

The Role of Epigenetics in the Regulation of Osteoblasts and the Relationship with Osteoporosis

Zhiping Liu*, Yile Zeng*, Yixin Lan, Tianchang Lin, Xin Zhou, Rongzheng Zhou, Lijia Cheng[#]

Medical School, Chengdu University, Chengdu Sichuan

Email: [#]chenglijia@cdu.edu.cn

Received: Apr. 4th, 2019; accepted: Apr. 16th, 2019; published: Apr. 23rd, 2019

Abstract

At present, epigenetics is getting more and more attention. Epigenetics can also regulate gene expression without changing the coding sequence of DNA, and DNA methylation and histone acetylation, as important mechanisms of epigenetics, are the hot research directions of epigenetics. The balance between DNA methylation, demethylation and histone modification is the key to ensure the normal differentiation of stem cells into osteoblasts. The disruption of gene expression timing not only affects osteogenic differentiation, but also is closely related to orthopedic diseases, such as osteoporosis. In this paper, the recent advances in DNA methylation, histone acetylation and miRNA regulation of osteoblast and osteoclast differentiation and their relationship with osteoporosis were reviewed.

Keywords

DNA Methylation, Histone Modification, Osteoporosis

表观遗传对成骨细胞的调控作用及与骨质疏松的关系

刘志萍*, 曾怡乐*, 蓝艺鑫, 林天昌, 周鑫, 周正容, 程丽佳[#]

成都大学医学院, 四川 成都

Email: [#]chenglijia@cdu.edu.cn

收稿日期: 2019年4月4日; 录用日期: 2019年4月16日; 发布日期: 2019年4月23日

*共同第一作者。

[#]通讯作者。

摘要

目前表观遗传学的研究正愈加受到重视, 表观遗传不通过改变DNA的编码顺序也可以调控基因的表达, 而DNA甲基化和组蛋白乙酰化作为表观遗传学的重要机制, 更是目前表观遗传学研究的热门方向。DNA的甲基化和去甲基化, 组蛋白的修饰之间是否达到平衡更是保证干细胞向成骨细胞正常分化的关键。基因表达时序性被打破不仅会影响到成骨分化, 更与骨科类疾病, 如骨质疏松有密切的联系。本文主要综述了近年来DNA甲基化、组蛋白乙酰化和miRNA对成骨细胞分化的调控作用及其与骨质疏松关系的最新研究进展。

关键词

DNA甲基化, 组蛋白修饰, 骨质疏松

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

表观遗传是指基于非基因序列改变所致基因表达水平的变化, 主要包括 DNA 甲基化, 组蛋白修饰, 微小 RNA (microRNA, miRNA)等[1]。近年来, 研究表明表观遗传学对骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)分化为成骨细胞和破骨细胞有重要的调控作用, 其可以通过调节雌激素内分泌途径、Wnt/ β -catenin 信号通路、OPG/RANKL/RANK 系统、维生素 D 内分泌途径及其他代谢相关途径中的基因表达, 调控成骨细胞和破骨细胞的分化和活性, 从而参与骨质疏松疾病的发生发展[2] [3]。本文主要从 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码 RNA 等方面对成骨细胞和破骨细胞分化的调控作用及其与骨质疏松的关系进展进行综述, 进而揭示表观遗传学在骨修复和骨质疏松中的重要意义。综述通过对文献进行整理, 阐述了表观遗传学对成骨细胞和破骨细胞的调控关系以及对骨质疏松症的影响, 希望能够为临床治疗提供理论依据。

2. 表观遗传学对成骨细胞分化的调控

2.1. DNA 甲基化对成骨细胞分化的调控

DNA 甲基化是参与表观遗传学调控的重要机制之一, 其机制是通过 DNA 甲基化转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)将具有活性的甲基添加到胞嘧啶-鸟嘌呤(CpG)双核苷酸中胞嘧啶的 C5 位点上, 影响基因的表达活性, 从而对基因的表达起到一定的调控作用[4]。DNA 启动子的甲基化与去甲基化均可以调控相应基因靶点的表达, 进而调控 MSCs 向成骨细胞分化。自从首次报道基因组细胞上存在甲基群以来, 解密 DNA 甲基化的功能已成为研究热点, 主要集中在启动子、CPG 岛上[5]。但关于 DNA 甲基化在增强子中的作用仍然存在一些悬而未决的问题。胡晓青等[6]研究发现, 在 MSCs 向成骨细胞分化的过程中, DNA 甲基化, 组蛋白修饰都会发生显著地动态变化, Runx-2 启动子区域; 转录激活相关的组蛋白乙酰化 H3K9 和三甲甲基化 H3K4 表达上调, 而与转录抑制相关的三甲甲基化 H3K9 降低, 这表明 MSCs 成骨分化过程中 Runx-2 的表达与其基因启动子区域的遗传修饰紧密相关[7]。Jesus 等[8]在骨硬化蛋白

