

# Wnt 信号通路与骨关节炎

高宁阳,曹月龙,刘婷,庞坚,詹红生,石印玉  
(上海市中医药研究院骨伤科研究所,上海 201203)

**【摘要】** Wnt 信号通路广泛地存在于各种属生物体中,调节控制着许多生命过程,如细胞形态与功能的分化及维持、免疫、应激、凋亡等。随着对其研究的不断深入,发现 Wnt 信号通路对早期软骨的化生与形成、体外软骨细胞的增殖与分化具有重要的作用,并已成为骨关节炎(osteoarthritis, OA)发病机制研究的新热点。

**【关键词】** 软骨细胞; 骨关节炎; Wnt 信号通路;  $\beta$ -连环蛋白; 综述文献

DOI:10.3969/j.issn.1003-0034.2010.04.030

**Wnt signaling pathways and osteoarthritis** GAO Ning-yang, CAO Yue-long, LIU Ting, PANG Jian, ZHAN Hong-sheng, SHI Yin-yu. *Institution of Orthopaedics, Academy of TCM of Shanghai, Shanghai 201203, China*

**ABSTRACT** The Wnt signaling exists in every kinds of species and regulates a variety of biological processes including cell fate, proliferation and function, immunity, stress, apoptosis and so on. During the researching, Wnt signaling also plays an important role in chondrocyte differentiation and maturation. So it has been the new spot in pathogenesis of osteoarthritis study.

**Key words** Chondrocytes; Osteoarthritis; Wnt signaling pathways;  $\beta$ -catenin; Review literature

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2010, 23(4): 320-323 www.zggszz.com

骨关节炎(osteoarthritis, OA)作为最常见的骨关节疾病,是导致中、老年人慢性肌肉骨骼疼痛和活动障碍的最主要原因<sup>[1]</sup>。但其发病机制仍不清楚,使得对 OA 的治疗常是无的放矢、事倍功半。近期,通过基因敲除的 OA 动物模型证实<sup>[2-3]</sup>,主要由滑膜细胞分泌的促炎细胞因子(如前列腺素、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、NO 等)在 OA 的病理过程中并未起到关键作用。而一些动物实验研究则表明<sup>[4-6]</sup>, MMPs、aggrecanases 等蛋白酶对关节软骨主要基质成分 II 型胶原以及蛋白多糖的降解,是导致 OA 产生的主要原因。但是,这些蛋白酶的特异抑制剂在治疗 OA 过程中的疗效却并不尽如人意,且具有较为严重的不良反应<sup>[7-8]</sup>。因此,对软骨细胞中这些蛋白酶的上游信号通路——Wnt 信号通路的研究,现已成为新的热点。

## 1 Wnt 信号通路

1982 年, Nusse 等<sup>[9]</sup>研究发现 int-1 位点是小鼠乳腺瘤病毒(MMTV)导致乳腺肿瘤时的整合位点,后来发现这一位点与果蝇无翅基因(wingless)是同源染色体,所以将其命名为 Wnt。在从线虫、果蝇到哺乳动物的各种属生物中,都存在着极其保守的 Wnt 信号通路,而且构成 Wnt 的细胞内信号传导通路的分子在机能、构造上亦具有保守性。Wnt 信号通路调节

控制着许多生命过程,包括生物体的生长、发育、疾病、衰老与死亡等;细胞形态与功能的分化及维持、免疫、应激、癌变和细胞凋亡等。在高等动物的胚胎发育过程中,主要参与细胞的增殖、分化、极化、凋亡与抗凋亡等。

目前,认为 Wnt 家族可能参与了 4 条信号通路——Wnt/ $\beta$ -catenin( $\beta$ -连环蛋白)信号通路、平板细胞极性信号通路、Wnt/ $Ca^{2+}$ 信号通路、含环磷酸腺苷(cAMP)效应元件结合蛋白的蛋白激酶 A(PKA)信号通路,而 Wnt/ $\beta$ -catenin 是最经典的信号通路,亦是研究最透彻的一条信号通路<sup>[10]</sup>。 $\beta$ -catenin 作为连环蛋白家族的一员,最早是在对细胞黏附分子 E-cadherin 的研究过程中发现的,是一种具有介导细胞黏附及信号传导双重活性的多功能蛋白。 $\beta$ -catenin 是 Wnt 信号通路中的一个重要组成部分<sup>[11]</sup>。

