

## · 综 述 ·

## 组蛋白去乙酰化酶在软骨发育和骨关节炎中的作用

鲁经纬, 章 磊, 樊根涛 综述, 赵建宁 审校

[摘要] 组蛋白去乙酰化酶(HDACs)能使染色质结构更加紧密从而起到转录抑制的作用。一些研究结果表明 HDACs 与病变软骨的相关基因表达和骨关节炎(OA)进展有关。本文总结了 OA 和软骨发育研究领域 HDACs 相关的研究成果,以期更深入的了解 OA 的发病机制以及为 OA 的治疗方案提供新的思路。

[关键词] 骨关节炎;组蛋白去乙酰化酶;软骨发育

[中图分类号] R681.3 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2016.06.021

骨关节炎(OA)的病因尚不明确,其发生与肥胖、年龄、炎症、创伤、遗传等因素有关<sup>[1-2]</sup>。近年来,随着对 OA 研究的不断深入,发现了一种特别的遗传调控机制在 OA 的发生发展中起了重要作用,这种机制的研究被称为表观遗传学。表观遗传是指不涉及基因序列变化而通过转录调控影响生物表型的一种遗传模式<sup>[3-4]</sup>。在遗传学诸多分子作用基础中,组蛋白乙酰化和去乙酰化修饰占据重要地位。真核生物的脱氧核糖核酸(DNA)在核小体中包裹于组蛋白八聚体之上,组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)是维持组蛋白乙酰化平衡的两种关键酶类之一[另一种为组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)],其催化组蛋白的去乙酰化作用,使染色质结构更加紧密,对基因转录起到抑制作用<sup>[5]</sup>。

## 1 组蛋白去乙酰化酶

**1.1 分类** HDACs 被分为两个家族:经典组蛋白去乙酰化酶(HDAC)家族和沉默信息调节因子 2(silent information regulator2, Sir2)-相关酶类家族(即 HDACIII 类)。基于酵母种系发育中的不同 HDACs 的结构同源性分析,经典 HDAC 家族又可分为三类:与酵母 RPD3 基因同源的 HDAC I 类(包括 HDAC1、2、3、8),与酵母 HDA1 基因同源的 II 类(包括 HDAC4、5、6、7、9、10)以及 HDAC11 独自代表的

IV 类<sup>[6]</sup>。

**1.2 大小和定位** 人类自身编码经典 HDAC 家族的 11 种 HDAC,其中 I 类 HDAC 大约由 400-500 种氨基酸组成,位于细胞核内,几乎可以在所有类型的细胞中普遍表达。II 类 HDAC 的大小大约是 I 类 HDAC 的两倍(约由 1000 个氨基酸组成),在特定的细胞信号引导下可以在细胞质与细胞核之间穿梭。II 类 HDAC 与 I 类 HDAC 的另一个不同点是,它们的表达具有一定的细胞和组织特异性,这点提示其可能参与了细胞的分化和发育过程。IV 类 HDAC 存在于细胞核中,相较于 II 类 HDAC,其结构更接近于 I 类 HDAC。

**1.3 作用机制** 在体内,所有的核心组蛋白都处于乙酰化状态,HDACs 能够移除组蛋白的乙酰基,低乙酰化状态可以使组蛋白与包绕在其周围的 DNA 之间的空间变小。缠绕更紧密的 DNA 使转录因子难于与其结合,达到转录抑制的作用<sup>[7-8]</sup>。

## 2 HDACs 与软骨发育

**2.1 调控细胞外基质** 软骨细胞可合成分泌软骨特有的细胞外基质,如蛋白聚糖,II 型胶原等。相关研究<sup>[9]</sup>发现,转录因子 Snail 通过与 HDAC1 和 HDAC2 的羧基末端功能区相互作用,抑制软骨细胞中 II 型胶原的表达。在体外培养的软骨细胞中对 HDAC 的活性进行抑制,II 型胶原表达量亦会降低<sup>[10]</sup>,这种现象可能是由于 HDAC 抑制了 Wnt-5a 基因的转录,后者具有抑制 II 型胶原表达的作用。这些报道说明了 HDACs 通过调节软骨相关的转录因子影响软骨的自稳态。软骨细胞由滑膜间充质干细胞(synovium-derived stem cells, SDSCs)分化而来,Pei 等<sup>[11]</sup>研究发现,对未用转录生长因子 TGF- $\beta$ 2 干预的 SDSCs,超表达的 HDAC4 对软骨

基金项目: 南京军区南京总医院管理课题资助项目 (2016008)

作者单位: 210002 江苏南京,南京军区南京总医院骨科

通讯作者: 赵建宁, E-mail: zhaojianing.0207@163.com

引用格式: 鲁经纬, 章 磊, 樊根涛, 等. 组蛋白去乙酰化酶在软骨发育和骨关节炎中的作用[J]. 东南国防医药, 2016, 18(6): 636-639.

