

骨形态发生蛋白 9 促成骨的分子机制

罗进勇

(重庆医科大学临床检验诊断学教育部重点实验室,重庆 400016)

[中图分类号] R68

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)09-1153-03



罗进勇

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)属于转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族的成员,因其具有诱导骨形成的能力而得名。在人类中,BMPs家族至少包括15个以上的成员,其中具有促成骨作用的(成骨性 BMPs)包括 BMP2、BMP4、BMP6 和 BMP7,而 BMP2 和 BMP7 已经在临床用于促进脊柱融合。近年发现,BMPs 中

子之一,是 BMPs 信号转导的关键起始点,与其诱导成骨活性关系密切。为鉴定与 BMP9 促成骨相关的受体,Luo 等^[2]构建了一系列 TGF- β I 型和 II 型受体的突变体,并利用其进行系统,结果分析发现 BMP9 促成骨相关的 I 型受体是 ALK1 和 ALK2;而与 BMP9 促成骨相关的 II 型受体为 BMPRII、ActRII^[3]。当抑制 BMP9 促成骨相关受体的表达后,BMP9 下游的信号转导和 BMP9 的促成骨作用均受到抑制。从受体的角度看,BMP9 与其他成骨性 BMPs 既有相同的促成骨受体,同时 BMP9 也有其独特的促成骨受体如 ALK1,见表 1。

表 1 成骨性 BMPs 促成骨相关的 TGF- β 受体

成员	TGF- β I 型受体	TGF- β II 型受体
BMP2	ALK3/ALK6	BMPRII /ActRII
BMP4	ALK3/ALK6	BMPRII /ActRII
BMP6	ALK2/ALK3/ALK6	BMPRII /ActRII
BMP7	ALK2/ALK3/ALK6	BMPRII /ActRII
BMP9	ALK1/ALK2	BMPRII /ActRII

的成员 BMP9 又称生长分化因子 2(growth differentiation factor 2, GDF2)也具有诱导成骨分化和骨形成的能力,而 BMP9 促成骨的相关分子机制也得到了进一步的解析。

1 BMP9 具有强效促成骨作用

BMP9 主要存在于肝脏,其具有诱导和维持胚胎神经元的类胆碱分化、调节葡萄糖和脂肪酸代谢、调节体内铁的动态平衡、参与肿瘤发生及血管生成等多种重要功能。但是对 BMP9 在骨形成及骨再生中的作用,长期以来都缺乏研究和了解。基于此,Kang 等^[1]利用重组腺病毒介导的方法,系统研究了 BMP2~BMP15 共 14 种 BMPs 在骨形成中的作用,结果发现 BMP9 也具有诱导成骨活性,且其促成骨能力远强于已在临床应用的 BMP2 和 BMP7。在体外细胞实验中,BMP9 可以促进多种细胞如间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)、小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEFs)、成骨前体细胞、牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)和肌源干细胞(muscle-derived stem cells, MDSCs)等定向成骨分化^[1-5]。而且,相比于其他的成骨性 BMPs, BMP9 的促成骨作用很难被 BMP3 和 Noggin 抑制^[1,6]。在动物实验中,BMP9 也显示出较强的促成骨作用,BMP9 对小鼠骨缺损愈合及大鼠腰椎脊柱融合均有明显的促进作用^[7-8]。因此,BMP9 是一种强效的促成骨因子。

2 BMP9 促成骨的信号转导途径

2.1 BMP9 促成骨相关受体 BMPs 均可与具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性的跨膜 TGF- β I 型和 II 型受体结合,启动信号转导。因此 TGF- β 受体作为 BMPs 早期信号转导的最重要的分

2.2 Smad 信号途径 BMP9 与相应受体结合后,可激活下游的信号途径。与其他 BMPs 一样,BMP9 与相应受体结合后,可以促进经典的 Smad 信号活化,导致 Smad1、Smad5、Smad8 磷酸化和核内转移,并使 Smad1、Smad5、Smad8 的转录调控活性增强^[2,3,9]。当抑制 Smad 信号后,BMP9 诱导骨形成的能力减弱,因此,经典的 Smad 信号在 BMP9 的促成骨作用中发挥重要作用。值得注意的是,虽然 BMP3 和 Noggin 可以抑制 BMP2 等成骨性 BMPs 的经典 Smad 信号的活化,其对于 BMP9 所活化的 Smad 信号的抑制作用很弱^[1,6],提示了 BMP9 促成骨作用的独特性。

