

Wnt/ β -catenin 信号通路与糖尿病骨质疏松的关系

朱晓庆 金悦 梁军波 张晓明

糖尿病是一种全身代谢性疾病,其可以通过多种途径影响骨代谢,从而导致骨质疏松,如晚期糖基化终末产物(AGEs)的积累可以抑制成骨细胞表达、增强骨吸收等。但是糖尿病骨质疏松的确切分子机制尚未明确。研究表明 Wnt 信号通路介导了体内多种生物过程,如胚胎形成、器官发生、肿瘤形成等^[1]。同时 Wnt/ β -catenin 信号通路在骨形成和骨代谢中亦起着重要的调控作用,研究表明高血糖状态下 Wnt/ β -catenin 信号通路的失调与糖尿病骨质疏松的发生有着密切关系。

一、Wnt/ β -catenin 信号通路及其与骨质疏松的关系

1. Wnt/ β -catenin 信号通路:Wnt 蛋白由 19 种分泌蛋白组成,这些蛋白和相应的膜受体发生结合可激发一系列的继发反应,从而参与器官发生、胚胎形成等生物过程^[1,2]。膜受体又由多种蛋白构成,包括卷曲蛋白(frizzled, FZD)、G 偶联蛋白(GPCRs)、低密度脂蛋白受体(LRPs)等。Wnt 信号通路包括 4 条信号转导通路:Wnt/ β -连环蛋白(Wnt/ β -catenin)信号转导通路、Wnt/ Ca^{2+} 信号转导通路、Wnt/平面细胞极性(PCP)信号转导通路以及调节纺锤体定向和不对称细胞分裂的通路^[3]。其中,以 Wnt/ β -catenin 信号转导通路最经典。Wnt 蛋白和卷曲蛋白 FZD 以及低密度脂蛋白受体 LRPs 结合激发了细胞内的信号转导,使 GSK-3 β 磷酸化而失活,从而维持 β -catenin 的稳定。稳定的 β -catenin 在细胞质内聚集,转移到细胞核内,后与转录因子 TCF/LEF 结合,启动细胞靶基因 Runx2 等的转录,调控细胞的生长^[4]。WIF-1、SOST、DKK-1、sFRP 等为该信号通路拮抗剂,可抑制该信号通路的发生。信号转导过程中某些蛋白的缺失或增加将导致该信号转导过程失调,可导致疾病的发生。如人体中,LRP5 基因的缺失或增加

可以导致骨质疏松-假性神经胶质瘤综合征或者 HBM 型个体^[5]。

2. Wnt/ β -catenin 信号通路在成骨细胞发育中的作用:Wnt/ β -catenin 信号通路在前成骨细胞及成骨细胞的发育中都起了重要的作用。Hu 等^[6]用基因定向敲除的方法进行大鼠胚胎骨形成的研究。发现敲除 β -catenin 基因的大鼠胚胎发生了骨形成障碍,它们只能形成软骨而不能形成骨。用原位杂交实验研究它们的成骨细胞发现它们只能表达 I 型胶原和碱性磷酸酶(ALP)。Holmen 等^[7]对出生后的大鼠骨形成进行了研究,同样去除大鼠的 β -catenin 基因,利用 OC 促进 Cre 的表达,然后通过 CT、组织学等研究,发现大鼠骨密质、骨小梁的骨量都大大减少,并且伴随着骨基质矿化困难及成骨细胞分化的障碍。

Wnt/ β -catenin 信号通路的抑制可造成成骨细胞功能障碍。钙黏蛋白(Cad)是一种钙依赖分子黏附蛋白,根据免疫学特性和组织分布又可以分为几个亚类,包括 ECad、PCad、NCad。成骨细胞中在生长过程中可以产生许多 NCad,它们在成骨细胞黏附及分化中起了重要的作用^[8]。Ncad 的过表达可以抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路。Hay 等^[9]用基因转染技术使部分 MC3T3-E1 细胞 NCad 过表达,然后与正常表达的 MC3T3-E1 细胞进行对照研究,通过 NCad 标记蛋白进行 NCad 表达量的检测。通过检测成骨细胞早期标志物 ALP 含量的检测来观察成骨细胞的数量。研究表明 NCad 可以与成骨细胞中的 LRP5 作用,NCad 的过表达增加了 NCad-LRP5 的数量,增强 NCad-LRP5 的作用。NCad-LRP5 作用的增强导致 TCF/LEF 转录作用减弱,与 Wnt3a 作用减弱,Wnt/ β -catenin 信号通路受阻,从而造成成骨细胞功能障碍,导致骨形成减少^[10]。

