

获得性异位骨化的分子生物学机制

熊 洋, 周世博, 俞 兴, 毕连涌, 杨济洲, 王逢贤, 曲 弋, 杨永栋, 赵丁岩, 赵 赫, 仇子叶, 姜国正

<https://doi.org/10.12307/2024.647>

投稿日期: 2023-08-07

采用日期: 2023-10-07

修回日期: 2023-10-26

在线日期: 2023-11-07

中图分类号:

R459.9; R363; R364

文章编号:

2095-4344(2024)30-04881-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 异位骨化机制的探讨



文题释义:

获得性异位骨化: 异位骨化指机体在生理性软组织中出现成熟的骨组织, 可累及肌肉、韧带、腱、膜及其他皮下结缔组织。由创伤性、神经源性及其他后天性原因导致异位骨化的发生称之为获得性异位骨化。它既是一种疾病, 也是某些疾病中的一个病理过程, 具体发病机制目前仍不清楚。

骨形态发生蛋白: 是转化生长因子超家族中最大的分支, 在人类已经发现近30种亚型, 其中骨形态发生蛋白2是目前为止发现的与骨形成最为密切的信号蛋白, 连同其他亚型如骨形态发生蛋白4和骨形态发生蛋白7等, 在异位骨化发生发展相关机制探索中得到了最广泛的研究, 但骨形态发生蛋白在精密而复杂的成骨过程中作为“枢纽”如何发挥具体作用仍有待将进一步探究。

摘要

背景: 异位骨化是一个动态发展的过程, 临床中不同亚型的异位骨化具有不同病因或诱导因素, 但在异位骨化中后期进展阶段又表现出相似的病理过程, 其中由于创伤等因素引起的获得性异位骨化具有较高的发病率。

目的: 对近年获得性异位骨化发生发展相关分子生物学机制研究进行综述。

方法: 以“分子生物学, 异位骨化, 机制”为检索词在中国知网、万方医学数据库进行检索, 以“molecular biological, heterotopic ossification, mechanisms”为检索词分别在PubMed、Embase、Web of Science及Google Scholar数据库进行检索, 检索时限为2016年1月至2022年8月, 并根据获得文献进行补充检索, 对所得文献进行筛选, 最终纳入131篇文献进行综述分析。

结果与结论: ①获得性异位骨化的发生和发展是一个动态的过程, 具有一定的隐匿性, 因此该疾病的诊疗有一定的困难。②文章通过综述国内外相关文献, 发现获得性异位骨化涉及骨形态发生蛋白、转化生长因子β、Hedgehog、Wnt及mTOR 共5条主要信号通路, 同时在局部微环境中涉及到Runx2、血管内皮生长因子、缺氧诱导因子、成纤维细胞生长因子及Sox9共5项核心枢纽因子, 核心机制可能是不同信号通路之间的相互作用, 影响机体成骨细胞前体细胞、成骨细胞微环境以及与此相关的细胞因子, 进而影响机体骨代谢并导致获得性异位骨化的发生。③未来可以以异位骨化相关单细胞的成骨内稳态为研究方向, 以成骨细胞前体细胞-成骨微环境-信号通路及细胞因子作为研究要素, 探索各部分要素在不同时空条件下的特征, 比较不同种类、不同个体细胞成骨内稳态异同, 从整体视角观察异位骨化分子信号网络调控机制, 有利于未来临床防治异位骨化新方法的探究。④以中医药及靶向治疗为代表的治疗方法是近年的研究热点, 如何将中医药与体内成骨稳态联系, 并与靶向治疗相结合, 也是未来研究方向之一。⑤目前获得性异位骨化的研究仍多限于基础实验研究, 临床防治方法仍存在疗效不确切及不良反应明显等缺陷, 相关靶向防治药物临床应用安全性及有效性仍有待验证, 如何以基础实验研究为基础, 结合发生发展机制, 为临床防治提供新方向将是未来研究的重点。

关键词: 异位骨化; 分子生物学机制; 骨形态发生蛋白; 转化生长因子β; Hedgehog; Wnt/β-catenin; Runt相关转录因子2; 血管内皮生长因子; 低氧诱导因子; 成纤维细胞生长因子

