

·中青年专家笔谈·

破骨细胞融合蛋白的研究进展

骆鋈攀 卢嘉蕊 权晶晶

中山大学附属口腔医院, 光华口腔医学院, 广东省口腔医学重点实验室, 广州 510055

通信作者: 权晶晶, Email: quanjj3@mail.sysu.edu.cn



扫码阅读电子版



权晶晶

【摘要】 破骨细胞是具有骨吸收能力的多核巨细胞。在破骨细胞分化过程中, 细胞因子刺激破骨细胞前体细胞表达融合蛋白, 如树突状细胞特异性跨膜蛋白(DC-STAMP)、破骨细胞多次跨膜蛋白(OC-STAMP), 为破骨细胞融合奠定基础。在疾病状态下, 细胞因子的分泌异常, 导致破骨细胞融合蛋白表达增加。这促进破骨细胞前体

细胞融合形成骨吸收能力更强的破骨细胞。破骨细胞融合蛋白的异常表达是破骨细胞造成病理性骨破坏的前提。阐明破骨细胞融合蛋白的作用机制, 对于干预骨破坏性疾病具有一定意义。基于此, 本文通过论述破骨细胞融合蛋白的研究现状, 为进一步研究破骨细胞造成的骨破坏性疾病提供参考。

【关键词】 破骨细胞; 细胞融合; 膜蛋白

基金项目: 国家自然科学基金(青年科学基金项目 81500839)

引用著录格式: 骆鋈攀, 卢嘉蕊, 权晶晶. 破骨细胞融合蛋白的研究进展[J/CD]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2020, 14(4): 207-213.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2020.04.002

Research advances of fusion proteins in osteoclasts

Luo Junpan, Lu Jiarui, Quan Jingjing

Hospital of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China

Corresponding author: Quan Jingjing, Email: quanjj3@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Osteoclasts are multinucleated giant cells with bone resorption capacity. During osteoclast differentiation, cytokines stimulate the expression of fusion proteins on cell surface of osteoclast precursors, such as dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP), osteoclast-stimulatory transmembrane protein (OC-STAMP), etc., which lay foundation for osteoclast fusion. Under pathological conditions, abnormal secretion of cytokines leads to increased expression of osteoclast fusion proteins, which promotes the fusion of

osteoclast precursors to form osteoclasts with stronger bone resorption capacity. Aberrant expression of osteoclast fusion proteins is a prerequisite for pathological bone destruction caused by osteoclasts. Elucidation of the mechanisms underlying the roles of fusion proteins in osteoclasts is of great significance for the intervention of bone destructive diseases. In this article, we expound the research status of osteoclast fusion proteins to provide references for the further study of osteoclast-related bone destructive diseases.

【Key words】 Osteoclasts; Cell fusion; Membrane proteins

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81500839)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2020.04.002

破骨细胞是具有骨吸收功能的多核巨细胞, 来源于血液及骨髓中的单核-巨噬细胞。这些前体细胞经细胞因子等刺激后表达各种融合蛋白, 发生细胞融合, 进而分化为成熟破骨细胞。在疾病状态下, 细胞因子的分泌异常, 导致破骨细胞融合蛋白表达增加。促进破骨细胞前体细胞相互融合, 形成体积更大、细胞核更多、骨吸收能力更强的破骨细胞。破骨细胞融合蛋白的异常表达是破骨细胞造成病理性骨破坏的前提。研究破骨细胞融合蛋白在破骨细胞融合过程中的作用机制, 对于干预破骨细胞导致的骨破坏具有一定意义, 因此本文拟对破骨细胞融合蛋白的研究进展进行论述。

一、破骨细胞分化概述

破骨细胞是具有骨吸收功能的多核巨细胞, 骨吸收能力与细胞核数量有关。造血干细胞定向分化为单核-巨噬细胞, 趋化因子促使单核细胞迁移进入特定部位。巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)、核因子 κ B受体激活子配体(receptor activator of nuclear factor kappaB ligand, RANKL)等刺激单核细胞分化成单核破骨细胞前体细胞, 进而发生融合^[1]。在此过程中, 细胞融

合蛋白表达增加(图1)。

目前已知的破骨细胞融合蛋白有树突状细胞特异性跨膜蛋白(dendritic cell-specific transmembrane protein, DC-STAMP)^[2]、破骨细胞多次跨膜蛋白(osteoclast-stimulatory transmembrane protein, OC-STAMP)^[3]、囊泡型ATP酶V0结构域d2亚单位(v-ATPase V0 subunit d2, ATP6v0d2)^[4]、部分白细胞分化抗原(cluster of differentiation, CD)如CD47^[5]和钙粘蛋白^[6-7]等。部分融合蛋白通过脂筏(Lipid raft)聚集到细胞膜融合区,使细胞相互识别、黏附^[8-9]。细胞之间形成隧道纳米管^[10-12]进行物质交换,以及拉链样肌动蛋白超结构^[13-15]进行细胞膜融合,形成无功能的多核破骨细胞,随后进一步分化为成熟破骨细胞。

二、破骨细胞融合蛋白

1. DC-STAMP:DC-STAMP最早发现于树突状细胞,是一种470个氨基酸的多跨膜蛋白。RANKL、M-CSF、结缔组织生长因子(CCN2)以及基质金属蛋白酶13诱导破骨细胞表达DC-STAMP^[2,16]。转录因子核因子 κ B、活化T细胞核因子,细胞质1(nuclear factor of activated T cells, cytoplasmic 1, NFATc1)以及小眼畸形相关转录因子(microphthalmia-associated transcription factor, MITF)等正向调控DC-STAMP表

