

# FGFs/FGFRs 系统对骨调节的研究进展

李宝新 李玉坤\*

(河北医科大学第三医院内分泌二科, 石家庄 050051)

**摘要** 成纤维细胞生长因子家族(fibroblast growth factors, FGFs)及其受体 FGFRs 系统影响骨骼发育和形成过程, FGF 与细胞表面 FGFR 结合, 激活信号通路调控多种细胞生长、分化和凋亡。骨是 FGF 的重要靶器官, 研究表明 FGFs/FGFRs 系统对骨组织成骨细胞、破骨细胞、软骨细胞的增殖和分化起重要调控作用, 本文就 FGFs/FGFRs 系统对骨组织调节研究进展进行综述。

**关键词** 成纤维细胞生长因子; 成骨细胞; 破骨细胞; 软骨细胞

FGFs 是由约 150~200 个氨基酸组成的多肽, 相互之间有着 20%~50% 相同的氨基酸序列, 其中心区域有大约 120 个氨基酸序列存在高度的同源性。FGFs 基因家族目前包括 23 个成员, 相对分子量一般在 20 kDa~30 kDa, FGFs 和存在于细胞表面的 FGFRs 结合, 将信号传递到胞内, 对细胞的增殖、分化、凋亡起重要调控作用。FGFRs 是一类跨膜酪氨酸激酶受体, 属于 Ig 超家族, 其结构包括 N 端信号肽、IgI~III 3 个区, 在与配体结合后发生二聚体化, 从而激活酪氨酸激酶, 在激活某些信号通路的基础上, 通过大量释放磷脂酶 C、蛋白激酶 C、磷脂酰肌醇 3-激酶系统等, 向细胞内传递信号, 目前包括 FGFR1~5, 其中 FGFR1~3 多在成骨和软骨细胞表达, FGFRs 有 4 种基因型(FGFR1~4), 同是一种跨膜蛋白质, 主要由 3 个部分组成: 胞外段、跨膜区和胞内段。胞外段为配体结合区, 包括 2 个或 3 个免疫球蛋白样功能区。根据 FGFRs 选择性拼接的差异, 目前已知存在 7 种受体蛋白的亚型结构。如 FGFR2 可产生 FGFR2-IIIb 和 FGFR2-IIIc 两种受体亚型。FGFR2-IIIb 主要在上皮细胞中表达, FGFR2-IIIc 主要在间质细胞中表达, 间质细胞表达的 FGF7 和 FGF10 能特异性地激活 FGFR2-IIIb, 而 FGF2、FGF4、FGF6、FGF8 和 FGF9 则特异性激活 FGFR2-IIIc, 这种结合的特异性与细胞膜环境和硫酸乙酰肝素有关<sup>[1]</sup>。目前由 FGFs 与 FGFRs 构成的信号通路对骨组织的调节机制成为一个新的研究热点, 特别是对于骨中细胞水平的研究更具研究意义, FGFs/FGFRs 系统对骨调节研究具有重要研究价值。

