

大型跨膜蛋白Piezo1在骨科相关疾病中的参与及意义

何琪¹, 张罡瑜¹, 王海彬², 陈鹏² (¹广州中医药大学第一临床医学院, 广东省广州市 510405; ²广州中医药大学第一附属医院骨科, 广东省广州市 510405)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2838

ORCID: 0000-0001-9461-6671(何琪)

文章快速阅读:

<p>文章特点一</p> <p>(1) Piezo1 机械敏感通道蛋白是一类在生物体内广泛分布的离子通道蛋白, 主要负责将外界机械信号转化成电信号参与生物体内多种正常的生理过程, 其结构异常及功能障碍与多种骨科疾病的发生发展密切相关, 如骨质疏松症、退行性骨关节炎等;</p> <p>(2) 文章重点分析了 Piezo1 在失用性骨质疏松症、退行性骨关节炎中的调控作用, 以期研究靶向 Piezo1 的药物为骨科疾病提供新的思路。</p>	<p>背景:</p> <p>(1) Piezo1 作为一种新兴靶点治疗骨科疾病前景广阔;</p> <p>(2) 骨组织如何感受机械力刺激这一物理信号, 并将其转变成维持骨组织稳态的化学信号一直以来都是骨代谢调控研究的热点。</p> <p>目的:</p> <p>主要阐述在机械应力刺激下 Piezo1 对失用性骨质疏松症中成骨-破骨细胞、及退行性骨关节炎中软骨细胞分化的调控作用。</p> <p>意义:</p> <p>(1) 文章总结出 Piezo1 在成骨、破骨细胞及软骨细胞中的调控机制;</p> <p>(2) 说明 Piezo1 作为治疗废用性骨质疏松症和退行性骨关节炎等相关骨科疾病的重要靶点。</p>
--	---

何琪, 男, 1997 年生, 广东省揭阳市人, 汉族, 广州中医药大学第一临床医学院在读硕士, 主要从事骨与关节退行性变、代谢性骨病方向的研究。

通讯作者: 陈鹏, 博士, 副主任医师, 广州中医药大学第一附属医院, 广东省广州市 510405

文献标识码:A

投稿日期: 2020-02-17

送审日期: 2020-02-24

采用日期: 2020-04-03

在线日期: 2020-05-15



文题释义:

Piezo1: 是一种由 2 100-4 700 个氨基酸构成的 Fam38A 基因编码的大型跨膜蛋白, 与哺乳动物中的细胞生物力学机械信号密切相关, Piezo1 蛋白在人体中广泛分布在全身各个组织中, 以肺脏、肾脏、膀胱、血管及皮肤组织中表达较高, 并且在椎间盘组织、关节韧带组织、关节软骨、间充质干细胞中也均有不同程度的表达。

机械敏感性离子通道: 又称机械门控性通道或张力激活性通道, 是一类能够感受细胞膜机械力变化, 并能够将细胞膜感受到的机械信号转化为电信号或化学信号的离子通道, 毛细胞、压力受体、肌梭、血管内皮和感觉神经组织等都有此类通道的分布。

摘要

背景: 近年来研究发现间充质干细胞、成骨细胞、破骨细胞、软骨细胞、髓核细胞和骨肉瘤细胞等均可通过 Piezo1 蛋白接受细胞外环境的力学机械刺激, 从而激活细胞信号转导途径, 影响细胞的增殖、分化、迁移及凋亡, 进而决定着骨骼的生理构造、关节退变及骨折的愈合等生理病理过程。

目的: 文章主要针对近年来与骨质疏松症及退行性骨关节炎相关的 Piezo1 展开综述, 并通过回顾 Piezo1 在其他骨科疾病中的最新发现, 归纳总结其最新研究进展, 为骨科相关疾病的新型治疗策略提供思路。

方法: 计算机检索 CNKI 及 PubMed 等数据库建库至 2020 年 1 月与 Piezo1 在骨科疾病研究进展的相关文献, 中文关键词为“机械敏感性离子通道蛋白, 骨质疏松症, 退行性骨关节炎, 骨科疾病”, 英文关键词为“Piezo1, Osteoporosis, Degenerative Osteoarthropathy, Orthopedic Diseases”, 进行全网检索, 最终纳入 60 篇文献进行综述进行探讨。

结果与结论: ①Piezo1 在骨质疏松症发展过程中可通过直接检测成骨细胞谱系细胞中的机械负荷来释放出生物信号, 调节破骨细胞活性; ②在退行性骨关节炎进展过程中, 软骨细胞膜上的 Piezo1 能够有效识别不同强度和类型的外界机械应力刺激, 最终诱导软骨细胞凋亡; ③在骨代谢性疾病、关节退变性关节炎等骨科疾病中, Piezo1 均参与了疾病的病理进展过程, Piezo1 的出现为机械性刺激在骨科中的应用提供了更具体的分子基础, 打开了新的思路和视角, 也为以后双联给药和精准医疗提供了参考依据。

关键词:

骨; 软骨; 骨质疏松症; 成骨; 破骨; 退行性骨病; 退行性椎间盘疾病; 蛋白; 综述

中图分类号: R445; R363; R681

基金资助:

2017 年国家自然科学基金面上项目(81774339), 项目负责人: 王海彬; 2017 年国家自然科学基金青年科学基金项目(81603641), 项目负责人: 陈鹏; 2017 广东省省级科技计划项目(2017A020213030), 项目负责人: 陈鹏

He Qi, Master candidate, First Clinical Medicine School, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Corresponding author: Chen Peng, MD, Associate chief physician, Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Involvement and significance of large transmembrane protein Piezo1 in orthopedic related diseases

He Qi¹, Zhang Gangyu¹, Wang Haibin², Chen Peng² (¹First Clinical Medicine School, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China; ²Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Recent studies found that mesenchymal stem cells, osteoblasts and osteoclasts, cartilage cells, nucleus pulposus cells, and osteosarcoma cells can receive mechanical stimulation from extracellular environment through Piezo1 protein so as to activate cell signal transduction pathways, affecting cell proliferation, differentiation, migration and apoptosis, which determines physiological and pathological processes of physiological structure of bone, joint degeneration, and fracture healing.