为了阐明 Wnt/ β -catenin 与成骨细胞生存能力之间的关系,Almeida 等^[11]通过建立 C2C12、MC3T3-E1、OB-6 三种细胞模型进行了研究。研究表明 Wnt 蛋白可以通过激活 Src/ERK 或者 $\text{PI}_3\text{K}/\text{Akt}$ 而使骨细胞以及前成骨细胞存活时间延长,从而增加骨质

基金项目:浙江省大学生科技创新项目资助(20100560)

作者单位:310058 杭州,浙江大学医学院(朱晓庆、金悦、张晓明);317000 浙江省台州医院(梁军波)

通讯作者:梁军波,电子邮箱:liangjunbo1973@163.com

的形成。Wnt3a 和 Wnt1 可以防止纤溶酶缺乏引起的成骨细胞凋亡^[12]。Wnt3a 可以诱导 LRP5 发生磷酸化作用,促使 ERKs 在核内聚集以及 Src 和 Akt 的磷酸化作用。当 Wnt/ β -catenin 信号通路受抑制或者存在 MEK、Src、PI₃K、AKT 激酶等的抑制剂时,Wnt3a 的抗凋亡作用将失效。此外,Wnt3a 还可以增加 ERK 依赖型细胞中抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达^[13]。

3. Wnt/ β -catenin 在破骨细胞分化中的作用: Wnt/ β -catenin 的主要作用在于促进成骨细胞的分化、抑制成骨细胞的凋亡。但是现研究表明,Wnt/ β -catenin 在促进成骨细胞分化的同时,也能在一定程度上抑制破骨细胞的分化,从而调节骨的形成^[14]。

骨保护素(OPG)是核受体 κ B 激活受体配体(RANKL)的假性受体,它可以竞争性地与 RANKL 结合。成骨细胞可以表达 OPG。Wnt/ β -catenin 在促进成骨细胞分化的同时增强了 OPG 的表达,从而使与 RANK 的竞争性作用增强,使 OPG 与更多的 RANKL 假性结合,抑制成骨细胞的分化,降低破骨细胞的活动,减少骨量的丢失。Holmen 等^[7]研究发现 Δ -APC 大鼠在提高 β -catenin 表达量的同时也提高了 OPG 的表达量,并且降低了 RANKL 的表达量。这个实验结果也被 Glass 等^[14]证实。糖尿病大鼠中 β -catenin 表达量的减少将可能引起 OPG 表达量的降低,从而使 RANK 与 RANKL 的结合作用增强,促使破骨细胞的分化,导致骨量下降。

二、糖尿病大鼠中 Wnt/ β -catenin 信号通路及其相关蛋白的改变

骨质疏松和糖尿病都是老年性疾病,年龄是影响骨质疏松发生的重要因素。研究表明 1 型糖尿病可以导致骨质疏松,2 型糖尿病虽尚不能确定是否可以导致骨质疏松,但其可以促进糖尿病骨质疏松的发生与发展^[15]。糖尿病骨质疏松的分子发病机制尚未明确,目前对 Wnt/ β -catenin 信号通路的研究较为深入,并且研究证明糖尿病骨质疏松大鼠中,有 Wnt/ β -catenin 信号通路的失调及其相关蛋白表达量改变。

Portal-Nunez 等^[16]通过静脉注射链佐菌素(STZ)制成糖尿病大鼠模型,用甲状旁腺素治疗组作为对照,采用 X 线骨密度测定进行组织形态学观察,用基因芯片技术和 rt-PCR 分析 Wnt/ β -catenin 信号通路的改变,用免疫组化染色方法分析 β -catenin 蛋白表达量的改变。X 线研究证明糖尿病大鼠骨形态确实发生改变,有明显的骨量下降的表现。免疫组

