

压电通道蛋白 1 调节激素性股骨头坏死大鼠的成骨细胞凋亡与血管生成

何智军^{1,2△} 何伟³ 洪志楠³ 李子祺³ 魏秋实³ 陈晓俊⁴ 颜新昊⁴

[摘要] 目的:探讨压电通道蛋白 1(Piezol)对激素性股骨头坏死(Osteonecrosis of the Femoral Head, ONFH)大鼠成骨细胞凋亡与血管生成的影响与机制。方法:48 只成年雄性 Wistar 大鼠(12 周龄)分为 4 组(每组 12 只):类固醇激素(Steroid,STE)联合 Piezol 沉默载体(siRNA-Piezol, siP1)组(STE+siP1 组),STE 联合沉默载体阴性对照组(STE+siNC 组),STE 组及对照组。收集股骨头骨组织, TUNEL 法检测凋亡率,三维微血管造影观察股骨头血管量的变化,qPCR 检测 Piezol、凋亡标志物 Bax、Caspase-3、Bcl-2 的 mRNA 表达量,蛋白免疫印迹法检测 Piezol、血管生成标志物 VEGFR2、CD3 和 Yap1/ β -catenin 信号蛋白的表达量。重组人 YAP1 蛋白(Rh-YAP1)及 β -catenin 激活剂(ICG-001)分别处理成骨细胞系(hFOB1.19)和脐静脉内皮细胞系(HUVEC)细胞。TUNEL 法检测 hFOB1.19 的凋亡率,管状结构形成实验评估 HUVEC 的血管生成。结果:siP1 成功抑制 ONFH 大鼠模型中股骨头组织 Piezol 的表达,且 siP1 抑制股骨头组织的凋亡率和凋亡标志物的表达量,部分恢复 ONFH 模型中损失的股骨头血管量,并上调血管新生标志物水平。siP1 抑制 Yap1 和 β -catenin 蛋白的表达。使用 Rh-YAP1 和 ICG-001 激活 Yap1/ β -catenin 信号通路,导致 hFOB1.19 的凋亡明显增加,但是 HUVEC 细胞的血管新生能力降低。结论:ONFH 模型中,沉默 Piezol 通过抑制 Yap1/ β -catenin 信号通路改善成骨细胞凋亡并促进血管生成。

[关键词] 压电通道蛋白 1;Yes 相关蛋白 1/ β -连环蛋白信号通路;激素性股骨头坏死;凋亡;血管生成

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2021)11-0001-06

Piezol Regulates Osteoblast Apoptosis and Angiogenesis in Rats with Steroid-Induced Femoral Head Necrosis

HE Zhijun^{1,2△} HE Wei³ HONG Zhinan³ LI Ziqi³ WEI Qiushi³
CHEN Xiaojun⁴ YAN Xinhao⁴

¹ Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

² Department of the First Orthopedics, Panyu District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 511400, China;

³ Department of Arthrology, The Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 511400, China;

⁴ First Clinical Medical College, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine Guangzhou 511400, China.

Abstract Objective: To explore efficacy and mechanism of Piezol, a mechanical sensitivity channel, on osteoblast apoptosis and angiogenesis in steroid-induced osteonecrosis of femoral head (ONFH) rats. **Methods:** 48 adult male Wistar rats (12 weeks old) were divided into 4 groups ($n=12$), including steroid hormones (steroid, STE) combined with Piezol silencing carrier (siRNA-Piezol, siP1) group (STE+siP1 group), STE combined with silence negative control group

(STE+siNC group), STE group and control group. Femoral head osseous tissue was collected after treated. The apoptosis rate was detected by TUNEL method. The changes in amount of blood vessels in femoral head was observed by three-dimensional microangiography. The mRNA expression of Piezol, apoptosis markers Bax, Caspase-3, and Bcl-2 were detected by qPCR method. Western Blot was used to

基金项目:国家自然科学基金项目(81873327)

¹ 广州中医药大学(广州,510006)

² 广州市番禺区中医院骨伤一科

³ 广州中医药大学第三附属医院关节科

⁴ 广州中医药大学第一临床医学院

△通信作者 E-mail:h413366714@163.com

detect the expression of Piezo1, angiogenesis markers VEGFR2, CD3 and Yap1/ β -catenin signaling protein. The cells of human osteoblastic cell line (hFOB1.19) and umbilical vein endothelial cell line (HUVEC) were treated with recombinant human YAP1 protein (Rh-YAP1) and β -catenin activator (ICG-001) respectively. TUNEL method was used to detect apoptosis rate of hFOB1.19. Tube structure formation experiment was used to evaluate angiogenesis ability of HUVEC.