OBJECTIVE: To review Piezo1 related to osteoporosis and degenerative osteoarthropathy, summarize the latest advances by reviewing the latest discovery of Piezo1 in other orthopedic diseases, and provide ideas for novel treatment strategies for orthopedic related diseases.

METHODS: A computer search was conducted on the literatures related to the research progress of Piezo1 in orthopedic diseases in CNKI and PubMed from inception to January 2020. The Chinese keywords were “mechanically sensitive ion channel proteins, osteoporosis, degenerative osteoarthropathy, orthopedic diseases”, and the English keywords were “Piezo1, osteoporosis, degenerative osteoarthropathy, orthopedic diseases”. A full web search was conducted, and finally 60 literatures were included for review and discussion.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Piezo1 can release biological signals and regulate osteoclast activity during the development of osteoporosis by directly detecting the mechanical load in osteoblastic lineage cells. (2) In the progression of degenerative osteoarthropathy, Piezo1 on the cartilage cell membrane was able to effectively recognize stimuli of different strengths and types of external mechanical stress and eventually induce chondrocyte apoptosis. (3) In bone metabolic diseases, degenerative arthritis of joints and other orthopedic diseases, Piezo1 is involved in the pathological process of the disease. The emergence of Piezo1 provides a more specific molecular basis for the application of mechanical stimulation in orthopedics, opens a new thinking and perspective, and also lays a “hint” for the future dual drug administration and precision medicine.

Key words: bone; cartilage; osteoporosis; osteogenesis; osteoclast; degenerative osteopathy; degenerative disc disease; protein; review

Funding: the National Natural Science Foundation of China in 2017, No. 81774339 (to WHB); the Youth Science Foundation Project of the National Natural Science Foundation of China in 2017, No. 81603641 (to CP); the Science and Technology Plan Project of Guangdong Province in 2017, No. 2017A020213030 (to CP)

0 引言 Introduction

机械敏感性离子通道是一种能够感受细胞膜机械力变化,并能将细胞膜感受到的机械信号转化为电信号或化学信号的离子通道^[1]。感受并传导机械信号,是生物体对环境中的机械力作出适宜的反应的基本功能。

GUHARAY等^[2]于1984年首先在鸡胚的胸肌观测到由细胞膜张力导致的电位变化,从而确定了机械敏感性离子通道的存在,并陆续在多种细胞上发现了机械敏感性离子通道。Piezo蛋白是近年来鉴定出的哺乳动物中的机械门控离子通道,自发现以来研究者们已经确定了Piezo蛋白通道为机体维持多种生理反应所必须。随着研究的进展,研究人员还发现间充质干细胞、成骨破骨细胞、软骨细胞、髓核细胞及骨肉瘤细胞等均可通过机械敏感性离子通道,接受细胞外环境的力学机械刺激,从而激活细胞信号转导途径,影响细胞的增殖、分化、迁移及凋亡,进而决定着骨骼的密度和强度及关节退变等生理病理过程。

文章将主要针对近年来与骨质疏松症及退行性骨关节病相关的Piezo1展开综述,并通过回顾Piezo1在其他骨科疾病中的最新发现,归纳总结其最新研究进展,为骨科相关疾病的新型治疗策略提供思路。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 计算机检索 CNKI、PubMed等数据库建库至2020年1月与Piezo1在骨科疾病研究进展的相关文献,中文关键词为“机械敏感性离子通道蛋白、骨质

疏松症、退行性骨关节病、骨科疾病”,英文关键词为“Piezo1, Osteoporosis, Degenerative Osteoarthropathy, Orthopedic Diseases”。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准: ①关于Piezo1与骨质疏松症高度相关的研究; ②关于Piezo1与退变性关节炎高度相关的研究; ③关于Piezo1与退行性椎间盘疾病高度相关的研究; ④关于Piezo1与骨肿瘤高度相关的研究; ⑤文献类型为近期发表或在权威杂志发表的期刊论文、学位论文、综述及经典文献; ⑥入选文献均有全文。

排除标准: ①与此次综述相关性不强的文献; ②重复发表、内容陈旧的文献; ③无法获得全文的文献; ④逻辑不严谨、可信度差的文献。

1.3 数据分析 通过对检索词的组合后检索得到相关文献650篇,排除与文章研究目的不密切及重复性研究,最终纳入60篇文献。文献检索流程见图1。

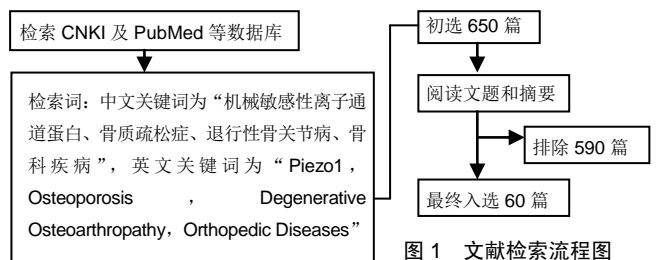


图1 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 Piezo1机械敏感性离子通道概述 数十年前,在草履

