

脂肪干细胞成骨分化机制的研究进展

刘向东 宋应亮*

(军事口腔医学国家重点实验室, 口腔疾病国家临床医学研究中心,
陕西省口腔生物工程技术研究中心, 第四军医大学口腔医院种植科 陕西 西安 710032)

[摘要] 提高种植体骨结合, 尤其是糖尿病患者的种植体骨结合是口腔种植医生正在面对且亟待解决的难题之一, 脂肪干细胞为解决上述问题提供了新的思路, 然而脂肪干细胞的成骨分化能力有待提高。本文总结促进脂肪干细胞成骨分化的有效手段以及具体机制, 重点综述微小 RNA (microRNA, miRNA) 以及脑信号蛋白 3a (Semaphorin3A, Sema3a) 对脂肪干细胞成骨分化的影响及机制, 并对未来研究进行展望。

[关键词] 脂肪干细胞 微小 RNA 脑信号蛋白 3a

[文献标识码] A **[文章编号]** 1671—7651(2019)10—0919—03

[doi] 10.13701/j.cnki.kqxyj.2019.10.002

Research Progress in Osteogenic Differentiation Mechanism of Adipose-derived Stem Cells. LIU Xiangdong, SONG Yingliang*. *State Key Laboratory of Military Stomatology and National Clinical Research Center for Oral Diseases and Shaanxi Engineering Research Center for Dental Materials and Advanced Manufacture, Department of Implant Dentistry, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China.*

[Abstract] Increasing implant osseointegration, especially for diabetic patients, is one of the problems that every oral implant doctor is facing. Adipose derived stem cells (ASCs) provide new ideas for solving above problems. However, its osteogenesis needs improving. This article mainly summarizes the effective methods of osteogenic differentiation of ASCs and its specific mechanism. The focus is on microRNA, Semaphorin3A and these possible mechanisms. Lastly, we look forward to future research findings.

[Key words] adipose-derived stem cells microRNA Semaphorin3A

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是干细胞家族的重要成员, 来源于发育早期的中胚层, 属于多能干细胞。脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ASCs), 存在于脂肪组织中, 是具有多向分化潜能的成体干细胞。在一定条件下, 具有向骨、软骨、脂肪细胞、内皮细胞等多向分化的潜能^[1]。更为重要的是, ASCs 具有创伤小, 来源广泛, 取材容易, 免疫调节能力强等一系列骨髓间充质干细胞没有的优势^[2]。其次, ASCs 的分离和培养步骤少, 操作简单, 只需少量脂肪组织剪碎后消化离心^[3-5], 且增殖较快, 获取量大。有研究表明, ASCs 的获取量至少是骨髓间充质干细胞的 500 倍^[6], 因此, ASCs 可作为骨组织工程新的有潜力的种子细胞。但是, ASCs 的成骨能力并不理想, 而且远远不如早期发现和深入研究的骨髓间充质干细胞, 其中最重要的因素是有向其组织来源方向成脂分化的倾向。影响 ASCs 成骨分化的因素众多^[7]。众多学者希望从这些影响因素入手, 寻

找可以解决 ASCs 成骨能力弱, 以及有向其组织来源成脂方向分化倾向的问题, 从而将其更好地应用于临床。了解不同分化手段的不同机制也是将 ASCs 应用于临床的重要一步, 所以本文主要综述影响 ASCs 成骨分化的因素及可能机制。

1 ASCs 成骨分化的影响因素及可能机制

1.1 物理因素 周延华等^[8]发现, 高压氧舱治疗可以增加 ASCs 的成骨分化能力; 夏露等^[9]发现 ASCs 中由成骨细胞分泌的, 可代表成骨细胞活动状态的骨钙素、I 型胶原及碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)等指标在脉冲磁场处理 2 周后显著增加。

1.2 中药 相对于左归丸, 右归丸对 ASCs 的成骨分化有更大的优势, 并且可以显著增加 Runt 相关转录因子 2(runt-related transcription factor-2, RUNX2)和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)蛋白的表达, 后期研究也证明了右归丸对 ASCs 成骨分化中的 β -连环蛋白(β -catenin)、淋巴细胞增强因子(lymphoid enhancer factor, Lef-1)及 Wnt3a 蛋白的作用效果更明显^[10,11]; 高浓度人參皂昔抑制 ASCs 增殖, 促进其成骨分化^[12]。

1.3 富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP) PRP 是一种全血离心得到可释放大促细胞增殖、分化、有丝分裂