Results: SiP1 successfully inhibited the expression of Piezo1 in femoral head tissue in ONFH rat model. It also inhibited the apoptotic rate of femoral head tissue and the expression of apoptosis markers, partially restored the loss of femoral head blood vessels in ONFH model, and up-regulated the angiogenesis Marker level. SiP1 inhibited the expression of Yap1 and β -catenin protein. Using Rh-YAP1 and ICG-001 to activate Yap1/ β -catenin signaling pathway resulted in a significant increase in apoptosis of hFOB1.19, but the angiogenesis ability of HUVEC cells was decreased. **Conclusion:** In ONFH model, silencing Piezo1 can improve osteoblast apoptosis and promote angiogenesis by inhibiting Yap1/ β -catenin signaling pathway.

Keywords: Piezo1; Yap1/ β -catenin signaling pathway; hormone-induced femoral head necrosis; apoptosis; angiogenesis

临床上股骨头坏死 (Osteonecrosis of Femoral Head, ONFH) 与过度使用皮质类固醇密切相关, 导致骨细胞凋亡和股骨头结构完整性丧失, 并破坏骨血管组织^[1-2]。压电通道蛋白 1 (Piezoelectric channel protein 1, Piezo1) 是骨骼发育和成骨细胞分化所需的关键生物力传感器之一, 其功能的发挥与 Yes 相关蛋白 1 (Yes associated protein 1, Yap1) 密切相关^[3]。Piezo1 缺失可抑制成骨细胞分化, 还改善在发育过程中的骨骼损失, 因为 Piezo1 激活可诱导 Yap1 和转录因子 β -连环蛋白 (β -catenin) 的表达并活化 Yap1/ β -catenin 信号^[4]。然而, Piezo1 在皮质类固醇诱导 ONFH 中的表达情况及对骨细胞凋亡和血管生成的调节作用并不明确。

本研究通过类固醇诱导 ONFH 动物模型, 研究沉默 Piezo1 对 ONFH 发生的影响并探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组处理

48 只成年雄性 Wistar 大鼠 (12 周龄) 购于广州中医药大学实验动物中心。每只动物饲养环境为 55 cm \times 35 cm \times 26 cm 的有机玻璃笼子中, 光照/黑暗周期 12 h/12 h, 温度 24~25 $^{\circ}$ C, 湿度 50%~55%。动物自由采食饮水。所有实验方案均遵守美国国立卫生研究院出版的《实验动物的护理和使用指南》, 并经本院动物研究伦理委员会批准。

经过完全随机法将所有大鼠分为 4 组, 各 12 只。1) 类固醇激素 + siP1 组 (STE + siP1 组): 在第 1 天用 1.5 mL 注射器于大鼠股骨远端松质骨富集处垂直骨面进针, 髓腔注射 siP1 的体内转染复合物 50 μ L, 注射完 2 h 后和 24 h 后静脉注射 1.8 mg/kg 的 LPS, 并于第 3, 4, 5, 6, 7 天肌肉注射 25 mg/kg 甲基强的松龙, 以促进股骨头坏死的发展, 在第 15 天再次髓腔注射 50 μ L siP1 体内转染复合物。2) 类固醇激素 + siNC 组 (STE + siNC 组): 将髓腔注射的 siP1 替换为

等量的 siNC 的体内转染复合物, 其余步骤和 1) 一致。3) 类固醇激素组 (STE 组): 在第 1 天用 1.5 mL 注射器于大鼠股骨远端松质骨富集处垂直骨面进针, 髓腔注射生理盐水 50 μ L, 注射完 2 h 后和 24 h 后静脉注射 1.8 mg/kg 的 LPS, 并于第 3, 4, 5, 6, 7 天肌肉注射 25 mg/kg 甲基强的松龙, 以促进股骨头坏死的发展, 在第 15 天再次髓腔注射 50 μ L 生理盐水。4) 对照组, 与 1) 相同模式相同时间点, 用 0.9% 生理盐水替代 siPiezo1、LPS、甲泼尼龙。最后一次注射甲基强的松龙 21 d 后, 断颈法处死动物。每组随机收集 6 只股骨头骨新鲜组织用于表达检测及制作切片。