在 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路激活过程中,首先 Wnt 与受体复合物结合,受体复合物包括低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP)如 LRP-5、LRP-6 以及卷曲蛋白(Fz)家族。当 Wnt 与受体复合物结合时,便使细胞内散乱蛋白(Dvl)活化,轴蛋白(Axin)与 LRP-5 或 LRP-6 的胞质尾区结合。作为一种蛋白支架, Axin 上结合着含有数个蛋白成分的降解复合体,可调节细胞内  $\beta$ -catenin 的水平,它的关键组成是糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ ), Dvl 的活化可抑制 GSK-3 $\beta$  中丝氨酸-9 的磷酸化。在正常情况下, GSK-3 $\beta$  可磷酸化  $\beta$ -catenin, 磷酸化的  $\beta$ -catenin 经泛素-蛋白酶体途径分解,使细胞质内  $\beta$ -catenin 蛋白量保持在低水平。当 Wnt 与 Fz/LRP 结合,信号通过 Dvl 抑制 GSK-3 $\beta$  活性,抑制  $\beta$ -catenin 的分解并在细胞内聚集,促使  $\beta$ -catenin 转移至细胞核内,进而与转录因子(TCF)/淋巴

基金项目:“中医骨伤科学”国家和上海市重点学科建设项目(100508、T0303); 国家自然科学基金资助项目(编号:30371793、30300459、30500674); 国家中医药管理局重点专科(编号:09J1X1L116K110); 国家中医药管理局“治未病”专项、上海市青年科技启明星计划(编号:08QA14063); 上海市卫生局项目(编号:2006T005A、2005Z002L)

通讯作者:高宁阳 E-mail:sapphire512@163.com

增强因子(LEF)结合,调节 cyclin D1、c-myc 等数个靶基因的表达<sup>[12]</sup>(图 1)。

此外,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路中还有一些相关基因起着一定的作用,抑制因子 Dickkopf-1(Dkk-1)可结合 LRP-5 和 Dkk-1 受体 Kremen,进而抑制和降解三元络合物;硬化蛋白(sclerostin)与 LRP-5 的结合可阻止其与 Wnt 结合;分泌型 Fz 相关蛋白(sFRP)可结合 Wnt,从而阻止其与受体复合物结合。

### 2 Wnt 信号通路对软骨细胞的作用

随着对 Wnt 信号通路研究的不断深入,发现 Wnt 信号通路不仅调控骨的形成、骨量的维持,还对早期软骨形成及体外软骨细胞增殖与分化具有重要作用。通过对 Wnt 信号通路异常表达的调控技术证实,不同 Wnt 信号通路对不同分化时期的软骨细胞有着促进或抑制的不同作用<sup>[13]</sup>,见图 2。

在软骨化生阶段:研究表明,Wnt-5a 和 Wnt-5b 可以加速软骨小体的形成来促进软骨化生<sup>[14]</sup>,并通过对周期蛋白 D1 和 p130 基因表达的调节促进软骨细胞增殖与分化<sup>[15]</sup>。另一方面,Wnt-4 异常表达会抑制间充质细胞的凝集<sup>[14]</sup>、Wnt-7a<sup>[16-17]</sup>和 Wnt-14<sup>[18]</sup>的异常表达则会影响凝集的间充质细胞向软骨小体的转化,从而抑制软骨化生。在早期凝集阶段,Wnt-1 和 Wnt-7 对软骨化生具有一定的抑制作用,但其作用并不十分显著<sup>[19]</sup>。尽管研究尚未证实在 Wnt-3a 通过  $\beta$ -catenin 信号通路来抑制软骨化生过程中,是否会对  $\beta$ -catenin 的转录活性有所要求,但 Wnt-3a 会通过  $\beta$ -catenin 信号通路来抑制软骨化生<sup>[20]</sup>。

在软骨细胞成熟分化阶段:Wnt-4 则会加速软骨细胞的终末分化<sup>[14]</sup>,Wnt-4 的过度表达以及持续维持  $\beta$ -catenin 的活性也会诱导生长板内软骨细胞的终末分化<sup>[21-22]</sup>。Wnt-8c 和 Wnt-9a 的过度表达能够引起 X 型胶原以及 RunX 2 的上调,进而促进软骨细胞增殖与分化<sup>[23-24]</sup>。而 Wnt-5a<sup>[14-15,17,25-26]</sup>和 Wnt-5b<sup>[14-15]</sup>的异常表达会抑制软骨细胞增殖与分化。