虫、植物、细菌和无脊椎动物中发现了机械激活离子通道,但随着脊椎动物的进化,这些通道未能保存或失去了其机械转导特性。因此,对哺乳动物机械转导通道的分子鉴定一直是感知功能领域的难题。2010年,Patapoutian实验室通过压力刺激在Neuro2A(Mouse neuroblastoma,小鼠神经母细胞瘤)细胞系中筛选多种已知阳离子通道和功能未知的蛋白质^[3],发现N2A中表达稳定机械激活电流,通过对多个候选基因的表达谱分析和RNA干涉发现Fam38A沉默时引起N2A中机械激活电流明显降低。鉴于Fam38A所编码和表达的蛋白质是一种需由压力激活的离子通道,研究者将其命名为Piezo1,含义是“压力”。又将从背根神经节细胞中克隆出的高反应性同源四聚体基因称作Piezo2。二者共同组成了目前的Piezo离子通道家族。

Piezo1蛋白是由Fam38A基因编码的大型跨膜蛋白,2100-4700个氨基酸构成,有24-40个跨膜区域,具体取决于不同物种^[4]。有几个研究几乎同时发表了Piezo1的高分辨率三维结构^[5-8]。Piezo1通道蛋白在高分辨率冷冻电镜下呈三聚体三叶螺旋桨状结构,共有114个跨膜区,由中心和外周两部分构成。中心孔道部分由其羧基端约350个氨基酸组成,包含外螺旋、细胞外C末端结构域、内螺旋和细胞内C末端结构域。外周的特征性结构域由其氨基端的约2200个氨基酸组成,包括“桨叶(Blade)、长杆(Beam)和锚定区(Anchor)”^[5]。Beam结构长约9 nm,将外周远端桨叶区连接到中心孔道区的C末端结构域及Anchor结构域,使外周桨叶部分以杠杆原理机制将机械力传递到中心孔道部分。Piezo1蛋白的外周桨叶部分由共9个重复性的结构单元串联而成。SAOTOME等^[6]将此结构命名为“Piezo repeats”。ZHAO等^[5]将这一特征性结构命名为THU(transmembranehelical unit)。每个THU有4个跨膜区,Piezo1蛋白每个亚基中的36个跨膜区折叠后与外螺旋和内螺旋一起组成独特的含38个跨膜区的桨叶部分。

目前研究发现,在人体中,Piezo1蛋白广泛分布在全身各个组织中,以肺脏、肾脏、膀胱、血管及皮肤组织中表达较高^[2,9-14],并且在椎间盘组织、关节韧带组织、关节软骨、间充质干细胞中也均有不同程度的表达^[15-17]。Piezo1参与循环系统发育和功能调节等多种生理过程,包括血管形成、血管紧张度调节和高血压的小动脉重塑等,并且还参与维持上皮细胞稳态,调节红细胞体积和免疫应答,以及影响神经细胞功能。另外,在骨组织细胞的研究中,发现骨细胞系MLO-Y4^[18]、成骨样细胞系MC3T3-E1中大量表达Piezo1,并且蛋白分子在MC3T3-E1胞浆中呈颗粒状分布^[19]。甚至,有研究发现Piezo1在成牙本质细胞和牙骨质细胞中大量表达^[20-21],提示Piezo1可能参与了正畸力作用下牙周组织的感觉传导。

2.2 Piezo1离子通道的门控特点 作为细胞表达一系列的力传感器,在细胞机械转导时,Piezo1的门控特点在细胞质膜内外部所受力的过程中不可或缺,见图2。当Piezo1机械敏感离子通道在生理条件下感受机械应力刺激后产生内向电流,这种门控功能介导的机械-电转导非常迅速,在胞膜去极化的同时伴随胞内正电荷增加,从而在2 ms内即可将机械刺激转化为一系列下游细胞信号^[14]。Piezo1通道通过直接的膜张力进行门控,所以任何改变膜张力的生理作用力理论上都可激活通道,如戳刺、拉伸、流体剪切力等^[15]。Piezo1通道对阳离子具有非选择渗透性,对Na⁺,K⁺,Ca²⁺,Mg²⁺全部渗透,但更偏向Ca²⁺^[16]。通过双层膜结构重建技术^[17],当膜表面的张力足够大,便可引起Piezo1通道的激活,引起钙内流;当使用细胞松弛素D干预细胞破坏细胞骨架后,可观察到细胞上Piezo1通道激活的频率增加,从而验证了Piezo1是一种成孔通道亚基,它对机械性刺激敏感,但也会受到细胞骨架因素的影响^[22-24],这证明了Piezo1通道的门控性。人造液滴脂质双分子层实验表明,Piezo1响应机械力的过程不需要任何其他细胞组分,说明Piezo1的机械敏感性是固有的,不需要其他蛋白质或第二信使信号激活^[25]。另外有研究发现,除了机械刺激之外Piezo1通道也受电压调控,甚至可以切换到纯电压门控模式^[26]。某些引起人类疾病的突变^[27](如干瘪细胞增多症及淋巴发育不良)会极大改变Piezo1通道对静息膜电位的电压敏感性,并强烈促进电压门控。