(Sclerosteosis, Sost)中发现了两个富含 CPG 的区域: 1 区域位于近端启动子, 2 区域位于外显子 1 周围, 他们的甲基化特异性检测(qMSP)和 DNA 甲基化的焦磷酸测序分析实验的结果表明, 在所有样本中, 2 区域均大量甲基化, 相比于 1 区域有明显差异, 而在成骨细胞中富含 CPG 的区域 1 呈高甲基化, 但是这个区域在显微解剖的人类骨细胞中主要表现为低甲基化。这项研究有力的表明, DNA 甲基化参与了成骨细胞至骨细胞转化过程中 SOST 表达(SOST 基因编码的硬化蛋白, 由骨细胞产生, 是一种强有力的骨形成抑制剂)的调控, 从而调控骨的形成。同时发现, 对于成骨细胞和破骨细胞分化以及成骨细胞向骨细胞转化的关键基因数量受到 DNA 甲基化的影响[9] [10] [11]。

2.2. 组蛋白修饰对成骨细胞分化的调控

“组蛋白密码”学说[12]认为, 通过对组蛋白尾巴(八聚体组蛋白亚基的游离氨基端)上的许多残基进行修饰(修饰的方式有甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化、SUMO 化、ADP-核糖基化、生物素化、脯氨酸异构化等)可形成不同的信号因子, 当被其他的蛋白质识别并产生蛋白质活动时即能影响基因的表达。染色质是一种智能构建模块, 可通过结构变化表达外部或内部需求。迄今为止, 有三种改变染色质结构和调节基因表达的方法已被充分证明: 组蛋白修饰, 组蛋白交换和 ATP 依赖性染色质重塑, 越来越多的文献表明, 组蛋白尾部切割与各种细胞过程有关, 包括干细胞分化, 破骨细胞分化, 粒细胞分化, 乳腺分化, 病毒感染, 衰老和酵母孢子形成[13]。从染色质结构来看, 组蛋白裂解如何影响基因表达的潜在机制才刚刚开始研究, 这个过程是一个涉及染色质动力学的新型转录表观遗传机制。成骨细胞-祖细胞向成熟成骨细胞的分化过程里, 其中一个为通过成骨细胞特异性基因转录起始位点组蛋白 3 赖氨酸 27 (H3K27)的 n 端修饰(乙酰-ac 或甲基-me)重构核糖体组织, 其研究发现成骨细胞启动子在分化过程中经历了从压抑状态(H3K27me3)到活跃状态(H3K27ac)的动态变化, 通过 EZH2 的 Polycomb 压制复合体(PRC2)和通过 BAF44A(3)的 Brg1 关联复合体(Brg1 Associated complex, BAF)共同协调该过程, 其中 PRC2 复合物主要负责 H3K27me3 的沉积, 而 BAF 通过染色质重塑与 H3K27ac 的修饰相关, 平衡这些相反的修饰配合物, 以助于骨骼的形成[5]。组蛋白修饰过程中特异性组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)起重要的作用, 其常与几种骨相关转录调控因子组成复合体, 在微环境中调控成骨细胞相关基因表达, 包括 Runx-2、NFATc1、Zfp521 和 Pbx1 [14]。Runx-2 转录蛋白与 DNA 链直接结合, 调控 DNA 链中骨钙素(Osteocalcin, OCN)、I 型胶原(Collagen type I, Coll), 骨涎蛋白(Bone sialoprotein, BSP)和碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)等目的基因的成骨表达[15], 在成骨发育中具有不可替代的作用。Runx2 转录蛋白与 DNA 链直接结合, 调控 DNA 链中碱性磷酸酶、I 型胶原、骨钙素等目的基因的成骨表达。组氨酸去乙酰化酶 6 结合于 Runx2 蛋白的羧基端, 构成 HDAAC6/Runx2 转录复合体, 调控 Runx2 蛋白的促成骨活性。

