

# 骨代谢的分子调控研究进展

陈晒媛综述 巢永烈审校

(四川大学华西口腔医院修复科 四川 成都 610041)

**[摘要]** 骨形成与骨吸收之间的动态平衡受多种因素的调节,骨保护蛋白(OPG)、核因子- $\kappa$ B 受体活化因子配体(RANKL)和核因子- $\kappa$ B 受体活化因子(RANK)是其关键的调节因子。下面就 OPG/RANKL/RANK 信号通路、转化生长因子- $\beta$ 、单酰基甘油酰基转移酶-2、骨活化蛋白和交感神经系统在骨代谢调控中的作用作一综述。

**[关键词]** 骨保护蛋白; 核因子- $\kappa$ B 受体活化因子配体; 核因子- $\kappa$ B 受体活化因子; 转化生长因子

**[中图分类号]** Q 256 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1673-5749.2010.05.014

**Research progress on molecular regulation of bone metabolism** CHEN Shen-yuan, CHAO Yong-lie. (Dept. of Prosthodontics, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**[Abstract]** The dynamic balance between bone formation and bone resorption is regulated by many factors. Osteoprotegerin, receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B and receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand are the key regulatory factors. This article reviewed the regulation mechanism of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B, receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, transforming growth factor- $\beta$ , monoacylglycerol acyltransferase-2, osteoprotegerin, osteoactivin and sympathetic nervous system in bone metabolism.

**[Key words]** osteoprotegerin; receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand; receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B; transforming growth factor

成骨细胞(osteoblast, OB)和破骨细胞(osteoclast, OC)在正常的骨组织代谢中功能相反,但却保持着骨形成与骨吸收之间的动态平衡。当两者出现分化或功能异常时,其动态平衡被破坏,骨代谢出现异常,全身则以骨质疏松症、骨质硬化症等形式表现出来。研究显示,骨保护蛋白(osteoprotegerin, OPG)、核因子- $\kappa$ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL)和核因子- $\kappa$ B受体活化因子(receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B, RANK)等细胞因子在骨代谢的调控中发挥着重要的作用。

## 1 OPG/RANKL/RANK 信号通路

OPG、RANKL 和 RANK 为肿瘤坏死因子配体和受体家族成员,是一组调控 OC 发生的细胞因子。OPG 和 RANKL 竞争性地表达于 OC 及其前体上的 RANK,两者的平衡调控着骨的形成和吸收,RANKL 则使增殖的 OC 前体转化为 OC<sup>[1]</sup>。

RANK 与 RANKL 结合后启动 OC 分化的信号

传导通路。其中之一是核因子(nuclear factorNF)- $\kappa$ B途径<sup>[2]</sup>: RANK 与 RANKL 结合后,启动一系列激酶的酶链反应,激活 NF- $\kappa$ B 复合体、转录因子和活化蛋白-1。RANKL 激活成熟 OC 的 NF- $\kappa$ B 复合体,使 OC 发挥吞噬功能。RANKL 激活 OC 前体的 NF- $\kappa$ B 复合体,使 NF- $\kappa$ B 抑制蛋白(inhibitor- $\kappa$ -binding, I $\kappa$ B)激酶- $\alpha$  和  $\beta$  中丝氨酸残基 Ser<sup>32</sup> 和 Ser<sup>36</sup> 磷酸化而激活, I $\kappa$ B- $\alpha$  降解,随后 NF- $\kappa$ B 的 p50 或 p65 二聚体活化易位,由细胞质进入细胞核,启动其基因表达,从而使 OC 前体分化成熟为有生理功能的 OC<sup>[3]</sup>。其二是 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase, JNK)途径<sup>[2,4]</sup>: RANK 与肿瘤坏死因子受体相关因子(tumor necrosis factor receptor-associated factor, TRAF)-2 和 5 结合,启动一系列激酶的酶链反应,激活 JNK。活化的 JNK 诱导活化蛋白(activator protein, AP)-1 使转录因子激活, c-Jun 氨基末端磷酸化,调节 c-Fos 表达, OC 前体增殖、分化和融合,形成成熟的有功能的 OC。RANKL 激活的是 JNK-1 而非 JNK-2,且 JNK-1 能保护骨髓单核细胞在分化过程中免遭 RANKL 诱导发生程序性细胞死亡<sup>[5]</sup>。

