

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.25.050

Wnt/ β -catenin 通路在成骨细胞中的作用 *

任翔¹ 吴剑¹ 李嘉航¹ 武龙² 董世武^{3Δ}

(1 解放军第三军医大学学员一营 重庆 400038; 2 解放军第二炮兵总医院普外科 北京 100032;

3 解放军第三军医大学生物医学材料学教研室 重庆 400038)

摘要: Wnt 信号通路包括经典通路和非经典通路两种, 其中 Wnt 经典通路又称为 Wnt/ β -catenin 通路, 其在成骨细胞的分化、增殖过程中发挥这重要的作用。Wnt 信号通路实现过程中有多种因子参与, 包括 Wnt 蛋白、 β -catenin、蛋白激酶 GSK-3 β 以及 APC 蛋白等多种。Wnt 蛋白家族是由 19 种 Wnt 蛋白组成的, 主要分为经典 Wnt 蛋白和非经典 Wnt 蛋白, 其本质是一系列高度保守的分泌性糖蛋白, 并且不同的 Wnt 蛋白对成骨细胞发挥着不同的作用, 其中经典 Wnt 蛋白通过经典 Wnt 信号作用于成骨细胞对成骨细胞的增殖、分化有着重要的影响。本综述通过对 Wnt 经典信号通路过程中的多种因子与成骨细胞分化、增殖的关系进行分析总结, 了解 Wnt/ β -catenin 通路对成骨细胞的作用。

关键词: Wnt/ β -catenin 通路; 成骨细胞; 分化增殖

中图分类号: Q593, Q75, R34 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)25-4991-03

Role of Osteoblasts in Wnt / β -catenin Pathway*

REN Xiang¹, WU Jian¹, LI Jia-hang¹, WU Long², DONG Shi-wu^{3Δ}

(1 Student Camp One, The Third Military Medical University, Chongqing, 400038;

2 Department of general surgery, PLA The second artillery general hospital, Beijing, 100032;

3 Teaching and research office of biomedical material, Chongqing, Chongqing, 400038)

ABSTRACT: Wnt signaling pathway was consisted of the classical pathway and non-classical pathway, wherein the Wnt pathway is also called the classical Wnt / β -catenin pathway, in which the proliferation may play an important role in the differentiation of osteoblasts. Wnt signaling pathway was involved in the process of a variety of factors which includes the Wnt proteins, the β -catenin, a protein kinase GSK-3 β and the APC protein. Wnt protein family is composed of 19 kinds of Wnt proteins, mainly divided into canonical Wnt proteins and non-canonical Wnt proteins, which is essentially a series of highly conserved secreted glycoproteins, and is different on osteoblasts, where the proliferation of canonical Wnt canonical Wnt signaling protein by acting on osteoblasts on osteoblast differentiation has important implications. This review aims at the classic Wnt signaling pathway by a variety of factors and the process of osteoblast differentiation and proliferation were analyzed and summarized the relationship, understanding the role of Wnt / β -catenin pathway in osteoblasts.

Key words: Wnt / β -catenin pathway; Osteoblasts; Differentiation and proliferation

Chinese Library Classification(CLC): Q593, Q75, R34 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)25-4991-03

前言

成骨细胞在骨形成过程中发挥着重要的作用, 是成骨的主要细胞, 负责骨基质的生成、分泌以及矿化, 研究表明^[1], 多种信号通路能够影响成骨细胞的增殖、分化过程, 对骨形成过程起着重要的作用, 包括 OPG/RANKL 通路、ER 通路以及 Wnt 信号通路等。随着 Wnt 信号通路逐渐明了, 目前研究 Wnt 信号通路与骨形成的关系也逐渐增多, 尤其是 Wnt 经典信号通路, 即 Wnt/ β -catenin 通路^[2]。Wnt/ β -catenin 通路是一种作用广泛的信号通路, 主要通过 β -catenin 作用, 并通过影响核内基因表达从

而影响细胞的功能^[3]。Wnt/ β -catenin 通路主要包括 Wnt 蛋白、Fz 受体、共受体 LRP5/6(the low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6), β -catenin、APC 蛋白(adenomatous polyposis coli)、糖原合成激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、核内转录因子 TCF/LEF、下游靶基因等多种细胞外因子^[4,5]。本文主要通过对 Wnt/ β -catenin 通路的各种细胞因子进行分析, 阐述 Wnt/ β -catenin 经典通路对成骨细胞的作用。

