

Piezo1 在激素性和酒精性股骨头坏死骨组织中的差异表达

魏腾飞¹, 何晓铭^{2,3}, 韦雨柔¹, 詹芝玮¹, 何敏聪^{2,3}, 何伟^{2,3}, 魏秋实^{2,3}

https://doi.org/10.12307/2022.1022

投稿日期: 2022-01-17

采用日期: 2022-03-07

修回日期: 2022-04-15

在线日期: 2022-05-11

中图分类号:

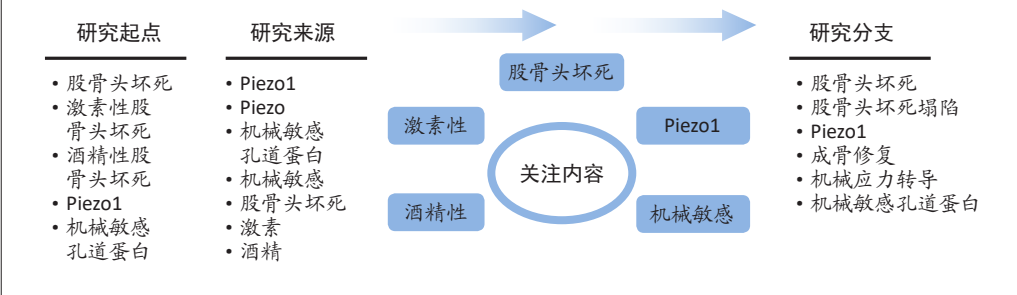
R459.9; R496; R318

文章编号:

2095-4344(2023)02-00270-06

文献标识码: A

文章快速阅读: 力学感应蛋白 Piezo1 在激素性和酒精性股骨头坏死患者骨组织中的差异表达



文题释义:

Piezo1: 一种由FAM38A基因编码的镶嵌于细胞膜上的新型机械敏感孔道蛋白, 广泛分布在呼吸、消化、心血管、泌尿、运动等全身多个系统的组织器官中。Piezo1跨膜段的数量多, 可感知哺乳动物的生物力学机械信号, 从而发生机械生化、电信号转导及阳离子门控通道功能, 是近年来医学研究领域的热点。

股骨头坏死: 是指由于不同病因破坏了股骨头血液供应, 导致股骨头发生部分或完全性缺血, 逐渐发展为股骨头塌陷, 最终发生髋关节骨关节炎。股骨头坏死的常见原因有激素、酒精和创伤。

摘要

背景: 据报道, 激素、酒精均可抑制骨髓间充质干细胞从而影响骨的形成与修复, 而股骨头塌陷的发生与机械应力刺激、坏死组织修复能力相关, 推测Piezo1可能是感应股骨头坏死塌陷的力学敏感蛋白。

目的: 观察力学感应蛋白Piezo1在激素性和酒精性股骨头坏死患者骨组织中的差异表达。

方法: 选取30例在2020年8月至2021年4月因股骨头坏死行人工全髋关节置换的患者, 收集其股骨头标本及临床、影像资料。股骨头标本均为ARCO III期; 其中男20例, 女10例; 分为激素组15例, 酒精组15例。苏木精-伊红染色观察股骨头标本骨组织形态结构变化; Western-blot检测骨组织中Piezo1蛋白的半定量表达; 免疫组化检测Piezo1蛋白在骨组织中的定位表达。

结果与结论: ①苏木精-伊红染色结果发现激素及酒精组坏死区骨质结构紊乱、骨髓坏死, 均有大量空虚的骨陷窝; ②Western blot结果提示激素组患者股骨头骨组织的坏死区、硬化区和正常区Piezo1蛋白的表达均高于酒精组患者 ($P < 0.05$); ③免疫组化结果提示激素性股骨头坏死组坏死区、硬化区和正常区阳性表达较酒精组更明显; ④结果提示, Piezo1可能是感应股骨头坏死塌陷的力学敏感蛋白, 并参与成骨的过程; 激素性与酒精性股骨头坏死骨组织中Piezo1的差异表达可能与两者不同的骨形成修复特点有关。

关键词: 股骨头坏死; 激素; 酒精; Piezo1; 机械敏感性离子通道; 塌陷; 骨修复; 成骨; 破骨

Differential expression of Piezo1 in osseous tissue of steroid- and alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head

Wei Tengfei¹, He Xiaoming^{2,3}, Wei Yurou¹, Zhan Zhiwei¹, He Mincong^{2,3}, He Wei^{2,3}, Wei Qiushi^{2,3}

¹Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China; ²Guangdong Research Institute for Orthopedics & Traumatology of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, Guangdong Province, China; ³Joint Center, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, Guangdong Province, China

Wei Tengfei, MD candidate, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Corresponding author: Wei Qiushi, MD, Doctoral supervisor, Associate chief physician, Guangdong Research Institute for Orthopedics & Traumatology of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, Guangdong Province, China; Joint Center, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, Guangdong Province, China