Molecular biological mechanism of acquired heterotopic ossification

Xiong Yang, Zhou Shibo, Yu Xing, Bi Lianyong, Yang Jizhou, Wang Fengxian, Qu Yi, Yang Yongdong, Zhao Dingyan, Zhao He, Qiu Ziye, Jiang Guozheng

Department of Orthopedics, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China

北京中医药大学东直门医院骨科, 北京市 100700

第一作者: 熊洋, 1988年生, 土家族, 2020年北京中医药大学博士毕业, 2022年清华大学材料学院博士后出站, 医学博士, 医师, 主要从事骨组织工程、脊柱脊髓损伤、椎间盘退变基础与临床研究。

并列第一作者: 周世博, 1994年生, 北京中医药大学在读医学博士, 主要从事骨组织工程, 脊柱脊髓损伤, 椎间盘退变基础与临床研究。

通讯作者: 俞兴, 教授, 博士生导师, 主任医师, 北京中医药大学东直门医院骨科, 北京市 100700

<https://orcid.org/0000-0001-9977-5866> (熊洋); <https://orcid.org/0000-0003-1260-0807> (周世博); <https://orcid.org/0000-0003-3598-3492> (俞兴)

基金资助: 国家自然科学基金项目 (81973882); 项目负责人: 俞兴; 国家自然科学基金项目 (82305273); 项目负责人: 熊洋;

北京中医药大学新教师启动基金项目 (2023-BUCMXJKY007); 项目负责人: 熊洋

引用本文: 熊洋, 周世博, 俞兴, 毕连涌, 杨济洲, 王逢贤, 曲弋, 杨永栋, 赵丁岩, 赵赫, 仇子叶, 姜国正. 获得性异位骨化的分子生物学机制 [J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(30):4881-4888.



Xiong Yang, MD, Physician, Department of Orthopedics, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China
Zhou Shibao, MD, Department of Orthopedics, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China
Xiong Yang and Zhou Shibao contributed equally to this article.

Corresponding author: Yu Xing, Professor, Doctoral supervisor, Chief physician, Department of Orthopedics, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China

Abstract

BACKGROUND: Heterotopic ossification is a dynamic growth process. Diverse heterotopic ossification subtypes have diverse etiologies or induction factors, but they exhibit a similar clinical process in the intermediate and later phases of the disease. Acquired heterotopic ossification produced by trauma and other circumstances has a high incidence.

OBJECTIVE: To summarize the molecular biological mechanisms linked to the occurrence and progression of acquired heterotopic ossification in recent years.

METHODS: The keywords “molecular biology, heterotopic ossification, mechanisms” were searched in CNKI, Wanfang, PubMed, Embase, Web of Science, and Google Scholar databases for articles published from January 2016 to August 2022. Supplementary searches were conducted based on the obtained articles. After the collected literature was screened, 131 articles were finally included and summarized.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) The occurrence and development of acquired heterotopic ossification is a dynamic process with certain concealment, making diagnosis and treatment of the disease difficult. (2) By reviewing relevant literature, it was found that acquired heterotopic ossification involves signaling pathways such as bone morphogenetic protein, transforming growth factor- β , Hedgehog, Wnt, and mTOR, as well as core factors such as Runx-2, vascular endothelial growth factor, hypoxia-inducing factor, fibroblast growth factor, and Sox9. The core mechanism may be the interaction between different signaling pathways, affecting the body's osteoblast precursor cells, osteoblast microenvironment, and related cytokines, thereby affecting the body's bone metabolism and leading to the occurrence of acquired heterotopic ossification. (3) In the future, it is possible to take the heterotopic ossification-related single-cell osteogenic homeostasis as the research direction, take the osteoblast precursor cells-osteogenic microenvironment-signaling pathways and cytokines as the research elements, explore the characteristics of each element under different temporal and spatial conditions, compare the similarities and differences of the osteogenic homeostasis of different types and individuals, observe the regulatory mechanism of the molecular signaling network of heterotopic ossification from a holistic perspective. It is beneficial to the exploration of new methods for the future clinical prevention and treatment of heterotopic ossification. (4) Meanwhile, the treatment methods represented by traditional Chinese medicine and targeted therapy have become research hotspots in recent years. How to link traditional Chinese medicine with the osteogenic homeostasis in the body and combine it with targeted therapy is also one of the future research directions. (5) At present, the research on acquired heterotopic ossification is still limited to basic experimental research and the clinical prevention and treatment methods still have defects such as uncertain efficacy and obvious side effects. The safety and effectiveness of relevant targeted prevention and treatment drugs in clinical application still need to be verified. Future research should focus on clinical prevention and treatment based on basic experimental research combined with the mechanism of occurrence and development.