达^[2,17];而转录因子T细胞急性淋巴细胞白血病蛋白1(Tal1)拮抗MITF的活化作用,抑制DC-STAMP的表达^[2]。在破骨细胞分化过程中,DC-STAMP分布于内质网;Luman(环状AMP反应元件结合蛋白3)、异构酶Pin1辅助DC-STAMP转移到细胞膜^[18-20]。

近年来,DC-STAMP被认为是破骨细胞融合的主要调节分子。DC-STAMP表达受到抑制,破骨细胞前体细胞融合明显受到抑制。其中大型破骨细胞(细胞核>10个)受到的抑制效果最明显,表明DC-STAMP在破骨细胞前体细胞融合晚期发挥作用^[21-22]。逆转录病毒转导*Dc-stamp*,*Dc-stamp*^{-/-}破骨细胞前体细胞恢复融合能力。DC-STAMP过表达,破骨细胞前体细胞融合加快,实验动物骨质密度下降^[23]。DC-STAMP存在内吞现象,故破骨细胞前体细胞间DC-STAMP具有异质性,分别为53 kDa单聚体DC-STAMP^{lo}破骨细胞前体细胞以及106 kDa二聚体DC-STAMP^{hi}破骨细胞前体细胞。DC-STAMP^{lo}破骨细胞前体细胞是主要的融合细胞,融合能力强;DC-STAMP^{hi}破骨细胞前体细胞主要作为融合的单核供体^[24-25]。DC-STAMP胞浆端存在免疫受体酪氨酸抑制基序,通过调节胞内钙离子的浓度,调控破骨细胞分化^[26]。研究发现,DC-STAMP通过调节合胞素1

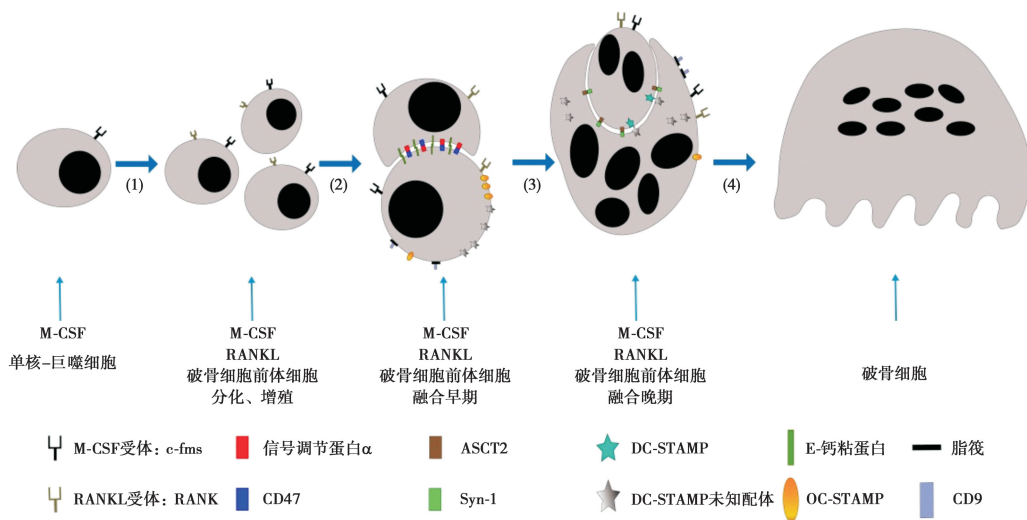


图1 破骨细胞前体细胞分化及融合过程 (1)单核-巨噬细胞在巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、核因子 κ B受体激活子配体(RANKL)刺激下增殖、分化成破骨细胞前体细胞,同时表达破骨细胞融合蛋白。(2)破骨细胞融合早期,单核及少量核破骨细胞前体细胞以“宽接触面”的形式发生融合。破骨细胞前体细胞的融合起始于细胞膜的极化突起以及伪足。E-钙粘蛋白、破骨细胞多次跨膜蛋白(OC-STAMP)、白细胞分化抗原9(CD9)、CD47及其受体信号调节蛋白 α 等在破骨细胞前体细胞融合早期表达。E-钙粘蛋白主要分布于细胞膜突起以及板状伪足;通过形成同型二聚体,促进破骨细胞前体细胞的接触与融合。CD47表达于破骨细胞前体细胞融合接触面,通过结合受体信号调节蛋白 α ,促进破骨细胞前体细胞的接触;随着破骨细胞的融合,细胞膜表面CD47减少。RANKL刺激后,CD9位于细胞膜表面的微结构域脂筏上,同时分布于前体细胞的细胞突起。OC-STAMP、囊泡型ATP酶V0结构域d2亚单位(ATP6v0d2)在破骨细胞融合早期表达,OC-STAMP随着破骨细胞前体细胞融合减少,两者具体作用形式有待研究。(3)破骨细胞融合晚期,多核破骨细胞前体主要以“吞噬杯”的形式发生融合。在多核破骨细胞前体细胞融合接触面,树突状细胞特异性跨膜蛋白(DC-STAMP)与其未知配体结合、合胞素1(Syn-1)与受体谷氨酰胺转运载体(ASCT2)结合,促进其膜接触及融合。(4)破骨细胞前体细胞相互融合后,进一步分化成为具有功能的破骨细胞,表达组织蛋白酶K、耐酒石酸性磷酸酶等破骨细胞标记物

