

文章编号:1004-7220(2017)01-0098-05

# 信号转导和转录活化因子3在骨髓基质 干细胞成骨向分化中的作用

周巳入, 张鹏, 江凌勇

(上海交通大学医学院附属第九人民医院 口腔医学院, 口腔颅颌面科, 上海市口腔医学重点实验室, 上海 200011)

**摘要:** 正畸牙移动是压力侧骨吸收和张力侧骨形成动态平衡的骨改建过程。在机械力诱导下成骨细胞、破骨细胞等发生相应的功能的变化。具有多向分化潜能的骨髓基质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)为力学敏感细胞,在体外适当机械刺激下,其生物学特性发生功能性变化,适应性应答力学刺激的最佳要求,表现为成骨分化,此过程需多种信号分子。作为一种转录因子,信号转导和转录活化因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)可参与细胞增殖、分化、存活、凋亡、转化、细胞免疫等重要的生理病理过程。现已有研究证明,STAT3可以调控BMSCs骨向分化过程。综述STAT3对BMSCs骨向分化的影响及可能作用机制的最新研究进展。

**关键词:** 骨髓基质干细胞; 信号转导和转录活化因子3; 成骨分化

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2017.01.017

## The roles of STAT3 in osteogenesis of bone mesenchymal stem cells

ZHOU Si-ru, ZHANG Peng, JIANG Ling-yong(Shanghai Key Laboratory of Stomatology, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Ninth People's Hospital, College of Stomatology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 20011, China)

**Abstract:** Orthodontic tooth movement is a dynamic process, which includes bone resorption on the pressure side and osteogenesis on the tension side. Bone mesenchymal stem cells (BMSCs), which are force-sensitive cells, have potentials for differentiation into cells with various types. Their biological characteristics can change functionally according to the appropriate stimulation *in vitro*, in order to reach the optimal demand of the stimulation. Many signal pathways are involved in osteogenesis. Signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3) is a ubiquitously expressed transcription factor, mediating cell proliferation, differentiation, survival, apoptosis and cellular immunity. It has been reported that STAT3 can regulate the differentiation process of BMSCs into osteoblasts. This paper summarizes the recent progress about effect of STAT3 on bone differentiation of BMSCs and the possible mechanism.

**Key words:** Bone mesenchymal stem cells (BMSCs); Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3); Osteogenesis

骨髓基质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)是存在于骨髓中的非造血干细胞,具有多向分化潜能,在体外适当的条件下,可分化为成骨细

胞、成纤维细胞、成软骨细胞、脂肪细胞等<sup>[1]</sup>。正畸治疗的生物学基础在于机械刺激对骨组织形成和改建的调控作用,适宜的机械刺激作用下,BMSCs会

收稿日期:2015-12-30; 修回日期:2016-06-27

基金项目:国家自然科学基金项目(81570950,81371121,30901698),上海市自然科学基金项目(13ZR1423700),上海交通大学 SMC-晨星青年学者奖励计划优秀青年教师(B类计划),上海市教委创新团队,上海高校高峰高原学科建设项目。

通信作者:江凌勇,副教授,E-mail: jly117@ sina.com。

表现出成骨向分化。颌骨与牙槽骨的改建包括增生与吸收两个过程。张力侧,成骨细胞功能活跃,有新骨沉积;压力侧,固有牙槽骨吸收。信号转导与转录激活子(signal transducers and activators of transcription, STATs)是介导细胞信号转导的转录因子家族,具有传递胞质信号和启动核内基因转录的双重功能。其中,STAT3在细胞增殖、分化、凋亡等多种过程中发挥着重要的作用。研究表明,STAT3与BMSCs成骨向分化相关。本文综述STAT3在BMSCs成骨向分化中作用的研究,以期在正畸治疗方面提供新思路。

