

Smad 信号调控软骨形成机制的研究进展

杨云浩综述 蒋欣泉, 张志愿审校

(上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔颌面外科 上海 200011)

[摘要] 转化生长因子(TGF)- β 超家族信号通路不但调控胚胎发育、血管生成和伤口愈合等多种生理过程,也在细胞的增殖、分化、成熟和程序性死亡中起到重要的调控作用。此外, TGF- β 超家族信号通路还参与调控软骨形成和软骨发育。Smad 通过将 TGF- β 家族信号由细胞表面传递至细胞核来转导 TGF- β 家族信号。下文就 Smad 的分类、Smad 传递 TGF- β 家族信号的机制、Smad 信号对软骨形成的调控机制和 Smad 信号的负向调控作一综述。

[关键词] 转化生长因子- β 超家族; Smad 蛋白; 软骨形成; 信号转导; 负向调控

[中图分类号] Q 51 [文献标志码] A [doi] 10.3969/j.issn.1673-5749.2010.05.018

Research advances of the mechanism of Smad signaling regulates the chondrogenesis YANG Yun-hao, JIANG Xin-quan, ZHANG Zhi-yuan. (Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, The Ninth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200011, China)

[Abstract] Transforming growth factor(TGF)- β superfamily signaling pathways not only regulate numerous physiological processes such as embryonic development, angiogenesis and wound healing, but also play an important role in the regulation of cell proliferation, differentiation, maturation and programmed cell death. In addition, signaling by TGF- β superfamily also regulates chondrogenesis and cartilage development. Smad protein mediate signal transduction induced by the TGF- β superfamily members by transmitting the signals from the cell surface to the nucleus. In this review, we focus on the classification of Smad, the mechanism of the transduction of TGF- β superfamily signals by Smad, the mechanism of the Smad signaling regulates the chondrogenesis and the negative regulation of Smad signaling.

[Key words] transforming growth factor- β superfamily; Smad protein; chondrogenesis; signaling transduction; negative regulation

转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 超家族成员参与调控体内多种细胞的增殖、分化、程序性死亡和成熟。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、TGF- β 是 TGF- β 超家族的重要成员^[1]。Smad 转导的 BMP 和 TGF- β 信号对软骨细胞的分化、增殖和成熟以及软骨基质的合成具有重要的调控作用。BMP 信号主要促进软骨细胞的增殖及分化,而 TGF- β 信号则抑制软骨细胞的肥大性分化及增殖。细胞质内, Smad 受到 TGF- β 家族信号刺激后被磷酸化,进而在细胞核内集聚并调控各种靶基因的表达^[2]。Smad 中的某些成员能够对 TGF- β 和 BMP 信号介导的软骨形成进行负向调控^[3]。阐明 Smad 转导的

TGF- β 和 BMP 信号调控软骨发育和形成的具体机制,对于临床运用基因疗法修复软骨缺损以及利用组织工程和生物工程技术促进软骨组织再生具有重要的意义^[4]。

1 Smad 及其分类

在哺乳动物中共有 8 种 Smad, 根据结构和功能可将其分为 3 类。1)受体激活型 Smad(receptor-activated Smad, R-Smad): Smad-1、2、3、5、8, 其中, Smad-1、5、8 传递 BMP 信号, Smad-2 和 3 传递 TGF- β 信号; 2)共同调节 Smad(common mediator Smad, Co-Smad): 即 Smad-4, 它可与激活的 R-Smad 组成二聚体复合物; 3)抑制型 Smad(inhibitory Smad, I-Smad): Smad-6、7, 它们拮抗 R-Smad 和 Co-Smad 引起的生物学效应。其中, Smad-6 似乎只特异性地抑制 BMP 信号, Smad-7 则对 TGF- β 和 BMP 介导的信号均

[收稿日期] 2009-07-29; [修回日期] 2009-12-22

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30400502, 30772431)