¹广州中医药大学, 广东省广州市 510405; ²广东省中医骨伤研究院, 广东省广州市 510378; ³广州中医药大学第三附属医院关节中心, 广东省广州市 510378

第一作者: 魏腾飞, 男, 1995年生, 湖南省邵阳市人, 广州中医药大学在读博士, 主要从事骨与关节的临床与基础研究。

通讯作者: 魏秋实, 博士, 博士生导师, 副主任医师, 广东省中医骨伤研究院, 广东省广州市 510378; 广州中医药大学第三附属医院关节中心, 广东省广州市 510378

https://orcid.org/0000-0001-8285-7451(魏腾飞)

基金资助: 国家自然科学基金面上项目(81873327), 项目负责人: 何伟; 国家自然科学基金青年科学基金(82004392), 项目负责人: 何敏聪;

2021年广东省教育厅普通高校重点领域专项(2021ZDZX2005), 项目负责人: 魏秋实; 广州中医药大学“双一流”与高水平大学学科协同创新团队重大项目(2021XK05), 项目负责人: 何伟; 广州中医药大学“双一流”与高水平大学学科协同创新团队培育项目(2021XK41),

项目负责人: 魏秋实; 2021年广东省中医骨伤研究院开放课题重点项目(GYH202101-01), 项目负责人: 何伟; 2021年广东省中医骨伤研究院开放课题重点项目(GYH202101-04), 项目负责人: 魏秋实

引用本文: 魏腾飞, 何晓铭, 韦雨柔, 詹芝玮, 何敏聪, 何伟, 魏秋实. Piezo1在激素性和酒精性股骨头坏死骨组织中的差异表达[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(2):270-275.



Abstract

BACKGROUND: Both hormones and alcohol can inhibit bone marrow mesenchymal stem cells and thus affect bone formation and repair. The occurrence of femoral head collapse is related to mechanical stress stimulation and the ability to repair necrotic tissue. Piezo1 may be a mechanosensitive protein that senses femoral head collapse due to osteonecrosis of the femoral head (ONFH).

OBJECTIVE: To observe the differential expression of Piezo1 in osseous tissue of patients with steroid- and alcohol-induced ONFH.

METHODS: Thirty patients who underwent total hip arthroplasty due to ONFH from August 2020 to April 2021 were enrolled, and their femoral head samples (a total of 30, all were ARCO III stage; 20 males, 10 females; 15 cases in the steroid-induced ONFH group and 15 cases in the alcohol-induced ONFH group), clinical and imaging data were collected. The morphological and structural changes of bone specimens in necrotic area were observed by hematoxylin-eosin staining. The semi-quantitative expression of Piezo1 protein in osseous tissue was detected by western blot. The localization expression of Piezo1 protein in osseous tissue was detected by immunohistochemistry.

RESULTS AND CONCLUSION: Hematoxylin-eosin staining showed that bone structure disorder, bone marrow necrosis and a large number of empty bone lacunae were found in the necrotic area of the steroid- and alcohol-induced ONFH groups. The results of western blot assay showed that the expression of Piezo1 in the necrotic, sclerotic and normal area of the femoral head in steroid-induced ONFH group was higher than that in the alcohol-induced ONFH group ($P < 0.05$). The immunohistochemical results showed that the positive expression of Piezo1 in the necrotic, sclerotic and normal area in the steroid-induced ONFH group was more obvious than that in the alcohol-induced ONFH group. All these findings indicate that Piezo1 may be a mechanosensitive protein that senses ONFH collapse and may be involved in the process of osteogenic repair. The differential expression of Piezo1 in osseous tissue of patients with steroid- and alcohol-induced ONFH may be related to their different repair characteristics of bone formation.

Key words: osteonecrosis of the femoral head; steroid; alcohol; Piezo1; mechanosensitive ion channel; collapse; bone repair; osteogenesis; osteoclast

Funding: National Natural Science Foundation of China (General Project and Youth Science Fund), Nos. 81873327 (to HW) and 82004392 (to HMC); Special Fund for Key Fields of General Colleges and Universities of Guangdong Provincial Department of Education in 2021, No. 2021ZDZX2005 (to WQS); "Double First-class" and High-level University Discipline Collaborative Innovation Team Major Project of Guangzhou University of Chinese Medicine, No. 2021XK05 (to HW); "Double First-class" and High-level University Discipline Collaborative Innovation Team Cultivation Project of Guangzhou University of Chinese Medicine, No. 2021XK41 (to WQS); the Key Projects of Guangdong Research Institute for Orthopedics & Traumatology of Chinese Medicine in 2021, Nos. GYH202101-01 (to HW) and GYH202101-04 (to WQS)

How to cite this article: WEI TF, HE XM, WEI YR, ZHAN ZW, HE MC, HE W, WEI QS. Differential expression of Piezo1 in osseous tissue of steroid- and alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2023;27(2):270-275.

