

表观遗传调控与破骨细胞分化

范 帅

中山大学附属第八医院 广东 中山 518033

摘要:表观遗传是 DNA 序列没有发生改变的情况下, 基因表达发生了可遗传的变化, 在细胞的生理功能中起着重要的作用。破骨细胞是唯一具有骨吸收功能的细胞, 在调节骨代谢平衡以及骨吸收异常疾病中有重要的功能。越来越多的研究表明, 表观遗传调控参与破骨细胞分化的过程, 并且在破骨分化异常疾病中发挥着作用, 靶向表观遗传调控是骨吸收异常疾病一个潜在的治疗方向。本篇综述主要介绍了表观遗传调控在破骨细胞分化中的生理作用, 与破骨分化异常相关疾病的关系。

关键词:表观遗传; DNA 甲基化; 组蛋白修饰; 破骨分化

Epigenetic regulation and osteoclast differentiation

Shuai Fan

The Eighth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Zhongshan, Guangdong, 518033

Abstract: Epigenetics is the heritable change of gene expression without the change of DNA sequence, which plays an important role in the physiological function of cells. Osteoclasts are the only cells with the function of bone resorption, and play an important role in regulating bone metabolic balance and abnormal bone resorption diseases. More and more studies have shown that epigenetic regulation is involved in the process of osteoclast differentiation and plays a role in osteoclast differentiation disorders. Targeting epigenetic regulation is a potential therapeutic direction for bone resorption disorders. This review focuses on the physiological role of epigenetic regulation in osteoclast differentiation and the relationship between epigenetic regulation and osteoclast differentiation disorders.

Key words: Epigenetics; DNA methylation; Histone modification; Osteoclast differentiation

引言:

表观遗传是指 DNA 序列没有发生改变的情况下, 基因表达发生了可遗传的变化。表观遗传调控包括以下几种方式:

① DNA 甲基化; ② 组蛋白修饰; ③ 染色体结构、重塑; ④ RNA 修饰与 ncRNA。基因组通过 DNA 精确复制转录翻译, 保证遗传信息的稳定性和连续性, 并通过上述几种表观遗传学机制, 使基因组在内外环境下选择性的表达信息。目前的研究表明, 各种内外环境因素, 可以通过影响表观遗传修饰的方式, 调控基因的表达。并且表观遗传调控在细胞的生长、发育、分化、凋亡、衰老等过程中都发挥重要作用。异常的环境因素, 引起的表观遗传修饰异常, 导致基因的正常表达或沉默, 从而造成疾病的发生, 例如肿瘤、自身免疫病、骨质疏松等。

破骨细胞是目前已知的唯一具有骨吸收功能的细胞, 破骨细胞起源于造血干细胞中的髓系祖细胞, 在各种细胞因子的刺激下, 髓系祖细胞会逐步往单核/巨噬细胞分化, 早期没有成熟的单核/巨噬细胞称之为破骨细胞前体, 从循环系统中迁移到骨基质表面中, 进一步融合成多核的破骨细胞, 继而发生极化, 通过分泌、释放溶酶体酶发挥骨吸收、降解的作用。越来越多的研究表明, 表观遗传调控参与破骨细胞分化的过程, 并且参与到破骨分化异常疾病的病理过程中, 这也提示了表观遗传是骨吸收异常疾病一个潜在的治疗方向。本篇综述主要介绍了表观遗传调控在破骨细胞分化中的生理作用, 表观遗传调控异常与破骨分化异常相关疾病的关系。

一、DNA 甲基化

DNA 甲基化可以分为维持甲基化及从头甲基化, 分别由 DNMT1 及 DNMT3a、3b 进行催化。而 DNA 去甲基化分为主动去甲基化及被动去甲基化, 前者通过 TET、TDG、AID/APOBEC 使甲基化胞嘧啶 (5mC) 转变为羟甲基胞嘧啶 (5hmC) 再进一步转变为胞嘧啶 (5C), 后者即在 DNA 半保留复制中维持甲基化减少。DNA 甲基化可以通过阻碍转录因子结合、招募转录抑制因子改变染色质结构等多种方式抑制基因转录, 而 DNA 去甲基化则可以促进基因的转录。

(一) RANKL-RANK 轴的 DNA 甲基化

RANKL 是破骨分化中一个重要的细胞因子, 其表达具有组织、细胞特异性。研究人员比较了 RANKL 表达水平不同的两种小鼠细胞, 在低表达 RANKL 的细胞中, RANKL 基因 CpG 位点处于高甲基化状态, 尤其是启动子 TATA-box 上游的 CpG 位点^[3]。该位点的甲基化会结合 MeCP2 (a major methyl-CpG binding protein), 阻断了 TBP 与 TATA-box 的结合, 从而抑制转录。在人组织细胞中也有类似的发现, 在高表达 RANKL 的细胞 (如人类原代成骨细胞, 成骨细胞系 MG-63) 中, 其 CpG 岛