2.3 非 Smad 信号途径 除经典的 Smad 信号外,BMP9 亦可活化其他非 Smad 的信号途径如 MAPKs、PI3K/AKT 和 PKA/CREB 等^[9-12]。BMP9 可以激活 MAPKs 途径的 p38、ERK1/2 和 JNK^[9-10],但是 3 者对于 BMP9 促成骨作用的调控效应并不相同,当抑制 p38 和 JNK 信号时,BMP9 促成骨作用减弱^[9-10];而抑制 ERK1/2 时,BMP9 的促成骨作用反而增强^[10]。由此表明,p38 和 JNK 对 BMP9 的促成骨活性可能是正向调控作用,而 ERK1/2 则是负向调控作用。此外,BMP9 也可活化 PI3K/AKT 和 PKA/CREB 信号,当抑制 AKT/PI3K/AKT 及 PKA/CREB 信号后,BMP9 的促成骨作用相应减弱^[11-12]。

罗进勇:(1974-)博士,教授,硕士生导师。主要研究方向为干细胞定向分化与骨再生,对于间充质干细胞定向分化相关信号分子及网络有较深入研究。担任国家自然科学基金委员会生命科学部一审专家、重庆市科委自然科学基金评审专家、广西自然科学基金评审专家、天津市自然科学基金评审专家。为 SCI 杂志《J Cell Mol Med》、《Curr Pharm Design》、《Archives of Oral Biology》、《Stem Cells International》审稿人,《生物化学与生物物理进展》、《中国生物化学与分子生物学报》、《遗传》、《中国组织工程研究》杂志审稿专家。

BMP9 所活化的经典 Smad 信号途径和非 Smad 途径存在联系,当非 Smad 信号发生变化时,经典 Smad 信号也发生相应的改变^[9-12],这表明 BMP9 的经典 Smad 信号途径和非 Smad 途径同时存在,相互补充,互有联系,形成其信号转导和功能发挥的一个全面的信号转导体系,并进而发挥促成骨的功能

3 BMP9 促成骨信号的下游关键靶分子

BMP9 通过上游的信号转导,作用于下游的多种靶分子,这些靶分子对于 BMP9 的促成骨活性也具有重要的调控作用,Peng 等^[13]首先利用基因芯片技术系统分析 BMP9 促成骨过程中的基因表达变化。以此为基础,后续对其中的某些关键靶分子对 BMP9 的促成骨作用的调控进行了分析和研究,目

前发现 BMP9 促成骨的关键靶分子有 Id、CTGF、Crel2、PPAR γ 、COX2、HIF1 α 和 Hey1 等^[14-20],见表 2。

4 BMP9 促成骨的表现遗传调控

表现遗传指 DNA 序列不发生变化,但基因表达却发生了可遗传的改变。表现遗传包括 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化、非编码 RNA、染色质重塑等。表现遗传在骨骼发育中有重要作用。BMP9 促成骨的表现遗传调控目前研究较少,主要也仅集中于 MicroRNA(miR)和组蛋白乙酰化^[21-23],见表 3。因此,BMP9 促成骨的表现遗传调控机制可能成为今后一个重要的研究领域。

表 2 BMP9 促成骨的关键靶分子

靶分子	主要研究结果和结论	参考文献
Id	BMP9 可上调 Id 表达;过表达 Id 及基因沉默 Id 均导致 BMP9 的促成骨作用减弱。	14
CTGF	BMP9 可上调 CTGF 表达;过表达 CTGF 促进 BMP9 的成骨作用,CTGF 基因沉默抑制 BMP9 的促成骨作用。	15
Crel2	BMP9 通过经典 Smad 途径上调内质网应激蛋白 Crel2 的表达;Crel2 可正向调控 BMP9 促成骨作用;内质网应激可能与 BMP9 促成骨作用有关。	16
COX-2	BMP9 可上调 COX-2 表达;COX-2 可通过影响经典 Smad 途径,亦可通过 PTEN 进而影响 PI3K/Akt 途径调控 BMP9 的促成骨作用。	17
HIF1 α	BMP9 通过经典 Smad 途径上调 HIF1 α 的表达;HIF1 α 可能通过血管生成相关信号正向调控 BMP9 的促成骨作用。	18
Hey1	BMP9 通过经典 Smad 途径上调 Hey1 表达;Hey1 作为成骨关键分子 Runx2 的下游分子正向调控 BMP9 的促成骨作用。	19
PPAR γ	BMP9 可上调 PPAR γ 表达;PPAR γ 正向调控 BMP9 的促成骨作用;PPAR γ 亦可调控 BMP9 的促成脂作用。	20