在 4% 低聚甲醛-0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH7.4) 中固定 24 h 后, 用 10% 乙二胺四乙酸-0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH7.4) 将股骨脱钙 5 周。脱钙后, 将组织在梯度乙醇中脱水, 包埋在石蜡中, 沿冠状平面切成 4 μ m 厚的切片。

1.2 试剂与耗材

Piezo1 siRNA (siPiezo1, siP1) 和 siRNA 阴性对照 (siNC) 购于上海 Genechem 公司。甲基强的松龙购于大连辉瑞制药。杜氏改良培养液 (Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM)/F-12、青霉素、链霉素均购于上海碧云天生物科技有限公司。人成骨细胞系 (hFOB1.19) 和脐静脉内皮细胞系 (HUVEC) 购于武汉普诺赛生物科技有限公司。重组人 YAP1 蛋白 (Rh-YAP1) 购于美国 Abcam 公司。 β -catenin 激活剂 (ICG-001) 购于美国 MedChemExpress 公司。PrimeScript RT 试剂盒购于大连 TaKaRa 公司。PCR 仪购于北京 Eastwin 生命科学公司。SYBR Green 酶购于深圳富酶泰斯有限公司。Eco Real-Time PCR 系统购于上海 Illumina 公司。裂解缓冲液购于上海碧云天生物技术研究。兔抗 VEGFR2、CD3、Yap1、 β -catenin 抗体购于美国 Abcam 公司。末端标记 (Terminal-deoxynucleotidyl Transferase Mediated Nick End Labeling, TUNEL) 试剂

购于南京凯基生物技术公司。

1.3 细胞培养和处理

人成骨细胞系 hFOB1.19 和脐静脉内皮细胞系 (HUVEC) 均培养于 DMEM/F-12 培养基 (20% 的 BSA、50 U/mL 青霉素、50 μg/mL 链霉素)。分别使用 1.0 μmol/L 重组人 YAP1 蛋白 (Rh-YAP1) 及 2.5 μmol/L 的 β-catenin 激活剂 (ICG-001) 处理 hFOB1.19 细胞和 HUVEC 细胞 24 h。收集细胞进行后续实验。

1.4 方法

1.4.1 TUNEL 分析 通过 TUNEL 检测试剂盒检测股骨头组织及所培养 hFOB 1.19 细胞的凋亡。骨组织中具有棕色核的细胞被评估为阳性。对 hFOB 1.19 细胞则统计 TUNEL 阳性细胞核的数量和总细胞核数。每组随机选择五个高倍视野 (×200) 来评估凋亡细胞的百分比 (凋亡率)。

1.4.2 实时定量 PCR (qPCR) 用 Trizol 试剂从大鼠的股骨头中提取总 RNA, 检测 260 nm (A260) 的吸光度来定量 RNA 的浓度, 通过确定 A260/A280 比例评估 RNA 的纯度。提取的总 RNA (0.84 μg) 用 PrimeScript RT 试剂盒在 PCR 仪上反转录合成 cDNA (反转录 PCR 反应条件: 16 °C 0.5 h, 41 °C 0.5 h, 85 °C 5 min, 4 °C 循环), cDNA 在 4 °C 下保存。在 PCR 扩增之前, 将 cDNA 保持在 -20 °C。qPCR 反应在 20 μL 含有引物和 SYBR Green 酶反应体系的 48 孔光学 PCR 板中进行, 条件为在 94 °C 下预变性 4 min, 然后在 94 °C 下再次变性 45 个循环, 在 60 °C 下退火 2 min, 并在 75 °C 下延伸 1 min。目标基因和内参基因 GAPDH 同板扩增, 计算 CT 值, 并使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对表达量。实验设置 6 个复孔, 并且重复 3 次。实时定量 PCR 引物序列见表 1。

表 1 实时定量 PCR 引物序列

基因	引物序列
Piezo1	正: 5'-CGTGGTCCTTCGACTAGAC-3'
	反: 5'-TCAAGGAGCAGAGCGCATCT-3'
Bax	正: 5'-GGCGATGAACCTGGACAACAA-3'
	反: 5'-CAAAGTAGAAAAGGGCAACC-3'
Bcl-2	正: 5'-GGTGAACCTGGGGGAGGATTG-3'
	反: 5'-GCATGCTGGGGCCATATAGT-3'
Caspase3	正: 5'-GGACCTGTGGACCTGAAAAA-3'
	反: 5'-GCATGCCATATCATCGTCAG-3'
GAPDH	正: 5'-GACAGTAGACATGACACCGT-3'
	反: 5'-CATAGCTAGTACAGGGCACCG-3'