[收稿日期] 2009-05-07; [修回日期] 2010-04-28

[作者简介] 陈晒媛(1985—),女,重庆人,硕士

[通讯作者] 巢永烈, Tel: 028-85501441

OPG 是 OC 形成的拮抗剂, 与 RANKL 竞争性地结合 RANK。OPG 能阻断 RANKL 与 RANK 的结合, 使 RANKL/RANK 信号通路不能激活, OC 前体分化成熟出现障碍。在肿瘤引起的骨破坏、关节炎和去卵巢骨质丢失的模型中, 注射 OPG 能减轻或消除骨质破坏。在 OB 表面, OPG 与 RANKL 的数量成反比。事实上体内骨量的改变和体外 OC 的形成取决于 RANKL 与 OPG 的比值, 而非 RANKL 的单位绝对数量<sup>[6]</sup>。在 OB 分化成熟时, RANKL 的 mRNA 数量降低了 83.3%, OPG 的 mRNA 数量增加了 7 倍, RANKL 与 OPG 的比值降低了 97.2%<sup>[7]</sup>。在未分化的骨髓基质细胞, RANKL 与 OPG 的比值较高, 可诱导 OC 形成。但当其分化为成熟的 OB 时, RANKL 与 OPG 的比值降低, 不能诱导 OC 的形成。RANKL 与 OPG 比值的动态变化, 在骨重建过程中发挥着使 OB 和 OC 分化达到动态平衡的协调作用。

## 2 转化生长因子- $\beta$

转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- $\beta$ 广泛存在于骨组织中。在骨骼中, TGF- $\beta$ 可以由 OB 合成并且沉积于细胞外基质中, 以自分泌和旁分泌的方式调控 OB 增殖和诱导 OB 分化<sup>[8]</sup>。TGF- $\beta$ 通过与靶细胞表面具有丝氨酸和或苏氨酸激酶活性的受体、结合, 使、型受体产生高亲和力, 型受体磷酸化, Smad<sub>2</sub>蛋白与激活的型受体结合并且活化, 与 Smad<sub>4</sub>形成 Smad<sub>2</sub>-Smad<sub>4</sub>复合物易位到核内, 将信号传递至细胞核, 细胞内特定的基因表达和蛋白质合成, 细胞增殖和分化<sup>[9]</sup>。

TGF- $\beta$ 有独立的 OB 介导活性, 能够使骨吸收的范围和持续时间局限, 防止骨丧失过量。OB 产生的 TGF- $\beta$ 直接作用于 OC 前体, 使其前体沿 OPG/RANKL/RANK 信号通路分化为 OC。在骨吸收过程中, 基质中释放出的 TGF- $\beta$ 作用于 OB, 使 RANKL 表达降低、OPG 表达增高、RANKL 与 OPG 的比值降低, OPG/RANKL/RANK 信号通路受到抑制, OC 前体不能分化成熟, 间接地抑制过多的 OC 形成<sup>[9]</sup>。

TGF- $\beta$ 对 OC 的作用一直存有争议。在不同的体内试验模型中, 促骨溶解和抗骨溶解现象均存在, 但大多表现为高表达 TGF- $\beta$ 导致骨量低, 而高表达可溶性 TGF- $\beta$ 受体导致高骨量<sup>[6]</sup>。魏义勇等<sup>[8]</sup>发现, TGF- $\beta_1$ 能促进 OB 前体和新编织骨

的形成。鲁道海等<sup>[10]</sup>发现, TGF- $\beta_1$ 对骨吸收有抑制作用, 虽然 TGF- $\beta_1$ 不能抑制氢离子释放, 但能通过改变酸性磷酸酶和抗酒石酸酸性磷酸酶的活性直接抑制体外培养的 OC 的骨吸收功能。

研究显示, 没有 TGF- $\beta$ 参与信号的启动和放大, OC 的就不能形成。在风湿性关节炎、牙周炎、种植体周围炎这三大常见疾病中, 炎症与骨丧失密切相关。OC 来源于造血系统的单核、巨噬细胞的前体细胞, TGF- $\beta$ 能抑制干扰素- $\beta$ 等炎症因子的抗 OC 活性, 阻止单核细胞向炎症细胞分化且促使其向 OC 分化。TGF- $\beta$ 诱导靶细胞产生的细胞因子信号抑制物(suppressor of cytokine signaling, SOCS)-3, 抑制炎症因子诱导的信号转导子和转录激活子-1 磷酸化, 阻止抗 OC 分化基因转录, 致 OC 前体细胞分化成熟<sup>[9, 11]</sup>。