表 3 BMP9 促成骨的表现遗传调控

表现遗传	主要研究结果和结论	参考文献
miR-21	BMP9 可明显上调 miR-21 表达;miR-21 可协同 BMP9 的促成骨作用;miR-21 可抑制 Smad7 表达进而增强经典的 Smad 信号途径的活化;	21
miR-30a	BMP9 促成骨过程中,miR-30a 先下调再上调;miR-30a 可通过抑制成骨关键分子 Runx2 进而负向调控 BMP9 促成骨作用	22
组蛋白乙酰化	BMP9 可上调多种组蛋白去乙酰化酶(HDACs)表达;HDACs 抑制剂 TSA 可增强 BMP9 的促成骨作用	23

表 4 BMP9 促成骨过程中与其他信号途径的交互串话

交互串话	对 BMP9 促成骨作用的影响	可能机制	参考文献
BMP9+IGF1	IGF1 增强 BMP9 的促成骨作用	IGF1 增强 Smad 信号及 PI3K/AKT 信号的活化	11
BMP9+WnT _{3a}	WnT _{3a} 增强 BMP9 的促成骨作用	WnT _{3a} 下游关键转录因子 β -catenin 与成骨关键转录因子 Runx2 相互作用	24
BMP9+GH	GH 增强 BMP9 的促成骨作用	GH 活化 JAK/STAT/IGF1 信号途径	25
BMP9+EGF	EGF 增强 BMP9 的促成骨作用	EGF 上调 BMP9 表达;BMP9 上调 EGF 受体表达	26
BMP9+ATRA	ATRA 增强 BMP9 的促成骨作用	ATRA 活化 Smad 途径及 PI3K/Akt/GSK3 β 途径	27
BMP9+FGF2	FGF2 抑制 BMP 的 9 促成骨作用	FGF2 抑制 BMP9 促成骨受体 ALK1 和 ALK 表达,进而抑制经典 Smad 途径	28
BMP9+TGF- β 1	低剂量 TGF- β 1 增强 BMP9 的促成骨作用;高剂量 TGF- β 1 抑制 BMP9 的促成骨作用	TGF- β 1 抑制经典 Smad 信号;并抑制细胞增殖	29

5 BMP9 促成骨过程中与其他信号分子的交互串话 (crosstalk)

在 BMP9 促成骨过程中,其他一些关键的信号分子也可与 BMP9 发生相互串话,这些信号分子包括胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF) WnT_{3a}、生长激素 (growth hormone, GH)、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF)、全反式维甲酸 (all-trans retinoic acid, ATRA)、成纤维细胞生长因子 2 (fibroblast growth factor 2, FGF2)、TGF- β 1 等^[11,24-29]。但是这些信号分子对 BMP9 促成骨作用的影响并不尽相同,有些可以协同增强 BMP9 的促成骨作用^[11,24-27],有些可抑制 BMP9 的促成骨作用^[28],另有些则因剂量不同而产生不同的效应^[29],见表 4。

5 结 语

BMP9 是目前 BMPs 家族中诱导成骨能力最强的成员因子,有希望作为一种促进成骨的细胞因子候选者,具有潜在的临床应用价值。但由于对 BMP9 促成骨能力的研究相对较晚,因此对于其促成骨的相关分子机制的解析目前还不完善,还有待深入研究,以期为其将来在临床的实际应用奠定理论和实验基础。

