

# 骨硬化蛋白在骨组织改建中作用的分子机制

林婷婷综述 陆尔奕审校

(上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔修复科 上海 200011)

**[摘要]** 骨硬化蛋白是一种对成骨细胞具有抑制作用的蛋白,由骨细胞特异分泌后转运至成骨细胞,通过影响 Wnt 信号通路对成骨作用产生抑制。外部条件如激素水平、机械刺激以及低氧环境等都能影响骨硬化蛋白的表达。骨硬化蛋白抗体能够促进成骨细胞活性从而提高骨量,但其临床疗效和安全性还需进一步的研究确定。

**[关键词]** 骨硬化蛋白; 骨改建; Wnt 信号通路

**[中图分类号]** R 782.2 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1673-5749.2012.02.037

**Molecular mechanism of sclerostin on bone remodeling** Lin Tingting, Lu Eryi. (Dept. of Prosthodontics, The Ninth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200011, China)

**[Abstract]** Sclerostin is a negative regulator of osteoblasts. It is expressed exclusively by osteocytes which is transported to osteoblasts at the bone surface to inhibit bone formation. The mechanism of the sclerostin on bone is related to Wnt signaling pathway. The expression of sclerostin is also affected by the hormone, mechanical strain and hypoxia. The antibody to sclerostin has the ability to stimulate osteoblast activity and increase the bone mass, but the curative effect and safety need to estimate.

**[Key words]** sclerostin; bone remodeling; Wnt signaling pathway

骨硬化蛋白(sclerostin)是由骨细胞特异分泌的一种含有 213 个氨基酸的蛋白多肽,编码基因是 SOST,位于人类基因的 17q12~q21 区域。体内骨细胞被基质蛋白包埋后开始分泌骨硬化蛋白,之后通过骨组织管网系统被转运至骨表面的成骨细胞,从而抑制由成骨细胞介导的骨形成作用<sup>[1-2]</sup>。

与骨硬化蛋白相关的疾病是硬化性骨化病和泛发性骨皮质增厚症,两者发病原因都是由于骨硬化蛋白的表达缺失造成了骨组织的过度生长,但是其基因机制完全不同:硬化性骨化病中 SOST 基因位点突变<sup>[3-4]</sup>;泛发性骨皮质增厚症的 SOST 编码基因没有改变,而是其下游的一段含有增强子的 52 kb 基因序列缺失后下调了 SOST 基因的转录作用,从而进一步影响了骨硬化蛋白的表达<sup>[5-6]</sup>。SOST 基因缺失小鼠模型表现为骨矿化密度、骨体积、骨形成以及骨强度都有显著提高,这提示骨硬化蛋白特异地作用于骨组织,并且是骨形成通路的主要负向调节因子<sup>[7]</sup>。过度表达骨硬化蛋白的转基因小鼠模型表现为骨量降低,骨强度下

降,骨形成速度慢,这些都是由成骨细胞活性下降所致,这又从另一个方面说明了骨硬化蛋白抑制骨形成的作用<sup>[8]</sup>。

本文就骨硬化蛋白在骨组织中的作用机制及其影响因素进行综述,进一步了解骨硬化蛋白,为其应用于临床骨改建提供参考。

## 1 骨硬化蛋白在骨组织中的作用机制

### 1.1 骨硬化蛋白拮抗骨形态发生蛋白的成骨作用

骨硬化蛋白中含有分泌单肽和胱氨酸结基序,与含有胱氨酸结的 DNA 分泌糖蛋白特异亚家族有 20%~24% 相似。DNA 分泌糖蛋白家族都有拮抗骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)活性的作用,因此学者们最初认为骨硬化蛋白是通过抑制 BMP 活性来抑制骨形成的<sup>[3-4]</sup>。