### 3 Wnt 信号通路与 OA

软骨细胞的增殖分化、成熟与凋亡,不仅参与了 OA 病理变化的过程,并且对于 OA 的病理过程具有重要的作用。而 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路调节着关节软骨的成熟、增殖分化以及凋亡,并对软骨外基质分解代谢亦有着重要的作用<sup>[27]</sup>。因此,目前的研究认为 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路可能是 OA 软骨破坏病程中最重要的信号通路<sup>[28]</sup>。

在转基因小鼠身上,特异性地调高了 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路后,会导致 BMP-2、MMP-9、MMP-13、aggrecanases 的上调,引起骨赘生成以及软骨破坏等类似于 OA 的症状<sup>[28]</sup>;而特异性的抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号

通路后也会使小鼠产生类似于 OA 的症状<sup>[29]</sup>。并且在 OA 关节软骨中,Wnt-7a 的表达量是上调的<sup>[30]</sup>。与之相一致的是,在 OA 关节软骨中也有大量的  $\beta$ -catenin 聚集<sup>[31-32]</sup>。在机械性因素损伤的软骨中,Wnt-16、Wnt 靶基因以及核内  $\beta$ -catenin 的表达量都是上调的。虽然,在未受损伤的软骨中没有检测到 Wnt-16 和  $\beta$ -catenin 的表达水平升高,但在同一关节内的中到重度 OA 损伤软骨中,两者皆显著升高<sup>[33]</sup>。而且在退变的软骨细胞内亦可观察到  $\beta$ -catenin 增多。而  $\beta$ -catenin 的过度表达以及  $\beta$ -catenin 的降解减少,都会引起  $\beta$ -catenin-Tcf/Lef 转录水平升高,进而会导致软骨细胞的细胞外基质合成停止<sup>[34]</sup>。除此之外, $\beta$ -catenin 的过度表达以及  $\beta$ -catenin-Tcf/Lef 转录水平升高还会引起 COX-2 表达量的上调<sup>[32]</sup>;Wnt-3a<sup>[35]</sup>和 Wnt-7a<sup>[31]</sup>,可通过刺激  $\beta$ -catenin-Tcf/Lef 的转录活性来阻止软骨细胞中 II 型胶原的表达;而在用 Wnt-3a 激活兔关节软骨细胞

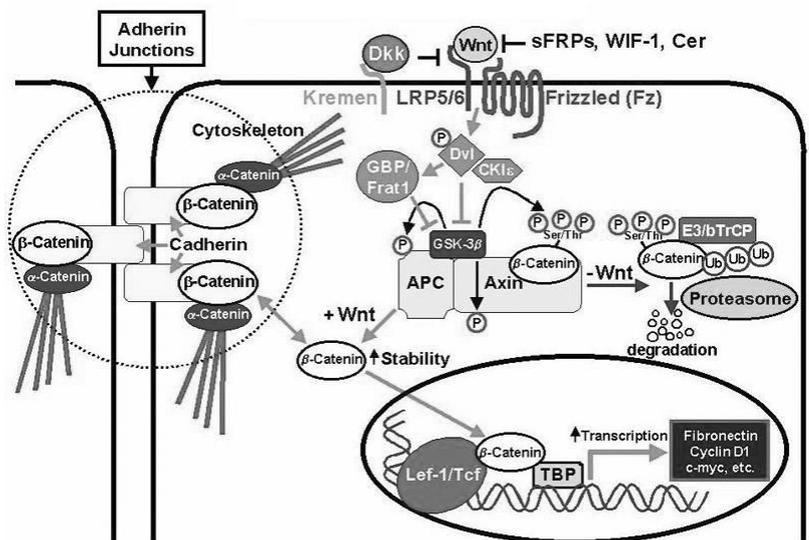


图 1 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路  
Fig.1 Signaling pathways of Wnt/ $\beta$ -catenin