Key words: heterotopic ossification; molecular biological mechanism; bone morphogenetic protein; transforming growth factor- β ; Hedgehog; Wnt/ β -catenin; Runt related transcription factor 2; vascular endothelial growth factor; hypoxia inducible factor; fibroblast growth factor

Funding: National Natural Science Foundation of China, No. 81973882 (to YX); National Natural Science Foundation of China, No. 82305273 (to XY); New Teacher Initiation Fund Project of Beijing University of Chinese Medicine, No. 2023-BUCMJYK007 (to XY)

How to cite this article: XIONG Y, ZHOU SB, YU X, BI LY, YANG JZ, WANG FX, QU Y, YANG YD, ZHAO DY, ZHAO H, QIU ZY, JIANG GZ. Molecular biological mechanism of acquired heterotopic ossification. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2024;28(30):4881-4888.

0 引言 Introduction

异位骨化 (Heterotopic ossification, HO) 是指在机体生理性软组织中出现成熟的骨组织, 可累及肌肉、韧带、腱、筋膜及其他皮下结缔组织。异位骨化既是一种疾病, 也是某些疾病中的一个病理过程, 早期症状多不明显, 后期发展可出现局部红肿、疼痛、关节活动受限, 部分病例或累及重要脏器危及生命。经过一个多世纪的研究, 人们对异位骨化的认识逐渐加深, 相关报道逐年增多, 对其发生、发展及防治机制的探究已成为一项全球性研究热点。然而, 异位骨化的具体发病机制目前尚未被阐明, 这给临床防治带来了巨大的挑战。

既往有研究对获得性异位骨化进行了综述分析, 但多限于聚焦某一个因素 (如炎症因素、局部微环境或异位骨化的治疗方面), 对于获得性异位骨化的发生发展机制未作出详尽叙述, 相关分子生物学机制探讨较少, 因此不利于指导基础实验研究。文章主要聚焦于获得性异位骨化发生过程中潜在的分子生物学机制, 通过综述目前国内外基础实验研究进展, 尝试以机体成骨细胞前体细胞、成骨细胞微环境以及与此相关的信号通路和细胞因子为切入点, 目的在于对目前获得性异位骨化的研究方向做出概述, 为科研人员进一步研究获得性异位骨化的发生发展机制提供可行的参考意见, 以期为该疾病的研究与临床治疗提供新思路。

异位骨化主要分为获得性异位骨化和遗传性异位骨化, 前者根据致病因素可进一步分为创伤性、神经源性及其他类型。其中, 创伤性异位骨化最为常见, 发病率最高可达 100%^[1-2], 多见于关节周围骨骼肌等运动系统创伤、战地爆炸伤、截肢患者及骨科关节置换术后患者等。神经源性异位骨化主要见于脑或脊髓等中枢神经系统损伤患者, 发病率 4%–30%^[3-4]。其他类型异位骨化可见于椎间盘骨 (钙) 化、前/后纵韧带骨化、黄韧带骨化及血管骨 (钙) 化等, 可能与年龄增加、组织劳损退变有关^[5-10]。强直性脊柱炎及弥漫性特发性骨肥厚症患者局部也可见典型的异位骨化病理进展^[6, 11]。遗传性异位骨化发病相对罕见, 主要包括进行性骨化性纤维发育不良 (Fibrodysplasia ossificans progressiva, FOP) 及进行性骨发育异常 (Progressive osseous heteroplasia, POH), 百万人口患病数分别为 0.5–1.36 及 0.034–0.11, 致病因素考虑主要与 ACVR1 基因及 GNAS 基因突变有关^[12-15]。

