

# Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路调控成骨细胞增殖分化在激素性股骨头坏死中的研究进展

苏亮磊<sup>1</sup> 曹林忠<sup>1△</sup> 汪小敏<sup>1</sup> 郭明峻<sup>1</sup> 邱德泓<sup>1</sup>

[关键词] Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路;激素性股骨头坏死;成骨细胞;综述

[中图分类号] R681.8 [文献标志码] A [文章编号] 1005-0205(2018)09-0085-04

激素性股骨头坏死(Steroid induced Avascular Necrosis of Femoral Head, SANFH)是由于大剂量使用糖皮质激素(Glucocorticoid, GC)导致骨内循环障碍、骨代谢失衡、局部血运破坏,引起股骨头缺血坏死、塌陷、骨折的一种骨代谢性疾病<sup>[1,2]</sup>。近年来,调查发现 SANFH 的发病率日渐增高,占非创伤性股骨头坏死的首位,起病隐袭,病情发展较快,致残性强,已成为困扰医患的重大公共难题<sup>[3-5]</sup>,因此,如何有效防治 SANFH 是现阶段研究的新热点。本文基于 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进成骨细胞(Osteoblast, OB)增殖、分化<sup>[6,7]</sup>论治 SANFH 的有效性与该信号通路的相关性,旨在为 SANFH 的临床精准治疗提供理论依据。

## 1 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进成骨细胞生长、发育的作用

Wnt/ $\beta$ -catenin 通路又称经典 Wnt 信号通路,主要包括 Wnt 蛋白、Fz 受体(Frizzled)、共受体 LRP5/6 (the low-density Lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6),  $\beta$ -catenin, APC 蛋白(adenomatous polyp, coli), GSK-3 $\beta$  及 TCF/LEF 等相关转录因子<sup>[8,9]</sup>。其主要功能是细胞膜表面的受体受到刺激信号时,可以调控该通路的第二信使,从而引起细胞质内  $\beta$ -catenin 的累积,并导致  $\beta$ -catenin 进入细胞核中;通过联合 TCF/LEF 组成复合体来完成下游靶基因的转录过程,从而影响成骨细胞的增殖、分化<sup>[10]</sup>(见图 1)。多项研究阐明,OB 在 SANFH 中起着重大作用,是骨形成的原因之一,同时也证实了 OB 的生长发育<sup>[11]</sup>受 Wnt 信号通路、OPG/RANKL 通路及 ER 通路等共同作用,主要表现在骨基质的变化;其中 Wnt/ $\beta$ -catenin 经典通路的异常与 SANFH 的病理变化密切相关<sup>[12,13]</sup>,所以,调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路已逐渐成为治疗 SANFH 的新靶点<sup>[14]</sup>。