2.3. miRNA 对成骨细胞分化的调控

miRNA 是一类小 RNA 分子, 可以在转录后水平降低靶基因的表达[16]。它可以通过与靶基因的 3' 非翻译区(3'-UTR)结合来调节转录后基因的表达, 从而导致 mRNA 降解和转录抑制[17]。miRNA 对细胞发育, 细胞分化, 细胞增殖, 细胞周期调控和代谢等大部分生物过程中的调控发挥着关键作用[18]。Li 等[19]发现了一种 miRNA-2861, 其可通过抑制 HDAC5 的表达来促进成骨细胞的分化。在骨形成蛋白 2 (Bone morphogenetic protein2, BMP2)诱导骨形成的过程中, miR-2861 过表达增强了 BMP2 诱导的骨形成作用, 抑制 miR-2861 的表达, 骨形成作用则相对减弱。miRNA 可影响其他增强或抑制 Runx-2 表达水平的基因的表达, 也可以通过直接靶向其基因与 Runx-2 相互作用。miR-133 靶向 Runx-2, mRNA, 从而抑制 BMP-2 诱导的小鼠 C2C12 细胞的成骨细胞分化。

3. 表观遗传学对骨质疏松的影响

3.1. DNA 甲基化对骨质疏松的影响

MSCs 成骨分化的 DNA 甲基化修饰机制出现障碍, 不仅会影响细胞的正常分化, 并且与多种骨骼疾病的发生, 包括骨质疏松和骨关节炎等密切相关[20]。Datta 等[21]在破骨细胞功能所必需的大多数基因中观察到低甲基化, 其中包括抗酒石酸抗性酸性磷酸酶(Tartrate resistant acid phosphatase, TRACP), 组织蛋白酶 K (Cathepsin K, CTSK)和树突状细胞表达七种跨膜蛋白(TM7SF4, DCSTAMP 等)。这些基因都伴随着低甲基化的表达而增加。此外, 经历 DNA 甲基化变化的区域富集了转录因子激活蛋白 1 (Transcription factors activate proteins1, AP-1), 核因子 B (Factor-kappa B, NF-kB)和 PU.1mRNA 的结合基序, 其均是破骨细胞生成中的关键转录因子。PU.1 在破骨细胞分化过程中驱动 DNA 甲基化具有重要作用。杨士珍等[22]利用 DNA 甲基化芯片技术检测了髌部骨关节炎和髌部骨质疏松骨折患者的骨样本, 探讨全基因的 DNA 甲基化模式在两种疾病中的差异, 其结果显示共有 241 个 CPG 位点的甲基化状态出现明显的差异。这些研究表明, DNA 甲基化修饰的表观遗传学机制出现异常不仅会影响到干细胞成骨分化功能, 而且与骨质疏松症的发生发展有密不可分的关系。

3.2. 组蛋白修饰与骨质疏松症的关系

参与组蛋白修饰的酶主要有组蛋白乙酰转移酶(histone acetyl transferase, HAT)、组蛋白激酶(histone kinase)和组蛋白泛素化酶(histone ubiquitylase)等。其中组蛋白去甲基化酶 Jmjd3 和 KDM4B 被证实与骨质疏松症有密切的联系。Jmid 通过与 miR-146a 的共同作用可以调控激活性 T 细胞细胞核因子(NFATc1)的活性, 而 NFATc1 活化及转移受 RANKL 和其相应的受体结合的诱导, 并通过诱导多种目的基因的表达来促进破骨细胞的分化; 由活化的 T 细胞分泌的 RANKL 通过与其受体 RANK 结合而起破骨细胞活化因子的作用, RANK 在前促细胞上表达。RANKL-RANK 结合诱导前促细胞中几种转录因子的活化, 并启动驱动破骨细胞分化和成熟的几种下游信号传导途径。由成骨细胞, 骨髓基质细胞和 Treg 细胞分泌的 OPG 充当可与 RANKL 结合并随后阻止 RANKL-RANK 结合的可溶性受体。在生理条件下, OPG/RANKL 处于平衡状态并保持骨骼稳态。在骨质疏松症条件下, RANKL 上调, 这与 OPG 的下调有关(图 1) [23]。同时 Zhang [24]等证实 RANKL 直接受 miR-338-3p 调控, RANKL 的重新引入可以逆转 miR-338-3p 对破骨细胞形成和骨吸收的抑制作用。而 KDM4B 受到人重组骨形成蛋白(BMP)信号系统调控, 并可以通过调节 DLX 基因簇从而促进 MSCs 成骨分化, 提示我们 KDM4B 与骨质疏松症相关。

