

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.03.038

Wnt/ β -catenin 信号通路在调控骨量的作用*李俊峰^{1,2}, 郭庆山¹, 傅捷辉²综述, 宗兆文^{1△} 审校

(1. 第三军医大学大坪医院野战外科研究所创伤科/创伤烧伤与复合伤国家重点实验室, 重庆 400042; 2. 福建省泉州市洛江万鸿医院骨科 362011)

[关键词] Wnt/ β -catenin 信号通路; 骨量; 成骨细胞; 破骨细胞

[中图分类号] R681.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)03-0401-03

成人的骨量由成骨细胞的骨形成和破骨细胞的骨吸收共同维持着。Wnt/ β -catenin 信号通路参与骨形成过程中成骨细胞的增殖、分化,并能影响成骨细胞和破骨细胞的产生和功能,对骨量的调控非常关键。因此,Wnt/ β -catenin 信号通路已成为治疗相关骨代谢疾病如骨质疏松的热点。本文从 Wnt/ β -catenin 信号通路的结构、调控骨量的作用机制和 Wnt/ β -catenin 信号通路靶向药物研究进展等方面,综述了 Wnt/ β -catenin 在调控骨量的作用的研究进展。

1 Wnt/ β -catenin 信号通路简介

Nusse 等最早用小鼠乳头状瘤病毒诱导小鼠产生乳腺癌的实验发现了 int-1 基因。1976 年,人们发现了 Wingless 基因可导致果蝇无翅,而 2 种基因同源,因此该基因被重新命名为 Wnt。Wnt 蛋白是高度保守的分泌性糖蛋白,目前发现有 19 种,可通过旁分泌或者自分泌发挥作用,相对分子质量为 3 900~4 600。经典 Wnt/ β -catenin 信号通路中,Wnt 蛋白与卷曲蛋白的氨基端和低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6(lipoprotein receptor related protein 5/6,LRP5/6)结合,可阻断由细胞支架蛋白、糖原合成激酶 3 β 、腺瘤样结肠息肉肉瘤基因编码的蛋白组成的降解复合体对 β 连环蛋白(β -catenin)的降解。 β -catenin 积累于细胞质内,随后入核激活 T 细胞因子/淋巴瘤增强子因子,调控下游靶基因的转录和表达,发生生物学效应,如促进细胞增殖及活化。Wnt/ β -catenin 信号通路在许多哺乳动物的间充质干细胞(Mesenchymal Stem Cells, MSCs)和成骨细胞均有表达。成骨细胞是骨细胞的前体细胞,由 MSCs 分化而来^[1]。MSCs 还可进一步分化为成纤维细胞、肌原细胞、脂肪细胞和软骨细胞^[2-5]。

2 Wnt/ β -catenin 信号通路与骨量调控

2.1 Wnt/ β -catenin 信号通路在骨形成中的调控机制 已有多项人类和小鼠的基因研究和细胞学研究证明,Wnt/ β -catenin 信号通路在骨骼发育及代谢平衡中的重要作用,包括 MSCs 的定向分化、成骨细胞前体扩增、终末分化、矿化和细胞的凋亡。在 MSCs 中,Wnt 通路可促进与成骨相关的核心结合蛋白因子 2 和骨钙素的表达,促进向成骨细胞分化;亦可抑制 C/EBP α 、PPAR γ 和 sox9 基因的表达,抑制向软骨细胞和脂肪细胞的分化。另外,Wnt 通路能调控 Myc、cyclin D、c-Jun 和 Fra-1 的表达,从而促进成骨细胞的增殖;亦可通过激活 ERKs 和 Akt 通路来促进抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达。

2.2 Wnt/ β -catenin 信号通路在骨吸收中的调控机制 β -catenin 在破骨细胞的形成中有双向性,增殖时水平升高,分化时降低。在破骨细胞持续激活 β -catenin,破骨细胞增殖无变化而分化被阻断,骨量增加;敲除 β -catenin 后增殖被阻断,骨量也增加。因此认为 Wnt/ β -catenin 信号通路减少骨吸收的机制

可能与直接作用于破骨细胞有关,但也有学者认为可能是通过成骨细胞生成的骨保护素竞争性抑制核因子- κ B 受体活化素配体,从而间接抑制破骨细胞的分化、成熟及破骨细胞的骨吸收作用^[6-7]。有研究发现,成骨细胞持续激活 β -catenin 均可造成骨量增加,破骨细胞减少^[8-9];敲除 β -catenin 后破骨细胞增加、骨量降低。总之,Wnt/ β -catenin 信号通路对骨吸收作用的调控机制比较复杂,尚需要进一步研究。