(Syncytin-1, Syn-1) 融合活性, 促进细胞融合^[27-28]。虽然关于 DC-STAMP 的深入报道已经很多, 但其配体仍鲜有报道。

近年来有研究报道, 牙周炎患者的牙周组织中, DC-STAMP 表达量高于正常人^[29]。抗 DC-STAMP 单克隆抗体能够减少牙槽骨炎性吸收, 表明 DC-STAMP 与牙槽骨炎性骨吸收相关^[22]。同时 DC-STAMP 敲除小鼠, 错颌畸形发生率高于野生型, 提示 DC-STAMP 在牙萌出过程中发挥功能^[2]。有研究报道, Paget's 病的发生可能与 DC-STAMP 编码基因 *TM7SF4* 突变有关^[30-31]。继发于双磷酸盐治疗颌骨骨坏死的组织中存在大量高表达 DC-STAMP 的破骨细胞及单核细胞, 这说明继发于双磷酸盐治疗颌骨骨坏死可能与 DC-STAMP 高表达促进破骨细胞前体细胞融合有关^[32]。

2. OC-STAMP: OC-STAMP 是一种 6 次跨膜蛋白, 氨基端和羧基端均位于细胞内侧^[33]。OC-STAMP 编码基因结构上高度保守, 人类 OC-STAMP 与鼠 OC-STAMP 存在 74% 同源性以及 86% 相似性^[34]。RANKL/RANK 信号活化转录因子 NFATc1, 诱导 OC-STAMP 表达^[3]; 此外, 也有学者认为蛋白激酶 C β 和蛋白激酶 B 可能是 OC-STAMP 表达的主要信号调节分子^[35]。

OC-STAMP 主要出现在破骨细胞分化早期^[34-35]。与 DC-STAMP 相似, OC-STAMP 在破骨细胞融合过程中起重要作用。小干扰 RNA 以及抗体阻断 OC-STAMP 实验中, 破骨细胞融合明显受到抑制; OC-STAMP 过表达能够促进破骨细胞融合^[34]。Miyamoto 等^[3]建立 *Oc-stamp*^{-/-} 鼠模型, 发现 *Oc-stamp*^{-/-} 破骨细胞前体细胞无法融合。Witwicka 等^[33]通过逆转录病毒转导 *Dc-stamp*, *Dc-stmap* 敲除破骨细胞前体细胞能够进行融合。表明, OC-STAMP 在破骨细胞前体细胞融合过程中发挥重要作用, 但没有直接证据表明 OC-STAMP 能通过“融合桥”的形式联系两个融合的破骨细胞前体细胞。同时, OC-STAMP 能够通过 STAT6 通路调控巨噬细胞的表型转换^[36]。

研究表明, 溶血磷脂酸通过促进 OC-STAMP 以及 P2X7 受体的表达, 促进破骨细胞融合, 表明 OC-STAMP 可能与某些炎性骨破坏相关^[37]。在 *Oc-stamp*^{-/-} 小鼠牙周炎模型中, CD9 信使 RNA 水平下降, 骨破坏程度比野生型轻, 表明 OC-STAMP 可能联合 CD9 促进破骨细胞的融合, 从而形成牙周炎性病损^[38]。

3. ATP6v0d2: 囊泡型 ATP 酶是水解 ATP, 同时

在细胞内区室或跨质膜运输质子的一类蛋白质复合体。哺乳动物 V-ATPase 结构包括 2 个部分: 外周的 V1 以及与细胞膜相连的 V0。V0 包括 13 种亚型^[39]。其中 ATP6v0d2 不仅对维持封闭区的酸性环境起着重要作用, 而且参与破骨细胞融合。RANKL/RANK 信号活化转录因子 NFATc1, 诱导 *Atp6v0d2* 表达^[40]。

小鼠 *Atp6v0d2* 敲除实验中, 破骨细胞前体细胞融合明显受到抑制, 实验小鼠骨密度增加; *Atp6v0d2*^{-/-} 破骨细胞前体细胞与野生型破骨细胞前体细胞混合培养, 两者发生融合, 表明 ATP6v0d2 参与破骨细胞融合^[4]。有研究报道, ATP6v0d2 在破骨细胞前体细胞融合过程中的作用可能与解整合素金属蛋白酶 (a disintegrin and metalloproteinase, ADAM) 有关, 如 ADAM8 和 ADAM12^[4]。近期研究通过小干扰 RNA 阻断 ADAM12 表达, 但小鼠骨髓源性巨噬细胞能正常融合, 表明 ADAM12 可能与破骨细胞融合无关^[41]。

4. Syn-1: Syn-1 属于 I 型包膜病毒融合蛋白家族。Gong 等^[42]发现, Syn-1 与受体谷氨酰胺转运载体 (alanine-serine-cysteine transporter 2, ASCT2) 的结合, 通过诱导 Syn-1 跨膜亚基的构象变化, 使一系列疏水性氨基酸 (所谓的融合肽) 延伸到靶细胞膜中。这种渗透作用能够诱导蛋白质重新折叠成发夹状结构, 使两个细胞的脂质双层紧密接近并融合。

在人破骨细胞分化过程中, Syn-1 及受体 ASCT2 均表达^[42]。Syn-1 在破骨细胞表面分布与纤维肌动蛋白分布相同^[43]。Syn-1 主要促进多核 (细胞核 > 2 个) 破骨细胞前体细胞融合, 而抑制单核破骨细胞前体细胞融合; 并且“吞噬杯”是大部分 Syn-1 参与细胞融合的主要形式^[26, 43] (图 1)。研究发现, DC-STAMP 胞内端的免疫受体酪氨酸抑制基序调节细胞内钙离子浓度, 活化混杂酶 (scramblase), 使得磷脂酰丝氨酸暴露于破骨细胞细胞膜外层, 触发基于膜联蛋白的蛋白支架的组装, 调节 Syn-1 活性^[26-27]。