3.3. miRNA 与骨质疏松症的关系

miRNA 能控制成骨细胞介导的骨形成和破骨细胞相关的骨重建[25] [26] [27]。miRNA 介导机制的失调逐渐成为骨变性和其他骨相关疾病中的重要病理因素, 一项临床相关研究显示[16], 编码 miR-2861 的基因组中的纯合突变导致两名青少年患者出现罕见的家族性骨质疏松症。在其细胞培养模型中, BMP2 在小鼠成骨细胞中诱导 miR-2861 的表达, 这种 miR-2861 的表达增强抑制了表观遗传调节因子 HDAC5 的表达。该酶从组蛋白和其他调节蛋白(例如 Runx2)中的赖氨酸残基去除乙酰基, 抑制成骨细胞分化, 并且在骨活组织检查中发现 miR-2816 表达缺失与 HDAC5 水平升高和 RUNX2 水平降低相关。并且 miR-155、miR-211 和 miR-214 [28]和一些可下调破骨细胞分化抑制性基因的表达可以促进破骨细胞的分化。miRNA-125b 与 SP7 转录因子参与调节成骨细胞的分化, 因此, miRNA 的功能障碍可以破坏骨骼重塑, 并通过减弱成骨细胞的骨合成代谢功能而导致骨质疏松症。Xaver F 等人调查了 36 名患者的 μ CT (9.3 μ m) 扫描的特发性骨质疏松症中的 19 种 miRNA 生物标志物与骨微观结构的血清水平和骨组织形态学之间的

关联。发现4种 miRNA 与骨微结构相关,7种 miRNA 与动态组织形态学相关。三种 miRNA,即 miR-29b-3p, miR-324-3p, 和 miR-550a-3p 显示与骨形成的组织形态学参数以及微观结构参数显著相关, miR-29b-3p 和 miR-324-p 在接受治疗的患者中减少[29]。这是首次报道骨相关 miRNA 的血清水平,可能揭示骨微结构的变化。尽管这些发现增强了循环 miRNA 作为骨生物标志物的潜在价值,但还需要进一步的实验研究来鉴定 miRNA 的临床效用以反映骨形成和微结构的动态变化。

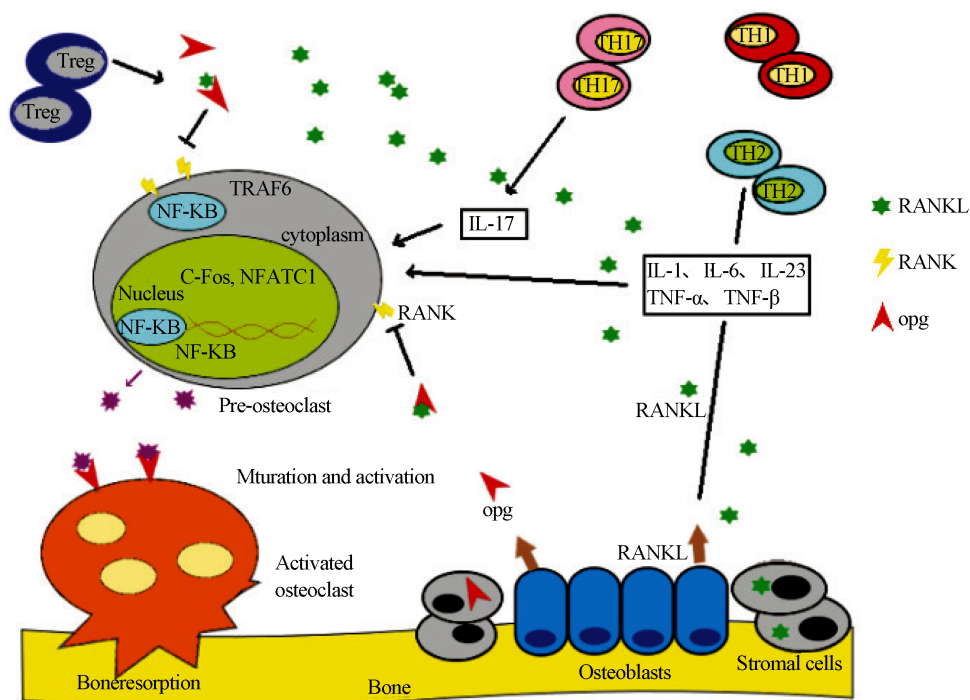


Figure 1. Adjusting the steady-state sketch of bone by OPG/RANK/RANKL system
图 1. 通过 OPG/RANK/RANKL 系统调节骨稳态示意图

