

DOI: 10.13376/j.cbbls/2014046

文章编号: 1004-0374(2014)03-0314-05

TAZ介导的Wnt/ β -catenin信号通路 与骨髓基质干细胞的成骨分化

魏秋实^{1,2}, 邓伟民^{1*}

(1 广州军区广州总医院康复科, 广州 510010; 2 广州军区广州总医院博士后科研工作站, 广州 510010)

摘要: 骨质疏松症是由于骨重建过程中骨形成和骨吸收失衡导致骨总量丢失所致, 与成骨细胞分化密切相关。Hippo 通路影响着哺乳动物体内细胞增殖、分化和凋亡过程。Wnt/ β -catenin 通路在成骨细胞分化中扮演重要角色。Hippo 下游的靶基因转录共激活因子 TAZ 脱磷酸化后具有促进骨髓基质干细胞 (BMSCs) 向成骨细胞分化, 调节成骨特异基因骨钙素表达, 调节骨、肾发育, 激活 Wnt/ β -catenin 通路转录反应的功能; 而激活的 Wnt/ β -catenin 通路能通过抑制 β -catenin 降解进而抑制 TAZ 的降解。因此, TAZ 与 Wnt/ β -catenin 通路相互调控。但是, 对 TAZ 与 Wnt/ β -catenin 通路串话是否影响 BMSCs 成骨能力尚不清楚。因此, 深入研究 TAZ 介导的 Wnt/ β -catenin 通路在骨代谢中的作用, 将为深入了解骨质疏松的发病机制具有重要意义。

关键词: TAZ; Wnt/ β -catenin 信号通路; 骨髓基质干细胞; 成骨

中图分类号: Q441; Q254; R681

文献标志码: A

TAZ-mediated Wnt/ β -catenin signaling pathway and osteogenic differentiation of BMSCs

WEI Qiu-Shi^{1,2}, DENG Wei-Min^{1*}

(1 Rehabilitation Department, General Hospital of Guangzhou Military Command of Chinese PLA, Guangzhou 510010, China; 2 Postdoctoral Station, General Hospital of Guangzhou Military Command of Chinese PLA, Guangzhou 510010, China)

Abstract: Osteoporosis, which leads to loss of total bone mass in the process of bone remodeling, is due to the imbalance between bone formation and bone resorption and is closely related to the differentiation of osteoblasts. The Hippo pathway affects cell proliferation, differentiation, and the process of apoptosis in mammals. Wnt/ β -catenin pathway plays an important role in the osteoblast differentiation. Studies have shown that Hippo downstream target gene transcription coactivator TAZ is able to respectively promote the differentiation of bone marrow stromal cells (BMSCs) to osteoblast, regulate the osteoblast expression of the specific gene osteocalcin, regulate the growth of bone and kidney, and activate transcription reaction of Wnt/ β -catenin pathway. And activation of Wnt/ β -catenin pathway inhibits TAZ phosphorylation by controlling β -catenin degradation. Therefore, TAZ and Wnt/ β -catenin pathway regulate each other mutually. However, there is no clear report about whether crosstalk between TAZ and Wnt/ β -catenin pathway can affect the osteogenic ability of BMSCs. Therefore, it is important that studying the roles of TAZ-mediated Wnt/ β -catenin pathway in bone metabolism will help us further understand the pathogenesis of osteoporosis.

