通路相互作用的过程

Gaur 等^[12]认为 Wnt/ β -连锁蛋白信号通路通过激活 Runt 基因表达从而调控成骨细胞分化和骨骼发育, 其理论基于以下实验: ①敲除分泌型卷曲相关蛋白 1(SFRP1)的大鼠表达激活的 Wnt 信号通路, 其 T 细胞因子 1、Runt2 及骨钙素的表达显著增加。②Runx2 启动子(-97-93)存在功能性 T 细胞因子调控元件。③Runt 基因募集 β -连锁蛋白和 T 细胞因子 1。④T 细胞因子 1 和经典 Wnt 蛋白的共表达可以使 Runt 启动子活性显著提高, 并且其 mRNA 水平显著增加。通过对 FABP4-Wnt10b 鼠的研究发现 Wnt10b 可促进间质细胞向成骨细胞转化, 抑制其向脂肪细胞转化, 其机制之一是 Wnt10b 可诱导 Runx2 的表达而抑制 PPAR- γ 2 的表达^[13]。也有研究发现 Wnts 尽管可以增加依赖 Runx2 基因的表达, 但是不能增加核内 Runx2 的蛋白水平, 也不能促进 Runx2 与 DNA 的结合^[14]。这说明 Wnts 可能影响 Runx2 与其他转录因子的相互作用。如图 2: Wnt 信号通过细胞表面 7 次跨膜受体 Frizzled 家族成员激活胞质 Dishevelled(Dsh)蛋白, 从而抑制由 GSK3、Axin、APC 和 β -连锁蛋白组成的蛋白复合物的活性, 使 β -连锁蛋白免于磷酸化而不被降解, 导致 β -连锁蛋白在胞内积聚并易位到核内与转录因子 T 细胞因子家族成员结合, 促进 Runx2 表达。

Runx2 也可通过上调 T β RI 的表达而作用于转化生长因子 β 信号通路, 继而增强 Wnt 信号系统的活性。另外, Runx2 还可直接调节 Wnt 的基因表达。在成骨细胞分化早期, 前列腺素 E2 诱导的 Runx2 的

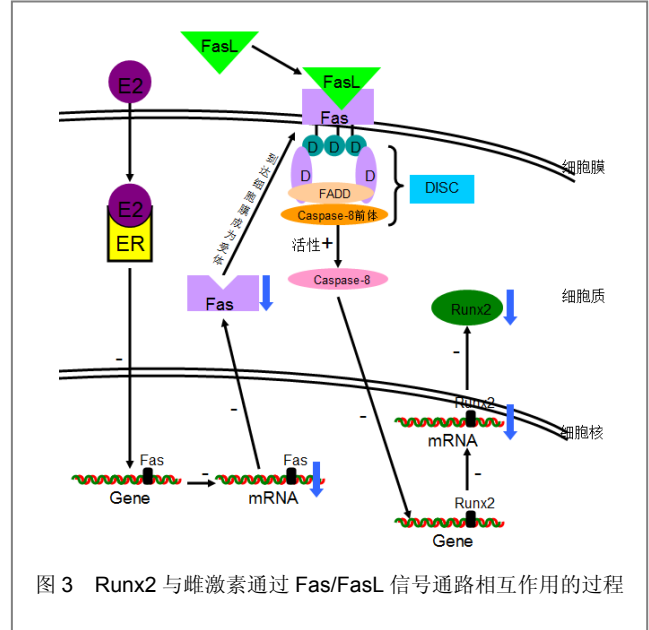
活化可增强依赖 Wnt 的基因表达, 当抑制内源性 Runx2 表达时 Wnt 基因的表达也受到显著抑制, 如图 2^[14]。因此, Wnt 极有可能是 Runx2 作用于雌激素介导的生物效应的重要靶点之一。