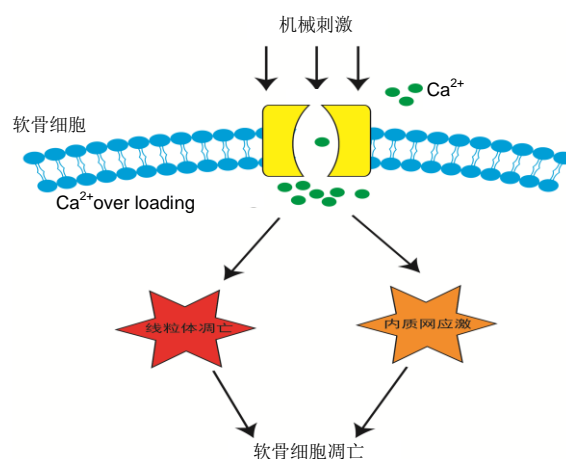


图2 Piezo1介导软骨细胞凋亡示意图

2.3 Piezo1在骨质疏松症中的研究进展 骨质疏松症的发病与骨代谢平衡的破坏有关,骨吸收作用增强,骨形成作用不足,骨稳态发生改变,均会引起骨质疏松。目前已有大量研究证实成骨细胞与骨髓脂肪细胞均来自于骨髓间充质干细胞的分化,在老年人及骨质疏松症患者中,可以观察到骨髓内脂肪组织体积的明显增加及骨量丢失,这意味着干细胞成骨能力的减弱,平衡向成脂方向移动^[28]。骨髓间充质干细胞的分化方向及自我更新受许多相关因子及细胞外环境的影响,如细胞骨架硬

度、氧气浓度、三维骨架结构、培养基成分及机械应力等^[29-32]，其中机械应力对于骨稳态的形成及骨生长都具有不可替代的作用。例如长期卧床或失重状态下(如宇航员)都可以造成严重的骨量丢失，导致失用性骨质疏松，而适当的运动机械刺激则可以增加骨量^[33-35]。早在十九世纪，德国著名医师和解剖学家Julius Wolff在以往研究的基础上，提出了沃夫(Wolff)法则：指出在高压力的区域骨头会生长，而在低压力环境会被吸收；即“用之则强，废用则弱”^[36]。因此，通过了解机械负荷如何调节骨形成与吸收之间的平衡将为治疗废用性骨质疏松症提供思路。近年有大量研究表明，Piezo1蛋白可通过接受细胞外环境的力学机械刺激，影响骨髓间充质干细胞、成骨细胞祖细胞、成骨细胞和破骨细胞分化与增殖。

2.3.1 Piezo1调节成骨细胞分化

SUGIMOTO等^[37]首次证明Piezo1作为间充质干细胞系中静水压力的受体发挥功能并促进成骨细胞分化，同时抑制脂肪细胞分化。通过RT-PCR检测技术，研究人员发现Piezo1在人成骨细胞系中的Saos-2、HuO9和MG63细胞中表达。此外，在诱导分化小鼠成骨细胞MC3T3-E1以建立成骨细胞分化的实验模型中，他们也发现了Piezo1的表达。因此，Piezo1充当了间充质干细胞中静水压力的主要力学感受受体，并与成骨细胞分化相关。随着研究的深入，研究人员发现了静水压力通过Piezo1激活ERK1/2和p38MAPK信号传导，然后诱导骨形态发生蛋白2的表达，进一步诱导成骨细胞中主要的成骨转录因子-Runt相关转录因子2的表达从而促进成骨过程。另外，他们还使用了新型特异性Piezo1激动剂Yoda1来检测激活Piezo1是否影响间充质干细胞分化，结果表明存在Yoda1时脂蛋白脂酶的表达受到抑制，成脂分化方向减弱，成骨细胞分化方向增强^[38]。

SUN等^[39]研究发现Piezo1离子通道介导成骨细胞的机械力感知，从而影响骨的形成、结构和强度。通过在负重条件下使用后肢悬吊模型，发现了在成骨细胞中敲除Piezo1的小鼠与对照组相比出现严重的骨发育缺陷，成骨细胞功能显著降低，验证了Piezo1作为一种关键的机械力传导受体，用于调节适当的机械载荷诱导的骨重建。进一步研究发现Piezo1介导机械力诱发的阳离子电流和钙内流，激活成骨细胞中CaMKII/Creb信号通路，促进成骨细胞分化。接着在地面模拟失重条件下，成骨细胞的Piezo1表达显著降低，且成骨细胞显示出降低的机械激活电流，这表明机械卸载可影响Piezo1的表达，从而导致成骨细胞功能障碍和骨形成。最后，为了保证实验准确性，研究人员又进一步在骨质疏松患者中检测Piezo1的表达，发现骨质疏松患者中的Piezo1显著低于对照组患者。另外，Pathak发现在人神经干细胞中^[12]，当细胞受到牵拉时可激活Piezo1通道，改变神经干细胞的分化方向，当应用Piezo1特异性抑制剂GsMTx-4干预细胞或siRNA特异性

沉默Piezo1的表达时，神经生成受到抑制，这预示着Piezo1可能在多种干细胞的分化过程中起着决定性的作用，从而影响成骨细胞的分化。

2.3.2 Piezo1调节破骨细胞分化

WANG等^[40]则证明了Piezo1在成骨化进程中的力学调控功能，并且剖析了在力学刺激条件下，成骨细胞和破骨细胞交流的全新机制：Piezo1在成骨细胞中通过YAP途径影响胞外基质包括多种胶原蛋白的丰度，从而影响破骨细胞的分化和功能。研究人员通过利用Piezo1基因敲除小鼠作为生理和病理模型，首先发现成骨细胞中Piezo1缺乏的小鼠在负重后表现出骨量的减少及骨吸收的增加。通过敲除破骨细胞中的Piezo1，与对照组相比，小鼠表现出正常的骨量和未受影响的骨吸收，说明了Piezo1主要在成骨细胞中发挥作用，并以非细胞自主方式协调破骨细胞的骨吸收。为了解这种调节机制，随着研究的深入，研究人员发现了成骨细胞Piezo1缺乏会通过减少YAP核定位而削弱胶原蛋白2, 9的产生，从而导致破骨细胞活性的增加，表明Piezo1可通过调节包括胶原蛋白2, 9表达在内的骨基质蛋白来调节破骨细胞分化从而影响骨稳态。