基金项目 国家自然科学基金(编号:81771107, 81470775)

作者简介 刘向东(1990~), 男, 河北邯郸人, 硕士在读, 主要从事口腔种植研究。

* 通信作者 宋应亮, E-mail: songyingliang@163.com

生长因子的血小板浓缩物。有研究表明,PRP通过抑制细胞周期抑制蛋白 p27 促进 ASCs 进入细胞周期的比例来促进其增殖和成骨分化^[13]。也有研究结果表明,人 PRP(15%最佳)可以更好地促进人 ASCs 的增殖和成骨分化^[14]。

1.4 骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)是成骨分化中关键调节因子,可促进 ASCs 的成骨分化和基质钙化。随着研究深入,人们发现单独使用 BMP 并不能很好地解决 ASCs 的成骨分化问题,ASCs 和 BMP-2 形成的 3D 生物支架可以有效重建下颌骨缺损^[15]。姜蔚然等^[16]利用缓慢释放 BMP-2 的 BMP-2-BioCaP 支架促进 ASCs 的成骨分化,可能提供了一种有希望的生物组织工程策略,具有很高的应用前景。

2 脑信号蛋白 3a(semaphorin3A, sema3a)对 ASCs 成骨分化的影响及可能机制

2015 年, Fang 等^[17]发现 ASCs 体外成骨分化能力随 sema3a 浓度升高而增强, sema3a 修饰的 ASCs 种植体膜片对骨组织有更强的粘附性并可以形成更好的骨结合。2016 年, Liu 等^[18]发现 sema3a 修饰的 ASCs 可以增强成骨基因的表达和细胞外骨基质沉积,此外将 sema3a 修饰的 ASCs 移植到聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA] 骨架能更好地满足大鼠极限骨缺损的修复,增加新骨形成,其机制可能与 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。最新的研究发现, sema3a 膜片组(1.0 mg/L sema3a 刺激的骨髓间充质干细胞膜片和骨粉)与对照组(植入骨粉)和膜片组(植入骨髓间充质干细胞膜片和骨粉)相比,新骨形成最多,骨体积分数最大, II 型糖尿病大鼠的骨再生能力显著增加^[19]。

3 微小 RNA(microRNA, miRNA)与 ASCs 成骨分化的关系

随着对 miRNA 的深入研究,人们发现 miRNA 与 ASCs 的成骨分化密切相关^[20]。骨元细胞里敲除 Dicer 基因使骨形成受到抑制足以说明 miRNA 在骨代谢中发挥不容忽视的作用^[21]。ASCs 成骨分化的前后有 4 个 miRNAs 上调(miR-17、miR-20a、miR-20b 和 miR-106a)和 4 个 miRNAs 下调(miR-31、miR-125a-5p、miR-125b 和 miR-193a)^[22]; miR-34a 通过调控视网膜母细胞瘤结合蛋白 2(retinoblastoma binding protein 2, RBP2)/NOTCH1/细胞周期蛋白 1(Cyclin D1)信号通路来促进 ASCs 成骨分化^[23]; BMP-2 诱导 ASCs 成骨分化过程中, miR-146a 下调最显著,并通过抑制 SMAD4 来调控 ASCs 的成骨分化,更为重要的是,体内抑制 miR-146a 能促进 ASCs 的成骨分化和临界性颅骨缺损的修复^[24]。miR-206 是成骨分化过程中重要调控因子之一,过表达 miR-206 抑制成骨分化,抑制 miR-206 的表达则促进 ASCs 的成骨分化^[25]。miR-2861 通过调控靶基因组蛋白去乙酰化酶 5(histone deacetylase 5, HDAC5)促进成骨分化^[26]。miR-216a 靶向 c-Cbl 影响磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)信号通路挽救地塞米松对成骨分化的抑制作用来促进 ASCs 的成骨分化^[27]; 纳米羟基磷灰石与转染 miR-221