5. 钙粘蛋白: 钙粘蛋白属于跨膜糖蛋白超家族, 是一类钙离子依赖性的细胞黏附分子。根据共有特性和序列相似性, 分为经典钙粘蛋白、桥粒钙粘蛋白和原钙粘蛋白。其中参与细胞融合的钙粘蛋白主要为原钙粘蛋白 7 和 E-钙粘蛋白。

(1) 原钙粘蛋白 7: 原钙粘蛋白 7 是一种非簇集的原钙粘蛋白, 主要参与神经细胞、癌细胞的黏附和信号转导。Nakamura 等^[7]发现, 在破骨细胞分化过程中, RANKL 活化转录因子 NFAT, 促进原钙粘蛋白 7 基因表达; 原钙粘蛋白 7 基因敲低, MITF、DC-

STAMP、OC-STAMP 和 ATP6v0d2 表达明显降低,多核破骨细胞(细胞核 > 9 个)明显减少。表明,原钙粘蛋白 7 可能通过调控 MITF、DC-STAMP 等相关融合蛋白的表达,调节破骨细胞融合。

(2)E-钙粘蛋白:早期研究报道,E-钙粘蛋白抗体或者拮抗合成肽能阻止破骨细胞前体细胞融合^[44]。Fiorino 等^[6]在 RAW 264.7 细胞和原代骨髓源性巨噬细胞实验中,发现 E-钙粘蛋白出现在破骨细胞前体细胞融合前期,受 RANKL 诱导;小型破骨细胞前体细胞(细胞核 < 4 个)表面 E-钙粘蛋白表达量随着时间减少;在破骨细胞前体细胞融合前,对实验细胞使用 E-钙粘蛋白中和抗体,Trap、组织蛋白酶 K、Dc-stamp、Nfatc1 表达延迟,多核破骨细胞数量明显减少^[6]。Sun 等^[45]发现,E-钙粘蛋白参与破骨细胞前体细胞相互连接(图 1)。研究表明,单核细胞能利用口腔鳞状癌细胞表达的 E-钙粘蛋白,发生细胞融合,分化形成破骨细胞,造成骨质破坏^[46]。

6. CD:CD 是不同谱系的白细胞在正常分化成熟的不同阶段及活化过程中,出现或消失的细胞表面标记。它们是细胞膜上的一类蛋白质或糖蛋白。在破骨细胞分化过程中,部分 CD 分子亦参与破骨细胞融合调控。

(1)CD9:早期研究报道,CD9 和 CD81 抑制破骨细胞前体细胞融合:抗 CD9 和抗 CD81 抗体增强细胞融合;CD9^{-/-}或 CD81^{-/-}小鼠巨噬细胞表现出更强的融合能力,而 CD9^{-/-}和 CD81^{-/-}细胞能自发地进行融合^[47]。近期研究报道,CD9 能够抑制淋巴细胞功能抗原 1(LFA-1)聚集,抑制其黏附功能^[48]。这可能与 CD9 抑制破骨细胞前体细胞融合有关。然而,Ishii 等^[49]发现 CD9 能够促进破骨细胞前体细胞融合:抗 CD9 抗体及小干扰 RNA 抑制 CD9 表达,明显抑制 RAW264.7 细胞融合,多核破骨细胞样细胞明显减少;同时,不存在 RANKL 时,CD9 外源性过表达,RAW264.7 细胞能自发进行融合。CD9 在 RAW264.7 细胞融合前期分布于细胞突起,同时脂筏是 CD9 发挥作用必须的细胞膜微结构^[49](图 1)。CD9 可能通过负调节 p44/42 丝裂原活化蛋白激酶活化的强度和持续时间,支持破骨细胞前体细胞融合^[50]。

研究表明,卵巢切除术引起的骨质疏松症和胶原引起的关节炎所致骨侵蚀中,活化的破骨细胞表面存在大量 CD9^[51];CD9 稳定 IL-6 受体 gp130,激活 STAT3,促进破骨细胞分化,造成炎症骨破坏^[52-53]。OC-STAMP 通过上调 CD9,促进破骨细胞前体细胞

融合,从而促进牙周炎骨吸收^[38]。DOT1 样的组织蛋白 H3K79 甲基转移酶能够预防骨关节炎以及骨质疏松^[54-55]。研究表明,DOT1 样的组织蛋白 H3K79 甲基转移酶受到抑制时,CD9 表达升高,破骨细胞前体细胞融合能力增强,形成的破骨细胞骨表面积增大^[55]。表明 CD9 与 DOT1 样的组织蛋白 H3K79 甲基转移酶异常导致的骨关节炎以及骨质疏松存在相关性。

(2)CD47:CD47 是一种广泛表达的 50 kDa 蛋白,属于免疫球蛋白超家族。在破骨细胞分化早期,RANKL、M-CSF 诱导细胞核较少的破骨细胞前体细胞/破骨细胞表面表达 CD47^[56]。近来有研究报道,破骨细胞前体细胞在胶原蛋白表面比矿物质表面表达更多的 CD47,融合功能更强^[57]。CD47 与巨噬细胞融合受体相互作用,调节破骨细胞前体细胞融合^[5]。CD47^{-/-}破骨细胞体积比野生型破骨细胞小,细胞核少^[58]。CD47 主要参与单核破骨细胞前体细胞融合,“宽接触面”是 CD47 作用的主要形式^[26](图 1)。也有学者认为,信号调节蛋白 α (即巨噬细胞融合蛋白)与 CD47 相互作用仅参与细胞识别,而不参与细胞融合^[59]。