## 1 STAT3 概述

### 1.1 STAT3 的结构

STAT3在人类定位于第12号染色体(q13至q14-1)。STAT3结构<sup>[2]</sup>主要包括7个部分:①SH2区,主要促进STAT3与活化的受体形成复合物,介导JAK-STAT间相互作用,使STAT3形成二聚体,移至细胞核,识别并结合DNA,导致特定靶基因的开启;②SH3区,保守性较差,功能不明确;③C端第705位的酪氨酸磷酸化位点(Y705),该位点的磷酸化可致STAT3活化;④第727位丝氨酸磷酸化位点(S727),可被有丝分裂原激活的蛋白激酶所磷酸化,激活STAT3,使STAT途径和RAS途径发生联系;⑤DNA结合区;⑥转录激活区,为转录因子和调节蛋白提供作用位点;⑦保守的氨基酸序列,与STAT3二聚体的形成以及细胞因子受体间的结合等有关。

### 1.2 STAT3 的调控

在正常组织中,STAT3的活化是受正性调节因子和负性调节因子共同调节的。目前已发现可激活STAT3蛋白的因子<sup>[3]</sup>包括——①细胞因子:IL-11、IL-6、瘦素等;②表皮生长因子、血小板源生长因子;③非受体酪氨酸激酶:Tel-Jak、v-Ab1等;④G蛋白:促甲状腺激素等。

STAT3可通过多种途径激活,JAK-STAT信号通路<sup>[4]</sup>是STAT3众多信号通路中最直接和研究较深入的通路。其活化过程为:①配体与受体结合导致受体二聚化(受体细胞内构型发生改变,和gp130相结合);②二聚体化受体激活JAK;③JAK将STAT磷酸化;④STAT形成二聚体,暴露出入核信号;

⑤STAT进入核内,调节基因表达,其中C端705位酪氨酸磷酸化是STAT3活化的标志。

活化的STAT3可通过以下3个途径进行负调控<sup>[5]</sup>:①STATs酶的活化是可逆的,酪氨酸磷酸酶SHP1和SHP2拥有SH2结构域,并主要定位在细胞质中,与STAT3的SH2受体酪氨酸残基结合,相互作用破坏JAK-STAT途径;②活化的STATs蛋白抑制子PIAS可直接干扰或通过招募核内共抑制分子,干扰STAT3与DNA结合,使之不能结合;③细胞信号转导抑制分子(suppressor of cytokine signaling, SOCS)。

### 1.3 STAT3 的功能

STAT3广泛存在于不同类型的细胞和组织中,与细胞生长、分化、增殖、凋亡等生理功能调控有关。生理状态下:①STAT3调节心肌细胞<sup>[6]</sup>的细胞凋亡、细胞增殖,局部缺血和再灌注后的免疫反应;②STAT3同时还调节着MSCs的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的产生<sup>[7]</sup>,而VEGF有利于减轻心肌局部缺血和再灌注后的损害;③介导肝细胞的急性期损伤修复<sup>[8]</sup>;④保持外周神经细胞存活<sup>[9]</sup>;⑤参与上皮组织中胸腺细胞的发育<sup>[10]</sup>等。

病理状态下,STAT3是潜在的致癌基因<sup>[11]</sup>。STAT3持续激活,诱导相关基因异常表达,从而通过各种途径促进细胞增殖、转化,阻碍细胞凋亡。STAT3及其磷酸化形式在多种恶性肿瘤,如乳腺癌、卵巢癌、白血病、肺癌、多发性骨髓瘤中均有高表达,并且STAT3突变能加快肿瘤生长、分化和转移的进程<sup>[12]</sup>。

## 2 STAT3 在成骨分化中的作用

### 2.1 STAT3 与成骨分化的研究进展

STAT3是一种转录因子,在成骨细胞、破骨细胞及骨细胞中都有表达。人类STAT3突变会引起一种罕见的免疫缺陷疾病—高免疫球蛋白E综合征<sup>[13-14]</sup>,表现为血清中高水平IgE、颅颌面畸形、骨密度下降、复发性病理性骨折、脊柱侧突及过度伸长的关节。Itoh等<sup>[15]</sup>发现,突变gp130特异性加强IL-6调节的STAT3表达,小鼠表现为骨硬化。在成骨细胞特异性敲除STAT3,小鼠表现为骨质疏松。