的 ASCs 形成的支架可以在体外提高骨钙素和 RUNX2 的表达,促进 ASCs 的成骨分化^[28]。miR-145 与 miR-143 均位于 5 号染色体上,前期研究主要集中在与不同癌症的发生和发展的相关性^[29-31],其对间充质干细胞成骨分化的作用主要有 3 个方向:通过 BMPs 诱导成骨分化,利用微阵列分析找到分化前后差异表达的 miRNA 和 mRNA,其中 miR-145 在成骨前后表达量最低,并通过抑制 Foxo1 来抑制人 ASCs 的成骨分化^[32]; Jia 等^[33]的研究也证明了 miR-145 在成骨分化过程表达量降低,并且验证 miR-145 通过调节 Sp7 作为成骨分化的抑制因子;通过慢病毒将 miR-145 对照序列或 miR-145 抑制剂转染到 MSCs 中,验证其对细胞增殖、凋亡、细胞周期和成骨分化的影响。结果表明 miR-145 抑制剂促进了 ASCs 的成骨分化,但不影响细胞增殖、凋亡和细胞周期。本研究小组未发表的数据中也发现 miR-145-5p 抑制剂可以通过调控 Wnt 信号通路来促进 ASCs 的成骨分化。虽然已发现众多 miRNAs 参与 ASCs 的成骨分化,并且部分机制已经阐明,但是具体是 miRNAs 通过调控靶基因发挥作用,还是 miRNAs 本身对 ASCs 的成骨分化发挥作用或是两者一起发挥作用尚未明确。

4 展望与不足

干细胞的成骨分化涉及一系列基因的程序性表达,是多种细胞因子如 BMPs, 多种信号通路如 Wnt、MAPK 和 Hippo, 多种转录因子如 RUNX2、成骨细胞特异性转录因子(Osterix, OSX)等形成的相互联系的网络共同调控的结果。然而,成骨分化的机制并未完全阐明。并且有关 ASCs 的实验大部分局限于体外实验和动物实验,更为棘手的是,ASCs 的分化可能与一些肿瘤信号通路相关。因此,ASCs 分化的致癌风险是不得不重视的问题^[34]。总之,研究 ASCs 成骨分化信号通路之间的相互联系,找到具体的作用点,将 ASCs 构建的组织工程应用于临床,排除一系列不利因素,是未来 ASCs 研究的热点和方向。

参考文献

- [1] Cao Y, Sun Z, Liao L, et al. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells *in vitro* and improve postnatal neovascularization *in vivo* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 332(2): 370-379.
- [2] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies [J]. *Tissue Eng*, 2001, 7(2): 211-228.
- [3] Caviggioli F, Vinci V, Salval A, et al. Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and applications in surgery [J]. *ANZ J Surg*, 2009, 79(11): 856.
- [4] Zhu Y, Liu T, Song K, et al. Adipose-derived stem cell: a better stem cell than BMSC [J]. *Cell Biochem Funct*, 2008, 26(6): 664-675.
- [5] Lin Y, Liu L, Li Z, et al. Pluripotency potential of human adipose-derived stem cells marked with exogenous green fluorescent protein [J]. *Mol Cell Biochem*, 2006, 291(1-2): 1-10.
- [6] Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, et al. Fat tissue: an undera-