(3)CD109:CD109 是约 170 kDa 的糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白,属于含硫酯的蛋白 $\alpha 2$ -巨球蛋白/C3、C4、C5 家族。CD109 是转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)的共受体,当它与 TGF- β 1 亚型结合时,与受体形成异源复合物,抑制 TGF- β 信号^[60-61]。研究表明,在体外实验中,RANKL 能诱导单核破骨细胞前体细胞表达 CD109。破骨细胞前体细胞融合过程中,CD109 表达增加。CD109 表达受到抑制时,多核破骨细胞减少^[62]。但近期研究报道,CD109^{-/-}模型小鼠骨量低于野生型;血清中骨吸收标记物(I 型胶原氨基末端肽)以及骨形成标记物(碱性磷酸酶)明显升高;CD109^{-/-}破骨细胞体积巨大、细胞核多、类似成熟的破骨细胞;骨质破坏速度比骨形成快,表现出骨质酥松样骨改变^[63]。CD109 敲除可能通过 TGF- β 信号通路诱导体内骨代谢异常,而 CD109 在体外可能通过 TGF- β 信号通路非依赖性机制调节破骨细胞分化^[62,64]。这导致了体内实验和体外实验的差异。

(4)CD200:CD200 属于免疫球蛋白超家族,表达于不同类型的小鼠以及人类细胞。CD200 受体主要表达于髓系细胞。Cui 等^[65]首次发现在破骨细胞前体细胞融合初期,RANKL 诱导 CD200 表达;CD200^{-/-}破骨细胞前体细胞无法正常融合、破骨细

胞数量少,实验小鼠骨质密度增加;CD200-CD200受体轴可能通过影响RANK信号通路中c-Jun氨基末端激酶活化,调节破骨细胞前体细胞融合。近期有研究报道,外源性CD200以及间充质干细胞表达的CD200,通过抑制RANKL诱导的丝裂原活化蛋白激酶信号通路,抑制破骨细胞的形成^[66-67]。

7. 其他破骨细胞融合蛋白:除上述蛋白外,ADAM8、ADAM9也参与破骨细胞融合^[68-69]。其中ADAM8在牙周炎患者龈沟液浓度高于正常人,表明ADAM8可能与牙周炎具有相关性^[70]。研究表明,四跨膜蛋白Tspan-5能够促进破骨细胞融合^[71]。骨硬化症相关跨膜蛋白(osteopetrosis-associated transmembrane protein 1, OSTM1)能够抑制破骨细胞融合蛋白的表达,抑制破骨细胞融合^[72]。

三、小结

破骨细胞融合是一个动态的过程,涉及细胞移动、细胞骨架重构、细胞识别、细胞膜融合、细胞质混合,最终进一步分化为成熟破骨细胞。在生理状态下,破骨细胞和成骨细胞维持骨改建平衡。当机体处于病理状态,如类风湿性关节炎、牙周炎等,DC-STAMP、OC-STAMP、CD9等破骨细胞融合蛋白表达异常,导致破骨细胞过度融合,造成溶骨性破坏。现阶段,破骨细胞融合蛋白在细胞融合过程中的作用机制仍未阐明,进一步研究破骨细胞融合的机制对于治疗骨破坏性疾病具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Levaot N, Ottolenghi A, Mann M, et al. Osteoclast fusion is initiated by a small subset of RANKL-stimulated monocyte progenitors, which can fuse to RANKL-unstimulated progenitors [J]. Bone, 2015, 79: 21-28. DOI: 10.1016/j.bone.2015.05.021.
- [2] Chiu YH, Ritchlin CT. DC-STAMP: A Key Regulator in Osteoclast Differentiation [J]. J Cell Physiol, 2016, 231 (11): 2402-2407. DOI: 10.1002/jcp.25389.
- [3] Miyamoto H, Suzuki T, Miyauchi Y, et al. Osteoclast stimulatory transmembrane protein and dendritic cell-specific transmembrane protein cooperatively modulate cell-cell fusion to form osteoclasts and foreign body giant cells [J]. J Bone Miner Res, 2012, 27(6): 1289-1297. DOI: 10.1002/jbmr.1575.
- [4] Lee SH, Rho J, Jeong D, et al. v-ATPase V0 subunit d2-deficient mice exhibit impaired osteoclast fusion and increased bone formation [J]. Nat Med, 2006, 12(12): 1403-1409. DOI: 10.1038/nm1514.
- [5] Lundberg P, Koskinen C, Baldock PA, et al. Osteoclast formation is strongly reduced both in vivo and in vitro in the absence of CD47/SIRP α -interaction [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 352(2): 444-448. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.11.057.