参考文献

- [1] Kang Q, Sun MH, Cheng H, et al. Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery[J]. *Gene Ther*, 2004, 11(17): 1312-1320.
- [2] Luo J, Tang M, Huang J, et al. TGFbeta/BMP type I receptors ALK1 and ALK2 are essential for BMP9-induced osteogenic signaling in mesenchymal stem cells[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(38): 29588-29598.
- [3] Wu N, Zhao Y, Yin Y, et al. Identification and analysis of type II TGF- β receptors in BMP-9-induced osteogenic differentiation of C3H10T1/2 mesenchymal stem cells [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2010, 42(10): 699-708.
- [4] Ye G, Li C, Xiang X, et al. Bone morphogenetic protein-9 induces PDLSCs osteogenic differentiation through the ERK and p38 signal pathways[J]. *Int J Med Sci*, 2014, 11(10): 1065-1072.
- [5] Xiang L, Liang C, Zhen-Yong K, et al. BMP9-induced osteogenic differentiation and bone formation of muscle-derived stem cells [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012(1): 610952.
- [6] Wang Y, Hong S, Li M, et al. Noggin resistance contributes to the potent osteogenic capability of BMP9 in mesenchymal stem cells [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(11): 1796-1803.
- [7] Kimelman-Bleich N, Pelled G, Zilberman Y, et al. Targeted gene-and-host progenitor cell therapy for nonunion bone fracture repair[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(1): 53-59.
- [8] Dumont RJ, Dayoub H, Li JZ, et al. Ex vivo bone morphogenetic protein-9 gene therapy using human mesenchymal stem cells induces spinal fusion in rodents [J]. *Neurosurgery*, 2002, 51(5): 1239-1244.
- [9] Zhao YF, Xu J, Wang WJ, et al. Activation of JNKs is essential for BMP9-induced osteogenic differentiation of

mesenchymal stem cells[J]. *BMB Rep*, 2013, 46(8): 422-427.

- [10] Zhao Y, Song T, Wang W, et al. P38 and ERK1/2 MAPKs act in opposition to regulate BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43383.
- [11] Chen L, Jiang W, Huang J, et al. Insulin-like growth factor 2 (IGF-2) potentiates BMP-9-induced osteogenic differentiation and bone formation [J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(11): 2447-2459.
- [12] Zhang H, Li L, Dong Q, et al. Activation of PKA/CREB signaling is involved in BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(2): 548-562.
- [13] Peng Y, Kang Q, Cheng H, et al. Transcriptional characterization of bone morphogenetic proteins (BMPs)-mediated osteogenic signaling [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 90(6): 1149-1165.
- [14] Peng Y, Kang Q, Luo Q, et al. Inhibitor of DNA binding/differentiation helix-loop-helix proteins mediate bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(31): 32941-32949.
- [15] Luo Q, Kang Q, Si W, et al. Connective tissue growth factor (CTGF) is regulated by Wnt and bone morphogenetic proteins signaling in osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(53): 55958-55968.
- [16] Zhang J, Weng Y, Liu X, et al. Endoplasmic reticulum (ER) stress inducible factor cysteine-rich with EGF-like domains 2 (Creld2) is an important mediator of BMP9-regulated osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e73086.
- [17] Huang J, Yuan SX, Wang DX, et al. The role of COX-2 in mediating the effect of PTEN on BMP9 induced osteogenic differentiation in mouse embryonic fibroblasts [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(36): 9649-9659.
- [18] Hu N, Jiang D, Huang E, et al. BMP9-regulated angiogenic signaling plays an important role in the osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells [J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 2): 532-541.
- [19] Sharff KA, Song WX, Luo X, et al. Hey1 basic helix-loop-helix protein plays an important role in mediating BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(1): 649-659.
- [20] Kang Q, Song WX, Luo Q, et al. A comprehensive analysis of the dual roles of BMPs in regulating adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells [J]. *Stem Cells Dev*, 2009, 18(4): 545-559.
- [21] Song Q, Zhong L, Chen C, et al. miR-21 synergizes with BMP9 in osteogenic differentiation by activating the BMP9/Smad signaling pathway in murine multilineage cells [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(6): 1497-1506.
- [22] Zhang R, Weng Y, Li B, et al. BMP9-induced(下转第 1162 页)

mPGCs 均能表达标志多能性的 Oct4 基因及减数分裂 I 期的几个特异标志物 Stra8、Vasa、SCP3、ZP3。但目前尚未能进一步证实,在体外培养下能否最终完成减数分裂。因此还需要进一步探索适合 PGCs 生长的培养体系,期望能进一步研究体外培养 PGCs 完成减数分裂的可能性机制,同时也为建立小鼠 EGCs 系奠定实验基础。