JIN等^[14]将人牙周韧带细胞分离、培养并施加不同的压力刺激后，发现Piezo1, cyclooxygenase-2, 核转录因子κB配体受体激活剂、前列腺素E2等均有不同程度的升高，而应用Piezo1特异性抑制剂GsMTx4后，分离培养的人牙周韧带细胞中破骨细胞的生成受到抑制。

2.4 Piezo1在退行性骨关节病中的研究进展

膝骨性关节炎是典型的膝关节软骨退变引起的以疼痛、关节活动障碍为主要表现的一种疾病^[41]。软骨细胞是关节软骨中唯一的细胞单元，承载各种各样的生物应力如压应力，张应力，剪切力及各种震动等，软骨细胞的凋亡，及其继发于炎症相关的增生是导致膝骨性关节炎的主要原因。在人类退变软骨细胞中，Piezo1蛋白能够稳定表达，且机械应力的存在与Piezo1蛋白表达量成正相关^[42-43]。目前已有大量研究证实，直接或间接的机械刺激下Piezo1介导的细胞内Ca²⁺积累与软骨细胞凋亡有关^[44-46]。此外有研究表明，尿皮素通过调节环腺苷酸及磷脂酶A2的表达，将Piezo1离子通道蛋白关闭，从而保护软骨细胞免于凋亡^[47]。综上，Piezo1蛋白在软骨细胞凋亡中发挥重要作用，以此影响骨关节炎的发病进程。

LEE等^[48]首先发现了Piezo1与关节软骨的力学传导之间的关系。他们发现在类似于关节损伤程度的高水平载荷下，软骨细胞不仅获取钙离子的能力显著增加，而且细胞凋亡率也在大幅度升高。与之相反，在Piezo1特异性沉默后的软骨细胞中凋亡率大大降低，并且没有观察到显著的钙离子内流，同时使用Piezo1通道抑制剂GsMTx4作用后也可大幅度降低软骨细胞的凋亡率。ROCIO等^[49]使用高速压力钳方法发现Piezo1能够介导牵张力激发的软骨细胞内电流，进一步证实了机械

应力能够激活Piezo1离子通道,促进Ca²⁺从细胞外基质中通过Piezo1离子通道流入软骨细胞。以上研究表明,Piezo1是引起软骨细胞机械刺激后钙内流的必要条件,而Ca²⁺超载激活的细胞内信使调节激酶级联反应是引起软骨细胞的凋亡的关键机制。

LI等^[50]在不同机械拉伸力下培养人骨关节炎衍生软骨细胞,通过RT-PCR及免疫荧光技术,发现在骨关节炎衍生的软骨细胞中Piezo1和caspase-12在机械拉伸力的刺激下均显著上调,并且表达量与机械应力负载期间骨关节炎衍生的软骨细胞的凋亡率呈现出一定的相关性。Caspase是一类参与细胞凋亡的半胱氨酸蛋白酶的统称,能够将异常的机械牵张和炎症等凋亡信号传递到蛋白水解级联中,裂解并激活其他caspase,进而降解细胞内靶标最终导致细胞凋亡。这表明,Piezo1能够通过caspase-12依赖途径激活细胞核中的凋亡基因发挥重要作用。因此,Piezo1蛋白可以作为抑制软骨细胞凋亡的潜在治疗靶点。

2.5 Piezo1在其他骨病中的研究进展 腰椎间盘突出症是较为常见的骨科疾患之一,主要是因为椎间盘的纤维环破裂,髓核组织从破裂之处突出(或脱出)于后方或椎管内,导致相邻脊神经根遭受刺激或压迫,从而产生腰部疼痛,一侧下肢或双下肢麻木、疼痛等一系列临床症状^[51]。作为椎体间的连接装置,椎间盘需承受压缩、伸屈、扭转等的力学负荷,因此生物力学因素在腰椎间盘突出症的发病中具有重要的影响。椎间盘是由中心的髓核、外侧的纤维环及上下的软骨终板组成,是一类特殊的软骨组织。椎间盘生命活动与生物力学密切相关,提示了Piezo1蛋白在椎间盘退变过程中可能发挥重要的调控作用。LI等^[52]通过一系列实验证实了Piezo1蛋白离子通道在人髓核细胞(NP细胞)中高度表达,并发现Piezo1通过参与调节线粒体功能和内质网应激途径诱导NP细胞凋亡,但确切机制仍不清楚。殷涛等^[53]研究则首次分析Piezo1蛋白在不同退变程度的椎间盘组织中的表达差异,通过收集不同患者的椎间盘手术标本,将MRI检查与组织学结合,对患者椎间盘退变程度进行评价分析;然后通过免疫组织化学的方法比较对照组和退变组髓核细胞中Piezo1蛋白的表达及定位特点,虽然退变组的椎间盘组织中的髓核细胞的数量较对照组减少,但退变组的髓核细胞中Piezo1蛋白的阳性表达率[(68.75±19.67)%]明显高于对照组[(45.43±13.14)%],提示Piezo1蛋白在椎间盘退变过程中可能发挥重要的调控作用。

骨肿瘤是发生于骨骼或其附属组织的肿瘤。研究发现,除了基因及生化相关因子的变化外,生物力学因素对肿瘤组织生长、组织结构变异及恶性程度发挥重要作用^[52],该假说认为每一种组织可以被看作一种具有特殊力学性能的生物材料,可对各种机械刺激做出不同的反