0 引言 Introduction

股骨头坏死是一种好发于中青年患者的难治性、致残性骨病，其特征是骨细胞凋亡和骨微结构破坏，股骨头负重能力降低并发展为头部塌陷及髋关节畸形，引起髋关节功能障碍^[1]。滥用激素、酗酒是股骨头坏死的主要危险因素^[2]。至目前为止，股骨头坏死发生的生理病理机制仍不清楚^[3]，其临床早期诊断及治疗方法仍具有挑战性。骨坏死发生后股骨头骨组织结构和强度损伤，触发机体修复反应，发生骨吸收囊变、新生血管长入等炎症反应，促进新骨形成^[4]，若骨形成修复不足，坏死股骨头无法适应承载的机械负荷时，软骨下骨小梁发生累积性应力骨折，则会发生塌陷，开启骨关节炎进程。塌陷是股骨头坏死病情进展的一个重要转折点^[5]，对股骨头坏死塌陷等病理改变的充分认识有助于保髋治疗的成功^[6]。因此，探索促进成骨修复避免塌陷的治疗方法是亟待解决的问题，而了解在骨形成修复和塌陷过程中的分子机制是探索治疗方法的前提。

机械应力是股骨头坏死塌陷及骨重塑中的重要调节因素。然而，对塌陷及成骨相关机械转导的分子调控仍然知之甚少。前期研究发现激素性与酒精性股骨头坏死具有不同的成骨修复反应，激素性股骨头坏死可能遵循爬行替代成骨规律，而酒精性股骨头坏死因骨形成减弱的特点其成骨修复可能是激发、提高自身组织的成骨能力^[7]。沈莹珊等^[8]辨析了激素性与酒精性股骨头坏死不同修复方式引起血瘀形成的原因，这些发现对认识成骨修复过程具有一定的指导作用。探索激素性与酒精性股骨头坏死分子水平表达差异可能有助于解释两者不同的骨形成修复特点。然而，股骨头坏死塌陷及骨形成重塑发生前后是否有相应分子通道启动尚不清楚。近年来研究发现，Piezo 家族机械敏感通道是与骨发育和成骨细胞分化相关的关键机械刺激传感蛋白^[9]。Piezo1 能够感应

骨骼机械应力转化为细胞内信号并调控成骨细胞的功能和骨形成。据报道，成骨细胞和骨细胞中 Piezo1 对出生后小鼠骨形成及骨吸收的调节具有重要作用^[10-12]，此外，Piezo1 在骨质疏松和膝骨关节炎的发病中具有重要作用^[13-15]。基于 Piezo1 与细胞机械力学转导的相关性，推测 Piezo1 可能在股骨头坏死塌陷过程中发挥作用，并参与成骨修复的过程。该研究将通过组织病理学、分子生物学技术观察激素性与酒精性股骨头坏死患者骨组织标本中 Piezo1 的表达状态，为深入了解股骨头坏死塌陷发生的力学相关分子机制及促成骨修复具有重要意义。

1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 分组对照观察，组间比较进行独立样本 t 检验，计数资料采用 χ^2 检验。

1.2 时间及地点 股骨头标本来自于 2020 年 8 月至 2021 年 4 月因股骨头坏死在广东省中医骨伤研究院接受人工全髋关节置换术的患者。

1.3 对象

1.3.1 标本来源

纳入标准: ①经影像科及关节中心医师据 X 射线片诊断为激素性或酒精性股骨头坏死，且国际骨循环学会 (ARCO) 分期为 III 期的患者；②行人工全髋关节置换术者。

排除标准: ①存在心脑血管、神经系统疾病、严重肾脏疾病、甲亢或痛风性关节炎的患者；②存在创伤、肿瘤、感染等可能影响骨组织分子检测结果因素的患者。

选取 30 例接受人工全髋关节置换患者的股骨头标本，其中男 20 例，女 10 例；分为激素组 15 例，酒精组 15 例；患者股骨头坏死均为国际骨循环协会 (ARCO) III 期，并收集患者相应的临床和影像学资料。两组患者的基线资料差异无

显著性意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

所有患者均已签署知情同意书, 并且实验方案通过广州中医药大学第三附属医院伦理委员会批准 (NO.K[2019]072), 并在中国临床试验注册中心注册 (ChiCTR- RPC-15006290)。

1.3.2 主要仪器及试剂 Leica 组织切片机、Leica TP1020 自动组织处理机、Leica Autostainer XL 自动染色机、WD-9413B 型凝胶成像系统 (北京六一仪器厂); 光学显微镜 (DP70, 日本 Olympus 公司); 兔抗 Piezo1 (MA5-32876, Life Technologies); 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记山羊抗兔 IgG (A16096, Invitrogen); GAPDH 内参蛋白 (CPA9066, sabbitech)。

1.4 方法

1.4.1 病理学观察 使用硬组织切片机将两组股骨头标本切片, 大体观察股骨头切片内坏死、硬化及正常区情况, 并将患者股骨头中坏死区、硬化区及正常区不同位置的骨组织标本置于 40 g/L 多聚甲醛溶液室温固定 24 h, 10% EDTA 液脱钙, 经体积分数 75%, 85%, 95%, 100% 的乙醇梯度脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 5 μ m 厚切片, 常规苏木精-伊红染色, 镜下观察。