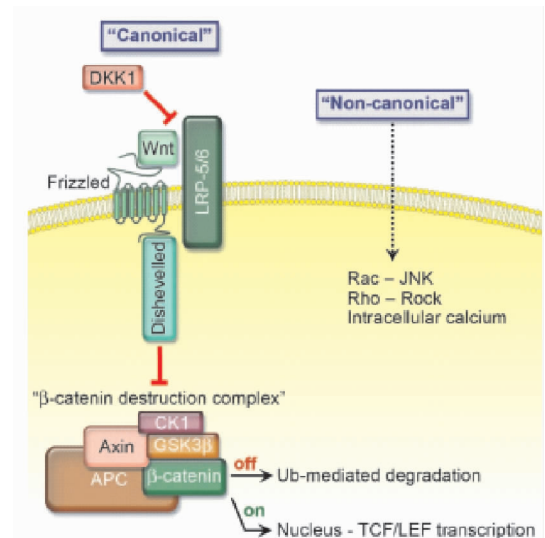


图 1 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路简单结构图

### 1.1 受体 Fz 及 LRP5/6 促进成骨细胞生长、发育

Fz 作为 Wnt/ $\beta$ -catenin 经典信号通路的一种跨膜受体,其调控 OB 的生长、发育,主要是通过它的半胱氨酸富集结构域(CRD)和 Wnt 类蛋白相融合,转变膜受体构象,调控 Wnt 信号的转移,使的 Wnt 信号转移到细胞内来完成 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活。该通路低密度脂蛋白受体 5(LRP5)处于 Kremen 和 Fz 受体受体中间,它的作用极为集中。LRP5 和 LRP6 走不同的路线调控 Wnt 信号,前者首先联合 Wnt 蛋白继而联合 Fz 受体形成三者的复合体,并传递 Wnt 信号到达胞内;后者主要利用 GSK-3 $\beta$  调控 Wnt 信号来干预 OB 的生长、发育。相关研究报道 LRP5 丧失作用会使患者出现骨质疏松的概率明显增高,主要表现为骨脆性增加与骨密度下降<sup>[15]</sup>,这对 OB 的生长、发育至关重要。也有研究证实<sup>[16]</sup>,实验组中的 LRP5 与  $\beta$ -catenin 明显低于阳性对照组及正常组,这也从侧面反映 SANFH 实验动物模型对该通路具有阻碍作用。

### 1.2 $\beta$ -catenin 促进成骨细胞增殖、分化

$\beta$ -catenin 作为 Wnt 经典通路的最重要蛋白基因,它对细胞的生长发育主要通过调控亚细胞与细胞的位置变化完成的;在细胞质中活动,它的活性和含量大小

基金项目:甘肃省卫生行业科研计划管理项目(GWGL2014-65)  
甘肃中医药大学研究生创新基金(CX2017-09)

<sup>1</sup> 甘肃中医药大学(兰州,730000)

<sup>△</sup>通信作者 E-mail:308817898@qq.com

可以调控该通路在骨代谢中的正常进行。相关实验证明<sup>[17]</sup>,在细胞质中 GSK-3 $\beta$  复合物可以磷酸化  $\beta$ -catenin,加速  $\beta$ -catenin 发生降解,使得细胞质中分散的  $\beta$ -catenin 数量急剧下降,从而阻断该通路在骨代谢中的功能,减弱 OB 的生长发育。该通路的正常功能会随着 GC 用药剂量的变化发生相适应的变化,当大剂量的 GC 作用于人体时会阻断  $\beta$ -catenin 进入细胞核的途径<sup>[18]</sup>,进而使其数量下降,制止 Wnt/ $\beta$ -catenin 传导通路继续工作,致使 SANFH 的病理改变、症状加重。

### 1.3 APC 促进成骨细胞生长发育

APC 作为该通路重要蛋白主要包括 2 983 个氨基酸<sup>[19]</sup>,它的中央区以 GSK-3 $\beta$  磷酸化位点和 Axin 结合位点为主,它对该通路的阻碍作用机理是经过先和 Axin 融合,随之再融合  $\beta$ -catenin,从而抑制  $\beta$ -catenin 转入细胞核来完成的。因此,APC 属于该通路的关键作用部分,对 OB 的生长发育起着一定作用。

### 1.4 靶基因调控成骨细胞

TCF/LEF 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<sup>[20]</sup>,当细胞质内  $\beta$ -catenin 积累到一定量的情况下将会进入细胞核与 TCF/LEF 结合,形成异二聚体,并通过与 DNA 结合,起到激活靶基因转录的效果,进而调控成骨细胞的分化。成骨细胞中  $\beta$ -catenin 与 TCFs<sup>[21]</sup> 和 Lef 结合后激活 Cyclind1 基因的转录并促进其转录,这对成骨细胞的增殖具有重要作用。

### 1.5 DKK1(Dickkopf-1)抑制成骨细胞增殖、分化

DKK1 作为 Wnt 经典通路中的拮抗剂,在头和肢体的发育中起到重要作用,它可以阻断配体 Wnt 与相关受体的结合,进而影响  $\beta$ -catenin 在细胞核中的数量,阻断该通路的继续进行<sup>[22]</sup>,最终抑制成骨细胞的正常代谢。临床前期研究及相关检查报告表明 DKK1 水平的上调或者激活都将影响成骨细胞的活性和骨量的丢失<sup>[23]</sup>,它与骨密度密切相关。前期实验证实在激素诱导的成骨细胞中加入 DKK1 中和抗体(dKK1-Ab),能有效的抑制 DKK1 的表达,使得此通路正常进行,随之加快成骨细胞的分化。