- [6] Fiorino C, Harrison RE. E-cadherin is important for cell differentiation during osteoclastogenesis [J]. Bone, 2016, 86: 106-118. DOI: 10.1016/j.bone.2016.03.004.
- [7] Nakamura H, Nakashima T, Hayashi M, et al. Global epigenomic analysis indicates protocadherin-7 activates osteoclastogenesis by promoting cell-cell fusion [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 455(3-4): 305-311. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.11.009.
- [8] Lee JH, Hsieh CF, Liu HW, et al. Lipid raft-associated stomatin enhances cell fusion [J]. FASEB J, 2017, 31(1): 47-59. DOI: 10.1096/fj.201600643R.
- [9] Liao HJ, Tsai HF, Wu CS, et al. TRAIL inhibits RANK signaling and suppresses osteoclast activation via inhibiting lipid raft assembly and TRAF6 recruitment [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(2): 77. DOI: 10.1038/s41419-019-1353-3.
- [10] Takahashi A, Kukita A, Li YJ, et al. Tunneling nanotube formation is essential for the regulation of osteoclastogenesis [J]. J Cell Biochem, 2013, 114(6): 1238-1247. DOI: 10.1002/jcb.24433.
- [11] Dupont M, Souriant S, Lugo-Villarino G, et al. Tunneling Nanotubes: Intimate Communication between Myeloid Cells [J]. Front Immunol, 2018, 9: 43. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00043.
- [12] Pennanen P, Alanne MH, Fazeli E, et al. Diversity of actin architecture in human osteoclasts: network of curved and branched actin supporting cell shape and intercellular micrometer-level tubes [J]. Mol Cell Biochem, 2017, 432(1): 131-139. DOI: 10.1007/s11010-017-3004-2.
- [13] Takito J, Nakamura M. Precursors linked via the zipper-like structure or the filopodium during the secondary fusion of osteoclasts [J]. Commun Integr Biol, 2012, 5(5): 453-457. DOI: 10.4161/cib.20980.
- [14] Takito J, Otsuka H, Inoue S, et al. Symmetrical retrograde actin flow in the actin fusion structure is involved in osteoclast fusion [J]. Biol Open, 2017, 6(7): 1104-1114. DOI: 10.1242/bio.025460.
- [15] Wang D, Gu J, Feng L, et al. 1- α , 25-dihydroxyvitamin D₃ potentiates avian osteoclast activation by increasing the formation of zipper-like structure via Src/Rac1 signaling [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 501(2): 576-583. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.05.048.
- [16] Fu J, Li S, Feng R, et al. Multiple myeloma-derived MMP-13 mediates osteoclast fusion and osteolytic disease [J]. J Clin Invest, 2016, 126(5): 1759-1772. DOI: 10.1172/JCI80276.
- [17] Arioka M, Takahashi-Yanaga F, Tatsumoto N, et al. Inorganic phosphate-induced impairment of osteoclast cell-cell fusion by the inhibition of AP-1-mediated DC-STAMP expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 493(1): 9-13. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.09.096.
- [18] Islam R, Bae HS, Yoon WJ, et al. Pin1 regulates osteoclast fusion through suppression of the master regulator of cell fusion DC-STAMP [J]. J Cell Physiol, 2014, 229(12): 2166-2174. DOI: 10.1002/jcp.24679.
- [19] Islam R, Yoon WJ, Ryoo HM. Pin1, the Master Orchestrator of