1.4.2 Western blot 检测 Piezo1 蛋白的表达 从液氮中取出股骨头冰冻切块, 于切片坏死区、硬化区、正常区不同位置钳取骨组织并用天平称质量, 每 1 mg 组织加 3.5 μ L 裂解液, 并加入 PMSF、Cocktail 蛋白酶抑制剂, 于已预冷研磨钵中充分研磨、匀浆, 冰上裂解 30 min, 将液体转移至 1.5 mL Ep 管中, 4 $^{\circ}$ C 12 000 r/mim 高速离心 30 min, 取上清液按 BCA 法配制蛋白标准溶液, 用酶标仪测吸光度后推算出各蛋白浓度, 计算出蛋白浓度标准化体积, 随后分别制备 10% 分离胶及 5% 浓缩胶, 与适量比例的 loading buffer 充分混匀上样, 开始 SDS-PAGE 电泳, 设置跑胶条件为上层胶电压为 80 V, 时间为 20 min, 下层胶为 110 V, 时间为 90 min, 然后 100 V 电压转膜, 取出 PVDF 膜, 切膜, 体积分数 3% 牛血清白蛋白 (BSA) 室温下封闭 1 h, 加入一抗 (兔抗 Piezo1, 1 : 500) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 之后 TBST 洗涤 3 次, 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记山羊抗兔 IgG 二抗 (1 : 10 000) 室温孵育 1 h, TBST 漂洗后予以增强化学发光液于凝胶成像仪中曝光显影, 并用 Image J 软件分析各组不同区域目标条带灰度值, 同时计算各组 Piezo1 蛋白相对于 GAPDH 内参蛋白的表达量。

1.4.3 免疫组化检测 Piezo1 蛋白的表达 取 5 μ m 厚不同区域骨标本组织的石蜡切片, 于 60 $^{\circ}$ C 恒温箱中烤片 30 min, 二甲苯中脱蜡, 常规体积分数 100%-70% 由高至低浓度乙醇梯度水化, 于 0.01 mol/L 柠檬酸钠缓冲液高压修复, 冷却完成后 PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min, 然后加入体积分数 3% H_2O_2 除去内源性过氧化物酶, 阻断非特异性抗原结合, 并加入一抗, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 室温下加入生物素化二抗 30 min, 二抗加入前后 PBST 漂洗 3 次, 随后滴加二氨基联苯胺 (DAB) 溶液显色, 苏木素复染, 常规脱水, 干燥后封固, 在光学显微镜下检测 Piezo1 蛋白的表达。

1.5 主要观察指标 ①股骨头标本大体观察及坏死区苏木精-伊红染色结果; ②股骨头标本中不同区域 Piezo1 蛋白的半定量表达及定位表达。

1.6 统计学分析 使用 SPSS 26.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用独立样本 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学差异。文章统计学方法已通过广州中医药大学生物统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 两组患者基线资料分析 见表 1。两组患者的基线资料差异无显著性意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

表 1 | 两组患者的基线资料 (n=15)
Table 1 | Baseline data of patients in the two groups

项目	激素组	酒精组	P 值
性别 (男/女, n)	9/6	11/4	0.439
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	41.80 \pm 14.61	49.60 \pm 13.32	0.138
ARCO 分期	III 期	III 期	
体质量 ($\bar{x} \pm s$, kg)	61.87 \pm 11.59	69.30 \pm 11.43	0.088

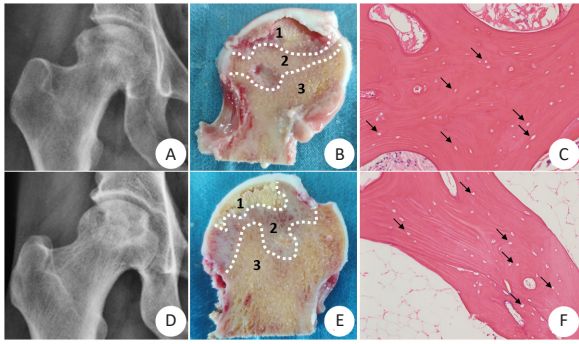
2.2 股骨头标本大体观察及苏木精-伊红染色结果 两组股骨头切片标本均可见坏死区、硬化区和正常区, 均有骨小梁破坏及囊变, 软骨下可见淡黄色坏死组织, 坏死区下可见灰白色硬化带。激素性股骨头坏死、硬化区交界处可见坏死骨吸收、肉芽组织形成及血管新生; 酒精性股骨头坏死、硬化区交界处则坏死骨吸收、血管新生不明显。苏木精-伊红染色结果发现两组坏死区骨质结构紊乱, 骨髓坏死, 骨陷窝空虚, 但激素组骨小梁结构和连续性破坏更为严重, 见图 1。