骨硬化蛋白能抑制 BMP-6/7 的活性进而抑制成骨细胞的分化,其作用机制是骨硬化蛋白与 BMP 相结合,结合活性顺序为 BMP-6>BMP-7>BMP-2/4<sup>[9]</sup>。骨硬化蛋白竞争 BMP 受体 / 与 BMP 的结合部位,从而减少 BMP 信号进而抑制成骨细胞的矿化。骨硬化蛋白可以与 BMP 拮抗因子竞争,并能拮抗由 BMP 介导的 Smad 磷酸化<sup>[8]</sup>。骨硬化蛋白抑制由 BMP 介导的骨形成作用的机制

**[收稿日期]** 2011-07-26; **[修回日期]** 2011-11-19

**[作者简介]** 林婷婷(1985—),女,山东人,硕士

**[通讯作者]** 陆尔奕, Tel: 021-23271229

可能有2种：1)骨硬化蛋白需要一种共同作用因子以抑制BMP与受体的结合；2)骨硬化蛋白拮抗另外的信号通路，此信号通路可以与BMP在刺激骨形成时协同作用<sup>[1]</sup>。

### 1.2 骨硬化蛋白抑制Wnt信号通路

Wnt是由19种分泌糖蛋白构成的蛋白多肽家族，它能够通过调节细胞的增殖或分化而从胚胎发育时期开始在多个器官中起关键作用。Wnt蛋白可以激活多条信号级联通路，如canonical Wnt/ $\beta$ -catenin通路，Wnt/ $Ca^{2+}$ 通路和Wnt/polarity通路。其中canonical Wnt/ $\beta$ -catenin通路已经被广泛研究<sup>[10]</sup>，尤其在骨组织代谢中的重要作用已经确定<sup>[11]</sup>。

虽然骨硬化蛋白与BMP拮抗因子在结果上有许多相似之处，但是骨硬化蛋白的作用方式与之有明显的差异。骨硬化蛋白不能像BMP拮抗因子一样抑制鼠前成骨细胞中基本的碱性磷酸酶活性，也不能拮抗小鼠C2C12细胞中由BMP刺激的碱性磷酸酶活性。除此之外，骨硬化蛋白对于鼠前成骨细胞中由BMP介导的Smad磷酸化、MSX-2转录激活作用都没有效果<sup>[1]</sup>。

骨硬化蛋白不能抑制BMP直接靶基因的激活作用，也没有骨硬化蛋白作为直接BMP拮抗因子的证据。相反，骨硬化蛋白与Wnt的拮抗因子Dickkopf-1有许多相似的特点，如拮抗BMP介导的骨形成以及抑制BMP和Wnt诱导信号传导作用等<sup>[12]</sup>。因此，现在大多数研究者认为骨硬化蛋白能够抑制由BMP介导的骨形成，但是不能影响BMP信号，而是拮抗成骨样细胞中的Wnt信号。

Wnt蛋白的共受体是低浓度脂蛋白受体相关蛋白(low-density lipoprotein receptor-related protein, LRP)-5/6，突变后导致骨质疏松症-假神经胶质瘤综合征和常染色体显性遗传的高骨量疾病，被认为是骨组织稳态的主要调节因子，SOST与LRP-5之间的相互作用在骨量调节过程中起重要作用<sup>[13]</sup>。

SOST基因缺失后能够明显逆转LRP-5/6基因缺失的骨表型，这说明SOST能够通过LRP-5/6抑制Wnt信号进而影响骨组织的发育。研究证实，SOST在胚胎发育早期就已经有抑制Wnt信号通路的作用<sup>[14]</sup>。SOST通过结合LRP-5/6细胞外结构域以及破坏由Wnt诱导的Frizzled-LRP复合体形成而抑制Wnt蛋白的形成。因此，SOST是Wnt信号的拮抗因子，其功能丧失之后可能会导

致Wnt信号的低活性，从而形成硬化性骨化病患者的骨组织过度生长<sup>[15]</sup>。

另外一种低密度脂蛋白受体基因家族成员LRP-4是Dickkopf-1和骨硬化蛋白的受体，在骨生长及骨改建过程中起调节作用，这种调节作用可能是其作为Wnt和BMP信号通路的联系因子而完成的<sup>[16]</sup>。Dickkopf-1是Wnt的经典抑制因子，但其与骨硬化蛋白的作用机制并不相同，两者不能同时结合LRP-5，Dickkopf-1能够取代之前已经形成的骨硬化蛋白-LRP-5复合体中的骨硬化蛋白。Dickkopf-1与骨硬化蛋白是2种相互独立的，而非协同作用的LRP-5信号调节因子<sup>[17]</sup>。