[作者简介] 杨云浩(1984—), 男, 山东人, 硕士

[通讯作者] 张志愿, Tel: 021-63138341-5385

有抑制作用^[5-6]。与 BMP 信号有关的 Smad-1、5 在关节软骨膜明显表达，与 TGF- β 信号有关的 Smad-2、3 在成熟期软骨细胞中表达，Smad-4 表达于所有类型的软骨细胞中，Smad-6、7 则强烈表达于已成熟的软骨组织中^[7]。这提示 Smad 信号在软骨形成及发育中起到非常重要的作用，而且对于依赖 Smad 的 TGF- β 及 BMP 信号来说，存在精确的负向调控机制。

2 Smad 传递 TGF- β 家族信号的机制

TGF- β 家族成员的受体是 I 型和 II 型丝氨酸/苏氨酸激酶受体，其中 I 型受体又称为激活素受体样激酶(activin-receptor-like kinase, ALK)。I 型和 II 型受体被 TGF- β 信号激活后形成四聚物，其中 I 型受体磷酸化 II 型受体。后者随即磷酸化激活 R-Smad，其中，ALK-1、2、3、6 激活 Smad-1、5、8，ALK-4、5、7 激活 Smad-2、3^[8]。激活的 R-Smad 再与 Smad-4 结合成 R-Smad-Smad-4 复合物并在细胞核内集聚。在细胞核内，Smad 可直接与位于靶基因启动子内的 Smad 结合元件结合，通过与不同的转录因子、转录共同激活因子、转录共同抑制因子相互作用而发挥各种调控作用进而产生各种生物学效应^[5]。

激活的 Smad 复合体在细胞核集聚，这对于将 TGF- β 家族信号由跨膜受体传递至细胞核至关重要。目前，关于 Smad 在细胞核和细胞质的分布已有定论：无论有无 TGF- β 家族信号的刺激，Smad 均持续地穿梭于细胞质和细胞核之间，从而达成一种稳态。已证实有多种机制参与调控 Smad 的核质穿梭。Smad 的核质穿梭使细胞能够持续地监测 TGF- β 家族信号的强度，从而使细胞对信号强度的变化作出及时准确的反应^[9]。

3 Smad 信号对软骨形成的调控机制

3.1 Smad-1、5、8 转导的 BMP 信号

R-Smad 中的 Smad-1、5、8 负责将 BMP 信号传递至细胞核，调控与软骨发育有关的各种靶基因的转录。但 Smad-8 在传递 BMP 信号调控软骨发育方面的作用不及 Smad-1、5 重要，而且 Smad-1 及 5 的功能有一定程度的重叠^[10]。Smad-1 或 5 只能微弱诱导软骨细胞的分化，而 BMP-7 能够明显增强这种诱导作用^[11]。这是因为 BMP-7 可改变 Smad-1 或 5 的组织定位，使其在细胞核内集聚，从而将 BMP 信号传递至细胞核。在软骨前

体细胞中，Smad-1、5 可与 Smad-4 协同传递 BMP 信号，而 Smad-8、4 则没有明显的协同作用^[12]。另外，免疫抑制剂 FK506 可增强 Smad-1、5、8 转导的 BMP 信号，从而促进软骨形成^[13]。

3.2 Smad-2、3 转导的 TGF- β 信号

Smad-2、3 是 R-Smad 中转导 TGF- β 信号的成员，尽管 Smad-2、3 在结构上高度同源，但两者转导的 TGF- β 信号可能通过不完全相同的机制调控软骨形成^[14]。TGF- β 信号对于神经嵴起源的麦柯尔软骨、髌突及下颌骨的发育至关重要，其中，TGF- β 信号对于麦柯尔软骨的形成是必需的^[15]。将胚胎期小鼠的下颌骨进行组织培养 6 d 后，Smad-2 明显表达于麦柯尔软骨组织及其软骨膜中，9 d 后磷酸化的 Smad-2 在成熟的软骨细胞的细胞核中广泛表达，即 Smad-2 在麦柯尔软骨的发育中起到重要作用。Smad-2、3 在成熟的软骨细胞中强烈表达，提示 Smad-2、3 介导的 TGF- β 信号在软骨细胞的增殖及细胞外基质合成方面具有重要的调控作用^[7]。另外，FK506 还能够促进 Smad-3 转导的 TGF- β 信号对软骨形成的诱导作用。