Key words: TAZ; Wnt/ β -catenin signaling pathway; bone mesenchymal stem cells; osteogenic

收稿日期: 2013-08-28; 修回日期: 2013-10-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(81302994, 81273778); 广东省自然科学基金项目(S2013040014927)

*通信作者: E-mail: dengweimin1959@21cn.com; Tel: 13602845744

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种全身性的骨代谢疾病, 以骨脆易于发生骨折为特点, 是中老年退行性疾病中的常见病、多发病之一, 严重影响中老年人的生活水平和生存质量, 已成为全世界共同面临的健康问题^[1]。OP的发病机制及其防治是目前研究的热点。正常的骨组织处于不断重建的动态平衡中, 这个动态平衡是一种有序、偶联的骨吸收和骨形成过程, 它主要由破骨细胞和成骨细胞共同完成, 前者起源于造血干细胞中的粒细胞, 而后者始于骨髓间充质干细胞 (bone mesenchymal stem cells, BMSCs) 的分化, 骨骼生长、更新和修复过程有赖于骨吸收与骨形成这一偶联过程的相对平衡^[2]。骨质疏松、多发性骨髓瘤等骨科疾病, 就是由于在骨重建的过程中失去了这种动态平衡, 出现骨吸收速度超过骨形成速度, 新生骨量少于被吸收骨量即发生负平衡, 导致骨总量的丢失, 引起 OP^[3]。

随着 OP 病因病机认识的发展, 目前已知 Wnt/ β -catenin、OPG/RANKL/RANK、MAPK、TGF- β /Smad 和 Hedgehog 等多种信号转导途径与疾病的形成发展有关。近些年研究发现, Hippo 信号通路影响着哺乳动物体内细胞的增殖、分化和凋亡过程^[4]。Hippo 信号通路在抑制肿瘤领域中研究广泛, 在正常组织发育过程中, 控制着细胞增殖与死亡, 一旦失去了控制, 就会导致肿瘤的发生^[5]。有趣的是, Hippo 信号通路与 Hedgehog、TGF- β /SMAD、Wnt 信号通路之间存在交联反应, 调节体内不同的生理或病理过程^[6]。其中, Hippo 信号通路与 Hedgehog 信号通路存在交联反应, 共同调控神经元细胞分化^[7]。Hippo 信号通路通过抑制 Wnt/ β -catenin 通路转导来调节心肌细胞增殖和心脏大小^[8]。

TAZ (transcriptional co-activator with PDZ-binding motif, 又称 WWTR1) 是 Hippo 信号下游的一个转录共激活因子。在心脏病、癌症研究中发现, 细胞质内 Ser89 磷酸化的 TAZ 能抑制经典 Wnt/ β -catenin 通路靶基因表达^[8-9]。TAZ 脱磷酸化或阻断 Hippo 信号转导通路可激活 Wnt/ β -catenin 通路^[10]。更有趣的是, 激活的 Wnt/ β -catenin 通路通过抑制 β -catenin 降解, 进而抑制 TAZ 降解^[11]。可见, TAZ 与 Wnt/ β -catenin 通路相互调控。研究发现, Wnt/ β -catenin 信号通路在成骨细胞分化、成熟中扮演重要角色。而 TAZ 通过与 Runx2 相互作用, 在 BMSCs 以及小鼠原成骨细胞向成骨细胞分化的过程中起到了积极的促进作用^[12-13]。本文将就有关 TAZ 及其介导的 Wnt/ β -catenin 通路与 BMSCs 成骨