Kenta等<sup>[16]</sup>发现,白血病抑制因子(leukemia in-

hibitory factor, LIF)通过 LIF/ STAT3/ SOCSs 通路抑制 BMSCs 成骨向分化。实验已证明 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在 BMSCs 成骨向分化中起重要作用,而 LIF 可诱导 SCOS3 与  $\beta$ -catenin 相联系,并降低其含量,从而抑制 BMSCs 成骨向分化作用。

Oren 等<sup>[17]</sup>发现,抑制 STAT3 信号通路可有效的促进 BMSCs 成骨向分化。BMP2 和 BMP4 可激活 JAK-STAT 信号通路。实验证明,STAT3 抑制剂 AG490 和 STAT3siRNA 有效抑制 MSCs 中 BMP 对 STAT3 信号通路的作用,碱性磷酸酶活性增加,骨钙素水平增加,磷酸钙沉积物增加,BMSCs 骨向分化增加。因此,JAK-STAT 信号通路在 BMSCs 骨向分化中可能起到负调控的作用。

BMSCs 成骨向分化的过程中还涉及成骨细胞和破骨细胞之间相互作用。STAT3 不仅在成骨细胞中发挥作用,而且也影响着成骨细胞和破骨细胞间的相互作用。STAT3 的蛋白抑制剂 PIAS3<sup>[18]</sup>可以抑制 STAT3 结合 DNA 的能力。在小鼠成骨前体细胞过表达 PIAS3,可以下调 IL-6 诱导的 RANKL 的表达,且抑制巨噬细胞向破骨分化。构建在破骨细胞特异性表达 PIAS3 的转基因小鼠,结果发现,PIAS3 小鼠破骨细胞分化能力减弱,表现为骨硬化。

Zhang 等<sup>[19]</sup>发现,缺乏 STAT3 基因的小鼠 TRAP 阳性细胞远多于野生型,且转基因小鼠的骨髓巨噬细胞在 RANKL 诱导下,更易向破骨细胞分化。STAT3 通过抑制 E2 泛素结合酶—Ubc 13 的表达,限制了 RANK 引导的信号通路。

Park 等<sup>[20]</sup>发现,脂多糖通过一系列反应,产生活性氧并诱导破骨细胞形成,运用 JNK 抑制剂,可减轻脂多糖的诱导作用。敲除小鼠 STAT3 基因或运用 STAT3 抑制剂,可显著降低 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 NO 的含量,且减弱脂多糖诱导破骨细胞形成的作用。

## 2.2 参与机械刺激成骨分化的可能机制

体内外力学刺激可调节 BMSCs 的成骨分化及骨形成,而力学刺激的强度、频率及持续时间、形式等<sup>[21]</sup>均能影响 BMSCs 的成骨向分化。Guo 等<sup>[22-23]</sup>发现,机械力刺激可以促进 BMSCs 成骨向分化。力学刺激后成骨细胞和 BMSCs 内 ALP 和 I 型-胶原蛋白的 mRNA 和蛋白水平皆上升,细胞外钙沉积量增加。

Bjoern 等<sup>[24]</sup>实验发现,过大的作用力可能会阻

碍骨形成。van Griensven 等<sup>[25]</sup>体外对人 BMSCs 分别施加短时间(15 或 60 min)和持续时间(8 h/次  $\times$  3 次)的循环纵向拉应力(频率 1Hz,振幅 5%),观察细胞的增殖率和骨向分化情况,结果显示,持续应力作用较短暂应力更能作为一种有效的诱导分化刺激,促进 BMSCs 适应功能性机械环境并向成骨细胞转化。