smad-3 基因失活后能够部分阻断 TGF- β 信号，而 smad-2 基因失活后可完全阻断 TGF- β 信号。另外当 smad-3 基因缺失时，只能部分阻断 TGF- β 信号对软骨细胞分化的调控，而 TGF- β 信号对软骨细胞增殖的影响则完全被阻断。因此，Smad-2 信号可在 smad-3 基因缺失时代偿调控，而 Smad-3 对于 TGF- β 信号抑制软骨细胞的增殖是必需的^[16]。

TGF- β_1 促进软骨基质的合成，诱导金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloprotease, TIMP)-3 的表达。TIMP-3 可抑制与关节软骨组织降解和关节炎有关的各种酶的活性，Smad-2、3 磷酸化抑制剂可抑制 TGF- β_1 诱导的 Smad-2 磷酸化及 TIMP-3 的表达。另外，将 smad-4 基因敲除后可阻断 TGF- β_1 诱导的 TIMP-3 的表达上调。即 R-Smad 和 Smad-4 对于 TGF- β 信号在软骨细胞中诱导 TIMP-3 的表达非常关键，同时也说明 timp-3 基因是 Smad 信号通路的一个靶位^[17]。

4 Smad 信号的负向调节

4.1 I-Smad 的负向调控

当 smad-6 在细胞中过表达时通过竞争机制抑制 R-Smad 和 II 型受体结合从而抑制 BMP 信

号；而当 Smad-6 在细胞中浓度较低时，虽然无法干扰 Smad-1 的磷酸化，却能够抑制 Smad-1-Smad-4 复合物的形成，从而阻断 BMP 信号^[5]。当 BMP-2 诱导软骨细胞分化时，smad-6 mRNA 及其蛋白均上调；抑制 smad-6 的表达后，BMP-2 可以明显促进软骨细胞分泌 Ⅱ型胶原，而且碱性磷酸酶活性也明显上调。当 smad-6 过表达时，BMP 对 Ⅱ型胶原启动子的诱导被阻断；因此在软骨细胞中，BMP 信号可以诱导 smad-6 表达，而 smad-6 又通过负反馈机制抑制 BMP 信号^[3]。与 Smad-6 不同，Smad-7 对 BMP 或 TGF- β 信号均有明显的负向调控作用。smad-7 过表达可抑制软骨细胞的分化，抑制 BMP 诱导的软骨形成。

Smad 遍在蛋白调节因子(Smad ubiquitin regulatory factor, Smurf)-1、2 可以通过 I-Smad 与 BMP 或 TGF- β 信号 Ⅱ型受体结合，从而诱导这些受体的遍在蛋白化及降解。如 Smurf-1、2 均可以与 Smad-7 形成复合物，该复合物能够加速 TGF- β 信号 Ⅱ型受体的降解从而抑制 TGF- β 信号。Smad-6 和 Smurf-1 在体内协同调控软骨内骨化过程，抑制 BMP 信号对软骨细胞肥大性分化的促进作用。Smurf-1 可以通过多种机制负向调节 BMP 信号：既可直接与 Smad-1、5 结合抑制两者活性，又可间接地通过 I-Smad 抑制 Smad-1、5 的活性。但是 Smurf-1 只能特异性地诱导 Smad-1、5 的降解而不会与 Smad-2 结合，而 Smurf-2 却可以和 Smad-1、2、3 结合，其中 Smurf-2 对 Smad-1 的作用尤为明显，并能轻微降解 Smad-2，却不能降解 Smad-3^[18-19]；而且，Smurf-1、2 还能够通过 Smad-7 来降解 Smad-4。因此，Smurf-1、2 与 I-Smad 能够通过多种机制对 TGF- β 家族信号进行负向调节，从而使得 TGF- β 及 BMP 信号更精确有效地调控软骨形成。