1.4.3 蛋白质免疫印迹 组织样本: 将股骨头磨成粉状, 在冷的含苯甲基磺酰氟的 RIPA 裂解缓冲液中

匀浆。细胞样本: 收集 2 组的 HUVEC 细胞, 经过超声裂解。以上样品经过与上样缓冲液混合, 沸水浴中煮 5 min, 然后在 -20 °C 下保存直至用于电泳。用 12% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶分离蛋白质, 并转移至聚偏二氟乙烯膜 (Millipore Corporation, Bedford, 马萨诸塞州, 美国) 上。用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后, 将膜与兔抗 Piezo1 (1:500)、血管生成标志物 VEGFR2 (1:600)、CD3 (1:800) 和 Yap1 (1:800)、β-catenin (1:600) 蛋白第一抗体在 4 °C 下孵育过夜, 而在 25 °C 下与辣根过氧化物酶偶联的二抗 (1:50 000, 武汉博斯特生物技术有限公司) 孵育 2 h。使用 Super Signal West Pico 化学发光底物 (Thermo Fisher Scientific Inc., 马萨诸塞州, 美国) 对膜上的蛋白进行显色, 通过 Geliance 200 Imaging System 进行拍照。使用 Image J 软件分析条带灰度值。GAPDH 作为的内参蛋白。实验重复 3 次。

1.4.4 管状结构形成实验 将 HUVEC 细胞使用 1.0 μmol/L Rh-YAP1 及 2.5 μmol/L 的 ICG-001 处理 24 h, 并以 5×10^3 /孔的密度接种在 Matrigel 包被的 12 孔板中, 在 37 °C 条件下孵育。16 h 后, 每孔拍摄 5 张照片。使用 Image J 软件测量细胞形成的总小管长度, 每组实验 3 个复孔。

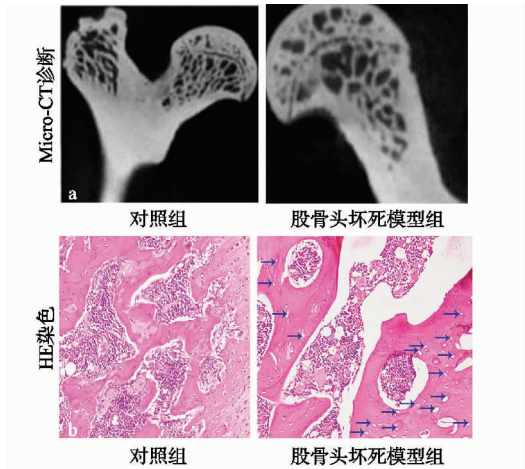
1.5 统计学方法

每组的数值数据表示为 $\bar{x} \pm s$ 形式, 使用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。采用单因素方差分析事后检验统计组之间的差异显著性, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 股骨头坏死大鼠模型

Micro-CT 和 HE 染色可见 STE 组软骨较薄, 软骨表面粗糙不平, 部分脱落, 骨细胞和骨基质大量减少或丢失, 皮质骨和骨小梁内出现坏死的细胞集落和大量空腔, 对照 (Control) 组无上述特征 (见图 1)。

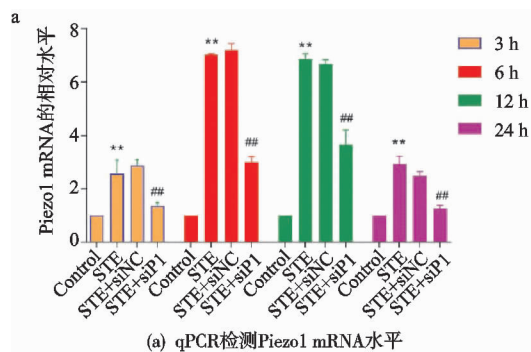


(a) Micro-CT 诊断; (b) HE 染色, 蓝色箭头表示股骨头空骨陷窝

图 1 STE 诱导大鼠 ONFH 模型的建立

2.2 沉默股骨头坏死大鼠体内的 Piezo1

与对照 (Control) 组比, STE 组股骨头骨组织中的 Piezo1 的 mRNA 水平以及蛋白水平在 3, 6, 12, 24 h 都上调,



注: siNC为siRNA沉默载体的阴性对照组; siP1为siRNA沉默载体Piezo1组。**与对照组比, $P<0.01$; ##与STE+siNC组比, $P<0.01$ 。