多种信号通路参与机械力刺激 BMSCs 成骨向分化的过程。机械力刺激后,细胞内钙离子水平瞬间上升<sup>[26]</sup>;有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路家族相关成员细胞外调节蛋白(extracellular -regulated kinase 1/2, ERK1/2)磷酸化水平上升,成骨增加<sup>[27-28]</sup>;力学刺激下 Wnt 信号通路<sup>[29]</sup>中  $\beta$ -连环蛋白转移至核内,促进成骨;YAP/TAZ 信号通路以及 ROCK 信号通路<sup>[30]</sup>也参与了力学调控 BMSCs 成骨向分化及骨形成。转录因子 Runx2 作为多种信号通路的下游<sup>[31]</sup>,参与了力学刺激促进 BMSCs 骨向分化的信号传导,力学信号通过多条通路使 Runx2 磷酸化,实现对成骨细胞分化的调控<sup>[32]</sup>。

近期研究发现,离子通道和表观修饰也参与了机械力诱导骨向分化的过程。Xiao 等<sup>[33]</sup>发现,瞬时感受器点位 M7 型离子通道(TRPM7)在 BMSCs 力传导中起关键作用。敲除 TRPM7 基因可以完全抑制张力诱导的  $Ca^{2+}$  增加和骨生成的作用。Wang 等<sup>[34]</sup>发现,组蛋白去乙酰化酶(HDACs)在力学刺激诱导骨形成和 BMSCs 成骨分化中起重要作用。

机械力刺激可促进新骨形成,在矿物质形成的早期,STAT3 基因表达上升。Mantila 等<sup>[35]</sup>给兔的右前肢施力(每天作用 3 min),左前肢作为不加力对照组;结果发现,加力 4 d 后 Col1 表达上升,活跃有成骨细胞出现,同时 STAT3 的表达量上升,而在矿物质沉积时期 STAT3 表达量变化不显著。

Zhou 等<sup>[36]</sup>通过 collagen-1 启动子在成骨细胞、骨细胞特异性敲除 STAT3,发现转基因小鼠股骨远端的矿物质沉积速率、骨形成速率和矿化表面积均低于野生型小鼠。加力状态下,转基因小鼠新骨形成障碍,线粒体活性受到抑制,成骨细胞内呈现高水平活性氧。

综上所述,STAT3 与 BMSCs 成骨向分化有关。适当的力学刺激可促进 BMSCs 成骨向分化,且多条

信号通路参与其中。但有关力学刺激下 STAT3 对 BMSCs 成骨向分化作用的研究很少,有待进一步研究。

### 3 总结

正畸矫治错牙合畸形的手段主要是通过通过对牙齿及颌骨施加一定的力,引起牙周组织与颌骨的组织改建和重建,主要表现为破骨与成骨细胞动态平衡。现研究已证明,力学刺激在 BMSCs 的增殖与分化中起重要作用,而 STAT3 可参与调控 BMSCs 骨向分化。通过对 STAT3 进行深入研究,寻找促进 BMSCs 骨向分化的有利条件,将为加速正畸局部骨改建、缩短矫治时间、获得更好的临床疗效提供一定的依据。