4. 小结与展望

甲基化的 DNA、组蛋白乙酰化、miRNA 等可以调控成骨细胞和破骨细胞的分化。同时,人体骨组织中的 DNA 甲基化水平和相关蛋白的表达反映了表观遗传学在骨质疏松中的作用。表观遗传调控与骨稳态密切相关,基于表观遗传的疗法已经显示出治疗骨质疏松症的潜力,表观遗传学在骨科中的应用越来越具有前景,相信在将来,我们可以通过对表观遗传学的研究,在骨科类疾病的治疗中探索出新的治疗方向与方法。

致 谢

本文由四川省科技厅项目(2018JY0348),国家自然科学基金项目(51402027),国家级大学生创新创业训练计划项目(201811079019)和成都大学大学生创新创业训练计划项目(CDU_CX_2019392, CDU_CX_2019393, CDU_CX_2019394, CDU_CX_2019395, CDU_CX_2019396)资助。

参考文献

- [1] 董锁花, 王芳, 包金凤. DNA 甲基化对细胞周期的调控[J]. 中国细胞生物学学报, 2018, 40(12): 2083-2089.
- [2] 张蓓蓓, 商玮, 蔡辉. 骨质疏松的表观遗传学调控[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2017, 5(10): 33.

- [3] Kyung, H. and Park, M. (2017) Epigenetic Regulation of Bone Cells. *Connective Tissue Research*, **58**, 76-89. <https://doi.org/10.1080/03008207.2016.1177037>
- [4] Tanner, C.G., Benjamin, J. and Wildman, A.J. (2018) Epigenetic Remodeling and Modification to Preserve Skeletogenesis *In Vivo*. *Connective Tissue Research*, **59**, 52-54. <https://doi.org/10.1080/03008207.2017.1408599>
- [5] Sharifi, Z., Daniela, G., Kenjiro, A., *et al.* (2017) DNA Methylation Regulates Discrimination of Enhancers from Promoters through a H3K4me1-H3K4me3 Seesaw Mechanism. *BMC Genomics*, **18**, 964. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4353-7>
- [6] 胡晓青, 张辛, 代岭辉, 朱敬先, 陈文庆, 傅欣, 敖英芳. 骨髓间充质干细胞成骨分化过程中 Runx2 的表观遗传学修饰[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2014, 30(2): 150-155. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1387330>
- [7] Zhang, R.P., Shao, J.Z. and Xiang, L.X. (2011) GADD45A Protein Plays an Essential Role in Active DNA Demethylation during Terminal Osteogenic Differentiation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 41083-41094. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.258715>
- [8] Jesus, D. and Carolina, S. (2011) DNA Methylation Contributes to the Regulation of Sclerostin Expression in Human Osteocytes. *Journal of Bone and Mineral Research*, **27**, 926-937. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1491>
- [9] Arnsdorf, E.J., Tummala, P., Castillo, A.B., *et al.* (2010) The Epigenetic Mechanism of Mechanically Induced Osteogenic Differentiation. *Journal of Biomechanics*, **43**, 2881-2886. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2010.07.033>
- [10] Hupkes, M., Someren, E.P., Middelkamp, S.H., *et al.* (2011) DNA Methylation Restricts Spontaneous Multi-Lineage Differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1813**, 839-849. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.01.022>
- [11] Lee, J.Y., Lee, Y.M., Kim, M.J., Choi, J.Y., *et al.* (2006) Methylation of the Mouse Dlx5 and Osx Gene Promoters Regulation Cell Type-Specific Gene Expression. *Molecular Cell*, **22**, 182-188.
- [12] 王维, 孟智启, 石放雄. 组蛋白修饰及其生物学效应[J]. 遗传, 2012, 34(7): 810-818. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1005.2012.00810>
- [13] Sun, J.Y. and Kyunghwan, K. (2018) Histone Tail Cleavage as a Novel Epigenetic Regulatory Mechanism for Gene Expression. *BMB Reports*, **5**, 211-218. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2018.51.5.053>
- [14] Hesse, E., Saito, H., Kiviranta, R., *et al.* (2010) Zfp521 Controls Bone Mass by HDAC3-Dependent Attenuation of Runx2 Activity. *The Journal of Cell Biology*, **191**, 1271-1283. <https://doi.org/10.1083/jcb.201009107>