### 1.3 BMP与Wnt信号通路之间交叉作用

成骨细胞中的BMP以及Wnt信号之间能够相互作用。BMP通过诱导骨硬化蛋白的表达对骨硬化蛋白的作用施加主要影响。当对人的间充质干细胞来源的成骨细胞以及骨细胞中加入BMP-2/4/6后，其表达有剂量依赖性的增长<sup>[18]</sup>。

体外实验表明，BMP信号能够上调Wnt信号。但是Kamiya等<sup>[19]</sup>得到的结论则相反，骨硬化蛋白将BMP与Wnt信号通路联系起来，BMP受体通过骨硬化蛋白下调Wnt通路而间接抑制内源性骨的形成。因此，BMP与Wnt通路的关系还需进一步探究。

## 2 影响骨硬化蛋白的外部因素

### 2.1 激素

间断给予甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)是目前临床使用的刺激骨形成方法之一，但是其对骨的合成代谢作用的分子机制还不明确。研究发现，PTH可以诱导骨组织中SOST及其蛋白质骨硬化蛋白表达下调，且两者成直线相关，这又从另外的角度说明了SOST对骨形成的负向调节作用<sup>[20]</sup>。PTH与骨硬化蛋白之间有密切联系。体内实验证实，给予6个月龄的大鼠注射PTH后其股骨皮质骨中的SOST表达降低。在体外，PTH注射6h后发现小鼠颅骨培养细胞和成骨样细胞系中的SOST表达减少95%。PTH直接抑制SOST的转录过程。因此可得出结论：SOST的调节作用可能在PTH对骨的影响过程中起作用。而PTH对SOST的抑制作用可能代表了由骨细胞调节的激素调控成骨作用的一种新的机制<sup>[21]</sup>。

降钙素是一种肽激素，它能够减弱PTH对骨组织的合成代谢作用，还能提高骨细胞产物骨硬

化蛋白的表达量,因此降钙素的作用机制是通过调节骨硬化蛋白的表达来抑制PTH对骨组织的合成代谢作用<sup>[22]</sup>。雌激素也是影响骨硬化蛋白表达的因素。有学者比较了绝经前和绝经后女性的骨硬化蛋白水平,还测定了骨硬化蛋白与雌激素、PTH、骨改建及骨量之间的关系。结果显示,在绝经后女性其骨硬化蛋白水平由雌激素和PTH共同调节。

## 2.2 机械刺激

机械刺激一直以来都是影响骨改建的重要因素之一,其与骨硬化蛋白的关系也受到学者们的关注。利用体外加力设备给小鼠的尺骨持续加载机械负荷,结果导致骨组织中骨硬化蛋白表达水平明显下降,骨硬化蛋白由骨细胞产生,因此可以推断骨细胞能够感应机械负荷并使骨硬化蛋白分泌减少,从而降低对邻近成骨细胞中LRP-5信号的抑制作用,最终使成骨作用提高<sup>[23]</sup>。在体外将振荡液体流作用于成骨样细胞系UMR106.01,2h后其SOST基因和蛋白质水平都有明显下降。但在停止流体剪切应力作用4h后,其对SOST基因表达的抑制作用消失,这说明流体剪切力对SOST表达的作用是暂时的<sup>[24]</sup>。

从非负荷的角度研究了骨形成与SOST表达间的关系,利用尾部悬吊的方法使野生型小鼠后肢不受负荷,结果表现为骨组织中SOST表达上调,同时Wnt/ $\beta$ -catenin信号活性降低。对SOST基因敲除小鼠的研究发现骨硬化蛋白不仅能够特异地抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号,还能抑制成骨细胞的活性和成骨细胞/骨细胞的生存能力。SOST基因缺失小鼠在非负荷情况下不产生骨丧失现象,其Wnt/ $\beta$ -catenin信号活性也没有改变。这说明骨硬化蛋白在骨组织对非负荷的反应中可能通过Wnt/ $\beta$ -catenin信号起作用<sup>[25]</sup>。