形成作用没有影响;而对使用了TGF- $\beta$ 2干预的SD-SCs,超表达的HDAC4能够加快软骨形成的速度并将其维持在一个较高的水平,且与此同时下调了肥大软骨细胞的标志物—X型胶原的表达。以上结果表明HDAC4具有促进并维持TGF- $\beta$ 2诱导的软骨形成的作用,启示不只生长因子本身能够影响软骨形成,对其转录水平上的调节对软骨形成也有重要影响。

**2.2 调控软骨细胞** 在胚胎发育过程中,间充质干细胞增殖分化形成软骨板,经由软骨内成骨生成骨骼<sup>[12]</sup>。此过程中软骨细胞经历肥大化,并分泌细胞外基质。Runx2基因是软骨细胞肥大过程中必须的转录因子,HDAC4在软骨前肥大细胞中表达,通过与Runx2基因相互作用,通过抑制Runx2的表达活性调控软骨细胞的肥大和软骨内成骨<sup>[13]</sup>。敲除HDAC4基因的小鼠在骨骼发育过程中由于肋软骨细胞肥大化时间的提前,表现出不成熟的骨化,致使胸廓发育畸形,呼吸受限,在出生1周内就会死亡<sup>[14]</sup>。可见在软骨形成过程中,HDAC4作为调控软骨细胞肥大的关键因子。软骨细胞不仅受到HDAC4表达量高低的影响,也受到HDAC4定位不同的影响,HDAC4从细胞核转移到细胞质这一重新定位的过程能促进软骨细胞由增殖期到前肥大期过渡<sup>[15]</sup>。I类HDACs中的HDAC3对软骨细胞肥大也有重要调节作用<sup>[16]</sup>。

### 3 HDACs 与 OA

金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)是一类共同作用导致细胞外基质降解的酶类。对于一些正常的生理过程如生长发育和伤口愈合,低浓度的MMP起着重要的作用。在OA中,MMP表达异常增多,导致软骨基质发生不可逆的降解,最终发展到关节破坏。金属蛋白酶-13(Matrix metalloproteinase-13, MMP-13)是软骨细胞外基质重要的降解酶,其水解II型胶原的作用较之其他MMP更强。动物实验及体外培养实验也表明MMP-13在OA的病理过程中起着重要作用<sup>[17-18]</sup>。MMP-13由软骨细胞分泌,晚期OA患者的关节软骨中MMP-13的表达量比早期OA患者或者正常人的关节软骨中MMP-13的表达量高出许多<sup>[18]</sup>。在人OA软骨检测到HDAC7比其在正常软骨中的表达量显著增高,为了探讨HDAC7的表达增高是否和MMP-13的表达增高有关,Higashiyama等<sup>[19]</sup>采用人软骨肉瘤细胞系—sw1353细胞,加入小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)对HDAC7进行基因沉默,使用

实时荧光定量逆转录多聚酶链反应(real time RT-PCR)方法测定MMP-13的表达量,在对照组和使用白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)诱导组,HDAC7基因沉默均使MMP-13的表达量显著降低,这一结果提示在OA病理中HDAC7促进了MMP-13的表达,对HDAC7在OA发病中的作用有了进一步的认识。除了II类HDACs中的HDAC7,I类HDACs中的HDAC1和HDAC2在OA软骨细胞中的表达也是升高的,伴随它们的升高,一些软骨特异性基因如蛋白聚糖、II型胶原的表达受到了抑制<sup>[9]</sup>。这提示HDAC1和HDAC2可能在OA关节的软骨退化中起到了一定的作用,然而其具体机制还有待进一步阐明。