馈。随着肿瘤细胞的增殖,肿瘤体积增大,临近器官的压迫及组织间压力增高都可导致肿瘤细胞暴露在应力环境下,进而释放、聚集或活化各种细胞因子,从而调控肿瘤细胞的进展^[54-56],当肿瘤细胞受到应力刺激后,肿瘤的侵袭能力增强。Piezo1与骨肿瘤的相关研究不多,目前仅有一篇文章报道了Piezo1与骨肉瘤的凋亡及侵袭性有关。JIANG等^[57]在体外实验中发现Piezo1蛋白在人骨肉瘤细胞中高度表达且可以作为超负荷机械拉伸诱导人骨肉瘤细胞凋亡的启动子。通过FX-4000T Tension Plus系统,建立体外机械拉伸模型,分别用机械拉伸力处理人骨肉瘤细胞,采用RT-PCR和Western-blot法分别检测Piezo1蛋白的表达和定位,结果表明,Piezo1与机械拉伸密切相关,与0 h组相比,12 h组中的Piezo1高表达,并且24 h组的Piezo1表达量最高。此外,研究人员还使用斯皮尔曼等级相关系数的分析证明了RT-PCR与Western-blot结果相关。研究人员还通过CCK-8检测表明,发现人骨肉瘤细胞的增殖率与拉伸力作用时间也密切相关,其中拉伸48 h组最高。Transwell实验检测发现48 h组中的凋亡量较24 h组低。根据这些结果得出结论,Piezo1与人骨肉瘤细胞中的机械应力密切相关,并可促进人骨肉瘤细胞的侵袭和凋亡,并抑制人骨肉瘤细胞的增殖,尤其是经24 h拉伸机械力处理后。另外,JIANG等^[57]在体内实验中,通过给裸鼠接种人骨肉瘤细胞,比较裸鼠体内肿瘤大小,发现应用了Piezo1特殊抑制剂可促进裸鼠体内的肿瘤生长,为研究和治疗人骨肉瘤细胞提供了新思路 and 突破口。

3 总结与展望 Summary and prospects

骨质疏松症是一种全身性代谢骨病,可以通过不同的策略来治疗由于衰老或激素相关性骨质疏松引起的骨量减少,包括合成代谢疗法以增加骨骼形成和分解代谢疗法以减少骨骼吸收等^[58]。宇航员及长期卧床所致的失用性骨质疏松引起的骨量减少通常在1个月内损失的骨量要比绝经后妇女在1年内损失的骨量要多,为每月1%-2%,而骨骼强度的降低甚至更大^[59]。但是,由于微重力或缺乏机械力导致的大量骨质流失通过一般治疗方法却不能得到有效抑制,而Piezo1作为机械敏感性离子蛋白可通过直接检测成骨细胞谱系细胞中的机械负荷来释放生物信号,调节破骨细胞活性,将为长期卧床休息或长期处于空间微重力环境中的骨质疏松症的治疗策略提供参考。

退行性骨关节病的发生和发展主要是由于在异常的负荷条件下引起的软骨细胞的凋亡所致。在软骨细胞膜上的Piezo1离子通道蛋白能够有效识别不同强度和类型的外界机械应力刺激,通过调控Ca²⁺内流完成机械-电信号转导,随后通过内质网应激和线粒体凋亡途径最终诱导软骨细胞凋亡^[60]。因此,Piezo1蛋白可以被认为是抑

制软骨细胞凋亡的潜在治疗靶点。

Piezo1的出现则为机械性刺激在骨科中的应用提供了更具体的分子基础,打开了新的思路和视角。在骨代谢性疾病、关节退变性关节炎等骨科疾病中, Piezo1均参与了疾病的病理进展过程,为以后双联给药和精准医疗埋下了“伏笔”。但目前骨科中研究数量相对局限,如衰老或激素相关性骨质疏松中 Piezo1是否参与 Wnt/ β -catenin等经典信号通路对破骨细胞的调节、发生骨关节炎的软骨细胞是如何感应凋亡信号、Piezo1介导下适当机械应力是否对软骨细胞起促进作用以及Piezo1具体是如何对下游基因表达和信号转导起调控作用仍不完全清楚,这也为继续深入研究Piezo1在骨科疾病中的应用提供了方向。相信随着研究的深入, Piezo1作为离子通道治疗骨科疾病将会成为新的里程碑。