参考文献

- [1] Donovan PJ, Gearhart J. The end of the beginning for pluripotent stem cells[J]. *Nature*, 2001, 414(6859): 92-97.
- [2] Smith AG. Embryo-derived stem cells: of mice and men [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2001(17): 435-462.
- [3] Turnpenny L, Spalluto CM, Perrett RM, et al. Evaluating human embryonic germ cells: Concord and conflict as pluripotent stem cells[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(2): 212-220.
- [4] Labosky PA, Barlow DP, Hogan BL. Embryonic germ cell lines and their derivation from mouse primordial germ cells [J]. *Ciba Foundation Symposium*, 1994, 182(2): 157-178.
- [5] 汪亚芬, 冯涵琪, 王兴玲, 等. 男性原始生殖细胞中 LIN28 和 Oct4 的表达[J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2015(3): 389-392.
- [6] 冷少华, 李彩霞, 梁志清, 等. 人原始生殖细胞的分离和培养[J]. *第三军医大学学报*, 2009, 31(8): 679-683.
- [7] Kimura T, Kaga Y, Sekita Y, et al. Pluripotent stem cells derived from mouse primordial germ cells by small molecule compounds[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(1): 45-55.
- [8] Hayashi K, Saitou M. Generation of eggs from mouse embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells[J]. *Nat Protoc*, 2013, 8(8): 1513-1524.
- [9] Irie N, Weinberger L, Tang WW, et al. SOX17 is a critical specifier of human primordial germ cell fate [J]. *Cell*, 2015, 160(1/2): 253-268.
- [10] Kajiura S, Mii S, Aki R, et al. Cryopreservation of the hair

follicle maintains pluripotency of Nestin-Expressing hair Follicle-Associated pluripotent(HAP) stem cells[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2015, 21(8): 825-831.

- [11] McLaren A. Primordial germ cells in the mouse[J]. *Dev Biol*, 2003, 262(1): 1-15.
- [12] Jerabek S, Merino F, Schöler HR, et al. OCT4: dynamic DNA binding pioneers stem cell pluripotency[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1839(3): 138-154.
- [13] Ahn BC, Parashurama N, Patel M, et al. Noninvasive reporter gene imaging of human Oct4 (pluripotency) dynamics during the differentiation of embryonic stem cells in living subjects [J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2014, 16(6): 865-876.
- [14] Niwa H, Burdon T, Chambers I, et al. Self-renewal of pluripotent embryonic stem cells is mediated via activation of STAT3[J]. *Genes Dev*, 1998, 12(13): 2048-2060.
- [15] Li MZ, Yu M, Zhu HJ, et al. The effects of Nanos2 on Boule and Stra8 in male germline stem cells (mGSCs) [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(7): 4383-4389.
- [16] Medrano JV, Ramathal C, Nguyen HN, et al. Divergent RNA-binding proteins, DAZL and VASA, induce meiotic progression in human germ cells derived in vitro [J]. *Stem Cells*, 2012, 30(3): 441-451.
- [17] Yang S, Ping P, Ma M, et al. Generation of haploid spermatids with fertilization and development capacity from human spermatogonial stem cells of cryptorchid patients [J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 3(4): 663-675.
- [18] Xia FU, Yuan L. The effects of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on immune premature ovarian failure [J]. *Guangdong Yi Xue*, 2013, 34(23): 3535-3538.

(收稿日期: 2015-10-22 修回日期: 2015-12-26)

(上接第 1155 页)

induced osteogenic differentiation is partially inhibited by miR-30a in the mesenchymal stem cell line C3H10T₁/2 [J]. *J Mol Histol*, 2015, 46(4/5): 399-407.

- [23] Hu N, Wang C, Liang X, et al. Inhibition of histone deacetylases potentiates BMP9-induced osteogenic signaling in mouse mesenchymal stem cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(2): 486-498.
- [24] Tang N, Song WX, Luo J, et al. BMP-9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitors requires functional canonical Wnt/beta-catenin signalling [J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(8B): 2448-2464.
- [25] Huang E, Zhu G, Jiang W, et al. Growth hormone synergizes with BMP9 in osteogenic differentiation by activating the JAK/STAT/IGF1 pathway in murine multilineage cells [J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27(7): 1566-1575.
- [26] Liu X, Qin J, Luo Q, et al. Cross-talk between EGF and

BMP9 signalling pathways regulates the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(9): 1160-1172.

- [27] Zhang W, Deng ZL, Chen L, et al. Retinoic acids potentiate BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells [J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11917.
- [28] Song T, Wang W, Xu J, et al. Fibroblast growth factor 2 inhibits bone morphogenetic protein 9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by repressing Smads signaling and subsequently reducing Smads dependent up-regulation of ALK1 and ALK2 [J]. *Int J Biochem Cell Bio*, 2013, 45(8): 1639-1646.
- [29] Li RD, Deng ZL, Hu N, et al. Biphasic effects of TGFβ1 on BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *BMB Rep*, 2012, 45(9): 509-514.

(收稿日期: 2015-11-08 修回日期: 2016-01-15)