### 4 组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACi)与 OA

为了探究HDACs在OA中的作用,组蛋白去乙酰化酶抑制剂在OA研究领域被广泛应用。在软骨外植体培养中,HDACi能够抑制细胞因子诱导的蛋白聚糖的释放和软骨的吸收<sup>[20-21]</sup>,提示HDACs的活性对软骨细胞的分解代谢作用有影响。在体外实验中,HDACi能够抑制诱导型一氧化氮合酶(Inducible Nitric Oxide Synthase, iNOS)和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的蛋白质生产<sup>[20]</sup>以及MMP-1、MMP-13、ADAMTS-5(a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 5 motifs, V型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶)、ADAMTS-9基因转录<sup>[21]</sup>。这些结果表明HDACi能够抑制软骨基质降解酶的表达,提示HDACi具有用于治疗OA的潜力。受此启发,有研究者在OA模型兔子的关节腔内注射一种广谱HDACi——曲古抑菌素(trichostatin, TSA),相较于对照组,注射TSA组的关节软骨退化程度更轻且炎症因子IL-1和基质降解酶的表达均降低<sup>[22]</sup>。更具特异性的HDACi也在软骨相关研究中得到了应用,如苯甲酰胺MS-275,其被证明对I类HDACs具有选择特异性,能够抑制HDAC1、2和3的活性而不对HDAC8产生抑制作用<sup>[23-24]</sup>。在体外实验中,使用苯甲酰胺MS-275对HDAC1、2和3进行抑制,软骨细胞的基质降解酶降低,软骨的吸收亦受到抑制<sup>[23]</sup>。可见I类HDACs,尤其是HDAC1、2和3是潜在的治疗OA的靶点。

HDACi能够抑制软骨细胞中细胞因子诱导的金属蛋白酶的表达<sup>[25]</sup>,然而,有研究发现HDACi能够提高IL-1刺激的MMP-1和MMP-13启动子提高组蛋白H4的乙酰化程度<sup>[26]</sup>,提示不依赖组蛋白

抑制机制的存在。HDACi 作用时间长短的不同也会导致不同的效果。作用时间较短 (<24 h) 时,软骨细胞合成代谢的相关基因如 II 型胶原、IX 型胶原、软骨寡聚蛋白质、蛋白聚糖表达增高,而在作用时间延长的情况下,上述基因的表达受到抑制。在肿瘤的治疗研究中,HDACi 药物已经进入临床试验阶段<sup>[27]</sup>。在动物模型中,一些 HDACi 表现出对类风湿关节炎的治疗效果。OA 研究领域对 HDACi 的研究现在主要处于体外实验的阶段,有待进一步深入。

## 5 结论和展望

表观遗传学的研究不断深入为对 OA 病理的理解提供了新的视角,相较其他组织,OA 的表观遗传研究的一大优势就是软骨所含细胞种类只有一种<sup>[28]</sup>。以上研究结果表明了组蛋白去乙酰化酶在软骨形成以及 OA 的发生发展中起了重要的作用。越来越多 HDACs 与软骨发育以及 OA 相关的研究为更好的了解 OA 的发病机制提供了新的视角。当然,这些实验中也存在一些尚待完善之处:①采用的 HDACi 多为广谱,无法明确软骨相关基因表达变化归因于何种 HDAC。对 HDAC 具有特异性、选择性抑制作用的 HDACi 仍需进一步研究与应用;②通过 HDAC 表达量的测定对 HDAC 的活性变化进行判断。然而表达量与活性是否为正相关或者线性关系,并未给予验证,因此 HDAC 经典家族中各 HDAC 在 OA 病理过程中的活性变化有待进一步实验验证;③体内试验尚较缺乏。模式动物需要更多的应用到相关研究当中,从而更好地模拟 HDAC 在人类软骨中的作用效果。在传统治疗方法无法阻止 OA 病情进展的现状下,以 HDACs 作为靶点的治疗药物值得进一步研究。HDACi 在动物实验中对 OA 的治疗初见成效,更多的体内试验及临床试验令人期待。