通过以上所述,可以找到  $\beta$ -catenin 作为 Wnt 经典通路的核心枢纽因子,在该通路中起着重要的调控作用;经典 Wnt 信号通路的激活可以促进 OB 的增殖分化,起到阻止股骨头塌陷,抑制 SANFH 的發生的作用。

## 2 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路与 SANFH 的相关性

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对于 SANFH 的治疗起着重要的作用。当 Wnt 蛋白家族被激活时,该信号通路可以通过一系列的作用机制来调节骨代谢,主要通过促进软骨细胞成熟、诱导成骨细胞发生、抑制成骨细胞凋亡实现对 SANFH 的治疗。其中,补肾、活血类中药调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路治疗 SANFH 的研究相对较多,主要干预上游 Wnt 家族、GSK3 $\beta$  等表

达,进而调控  $\beta$ -Catenin 蛋白的细胞内含量、定位及  $\beta$ -Catenin-TCF/LEF 复合体的形成,激活该信号通路,实现抑制破骨细胞(Osteoclast,OC)的形成、促进 OB 增殖、延缓细胞退变等作用<sup>[24]</sup>。如补骨脂素、淫羊藿苷等中药能够激活 OB 中 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路,促进 BMP 的表达,促进 OB 的增殖、分化,抑制 OC 的形成,从而起到骨重塑的作用<sup>[25]</sup>。梁祖建<sup>[26]</sup>认为补肾活血药可以通过下调  $\beta$ -Catenin,Wnt2 及 GSK3 $\beta$  的表达以调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路保护关节软骨,其机制可能是通过保护或修复软骨细胞的完整性,延缓软骨骨病损,或增强软骨修复能力。许应星等<sup>[27]</sup>研究证实补肾活血颗粒含药血清能显著增加 OB 的成骨活性和矿化能力,明显上调  $\beta$ -Catenin,LRP5 和 TCF 的蛋白表达,促进  $\beta$ -Catenin-TCF/LEF 复合体的形成,进而激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路,达到促进 OB 的增殖、活化,治疗 SANFH 的作用。

## 3 激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路治疗 SANFH 的切入点

目前 SANFH 的治疗措施并不理想,迫切需要一种行之安全有效的方法来控制股骨头坏死的发展。Wnt 信号通路在股骨头坏死中的作用已被许多骨科研究者所认识。因此,借助于某种药物或者方法激活 Wnt- $\beta$ -catenin 信号通路成为目前治疗早期 SANFH 的一个重要途径。

### 3.1 抑制 DKK1 基因治疗 SANFH

DKK1 是 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路传导中的一种拮抗剂,能够阻断 Wnt 经典信号通路的激活,阻断骨的形成;而运用 DKK1 中和抗体可以增加骨量,减弱骨质疏松的发展程度<sup>[22]</sup>。有研究发现大剂量糖皮质激素的应用不仅会提高 DKK1 基因的表达,还会导致发生激素性股骨头坏死。因此,通过相关方法阻断 DKK1 基因的表达可能成为治疗早期激素性股骨头坏死的新途径。研究证实,在骨原细胞中加入 DKK1 腺病毒可以抑制骨原细胞的增殖与分化,同时观察到病变部位的骨不长<sup>[28]</sup>;而且 DKK1 会延迟早期骨愈合,破坏骨折修复,抑制软骨细胞的分化<sup>[29]</sup>。临床研究发现,骨折术后患者当日直接使用 DKK1 中和抗体可以加速骨折部位的早期愈合,增加骨折端骨量,增大机械强度<sup>[29,30]</sup>。