分化关系做一综述。

1 转录激活因子TAZ与BMSCs成骨分化

体外细胞培养研究发现, TAZ 作为 Hippo 信号通路的转录共激活因子, 与 Runx2^[12-13]、PPAR- γ ^[14] 和 TGF- β 1^[15] 等多种因子相互作用, 调控 BMSCs 成骨分化, 抑制成脂分化。具体作用分以下 3 点: (1) TAZ 与 Runx2 作用后能促进成骨细胞特异性基因骨钙素 (osteocalcin) 的表达, 因此, TAZ 可能参与成骨细胞分化的调节^[12]。(2) TAZ 能提高 Runx2 的转录活性, 抑制 PPAR- γ 的转录活性, 具有促进 BMSCs 成骨分化、抑制成脂分化的功能^[12-13]。TM-25659 是 TAZ 的调节剂, 可提高 TAZ 核转移量。Jang 等^[14] 研究发现, TM-25659 可促进小鼠原成骨细胞 (MC3T3-E1) 向成骨细胞分化, 同时 Runx2 表达增强, ALP 活性明显提高; TM-25659 可促进小鼠干细胞 (C3H10T1/2) 成骨分化、抑制成脂分化, 而 BMSCs 中敲除 TAZ 基因后, 成脂分化能力强于成骨分化能力。(3) TGF- β 1 诱导骨髓基质干细胞成骨分化的过程受 TAZ 调节^[15]。在 TGF- β 1 诱导骨髓基质干细胞成骨分化的过程中, 与未添加 TGF- β 1 组相比, 成骨分化标志性基因 Runx2、OPN 和 Col1 mRNA 水平提高了 7 倍, PPAR- γ 2 和 And mRNA 水平下降, ALP 活性增强, 同时, TAZ mRNA 和蛋白水平提高了 3 倍。因此, TAZ 可能参与成骨细胞分化的调节。

体内动物实验研究发现, TAZ 具有以下功能: (1) TAZ 激活剂 TM-25659 可明显缓解因雌激素缺乏致骨质疏松引起的骨量丢失^[14]。研究发现, 小鼠给予高脂肪饮食 9 周, 体重明显增加, 然后应用 TM-25659 腹膜内注射 8 周后, 体重下降; 另外, TM-25659 可明显缓解因雌激素缺乏所致的骨量丢失。(2) TAZ 基因敲除的小鼠会出现两种严重的疾病——多囊肾和肺气肿^[16]。然而, 令人疑惑的发现, TAZ 基因敲除的小鼠仅有很少的骨量丢失, 表明 TAZ 在骨、肾、肺的发育中起到重要调节作用。(3) Yang 等^[17] 采用 TAZ 转基因小鼠研究 TAZ 在小鼠体内对骨代谢的影响, 发现转基因鼠从 6 周龄生长到 19 周龄的过程中, 与野生鼠相比, 全身骨密度分别增长了 4% 和 7%。在 16 周时, 与野生鼠相比, μ CT 显示转基因鼠胫骨近端小梁骨体积、数量分别增加了 26.7% 和 26.6%, 小梁骨空间分离率减少了 14.2%。骨组织动态计量学显示腰椎矿化沉积率增加了 42.8%。同时, 血清 PINP 浓度也明显地增加

(53%)。培养转基因鼠颅骨细胞, qPCR 显示, Col1、BSP、osteocalcin、ALP、osterix 和 Runx2 基因表达水平增加。体外实验表明, TAZ 增加了 TGF- β 1 依赖的 Smad2/3 和 Smad4 的核转移。因此, TAZ 正向调节体内骨形成, 可能与激活 Runx2 和 TGF- β 1 信号有关。

2 Wnt/ β -catenin 信号通路与 BMSCs 成骨分化

Wnt/ β -catenin 信号通路是一个非常庞大而复杂的信号系统, 参与系统的因子繁多、调节机制复杂, 除了该通路中的因子相互作用外, 和其他信号系统、多种细胞因子发生交叉作用。Wnt 信号通路包括经典 Wnt/ β -catenin 通路、Wnt/ Ca^{2+} 通路和 Wnt/PCP 通路。其中经典 Wnt/ β -catenin 信号通路在成骨细胞分化、成熟中扮演重要角色。经典 Wnt/ β -catenin 信号通路主要围绕 LRP5/6 和 β -catenin 两个关键因子进行, 能从转录水平上影响成骨细胞分化靶基因 Runx2、Osterix 等表达^[18]。 β -catenin 基因敲除小鼠的成骨细胞分化被阻滞于早期祖细胞阶段, 故 β -catenin 对促进成骨细胞分化是非常重要的。补肾药物骨碎补总黄酮可促进骨髓基质干细胞向成骨细胞分化, 与空白组相比, 骨碎补总黄酮可明显提高 Wnt/ β -catenin 信号通路上 β -catenin、LEF-1、cyclin D mRNA 表达水平^[19]。这说明 Wnt/ β -catenin 信号参与补肾药物调节骨髓基质干细胞向成骨细胞分化的过程。Runx2 是成骨细胞分化的特异性转录因子, 是核内转录因子 TCF/LEF 的下游基因, 在成骨细胞分化通路上, Runx2 的下游靶点 Osterix 是前成骨细胞向成骨细胞分化的主要调节因子^[20]。因此, 经典 Wnt/ β -catenin 信号通路是治疗骨质疏松症的潜在靶点。