2.3 Fas/FasL 信号通路 雌激素通过抑制 Fas/FasL 信号通路而促进 Runx2 表达。Kovacic^[15]通过实验证明, 人和鼠的成骨细胞表达 Fas, 并且随着成骨细胞的进一步分化 Fas 表达量增加。该研究同时证明了 Fas/FasL 能抑制成骨细胞的分化, 但是对其凋亡影响甚微, 因为 FasL 能降低成骨细胞的比例但是不能影响总细胞的数目, 进一步实验发现 FasL 可以通过 caspase8 的激活而减少 Runx2 基因的表达, 而在不表达 Fas 或者 FasL 的鼠骨髓细胞中 Runx2 基因以及依赖 Runx 的碱性磷酸酶、骨钙素、骨桥蛋白等的表达量显著上升^[15]。如图 3: 配体 FasL 与死亡受体 Fas 结合后, 诱导 Fas 胞质区内的死亡结构域 DD 结合 Fas 结合蛋白 FADD, FADD 再以其氨基端的死亡效应结构域结合 caspase-8 前体, 形成 Fas-FADD-caspase-8 前体组成的死亡诱导复合物 DISC, DISC 激活 caspase-8, 活化的 caspase-8 减少 Runx2 基因的表达。

雌激素可减少 Fas 的表达并一定程度上降低 Fas 对成骨细胞分化的抑制作用^[16]。Kovacic 等^[16]还发现与假手术组相比, 行卵巢切除的 C57BL/6J 鼠成骨细胞的 Fas 基因表达量明显上升; 而敲除 Fas 基因后, 雌激素缺乏不能引起骨质疏松症。Krum 等^[17]研究 FasL 基因发现其下游 86kb 处为细胞类型特异性

的激素诱导增强子, 可作为雌激素受体 α 的作用靶点, 介导 Fas 信号系统与雌激素的相互作用。因此, Fas 信号通路可能参与雌激素介导的对成骨细胞分化的作用。



2.4 核因子 κB 信号通路 雌激素也能通过抑制核因子 κB 信号通路而促进 Runx2 表达。在哺乳动物中迄今发现 5 种核因子 κB 家族成员: RelA(p65)、RelB、c-Rel、核因子 κB1(p50)、核因子 κB2(p52)。它们以同源或异源二聚体形式存在, 最常见的二聚体是 p50-p65 异二聚体, 也就是常说的核因子 κB。在骨骼系统中核因子 κB 信号通路和雌激素发挥着相反的调节作用。雌激素可以通过抑制核因子 κB 配体激活因子(RANKL)而防止乙醇诱导的骨质丢失^[18]。因卵巢切除导致的骨质减少在 Bglap2-IKK-DN 鼠(表达无功能 IKKγ 等位基因产物)中得到明显改善, 说明核因子 κB 的激活破坏了成骨细胞骨形成^[19]。核因子 κB 可促进多种细胞因子的合成, 这些细胞因子在成骨细胞分化和骨形成中发挥重要的功能。

绝经期雌激素水平的降低伴随着血清白细胞介素 1, 白细胞介素 6, 白细胞介素 7 和肿瘤坏死因子的升高^[19]。如图 4: 当细胞受到炎症因子如肿瘤坏死因子 α 等刺激时, 肿瘤坏死因子 α 与其受体结合, 激活胞浆中 IKKs(IκB 激酶), 使无活性的核因子 κB 三聚体复合物的 IκB 的 N 端调节区的 Ser32/36 磷酸化, 随后发生泛素化, 在蛋白酶体作用下降解, IκB 的解离暴露出 p50 亚基的 DNA 结合位点, 使 p50-p65

异二聚体从细胞浆易位至细胞核内, 与 κB 序列结合, 促进白细胞介素 1, 白细胞介素 6, 白细胞介素 7 和肿瘤坏死因子的基因合成。有研究发现肿瘤坏死因子可通过下调 Runx2 的表达而抑制细胞分化^[20]。白细胞介素 6 可抑制骨吸收^[21]。白细胞介素 7 不但可抑制骨吸收还可以通过抑制 Runx2 基因启动子的活性而下调 Runx2 表达从而抑制骨形成^[22]。