1 经典 Wnt/ β -catenin 通路

Wnt 蛋白家族是一种高度保守的分泌性糖蛋白, 目前总共

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81171035)

作者简介: 任翔(1990-), 男, 本科, 研究方向: Wnt 通路在成骨细胞中作用以及与粘附的关系,

E-mail: 467605268@qq.com 电话: 18511552571

Δ 通讯作者: 董世武(1973-), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 骨生物与组织工程学,

E-mail: dongshiwu@mail.tmmu.com.cn, 电话: (023)68752225

(收稿日期: 2014-02-13 接受日期: 2014-03-14)

发现有 19 种^[6],根据 Wnt 蛋白的信号通路不同,主要分为经典 Wnt 蛋白和非经典 Wnt 蛋白,分别通过经典 Wnt 信号通路与非经典 Wnt 信号通路发挥各自的作用。其中经典 Wnt 信号又称 Wnt/ β -catenin 通路,主要包括 Wnt3a 等,通过作用于细胞膜表面的受体激活细胞的第二信使,从而引起细胞质内 β -catenin 的累积,并导致 β -catenin 进入细胞核,与 T 细胞转录因子(T-cell-specific transcription factor, TCF)/淋巴增强因子(lymphoid enhancing factor, LEF)共同结合形成复合体启动下游靶基因的转录,从而发挥作用,影响细胞的增殖、分化^[7,8]。

2 Wnt/ β -catenin 通路中受体对成骨细胞的作用

Wnt 信号通路是 Wnt 蛋白通过作用于细胞膜上各种受体发挥作用的,其中经典 Wnt 信号的受体主要包括 Fz 受体、共受体 LRP5/6^[9]。其中 Fz 受体是一种跨膜蛋白,主要包括三部分:Wnt 蛋白结合所必须的半胱氨酸富集结构域(CRD)的胞外区、胞质内 C 端以及与 G 蛋白偶联受体类似的七螺旋跨膜区^[10]。研究表明^[11],Wnt 蛋白与 Fz 受体的 CRD 结合后,能够改变膜受体构象,并将信号传递至胞内,调节 Wnt 信号的传递,从而能够影响到成骨细胞的发育。

此外,研究表明^[12],共受体 LRP5/6 是由 1615 和 1613 个氨基酸残基所组成的单跨膜蛋白,两受体在胞内与胞外均有相似之处。在成骨细胞中,LRP5 受体位于 Fz 受体与 Kremen 受体之间,并且其功能高度保守。共受体 LRP5/6 是分别通过不同途径启动 Wnt 信号的,Wnt 蛋白与 LRP5 结合后再次与 Fz 受体构成受体复合物,将信号传入胞内,LRP6 则是通过与 GSK-3 β 启动 Wnt 信号通路^[13]。在动物试验中发现^[14],LRP5 的增加能够增加成骨细胞的数量,而 LRP6 受体缺失的小鼠骨密度较正常小鼠低。文献表明^[15],LRP5 的缺失能够引起骨形成降低,进而引起骨量下降。

3 Wnt 蛋白对成骨细胞的作用

Wnt 蛋白是一系列高度保守的分泌性糖蛋白,其分子量为 39000~46000,目前发现有 19 种,不同的 Wnt 蛋白具有独特的分泌方式并在胚胎发育、肿瘤形成过程中发挥着不同的功能。Wnt 蛋白由 350~380 个氨基酸残基组成^[16]。Wnt 蛋白主要分为经典 Wnt 蛋白和非经典 Wnt 蛋白,其中经典 Wnt 蛋白能够与 LRP/FZD 相互作用并激活 Wnt/ β -catenin 经典途径,经典 Wnt 蛋白有 Wnt1、Wnt2、Wnt3、Wnt3a 等,非经典 Wnt 蛋白能够与 Fz 受体结合并激活异源三聚体 G 蛋白,能够通过调节细胞内 Ga^{2+} 水平激活非经典 Wnt 信号通路,比如 Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a 和 Wnt11 等^[17]。

在成骨细胞中,Wnt 蛋白作为经典 Wnt 信号通路的起始因子,能够影响成骨细胞的增殖、分化。研究表明^[18],若细胞外无 Wnt 蛋白,胞质内存在降解 β -catenin 的复合物,Wnt 经典信号通路受到抑制,若细胞外有 Wnt 蛋白时,会使胞质内降解 β -catenin 的复合物合成受阻,使得 β -catenin 能够大量累积并进入核内,启动基因表达,影响成骨细胞的增殖、分化。