## 【参考文献】

- [1] 徐若男,陈 烁,刘宏滨,等. 缓激肽 B2 受体基因多态性在膝骨关节炎发生和发展中的作用[J]. 东南国防医药, 2013, 15(4):361-364.
- [2] 贺文楠,蒋振刚,左新成. 叠加造模后膝关节骨密度改变及软骨基质金属蛋白酶-13 的表达[J]. 医学研究生学报, 2010, 23(6):605-608.
- [3] Zhang M, Wang J. Epigenetics and osteoarthritis[J]. Genes Dis, 2015, 2(1):69-75.
- [4] 徐 宁,张广芬,余海鹰,等. 抑郁症的表观遗传学机制研究进展[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(10):1093-1096.
- [5] Shen Y, Wei W, Zhou DX. Histone acetylation enzymes coordinate metabolism and gene expression[J]. Trends Plant Sci, 2015, 20(10):614-621.
- [6] Ververis K, Karagiannis TC. Overview of the classical histone deacetylase enzymes and histone deacetylase inhibitors[J]. Isrn Cell Biol, 2012;130360.
- [7] Le NT, Tu BH, Ho BH, et al. A nucleosomal approach to inferring causal relationships of histone modifications[J]. BMC Genomics, 2014, 15(Suppl 1):1-10.
- [8] Shahbazian MD, Grunstein M. Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation[J]. Annu Rev Biochem, 2007, 76(1):75-100.
- [9] Hong S, Derfoul A, Pereira-Mouries L, et al. A novel domain in histone deacetylase 1 and 2 mediates repression of cartilage-specific genes in human chondrocytes[J]. FASEB J, 2009, 23(10):3539-3552.
- [10] Hyun HY, Je-Hwang R, Jang-Soo C. Regulation of type II collagen expression by histone deacetylase in articular chondrocytes[J]. J Biol Chem, 2007, 282(23):17123-17131.
- [11] Pei M, Chen D. Histone deacetylase 4 promotes TGF-beta1-induced synovium-derived stem cell chondrogenesis but inhibits chondrogenically differentiated stem cell hypertrophy[J]. Int J Chronic Obstr, 2009, 78(5):260-268.
- [12] Dang PN, Dwivedi N, Phillips LM, et al. Controlled dual growth factor delivery from microparticles incorporated within human bone marrow-derived mesenchymal stem cell aggregates for enhanced bone tissue engineering via endochondral ossification[J]. Stem Cell Transl Me, 2016, 5(2):206-217.
- [13] Mu P, Deepak V, Kang L, et al. Ratjadone C-mediated nuclear accumulation of HDAC4: implications on Runx2-induced osteoblast differentiation of C3H10T1/2 mesenchymal stem cells[J]. Z Naturforsch C, 2014, 69(11-12):471-478.
- [14] Vega RB, Koichi M, Junyoung O, et al. Histone deacetylase 4 controls chondrocyte hypertrophy during skeletogenesis[J]. Cell, 2004, 119(4):555-566.
- [15] Guan Y, Chen Q, Yang X, et al. Subcellular relocation of histone deacetylase 4 regulates growth plate chondrocyte differentiation through Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase IV[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2012, 303(1):33-40.
- [16] Bradley EW, Carpio LR, Westendorf JJ. Histone deacetylase 3 suppression increases PH domain and leucine-rich repeat phosphatase (Phlpp) 1 expression in chondrocytes to suppress Akt signaling and matrix secretion[J]. J Biol Chem, 2013, 288(14):9572-9582.
- [17] Wang W, Zeng L, Wang Z, et al. Ginsenoside Rb1 inhibits matrix metalloproteinase 13 through down-regulating Notch signaling pathway in osteoarthritis[J]. Exp Biol Med, 2015, 240(12):1614-1621.
- [18] Attur M, Yang Q, Shimada K, et al. Elevated expression of periostin in human osteoarthritic cartilage and its potential role in matrix degradation via matrix metalloproteinase-13[J]. Osteoarthritis Cartila, 2015, 29(10):135-136.
- [19] Higashiyama R, Miyaki S, Yamashita S, et al. Correlation between MMP-13 and HDAC7 expression in human knee osteoarthritis[J]. Mod Rheumatol, 2010, 20(1):11-17.
- [20] Chabane N, Zayed N, Afif H, et al. Histone deacetylase inhibitors suppress interleukin-1beta-induced nitric oxide and prostaglandin E2 production in human chondrocytes[J]. Osteoarthritis Cartila, 2008, 16(10):1267-1274.
- [21] Young DA, Lakey RL, Pennington CJ, et al. Histone deacetylase



- inhibitors modulate metalloproteinase gene expression in chondrocytes and block cartilage resorption[J]. *Arthritis Res Ther*, 2005, 7(3):1-10.
- [22] Chen WP, Bao JP, Hu PF, et al. Alleviation of osteoarthritis by Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, in experimental osteoarthritis[J]. *Mole Biol Rep*, 2010, 37(8):3967-3972.
- [23] Kirsty L. Culley, Wang H, Barter MJ, et al. Class I Histone Deacetylase Inhibition Modulates Metalloproteinase Expression and Blocks Cytokine-Induced Cartilage Degradation [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2013, 65(7):1822-1830.
- [24] Paradis FH, Hales BF. The effects of class-specific histone deacetylase inhibitors on the development of limbs during organogenesis[J]. *Toxicol Sci*, 2015, 148(1): 220-228.
- [25] Saito T, Nishida K, Furumatsu T, et al. Histone deacetylase inhibitors suppress mechanical stress-induced expression of RUNX-2 and ADAMTS-5 through the inhibition of the MAPK signaling pathway in cultured human chondrocytes [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(1):165-174.
- [26] Burrage P, Huntington JM, Brinckerhoff C. Regulation of matrix metalloproteinase gene expression by a retinoid X receptor-specific ligand[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2007, 56(3):892-904.
- [27] Duvic M, Dimopoulos M. The safety profile of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in hematologic malignancies; a review of clinical studies[J]. *Cancer Treat Rev*, 2016, 43: 58-66.
- [28] Reynard LN, Loughlin J. Genetics and epigenetics of osteoarthritis [J]. *Maturitas*, 2012, 71(3):200-204.
- (收稿日期:2016-07-26;修回日期:2016-10-19)  
(本文编辑:黄攸生)