## 3 单酰基甘油酰基转移酶-2

单酰基甘油酰基转移酶(monoacylglycerol acyltransferase, MGAT)-2俗称瘦素(leptin), 是一种由肥胖基因编码的蛋白质, 主要由外周白色脂肪组织分泌。成熟的 MGAT-2 含有 146 个氨基酸, 相对分子质量  $1.6 \times 10^4$ 。MGAT-2 通过直接和间接两种途径调节骨代谢: 直接作用于骨髓基质细胞和 OB 促进骨形成, 通过 RANKL/OPG 系统抑制 OC 功能以降低骨吸收; 间接通过中枢神经和或交感神经系统, 抑制骨形成。对骨代谢的总体作用可能为两方面综合调节的结果<sup>[12]</sup>。

人的骨髓基质干细胞(human bone marrow stromal cell, hBMSC)具有向 OB 或脂肪细胞分化的潜能。MGAT-2 不仅能促进 hBMSC 向 OB 分化, 增加碱性磷酸酶、型胶原和骨钙蛋白等在细胞内的合成; 还能使脂肪细胞的细胞质脂滴水平下降, 抑制 hBMSC 向脂肪细胞分化<sup>[13]</sup>。此外, MGAT-2 也能刺激 OB 增殖, 减少其程序性细胞死亡, 促使 OB 向骨细胞转化<sup>[14]</sup>。hBMSC 除表达功能性 MGAT-2 受体外, 还能表达 RANKL 和 OPG。Holloway 等<sup>[15]</sup>发现, MGAT-2 能减少 RANK 的产生, 抑制 OC 分化。Burguera 等<sup>[16]</sup>在去卵巢大鼠骨丢失模型研究中发现, MGAT-2 能减少大鼠骨小梁的丢失率; 体外培养 hBMSC, MGAT-2 能提高 hBMSC 中 OPG 的水平, 降低 RANKL 的水平, 以 RANKL/OPG 途径抑制 OC 生成, 减少骨吸收。

MGAT-2 缺乏的小鼠呈现高骨量表达, 其脑

室内注射 MGAT-2 则骨量大量丢失<sup>[17]</sup>。此时,外周血中不能检测到 MGAT-2。静脉内注射相同剂量的 MGAT-2 并不出现骨量丢失,这说明 MGAT-2 抑制骨形成的作用是通过中枢神经系统介导的。MGAT-2 的中枢骨形成抑制作用是通过交感神经系统  $\beta_2$  肾上腺素能受体途径发挥作用的,骨上的效应器是 OB,当  $\beta_2$  受体被激活则引起 RANKL 表达,同时促进局部微环境中 IL-6、11 以及地诺前列酮等表达,刺激 OC 分化,导致骨量下降<sup>[18]</sup>。MGAT-2 对骨代谢的影响在中轴骨和四肢骨以及骨密质和骨松质是不同的,具体原因与股骨、脊柱周围的肌肉量和髓腔内脂肪细胞的数量有明显差别相关<sup>[19]</sup>。

下丘脑可通过神经调节骨量,其机制涉及下丘脑腹内侧核 MGAT-2 表达,即下丘脑-神经肽通路。外周组织的交感神经投射于前脑下丘脑核和前脑非下丘脑核<sup>[20]</sup>,中枢神经系统的兴奋可通过下丘脑分泌的递质使外周交感神经系统兴奋。MGAT-2 通过使下丘脑  $\alpha$ -促黑素细胞激素( $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone,  $\alpha$ -MSH)释放增多和神经肽(neuropeptide, NP)Y 释放降低这一中枢途径,抑制骨形成。NPY 和  $\alpha$ -MSH 是 MGAT-2 信号的两个基本递质,两者在调节骨代谢方面的作用相反。NPY 激活下丘脑-垂体-肾上腺素轴,阻止促甲状腺素、促生长素和促性腺轴的活动,高表达 NPY 导致神经内分泌紊乱,引起骨量增加。NPY 还影响周围骨组织的自主神经活动,调节骨代谢内环境的稳定性,调节骨代谢<sup>[21]</sup>。

#### 4 骨活化蛋白

骨活化蛋白(osteostatin)是一种存在于鼠骨硬化模型中的高表达蛋白,在 OB 中合成,表达量较正常数高 3~4 倍<sup>[22]</sup>。骨活化蛋白有跨膜型和分泌型 2 种异构体。分泌型骨活化蛋白高度糖基化,在 OB 的分化和发挥正常功能中起重要的作用<sup>[23]</sup>。骨活化蛋白在 OB 增殖期的表达量极低,但随细胞外基质的成熟表达量增加,在 OB 分化的骨化期高表达,与标志 OB 分化成熟的碱性磷酸酶和骨钙蛋白同时达到高峰<sup>[23-24]</sup>。抗骨活化蛋白抗体在 OB 分化后期能明显地抑制 OB 的分化,其中包括抑制碱性磷酸酶活性、骨结节形成、骨钙蛋白生成和钙盐沉积,但对 OB 的增殖和活性却没有影响<sup>[23-24]</sup>。敲掉骨活化蛋白末端基因的突变小鼠所产生的骨活化蛋白缺乏大部分有功能的