3 TAZ 与 Wnt/ β -catenin 通路的交联反应

近些年, 关于 Hippo 与 Wnt/ β -catenin 通路交联的分子机制已有报道, Hippo 下游的靶基因转录共激活因子 YAP 和 TAZ 通过阻止 β -catenin 核转移来抑制 Wnt 信号通路, 但不影响细胞质内 β -catenin 的稳定性, 其中 YAP 途径为 Hippo 信号刺激使 YAP 磷酸化, 磷酸化的 YAP 与细胞质内 β -catenin 结合, 阻止 β -catenin 核转移, 从而抑制 Wnt 靶基因表达, 而 TAZ 途径为 TAZ 通过与细胞质内 DVL 竞争性结合, 阻止 CK1delta/epsilon 调节的 DVL 磷酸化过程, 从而抑制 Wnt/ β -catenin 通路靶基因表达^[9-10]。Hippo 与 Wnt/ β -catenin 信号通路交联的研

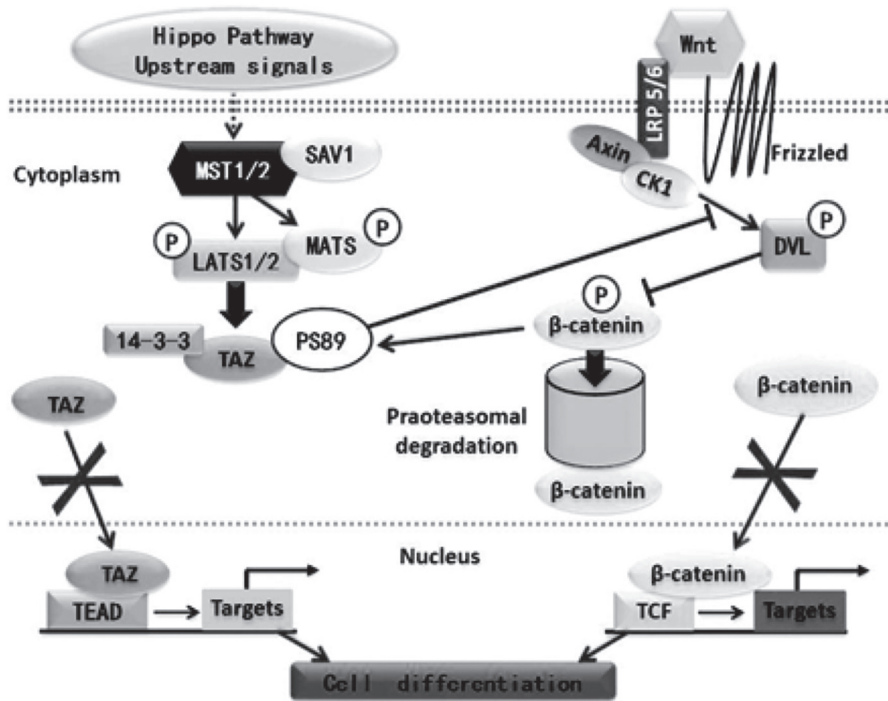
究阐明了 Hippo 通过使下游共激活因子 YAP 和 TAZ 磷酸化, 与 β -catenin 特异性结合, 阻止 β -catenin 核转移, 进而抑制 Wnt 信号通路的转导。在肿瘤与癌症研究领域中发现, 结肠直肠癌组织中 Hippo 信号下调, β -catenin 上调^[9]。以上研究揭示了 Hippo 信号通路/TAZ 与 Wnt/ β -catenin 信号通路之间的交联反应对癌细胞增殖具有重要调节作用。2000 年, Kanai 等^[21]研究发现 TAZ 在 Ser89 发生磷酸化后, 会出现 14-3-3 结合位点, 并促进 TAZ 与 14-3-3 结合, 使 TAZ 长期停留在细胞质中, 不能进入细胞核, 抑制 TAZ 基因转录活性。但是, Ser89 磷酸化与基因转录活性受到抑制的调控机理直到发现 Hippo 信号通路才得到充分的解释。2010 年, Attisano 实验室发现了细胞质内磷酸化的 TAZ 能抑制经典 Wnt/ β -catenin 通路靶基因表达, TAZ 去磷酸化或阻止 Hippo 信号转导通路可提高 Wnt3A 刺激的 DVL 磷酸化水平, 激活 Wnt/ β -catenin 通路^[10]。更有趣的是, 在全基因组研究中发现, Wnt 基因大部分转录反应受 TAZ 调节^[11]。可见, TAZ 具有调节 Wnt 生物学效应的功能。