## 1 FGFs/FGFRs 与成骨细胞

### 1.1 FGF-2

FGF-2 由成骨细胞合成, 储存于细胞外基质, FGF-2 可促进成骨细胞、软骨细胞增殖, FGF-2 通过与 FGFRs 高亲和力结合作用, 在胚胎发育和调节人体组织稳态中起重要作用。Kodama 等<sup>[2]</sup>通过凝胶系统持续释放人重组 FGF-2(human recombinant fibroblast growth factor-2, rhFGF-2), 结果发现鼠下颌骨较对照组体积增大 1.5 倍, 分化的成骨细胞增加, Fgfr1、Fgfr2、Runx2、骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein2, BMP2)表达增加, 表明 FGF/FGFR 信号可通过激活 Runx2 和 BMP2 通路调控骨组织合成代谢, 使骨再生能力增强。研究认为 PTH 作为成骨细胞功能调节因子, 增加成骨细胞 FGFR1 与 FGF-2 表达, PTH 和 FGF-2 可通过激活 cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP response element binding proteins, CREBs)调节 Runx2 表达, 且 PTH 可增加 *Fgf2*<sup>+/+</sup> 而非 *Fgf2*<sup>-/-</sup> 成骨细胞 Runx2、cyclinD1-cdk4/6、Bcl-2/Bax 蛋白表达, 表明内源性 FGF-2 在 PTH 参与下对成骨细胞增殖、分化、凋亡起调控作用, PTH 的合成代谢部分依赖于 FGF-2 表达<sup>[3]</sup>。Lee 等<sup>[4]</sup>报道 FGF-2 与地塞米松联合可加快人脂肪源性间充质干细胞向成骨和脂肪细胞分化, 此作用依赖于 Src 激酶酪氨酸磷酸化。Shirai 等<sup>[5]</sup>发现牙周韧带成纤维细胞经 BMP-2 与 FGF-2 调节后存在向成骨细胞和血管细胞

收稿日期: 2010-05-06 接受日期: 2010-10-20

河北省自然科学基金(No.C2009001179)和河北省医学适用技术跟踪(No.GL200839)资助项目

\* 通讯作者。E-mail: liyukun@medmail.com.cn

系分化潜能。他克莫司(Tacrolimus)免疫抑制药可明显增强 FGF-2 诱导血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)释放以及应激激活蛋白激酶/c-Jun 氨基端激酶(stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase, SAPK/JNK)磷酸化,而对 p44/p42 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)或 p38MAPK 磷酸化无影响;应用特殊 SAPK/JNK 抑制剂 SP600125,可减少 FGF-2 诱导的 VEGF 释放和 p70 S6 激酶磷酸化,表明他克莫司增强成骨细胞中 FGF-2 诱导 VEGF 释放是通过上调 SAPK/JNK 表达和调控 p70 S6 激酶表达完成的<sup>[6]</sup>。鼠主动脉平滑肌细胞激活 FGF-2 可诱导成骨细胞标志物护骨素表达,但下调 Runx2 则抑制护骨素表达,应用荧光探针观察到 FGF-2 可在平滑肌细胞产生氢过氧化物,应用 MEK1 抑制剂 PD98059、c-Src 抑制剂 PP1 及抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸均可抑制 FGF-2 诱导的护骨素表达,表明 FGF-2 对血管平滑肌成骨分化作用是通过依赖 MAPK 和氧化应激敏感通路激活 Runx2 完成<sup>[7]</sup>。

## 1.2 FGFRs

研究已发现几种 FGFR 基因突变可造成骨骼发育异常,导致矮小综合症和颅骨发育异常如 Crouzon 综合症、Pfeiffer 综合症、Jackson-Weiss 综合症、Beare-Stevenson 综合症等,说明 FGFR 基因对于骨骼发育及骨细胞分化起重要作用。Dufour 等<sup>[8]</sup>研究发现,通过细胞膜脂质筏(lipid rafts)可加强 FGFR2 与 Cb1 相互作用,导致 Cb1 介导的磷酸肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)泛素化增强,使 PI3K/Akt 通路在成骨细胞生长中的作用减弱。激活 PKC $\delta$  可使 Runx2 包含 Ser247 片断磷酸化,而连续活化突变 FGFRs 可激活 PKC 通路增加 Runx2 表达,使成骨细胞分化加强,导致颅骨早闭<sup>[9]</sup>。FGFR3 经 MAPK 通路可促进颅骨闭合和骨矿化中心融合,敲除鼠 FGFR3 基因可导致骨骼发育缺陷,长骨过度生长,表明 FGFR3 基因对软骨内成骨起负反馈作用<sup>[10]</sup>。Derrick 等<sup>[11]</sup>对幼鼠(1 周龄)与成年鼠(2 月龄)颅骨损伤后修复与再生能力研究发现,幼鼠较成年鼠颅骨修复与再生能力强,且幼鼠 BMP-2、4、7 与 FGF-2 及其受体 FGFR-1 表达明显增加。用流体剪切和应力力作为机械负荷作用于 MC3T3-E1 成骨细胞前体细胞,结果发现细胞数目增加,胶原合成、碱性磷酸酶活性、Runx2 表达均增加,但细胞矿化受抑制,