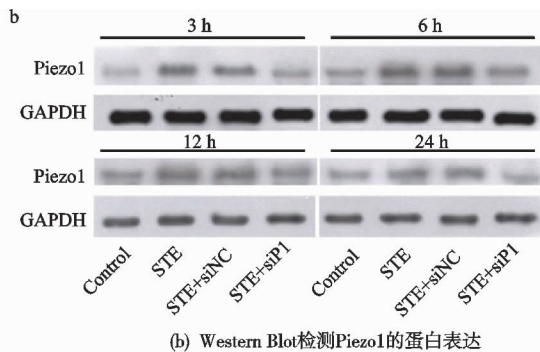


图2 Piezo1 在股骨头坏死大鼠中的表达

2.3 Piezo1 对股骨头坏死大鼠成骨细胞凋亡的影响

最后一次注射甲基强的松龙 21 d 后, 对照组中 TUNEL 凋亡率为 5.2%, 而 STE 组凋亡率为 90.3%

差异有统计学意义 ($P<0.01$)。另外, 与 STE+siNC 组比, STE+siP1 组 Piezo1 的 mRNA 水平以及蛋白水平在 3, 6, 12, 24 h 下调, 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 见图 2。

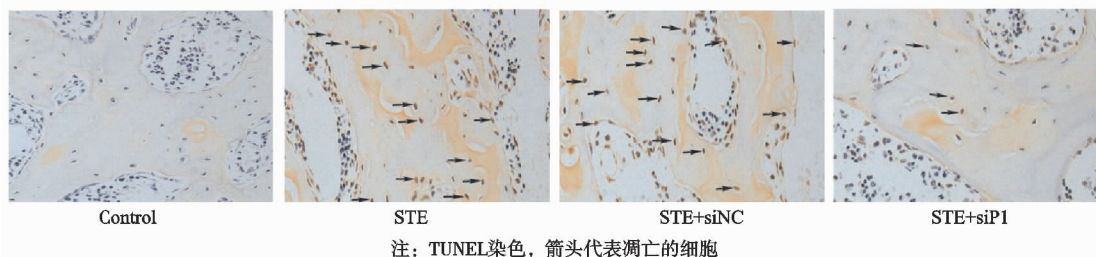


图3 Piezo1 沉默对 ONFH 大鼠股骨头组织凋亡的影响 ($\times 200$)

与对照组比, STE 组 Bax 和 Caspase-3 的 mRNA 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 而 Bcl-2 mRNA 的表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。与 STE+siNC 组比, STE+siP1 组 Bax 和 Caspase-3 的 mRNA 表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 而 Bcl-2 mRNA 的表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 见图 4。

2.4 微血管形态变化结果分析

与对照组比, STE 组的股骨头内血管体积、血管表面积、血管厚度均降低 ($P<0.01$); 与 STE+siNC 组比, STE+siP1 组股骨头内血管体积、血管表面积、

($P<0.01$)。与 STE+siNC 组的凋亡率 (89.5%) 比, STE+siP1 组的凋亡率 (37.9%) 降低, 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 见图 3。