2.3 Western blotting 半定量分析 两组股骨头坏死区、硬化区和正常区的 Western Blot 蛋白免疫印迹条带灰度值结果, 见图 2A; 结果发现激素组股骨头骨组织的坏死区、硬化区和正常区 Piezo1 的表达均高于酒精组 (均 $P < 0.05$, 其中坏死区 $P=0.011$, 硬化区 $P=0.014$, 正常区 $P=0.001$), 同时两组坏死区 Piezo1 蛋白的表达大于硬化区, 硬化区则大于正常区, 见图 2B。

2.4 免疫组化分析 光镜下免疫组化结果显示股骨头组织标本中坏死区、硬化区及正常区 Piezo1 的阳性染色分布, 可以发现骨小梁、成骨细胞和骨髓均有 Piezo1 的表达存在。相较而言, 激素组股骨头坏死棕色区域染色较深, 股骨头坏死区、硬化区和正常区阳性表达较酒精组更为明显, 见图 3。

3 讨论 Discussion

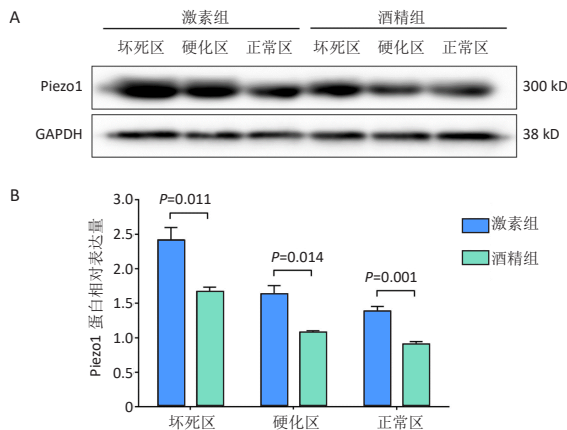
机械应力是股骨头坏死塌陷及重塑中的重要调节因素。然而, 对塌陷相关机械转导的分子调控仍然知之甚少。在这项研究中, 发现力学感应蛋白 Piezo1 在 ARCO III 期激素及酒精性股骨头坏死患者股骨头标本中高表达, 这可能与细胞破骨及成骨活动介导的骨重塑过程活跃、骨修复活动代偿性增加相关。骨重塑首先由破骨细胞发起^[16], 破骨细胞黏附后才进行成骨活动, 这可能导致塌陷。塌陷是股骨头坏死诊断治



图注：图 A-C 为激素性股骨头坏死；D-F 为酒精性股骨头坏死。1：坏死区；2：硬化区；3：正常区。箭头所示为空骨陷窝

图 1 | 激素性与酒精性股骨头坏死患者的 X 射线片 (A, D)、股骨头标本坏死区、硬化区、正常区大体观察 (B, E) 及苏木精 - 伊红染色 (C, F, ×200)

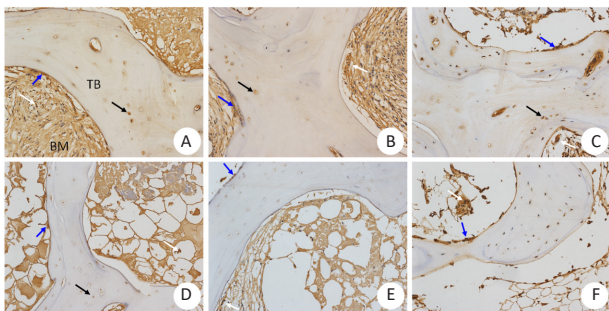
Figure 1 | X-ray observation (A, D) of patients with steroid- and alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head as well as general observation (B, E) and hematoxylin-eosin staining (C, F, ×200) of necrotic, sclerotic, and normal areas of femoral head specimens



图注：激素组股骨头骨组织的坏死区、硬化区和正常区 Piezo1 蛋白的表达均高于酒精组

图 2 | 激素性和酒精性坏死股骨头标本中不同区域 Piezo1 蛋白相对表达量的比较

Figure 2 | Comparison of Piezo1 protein and relative expression levels in different regions of steroid- and alcohol-induced necrotic femoral head specimens



图注：图 A-C 分别为激素组坏死区、硬化区、正常区；D-F 为酒精组坏死区、硬化区、正常区。TB：骨小梁；BM：骨髓；箭头所示为 Piezo1 蛋白表达分布区域

图 3 | 免疫组化分析激素性和酒精性坏死的股骨头组织中 Piezo1 蛋白表达 (×200)

Figure 3 | Immunohistochemical analysis of Piezo1 expression in the femoral head after steroid- and alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head (×200)