作者贡献: 文章设计为第一作者和通讯作者。资料收集为全体作者。第一作者撰写论文。通讯作者审校。

经费支持: 该文章接受了“2017年国家自然科学基金面上项目(81774339)”“2017年国家自然科学基金青年科学基金项目(81603641)”“2017广东省省级科技计划项目(2017A020213030)”的资助。所有作者申明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] ANISHKIN A, LOUKIN SH, TENG J, et al. Feeling the hidden mechanical forces in lipid bilayer is an original sense. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(22):7898-7905.
- [2] GUHARAY F, SACHS F. Stretch-activated single ion channel currents in tissue-cultured embryonic chick skeletal muscle. J Physiol. 1984;352:685-701.
- [3] COSTE B, MATHUR J, SCHMIDT M, et al. Piezo1 and Piezo2 Are Essential Components of Distinct Mechanically Activated Cation Channels. Science. 2010;330(6000):55-60.
- [4] BORBIRO I, ROHACS T. Regulation of Piezo Channels by Cellular Signaling Pathways. Curr Top Membr. 2017;79: 245-261.
- [5] ZHAO Q, ZHOU H, LI X, et al. The mechanosensitive Piezo1 channel: a three-bladed propeller-like structure and a lever-like mechanogating mechanism. FEBS J. 2019;286(13): 2461-2470.
- [6] SAOTOME K, MURTHY SE, KEFAUVER JM, et al. Structure of the mechanically activated ion channel Piezo1. Nature. 2018;554(7693):481-486.
- [7] GUO YR, MACKINNON R. Structure-based membrane dome mechanism for Piezo mechanosensitivity. Elife. 2017;6. pii: e33660.
- [8] RU YW, ZHANG WB. Advances in the Role of Mechanosensitive Ion Channel Piezo1 in Cellular Mechanotransduction. Chin J Cell Biol. 2019;41(8):1622-1627.
- [9] LI J, HOU B, TUMOVA S, et al. Piezo1 integration of vascular architecture with physiological force. Nature. 2014;515(7526): 279-282.
- [10] RANADE SS, QIU Z, WOO SH, et al. Piezo1, a mechanically activated ion channel, is required for vascular development in mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(28):10347-10352.
- [11] MIYAMOTO T, MOCHIZUKI T, NAKAGOMI H, et al. Functional Role for Piezo1 in Stretch-evoked Ca(2+) Influx and ATP Release in Urothelial Cell Cultures. J Biol Chem. 2014;289(23):16565-16575.
- [12] PATHAK MM, NOURSE JL, TRAN T, et al. Stretch-activated ion channel Piezo1 directs lineage choice in human neural stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(45): 16148-16153.
- [13] COOPER G. Genetics and lymphoedema: a future yet to be fully discovered. Br J Community Nurs. 2017;22(1):646-648.
- [14] JIN Y, LI J, WANG Y, et al. Functional role of mechanosensitive ion channel Piezo1 in human periodontal ligament cells. Angle Orthod. 2015;85(1):87-94.
- [15] MURTHY SE, DUBIN AE, PATAPOUTIAN A. Piezos thrive under pressure: mechanically activated ion channels in health and disease. Nat Rev Mol Cell Biol. 2017;18(12):771-783.
- [16] COSTE B, MATHUR J, SCHMIDT M, et al. Piezo1 and Piezo2 Are Essential Components of Distinct Mechanically Activated Cation Channels. Science. 2010;330(6000):55-60.
- [17] COSTE B. Piezo proteins form a new class of mechanically activated ion channels. Med Sci (Paris). 2012;28(12): 1056-1057.
- [18] GNANASAMBANDAM R, BAE C, GOTTLIEB PA, et al. Ionic Selectivity and Permeation Properties of Human PIEZO1 Channels. PLoS One. 2015;10(5):e125503.
- [19] 康婷.机械敏感性离子通道 Piezo 在正畸牙周组织中表达和功能的研究[D].西安:第四军医大学,2014.
- [20] 李鹏.新型机械敏感离子通道Piezo在成牙本质细胞表达和功能研究[D].西安:第四军医大学,2013.
- [21] ZHANG YY, HUANG YP, ZHAO HX, et al. Cementogen-esis is inhibited under a mechanical static compressive force via Piezo1. Angle Orthod. 2017;87(4):618-624.
- [22] LEE KL, GUEVARRAM D, NGUYEN AM, et al. The primary cilium functions as a mechanical and calcium signaling nexus. Cilia. 2015;4:7.
- [23] SHARIF-NAEINI R, FOLGERING JH, BICHET D, et al. Polycystin-1 and -2 dosage regulates pressure sensing. Cell. 2009;139(3):587-596.
- [24] PEYRONNET R, MARTINS JR, DUPRAT F, et al. Piezo1-dependent stretch-activated channels are inhibited by Polycystin-2 in renal tubular epithelial cells. EMBO Rep. 2013; 14(12):1143-1148.
- [25] SYEDA R, FLORENDO MN, COX CD, et al. Piezo1 channels are inherently mechanosensitive. Cell Rep. 2016;17(7): 1739-1746.