### 3.2 中医药治疗 SANFH

中医药辨证论治骨伤科疾病有着悠久的历史和丰富的经验,其理法方药自成体系<sup>[31]</sup>。我国传统医学没有 SANFH 这一名称,现今依照本病的发病因素、证机概要、主要症状表现,大多研究者承认 SANFH 归纳为中医的“骨痿”“骨痹”“髌骨痹”等范畴。研究表明,中药及其有效成分可以通过激活 Wnt 经典信号通路改善局部血液循环、促进血肿吸收、促进骨折愈合、调节骨生长因子分泌、调节体内离子含量变化等。在现有治疗手段有限的情况下,发挥中医药的优势显得

更为重要。王钢等<sup>[32]</sup>对 SANFH 病因病机的中医文献整理及病历回顾调查,借助患者临床表现,采用因子分析的方法发现这类患者的核心病机为“气血瘀阻、肾精亏虚、髓海瘀滞”,运用院内制剂生骨再造丸治疗早期 SANFH 取得了较好的疗效。郭成龙等<sup>[33]</sup>在使用抗骨质疏松的基础上添加生骨再造丸治疗 SANFH 患者的临床观察中,发现患者经治疗后临床症状、总体疗效均有不同程度的改善,随着疗程的延长,疗效更为显著,且无明显不良反应。

综上所述,通过该通路中  $\beta$ -catenin、APC、DKK1、受体 Fz 和 LRP5/6 的协同作用调控下游靶基因转录可以激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路,进而促进 OB 的增殖、分化,达到治疗 SANFH 的作用。目前,治疗 SANFH 的方法多样,但没有公认的治疗 SANFH 策略,DKK1 中和抗体与中药制剂对 SANFH 的治疗效果显著,在临床诊疗途径中,已得到广泛使用。

#### 4 展望

影响 SANFH 发生、发展的信号通路复杂多样,主要有 Wnt/ $\beta$ -catenin、OPG/RANKL/RANK、TLR4、HIF-1 $\alpha$ 、Rho A/ROCK 和 MAPK 等,但每种信号通路的具体致病机理都缺乏有力依据,仍需更深层次的摸索与思考。中药的化学成分十分复杂,目前的认识更多的只是滞留在临床疗效等宏观方面,对于微观分子作用认识度尚浅。通过 DKK1 中和抗体的治疗结果,是否我们可以找到激活这条通路的促进剂,例如,Wnt 启动剂、 $\beta$ -catenin 靶向定位剂等一系列药物,这些都是今后科研人员要研究的重点。