近来研究表明, 阻断 Wnt/ β -catenin 通路能促进胞质中 β -catenin 降解, 进而促进胞质中 TAZ 在 Ser89 发生磷酸化而降解, 若激活 Wnt 信号不仅能抑制 β -catenin 降解, 也能通过 β -catenin 抑制 TAZ 降解, 使胞质内 β -catenin 和 TAZ 积聚到一定程度后, 同时转移至细胞核内, 共同调控靶基因转录^[11]。因此, TAZ 的转录活性还受到 Wnt 生物学效应的调节, TAZ 可能是 Wnt/ β -catenin 通路的下游分子, 见图 1。

4 小结

目前, 在骨质疏松等骨骼代谢疾病的研究领域中, 促进成骨细胞增殖、抑制破骨细胞活性、增加骨量是治疗疾病的主要原则。研究已证实, TAZ 通过与 Runx2 相互作用, 在骨髓基质干细胞以及小鼠原成骨细胞向成骨细胞分化的过程中起到了积极的促进作用。另外, TAZ 与 Wnt/ β -catenin 信号通路的交联反应对癌细胞增殖具有重要调节作用。然而, TAZ 调控的 Wnt/ β -catenin 信号通路是否影响 BMSCs 向成骨细胞分化的过程尚不清楚。

在 BMSCs 向成骨细胞分化的过程中, TAZ 以及经典 Wnt/ β -catenin 信号通路均起到主要调节作用, 而在心脏病、癌症研究中发现证实 TAZ 与 Wnt 通路存在串话关系, 说明 TAZ 与 Wnt/ β -catenin 信号通路相互调节可能参与 BMSCs 向成骨细胞分化



注: Hippo信号通路的核心是由一系列激酶级联反应组成, Hippo通路启动后, Mst1/2激酶首先与Sav1形成活化复合体, 使Lats1/2磷酸化, Lats1/2激酶与MATS形成复合体, 进而使TAZ在Ser89磷酸化, 促进TAZ与14-3-3蛋白结合, 使TAZ长期停留在细胞质中, 失去转录活性。细胞质中的TAZ阻止CK1调节的DVL磷酸化过程, 使 β -catenin磷酸化而降解, 进而促进TAZ在Ser89磷酸化而降解, 阻止 β -catenin和TAZ核转移, 从而抑制细胞分化。

图1 TAZ与经典Wnt/ β -catenin通路crosstalk通路图

过程, 但具体机制需要进一步证实。因此, 理解TAZ和经典Wnt通路串话与骨代谢的关系, 可以为防治骨质疏松靶向治疗药物的开发奠定基础。而深入研究TAZ与经典Wnt通路串话在骨质疏松发生发展中的作用将对我们认识骨质疏松的发病机制具有重要的现实意义。