4 多种细胞质因子对成骨细胞的作用

在 Wnt 经典信号通路中有多种因子参与,包括 Wnt 蛋白、

Fz 受体、共受体 LRP5/6(the low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6,LRP5/6)、 β -catenin、APC 蛋白(adenomatous polyposis coli)、糖原合成激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、核内转录因子 TCF/LEF、下游靶基因等多种细胞外因子^[19]。

4.1 β -catenin 在 Wnt/ β -catenin 经典通路中的作用

β -catenin 是 Wnt 经典通路中的关键因子,其量的积累是 Wnt 经典通路的关键环节。 β -catenin 是由 130 个氨基酸残基构成的,细胞质中含量最多,在细胞膜以及细胞核中也有发现^[20]。当 Wnt 蛋白作用于细胞膜上的 Fz 受体后,会影响细胞质内 β -catenin 降解复合物的生成,从而导致细胞质内 β -catenin 的积累,进而使得 β -catenin 进入细胞核内,促进基因的转录。

4.2 GSK-3 β 在 Wnt/ β -catenin 经典通路中的作用

研究发现,GSK-3 β 是一种蛋白激酶,给小鼠服用抑制 GSK-3 β 的药物能够阻止 β -catenin 降解,从而使细胞质内 β -catenin 的量增多,进而影响基因转录^[21]。

4.3 APC 在 Wnt/ β -catenin 经典通路中的作用

APC 是由 2983 个氨基酸组成的骨架蛋白^[22],中央区包括 β -catenin、Axin 的结合位点及 GSK-3 β 磷酸化位点,蛋白 APC 能够通过结合 Axin,进而结合 β -catenin 来达到抑制 Wnt 信号通路的作用,以至于 APC 蛋白是调控 Wnt 经典信号通路的重要分子。

5 靶基因对成骨细胞的作用

Wnt 信号通路作用于成骨细胞是通过影响细胞基因转录起作用的,进而调节成骨细胞的增殖、分化。其中 TCF/LEF 发挥着重要的作用,细胞质内 β -catenin 积累到一定量的情况下能够进入细胞核,与 TCF/LEF 结合,而 TCF/LEF 则是能够与 DNA 相关序列相结合并调节基因转录的信号分子。研究发现^[23],TCF/LEF 能够与细胞核内的 β -catenin 结合成异二聚体,并通过与 DNA 结合,起到激活靶基因转录的效果,从而调控成骨细胞的分化。另有文献表明^[24],成骨细胞内的 β -catenin 累积时能够与 TCF/LEF 结合,激活 cyclinD1 基因转录,起到促进成骨细胞增殖的效果。

6 结语

成骨细胞在骨形成过程中发挥着重要的作用,是成骨的主要细胞,负责骨基质的生成、分泌以及矿化,研究表明,多种信号通路能够影响成骨细胞的增殖、分化过程,对骨形成过程起着重要的作用,包括 OPG/RANKL 通路、ER 通路以及 Wnt 信号通路等。随着 Wnt 信号通路逐渐明了,目前研究 Wnt 信号通路与骨形成的关系也逐渐增多,尤其是 Wnt 经典信号通路,即 Wnt/ β -catenin 通路。但 Wnt 经典信号通路对于成骨细胞的关系并不是十分明朗,由于 Wnt 信号通路本身存在较多交叉点,经典通路与非经典通路之间也有较多重合的地方,使得 Wnt/ β -catenin 经典通路对于成骨细胞的作用始终不能十分准确的了解^[25]。本文主要通过 Wnt/ β -catenin 通路中各种重要因子进行分析,总结 Wnt/ β -catenin 通路对成骨细胞的作用,但仍有多具体机制不够明朗,因此,对于 Wnt/ β -catenin 通路对成骨细胞增殖、分化作用的机制问题仍需进一步探究。

参考文献(References)