- [26] KAESTNER L, EGEE S. Commentary: Voltage Gating of Mechanosensitive PIEZO Channels. *Front Physiol.* 2018;9: 1565.
- [27] ZARYCHANSKI R, SCHULZ VP, HOUSTON BL, et al. Mutations in the mechanotransduction protein PIEZO1 are associated with hereditary xerocytosis. *Blood.* 2012;120(9): 1908-1915.
- [28] JUSTESEN J, STENDERUP K, EBBESEN EN, et al. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology.* 2001; 2(3):165-171.
- [29] LV H, LI L, SUN M, et al. Mechanism of regulation of stem cell differentiation by matrix stiffness. *Stem Cell Res Ther.* 2015;6: 103.
- [30] DING H, CHEN S, YIN JH, et al. Continuous hypoxia regulates the osteogenic potential of mesenchymal stem cells in a time-dependent manner. *Mol Med Rep.* 2014;10(4):2184-2190.
- [31] MOZDZEN LC, THORPE SD, SCREEN HR, et al. The Effect of Gradations in Mineral Content, Matrix Alignment, and Applied Strain on Human Mesenchymal Stem Cell Morphology within Collagen Biomaterials. *Adv Healthc Mater.* 2016;5(14):1731-1739.
- [32] LUND P, PILGAARD L, DUROUX M, et al. Effect of growth media and serum replacements on the proliferation and differentiation of adipose-derived stem cells. *Cytotherapy.* 2009;11(2):189-197.
- [33] BERARD A, BRAVO G, GAUTHIER P. Meta-analysis of the effectiveness of physical activity for the prevention of bone loss in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 1997;7(4): 331-337.
- [34] KIM H, IWASAKI K, MIYAKE T, et al. Changes in bone turnover markers during 14-day 6 degrees head-down bed rest. *J Bone Miner Metab.* 2003;21(5):311-315.
- [35] WAMOTO J, TAKEDA T, SATO Y. Interventions to prevent bone loss in astronauts during space flight. *Keio J Med.* 2005;54(2):55-59.
- [36] GREGL A, HEITMANN D, KRACK U, et al. Das Gesetz der Transformation der Knochen. *Dtsch Med Wochenschr.* 1893;19(47):1222-1224.
- [37] SUGIMOTO A, MIYAZAKI A, KAWARABAYASHI K, et al. Piezo type mechanosensitive ion channel component 1 functions as a regulator of the cell fate determination of mesenchymal stem cells. *Sci Rep.* 2017;7(1):17696.
- [38] SYEDA R, XU J, DUBIN AE, et al. Chemical activation of the mechanotransduction channel Piezo1. *Elife.* 2015. doi: 10.7554/eLife.07369.
- [39] SUN W, CHI S, LI Y, et al. The mechanosensitive Piezo1 channel is required for bone formation. *Elife.* 2019. doi:10.7554/eLife.47454.
- [40] WANG L, YOU X, LOTINUN S, et al. Mechanical sensing protein PIEZO1 regulates bone homeostasis via osteoblast-osteoclast crosstalk. *Nat Commun.* 2020;11(1):282.
- [41] LAWRENCE RC, FELSON DT, HELMICK CG, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum.* 2008; 58(1):26-35.
- [42] D'LIMA DD, PATIL S, STEKLOV N, et al. In vivo knee moments and shear after total knee arthroplasty. *J Biomech.* 2007;40 Suppl 1:S11-S17.
- [43] FREGLEY BJ, BESIET TF, LLOYD DG, et al. Grand challenge competition to predict in vivo knee loads. *J Orthop Res.* 2012; 30(4):503-513.
- [44] KOIKE M, NOJIRI H, OZAWA Y, et al. Mechanical overloading causes mitochondrial superoxide and SOD2 imbalance in chondrocytes resulting in cartilage degeneration. *Sci Rep.* 2015;5:11722.
- [45] ONITSUKA K, MURATA K, KOKUBUN T, et al. Effects of Controlling Abnormal Joint Movement on Expression of MMP13 and TIMP-1 in Osteoarthritis. *Cartilage.* 2018: 941195303.
- [46] GRIFFIN TM, GUILAK F. The role of mechanical loading in the onset and progression of osteoarthritis. *Exerc Sport Sci Rev.* 2005;33(4):195-200.
- [47] LAWRENCE KM, JONES RC, JACKSON TR, et al. Chondroprotection by urocortin involves blockade of the mechanosensitive ion channel Piezo1. *Sci Rep.* 2017;7(1): 5147.
- [48] LEE W, LEDDY HA, CHEN Y, et al. Synergy between Piezo1 and Piezo2 channels confers high-strain mechanosensitivity to articular cartilage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(47): E5114-5122.
- [49] ROCIO SM, MORONI M, LEWIN GR, et al. Direct measurement of TRPV4 and PIEZO1 activity reveals multiple mechanotransduction pathways in chondrocytes. *Elife.* 2017; 6. pii: e21074.
- [50] LI XF, ZHANG Z, CHEN Z K, et al. Piezo1 protein induces the apoptosis of human osteoarthritis-derived chondrocytes by activating caspase-12, the signaling marker of ER stress. *Int J Mol Med.* 2017;40(3):845-853.
- [51] 鲁玉来. 腰椎间盘突出症[J]. 中国矫形外科杂志, 2004, 12(23): 1901-1904.
- [52] LI XF, LENG P, ZHANG Z, et al. The Piezo1 protein ion channel functions in human nucleus pulposus cell apoptosis by regulating mitochondrial dysfunction and the endoplasmic reticulum stress signal pathway. *Exp Cell Res.* 2017;358(2): 377-389.
- [53] 殷涛, 邵进, 张岩, 等. 机械敏感性离子通道蛋白Piezo1在椎间盘髓核细胞中的表达及意义[J]. 中国医药导报, 2019, 16(12):77-80.
- [54] PASZEK MJ, WEAVER VM. The tension mounts: mechanics meets morphogenesis and malignancy. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2004;9(4):325-342.
- [55] YANG JH, SAKAMOTO H, XU EC, et al. Biomechanical regulation of human monocyte/macrophage molecular function. *Am J Pathol.* 2000;156(5):1797-1804.
- [56] WELLS RG, DISCHER DE. Matrix elasticity, cytoskeletal tension, and TGF-beta: the insoluble and soluble meet. *Sci Signal.* 2008;1(10):e13.
- [57] JIANG L, ZHAO YD, CHEN WX. The function of the novel mechanical activated ion channel Piezo1 in the human osteosarcoma cells. *Med Sci Monit.* 2017;23:5070-5082.
- [58] LEWIECKI EM, COMPSTON JE, MILLER PD, et al. Official Positions for FRAX® Bone Mineral Density and FRAX® Simplification: From Joint Official Positions Development Conference of the International Society for Clinical Densitometry and International Osteoporosis Foundation on FRAX®. *J Clin Densitom.* 2011;14(3):226-236.
- [59] LEBLANC AD, SPECTOR ER, EVANS HJ, et al. Skeletal responses to space flight and the bed rest analog: a review. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2007;7(1):33-47.
- [60] 李晓飞, 张钊, 王天宝, 等. Piezo1蛋白经MAPK/ERK5信号通路介导软骨细胞凋亡的机制研究[J]. 中华骨科杂志, 2016, 36(12): 795-803.