的甲基化水平低,而在低表达 RANKL 的细胞(如 HOS-TE85、HEK-293)中,其甲基化水平高。并且利用 DNA 去甲基化药物(如 AzadC,地西他滨)能诱导 RANKL 表达增加。

(二) 破骨细胞基因组的 DNA 甲基化

除了对破骨分化具有重要影响的细胞因子可以发生 DNA 甲基化修饰外,破骨分化过程中,细胞整体 DNA 甲基化水平也会发生巨大变化。研究人员利用 DNA 甲基化谱分析破骨分化前后基因组的甲基化变化情况,发现有三千多个基因发生了 DNA 甲基化改变,并从中鉴定出了 1,895 个低甲基化基因(3,597 CpG sites)和 2,054 个高甲基化基因。通过 GO 分析发现低甲基化的 CpG 主要存在于与破骨细胞分化、功能相关的基因类型中,如 actin polymerization or depolymerization 通路等,高甲基化的 CpG 主要存在于与其他细胞组织分化相关的基因类型中,如 macrophage differentiation、chondrocyte differentiation、positive regulation of erythrocyte differentiation 等通路。破骨细胞分化中 DNA 甲基化是如何发生改变?研究表明,RANKL 诱导的破骨分化过程中,DNMT3a 表达上调,并且细胞代谢增强,合成更多的 SAM, DNMT3a 协同 SAM 通过 DNA 甲基化方式抑制 IRF8 的表达,从而促进破骨形成。若敲除或者抑制 DNMT3a,能抑制破骨分化,减轻 OVX 小鼠的骨丢失。另外,PU.1 能结合到启动子区域,具有双重作用,募集 DNMT3b 至低甲基化位点,使其高甲基化;募集 TET2 至甲基化位点,使其去甲基化。

二、组蛋白修饰

组蛋白修饰组主要发生在“组蛋白尾巴”,即伸出核小体外的组蛋白 N 端氨基酸残基,主要的修饰方式包括乙酰化、甲基化、泛素化、磷酸化、类泛素化等等^[2]。组蛋白修饰有多种方式,可以发生在不同的氨基酸修饰位点,在同一位点还可以发生多次修饰,因此会有不同的组合,形成复杂的调控网络。关于组蛋白修饰对破骨分化的调控作用,目前的研究主要集中在组蛋白乙酰化及甲基化方面。

(一) 组蛋白乙酰化

乙酰化主要通过组蛋白乙酰基转移酶(HATs)与组蛋白去乙酰化酶(HDACs)协调发挥作用,组蛋白乙酰化增加与激活基因表达有关,而组蛋白低乙酰化与抑制基因表达有关。组蛋白乙酰化能促进基因的转录。目前关于乙酰化及破骨分化的研究大部分集中在 HDACs。在破骨分化中,HDAC2 是一个正调节因子,能激活 Akt, Akt 磷酸化并抑制 FoxO1 的转录活性,进而促进破骨分化。HDAC3、HDAC4、HDAC5、HDAC6、HDAC7、HDAC9、HDAC10、HDAC11 均能抑制破骨分化。HDAC6 能使微管蛋白去乙酰化,能使微管变得不稳定,影响破骨细胞伪足

小体的形成,进而影响破骨细胞的迁移,黏附及骨吸收。HDAC7 具有抑制破骨分化的作用,通过抑制 NFATC1,阻止 β -catenin 和 cyclin D1 下调,阻断破骨分化,还能通过非依赖于组蛋白修饰的途径抑制 MITF 的转录活性,抑制破骨分化。在没有 RANKL 刺激下,HDAC9 能下调 PPAR- γ 的表达,并抑制其活性,而在破骨分化中,在 RANKL 的刺激下,下游的 NF- κ B 及 PPAR γ 的激活能抑制 HDAC9 的表达,进而募集 HAT 及共刺激因子,促进下游基因的转录。

(二) 组蛋白甲基化

组蛋白甲基化发生在赖氨酸(K)或者精氨酸(R)残基上,能形成单甲基化、双甲基化或者三甲甲基化,由组蛋白甲基转移酶(KMTs、PRMTs)及去甲基化酶(HDMs、KDMs)共同作用。甲基化修饰可以发生在不同位点,也可以形成不同的修饰数量,因而存在多种组合方式,会产生不同或激活或抑制基因表达的效果^[1]。此外,组蛋白甲基转移酶及去甲基化酶的表达水平也在破骨分化过程中发生变化。H3K79 位点的甲基转移酶 DOT1L,其表达在破骨分化中上升,促进 H3K79me2 水平上调,若抑制 DOT1L 通过增强 NFATC1 核定位及 NF- κ B 活性,促进破骨分化及骨吸收,加速骨质疏松模型小鼠的骨丢失。