4.2 其他负向调控机制

Jun 激活结构域结合蛋白(Jun activation domain-binding protein, Jab)-1 也能够抑制 Smad-5 转导的 BMP 信号对靶基因的调控；而且，Jab-1 还能够直接与 Smad-4 结合并诱导其降解。Jab-1 表达于人的关节软骨中，因此，Jab-1 是一种软骨细胞内的 BMP 信号负向调节分子^[20]。而且一些转录共抑制因子可通过与 Smad-2、3、4 结合抑制 Smad 的生物学活性，进而负向调节 TGF- β 信号。这些转录共抑制因子既可作为负向调控因子，通过抑制 R-Smad、Smad-4 的生物学活性来负向

调控 TGF- β 家族信号；又可作为细胞保护因子，抑制不必要的基因表达。此外，细胞核内的一些磷酸酶能够将 R-Smad 的 C 末端丝氨酸脱磷酸，从而抑制 TGF- β 信号^[21]。

5 结束语

综上所述，Smad 在转导 TGF- β 家族信号方面起到非常重要的作用，Smad 转导的 TGF- β 及 BMP 信号通过多种机制对软骨细胞的增殖、分化和成熟进行精密调控。进一步研究各种 Smad 的生物学特性及其在 TGF- β 家族信号转导中的具体作用机制，阐明依赖 Smad 的 TGF- β 家族信号调控软骨形成及发育的相关机制，了解其他基因或转录因子对 Smad 信号的调控作用具有重要的意义，将为基因疗法和组织工程技术修复各种软骨缺损、促进软骨再生提供重要依据。

6 参考文献

- [1] Gordon KJ, Blobe GC. Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1782(4):197-228.
- [2] Xu L. Regulation of Smad activities[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1759(11/12):503-513.
- [3] Li X, Ionescu AM, Schwarz EM, et al. Smad-6 is induced by BMP-2 and modulates chondrocyte differentiation [J]. *J Orthop Res*, 2003, 21(5):908-913.
- [4] Onyekwelu I, Goldring MB, Hidaka C. Chondrogenesis, joint formation, and articular cartilage regeneration[J]. *J Cell Biochem*, 2009, 107(3):383-392.
- [5] Chen W, Fu X, Sheng Z. Review of current progress in the structure and function of Smad proteins[J]. *Chin Med J(Engl)*, 2002, 115(3):446-450.
- [6] Ross S, Hill CS. How the Smads regulate transcription[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(3):383-408.
- [7] Ito Y, Bringas P Jr, Mogharei A, et al. Receptor-regulated and inhibitory Smads are critical in regulating transforming growth factor beta-mediated Meckel's cartilage development[J]. *Dev Dyn*, 2002, 224(1):69-78.
- [8] ten Dijke P, Hill CS. New insights into TGF-beta-Smad signalling[J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(5):265-273.
- [9] Hill CS. Nucleocytoplasmic shuttling of Smad proteins[J]. *Cell Res*, 2009, 19(1):36-46.
- [10] Retting KN, Song B, Yoon BS, et al. BMP canonical Smad signaling through Smad-1 and Smad-5 is required for endochondral bone formation[J]. *Development*, 2009, 136(7):1093-1104.
- [11] Nishihara A, Fujii M, Sampath TK, et al. Bone morphogenetic protein signaling in articular chondrocyte diffe-