2.2.1 LRP 蛋白与骨量调控 目前发现 LRP-5 的缺失,成骨细胞的功能和增殖受阻,骨形成受影响^[10]。另外,LRP-6 的敲除会同时降低松质骨和皮质骨的骨密度。有学者报道了 26 周雌性小鼠敲除 LRP-6 后,骨密度下降 55%。因此,LRP5 和 LRP6 的敲除都会导致骨量下降。另外,LRP4 也被发现与 Wnt/ β -catenin 信号通路有关,但具体机制仍未明确^[11]。

2.2.2 Wnt 蛋白与骨量调控 目前认为激活 Wnt/ β -catenin 经典信号通路骨量增加,沉默则骨量降低。敲除小鼠的 Wls 基因(编码 Wnt 蛋白)可导致骨形成减少,骨吸收增加。这表明 Wnt/ β -catenin 信号通路对于成骨细胞和破骨细胞都有重要作用。其中 Wnt1 蛋白可通过骨保护素影响成骨细胞骨量和成骨细胞的生成,Wnt3a、Wnt4、Wnt5a 和 Wnt16 可影响破骨细胞的分化^[6]。

2.2.3 硬化蛋白、Dickkopf1(DKK1)与骨量调控 硬化蛋白由骨细胞分泌,并由旁分泌或自分泌的形式释放在骨表面,进而阻止 Wnt 蛋白与受体的结合。硬化蛋白基因也证实了硬化蛋白对调控骨量有重要作用:小鼠的成骨细胞过度表达硬化蛋白基因可导致颅骨和股骨的骨结构紊乱,骨皮质变薄及松质骨骨量减少;也可造成肢体骨骼缺如。DKK1 由成骨细胞和骨细胞产生,也可阻止 Wnt 蛋白与受体的结合,抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的传导^[12]。在成骨细胞过度表达 DKK1 后,长骨和颅骨的松质骨和皮质骨骨量严重丢失;DKK1 缺失的小鼠具有高骨量,这再次证实了 DKK1 对成骨细胞的 Wnt 信号通路和骨量调控的重要性。

3 Wnt/ β -catenin 信号通路靶向药物研究进展

3.1 硬化蛋白拮抗剂 临床试验证实,硬化蛋白拮抗剂可增加松质骨骨量、增加骨膜和骨内膜的面积^[13],可逆转系统性和局部的骨质丢失^[14],并促进骨折愈合^[13,15]。二期临床试验对 419 例骨质疏松的绝经后妇女,分别给予硬化蛋白拮抗剂、二膦酸盐及特立帕肽治疗,发现硬化蛋白拮抗剂的疗效强于后两者;但是,这 3 组的桡骨远端的骨密度却都不增加。因此,对于非椎体骨折的预防和治疗,硬化蛋白拮抗剂的有效性仍需要进一步验证。另外,Wnt/ β -catenin 信号通路分布广泛,与细胞增殖、干细胞干性的维持及肿瘤都有相关性^[16-17],因此,其安全性也需要慎重考虑。

3.2 DKK1 拮抗剂 因 DKK1 作用于 Wnt/ β -catenin 信号通路的机制与硬化蛋白具有一定的相似性^[18], DKK1 的拮抗剂是否可以用于骨质疏松治疗也正在研究中^[19]。有研究给予在 12 周龄行卵巢去式术的小鼠抗 DKK1 治疗后, 发现其因骨内膜增加而逆转骨质丢失。此外, 风湿性关节炎患者的滑膜上, 可检测出 DKK1; 而应用 DKK1 拮抗剂可降低破骨细胞数量, 增加成骨细胞数量而促进骨形成, 从而阻止干骺端的骨质丢失。因此认为 DKK1 拮抗剂可能可以用于治疗类风湿关节炎^[20]。

3.3 靶向药物治疗的局限性 以上研究证实硬化蛋白拮抗剂和 DKK1 拮抗剂均可增加骨量, 但是, 人体的骨骼有 80% 都是皮质骨, 这是骨骼强度和椎体骨折风险的决定因素。而在对骨质疏松患者进行 12 个月的硬化蛋白拮抗剂治疗后, 皮质骨骨量的增加并没有松质骨明显, 这个趋势与目前的抗骨吸收药物治疗相同^[21]。但另有研究发现, 主要由皮质骨的成骨细胞产生的 Wnt16 可增加皮质骨厚度^[22], 这使得 Wnt16 未来可能成为增加皮质骨厚度、降低非椎体骨折风险的重要靶点^[23]。