异位骨化的发生发展涉及多种分子生物学因子, 全球学者从蛋白、基因或分子层面进行了大量探究, 其中骨形态发生蛋白 2 及转化生长因子得到了最广泛的关注。文章对近年国内外获得性异位骨化分子生物学机制研究中的热点信号通路及相关枢纽因子进行综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在 2022 年 9 月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 检索时限为 2016-01-01/2022-09-01。

1.1.3 检索数据库 中国知网、万方医学、PubMed、Embase、Web of Science 及 Google Scholar 数据库。

1.1.4 检索词 包括英文及中文检索词、检索词的逻辑组配等。以“分子生物学, 异位骨化, 机制, molecular biological, heterotopic ossification, mechanisms”为关键词分别在中国知网、万方医学、PubMed、Embase、Web of science 及 Google Scholar 数据库进行检索。

1.1.5 检索文献类型 研究原著、综述报告、动物及细胞实验等。

1.1.6 手工检索情况 无。

1.1.7 检索策略 以 PubMed 数据库文献检索策略为例, 见图 1。

#1 Molecular Biology[MeSH]	#13 Ossification, Pathologic[Title/Abstract]
#2 Biology, Molecular[Title/Abstract]	#14 Ectopic Ossification[Title/Abstract]
#3 Genetics, Molecular[Title/Abstract]	#15 Pathologic ossification[Title/Abstract]
#4 Genetic, Molecular[Title/Abstract]	#16 Heterotopic ossification[Title/Abstract]
#5 Molecular Genetic[Title/Abstract]	#17 Ossification, Ectopic[Title/Abstract]
#6 Molecular Genetics[Title/Abstract]	#18 Ossification, Pathological[Title/Abstract]
#7 Genetics, Biochemical[Title/Abstract]	#19 Pathological Ossification[Title/Abstract]
#8 Biochemical Genetics[Title/Abstract]	#20 #12 OR #13 OR #14 OR #15 OR #16 OR #17 OR #18 OR #19
#9 Biochemical Genetic[Title/Abstract]	#21 mechanisms[Title/Abstract]
#10 Genetic, Biochemical[Title/Abstract]	#22 #11 AND #20 AND #21
#11 #1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10	
#12 Ossification, Heterotopic[MeSH]	

图 1 | PubMed 数据库文献检索策略图

1.1.8 检索文献量 初步共检索到 539 篇文献。

1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 ①获得性异位骨化；②实验或临床研究；③分子生物学机制相关研究；④中英文文献。

1.2.2 排除标准 ①无全文文献；②进行性骨化性纤维发育不良 (FOP) 及进行性骨发育异常综合征 (POH) 等遗传性异位骨化研究。

1.3 文献质量评估及数据提取 共检索到 539 篇中英文文献，根据文章标题及摘要，排除研究目的不相符、重复报道及不具备参考意义的文献后，最终纳入文献 131 篇进行综述，其中中文数据库 19 篇、英文数据库 112 篇。中文作者文献共 77 篇，英文作者文献共 54 篇，文献检索流程见图 2。