疗的中心点，股骨头坏死后股骨头内会发生动态骨再生、重塑的修复反应，在破骨细胞协同下，成骨细胞在骨表面沉积、构建新生骨及矿化周围骨结构，联合深嵌于成熟骨内的骨细胞，最终促进新骨形成，重新协调骨骼组织内稳态及改善微环境，从而防止股骨头塌陷或者阻止塌陷进一步加重。据报道，激素、酒精均可抑制骨髓间充质干细胞从而影响骨的形成与修复^[17-18]，而股骨头塌陷的发生与机械应力刺激、坏死组织修复能力相关^[19-20]。因此，作者团队认为 Piezo1 与股骨头坏死的塌陷过程存在一定的相关性，Piezo1 可能是感应股骨头坏死塌陷的力学敏感蛋白。研究者发现，不同区域组织标本中 Piezo1 存在差异，部位尤以坏死区明显，这可能与坏死区机械应力集中、细胞膜上机械转导信号刺激最为强烈相关，而硬化区、正常区负重应力依次降低，故正常区相较坏死区表达最轻；同时值得注意的是，激素性和酒精性股骨头坏死患者骨组织中 Piezo1 表达存在差异，激素组患者股骨头坏死区、硬化区和正常区 Piezo1 的表达均高于酒精组，且在骨髓、成骨细胞及骨小梁中表达较高。结合前期的研究，激素性股骨头坏死以骨吸收增强为特点、破骨活动活跃为主要表现形式^[7]，相较酒精组而言，激素组塌陷后骨吸收及骨形成协调性好，血运肉芽组织较酒精组丰富，这可能提示激素组 Piezo1 较高的表达量代表了较为活跃的骨形成修复特点，而酒精组相对较低 Piezo1 表达，可能与参与坏死骨组织重塑的低反应性相关。故两组骨组织中 Piezo1 的差异表达可能与它们不同的骨形成修复特点有关。

哺乳动物生理病理过程中涉及许多类型机械转导，如声音、气流、力、本体感觉等，然而，机械力如何塑造生物学过程的了解仍然有限^[21]。哺乳动物特殊蛋白质 Piezo1 的突破性发现开创了机械转导的新纪元^[22]。据报道，Piezo1 的结构和序列上不同于其他已知离子通道，是镶嵌于细胞膜上的一种新型机械敏感孔道蛋白，2010 年首次被 patapoutian 团队发现^[23]，Piezo1 同源三聚体构成了一个三叶螺旋桨式结构^[24]，其跨膜段的数量多，形成独特的纳米碗状结构^[25]，可感受骨骼中的重力、压应力以及流体剪切力等生物力学机械信号，并在毫秒内快速响应，其螺旋桨叶片等组成部分发生形态结构变化，中心穿孔区打开引起 Ca²⁺、K⁺ 等阳离子内流，从而发生机械生化、电信号转导，完成对骨组织精细的机械力感知及阳离子门控通道功能。Piezo1 在呼吸、消化、心血管、泌尿、运动等多个系统的器官、组织中均有分布，其中对骨骼的影响最大，在人间充质干细胞、成骨、破骨、软骨细胞等非神经元细胞中稳定表达^[26]，因此，它的功能主要是感知、转导细胞膜上的机械信号，影响细胞增殖、分化、凋亡等生命活动，并在生物骨生长发育和骨量维持中起重要作用。临床上激素、酒精常诱导股骨头缺血坏死，力学刺激下发生塌陷。股骨头塌陷对于机械力学刺激的感知依赖于细胞机械离子通道的信号转导，结合此次研究结果，推测 Piezo1 可能可以敏锐地感知股骨头坏死的塌陷，同时研究发现激素性和酒

精性股骨头坏死的塌陷骨组织标本均有 Piezo1 的表达, 这提示 Piezo1 可能参与了股骨头坏死骨形成部分的修复过程, 它可能主要通过影响细胞分化、增殖等促进成骨来发挥作用。

机体中成骨细胞、破骨细胞和其他骨细胞受到各种内源性和外环境因素的影响, 而 Piezo1 作为骨骼机械力的传感蛋白分子, 可感知机械负荷从而调节骨稳态, 研究发现 Piezo1 维持骨稳态的关键作用是通过成骨细胞、骨细胞的机械感应调节来实现的, 同时承受高生物力学负荷骨骼区域 Piezo1 可调控转录辅助因子 YAP1 和 TAZ 激活下游 Wnt 信号通路从而参与调节间充质干细胞向成骨细胞分化, 促进成骨细胞增殖和分化^[10]。SUGIMOTO 等^[27]发现 Piezo1 感受流体静水压的机械刺激促进间充质干细胞中骨形态发生蛋白 2 表达和成骨细胞分化, 抑制脂肪细胞分化, 调控间充质干细胞的分化命运, 此外, 使用 Yoda1(Piezo1 的激活剂) 也可以获得与静水压机机械刺激相同的效果。最近研究发现 Piezo1 还在软骨内骨化及骨重塑过程中发挥作用, 促进骨小梁的形成^[28]。此外, WANG 等^[12]研究发现成骨细胞中的 Piezo1 调控 II 型和 IX 型胶原蛋白表达, 并且这些胶原亚型又反过来调节破骨细胞分化, 这提示 Piezo1 可以通过骨骼中的成骨细胞-破骨细胞间串扰来协调骨稳态。机械应力及细胞感应机械力分子 Piezo1 的缺乏则会导致骨质流失及骨代谢紊乱。LI 等^[10]研究发现航天飞行过程中, 由于重力的减弱, Piezo1 的活性和表达降低, 导致骨流失的增加。另一项研究发现, 向成年小鼠施用 Piezo1 激活剂则会模拟机械负荷的影响促进骨的合成及增加骨量, Piezo1 在成骨细胞和骨细胞缺失会降低骨质, 改变骨基质的完整性, 并且钝化骨骼对机械负荷的反应^[10]。综上, Piezo1 在骨骼细胞感知机械负荷中起着十分重要的作用, 可通过调节成骨细胞活性及间接调控破骨细胞活性促进骨形成, 可能介导协调股骨头坏死塌陷及成骨修复的骨稳态。