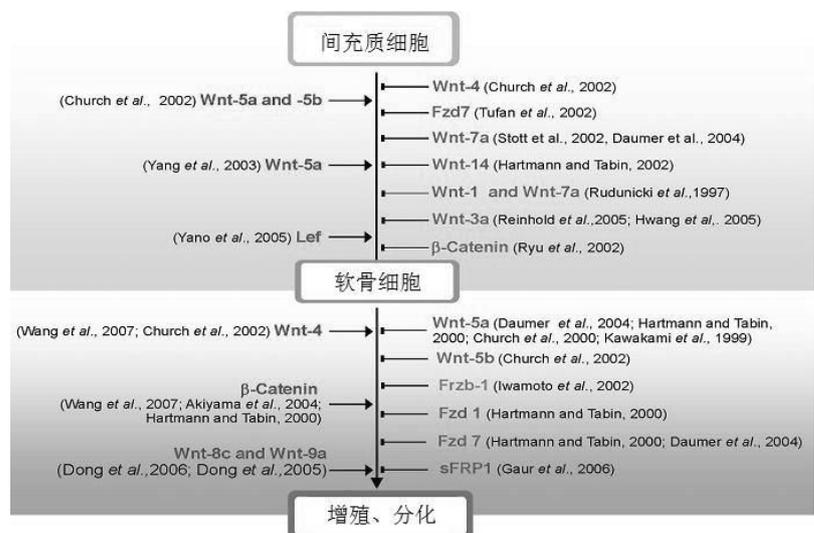


图 2 Wnt 在软骨化生以及软骨增殖、分化过程中的作用  
Fig.2 Wnt action involved in chondrogenesis and hypertrophic maturation of chondrocytes

内的  $\beta$ -catenin 信号通路后,则会促进 MMP-3 和 MMP-13 的基因表达,并且加强了 IL-1 $\beta$  的效应<sup>[27]</sup>。

综上,研究表明,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路以及相关产物可以通过影响软骨细胞的成熟、分化与凋亡;减少软骨细胞中 II 型胶原以及细胞外基质的合成;促进 COX-2、MMPs、aggrecanases 等蛋白酶的产生;诱使软骨下骨及骨赘的生成,进而产生关节软骨进行性变性与破坏、关节软骨再修复、软骨下骨重塑与硬化以及骨赘,并伴有滑膜和关节腔的一系列生化、形态学改变的 OA 一系列病理变化。由此,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路很可能是调节 OA 进展的一条重要信号通路。而且有研究<sup>[36]</sup>表明,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的抑制因子 Dkk1、sFRP3 在血清中的水平越高,越有可能防止老年女性罹患膝关节 OA。虽然不止一条通路参与了 OA 的形成,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的作用也尚未完全清楚,但多项研究表明,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在 OA 病理过程中起着中心作用,可作为逆转软骨破坏、治疗 OA 的新靶点。