化结果证明糖尿病大鼠成骨细胞及骨细胞中的 β -catenin 表达量明显下降,并且 β -catenin 表达量下降与骨细胞减少数量对比结果证明这不是由于骨细胞的活性降低而引起的。此外,还发现在成骨细胞 β -catenin 相关信号转导的过程中,转移到细胞核的 β -catenin 数量明显减少,从而影响了胞内后续的信号转导,证明 β -catenin 表达量的下降使得 Wnt/ β -catenin 信号通路发生了障碍。糖尿病大鼠中 WIF-1、Wisp1 和 Wnt1 等蛋白表达量的下降也证明糖尿病大鼠中确实有 Wnt/ β -catenin 信号通路的失调,并且其参与了糖尿病骨质疏松的发生与发展。

综上所述,糖尿病骨质疏松的发生和发展受到多种因素的影响,发病机制复杂。高血糖状态下 Wnt/ β -catenin 信号通路改变在骨形成及骨代谢中起着重要的作用,虽然其对糖尿病骨质疏松的作用机制尚未完全明确,但是随着研究的不断深入,相信其能够为糖尿病骨质疏松的治疗提出新的思路和治疗靶点。

参考文献

- 1 Bodine PV, Komm BS. Wnt signaling and osteoblastogenesis. *Rev Endocr Metab Disord*, 2006, 7: 33-39
- 2 Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20: 781-810
- 3 Eisenmann DM. Wnt signaling. *Worm Book*, 2005, 25: 1-17
- 4 Fogarty MP, Kessler JD, Wechsler-Reya RJ. Morphing into cancer. The role of developmental signaling pathways in brain tumor formation *J Neurobiol*, 2005, 64: 458-475
- 5 Hosoi T. Wnt co-receptor LRP5 gene and osteoporosis. *Nippon Naika Gakkai Zasshi*, 2005, 94: 714-719
- 6 Hu H, Hilton MJ, Tu X, *et al*. Sequential roles of Hedgehog and Wnt signaling in osteoblast development. *Development*, 2005, 132: 49-60
- 7 Holmen SL, Giambernardi TA, Zylstra CR, *et al*. Decreased BMD and limb deformities in mice carrying mutations in both LRP5 and LRP6. *J Bone Miner Res*, 2004, 19: 2033-2040
- 8 Shin CS, Her SJ, Kim JA, *et al*. Dominant negative N-cadherin inhibits osteoclast differentiation by interfering with beta-catenin regulation of RANKL, independent of cell-cell adhesion. *J Bone Miner Res*, 2005, 20: 2200-2212
- 9 Haÿ E, Laplantine E, Geoffroy V, *et al*. N-cadherin interacts with axin and LRP5 to negatively regulate Wnt/beta-catenin signaling, osteoblast function, and bone formation. *Mol Cell Biol*. 2009, 29(4): 953-964
- 10 Boyden LM, Mao J, Belsky J, *et al*. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med*, 2002, 346: 1513-1521
- 11 Almeida M, Han L, Bellido T, *et al*. Wnt proteins prevent apoptosis of both uncommitted osteoblast progenitors and differentiated osteoblasts by beta-catenin-dependent and -independent signaling cas-

- acades involving Src/ERK and phosphatidylinositol 3 - kinase/AKT. J Biol Chem, 2005, 280(50):41342 - 41351
- 12 Chen Y, Alman BA. Wnt pathway, an essential role in bone regeneration. J Cell Biochem, 2009, 106(3):353 - 362
- 13 Longo KA, Kennell JA, Ochocinska MJ, *et al.* Wnt signaling protects 3T3 - L1 preadipocytes from apoptosis through induction of insulin - like growth factors. J Biol Chem, 2002, 277(41):38239 - 38244
- 14 Glass DA, Bialek P, Ahn JD, *et al.* Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. Development

tal Cell, 2005, 8: 751 - 764

- 15 Saller A, Maggi S, Romanato G, *et al.* Diabetes and osteoporosis. Aging Clin Exp Res, 2008, 20(4):280 - 289
- 16 Portal - Núñez S, Lozano D, de Castro LF, *et al.* Alterations of the Wnt/beta - catenin pathway and its target genes for the N - and C - terminal domains of parathyroid hormone - related protein in bone from diabetic mice. FEBS Lett, 2010, 584(14):3095 - 3100