长期卧床患者的废用型骨质疏松症也是由非负荷造成的,中风后卧床的绝经期患者血清中骨硬化蛋白水平与对照组的区别,结果显示实验组患者的骨硬化蛋白血清水平比对照组有明显提高,长期卧床的患者有骨质疏松表现可能与骨硬化蛋白上升导致的骨形成降低有关。再次证实了人体内的骨硬化蛋白与机械非负荷导致的废用型骨质疏松相关性<sup>[26]</sup>。

## 2.3 低氧环境

氧张力也是调节骨量的重要刺激因素之一,但是低氧环境对骨组织的促进或抑制作用还没有

定论,近期的研究结果都各不相同。Genetos等<sup>[18]</sup>测定了细胞在低氧环境下对骨硬化蛋白表达和Wnt信号的影响作用。成骨细胞和骨细胞在低氧环境下培养后其SOST转录和骨硬化蛋白表达水平都下降,可能的作用机制是通过提高对BMP信号的拮抗作用来抑制骨硬化蛋白的表达。

## 3 骨硬化蛋白的临床应用前景

临床中对骨组织改建促进的疗法比较少,药物治疗大多是利用促进骨形成的因子制剂注射。虽然骨硬化蛋白本身具有抑制骨形成的作用,但是其抗体就有可能具有促进骨形成的作用,因此学者们通过各种方法验证骨硬化蛋白抗体对骨改建的作用。如给予卵巢切除后大鼠注射骨硬化蛋白中和单克隆抗体,其表现为骨密度上升,成骨细胞增多,骨形成速度加快,且小鼠模型的矿化恢复正常<sup>[27]</sup>;将大鼠近中胫骨植入螺钉,给予骨硬化蛋白抗体注射后进行拉力测试,结果发现抗体组提高了骨体积分数,且骨小梁厚度增加,证明骨硬化蛋白抗体能够在骨重建时提高骨形成<sup>[28]</sup>。

目前,有关骨硬化蛋白抗体的应用正在进行临床试验,有希望应用于人体骨质疏松等需要成骨的疾病当中,为临床骨量提高提供一种新的方法<sup>[29]</sup>。

## 4 参考文献

- [1] van Bezooijen RL, Roelen BA, Visser A, et al. Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist[J]. *J Exp Med*, 2004, 199(6): 805-814.
- [2] Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation[J]. *FASEB J*, 2005, 19(13): 1842-1844.
- [3] Balemans W, Ebeling M, Patel N, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein(SOST)[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(5): 537-543.
- [4] Brunkow ME, Gardner JC, Van Ness J, et al. Bone dysplasia sclerosteosis results from loss of the SOST gene product, a novel cystine knot-containing protein[J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 68(3): 577-589.
- [5] Balemans W, Patel N, Ebeling M, et al. Identification of a 52 kb deletion downstream of the SOST gene in patients with van Buchem disease[J]. *J Med Genet*, 2002, 39(2): 91-97.
- [6] Balemans W, Van Hul W. Human genetics of SOST[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2006, 6(4): 355-356.

[7] Li X, Ominsky MS, Niu QT, et al. Targeted deletion of the Sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength[J]. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(6) 860-869.

[8] Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, et al. Osteocyte control of bone formation via Sclerostin, a novel BMP antagonist[J]. *EMBO J*, 2003, 22(23) 6267-6276.

[9] Kusu N, Laurikkala J, Imanishi M, et al. Sclerostin is a novel secreted osteoclast-derived bone morphogenetic protein antagonist with unique ligand specificity[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(26) 24113-24117.

[10] Nemoto E, Koshikawa Y, Kanaya S, et al. Wnt signaling inhibits cementoblast differentiation and promotes proliferation[J]. *Bone*, 2009, 44(5) 805-812.