#### 参考文献

- [1] Buckwalter JA, Martin JA. Osteoarthritis. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58(2): 150-167.
- [2] Clements KM, Price JS, Chambers MG, et al. Gene deletion of either interleukin-1 $\beta$ , interleukin-1 $\beta$ -converting enzyme, inducible nitric oxide synthase, or stromelysin 1 accelerates the development of knee osteoarthritis in mice after surgical transection of the medial collateral ligament and partial medial meniscectomy. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(12): 3452-3463.
- [3] Yamakawa K, Kamekura S, Kawamura N. Association of microsomal prostaglandin E synthase 1 deficiency with impaired fracture healing, but not with bone loss or osteoarthritis, in mouse models of skeletal disorders. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(1): 172-183.
- [4] Little CB, Meeker CT, Golub SB, et al. Blocking aggrecanase cleavage in the aggrecan interglobular domain abrogates cartilage erosion and promotes cartilage repair. *J Clin Invest*, 2007, 117(6): 1627-1636.
- [5] Glasson SS, Askew R, Sheppard B, et al. Deletion of active ADAM-TS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis. *Nature*, 2005, 434(7033): 644-648.
- [6] Stanton H, Rogerson FM, East CJ, et al. ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage in vivo and in vitro. *Nature*, 2005, 434(7033): 648-652.
- [7] Burrage PS, Brinckerhoff CE. Molecular targets in osteoarthritis: metalloproteinases and their inhibitors. *Curr Drug Targets*, 2007, 8(2): 293-303.
- [8] Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res*, 2006, 69(3): 562-573.
- [9] Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell*, 1982, 31(1): 99-109.
- [10] Johnson ML, Kamel MA. The Wnt signaling pathway and bone metabolism. *Curr Opin Rheum*, 2007, 19(4): 376-382.
- [11] Cox R T, Peifr M. Wingless signaling: the inconvenient complexities of life. *Curr Biol*, 1998, 8(4): R140-144.
- [12] Wodarz A, Nusse R. Mechanisms of Wnt signaling in development. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1998, 14: 59-88.
- [13] Yates KE, Shortkroff S, Reish RG. Wnt influence on chondrocyte differentiation and cartilage function. *DNA Cell Biol*, 2005, 24(7): 446-457.
- [14] Church V, Nohno T. Wnt regulation of chondrocyte differentiation. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt24): 4809-4818.
- [15] Yang Y, Topol L, Lee H, et al. Wnt5a and Wnt5b exhibit distinct activities in coordinating chondrocyte proliferation and differentiation. *Development*, 2003, 130(5): 1003-1015.
- [16] Stott NS, Jiang TX, Chuong CM. Successive formative stages of precartilaginous mesenchymal condensations in vitro: modulation of cell adhesion by Wnt-7A and BMP-2. *J Cell Physiol*, 1999, 180(3): 314-324.
- [17] Daumer KM, Tufan AC, Tuan RS. Long-term in vitro analysis of limb cartilage development: involvement of Wnt signaling. *J Cell Biochem*, 2004, 93(3): 526-541.
- [18] Hartmann C, Tabin CJ. Wnt-14 plays a pivotal role in inducing synovial joint formation in the developing appendicular skeleton. *Cell*, 2001, 104(3): 341-351.
- [19] Rudnicki JA, Brown AM. Inhibition of chondrogenesis by Wnt gene expression in vivo and in vitro. *Dev Biol*, 1997, 185(1): 104-118.
- [20] Reinhold MI, Kapadia RM, Liao Z, et al. The Wnt-inducible transcription factor Twist1 inhibits chondrogenesis. *J Biol Chem*, 2006, 281(3): 1381-1388.
- [21] Hartmann C, Tabin CJ. Dual roles of Wnt signaling during chondrogenesis in the chicken limb. *Development*, 2000, 127(14): 3141-3159.
- [22] Wang L, Shao YY, Ballock RT. Thyroid hormone interacts with the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in the terminal differentiation of growth plate chondrocytes. *J Bone Miner Res*, 2007, 22(12): 1988-1995.
- [23] Dong Y, Drissi H, Chen M, et al. Wnt-mediated regulation of chondrocyte maturation: modulation by TGF- $\beta$ . *J Cell Biochem*, 2005, 95(5): 1057-1068.
- [24] Dong YF, Song do Y, Schwarz EM, et al. Wnt induction of chondrocyte hypertrophy through the RunX 2 transcription factor. *J Cell Physiol*, 2006, 208(1): 77-86.
- [25] Hartmann C. Skeletal development-Wnts are in control. *Mol Cells*, 2007, 24(2): 177-184.
- [26] Kawakami Y, Wada N, Nishimatsu SI, et al. Involvement of Wnt-5a in chondrogenic pattern formation in the chick limb bud. *Dev Growth Differ*, 1999, 41(1): 29-40.
- [27] Yuasa T, Otani T, Koike T, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling stimulates matrix catabolic genes and activity in articular chondrocytes: its possible role in joint degeneration. *Lab Invest*, 2008, 88(3): 264-274.
- [28] Zhu M, Tang D, Wu Q, et al. Activation of  $\beta$ -catenin signaling in articular chondrocytes leads to osteoarthritis like phenotype in adult  $\beta$ -catenin conditional activation mice. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(1): 12-21.
- [29] Zhu M, Chen M, Zuscik M, et al. Inhibition of  $\beta$ -catenin signaling in articular chondrocytes results in articular cartilage destruction. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(7): 2053-2064.
- [30] Nakamura Y, Nawata M, Wakitani S. Expression profiles and func-

- tional analyses of Wnt-related genes in human joint disorders. Am J Pathol, 2005, 167(1):97-105.
- [31] Hwang SG, Ryu JH, Kim IC, et al. Wnt-7a causes loss of differentiated phenotype and inhibits apoptosis of articular chondrocytes via different mechanisms. J Biol Chem, 2004, 279 (25): 26597-26604.
- [32] Kim SJ, Im DS, Kim SH, et al. Beta-catenin regulates expression of cyclooxygenase-2 in articular chondrocytes. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 296(1):221-226.
- [33] Dell'accio F, De Bari C, Eltawil NM, et al. Identification of the molecular response of articular cartilage to injury, by microarray screening: Wnt-16 expression and signaling after injury and in osteoarthritis. Arthritis Rheum, 2008, 58 (5): 1410-1421.
- [34] Ryu JH, Kim SJ, Kim SH, et al. Regulation of the chondrocyte phenotype by beta-catenin. Development, 2002, 129 (23): 5541-5550.
- [35] Hwang SG, Yu SS, Lee SW, et al. Wnt-3a regulates chondrocyte differentiation via c-Jun/AP-1 pathway. FEBS Lett, 2005, 579 (21):4837-4842.
- [36] Lane NE, Nevitt MC, Lui LY, et al. Wnt signaling antagonists are potential prognostic biomarkers for the progression of radiographic hip osteoarthritis in elderly Caucasian women. Arthritis Rheum, 2007, 56(10):3319-3325.