三、表观遗传调控与破骨分化异常疾病中的作用

表观遗传参与调控破骨分化整个过程中,若表观遗传调控出现异常,可以引起破骨细胞分化异常,进而导致疾病的发生。以骨质疏松、类风湿性关节炎及骨巨细胞瘤为例,介绍表观遗传调控异常与骨吸收异常疾病的关系。

(一) 骨质疏松

正常的骨组织处于不断的骨吸收与骨形成达到的动态平衡中,骨质疏松症就是骨吸收与骨形成失衡,破骨细胞骨吸收增强,成骨细胞的骨形成减弱,表现为骨量减少,骨密度下降,发生骨折的风险增高等。研究人员在细胞层面证明了 RANKL、OPG 基因 CpG 岛的 DNA 低甲基化水平与基因的高表达有关^[3]。然而在骨质疏松患者髌骨骨折骨组织标本中,虽然 RANKL 的表达水平增高,其 CpG 岛甲基化水平无差异。这其中的原因可能与骨组织的异质性或非甲基化机制有关。而组蛋白修饰与破骨分化异常的研究,主要停留在细胞层次以及骨质疏松动物模型上。目前还缺乏直接研究骨质疏松患者体内异常破骨分化与组蛋白修饰的相关报道。

(二) 类风湿性关节炎

类风湿性关节炎(RA)是一种以侵蚀性关节炎为主要临床表现的自身免疫病,其基本病理表现为滑膜炎、血管翳形成,并逐渐出现关节软骨和骨破坏,最终导致关节畸形和功能丧失。RA 的骨侵蚀主要由破骨细胞介导。研究人员发现,RA 滑膜成纤维细胞系及 RA 患者 PBMC

中 RANKL 启动子的一个 CpG 位点 (-21bp) 去甲基化频率明显高于正常人, 且该位点去甲基化的患者中 RANKL 表达水平明显升高, 提示该位点的 DNA 去甲基化能通过上调 RANKL 促进破骨分化, 进而导致骨破坏。此外 NK 细胞也能介导破骨形成, 导致 RA 的骨侵蚀。

(三) 骨巨细胞瘤

骨巨细胞瘤是一种局部呈侵袭性生长的原发性骨肿瘤, 原发的溶骨性骨肿瘤, 包括以下几种细胞, 破骨样多核巨细胞, 纺锤形单核基质细胞, 以及单核细胞。其中, 纺锤形基质细胞是真正意义上的肿瘤细胞, 通过分泌 RANKL, 招募血液系统中的单核细胞进入组织

间, 通过结合其细胞表面的 RANK, 促进其破骨分化, 最终融合成多核巨细胞, 发挥破骨细胞样效应, 对骨质过度重吸收, 造成溶骨性破坏。骨巨细胞瘤基质细胞中编码组蛋白变体 H3.3 的基因 H3F3A 发生点突变, 使得编码的 H3.3 的第 34 位的甘氨酸残基突变为色氨酸, 即 H3.3G34W。骨巨细胞瘤中 H3F3A 的突变可以引起 H3K36me3 水平的增加, H3K36 的甲基化与激活基因的转录表达有关, H3F3A 的突变引起的组蛋白甲基化异常, 进一步导致 RANKL 的异常表达, 或许是导致骨巨细胞瘤发病一个重要原因。

小 结:

表观遗传学近些年来研究发展迅速, 其在调控细胞的各种生理、病理过程中起着重要的作用。研究表明, 表观遗传调控参与破骨细胞分化的过程, 并且也参与到破骨分化异常疾病的病理过程中。针对表观遗传调控异常的靶点治疗是未来破骨分化异常相关疾病的一个潜在的治疗方向, 目前也发现了一些可以作为分子标记物或者表观遗传干预药物的靶点。但是还有许多表观遗传调控方式, 例如 RNA 修饰、染色质结构重塑等在破骨分化的生理过程或疾病的病理过程中的作用仍不够明确, 未来的科学研究, 需要对破骨分化中新的表观遗传方式以及新靶点进行进一步的探索。

参考文献:

- [1] Feinberg AP. The Key Role of Epigenetics in Human Disease Prevention and Mitigation. *N Engl J Med.* 2018;378(14):1323-34.
- [2] Kyoji Ikeda, Sunao Takeshita. The role of osteoclast differentiation and function in skeletal homeostasis. *J. Biochem.* 2016;159(1):1-8.
- [3] Kitazawa R, Kitazawa S. Methylation status of a single CpG locus 3 bases upstream of TATA-box of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) gene promoter modulates cell- and tissue-specific RANKL expression and osteoclastogenesis. *Mol Endocrinol.* 2007;21(1):148-58.