[11] Liu F, Millar SE. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in oral tissue development and disease[J]. *J Dent Res*, 2010, 89(4) : 318-330.

[12] van Bezooijen RL, Svensson JP, Eefting D, et al. Wnt but not BMP signaling is involved in the inhibitory action of Sclerostin on BMP-stimulated bone formation[J]. *J Bone Miner Res*, 2007, 22(1) :19-28.

[13] Semenov MV, He X. LRP5 mutations linked to high bone mass diseases cause reduced LRP5 binding and Inhibition by SOST[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(50) 38276-38284.

[14] Collette NM, Genetos DC, Murugesu D, et al. Genetic evidence that SOST inhibits WNT signaling in the limb [J]. *Dev Biol*, 2010, 342(2) :169-179.

[15] Semenov M, Tamai K, He X. SOST is a ligand for LRP5/LRP6 and a Wnt signaling inhibitor[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(29) 26770-26775.

[16] Choi HY, Dieckmann M, Herz J, et al. Lrp4, a novel receptor for Dickkopf 1 and Sclerostin, is expressed by osteoblasts and regulates bone growth and turnover *in vivo*[J]. *PLoS One*, 2009, 4(11) :e7930.

[17] Balemans W, Piters E, Cleiren E. The binding between Sclerostin and LRP5 is altered by DKK1 and by high-bone mass LRP5 mutations[J]. *Calcif Tissue Int*, 2008, 82(6) 445-453.

[18] Genetos DC, Toupadakis CA, Raheja LF, et al. Hypoxia decreases Sclerostin expression and increases Wnt signaling in osteoblasts[J]. *J Cell Biochem*, 2010, 110(2) : 457-467.

[19] Kamiya N, Ye L, Kobayashi T, et al. BMP signaling negatively regulates bone mass through Sclerostin by inhibiting the canonical Wnt pathway[J]. *Development*, 2008, 135(22) 3801-3811.

[20] Silvestrini G, Ballanti P, Leopizzi M, et al. Effects of intermittent parathyroid hormone(PTH) administration on SOST mRNA and protein in rat bone[J]. *J Mol Histol*, 2007, 38(4) 261-269.

[21] Keller H, Kneissel M. SOST is a target gene for PTH in bone[J]. *Bone*, 2005, 37(2) :148-158.

[22] Gooi JH, Pompolo S, Karsdal MA, et al. Calcitonin impairs the anabolic effect of PTH in young rats and stimulates expression of Sclerostin by osteocytes[J]. *Bone*, 2010, 46(6) :1486-1497.

[23] Robling AG, Bellido T, Turner CH. Mechanical stimulation *in vivo* reduces osteocyte expression of Sclerostin[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2006, 6(4) 354.

[24] Papanicolaou SE, Phipps RJ, Fyhrie DP, et al. Modulation of Sclerostin expression by mechanical loading and bone morphogenetic proteins in osteogenic cells[J]. *Biorheology*, 2009, 46(5) 389-399.

[25] Lin C, Jiang X, Dai Z, et al. Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/ $\beta$ -catenin signaling[J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(10) :1651-1661.

[26] Gaudio A, Pennisi P, Bratengeier C, et al. Increased Sclerostin serum levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(5) 2248-2253.

[27] Bellido T. Summary—osteocyte control of bone formation via SOST/Sclerostin[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2006, 6(4) 360-363.

[28] Agholme F, Li X, Isaksson H, et al. Sclerostin antibody treatment enhances metaphyseal bone healing in rats[J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(11) 2412-2418.

[29] Veverka V, Henry AJ, Slocombe PM, et al. Characterization of the structural features and interactions of Sclerostin[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(16) :10890-10900.

(本文编辑 骆筱秋)

《国际口腔医学杂志》继续被“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)收录

2011年12月2日获悉，中国科学技术信息研究所经过多项学术指标综合评定和同行专家评议推荐，由教育部主管、四川大学主办的《国际口腔医学杂志》继续被收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。

《国际口腔医学杂志》编辑部