同时观察到 FGFR3 表达增加,而 FGFR1、FGFR4、FGF1 表达与细胞外信号相关激酶 1/2(extracellular signal-related kinase1/2, ERK1/2)磷酸化受抑制,表明 FGFR3 表达增加可能对成骨细胞分化产生影响<sup>[12]</sup>。FGF-23 在成骨细胞产生,通过与 FGFR1 结合,作用于骨和肾,研究发现血 FGF-23 水平可作为预测骨折愈合的有效指标<sup>[13]</sup>。Runx2 增加蛋白多糖介导相关信号基因的表达,包括 FGF 受体(FGFR2 和 FGFR3)、多配体蛋白聚糖(syndecans, Sdc1, Sdc2, Sdc3)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖(glypicans, Gpc1)、多能蛋白聚糖(versican); Runx2 联合 FGF-2 后可诱导 Sdc4 表达,但抑制 Gpc6,表明 Runx2 和 FGF/蛋白多糖轴可能形成细胞外基质相关调节负反馈通路调控成骨细胞分化<sup>[14]</sup>。

## 1.3 FGF-8

在鼠原代成骨细胞及 UMR-106、MC3T3-E1 成骨细胞中发现, FGF-8 可增强成骨细胞 NR4A 孤儿核受体(orphan nuclear receptors)表达<sup>[15]</sup>, FGF-8a 与 FGF-8b 均可增强成骨细胞分化,但长时间成骨细胞培养则抑制骨形成和骨结节生成,同时成骨细胞分化标志物表达减低。FGF-8a 可诱导成骨细胞 p42/p44 MAPK 磷酸化,且其丝裂原作用不被 MAPK 激酶抑制剂 U-0126 或 PI3K 抑制剂 LY-294002 所抑制。另发现 FGF-8a 有着抑制鼠骨髓诱导破骨细胞生成的独特作用,此作用依赖于 RANKL/OPG 通路,但并不影响 RAW 264.7 细胞破骨细胞生成,表明 FGF-8 可能以自分泌/旁分泌形式影响骨组织代谢发育<sup>[16]</sup>。

## 2 FGFs/FGFRs 与软骨细胞

由于组织再生和胚胎发育可能涉及相似的途径,了解常见途径则可能推进再生医学的进步。在胚胎肢体发育过程中 FGFs/FGFRs 发挥促进软骨分化的作用。研究和对比体内胚胎肢体发育和体外间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)在软骨形成中的表达发现, FGFR1-3 在体内外胚胎肢体发育过程中以阶段依赖形式表达,不同阶段加入 FGF-2 和 FGF-9 对软骨形成影响不同,表明 MSCs 存在软骨和骨细胞再生的可能性<sup>[17]</sup>。人间充质干细胞在含 FGF-2 培养基中较对照分化加快,且过表达 FGF-2 的细胞向软骨细胞分化加快,但传代 7 次后分化受抑制,微点阵基因表达分析显示 334 个转录本(transcripts)的不同表达在第四代对照细胞减少了向软骨细胞分化的潜能,