#### 参考文献

- [1] 于潼,谢利民,王文岳,等.从中医证候学研究探讨股骨头坏死的病因病机[J].中国中医骨伤科杂志,2014,22(3):74-76.
- [2] 宋敏,温孝明,安文博.运用“治未病”思想探讨骨科慢性病的防治策略[J].中国中医骨伤科杂志,2011,19(2):55-56.
- [3] Xu R, Wei B, Li J, et al. Investigations of cartilage matrix degeneration in patients with early-stage femoral head necrosis[J]. Medical Science Monitor, 2017, 23: 5783-5792.
- [4] Peng WX. Adenovirus-mediated expression of BMP-2 and BFGF in bone marrow mesenchymal stem cells combined with demineralized bone matrix for repair of femoral head osteonecrosis in beagle dogs[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(4):1648-1662.
- [5] Tsukagoshi Y, Kamegaya M, Kamada H, et al. The correlation between Salter's criteria for avascular necrosis of the femoral head and Kalamchi's prognostic classification following the treatment of developmental dysplasia of the hip[J]. Thebone & Joint Journal, 2017, 99-B(8):1115-1120.
- [6] Craig P, Marette S, Ellermann J, et al. High prevalence of osteonecrosis among the hemophagocytic lymphohistiocytosis population: single institution 10-year retrospective data review[J]. American Journal of Hematology, 2017, 92(9):565-566.
- [7] Li J, Wang J, Zhao J, et al. BOLD-MRI early detect femoral head osteonecrosis following steroid-treated patients[J]. Medicine, 2017, 96(44):e8401.
- [8] Sun Y, Wang F, Sun X, et al. CX3CR1 regulates osteoarthritis chondrocyte proliferation and apoptosis via Wnt/ $\beta$ -catenin signaling[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 96:1317-1323.
- [9] Liao D, Li X, Dong Y. The role of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in the transdifferentiation from periodontal ligament stem cells to schwann cells[J]. Cellular reprogramming, 2017, 19(6):384-388.
- [10] Xu B, Liu H, Xu YX, et al. Development of the classic-Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in osteoblasts[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2011, 23(5):477-481.
- [11] Mullin NK, Mallipeddi NV, Hamburg-Shields E, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway regulates specific lncRNAs that impact dermal fibroblasts and skin fibrosis[J]. Front Genet, 2017, 8:183.
- [12] Long H, Sun B, Cheng L, et al. miR-139-5p represses BMSC osteogenesis via targeting Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. DNA and cell biology, 2017, 36(8):715-724.
- [13] Sindhavajiva PR, Sastravaha P, Arksornnukit M. Purinergic 2X7 receptor activation regulates WNT signaling in human mandibular-derived osteoblasts[J]. Arch Oral Biol, 2017, 81:167-174.
- [14] Li T, Zhu J, Wang X, et al. Long non-coding RNA lncTCF7 activates theWnt/ $\beta$ -catenin pathway to promote metastasis and invasion in colorectal cancer[J]. Oncology Letters, 2017, 14(6):7384-7390.
- [15] Kolte RA, Kolte AP. Risk assessment of osteoporosis in pre- and postmenopausal periodontally healthy and chronic periodontitis women with digital panoramic radiographs[J]. Journal of Indian Society of Periodontology, 2017, 21(6):461-465.
- [16] Wang WJ, Chen K, Wang J, et al. Effects of ICAT silencing in Wnt signaling pathway and NSC67657 induced cell differentiation of HL-60 cells[J]. Chinese Journal of Hematology, 2017, 38(11):972-976.
- [17] Rath G, Jawanjal P, Salhan S, et al. Clinical significance of inactivated glycogen synthasekinase  $\beta$ 3 in HPV-associated cervical cancer:relationship with Wnt/ $\beta$ -catenin pathway-activation[J]. American Journal of Reproductive Immunology, 2015, 73(5):460-478.
- [18] Xie D, Zheng GZ, Xie P, et al. Antitumor activity of resveratrol against human osteosarcoma cells: a key role of Cx43 and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8(67):111419-111432.
- [19] APC downregulated 1 inhibits breast cancer cell invasion by inhibiting the canonical WNT signaling pathway[J]. Oncology Letters, 2017, 14(4):4845-4852.
- [20] Yang TW, Gao YH, Ma SY, et al. Low-grade slightly elevated and polypoid colorectal adenomas display differenti-