一些研究发现 Piezo1 通道在血管生理学中也起着关键的整合作用^[29-30], CHEN 等^[31]使用具有内皮细胞特异性 Piezo1 通道缺失的小鼠来检查 Piezo1 在骨折愈合中的作用, 结果发现内皮细胞中的 Piezo1 可促进血管生成来支持骨折修复。有研究报道, Piezo1 可以感知身体运动, 有利地重置对血管收缩及舒张的控制, 增强体能, 而缺乏内皮 Piezo1 的小鼠体能受损^[32]。另一项研究表明 Piezo1 缺陷小鼠胚胎在妊娠中期死亡, 并伴有血管重塑缺陷, 这提示 Piezo1 机械敏感离子通道是小鼠血管发育所必需的^[33]。因此, 这可能是未来 Piezo1 机械敏感通道除骨形成外的重要研究方向。然而, 此次研究仍有一定的局限性, 首先, 没有测量塌陷前期股骨头坏死患者骨组织中 Piezo1 的表达, 这可能需要通过其他可替代方法, 如血清样本化验等检测 Piezo1 在股骨头坏死早期的表达情况; 第二, 并没有判断患者具体的股骨头坏死部位和塌陷程度, 不同的骨坏死部位可能影响 Piezo1 的表达, 尤其当累及股骨头前侧或外侧承重柱的病理性骨小梁骨折时, 负

重时股骨头主体骨架更易发生塌陷, 塌陷后两组 Piezo1 的表达可能存在差异, 同时患者具体塌陷程度的不同也可能导致表达差异; 最后, 关于 Piezo1 在股骨头坏死中的具体调控作用及机械信号转导机制, 这还需要进一步的研究。

综上, 尽管学者对股骨头坏死的认识在不断提高, 但该病的治疗仍然困难^[34]。研究人股骨头坏死组织细胞中的生物力学信号转导机制是股骨头坏死未来的一个重要方向。在这项研究中, 发现力学感应蛋白 Piezo1 在股骨头坏死患者中高表达, 其中激素组患者中的表达高于酒精组, 这可能归因于两者不同的骨形成修复特点。作者认为 Piezo1 可能通过感知应力刺激促进股骨头坏死成骨修复, 调节骨稳态, 尤其是在激素性股骨头坏死中, 此研究有望为激素性股骨头坏死的防治提供新思路, 深入研究 Piezo1 在股骨头坏死机械应力转导作用将对认识股骨头坏死的塌陷机制具有重要的现实意义。同时 Piezo1 有望成为治疗早期股骨头坏死的潜在预防靶点。未来随着骨骼机械转导的确切途径和促进股骨头坏死成骨修复介导因素的进一步揭示, 期待开发激活成骨目标途径的药物制剂来治疗股骨头坏死, 提高修复骨的抗塌性能预防塌陷, 从而实现“无塌髋关节”。

作者贡献: 实验设计为魏秋实、何伟, 实验实施为魏腾飞、何晓铭, 实验评估为何敏聪, 资料收集为韦雨柔、詹芝玮。

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中不存在利益冲突。

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。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 文章撰写遵守了《非随机对照临床试验研究报告指南》(TREND 声明)。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表宗旨。

4 参考文献 References

- [1] GUERADO E, CASO E. The physiopathology of avascular necrosis of the femoral head: an update. *Injury*. 2016;47 Suppl 6:S16-S26.
- [2] LESPASIO M. Osteonecrosis of the Hip: A Primer. *Perm J*. 2019;23:18-100.
- [3] 骆帝, 梁学振, 刘金豹, 等. 不同病因股骨头坏死样本成骨与成血管相关指标蛋白表达的差异 [J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(11): 1641-1647.
- [4] 魏秋实, 李子祺, 袁颖嘉, 等. “标本兼治”理论在股骨头坏死中医药治疗中的指导作用 [J]. *中医正骨*, 2020, 32(1): 56-59.
- [5] GOU W, LU Q, WANG X, et al. Key pathway to prevent the collapse of femoral head in osteonecrosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015; 19(15):2766-2774.
- [6] 何伟. 如何把握股骨头坏死患者的保髋治疗时机 [J]. *中国骨与关节杂志*, 2016, 5(2): 82-86.
- [7] 魏秋实, 杨帆, 陈晓俊, 等. 激素性与酒精性股骨头坏死患者骨标本坏死区域病理与显微结构特点分析 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2018, 32(7): 866-872.