- [15] Fang, S., Deng, Y., Gu, P. and Fan, X. (2015) MicroRNAs Regulate Bone Development and Regeneration. *International Journal of molecular Sciences*, **16**, 8227-8253. <https://doi.org/10.3390/ijms16048227>
- [16] Pepin, G. and Gantier, M.P. (2016) MicroRNA Decay: Refining microRNA Regulatory Activity. *MicroRNA*, **5**, 167-174. <https://doi.org/10.2174/2211536605666161027165915>
- [17] Liu, X., Fortin, K. and Mourelatos, Z. (2008) MicroRNAs: Biogenesis and Molecular Functions. *Brain Pathology*, **18**, 113-121. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2007.00121.x>
- [18] Aguilera, O., Fernandez, A.F., Munoz, A. and Fraga, M.F. (2010) Epigenetics and Environment: A Complex Relationship. *Journal of Applied Physiology*, **109**, 243-251. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00068.2010>
- [19] Li, H., Xie, H., Liu, W., *et al.* (2009) A Novel microRNA Targeting HDAC5 Regulates Osteoblast Differentiation in Mice and Contributes to Primary Osteoporosis in Humans. *Journal of Clinical Investigation*, **119**, 3666-3677. <https://doi.org/10.1172/JCI39832>
- [20] Delgado-Calle, J. and Riancho, J.A. (2012) The Role of DNA Methylation in Common Skeletal Disorders. *Biology (Basel)*, **1**, 698-713. <https://doi.org/10.3390/biology1030698>
- [21] Harish, D. and Kaare, M. (2015) The Influence of DNA Methylation on Bone Cells. *Journal of Clinical Investigation*, **6**, 384-392. <https://doi.org/10.2174/1389202916666150817202913>
- [22] 杨士珍, 黄永震, 贺花, 雷初朝, 陈宏. 动物 DNA 甲基化的研究现状与应用前景[J]. 中国牛业科学, 2016, 42(5): 51-54.
- [23] Zhang, X.H., Geng, G.L., Su, B., *et al.* (2016) MicroRNA-338-3p Inhibits Glucocorticoid-Induced Osteoclast Formation through RANKL Targeting. *Genetics and Molecular Research*, **15**, gmr.15037674. <https://doi.org/10.4238/gmr.15037674>
- [24] Nugent, M. (2017) MicroDNAs and Fracture Healing. *Calcified Tissue International*, **10**, 355-361. <https://doi.org/10.1007/s00223-017-0296-x>
- [25] Taipaleenmaki, H. (2018) Regulation of Bone Metabolism by microRNAs. *Current Osteoporosis Reports*, **16**, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11914-018-0417-0>
- [26] Valenti, M.T., Dalle, C.L. and Mottes, M. (2018) Role of microRNAs in Progenitor Cell Commitment and Osteogenic Differentiation in Health and Disease. *Molecular Medicine Reports*, **1**, 2441-2449. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3452>

-
- [27] 姚睿, 范志朋. 组蛋白去甲基化酶 KDM4B 促进根尖牙乳头干细胞中成骨和成牙本质分化[J]. 北京口腔医学, 2013, 21(4): 181-184.
- [28] Seeliger, C., Karpinski, K., Haug, A.T., *et al.* (2014) Five Freely Circulating miRNAs and Bone Tissue miRNAs Are Associated with Osteoporotic Fractures. *Journal of Bone and Mineral Research*, **29**, 1718-1728. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2175>
- [29] Xaver, F., Christian, M. and Patrick, H. (2018) Bone-Related Circulating MicroRNAs miR-29b-3p, miR550a-3p, and miR-324-3p and Their Association to Bone Microstructure and Histomorphometry. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 4867. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22844-2>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8976, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: hjbm@hanspub.org