血管厚度均增多 ($P<0.01$), 见图 5。

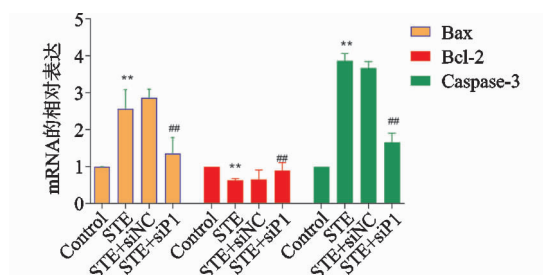


图4 Piezo1 沉默对 ONFH 大鼠中凋亡标志基因的 mRNA 表达量的影响

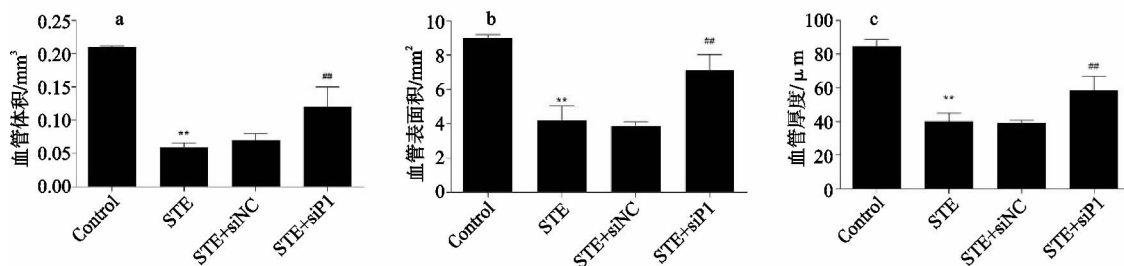


图5 Piezo1 沉默对 ONFH 大鼠股骨头组织血管量的影响

与对照组比,STE 组 VEGFR2 和 CD31 表达水平降低,差异有统计学意义($P<0.01$);与 STE+siNC 组比,STE+siP1 组 VEGFR2 和 CD31 表达水平增高,差异有统计学意义($P<0.01$),见图 6。

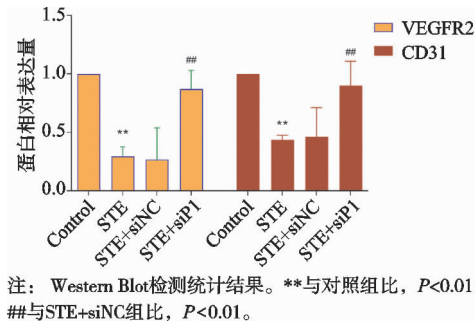


图 6 Piezo1 沉默对 VEGFR2 和 CD31 的蛋白表达量的影响

2.5 Piezo1 沉默对股骨头坏死大鼠 Yap1/ β -catenin 信号通路的影响

与对照组的股骨头骨组织中 Yap1 和 β -catenin 的蛋白($1.00\pm0.03, 1.00\pm0.04$)比,STE 组($3.43\pm0.23, 3.57\pm0.44$)表达上调,差异有统计学意义($P<0.01$);与 STE+siNC 组 Yap1 和 β -catenin 的表达($3.42\pm0.55, 3.61\pm0.64$)比,STE+siP1 组($1.85\pm0.25, 2.71\pm0.34$)降低,差异有统计学意义($P<$

0.01),见图 7。

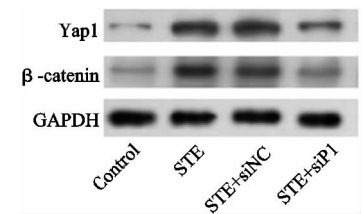


图 7 Western Blot 检测 Piezo1 沉默对 Yap1 和 β -catenin 的蛋白表达量的影响

2.6 激活 Yap1/ β -catenin 信号通路促进成骨细胞的凋亡并抑制血管生成能力

与 Ctrl($1.00\pm0.06, 1.00\pm0.05$)比,Rh-YAP1 组中 Yap1 和 β -catenin 的蛋白水平($4.21\pm0.28, 2.23\pm0.25$)都增高,差异有统计学意义($P<0.01$)。与对照(Ctrl)组(1.00 ± 0.05)比,ICG-001 组 β -catenin(4.52 ± 0.45)的蛋白表达上调,差异有统计学意义($P<0.01$),见图 8a。

与 Ctrl 组比,Rh-YAP1 组和 ICG-001 组的细胞凋亡率增加,差异有统计学意义($P<0.01$)。与 Ctrl 组比,Rh-YAP1 组及和 ICG-001 组的 HUVEC 细胞管状结构形成长度均下调,差异有统计学意义($P<0.01$),见图 8(b,c)。