但含FGF-2的细胞在第四代仍保持这种潜能,说明应用 FGF-2 可更快达到目标细胞数量<sup>[18]</sup>。胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor-I, IGF-I)与 FGF-2 在关节软骨合成代谢和促有丝分裂中起重要作用,Shi 等<sup>[19]</sup>发明了一种新的在成年牛软骨细胞过表达 IGF-I 与 FGF-2 cDNAs 的腺病毒伴随病毒质粒(adeno-associated virus (AAV)-based plasmid, pAAV), 研究结果发现 pAAV 向关节软骨转导 IGF-I 和 FGF-2 较重组质粒 DNA 载体(pcDNA)更有效,认为共转染可能是多个基因转移到这些细胞的有效措施,这些发现可能是应用重要生长因子转移到目的细胞的基因治疗关节软骨新途径。*Fgf2*<sup>-/-</sup> 鼠与野生鼠在形态上软骨厚度与蛋白多糖染色均无明显差别,但 *Fgf2*<sup>-/-</sup> 鼠有向骨关节炎(osteoarthritis, OA)发展持续加快的表现,皮下注射重组 FGF-2 可抑制其发展, *Fgf2*<sup>-/-</sup> 鼠聚集蛋白聚糖酶关键因子 *Adams5* 表达增加,说明 FGF-2 是关节软骨的内生软骨保护因子<sup>[20]</sup>。气道先天性异常多数由于呼吸道软骨发育缺陷所致,通过对鼠进行基因表达和软骨生长组织学分析发现, FGF-18 通过上调软骨特异基因 *Sox9* 为喉和气管软骨提供增殖和定向信号<sup>[21]</sup>。*Wdr5* 是成骨细胞分化必需因子之一,为阐明在软骨膜过表达 *Wdr5* 调节软骨分化的分子机制,从野生型和 I 型胶原(collagen I, Col I)-*Wdr5* 鼠胚胎分离跖骨和肱骨进行观察,结果局部去除 FGF-18 后 Col I -*Wdr5* 跖骨软骨细胞表型减弱, Col I-*Wdr5* 肱骨调节软骨细胞分化的 *Twist-1* 表达增加,染色体免疫沉淀分析结果表明 *Wdr5* 是 *Twist-1* 的启动子,说明在软骨膜过表达 *Wdr5* 通过调控 *Twist-1* 与 FGF-18 表达可促进软骨细胞分化<sup>[22]</sup>。脂肪细胞源性干细胞可由 BMP-6 诱导向软骨细胞分化,且 BMP-6 在 FGF-2、地塞米松、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、转化生长因子(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)作用下脂肪细胞源性干细胞向软骨细胞分化加速<sup>[23]</sup>。

### 3 FGFs/FGFRs 与破骨细胞

在 FGFR1~4 中,只有 FGFR1 在鼠破骨细胞中被分离发现,所有 FGFRs 均在成骨细胞中被发现, *Tyro3* 只在成熟破骨细胞中发现, *Tyro3* 的配体 *Gas6* 可增强破骨细胞在牙本质薄片形成吸收陷窝的能力, FGF-2 与 *Gas6* 通过上调 ERK 增强破骨细胞免疫沉淀 FGFR1 和 *Tyro3* 激酶活性<sup>[24]</sup>。低浓度 FGF-2 加速破骨细胞形成,但高浓度抑制破骨细胞形成,且此作用

不被 RANKL 影响, FGF-2 可加速 RAW 264.7 破骨细胞样细胞融合成大的巨细胞,同时诱导成熟肌动蛋白细胞骨架重组<sup>[25]</sup>。FGF-18 不仅能通过 RANKL 诱导破骨细胞形成,而且能够加快骨吸收陷窝的形成<sup>[26]</sup>。去卵巢鼠给予拟态 FGF-2 的 F2A,发现 1 mg/kg 可增加破骨细胞吸收面积, 3 mg/kg 可诱导骨松质骨形成增加,说明 F2A 均可增加松质骨的骨吸收和骨形成,且未发生 FGF-2 引起贫血和骨矿化受损的副作用<sup>[27]</sup>。

### 4 小结

综上所述, FGFs/FGFRs 系统,特别是 FGF-2 通过错综复杂的信号通路转导对骨骼发育和成骨细胞、破骨细胞、软骨细胞的增殖和分化发挥调控作用,通过对骨形成和骨吸收的影响为骨质疏松治疗提供新思路,同时 FGFs 与 FGFRs 共同作用可能为骨折愈合和软骨损伤提供新的治疗途径,由此, FGFs/FGFRs 系统对骨调节作用机制将有望成为临床药理和基础研究新热点。