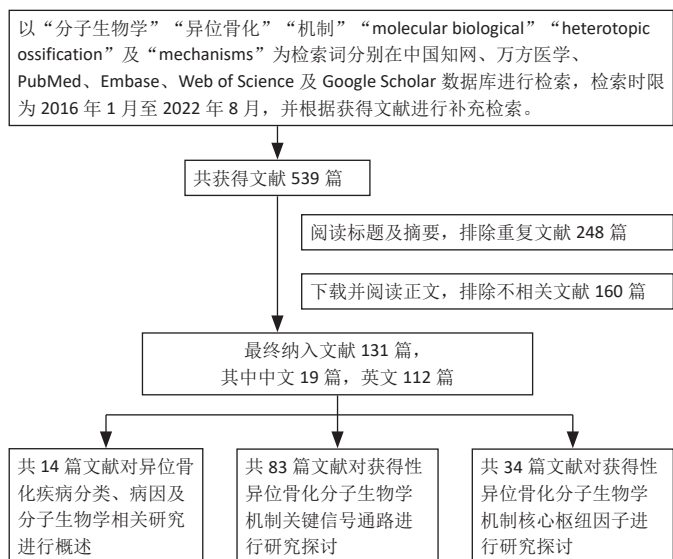


图 2 | 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 获得性异位骨化相关信号通路

2.1.1 骨形态发生蛋白信号通路 骨形态发生蛋白是转化生长因子超家族中最大的分支，在人类已发现近 30 种亚型。自 21 世纪初，骨形态发生蛋白通路在促骨与软骨分化及骨代谢疾病领域得到了最广泛的关注。在异位骨化的发生发展过程中，骨形态发生蛋白起到重要作用。以骨形态发生蛋白 2/4/7 为代表，诱导多种前体 / 干细胞成骨向分化，促进异位骨化的形成。肌腱、韧带、长骨在受到创伤或反复机械刺激后，组织细胞分泌骨形态发生蛋白水平显著增加，导致跟腱、脊柱周围韧带及大关节出现异位骨组织^[7, 11, 16-23]。相反，抑制或阻断骨形态发生蛋白通路表达则可显著缓解异位骨化的形成^[17, 24-30]。在肌肉间隙、周围神经内膜组织中存在大量多潜能细胞，自然状态下表现出成脂、成肌或保护神经作用，但在骨形态发生蛋白 2 刺激后则表现出成骨活性^[31-32]。局部注射骨形态发生蛋白 2 制剂或植入肌袋，被广泛应用于异位骨化动物模型的制备^[33-34]。在临床长骨骨折、关节置换或脊柱融合等手术中，骨形态发生蛋白 2 被用于加速新骨生成促进骨愈合，部分研究获得了显著的疗效^[35-36]。但另有大量研究显示，递送骨形态发生蛋白 2 的可吸收胶原海绵或植骨块常不能控制骨形态发生蛋白在局部大量突释，导致融合率上升的同时也增加了异位骨化的发生率^[37-44]，甚至引发严重不良事件，极大限制了外源性骨形态发生蛋白 2 在临床的推广应用^[45]。部分学者尝试在有效性与安全性之间探索可维持平衡的适宜剂量^[46-47]，另有学者尝试研发新型生物材料以改善骨形态发生蛋白 2 的缓释性能及靶点分布，包括人羊膜^[48]、肝素基微粒或多电解质复合物^[49-51]、骨形态发生蛋白 2/ 壳聚糖 / 硫酸葡聚糖复合微粒、海藻酸水凝胶、载骨形态发生蛋白 2 糖胺聚糖 / 多聚赖氨酸复合材料等^[52-54]，但新型材料的安全性及有效性仍有待进一步研究。

骨形态发生蛋白信号的表达具有环境依赖性与时空特异性，与其他多种信号因子形成交叉信号网络，相互作用，共同调节细胞局部微环境以干预异位骨化的发生发展^[55-58]。DAVIS 等^[59]向大鼠肌肉中注射骨

形态发生蛋白 2 后并未诱导形成异位骨化，由此认为过低剂量骨形态发生蛋白 2 并不能独立诱导异位骨化的产生。KAN 等^[60]在创伤性异位骨化动物模型中发现，骨形态发生蛋白 4 与 IHH (Indian hedgehog) 可通过反馈和非细胞自治机制共同调节干细胞局部微环境，激发下游成骨级联反应导致异位骨化的形成。AGARWAL 等^[61]认为，肌肉损伤后骨形态发生蛋白联合哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (Mammalian target of rapamycin, mTOR) 共同作用促进了异位骨化的形成，应用雷帕霉素阻断 mTOR 可消除损伤相关纤维化和异位骨化形成，同时协同骨形态发生蛋白促进肌肉损伤的愈合。创伤可导致血清中具有更高浓度的白细胞介素和肿瘤坏死因子 α 炎性因子，它们可促进骨形态发生蛋白 2 的产生^[62]。然而肿瘤坏死因子亦可抑制骨形态发生蛋白表达而起到限制异位骨化的作用^[63]。近年有研究报道了骨形态发生蛋白 / Smad 可能联合 WNT/ β -catenin 信号通路介导内皮间充质转化过程，并参与结肠癌术后患者异位骨化的形成过程^[63-64]。FU 等^[65]发现，骨形态发生蛋白 7 可通过 GSK-3 激活 Wnt/ β -catenin 通路加速间充质干细胞的成软骨向分化，而软骨细胞的增殖、肥大是异位骨化形成早期软骨内化骨过程中的重要环节。