- [8] 沈莹珊, 乌日莎娜, 庄至坤, 等. 基于病理表型辨析激素性与酒精性股骨头坏死的血瘀证特点 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(8): 4868-4872.
- [9] ZHOU T, GAO B, FAN Y, et al. Piezo1/2 mediate mechanotransduction essential for bone formation through concerted activation of NFAT-YAP1- β -catenin. *eLife*. 2020;9:e52779.
- [10] LI X, HAN L, NOOKAEW I, et al. Stimulation of Piezo1 by mechanical signals promotes bone anabolism. *eLife*. 2019;8:e49631.
- [11] SUN W, CHI S, LI Y, et al. The mechanosensitive Piezo1 channel is required for bone formation. *eLife*. 2019;8:e47454.
- [12] WANG L, YOU X, LOTINUN S, et al. Mechanical sensing protein PIEZO1 regulates bone homeostasis via osteoblast-osteoclast crosstalk. *Nat Commun*. 2020;11:282.
- [13] LEE W, NIMS RJ, SAVADIPOUR A, et al. Inflammatory signaling sensitizes Piezo1 mechanotransduction in articular chondrocytes as a pathogenic feed-forward mechanism in osteoarthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021;118(13):e2001611118.
- [14] XU X, LIU S, LIU H, et al. Piezo Channels: Awesome Mechanosensitive Structures in Cellular Mechanotransduction and Their Role in Bone. *Int J Mol Sci*. 2021;22(12):6429.
- [15] 何琪, 张昱瑜, 王海彬, 等. 大型跨膜蛋白 Piezo1 在骨科相关疾病中的参与及意义 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(30):4882-4888.
- [16] WANG T, WANG F, LIU T, et al. OPG/RANKL/RANK gene methylation among alcohol-induced femoral head necrosis in northern Chinese men. *J Orthop Surg Res*. 2021;16:223.
- [17] SHENG H, SHENG C, CHENG X, et al. Pathomorphological changes of bone marrow adipocytes in process of steroid-associated osteonecrosis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6(6):1046-1050.
- [18] YU H, LIU P, ZHU D, et al. Chrysophanic acid shifts the differentiation tendency of BMSCs to prevent alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head. *Cell Prolif*. 2020;53(8):e12871.
- [19] GONG S, CHEN X, CHEN Z, et al. Elevated plasma cartilage oligomeric matrix protein (COMP) level are associated with the progression of non-traumatic osteonecrosis of femoral head. *Clinica Chimica Acta*. 2019;490:214-221.
- [20] HE M, ZHANG J, CHEN X, et al. Osteoclastic activity was associated with the development of steroid-induced osteonecrosis of femoral head. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2020;48(1):1036-1046.
- [21] NOURSE JL, PATHAK MM. How cells channel their stress: Interplay between Piezo1 and the cytoskeleton. *Semin Cell Dev Biol*. 2017;71: 3-12.
- [22] QIN L, HE T, CHEN S, et al. Roles of mechanosensitive channel Piezo1/2 proteins in skeleton and other tissues. *Bone Res*. 2021;9(1):44.
- [23] 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.
- [24] ZHAO Q, ZHOU H, CHI S, et al. Structure and mechanogating mechanism of the Piezo1 channel. *Nature*. 2018;554(7693):487-492.
- [25] JIANG Y, YANG X, JIANG J, et al. Structural Designs and Mechanogating Mechanisms of the Mechanosensitive Piezo Channels. *Trends Biochem Sci*. 2021;46(6):472-488.
- [26] ZHU D, ZHANG G, GUO X, et al. A New Hope in Spinal Degenerative Diseases: Piezo1. *Biomed Res Int*. 2021;2021:6645193.
- [27] 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.
- [28] HENDRICKX G, FISCHER V, LIEDERT A, et al. Piezo1 Inactivation in Chondrocytes Impairs Trabecular Bone Formation. *J Bone Miner Res*. 2021;36(2):369-384.
- [29] LI J, HOU B, TUMOVA S, et al. Piezo1 integration of vascular architecture with physiological force. *Nature*. 2014;515(7526):279-282.
- [30] LIU S, PAN X, CHENG W, et al. Tuberimoside I Antagonizes Yoda1-Evoked Piezo1 Channel Activation. *Front Pharmacol*. 2020;11:768.
- [31] CHEN P, ZHANG G, JIANG S, et al. Mechanosensitive Piezo1 in endothelial cells promotes angiogenesis to support bone fracture repair. *Cell Calcium*. 2021;97:102431.
- [32] RODE B, SHI J, ENDESH N, et al. Piezo1 channels sense whole body physical activity to reset cardiovascular homeostasis and enhance performance. *Nat Commun*. 2017;8(1):350.
- [33] 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.
- [34] MONT MA, SALEM HS, PIUZZI NS, et al. Nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head: Where Do We Stand Today?. *J Bone Joint Surg Am*. 2020;102(12):1084-1099.

(责任编辑: WZH, ZN, ZJP)