- cal transportation in four Ni-Ti rotary instrumentation techniques[J]. *J Endod*, 2003, 29(9) :587-591.
- [9] Iqbal MK, Firic S, Tulcan J, et al. Comparison of apical transportation between ProFile and ProTaper NiTi rotary instruments[J]. *Int Endod J*, 2004, 37(6) :359-364.
- [10] Veltri M, Mollo A, Mantovani L, et al. A comparative study of Endoflare-Hero Shaper and Mtwo NiTi instruments in the preparation of curved root canals[J]. *Int Endod J*, 2005, 38(9) :610-616.
- [11] Perez F, Schoumacker M, Peli JF. Shaping ability of two rotary instruments in simulated canals : Stainless steel ENDO flash and nickel-titanium HERO Shaper[J]. *Int Endod J*, 2005, 38(9) :637-644.
- [12] Schäfer E, Erler M, Dammaschke T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments. Part 1. Shaping ability in simulated curved canals[J]. *Int Endod J*, 2006, 39(3) :196-202.
- [13] Paqué F, Ganahl D, Peters OA. Effects of root canal preparation on apical geometry assessed by micro-computed tomography[J]. *J Endod*, 2009, 35(7) :1056-1059.
- [14] Peters OA, Peters CI, Schönenberger K, et al. ProTaper rotary root canal preparation : Effects of canal anatomy on final shape analysed by micro CT[J]. *Int Endod J*, 2003, 36(2) :86-92.
- [15] Peters OA, Laib A, Göhring TN, et al. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography[J]. *J Endod*, 2001, 27(1) :1-6.
- [16] Hübscher W, Barbakow F, Peters OA. Root-canal preparation with FlexMaster : Canal shapes analysed by micro-computed tomography[J]. *Int Endod J*, 2003, 36(11) :740-747.
- [17] Peters OA, Laib A, Rügsegger P, et al. Three-dimensional analysis of root canal geometry by high-resolution computed tomography[J]. *J Dent Res*, 2000, 79(6) :1405-1409.
- [18] Loizides AL, Kakavetsos VD, Tzanetakis GN, et al. A comparative study of the effects of two nickel-titanium preparation techniques on root canal geometry assessed by microcomputed tomography[J]. *J Endod*, 2007, 33(12) :1455-1459.
- [19] Gao Y, Peters OA, Wu H, et al. An application framework of three-dimensional reconstruction and measurement for endodontic research[J]. *J Endod*, 2009, 35(2) :269-274.

(本文编辑 胡兴戎)

(上接第561页)

- rentiation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 301(2) :617-622.
- [12] Hatakeyama Y, Nguyen J, Wang X, et al. Smad signaling in mesenchymal and chondrogenitor cells[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2003, 85(Suppl 3) :13-18.
- [13] Tateishi K, Hiquchi C, Ando W, et al. The immunosuppressant FK506 promotes development of the chondrogenic phenotype in human synovial stromal cells via modulation of the Smad signaling pathway[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2007, 15(6) :709-718.
- [14] Liu F. Receptor-regulated Smads in TGF-beta signaling[J]. *Front Biosci*, 2003, 8 :s1280-s1303.
- [15] Oka K, Oka S, Sasaki T, et al. The role of TGF-beta signaling in regulating chondrogenesis and osteogenesis during mandibular development[J]. *Dev Biol*, 2007, 303(1) :391-404.
- [16] Alvarez J, Serra R. Unique and redundant roles of Smad-3 in TGF-beta-mediated regulation of long bone development in organ culture[J]. *Dev Dyn*, 2004, 230(4) :685-699.
- [17] Qureshi HY, Right G, Zafarullah M. Smad signaling pathway is a pivotal component of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 regulation by transforming growth factor beta in human chondrocytes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(9) :1605-1612.
- [18] Murakami G, Watabe T, Takaoka K, et al. Cooperative inhibition of bone morphogenetic protein signaling by Smurf-1 and inhibitory Smads[J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(7) :2809-2817.
- [19] Zhang Y, Chang C, Gehling DJ, et al. Regulation of Smad degradation and activity by Smurf-2, an E3 ubiquitin ligase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(3) :974-979.
- [20] Haag J, Aigner T. Jun activation domain-binding protein-1 binds Smad-5 and inhibits bone morphogenetic protein signaling[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(12) :3878-3884.
- [21] Ito S, ten Dijke P. Negative regulation of TGF-beta receptor/Smad signal transduction[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, 19(2) :176-184.

(本文编辑 汤亚玲)