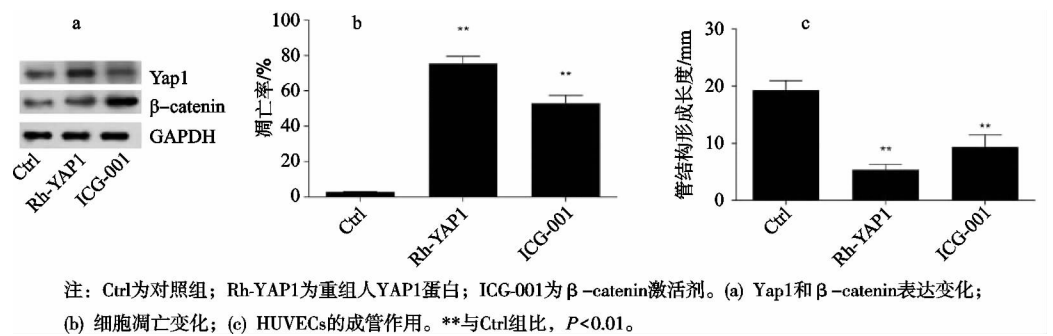


图 8 激活 Yap1/ β -catenin 信号通路促进成骨细胞的凋亡并抑制血管生成能力

3 讨论

类固醇可诱导 ONFH^[5],其诱导的细胞凋亡是关键原因之一^[6]。本研究大鼠接受类固醇激素甲基强的松龙的连续注射后,ONFH 模型成功建立。文献中类固醇所诱导 ONFH 的股骨头会出现明显的骨坏死,其特征在于 STE 组的骨小梁中有大量的空骨细胞陷落,没有发现明显的骨髓坏死,但发现 ONFH 的骨细胞凋亡率增加^[6],本研究股骨头部位骨细胞凋亡率也明显增加。Huang 等^[7]在类固醇诱导的 ONFH 患者被切除的股骨头部分也观察到骨细胞凋亡,认为糖皮质激素对股骨头的松质骨具有直接的细胞毒性作用,导致凋亡而不是单纯的坏死。Zheng 等^[6]在动物实验中也证明糖皮质激素可以促进成骨细胞和骨细胞的凋亡。凋亡性骨细胞的积累可能导致骨坏死,表明具有抑制骨细胞凋亡潜能的药物可能具有预防类固醇诱导的

ONFH 发生的能力。

Piezo1 对于骨形成和调节骨吸收发挥关键作用^[8-10]。因此,本研究对 Piezo1 在 ONFH 模型中的表达进行了检测,观察到 Piezo1 的 mRNA 水平以及蛋白水平在造模后 3 h 至 24 h 都上调,说明 Piezo1 很可能对激素性股骨头坏死有调节作用,而沉默 Piezo1 可以抑制股骨头坏死组织中骨细胞的凋亡。

Bax 激活 ONFH 的骨细胞的凋亡,而 Bcl-2 选择性结合 Bax 的活性构象从而抑制其凋亡^[11]。在本研究中,ONFH 模型中沉默 Piezo1,导致 Bax mRNA 明显降低,但 Bcl-2 mRNA 显著升高,表明沉默 Piezo1 可以通过抑制 Bax 提高 Bcl-2 从而抑制骨细胞凋亡。Caspase-3 是另一种重要的凋亡相关蛋白,属于 Caspase 家族,在细胞内凋亡信号的诱导、转导和扩增中起着至关重要的作用。Caspase-3 可被切割形成活

性分子促进骨细胞凋亡^[11]。在本研究中,ONFH 模型中 Caspase-3 的 mRNA 升高,意味着由糖皮质激素诱导的骨细胞凋亡是由 Caspase-3 执行的,而沉默 Piezo1 可以明显抑制 Caspase-3 的表达,进一步表明 Piezo1 沉默后可抑制骨细胞凋亡。

局部缺血和骨坏死是股骨头骨坏死的核心病理机制。本研究结果发现,ONFH 出现血管减少,且血管新生关键蛋白 VEGFR2 和 CD3 的表达量下调。而沉默 Piezo1 可促进大鼠 ONFH 模型中的股骨头局部血管的生成,包括血管的体积、表面积和血管厚度在内可观察到明显的增加,而且骨组织中 VEGFR2 和 CD3 蛋白水平明显上调。研究证明,Piezo1 在胎盘血流敏感性中扮演决定作用,可调节胎盘血流^[12],表明沉默 Piezo1 可能对 ONFH 的血管再生有帮助作用。

Yap1 和 β -catenin 信号通路的协同作用已被证实^[13-14],Yap1 已被证实可以调节结直肠癌细胞的血管生成^[15],而 β -catenin 信号在多种肿瘤模型和疾病中参与血管生成的调控,包括股骨头坏死动物^[16-17]。在本研究实验结果中观察到,沉默 Piezo1 明显抑制 Yap1 和 β -catenin 的蛋白表达,从而抑制 Yap1/ β -catenin 信号通路的活性。当使用 Yap1 的重组蛋白和 β -catenin 信号激活剂时,成骨细胞的凋亡率明显上调,而且 HUVEC 细胞的成管能力部分减弱。说明在成骨细胞中 Yap1/ β -catenin 可能是 Piezo1 行使功能的关键信号路径,且沉默 Piezo1 通过抑制 Yap1/ β -catenin 信号改善股骨头坏死导致的骨细胞凋亡和股骨头血管生成能力的缺失。