(上接第 614 页)

达留针亦能加热针体直达机体深部,疗效显著<sup>[13]</sup>。热针灸应用于认知障碍较多<sup>[14-15]</sup>,本文不同之处在于结合西药联合治疗取得了显著疗效,本研究将热针灸过程中,根据证型不同采用针对性的平补平泻手法,可能是增强疗效的原因之一。本研究结果显示,通过中西医结合治疗,观察组在 2 个疗程后,表现显著的疗效,与治疗前及对照组相比,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),3 个疗程后比 2 个疗程后又有明显的疗效,说明该治疗方法要持续 3 个疗程即可。对照组在 3 个疗程后虽然有显效,但是组内比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),研究说明了普通治疗方法有较大提升的空间。

因此,对于脑梗死导致认知障碍发病率日益增长的今天,研究一种切实可行、行之有效的综合治疗方法,有利于提供患者的生活质量,减轻患者家庭的压力。奥拉西坦结合热针灸治疗方法能够有效的改善认知障碍程度,值得推广应用。

#### 【参考文献】

- [1] Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2013 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2013, 127(1): 143-152.
- [2] 韩忠奎,任明山,夏元亮,等.首发急性腔隙性脑梗死患者脑微出血与早期神经功能恶化的关联研究[J]. *医学研究生学报*, 2015, 28(11):1160-1163.
- [3] 张忠敏,郭艳芹,韩 璆,等.急性脑梗死侧支循环建立的神经

影像学评估[J]. *医学研究生学报*, 2015, 28(1):85-88.

- [4] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组“卒中一级预防指南”撰写组.中国卒中一级预防指南 2010[J]. *中华神经科杂志*, 2011, 44(4):282-288.
- [5] Nasreddine ZS,高 晶.蒙特利尔认知评估量表:一个检测轻度认知功能障碍和早期痴呆的工具[J]. *中华神经科杂志*, 2012, 45(2):135-137.
- [6] 高薇薇,薛 蓉,陈 焱.脑梗死及白质病变临床分型与血管性认知功能障碍的相关性[J]. *中华神经科杂志*, 2012, 45(5): 318-322.
- [7] 张刘洋.奥拉西坦治疗急性脑梗死的临床效果观察[J]. *中国综合临床*, 2015, 31(7):616-617.
- [8] 中华神经科学会.各类脑血管疾病诊断要点[J]. *临床和实验医学杂志*, 2013, 12(7):559.
- [9] 陈龙建,余明刚,赵发启.中西医结合治疗脑梗死致肢体功能障碍的治疗体会[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2013, 21(1): 99-100.
- [10] 李青兰,王雁飞.中西医结合治疗脑梗死 100 例疗效观察[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, 13(5):699-700.
- [11] 张薇薇,李小刚,王默力,等.奥拉西坦治疗卒中后认知功能障碍的有效性及其安全性[J]. *中华神经科杂志*, 2013, 46(7): 489-493.
- [12] 李 杨,邢成民,杜冠华.神经精神疾病合理用药[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2009:171.
- [13] 刘运珠,介小素,潘秋兰.探讨温针灸治疗抑郁症[C].中国针灸学会临床分会第十四届全国针灸学术研讨会, 2013: 167-170.
- [14] 王莉娜,冯晓东,刘承梅,等.温针灸对脑卒中后认知障碍的疗效[J]. *中国康复理论与实践*, 2015, 21(2):199-201.
- [15] 魏 红,王爱民.对轻度认知障碍患者陪护人员培训的效果评价[J]. *东南国防医药*, 2014, 16(3):320-322.

(收稿日期:2015-12-08;修回日期:2016-05-28)

(本文编辑:叶华珍; 英文编辑:王建东)