结构,不能完成蛋白的糖基化、转运和分泌,OB 分化受到抑制。骨活化蛋白调节 OB 分化的具体机制尚不清楚:一种可能是通过特殊的信号通路作用于特殊的靶基因以调节 OB 的分化和功能发挥;另一种可能是分泌型骨活化蛋白作为一种基质蛋白与整联蛋白及其受体和多配体聚糖结合,启动整联蛋白信号通路调节 OB 的分化成熟<sup>[23]</sup>。

OC 中也存在着大量的骨活化蛋白,而骨活化蛋白在 OC 的形成和功能发挥中起重要作用,可能与 RANKL 信号通路有关<sup>[25]</sup>。以抗骨活化蛋白抗体处理 OC,OC 体积缩小、细胞核数量减少、细胞融合障碍和骨吸收活性下降。有证据显示,骨活化蛋白可能通过整联蛋白- $\beta_1$ 、 $\beta_3$  通路发挥作用,骨活化蛋白-整联蛋白复合体可能在 RANKL 诱导的 OC 形成、融合和成熟中发挥重要的作用。

#### 5 交感神经系统

交感神经活性增加,可使 OC 数量增多和活性增强,进而骨吸收增加、骨形成降低、骨量丢失。这些作用与 OB 上  $\beta_2$  肾上腺素能受体的活性密切相关。该受体的激活可增加 RANKL 的表达,刺激 OC 生成,进而导致骨量的下降<sup>[26]</sup>。Ishizuka 等<sup>[27]</sup>在用肾上腺素或异丙肾肾上腺素处理老鼠骨髓细胞时发现,产生抗酒石酸性磷酸酶活性的多核细胞能在牙本质薄片上产生吸收陷窝,骨髓细胞的 RANKL 增加、OPG 减少。 $\beta$  受体激动剂不能使有促进 OC 形成功能的 IL-6、11 以及地诺前列酮分泌增加,而是通过调节 RANKL 和 OPG 的表达促进 OC 生成<sup>[28]</sup>。这表明激活  $\beta_2$  肾上腺素能受体能使 RANKL/RANK 系统参与到 OC 的形成过程中,促进有生理功能的 OC 形成。Takeda 等<sup>[18]</sup>认为, $\beta$  受体拮抗剂普萘洛尔使野生型大鼠和去卵巢大鼠的脊柱和四肢骨的骨密度明显增加。使用  $\beta$  受体拮抗剂者的骨密度明显高于不使用  $\beta$  受体拮抗剂者,发生病理性骨折的概率小于后者<sup>[29-30]</sup>;相反,采用化学交感神经阻滞术、手术去除颈上交感神经节和药物失活肾上腺素能神经纤维<sup>[31-33]</sup>,均可使沙鼠中耳鼓泡的骨吸收增加。

#### 6 参考文献

- [1] Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts[J]. Science, 2000, 289(5484):1504-1508.
- [2] 袁成良,金小岚.破骨细胞分化成熟调节的分子机理研究进展[J].中国病理生理杂志,2003,19(3):140-145.
- [3] Wei S, Teitelbaum SL, Wang MW, et al. Receptor acti-