- al  $\beta$ -catenin-TCF/LEF activity, c-Myc, and cyclin D1 expression[J]. World Journal of Gastroenterology, 2017, 23(17):3066-3076.
- [21] Saj A, Chatterjee SS, Zhu B, et al. Disrupting interactions between  $\beta$ -catenin and activating TCFs reconstitutes ground state pluripotency in mouse embryonic stem cells[J]. Stem Cells (Dayton, Ohio), 2017, 35(8):1924-1933.
- [22] Zhong L, Huang X, Rodrigues ED, et al. Endogenous DKK1 and FRZB regulate chondrogenesis and hypertrophy in three-dimensional cultures of human chondrocytes and human mesenchymal stem cells[J]. Stem Cells and Development, 2016, 25(23):1808-1817.
- [23] Huraskin D, Eiber N, Reichel M, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling via Axin2 is required for myogenesis and, together with YAP/Taz and Tead1, active in Ila/Iix muscle fibers[J]. Development (Cambridge, England), 2016, 143(17):3128-3142.
- [24] Wei Q, He M, Chen M, et al. Icaritin stimulates osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal stem cells by increasing TAZ expression[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 91:581-589.
- [25] Zhao D, Wang C, Zhao Y, et al. Cyclophosphamide causes osteoporosis in C57BL/6 male mice: suppressive effects of cyclophosphamide on osteoblastogenesis and osteoclastogenesis[J]. Oncotarget, 2017, 8(58):98163-98183.
- [26] 梁祖建. 补肾活血方调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路保护关节软骨的机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(12):2327-2330.
- [27] Xu YX, Wu CL, Wu Y. The expression and significance of Wnt/ $\beta$ -catenin signal pathway protein in the effect of bushen huoxue granule containing serum on the osteoblast[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2011, 31(4):537-541.
- [28] Eda H, Santo L, Wein MN, et al. Regulation of sclerostin expression in multiple myeloma by Dkk-1: a potential therapeutic strategy for myeloma bone disease[J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2016, 31(6):1225-1234.
- [29] Wei Q, He M, Chen M, et al. Icaritin stimulates osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal stem cells by increasing TAZ expression[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 91:581-589.
- [30] Hsu YH, Chiu YS, Chen WY, et al. Anti-IL-20 monoclonal antibody promotes bone fracture healing through regulating IL-20-mediated osteoblastogenesis[J]. Sci Rep, 2016, 14(6):2433.
- [31] 潘鑫茂, 谢兴文, 黄晋, 等. 股骨头坏死保髋治疗的研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24(12):74-78.
- [32] 王钢, 张晓刚, 强胜林, 等. 生骨再造散治疗股骨头缺血性坏死 48 例临床疗效观察[J]. 甘肃中医学院学报, 2000, 17(1):20-20.
- [33] 郭成龙, 何玲, 张晓刚, 等. 生骨再造丸治疗激素性股骨头坏死 33 例[J]. 西部中医药, 2016, 29(12):68-69.
- (收稿日期:2018-02-01)
- 
- (上接第 84 页)
- [24] 张锐, 彭文琦, 赵汉平, 等. 脊柱痛风致脊神经损伤 1 例报告[J]. 中国矫形外科杂志, 2017, 25(13):1243-1245.
- [25] Konatallapalli RM, Demarco PJ, Jelinek JS, et al. Gout in the axial skeleton[J]. J Rheumatol, 2009, 36(3):609-613.
- [26] Cardoso FN, Omoumi P, Wieers G, et al. Spinal and sacroiliac gouty arthritis: report of a case and review of the literature[J]. Acta Radiol Short Rep, 2014, 3(8):1-5.
- [27] Lu H, Sheng J, Dai J, et al. Tophaceous gout causing lumbar stenosis: a case report[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(32):e7670.
- [28] 熊洋洋, 李源杰, 曾学军. 痛风石的基础研究与临床诊治进展[J]. 基础医学与临床, 2016, 36(12):1743-1746.
- [29] Hasegawa EM, de Mello FM, Goldenstein-Schainberg C, et al. Gout in the spine[J]. Rev Bras Reumatol, 2013, 53(3):296-302.
- [30] Draganescu M, Leventhal LJ. Spinal gout: case report and review of the literature[J]. J Clin Rheumatol, 2004, 10(2):74-79.
- [31] 贾西, 张进安. 痛风治疗新理念—EULAR2016 痛风诊治指南的更新要点和解读[J]. 上海医药, 2018, 39(2):3-7.
- [32] Snijders GF, Schipper LG, Masteling-Slaats MG, et al. Spondylodiscitis as a rare manifestation of gout[J]. Ned Tijdschr Geneesk, 2017, 161(1):D1898.
- [33] Vergara P, O'Donovan DG. Minimally invasive excision of lumbar tophaceous gout: case report[J]. Int J Spine Surg, 2017, 11(37):1-5.
- [34] Arevalo-Saenz A, Gonzalez-Alvaro I, Pulido-Rivas P, et al. Medullar thoracic compression by tophaceous gout: presentation of a case and review of the literature[J]. Rev Neurol, 2017, 65(8):368-372.
- [35] 李宁, 王拥军, 周泉. 二妙散及其衍生方在骨伤科的应用与研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2011, 19(11):69-71.
- (收稿日期:2018-04-08)