### 参考文献:

- [1] JIANG Y, JAHAGIRDAR BN, REINHARDT RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow [J]. *Nature*, 2002, 418 (6893): 41-49.
- [2] YUEN JW, POON LS, CHAN AS, et al. Activation of STAT3 by specific Galpha subunits and multiple Gbetagamma dimers [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42 (6): 1052-1059.
- [3] 王竞, 姜斌. STAT3 与恶性肿瘤耐药的研究进展 [J]. *医学综述*, 2012, 18 (12): 1845-1847.
- [4] DOURLAT J, LIU WQ, SANCIER F, et al. A novel non-phosphorylated potential antitumoral peptide inhibits STAT3 biological activity [J]. *Biochimie*, 2009, 91(8): 996-1002.
- [5] ALSHAMSAN A, HAMDY S, SAMUEL J, et al. The induction of tumor apoptosis in B16 melanoma following STAT3 siRNA delivery with a lipid-substituted polyethylenimine [J]. *Biomaterials*, 2010, 31 (6): 1420-1428.
- [6] CAI B, LI J, WANG J, et al. microRNA-124 regulates cardiomyocyte differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells via targeting STAT3 signaling [J]. *Stem cells*, 2012, 30 (8): 1746-1755.
- [7] WANG M, ZHANG W, CRISOSTOMO P, et al. STAT3 mediates bone marrow mesenchymal stem cell VEGF production [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42 (6): 1009-1015.
- [8] HE G, KARIN M. NF- $\kappa$ B and STAT3-key players in liver inflammation and cancer [J]. *Cell Res*, 2011, 21 (1): 159-168.
- [9] DOMINGUEZ E, MAUBORGNE A, MALLET J, et al. SOCS3-mediated blockade of JAK/STAT3 signaling pathway reveals its major contribution to spinal cord neuroinflammation and mechanical allodynia after peripheral nerve injury [J]. *J Neurosci*, 2010, 30 (16): 5754-5766.
- [10] SANO S, TAKAHAMA Y, SUGAWARA T, et al. STAT3 in thymic epithelial cells is essential for postnatal maintenance of thymic architecture and thymocyte survival [J]. *Immunity*, 2001, 15 (2): 261-273.
- [11] RESEMANN HK, WATSON CJ, LLOYD-LEWIS B. The Stat3 paradox: A killer and an oncogene [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 382 (1): 603-611.
- [12] CALDERA V, MELLAI M, ANNOVAZZI L, et al. Stat3 expression and its correlation with proliferation and apoptosis/autophagy in gliomas [J]. *J Oncol*, 2008, 2008: 219241.
- [13] MINEGISHI Y, SAITO M, TSUCHIYA S, et al. Dominant-negative mutations in the DNA-binding domain of STAT3 cause hyper-IgE syndrome [J]. *Nature*, 2007, 448 (7157): 1058-1062.
- [14] HOLLAND SM, DELEO FR, ELLOUMI HZ, et al. Stat3 mutations in the hyper-IgE syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357 (16): 1608-1619.
- [15] ITOH S, UDAGAWA N, TAKAHASHI N, et al. A critical role for interleukin-6 family-mediated Stat3 activation in osteoblast differentiation and bone formation [J]. *Bone*, 2006, 39 (3): 505-512.
- [16] MATSUSHITA K, ITOH S, IKEDA S, et al. LIF/STAT3/SOCS3 signaling pathway in murine bone marrow stromal cells suppresses osteoblast differentiation [J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115 (7): 1262-1268.
- [17] LEVY O, RUVINOV E, REEM T, et al. Highly efficient osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by eradication of STAT3 signaling [J]. *Int J Biochem Cell Bio*, 2010, 42 (11): 1823-1830.
- [18] HIKATA T, TAKAISHI H, TAKITO J, et al. PIAS3 negatively regulates RANKL-mediated osteoclastogenesis directly in osteoclast precursors and indirectly via osteoblasts [J]. *Blood*, 2009, 113 (10): 2202-2212.
- [19] ZHANG H, HU H, GREELEY N, et al. STAT3 restrains RANK-and TLR4-mediated signalling by suppressing expression of the E2 ubiquitin-conjugating enzyme Ubc13 [J]. *Nat Commun*, 2014, 15(5): 5798.
- [20] PARK H, NOH AL, KANG JH, et al. Peroxiredoxin II negatively regulates lipopolysaccharide-induced osteoclast formation and bone loss via JNK and STAT3 [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22 (1): 63-77.
- [21] 秦岭. 力学刺激促进成骨和骨再生 [J]. *医用生物力学*, 2012, 27 (2): 129-132.
- [22] QIN L. Mechanical stimulation enhances osteogenesis and bone generation [J]. *J Med Biomech*, 2012, 27 (2): 129-132.
- [22] GUO Y, WANG Y, LIU Y, et al. Effect of the same mechanical loading on osteogenesis and osteoclastogenesis