- [1] Kim G H, Park E C, Han J K. Wnt/planar cell polarity signaling in the regulation of convergent extension movements during *Xenopus* gastrulation [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 839:79-89
- [2] Kikuchi A, Yamamoto H, Kishida S. Multiplicity of the interactions of Wnt proteins and their receptors [J]. *Cell Signal*, 2007, 19(4): 659-671
- [3] 王丽雅, 廖学娟, 郑晓辉. Wnt 信号通路骨髓间充质干细胞成骨之间的关系[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(20): 3981-3984
- Wang Li-ya, Liao Xue-juan, Zheng Xiao-hui. The Relationship between Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell and Wnt Signal Pathways [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2012, 12(20): 3981-3984
- [4] Semenov M V. SnapShot: Noncanonical Wnt Signaling Pathways [J]. *Cell*, 2007, 131(7): 1378
- [5] Kikuchi A, Yamamoto H, Sato A. Selective activation mechanisms of Wnt signaling pathways [J]. *Trends Cell Biol*, 2009, 19(3): 119-129
- [6] Kikuchi A. Wnt5a: its signalling, functions and implication in diseases [J]. *Acta Physiologica*, 2012, 204(1): 17-33
- [7] 许兵, 刘慧, 许应星, 等. 成骨细胞中经典 Wnt/ β -catenin 通路研究进展[J]. *生命科学*, 2011, 23(5):477-481
- Xu Bing, Liu Hui, Xu Ying-xing, et al. Development of the classic Wnt/ β -catenin pathway in osteoblasts [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2011, 23(5):477-481
- [8] Weeraratna A T. Wnt5a signaling directly affects cell motility and invasion of metastatic melanoma [J]. *Cancer Cell*, 2002, 1(3): 279-288
- [9] 吴梦瑶, 谢宇锋, 陶敏. Wnt/ β -catenin 信号通路及其在胰腺癌发生发展中的作用[J]. *现代仪器与医疗*, 2013, 19(5):15-20
- [10] Zuidervaart W, Pavey S, van Nieuwpoort Rans A, et al. Expression of Wnt5a and its downstream effector beta-catenin in uveal melanoma [J]. *Melanoma Research*, 2007, 17(6):380-386
- [11] Ahmed A. Intratumoral expression of a fusogenic membrane glycoprotein enhances the efficacy of replicating adenovirus therapy [J]. *Gene Ther*, 2003, 10(19):1663-1671
- [12] Kikuchi A. Wnt5a: its signalling, functions and implication in diseases[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2012, 204(1): 17-33
- [13] He T C. A simplified system for generating recombinant adenoviruses [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(5):2509-2514
- [14] Nishimura E K. Key Roles for Transforming Growth Factor beta in Melanocyte Stem Cell Maintenance [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 6(2): 130-140
- [15] 陈罗萍, 张桂荣, 郑丽沙. 流体剪切力对成骨细胞 LEF-1 蛋白表达的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2013, 12(22): 4230-4232
- Chen Luo-ping, Zhang Gui-rong, Zheng Li-sha. Effect of LEF-1 protein Under Fluid shear stress on osteoblasts [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2013, 12(22): 4230-4232
- [16] Chien A J, Moore E C, Lonsdorf A S. Activated Wnt/ β -catenin signaling in melanoma is associated with decreased proliferation in patient tumors and a murine melanoma model[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(4): 1193-1198
- [17] Cheng C W. Wnt5a-mediated non-canonical Wnt signalling regulates human endothelial cell proliferation and migration [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 365(2): 285-290
- [18] Da Forno P D. WNT5A expression increases during melanoma progression and correlates with outcome [J]. *Clinical Cancer Research*, 2008, 14(18): 5825-5832
- [19] Widlund H R, Fisher D E. Microphthalmia-associated transcription factor: a critical regulator of pigment cell development and survival [J]. *Oncogene*, 2003, 22(20): 3035-3041
- [20] Kestler HA, Kuhl M. From individual Wnt pathways towards a Wnt signaling network[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2008, 363 (1495): 1333-1347
- [21] Price MA. CKI, there's more than one: casein kinase I family members in Wnt and Hedgehog signaling [J]. *Genes Dev*, 2006, 20 (4): 399-410
- [22] Takahashi-Yanaga F, Sasaguri T. The Wnt/ β -catenin signaling pathway as a target in drug discovery[J]. *J Pharmacol Sci*, 2007, 104 (4): 293-302
- [23] McCarthy HS, Marshall MJ. Dickkopf-1 as a potential therapeutic target in Paget's disease of bone [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2010, 14(2): 221-230
- [24] Von Marschall Z, Fisher LW. Secreted Frizzled-related protein-2 (sFRP2) augments canonical Wnt3a-induced Signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 400(3): 299-304
- [25] Katoh M, Katoh M. WNT signaling pathway and stem cell signaling network[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(14): 4042-4045