- Bone Cell Differentiation[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(9):2339-2347. DOI:10.1002/jcp.25442.
- [20] Kanemoto S, Kobayashi Y, Yamashita T, et al. Luman is involved in osteoclastogenesis through the regulation of DC-STAMP expression, stability and localization [J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(23):4353-4365. DOI:10.1242/jcs.176057.
- [21] Zeng Z, Zhang C, Chen J. Lentivirus-mediated RNA interference of DC-STAMP expression inhibits the fusion and resorptive activity of human osteoclasts [J]. *J Bone Miner Metab*, 2013, 31(4):409-416. DOI:10.1007/s00774-013-0434-0.
- [22] Wisitrasameewong W, Kajiya M, Movila A, et al. DC-STAMP Is an Osteoclast Fusogen Engaged in Periodontal Bone Resorption [J]. *J Dent Res*, 2017, 96(6):685-693. DOI:10.1177/0022034517690490.
- [23] Iwasaki R, Ninomiya K, Miyamoto K, et al. Cell fusion in osteoclasts plays a critical role in controlling bone mass and osteoblastic activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 377(3):899-904. DOI:10.1016/j.bbrc.2008.10.076.
- [24] Mensah KA, Ritchlin CT, Schwarz EM. RANKL induces heterogeneous DC-STAMP(lo) and DC-STAMP(hi) osteoclast precursors of which the DC-STAMP(lo) precursors are the master fusogens [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 223(1):76-83. DOI:10.1002/jcp.22012.
- [25] Sørensen K, Hobolt-Pedersen AS, Delaisse JM. The elementary fusion modalities of osteoclasts [J]. *Bone*, 2015, 73:181-189. DOI:10.1016/j.bone.2014.12.010.
- [26] Chiu YH, Schwarz E, Li D, et al. Dendritic Cell-Specific Transmembrane Protein (DC-STAMP) Regulates Osteoclast Differentiation via the Ca^{2+} /NFATc1 Axis [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(9):2538-2549. DOI:10.1002/jcp.25638.
- [27] Møller AM, Delaisse JM, Sørensen K. Osteoclast Fusion: Time-Lapse Reveals Involvement of CD47 and Syncytin-1 at Different Stages of Nucleation [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(6):1396-1403. DOI:10.1002/jcp.25633.
- [28] Verma SK, Leikina E, Melikov K, et al. Cell-surface phosphatidylserine regulates osteoclast precursor fusion [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(1):254-270. DOI:10.1074/jbc.M117.809681.
- [29] Belibasakis GN, Emingil G, Saygan B, et al. Gene expression of transcription factor NFATc1 in periodontal diseases [J]. *APMIS*, 2011, 119(3):167-172. DOI:10.1111/j.1600-0463.2010.02706.x.
- [30] Laurier E, Amiable N, Gagnon E, et al. Effect of a rare genetic variant of TM7SF4 gene on osteoclasts of patients with Paget's disease of bone [J]. *BMC Med Genet*, 2017, 18(1):133. DOI:10.1186/s12881-017-0495-3.
- [31] Sultana MA, Pavlos NJ, Ward L, et al. Targeted sequencing of DCSTAMP in familial Paget's disease of bone [J]. *Bone Rep*, 2019, 10:100198. DOI:10.1016/j.bonr.2019.100198.
- [32] Gross C, Weber M, Creutzburg K, et al. Osteoclast profile of medication-related osteonecrosis of the jaw secondary to bisphosphonate therapy: a comparison with osteoradionecrosis and osteomyelitis [J]. *J Transl Med*, 2017, 15(1):128. DOI:10.1186/s12967-017-1230-8.
- [33] Witwicka H, Hwang SY, Reyes-Gutierrez P, et al. Studies of OC-STAMP in Osteoclast Fusion: A New Knockout Mouse Model, Rescue of Cell Fusion, and Transmembrane Topology [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(6):e0128275. DOI:10.1371/journal.pone.0128275.
- [34] Yang M, Birnbaum MJ, MacKay CA, et al. Osteoclast stimulatory transmembrane protein (OC-STAMP), a novel protein induced by RANKL that promotes osteoclast differentiation [J]. *J Cell Physiol*, 2008, 215(2):497-505. DOI:10.1002/jcp.21331.
- [35] Kim MH, Park M, Baek SH, et al. Molecules and signaling pathways involved in the expression of OC-STAMP during osteoclastogenesis [J]. *Amino Acids*, 2011, 40(5):1447-1459. DOI:10.1007/s00726-010-0755-4.
- [36] Yuan H, He J, Zhang G, et al. Osteoclast stimulatory transmembrane protein induces a phenotypic switch in macrophage polarization suppressing an M1 pro-inflammatory state [J]. *Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai)*, 2017, 49(10):935-944. DOI:10.1093/abbs/gmx092.
- [37] Hwang YS, Ma GT, Park KK, et al. Lysophosphatidic acid stimulates osteoclast fusion through OC-STAMP and P2X7 receptor signaling [J]. *J Bone Miner Metab*, 2014, 32(2):110-122. DOI:10.1007/s00774-013-0470-9.
- [38] Ishii T, Ruiz-Torruella M, Ikeda A, et al. OC-STAMP promotes osteoclast fusion for pathogenic bone resorption in periodontitis via up-regulation of permissive fusogen CD9 [J]. *FASEB J*, 2018, 32(7):4016-4030. DOI:10.1096/fj.201701424R.
- [39] Mazhab-Jafari MT, Rohou A, Schmidt C, et al. Atomic model for the membrane-embedded VO motor of a eukaryotic V-ATPase [J]. *Nature*, 2016, 539(7627):118-122. DOI:10.1038/nature19828.
- [40] Kim K, Lee SH, Ha Kim J, et al. NFATc1 induces osteoclast fusion via up-regulation of Atp6v0d2 and the dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP) [J]. *Mol Endocrinol*, 2008, 22(1):176-185. DOI:10.1210/me.2007-0237.
- [41] Zhao X, Ning L, Xie Z, et al. The Novel p38 Inhibitor, Pamapimod, Inhibits Osteoclastogenesis and Counteracts Estrogen-Dependent Bone Loss in Mice [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(5):911-922. DOI:10.1002/jbmr.3655.
- [42] Gong R, Peng X, Kang S, et al. Structural characterization of the fusion core in syncytin, envelope protein of human endogenous retrovirus family W [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 331(4):1193-1200. DOI:10.1016/j.bbrc.2005.04.032.
- [43] Sørensen K, Andersen TL, Hobolt-Pedersen AS, et al. Involvement of human endogenous retroviral syncytin-1 in human osteoclast fusion [J]. *Bone*, 2011, 48(4):837-846. DOI:10.1016/j.bone.2010.11.011.
- [44] Mbalaviele G, Chen H, Boyce BF, et al. The role of cadherin in the generation of multinucleated osteoclasts from mononuclear precursors in murine marrow [J]. *J Clin Invest*, 1995, 95(6):2757-2765. DOI:10.1172/JCI117979.
- [45] Sun Q, Liu C, Bai X, et al. Cell-substrate traction force regulates the fusion of osteoclast precursors through cell-cell interaction [J]. *Biomech Model Mechanobiol*, 2020, 19(2):481-492. DOI:10.1007/s10237-019-01223-4.