(收稿日期:2009-12-14 本文编辑:连智华)

## · 经验交流 ·

## 石膏前后夹板外固定腕关节功能位治疗桡骨远端骨折

苏建才

(吕梁市离石区人民医院骨科, 山西 吕梁 033000)

关键词 桡骨骨折; 骨折固定术; 腕关节

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2010.04.031

**Treatment of fracture of distal radius with immobilization of anterior-posterior plaster split on wrist in function position** SU Jian-cai. Department of Orthopaedics, the People's Hospital of Lishi Area of Lüliang City, Lüliang 033000, Shanxi, China

**Key words** Radius fractures; Fracture fixation; Wrist joint

Zhongguo Gushang/China J Orthop &amp; Trauma, 2010, 23(4):323-324 www.zggszz.com

桡骨远端骨折是临床上最常见的骨折之一, 约占急诊骨折患者的 1/6<sup>[1]</sup>, 目前治疗桡骨远端骨折的方法很多, 有手法复位石膏外固定、闭合复位外固定架固定、切开复位克氏针内固定、切开复位外固定架固定及切开复位板钉内固定等。手法复位石膏外固定临床上一般采用掌曲位(Colles 骨折)、背伸位(Smith 骨折)。自 2003 年 1 月至 2009 年 4 月采用闭合手法复位桡骨远端骨折石膏前后夹板外固定腕关节功能位共 217 例, 现报告如下。

## 1 临床资料

217 例患者中, 男 156 例, 女 61 例; 年龄 7~82 岁, 平均 42 岁; 骨折均为闭合性。受伤至就诊时间: 0.5 h~1 周。受伤原因: 跌伤 158 例, 车祸伤 40 例, 高处坠落伤 15 例, 其他伤 4 例。其中 Colles 骨折 175 例, 左侧 78 例, 右侧 86 例, 双侧 11 例; Smith 骨折 37 例, 左侧 21 例, 右侧 16 例; Barton 骨折 5 例, 左侧 2 例, 右侧 3 例, 向背侧移位 3 例, 向掌侧移位 2 例。

## 2 治疗方法

采用臂丛阻滞麻醉或骨折端血肿浸润麻醉, 前臂旋后位对抗牵引矫正骨折嵌插, 持续牵引 3~5 min 后施行手法整复<sup>[2]</sup>。复位后助手继续维持牵引防止移位, 术者将准备好的石膏前后夹板把腕关节固定于腕功能位, 固定时施以手法在桡骨骨

折远端前后、桡侧加压塑形, 注意骨折远端保持腕关节掌倾角和尺偏角。固定后 1~3 d 内要注意观察患肢末端血循环及感觉情况, 每周 X 线检查及防止石膏过松过紧, 如骨折再移位, 及时矫正复位, 术后立即行手指及肘、肩关节功能锻炼。根据骨折愈合情况, 4~8 周拆除石膏, 拆除石膏后加强腕关节功能锻炼。

## 3 结果

本组 217 例患者均获得随访, 随访时间 6~20 个月, 平均 14.6 个月, 骨折在 4~8 周愈合。按功能评价标准<sup>[3]</sup>: 优 193 例, 无功能损害, 无疼痛、麻木等主观症状, 腕部无畸形, 与健侧相比, 腕关节屈伸范围及前臂旋前、旋后范围减小 <10°, 患肢握力较健侧减弱不明显; 良 19 例, 轻微功能损害, 但无主观症状, 腕部轻度畸形, 与健侧相比, 腕关节屈伸范围及前臂旋前、旋后范围减小 10°~15°, 患肢握力较健侧轻微减弱; 可 4 例, 关节功能不够理想, 有轻度疼痛、麻木等主观症状, 腕部畸形较明显, 尚不影响日常生活和工作, 与健侧相比, 腕关节屈伸范围及前臂旋前、旋后范围减小 16°~20°, 患肢握力较健侧明显减弱; 差 1 例, 关节功能差, 工作能力减弱, 日常生活受影响, 腕部畸形明显, 伴持续性疼痛、麻木等主观症状, 与健侧相比, 腕关节屈伸范围及前臂旋前、旋后范围减小在 20°以上, 患肢