### 参考文献(References)

- 1 Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16(2): 139-49.
- 2 Kodama N, Nagata M, Tabata Y, Ozeki M, Ninomiya T, Takagi R. A local bone anabolic effect of rhFGF2-impregnated gelatin hydrogel by promoting cell proliferation and coordinating osteoblastic differentiation. *Bone* 2009; 44(4): 699-707.
- 3 Sabbieti MG, Agas D, Xiao L, Marchetti L, Coffin JD, Doetschman T, *et al.* Endogenous FGF-2 is critically important in PTH anabolic effects on bone. *J Cell Physiol* 2009; 219(1): 143-51.
- 4 Lee SY, Lim J, Khang G, Son Y, Choung PH, Kang SS, *et al.* Enhanced *ex vivo* expansion of human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells by fibroblast growth factor-2 and dexamethasone. *Tissue Eng Part A* 2009; 15(9): 2491-9.
- 5 Shirai K, Ishisaki A, Kaku T, Tamura M, Furuichi Y. Multipotency of clonal cells derived from swine periodontal ligament and differential regulation by fibroblast growth factor and bone morphogenetic protein. *J Periodontol Res* 2009; 44(2): 238-47.
- 6 Yamauchi J, Takai S, Matsushima-Nishiwaki R, Adachi S, Minamitani C, Natsume H, *et al.* Tacrolimus but not cyclosporine A enhances FGF-2-induced VEGF release in osteoblasts. *Int J Mol Med* 2009; 23(2): 267-72.
- 7 Nakahara T, Sato H, Shimizu T, Tanaka T, Matsui H, Kawai-Kowase K, *et al.* Fibroblast growth factor-2 induces osteogenic differentiation through a Runx2 activation in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394(2): 243-8.
- 8 Dufour C, Guenou H, Kaabeche K, Bouvard D, Sanjay A, Marie PJ. FGFR2-Cbl interaction in lipid rafts triggers attenuation of PI3K/Akt signaling and osteoblast survival. *Bone* 2008; 42