4 展 望

综上所述, Wnt/ β -catenin 在骨量调控方面的机制是复杂的, Wnt/ β -catenin 信号通路可促进骨形成, 还可阻止骨形成, 具体机制仍需要进一步研究。尽管 Wnt/ β -catenin 信号通路靶向药物已进入临床三期试验, 但对皮质骨的效果却远不如松质骨, 原因可能是 Wnt/ β -catenin 信号通路在松质骨和皮质骨存在差异性表达^[24]。如何有效地增加皮质骨骨形成, 降低非椎体骨折的风险, 将是今后抗骨质疏松治疗的一个热点。另外目前已发现多种基因及甲基化水平与骨质疏松及骨折风险相关^[25], 尚需要进一步研究。

参考文献

- [1] 陈小菊, 王嫣, 王兰, 等. 诱导骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的实验研究[J]. 重庆医学, 2009, 38(10): 1185-1187.
- [2] 吴术红, 刘毅, 熊华章, 等. Scleraxis 和碱性成纤维细胞生长因子-1 联合修饰对单层骨髓间充质干细胞向韧带成纤维细胞特异性分化的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(7): 1731-1735.
- [3] 李新建, 齐振熙, 李志敏, 等. 补肾活血汤含药血清骨髓间充质干细胞成骨-成脂分化的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(8): 3274-3277.
- [4] 杨中原, 陈建英. 间充质干细胞免疫调控及其治疗心血管疾病的研究进展[J]. 广东医学, 2016, 37(13): 2039-2042.
- [5] 成楠, 刘欢, 周跃. 间充质干细胞成软骨分化的表观遗传学研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2016, 24(12): 1092-1095.
- [6] Weivoda MM, Ruan M, Hachfeld CM, et al. Wnt signaling inhibits osteoclast differentiation by activating canonical and Noncanonical cAMP/PKA pathways[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(1): 65-75.
- [7] Kobayashi Y, Uehara S, Koide M, et al. The regulation of osteoclast differentiation by Wnt signals [J]. Bonekey Rep, 2015(4): 713.
- [8] Chen S, Feng J, Bao Q, et al. Adverse effects of osteocytic constitutive activation of β -catenin on bone strength and bone growth[J]. J Bone Miner Res, 2015, 30(7): 1184-1194.
- [9] Jia M, Chen S, Zhang B, et al. Effects of constitutive β -catenin activation on vertebral bone growth and remodeling at different postnatal stages in mice[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e74093.
- [10] Tüysüz B, Bursal A, Alp Z, et al. Osteoporosis-pseudoglioma syndrome; three novel mutations in the LRP5 gene and response to bisphosphonate treatment[J]. Horm Res Paediatr, 2012, 77(2): 115-120.
- [11] Xiong L, Jung JU, Wu H, et al. Lrp4 in osteoblasts suppresses bone formation and promotes osteoclastogenesis and bone resorption[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(11): 3487-3492.
- [12] Kristensen IB, Christensen JH, Lyng MB, et al. Expression of osteoblast and osteoclast regulatory genes in the bone marrow microenvironment in multiple myeloma; only up-regulation of Wnt inhibitors SFRP3 and DKK1 is associated with lytic bone disease[J]. Leuk Lymphoma, 2014, 55(4): 911-919.
- [13] Agholme F, Macias B, Hamang M, et al. Efficacy of a sclerostin antibody compared to a low dose of PTH on metaphyseal bone healing[J]. J Orthop Res, 2014, 32(3): 471-476.
- [14] Suen PK, He YX, Chow DH, et al. Sclerostin monoclonal antibody enhanced bone fracture healing in an open osteotomy model in rats[J]. J Orthop Res, 2014, 32(8): 997-1005.
- [15] Taut AD, Jin Q, Chung JH, et al. Sclerostin antibody stimulates bone regeneration after experimental periodontitis[J]. J Bone Miner Res, 2013, 28(11): 2347-2356.
- [16] 杨雅, 黄水金, 谢菲飞, 等. 17β -雌二醇及 wnt/ β -catenin 信号通路对人成骨肉瘤细胞基质 Gla 蛋白表达的影响[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2016, 9(2): 157-165.
- [17] 刘永明, 廖前德, 何凤春. wnt10b 在骨肉瘤组织中的表达及其临床意义[J]. 医学临床研究, 2016, 33(5): 881-884.
- [18] Evenepoel P, D'Haese P, Brandenburg V. Sclerostin and DKK1: new players in renal bone and vascular disease [J]. Kidney Int, 2015, 88(2): 235-240.
- [19] Tsourdi E, Rijntjes E, Köhrle J, et al. Hyperthyroidism and hypothyroidism in male mice and their effects on bone mass, bone turnover, and the Wnt inhibitors sclerostin and dickkopf-1[J]. Endocrinology, 2015, 156(10): 3517-3527.
- [20] Juarez M, McGettrick HM, Scheel-Toellner D, et al. DKK1 expression by synovial fibroblasts in very early rheumatoid arthritis associates with lymphocyte adhesion in an in vitro flow co-culture system[J]. Arthritis Res Ther, 2016, 18(1): 14.
- [21] Montagnani A. Bone anabolics in osteoporosis; actuality and perspectives[J]. World J Orthop, 2014, 5(3): 247-254.
- [22] Gori F, Lerner U, Ohlsson C, et al. A new WNT on the bone: WNT16, cortical bone thickness, porosity and fractures[J]. Bonekey Rep, 2015(4): 669.
- [23] Alam I, Alkhouli M, Gerard-O'Riley RL, et al. Osteoblast-specific overexpression of human WNT16 increases both cortical and trabecular bone mass and structure in mice[J]. Endocrinology, 2016, 157(2): 722-736.
- [24] Li J, Bao Q, Chen S, et al. Different bone remodeling levels of trabecular and cortical bone in response to changes in Wnt/ β -catenin signaling in mice[J]. J Orthop Res,