综上所述,沉默 Piezo1 通过抗成骨细胞凋亡和促血管生成预防类固醇诱导的 ONFH,其潜在机制涉及 Bax/Bcl-2、Caspase-3 和 Yap1/ β -catenin 信号通路,说明沉默 Piezo1 是治疗 ONFH 的一种潜在治疗方法。

参考文献

- [1] 雷志强,曾平,陈卫衡,等. 股骨头坏死流行病学特点分析[J]. 中医正骨,2020,32(1):4-6.
- [2] LEI P, DU W, LIU H, et al. Free vascularized iliac bone flap based on deep circumflex iliac vessels graft for the treatment of osteonecrosis of femoral head[J]. J Orthop Surg Res, 2019, 14(1):397.
- [3] PARPAITE T, COSTE B. Piezo channels[J]. Curr Biol, 2017, 27(7):R250-R252.
- [4] ZHOU T, GAO B, FAN Y, et al. Piezo1/2 mediate mechanotransduction essential for bone formation through concerted activation of NFAT-YAP1- β -catenin [J]. Elife, 2020, 9:e52779.

- [5] ZHUN W, DONGHAI L, ZHOUYUAN Y, et al. Efficiency of cell therapy to gc-induced ONFH; BMSCs with DKK-1 interference is not superior to unmodified BMSCs [J]. Stem Cells Int, 2018; 1340252.
- [6] ZHENG H, YANG E, PENG H, et al. Gastrodin prevents steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats by anti-apoptosis [J]. Chin Med J, 2014, 127(22):3926-3931.
- [7] HUANG R, ZHAN Q, HU W, et al. Association of ABCB1 and CYP450 gene polymorphisms and their DNA methylation status with steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in the Chinese population [J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2020, 24(12):789-797.
- [8] SUN W, CHI S, LI Y, et al. The mechanosensitive Piezo1 channel is required for bone formation [J]. Elife, 2019, 8:e47454.
- [9] LI J, HOU B, TUMOVA S, et al. Piezo1 integration of vascular architecture with physiological force [J]. Nature, 2014, 515(7526):279-282.
- [10] WANG L, YOU X, LOTINUN S, et al. Mechanical sensing protein PIEZO1 regulates bone homeostasis via osteoblast-osteoclast crosstalk [J]. Nat Commun, 2020, 11(1):282.
- [11] PENG P, NIE Z, SUN F, et al. Glucocorticoids induce femoral head necrosis in rats through the ROS/JNK/c-Jun pathway [J]. FEBS Open Bio, 2021, 11(1):312-321.
- [12] MORLEY LC, SHI J, GAUNT H J, et al. Piezo1 channels are mechanosensors in human fetoplacental endothelial cells [J]. Mol Hum Reprod, 2018, 24(10):510-520.
- [13] CHEN J, MEI Z, HUANG B, et al. IL-6/YAP1/ β -catenin signaling is involved in intervertebral disc degeneration [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5):5964-5971.
- [14] BENHAM-PYLE B W, PRUITT B L, NELSON W J. Cell adhesion. Mechanical strain induces E-cadherin-dependent Yap1 and β -catenin activation to drive cell cycle entry [J]. Science, 2015, 348(6238):1024-1027.
- [15] SUN Z, OU C, LIU J, et al. YAP1-induced MALAT1 promotes epithelial-mesenchymal transition and angiogenesis by sponging miR-126-5p in colorectal cancer [J]. Oncogene, 2019, 38(14):2627-2644.
- [16] VALLÉE A, GUILLEVIN R, VALLÉE J N. Vasculogenesis and angiogenesis initiation under normoxic conditions through Wnt/ β -catenin pathway in gliomas [J]. Rev Neurosci, 2018, 29(1):71-91.
- [17] YU Z, FAN L, LI J, et al. Lithium prevents rat steroid-related osteonecrosis of the femoral head by β -catenin activation [J]. Endocrine, 2016, 52(2):380-390.

(收稿日期:2021-02-10)