- (6): 1032-9.
- 9 Kim BG, Kim HJ, Park HJ, Kim YJ, Yoon WJ, Lee SJ. Runx2 phosphorylation induced by fibroblast growth factor-2/protein kinase C pathways. *Proteomics* 2006; 6(4): 1166-74.
  - 10 Matsushita T, Wilcox WR, Chan YY, Kawanami A, Bükülmez H, Balmes G, *et al.* FGFR3 promotes synchondrosis closure and fusion of ossification centers through the MAPK pathway. *Hum Mol Genet* 2009; 18(2): 227-40.
  - 11 Wan DC, Kwan MD, Gupta DM, Wang Z, Slater BJ, Panetta NJ, *et al.* Global age-dependent differences in gene expression in response to calvarial injury. *J Craniofac Surg* 2008; 19(5): 1292-301.
  - 12 Jackson RA, Kumarasuriyar A, Nurcombe V, Cool SM. Long-term loading inhibits ERK1/2 phosphorylation and increases FGFR3 expression in MC3T3-E1 osteoblast cells. *J Cell Physiol* 2006; 209(3): 894-904.
  - 13 Goebel S, Lienau J, Rammoser U, Seefried L, Wintgens KF, Seufert J, *et al.* FGF23 is a putative marker for bone healing and regeneration. *J Orthop Res* 2009; 27(9): 1141-6.
  - 14 Teplyuk NM, Haupt LM, Ling L, Dombrowski C, Mun FK, Nathan SS, *et al.* The osteogenic transcription factor Runx2 regulates components of the fibroblast growth factor/proteoglycan signaling axis in osteoblasts. *J Cell Biochem* 2009; 107(1): 144-54.
  - 15 Lammi J, Aarnisalo P. FGF-8 stimulates the expression of NR4A orphan nuclear receptors in osteoblasts. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 295(1-2): 87-93.
  - 16 Lin JM, Callon KE, Lin JS, Watson M, Empson V, Tong PC, *et al.* Actions of fibroblast growth factor-8 in bone cells *in vitro*. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297(1): E142-50.
  - 17 Hellingman CA, Koevoet W, Kops N, Farrell E, Jahr H, Liu W, *et al.* Fibroblast growth factor receptors in *in vitro* and *in vivo* chondrogenesis: relating tissue engineering using adult mesenchymal stem cells to embryonic development. *Tissue Eng Part A* 2010; 16(2): 545-56.
  - 18 Solchaga LA, Penick K, Goldberg VM, Caplan AI, Welter JF. Fibroblast growth factor-2 enhances proliferation and delays loss of chondrogenic potential in human adult bone-marrow-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A* 2010; 16(3): 1009-19.
  - 19 Shi S, Mercer S, Trippel SB. Effect of transfection strategy on growth factor overexpression by articular chondrocytes. *J Orthop Res* 2010; 28(1): 103-9.
  - 20 Chia SL, Sawaji Y, Burleigh A, McLean C, Inglis J, Saklatvala J, *et al.* Fibroblast growth factor 2 is an intrinsic chondroprotective agent that suppresses ADAMTS-5 and delays cartilage degradation in murine osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60(7): 2019-27.
  - 21 Elluru RG, Thompson F, Reece A. Fibroblast growth factor 18 gives growth and directional cues to airway cartilage. *Laryngoscope* 2009; 119(6): 1153-65.
  - 22 Gori F, Zhu ED, Demay MB. Perichondrial expression of Wdr5 regulates chondrocyte proliferation and differentiation. *Dev Biol* 2009; 329(1): 36-43.
  - 23 Diekman BO, Estes BT, Guilak F. The effects of BMP6 overexpression on adipose stem cell chondrogenesis: Interactions with dexamethasone and exogenous growth factors. *J Biomed Mater Res A* 2010; 93(3): 994-1003.
  - 24 Kawaguchi H, Katagiri M, Chikazu D. Osteoclastic bone resorption through receptor tyrosine kinase and extracellular signal-regulated kinase signaling in mature osteoclasts. *Mod Rheumatol* 2004; 14(1): 1-5.
  - 25 Zuo J, Jiang J, Dolce C, Holliday LS. Effects of basic fibroblast growth factor on osteoclasts and osteoclast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 318(1): 162-7.
  - 26 Shimoaka T, Ogasawara T, Yonamine A, Chikazu D, Kawano H, Nakamura K, *et al.* Regulation of osteoblast, chondrocyte, and osteoclast functions by fibroblast growth factor (FGF)-18 in comparison with FGF-2 and FGF-10. *J Biol Chem* 2002; 277(9): 7493-500.
  - 27 Aguirre JI, Franz SE, Altman MK, Stabley JN, Lin X, Zamora PO, *et al.* Skeletal effects of fibroblast growth factor mimetic (F2A) in ovariectomized rats. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2009; 9(1): 38-43.

## Research Progression of FGFs/FGFRs System to Bone Regulation

Bao-Xin Li, Yu-Kun Li\*

(Third Hospital of Hebei Medical University, Second Department of Endocrinology, Shijiazhuang 050051, China)

**Abstract** FGFs and FGFRs constitute a system affect bone development and formation process, FGF combines with FGFR to activate a variety of signaling pathways regulate cell growth, differentiation and apoptosis. Bone is an important target organ to FGF, studies have shown that FGFs/FGFRs system plays an important regulatory role for proliferation and differentiation of osteoblast, osteoclast and chondrocyte. This article reviews the research progression of FGFs/FGFRs system to bone regulation.

**Key words** fibroblast growth factors; osteoblast; osteoclast; chondrocyte

Received: May 6, 2010 Accepted: October 20, 2010

This work was supported by Natural Science Foundation of Hebei Province (No.C2009001179) and Medical Applicable Technology for Project Tracking of Hebei Province (No.GL200839)

\*Corresponding author. E-mail: liyukun@medmail.com.cn