2016. doi:10.1002/jor.23339.

志, 2016, 9(1): 75-80.

[25] 周星彤, 杨昕, 曹永平. 骨质疏松相关基因甲基化水平与骨质疏松症的关系[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2016, 9(1): 75-80.

(收稿日期: 2016-07-13 修回日期: 2016-09-25)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.03.039

基于量化的动态影像学测量技术研究腰椎不稳症的进展*

陈文锦 综述, 王建伟[△], 张亚峰 审校

(南京中医药大学无锡附属医院骨科, 江苏无锡 214001)

[关键词] 腰椎不稳症; 量化研究; 动态影像学

[中图分类号] R681.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)03-0403-03

退行性腰椎不稳症是严重影响中老年人群生活质量的慢性疾病, 国内外学者对腰椎不稳症进行了大量研究。目前对腰椎稳定性的评估大都采用 X 射线上过伸、过屈位椎体间的位移及角度变化作为依据, 但这种评估方法具有较大的局限性: (1) 腰椎不稳症经常出现的疼痛、绞锁等症状是在轻微屈伸, 旋转或侧屈活动时出现, 而非过伸过屈位; (2) 这种方法没有对腰椎的侧屈、旋转活动做出评估; (3) 腰椎活动不仅会产生节段间的位移及角度的变化, 亦会产生节段间的耦合运动变化。过伸过屈位只是一种静止状态, 很难描述腰椎活动复杂的动态过程, 临床上时常会出现假阴性结果。量化的动态影像学测量技术相对于既往诊断腰椎不稳症的“金标准”, 能为下腰痛患者提供更早诊断与治疗的机会, 为临床诊断腰椎不稳症提供新的思路和方法。

1 利用量化的动态影像学测量技术进行检查时需观察的参数

在脊柱运动中, 两椎体间可以在 3 个平面上发生旋转、水平位移、角度位移的运动, 其稳定性的维持有赖于椎间盘、关节突关节及周围的韧带结构。观察的参数应尽量包括以上内容。

1.1 椎体在矢状位及冠状位上的旋转和位移 观察椎体的旋转和位移的历史已有数十年, 目前仍是大多数临床医生用来诊断腰椎不稳症的方法^[1-3]。相对于少数学者测量的椎体在冠状位上的旋转和位移^[4], 既往对于矢状位上的旋转和位移研究较多。1944 年, Knuttson 最早描述了通过在过伸过屈侧位 X 片测量后者来诊断节段性腰椎不稳。也有学者通过测量后者来对腰椎不稳症的患者进行区分^[5]。此外, 有学者利用磁共振成像(MRI)的小平面流体标志, 通过测量此项目来计算量化的稳定指数(quantitative stability index, QSI), 以此来探讨 QSI 与腰椎不稳间的关系。