局部神经、血管损伤对骨形态发生蛋白介导的异位骨化也起到协同作用。创伤激活感觉神经并释放疼痛介质 P 物质和降钙素基因相关肽。疼痛介质 P 物质可调节骨形态发生蛋白的表达并协同诱导环氧化 2 产生前列腺素，同时可刺激单核细胞、巨噬细胞、肥大细胞产生炎症因子，增强异位骨化早期炎症反应；降钙素基因相关肽可能作为疼痛介质 P 物质诱导炎症反应的一个调节因子，虽然可上调骨形态发生蛋白 2 的表达，促进软骨形成，但却延迟软骨细胞肥大和基质矿化，通过上调 cAMP 水平削弱软骨内化骨^[66]。创伤后组织中升高的骨形态发生蛋白诱导局部棕色脂肪组织含量升高，通过消耗氧气和降低氧气溶解度导致周围细胞缺氧，局部低氧微环境诱导缺氧诱导因子 1、血管内皮生长因子产生，促进细胞成软骨分化和新血管形成，为异位骨化形成提供条件^[67-68]；局部肥大细胞募集、脱颗粒，分泌的基质金属蛋白酶 9 可进一步打开血管、神经屏障，使成骨相关前体 / 干细胞聚集和细胞因子，包括胰岛素样生长因子 1、骨桥蛋白及 Runt 相关转录因子 2 (Runx2)，表达进一步上调，最终促异位骨化的形成^[69-70]。

作者发现，获得性异位骨化的实验研究大多数以动物实验为主，多见大鼠 / 小鼠跟腱损伤 / 断裂模型，干预方式多为通过给予异位骨化诱导剂，诱导局部异位骨化的形成，进而给予某种干预措施，干预后可以在一定程度上抑制异位骨化的发生，检测手段方面包括 X 射线片、Micro-CT 等影像学检查，通过影像学观察局部骨形成的二维或三维表现；除此之外，组织病理学切片多观察、检测成骨特异性表达基因如碱性磷酸酶、Runx2 及骨桥蛋白为主。除此之外，实验对象还包括骨髓间充质干细胞等，见表 1。

2.1.2 转化生长因子信号通路 高度保守的转化生长因子遍布人体全身大部分细胞，参与了组织生长发育、伤口愈合、骨代谢稳态调节、免疫调节等多种生命活动。在哺乳动物转化生长因子主要包括转化生长因子 1、转化生长因子 2 和转化生长因子 3 亚型，转化生长因子 1 含量最丰富，对骨与软骨发育及相关细胞功能表型具有核心作用。在复杂的异位骨化分子信号网络中，转化生长因子通常与多种因子相互作用共同调节异位骨化发生与发展。转化生长因子信号传导入细胞核后作用于转录因子 Runx2，与骨形态发生蛋白协同调控间充质干 / 祖细胞的软骨向分化。YU 等^[71]认为创伤后异位骨化的形成与周围组织中转化生长因子 1、骨形态发生蛋白 1、白细胞介素 1 β 、缺氧诱导因子 1 α 及基质金属蛋白酶 2 基因表达增高有关。ZHANG 等^[72]研究发现，在创伤局部转化生长因子诱导细胞外基质转化生长因子人克隆基因 3 (ig-h3) 蛋白表达，增加肌腱干细胞之间的黏附，最终增强软骨分化促进异位骨化的发展。在机械应力及神经根性痛刺激下，转化生长因子与骨形态发生蛋白经 Smad 和 MAPK 通路又协同介导韧带骨化^[73]。在神经肌肉联合损伤中，转化生长因子 1 与神经炎症相关因子 P 物质、制瘤素 M 协同促进成纤维 - 成脂祖细胞向成骨细胞分化，最终促进了异位骨化产生^[74]。