- ppreciated source of stem cells for biotechnology [J]. Trends Biotechnol, 2006, 24(4): 150-154.
- [7] 陈龙,郭澍.脂肪干细胞成骨分化相关研究进展[J].中国实用口腔科杂志,2018,11(4): 246-249.
- [8] 周延华,郑海锋,曾庆鑫,等.高压氧对脂肪干细胞成骨分化的影响[J].中华航海医学与高气压医学杂志,2017,24(5): 365-369.
- [9] 夏露,郭卫春.脉冲电磁场对脂肪干细胞成骨分化的影响[J].山东医药,2013, 53(38): 31-32.
- [10] 李玲慧,詹红生,丁道芳,等.左归丸、右归丸含药血清对大鼠脂肪干细胞成骨分化的影响[J].中医杂志,2013, 54(22): 1941-1944.
- [11] 李玲慧,詹红生,丁道芳,等.左归丸和右归丸对大鼠脂肪干细胞增殖及成骨分化影响的比较[J].中国骨质疏松杂志,2013, 19(11): 1146-1151.
- [12] 黄敏红,梁至洁,梁一丹,等.人參皂昔 Rg1 促进脂肪干细胞体外增殖与成骨分化[J].中华实验外科杂志,2016,33(11): 2463-2468.
- [13] 马德彰,王喻,花卉,等.富血小板血浆通过调节细胞周期抑制蛋白 p27 促进大鼠脂肪干细胞成骨分化[J].中华实验外科杂志,2013,30(10): 2188-2190.
- [14] Tavakolinejad S, Khosravi M, Mashkani B, et al. The effect of human platelet-rich plasma on adipose-derived stem cell proliferation and osteogenic differentiation [J]. Iran Biomed J, 2014, 18(3): 151-157.
- [15] Fan J, Park H, Lee MK, et al. Adipose-derived stem cells and BMP-2 delivery in chitosan-based 3D constructs to enhance bone regeneration in a rat mandibular defect model [J]. Tissue Eng Part A, 2014, 20(15-16): 2169-2179.
- [16] 姜蔚然,张晓,刘云松,等.骨形态发生蛋白-2-磷酸钙共沉淀支架与人脂肪间充质干细胞构建新型组织工程化骨[J].北京大学学报(医学版),2017, 49(1): 6-15.
- [17] Fang K, Wen S, Wang L, et al. Semaphorin 3A-modified adipose-derived stem cell sheet may improve osseointegration in a type 2 diabetes mellitus rat model [J]. Mol Med Rep, 2016, 14(3): 2449-2456.
- [18] Liu X, Tan N, Zhou Y, et al. Semaphorin 3A shifts adipose mesenchymal stem cells towards osteogenic phenotype and promotes bone regeneration *in vivo* [J]. Stem Cells Int, 2016, 2016: 2545214.
- [19] 乔桥,宋应亮,李凤兰.信号素 3A 刺激的干细胞膜片对 2 型糖尿病大鼠骨再生作用的研究[J].中华口腔医学杂志,2018,53(5): 333-338.
- [20] Vimalraj S, Selvamurugan N. MicroRNAs expression and their regulatory networks during mesenchymal stem cells differentiation toward osteoblasts [J]. Int J Biol Macromol, 2014, 66: 194-202.
- [21] Liu P, Mario B, Marco G, et al. Dicer ablation in osteoblasts by Runx2 driven cre-loxP recombination affects bone integrity, but not glucocorticoid-induced suppression of bone formation [J]. Sci Rep, 2016, 6: 32112.
- [22] Zhang ZJ, Zhang H, Kang Y, et al. miRNA expression profile during osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells [J]. J Cell Biochem, 2012, 113(3): 888-898.
- [23] Fan C, Jia L, Zheng Y, et al. MiR-34a promotes osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells via the RBP2/NOTCH1/CYCLIN D1 coregulatory network [J]. Stem Cell Reports, 2016, 7(2): 236-248.
- [24] Xie Q, Wei W, Ruan J, et al. Effects of miR-146a on the osteogenesis of adipose-derived mesenchymal stem cells and bone regeneration [J]. Sci Rep, 2017, 7: 42840.
- [25] Inose H, Ochi H, Kimura A, et al. A microRNA regulatory mechanism of osteoblast differentiation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(49): 20794-20799.
- [26] Hu R, Liu W, Li H, et al. A Runx2/miR-3960/miR-2861 regulatory feedback loop during mouse osteoblast differentiation [J]. J Biol Chem, 2011, 286(14): 12328-12339.
- [27] Li H, Li T, Fan J, et al. miR-216a rescues dexamethasone suppression of osteogenesis, promotes osteoblast differentiation and enhances bone formation, by regulating c-Cbl-mediated PI3K/AKT pathway [J]. Cell Death Differ, 2015, 22(12): 1935-1945.
- [28] Hoseinzadeh S, Atashi A, Soleimani M, et al. MiR-221-inhibited adipose tissue-derived mesenchymal stem cells bioengineered in a nano-hydroxy apatite scaffold [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2016, 52(4): 479-487.
- [29] Boufraqech M, Zhang L, Jain M, et al. miR-145 suppresses thyroid cancer growth and metastasis and targets AKT3 [J]. Endocr Relat Cancer, 2014, 21(4): 517-531.
- [30] Medrano S, Sequeira-Lopez ML, Gomez RAA. Deletion of the miR-143/145 cluster leads to hydronephrosis in mice [J]. Am J Pathol, 2014, 184(12): 3226-3238.
- [31] Ding W, Tan H, Zhao C, et al. MiR-145 suppresses cell proliferation and motility by inhibiting ROCK1 in hepatocellular carcinoma [J]. Tumor Biology, 2016, 37(5): 6255-6260.
- [32] Hao W, Liu H, Zhou L, et al. MiR-145 regulates osteogenic differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells through targeting FoxO1 [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2018, 243(4): 386-393.
- [33] Jia J, Tian Q, Ling S, et al. miR-145 suppresses osteogenic differentiation by targeting Sp7 [J]. FEBS Lett, 2013, 587(18): 3027-3031.
- [34] New SE, Alvarez-Gonzalez C, Vagaska B, et al. A matter of identity-Phenotype and differentiation potential of human somatic stem cells [J]. Stem Cell Res, 2015, 15(1): 1-13.