- in vitro* [J]. Chin J Traumatol, 2015, 18 (3): 150-156.
- [23] MAUNEY JR, SJOSTORM S, BLUMBERG J, *et al.* Mechanical stimulation promotes osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells on 3-D partially demineralized bone scaffolds *in vitro* [J]. Calcif Tissue Int, 2004, 74 (5): 458-468.
- [24] RATH B, NAM J, KNOBLOCH TJ, *et al.* Compressive forces induce osteogenic gene expression in calvarial osteoblasts [J]. J Biomech, 2008, 41 (5): 1095-1103.
- [25] VAN GRIENSVEN M, DIEDERICHS S, ROEKER S, *et al.* Mechanical strain using 2D and 3D bioreactors induces osteogenesis: Implications for bone tissue engineering [J]. Adv Biochem Eng Biotechnol, 2009, 112: 95-123.
- [26] LI YJ, BATRA NN, YOU L, *et al.* Oscillatory fluid flow affects human marrow stromal cell proliferation and differentiation [J]. J Orthop Res, 2004, 22 (6): 1283-1289.
- [27] JAISWAL RK, JAISWAL N, BRUDER SP, *et al.* Adult human mesenchymal stem cell differentiation to the osteogenic or adipogenic lineage is regulated by mitogen-activated protein kinase [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (13): 9645-9652.
- [28] ZHANG P, DAI Q, OUYANG N, *et al.* Mechanical strain promotes osteogenesis of BMSCs from OVARIECTOMIZED RATS via the ERK1/2 but not p38 or JNK-MAPK signaling pathways [J]. Curr Mol Med, 2015, 15 (10): 780-789.
- [29] RODDA SJ, MCMAHON AP. Distinct roles for Hedgehog and canonical Wnt signaling in specification, differentiation and maintenance of osteoblast progenitors [J]. Development, 2006, 133 (16): 3231-3244.
- [30] CHEN JC, JACOBS CR. Mechanically induced osteogenic lineage commitment of stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2013, 4 (5): 107.
- [31] WU Y, ZHANG P, DAI Q, *et al.* Effect of mechanical stretch on the proliferation and differentiation of BMSCs from ovariectomized rats [J]. Mol Cell Biochem, 2013, 382 (1-2): 273-282.
- [32] BAKSH D, BOLAND GM, TUAN RS. Cross - talk between Wnt signaling pathways in human mesenchymal stem cells leads to functional antagonism during osteogenic differentiation [J]. J Cell Biochem, 2007, 101 (5): 1109-1124.
- [33] XIAO E, YANG HQ, GAN YH, *et al.* Brief reports: TRPM7 Senses mechanical stimulation inducing osteogenesis in human bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Stem Cells, 2015, 33 (2): 615-621.
- [34] WANG J, WANG CD, ZHANG N, *et al.* Mechanical stimulation orchestrates the osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells by regulating HDAC1 [J]. Cell Death Dis, 2016, 12(7): e2221.
- [35] MANTILA ROOSA SM, LIU Y, TURNER CH. Gene expression patterns in bone following mechanical loading [J]. J Bone Miner Res, 2011, 26 (1): 100-112.
- [36] ZHOU H, NEWNUM AB, MARTIN JR, *et al.* Osteoblast/osteocyte-specific inactivation of Stat3 decreases load-driven bone formation and accumulates reactive oxygen species [J]. Bone, 2011, 49 (3): 404-411.

(上接第 87 页)

- [16] 高甲子, 宫赫, 方娟. 利用生物力学方法评价振动在骨质疏松康复过程中的作用 [J]. 医用生物力学, 2011, 26 (4): 315-320.
- GAO JZ, GONG H, FANG J. Biomechanical assessment for effects of vibration on the rehabilitation process of osteoporosis [J]. J Med Biomech, 2011, 26(4): 315-320.
- [17] 陈天华, 陈梦诗, 姚晓琳, 等. 一种新的测试胫骨骨生物力学特性的三点弯曲方法 [J]. 生物医学工程学杂志, 2008, 25(2): 341-345.