[参 考 文 献]

- [1] NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA*, 2001, 285(6): 785-75
- [2] Koinuma D, Imamura T. Bone formation and inflammation. *Nippon Rinsho*, 2005, 63(9): 1523-8
- [3] Li X, Ominsky MS, Warmington KS, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(4): 575-7
- [4] Kawamori H, Tai M, Sato M, et al. Fat/Hippo pathway regulates the progress of neural differentiation signaling in the *Drosophila* optic lobe. *Dev Growth Differ*, 2011, 53(5): 653-67
- [5] Zhao B, Lei QY, Guan KL. The Hippo-YAP pathway: new connections between regulation of organ size and cancer. *Curr Opin Cell Biol*, 2008, 20(6): 638-46
- [6] Mauviel A, Nallet-Staub F, Varelas X. Integrating developmental signals: a Hippo in the (path)way. *Oncogene*, 2012, 31(14): 1743-56
- [7] Lin YT, Ding JY, Li MY, et al. YAP regulates neuronal differentiation through Sonic hedgehog signaling pathway. *Exp Cell Res*, 2012, 318(15): 1877-88
- [8] Heallen T, Zhang M, Wang J, et al. Hippo pathway inhibits Wnt signaling to restrain cardiomyocyte proliferation and heart size. *Science*, 2011, 332(6028): 458-61
- [9] Imajo M, Miyatake K, Iimura A, et al. A molecular mechanism that links Hippo signalling to the inhibition of Wnt/ β -catenin signaling. *EMBO J*, 2012, 31(5): 1109-22
- [10] Varelas X, Miller BW, Sopko R, et al. The Hippo pathway regulates Wnt/ β -catenin signaling. *Dev Cell*, 2010, 18(4): 579-91
- [11] Azzolin L, Zanconato F, Bresolin S, et al. Role of TAZ as mediator of Wnt signaling. *Cell*, 2012, 151(7): 1443-56
- [12] Cui CB, Cooper LF, Yang X, et al. Transcriptional coactivation of bone-specific transcription factor Cbfa1 by TAZ. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(3): 1004-13
- [13] Byun MR, Jeong H, Bae SJ, et al. TAZ is required for the osteogenic and anti-adipogenic activities of kaempferol. *Bone*, 2012, 50(1): 364-72
- [14] Jang EJ, Jeong H, Kang JO, et al. TM-25659 enhances osteogenic differentiation and suppresses adipogenic differentiation by modulating the transcriptional

- co-activator TAZ. *Br J Pharmacol*, 2012, 165(5): 1584-94
- [15] Zhao L, Jiang S, Hantash BM. Transforming growth factor β 1 induces osteogenic differentiation of murine bone marrow stromal cells. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(2): 725-33
- [16] Makita R, Uchijima Y, Nishiyama K, et al. Multiple renal cysts, urinary concentration defects, and pulmonary emphysematous changes in mice lacking TAZ. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 294(3): F542-53
- [17] Yang JY, Cho SW, An JH, et al. Osteoblast-targeted overexpression of TAZ increases bone mass *in vivo*. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56585
- [18] Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/ β -catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology*, 2007, 148(6): 2635-43
- [19] Guo Y, Li PF, Shu XC, et al. Involvement of Wnt/ β -catenin signaling in the osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells induced by *drynaria* total flavonoids. *Chn Med J*, 2012, 92(32): 2288-91
- [20] Chen G, Deng C, Li YP. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(2): 272-88
- [21] Kanai F, Marignani PA, Sarbassova D, et al. TAZ: a novel transcriptional co-activator regulated by interactions with 14-3-3 and PDZ domain proteins. *EMBO J*, 2000, 19(24): 6778-91