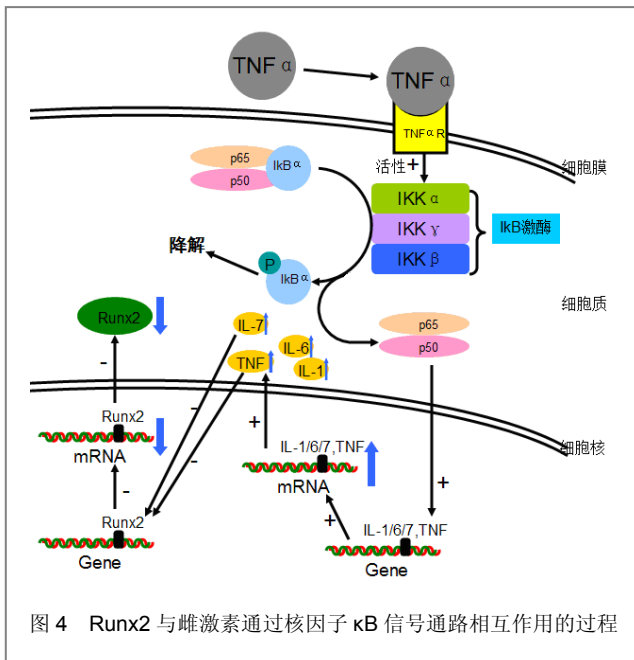


图 4 Runx2 与雌激素通过核因子 κB 信号通路相互作用的过程

Krum^[19]假设了雌激素影响核因子 κB 信号通路的 4 个机制, 包括雌激素受体 α 与核因子 κB 结合影响核因子 κB 的功能; 雌激素受体 α 调节 IKK 和 I κB 的活性; 雌激素受体 α 使辅激活蛋白远离核因子 κB ; 雌激素受体 α 可阻止 I κB 降解从而抑制核因子 κB 激活。除此之外, 雌激素受体 α 可直接与肿瘤坏死因子启动子结合而影响肿瘤坏死因子的表达。

2.5 其他 雌激素和 Runx2 的相互作用还通过许多其他信号通路而实现, 如: Runx2 增强固醇/类固醇激素代谢相关的酶的基因表达活性而促进雌激素合成; Runx2 通过与雌激素受体 α 基因的 F 启动子结合剂量依赖性影响雌激素受体 α 基因的表达; 前列腺素 E2 通过调控视网膜母细胞瘤结合蛋白 1 来上调 Runx2 的表达和活性等等, 这些分子机制有待于进一步研究。

3 小结

综上所述, 雌激素与 Runx2 的相互协同在骨骼

代谢中发挥重要作用。雌激素与 Runx2 之间存在复杂的作用机制, 除 E2/ER 与 Runx2 直接作用外还涉及到许多信号系统, 如转化生长因子 β 信号通路, Wnt/ β -连锁蛋白信号通路, Fas/FasL 信号通路和核因子 κB 信号通路等。两者相互影响, 共同调节成骨细胞的功能, 作用于骨代谢过程。一方面, Runx2 可作为雌激素的上游因子发挥调节作用, 不但影响雌激素代谢相关基因的表达并且影响雌激素受体 α 基因的表达。另一方面, 雌激素受体可直接与 Runx2 结合影响其表达和转录活性, 而且雌激素可通过许多其他信号系统调节 Runx2 的表达和活性, 这些结果表明 Runx2 也可以作为雌激素的下游分子受到调控。

总之, 虽然到目前为止关于雌激素与 Runx2 之间的相互作用调控成骨细胞分化的方面已经有了很多研究, 但仍有许多问题有待进一步探索, 对雌激素和 Runx2 在成骨细胞中相互作用的认识对阐明成骨细胞这一特殊群体的分化机制具有重要的意义, 在雌激素相关生理和病理过程研究中也有着重要的应用。

基金资助: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2010HM035); 山东省医药卫生科技发展计划 (2011WSB19002)。