1.2 运动中椎间盘的高度 脊柱节段运动主要是由于椎间盘的变形所形成。椎间盘的高度在 X 线片上表现为椎间隙的高度。椎间隙高度的异常时常提示腰椎不稳^[3]。通过测量椎间隙高度, 可对采用不同手术方式进行腰椎间盘置换术的效果进行了较。Lee 等^[6]采用 MRI 技术, 对两种手术方式进行腰椎间盘切除后的临床和影像结果进行了比较, 并建议在腰椎间盘切除术中尽可能地保留中央部分的椎间盘, 这样可防止椎间盘高度的丢失及腰椎不稳症的发生。

1.3 腰椎的松弛度 腰椎的松弛度是衡量腰椎稳定性的重要参数。松弛度增加, 腰椎稳定性减弱。Wong 等^[7-8]采用的计算腰椎单向运动斜率的方法为腰椎松弛度的计算提供了新思路^[4]。Gay 等^[9]阐明了准静态中性区与动态运动参数间的相关性, 并认为此相关性反映了腰椎在中立位的松弛度。

1.4 腰椎运动的对称性 腰椎运动的对称性与椎间节段不稳定性相关性已被 Kirkaldy-Willis 和 Farfan 总结^[10], 其被认为有利于确定椎间盘突出水平。对称性分为侧屈及旋转对称性, 前者为左右侧屈活动时椎体的两侧在冠状位上的位移和旋转的差值的均方根^[4], 后者为左右旋转活动时椎体两侧的旋转度的对比。椎体旋转度采用评估脊柱侧凸时椎体旋转的 Nash-Moe 法。

1.5 腰椎活动的瞬时旋转轴(instantaneous helical axis, IHA)

在脊柱的运动过程中, 每一个运动瞬间都对应一个轴, 包括侧屈及屈伸活动旋转轴, 这些轴被称为 IHA。通过数百帧图像的分析, IHA 可以观察每一个椎体的运动轨迹和活动特点, 继而分析腰椎活动的动态平衡性。Mansour 等^[11]用高分辨率的 6D 运动跟踪系统对 IHA 进行了分析。Wachowski 等^[12-13]通过对 IHA 的定位、序列及位移的测量来阐明颈、胸、腰各段脊柱运动的特点。

2 量化的动态影像学测量技术的分类

既往有国内外学者采用非侵入式方法对脊柱活动度及稳定性进行测量。Thoumie 等^[14]利用电子跟踪及连续记录技术, 研究了腰部支具对脊柱的姿势及运动所造成的影响; 有学者采用运动捕捉技术, 研究了颈椎旋提手法操作过程中的运动力学过程并对其运动力学参数进行了分析; 也有学者利用计算机光学测量技术, 对脊柱的运动进行了分析。但这些非侵入式的测量方法均是通过体表的标记来进行, 并不能精确地反映骨骼的运动情况。而量化的动态影像学测量技术则具有优势。它是通过包括 X 射线、CT、MRI 在内的体内测量技术, 全程、动态观察并精确测量各个椎节间的异常活动, 量化分析失稳腰椎的活动特点。

2.1 X 射线测量技术 Takayanagi 等^[15]利用闪光 X 光照相技术对 L4 椎体滑脱患者的运动模式进行了连续动态的分析。最终发现, 位移小于 15% 的患者的运动模式与节段的不稳定性有关; 而位移大于 15% 的患者与脊柱的再稳定性有关。Lin 等^[16]运用表面与体积模型、单向与双向透视技术, 对脊柱的运动进行测量和分析, 最终发现, 运用体积模型的双向透视组有最高的精确度, 而运用表面模型的单向透视组的精确度最差。Lee 等^[17]采用带金属标志物的立体摄影测量技术对颈椎融合术后的椎体运动进行了测量, 并获得了颈椎 3D 运动的数据。Leivseth 等^[18]通过立体摄影测量技术与失真补偿测量技术的对比, 对腰椎矢状面上的节段运动进行分析, 并得出结论: 后者精确度略逊于前者, 但明显好于一般的测量技术。Bifulco 等^[19]采用自动追踪 X 射线透视序列中椎骨的标记来分析椎体

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81473693)。 作者简介: 陈文锦(1985—), 主治医师, 博士, 主要从事脊柱骨科方面研究。 △