(收稿:2011 - 03 - 22)

(修回:2011 - 03 - 30)

中西医结合防治内分泌代谢疾病进展

王 斌 林 兰 倪 青 苏诚炼

一、内分泌代谢性疾病概况

在成年人中,内分泌疾病的患病率不低于 5%。这些内分泌疾病包括:糖尿病、糖耐量降低、糖调节异常、肥胖症、代谢综合征、骨量减少及骨质疏松症(好发于女性)、轻中度维生素 D 缺乏、勃起功能障碍(好发于男性)、血脂障碍和甲状腺炎。甲状腺功能亢进(甲亢)等甲状腺疾病在女性中常见,而女性糖尿病发病率也呈逐年增加的趋势。

目前主流的治疗方法为西药治疗为主,本文通过比较中西医结合、西医治疗的优缺点,以期明确中西医结合防治内分泌代谢疾病的优点及其适应证。

二、中西医结合防治糖尿病

糖尿病为多因素疾病,重在综合防治,符合中医从整体调节治疗的特点。中医的辨证论治,又体现个体化治疗原则,即根据病人体质、病症、性格以及季节气候的不同,采取不同的治法和方药。

林兰教授在临床实践中深入研究糖尿病的中医辨证规律,在前人辨证的基础上,遵循四诊、八纲、脏腑、气血理论对糖尿病进行系统的客观辨证和微观检测,取其共性和演变规律,进行症状与证型辨证,在中医宏观辨证的基础上,归纳出糖尿病具有阴虚证、热

盛证、气虚证、阳虚证 4 大基本证候,并在实践中得到进一步充实和提高^[1]。

林兰教授认为在患者病初由于燥热较盛,血糖较高,首要任务是应用中西医的各种方法包括饮食控制、运动、中药、化学合成药或胰岛素尽快地控制血糖;待血糖控制满意后,将治疗重点转为预防和最大限度地延缓各种并发症的发展。依据中西医各自的优势,如西药降糖效果好、起效快,中药改善症状好、降糖作用持久,两者合用,可以提高疗效,提高患者的生存质量^[2]。

林兰教授在上述辨证论治规律的基础上,根据患者的具体情况,随证灵活加减,临床效果显著。林兰教授总结多年临床实践指出,中西医结合疗法不仅能缓解症状,减少口服降糖药和胰岛素用量,而且在预防和延缓糖尿病并发症的发生与发展方面有着独特的疗效^[2]。

另外,中医的辨证与西医一系列的客观指标相结合,以其微观的形式参与于宏观之中,使辨病辨证相结合的科学性向前跨越了一步,无疑对“施治”的指导也更加确切,疗效必然提高。这种中西医结合治疗糖尿病的模式在很多地方已经开展并取得了可喜的成绩,已普遍被糖尿病患者接受和欢迎,是目前治疗糖尿病最理想的方法。中西医结合防治糖尿病及其慢性并发症确有其独到之处,具有显著的优势。

程学军等^[3]将 2 型糖尿病分为阴虚热盛证、气阴两虚证、肝肾阴虚证、湿热内蕴证、阴阳两虚证。结果发现:观察组患者临床症状改善状况和临床疗效均优于对照组($P < 0.05$ 或 0.01),而中西医结合组优于中药组($P < 0.05$);中药组对 FBG、PBG 疗效不如西

基金项目:“十一五”国家科技支撑项目(2006BAI04A04 - 2 - 2);国家重大新药创制专项“综合性中药新药研究开发技术大平台”(2009ZX09301 - 005);中国中医科学院优势病种临床研究项目(CAC-MS05Y026)

作者单位:100053 北京,中国中医科学院广安门医院内分泌科

通讯作者:林兰,研究员,教授,博士生导师,电子信箱:linlgam@163.com