作者贡献: 第一作者和通讯作者构思并设计本综述, 以及分析解析相关数据, 共同起草, 经通讯作者审校, 第一作者对本文负责。

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: 无涉及伦理冲突的内容。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Rickard DJ, Subramaniam M, Spelsberg TC. Molecular and cellular mechanisms of estrogen action on the skeleton. J Cell Biochem.1999; 32(33):123-132.
- [2] 王凌, 李大金. 雌激素受体亚型对成骨细胞的调控作用[J]. 中华老年医学杂志, 2005, 24 (9) :715-717
- [3] Frenkel B, Hong A, Baniwal SK, et al. Regulation of adult bone turnover by sex steroids. J Cell Physiol.2010;224(2): 305-310.
- [4] Komori T. RUNX2/PEBP2 alpha A. Nippon Rinsho, 1998, 56(6):1430-1434

- [5] Jüttner KV, Perry MJ. High-dose estrogen induced osteogenesis is decreased in aged RUNX2+/- mice. *Bone*. 2007;41(1):25-32.
- [6] Gao Y, Qian WP, Dark K, et al. Estrogen prevents bone loss through transforming growth factor beta signaling in T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*.2004; 101(47):16618-16623.
- [7] Janssens K, ten Dijke P, Janssens S, et al. Transforming growth factor-beta1 to the bone. *Endocr Rev*.2005; 26(6): 743-774.
- [8] Bord S, Beavan S, Ireland D, et al. Mechanisms by which high-dose estrogen therapy produces anabolic skeletal effects in postmenopausal women: role of locally produced growth factors. *Bone*.2001;29(3): 216-222.
- [9] Hawse JR, Subramaniam M, Ingle JN, et al. Estrogen-TGF β cross-talk in bone and other cell types Role of TIEG, Runx2, and other transcription factors. *J Cell Biochem*.2008; 103(2): 383-392.
- [10] Chandar N, Saluja R, Lamar PC, et al. P53 and beta-catenin activity during estrogen treatment of osteoblasts. *Cancer Cell Int*.2005;5:24.
- [11] Armstrong VJ, Muzylak M, Sunters A, et al. Wnt beta catenin signaling is a component of osteoblastic bone cell early responses to load-bearing and requires estrogen receptor alpha. *J Biol Chem*.2007;282(28): 20715-20727.
- [12] Gaur T, Lengner CJ, Hovhannisyan H, et al. Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating Runx2 gene expression. *J Biol Chem*.2005;280(39): 33132-33140.
- [13] Bennett CN, Longo KA, Wright WS, et al. Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b. *Proc Natl Acad Sci U S A*.2005;102(9): 3324-3329.
- [14] McCarthy TL, Centrella M. Novel Links among Wnt and TGF- β Signaling and Runx2 . *Mol. Endocrinol*.2010; 24(3): 587-597.
- [15] Kovacic N, Lukić IK, Grcević D, et al. The Fas/Fas Ligand System Inhibits Differentiation of Murine Osteoblasts but Has a Limited Role in Osteoblast and Osteoclast Apoptosis. *J Immunol*.2007;178: 3379-3389.
- [16] Kovacic N, Grcevic D, Katavic V, et al. Fas receptor is required for estrogen deficiency-induced bone loss in mice. *Lab Invest*. 2010;90(3): 402-413.
- [17] Krum SA, Miranda-Carboni GA, Hauschka PV, et al. Estrogen protects bone by inducing Fas ligand in osteoblasts to regulate osteoclast survival. *EMBO J*.2008;27(3):535-545.
- [18] [Chen JR, Haley RL, Hidestrand M, et al. Estradiol protects against ethanol-induced bone loss by inhibiting up-regulation of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in osteoblasts. *J Pharmacol Exp Ther*.2006; T 319(3): 1182-1190.
- [19] Krum SA, Chang J, Miranda-Carboni G, et al. Novel functions for NF κ B: inhibition of bone formation. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6(10): 607-611.
- [20] Gilbert L, He X, Farmer P, et al. Expression of the osteoblast differentiation factor RUNX2 (Runx2/ AML3/Pebp2alpha A) is inhibited by tumor necrosis factor-alpha. *J Biol Chem*.2002; 277(4):2695-2701.
- [21] Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, et al. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science*.1992;257(5066):88-91.
- [22] Weitzmann MN, Roggia C, Toraldo G, et al. Increased production of IL-7 uncouples bone formation from bone resorption during estrogen deficiency. *J Clin Invest*.2002; 110(11):1643-1650.