- vator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand activates nuclear factor- $\kappa$ B in osteoclast precursors[J]. *Endocrinology*, 2001, 142(3) :1290-1295.
- [4] Wong BR, Rho J, Arron J, et al. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(40) :25190-25194.
- [5] David JP, Sabapathy K, Hoffmann O, et al. JNK<sub>1</sub> modulates osteoclastogenesis through both c-Jun phosphorylation-dependent and-independent mechanisms[J]. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt 22) :4317-4325.
- [6] Quinn J, Gillespie MT. Modulation of osteoclast formation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 328(3) :739-745.
- [7] Gori F, Hofbauer LC, Dunstan CR, et al. The expression of osteoprotegerin and RANK ligand and the support of osteoclast formation by stromal-osteoblast lineage cells is developmentally regulated [J]. *Endocrinology*, 2000, 141(12) :4768-4776.
- [8] 魏义勇, 石印玉. 转移生长因子 $\beta$ 调控成骨细胞的分子机制[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2003, 11(5) :60-63.
- [9] Fox SW, Lovibond AC. Current insights into the role of transforming growth factor- $\beta$  in bone resorption[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 243(1/2) :19-26.
- [10] 鲁道海, 陈建庭, 金大地, 等. 转移生长因子- $\beta$ 对体外培养破骨细胞功能影响的实验研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2002, 10(9) :898-900.
- [11] Lovibond AC, Haque SJ, Chambers TJ, et al. TGF- $\beta$ -induced SOCS-3 expression augments TNF- $\alpha$ -induced osteoclast formation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 309(4) :762-767.
- [12] 彭 绵, 马艳芬, 陈 澍. 瘦素对骨量影响的研究进展[J]. *国外医学内科学分册*, 2004, 31(6) :267-270.
- [13] Thomas T, Gori F, Khosla S, et al. Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes[J]. *Endocrinology*, 1999, 140(4) :1630-1638.
- [14] Gordeladze JO, Drevon CA, Syversen U, et al. Leptin stimulates human osteoblastic cell proliferation, de novo collagen synthesis, and mineralization : Impact on differentiation markers, apoptosis, and osteoclastic signaling[J]. *J Cell Biochem*, 2002, 85(4) :825-836.
- [15] Holloway WR, Collier FM, Aitken CJ, et al. Leptin inhibits osteoclast generation[J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(2) :200-209.
- [16] Burguera B, Hofbauer LC, Thomas T, et al. Leptin reduces ovariectomy-induced bone loss in rats[J]. *Endocrinology*, 2001, 142(8) :3546-3553.
- [17] Ducy P, Amling M, Takeda S, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay : A central control of bone mass[J]. *Cell*, 2000, 100(2) :197-207.
- [18] Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system [J]. *Cell*, 2002, 111(3) :305-317.
- [19] Hamrick MW, Pennington C, Newton D, et al. Leptin deficiency produces contrasting phenotypes in bones of the limb and spine[J]. *Bone*, 2004, 34(3) :376-383.
- [20] 盛 健. 下丘脑-瘦素-交感神经系统和骨量的调控[J]. *国外医学内分泌学分册*, 2005, 25(5) :333-338.
- [21] 马艳芬, 彭 绵, 陈 澍. 瘦素通过中枢机制影响骨代谢的研究进展[J]. *国外医学老年医学分册*, 2004, 25(4) :178-180.
- [22] Safadi FF, Xu J, Smock SL, et al. Cloning and characterization of osteoactivin, a novel cDNA expressed in osteoblasts[J]. *J Cell Biochem*, 2001, 84(1) :12-26.
- [23] Abdelmagid SM, Barbe MF, Rico MC, et al. Osteoactivin, an anabolic factor that regulates osteoblast differentiation and function[J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314(13) :2334-2351.
- [24] Selim AA, Abdelmagid SM, Kanaan RA, et al. Anti-osteoactivin antibody inhibits osteoblast differentiation and function *in vitro*[J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2003, 13(2/3/4) :265-275.
- [25] Sheng MH, Wergedal JE, Mohan S, et al. Osteoactivin is a novel osteoclastic protein and plays a key role in osteoclast differentiation and activity[J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(10) :1451-1458 .
- [26] Togari A, Arai M. Pharmacological topics of bone metabolism : The physiological function of the sympathetic nervous system in modulating bone resorption[J]. *J Pharmacol Sci*, 2008, 106(4) :542-546.
- [27] Ishizuka K, Hirukawa K, Nakamura H, et al. Inhibitory effect of CGRP on osteoclast formation by mouse bone marrow cells treated with isoproterenol[J]. *Neurosci Lett*, 2005, 379(1) :47-51.
- [28] Takeuchi T, Tsuboi T, Arai M, et al. Adrenergic stimulation of osteoclastogenesis mediated by expression of osteoclast differentiation factor in MC3T3-E<sub>1</sub> osteoblast-like cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, 61(5) :579-586.
- [29] Turker S, Karatosun V, Gunal I. Beta-blockers increase bone mineral density[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2006, 443 :73-74.
- [30] Schlienger RC, Kraenzlin ME, Jick SS, et al. Use of beta-blockers and risk of fractures[J]. *JAMA*, 2004, 292(11) :1326-1332.
- [31] Sherman BE, Chole RA. Effect of chemical sympathectomy with 6-hydroxydopamine on osteoclast activity in the gerbilline middle ear bulla[J]. *Otol Neurotol*, 2001, 22(2) :237-241.
- [32] Sherman BE, Chole RA. *In vivo* effects of surgical sympathectomy on intramembranous bone resorption[J]. *Am J Otol*, 1996, 17(2) :343-346.
- [33] Hill EL, Turner R, Elde R. Effects of neonatal sympathectomy and capsaicin treatment on bone remodeling in rats[J]. *Neuroscience*, 1991, 44(3) :747-755.