- [46] Quan J, Du Q, Hou Y, et al. Utilization of E-cadherin by monocytes from tumour cells plays key roles in the progression of bone invasion by oral squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2017,38(2):850-858. DOI:10.3892/or.2017.5749.
- [47] Takeda Y, Tachibana I, Miyado K, et al. Tetraspanins CD9 and CD81 function to prevent the fusion of mononuclear phagocytes[J]. *J Cell Biol*, 2003, 161 (5) : 945 - 956. DOI: 10.1083/jcb.200212031.
- [48] Reyes R, Monjas A, Yáñez-Mó M, et al. Different states of integrin LFA-1 aggregation are controlled through its association with tetraspanin CD9[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015,1853(10 Pt A):2464-2480. DOI:10.1016/j.bbamer.2015.05.018.
- [49] Ishii M, Iwai K, Koike M, et al. RANKL-induced expression of tetraspanin CD9 in lipid raft membrane microdomain is essential for cell fusion during osteoclastogenesis[J]. *J Bone Miner Res*, 2006,21(6):965-976. DOI:10.1359/jbmr.060308.
- [50] Yi T, Kim HJ, Cho JY, et al. Tetraspanin CD9 regulates osteoclastogenesis via regulation of p44/42 MAPK activity[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006,347(1):178-184. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.06.061.
- [51] Iwai K, Ishii M, Ohshima S, et al. Abundant expression of tetraspanin CD9 in activated osteoclasts in ovariectomy-induced osteoporosis and in bone erosions of collagen-induced arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2008, 28(3):225-231. DOI:10.1007/s00296-007-0424-4.
- [52] Shi Y, Zhou W, Cheng L, et al. Tetraspanin CD9 stabilizes gp130 by preventing its ubiquitin-dependent lysosomal degradation to promote STAT3 activation in glioma stem cells[J]. *Cell Death Differ*, 2017,24(1):167-180. DOI:10.1038/cdd.2016.110.
- [53] Hu J, Li X, Chen Y, et al. The protective effect of WKYMVm peptide on inflammatory osteolysis through regulating NF- κ B and CD9/gp130/STAT3 signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020,24(2):1893-1905. DOI:10.1111/jcmm.14885.
- [54] Monteagudo S, Cornelis FMF, Aznar-Lopez C, et al. DOT1L safeguards cartilage homeostasis and protects against osteoarthritis[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:15889. DOI:10.1038/ncomms15889.
- [55] Gao Y, Ge W. The histone methyltransferase DOT1L inhibits osteoclastogenesis and protects against osteoporosis[J]. *Cell Death Dis*, 2018,9(2):33. DOI:10.1038/s41419-017-0040-5.
- [56] Hobolt-Pedersen AS, Delaissé JM, Sørensen K. Osteoclast fusion is based on heterogeneity between fusion partners[J]. *Calcif Tissue Int*, 2014,95(1):73-82. DOI:10.1007/s00223-014-9864-5.
- [57] Sørensen K, Andersen TL, Hinge M, et al. Coordination of Fusion and Trafficking of Pre-osteoclasts at the Marrow-Bone Interface[J]. *Calcif Tissue Int*, 2019, 105(4):430-445. DOI:10.1007/s00223-019-00575-4.
- [58] Koduru SV, Sun B, Walker JM, et al. The contribution of cross-talk between the cell-surface proteins CD36 and CD47-TSP-1 in osteoclast formation and function[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(39):15055-15069. DOI:10.1074/jbc.RA117.000633.
- [59] Ishii M, Saeki Y. Osteoclast cell fusion: mechanisms and molecules[J]. *Mod Rheumatol*, 2008, 18(3):220-227. DOI:10.1007/s10165-008-0051-2.
- [60] Sunagawa M, Mii S, Enomoto A, et al. Suppression of skin tumorigenesis in CD109-deficient mice[J]. *Oncotarget*, 2016,7(50):82836-82850. DOI:10.18632/oncotarget.12653.
- [61] Zhang JM, Murakumo Y, Hagiwara S, et al. CD109 attenuates TGF- β 1 signaling and enhances EGF signaling in SK-MG-1 human glioblastoma cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015,459(2):252-258. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.02.093.
- [62] Wang Y, Inger M, Jiang H, et al. CD109 plays a role in osteoclastogenesis[J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(4):e61213. DOI:10.1371/journal.pone.0061213.
- [63] Mii S, Hoshino A, Enomoto A, et al. CD109 deficiency induces osteopenia with an osteoporosis-like phenotype in vivo[J]. *Genes Cells*, 2018,23(7):590-598. DOI:10.1111/gtc.12593.
- [64] Fennen M, Pap T, Dankbar B. Smad-dependent mechanisms of inflammatory bone destruction[J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(1):279. DOI:10.1186/s13075-016-1187-7.
- [65] Cui W, Cuatrecasas E, Ke J, et al. CD200 and its receptor, CD200R, modulate bone mass via the differentiation of osteoclasts[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(36):14436-14441. DOI:10.1073/pnas.0702811104.
- [66] Varin A, Pontikoglou C, Labat E, et al. CD200R/CD200 inhibits osteoclastogenesis: new mechanism of osteoclast control by mesenchymal stem cells in human[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e72831. DOI:10.1371/journal.pone.0072831.
- [67] Guo Y, Yuan Y, Wu L, et al. BMP-IHH-mediated interplay between mesenchymal stem cells and osteoclasts supports calvarial bone homeostasis and repair[J]. *Bone Res*, 2018,6(1):30. DOI:10.1038/s41413-018-0031-x.
- [68] Choi SJ, Han JH, Roodman GD. ADAM8: a novel osteoclast stimulating factor[J]. *J Bone Miner Res*, 2001,16(5):814-822. DOI:10.1359/jbmr.2001.16.5.814.
- [69] Namba K, Nishio M, Mori K, et al. Involvement of ADAM9 in multinucleated giant cell formation of blood monocytes[J]. *Cell Immunol*, 2001,213(2):104-113. DOI:10.1006/cimm.2001.1873.
- [70] Elavarasu S, Suthanthiran T, Thangavelu A, et al. Comparative analysis of gingival crevicular fluid a disintegrin and metalloproteinase 8 levels in health and periodontal disease: A clinic-biochemical study[J]. *J Pharm Bioallied Sci*, 2015, 7(Suppl2):S470-S473. DOI:10.4103/0975-7406.163507.
- [71] Iwai K, Ishii M, Ohshima S, et al. Expression and function of transmembrane-4 superfamily (tetraspanin) proteins in osteoclasts: reciprocal roles of tspan-5 and NET-6 during osteoclastogenesis[J]. *Allergol Int*, 2007,56(4):457-463. DOI:10.2332/allergolint.0-07-488.
- [72] Pata M, Vacher J. Ostm1 Bifunctional Roles in Osteoclast Maturation: Insights From a Mouse Model Mimicking a Human OSTM1 Mutation[J]. *J Bone Miner Res*, 2018,33(5):888-898. DOI:10.1002/jbmr.3378.

(收稿日期:2020-02-27)

(本文编辑:王嫚)