转化生长因子对骨代谢调节具有高度的时空特异性。成骨早期，基于经典 Smads 信号传导，转化生长因子与骨形态发生蛋白可协同促进软骨细胞分化与增殖，但在特定时空环境下，转化生长因子又抑制了骨形成后期成骨细胞向骨细胞分化及基质矿化过程，由此转化生长因子对骨

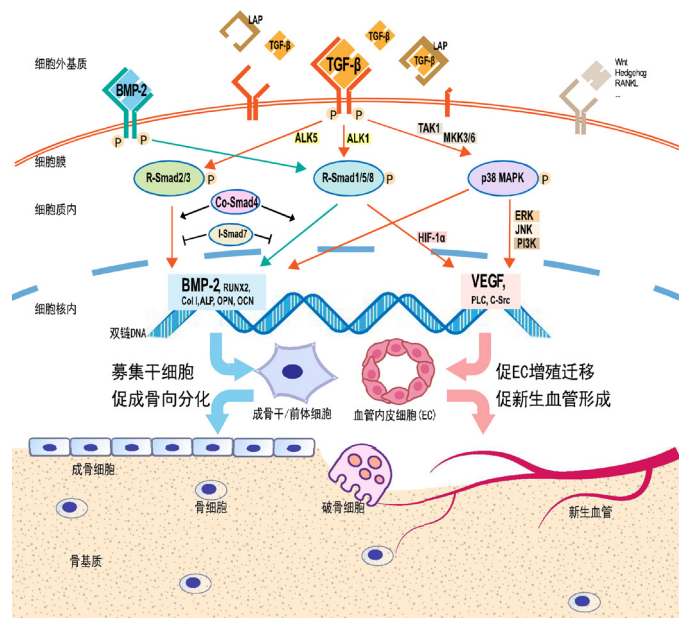
表 1 | 促进 / 抑制异位骨化潜在机制的部分实验结果汇总

研究者	发表年份	动物类型	动物模型	结局指标	主要结论
AGARWAL 等 ^[24]	2017	C57BL/6 小鼠	跟腱断裂模型	Micro-CT 测定骨形成、免疫组织化学检测	抑制 BMP 信号通路可以抑制异位骨化形成
史光耀等 ^[25]	2017	人骨髓间充质干细胞	人骨髓间充质干细胞	Western blot 和 PCR 测定 BMP-4、Smad 蛋白及 mRNA 表达，中药干预后上述表达降低	中药干预可延缓强直性脊柱炎患者异位骨化的发生
OLMSTED-DAVIS 等 ^[32]	2017	小鼠	股四头肌注射 BMP 诱导异位骨化形成	Smad 磷酸化水平	注射后局部组织经历了血管形成 - 软骨形成 - 不成熟的骨形成等阶段
LI 等 ^[20]	2019	C57BL/6 小鼠	肌肉损伤动物模型	Micro-CT 测定骨形成	BMP 信号激活和 BMP-7 表达上调可以诱导异位骨化的形成，接受 BMP-7 中和抗体小鼠异位骨体积减少
DAI 等 ^[21]	2020	SD 大鼠	SD 雄性大鼠跟腱提取肌腱干细胞 / 祖细胞	BMP-2/4/7 蛋, mRNA; Runx2、骨桥蛋白、OCN mRNA、X 射线片和 CT 显示骨化面积;	大鼠跟腱异位骨化的出现可能骨与 BMP 的高表达有关，并且随着大鼠年龄的增加，异位骨化的面积呈现逐渐上升趋势
柳明忠等 ^[22]	2020	SD 大鼠	跟腱创伤性异位骨化模型	X 射线片观察异位骨化形成情况、Western blot 测定 BMP-4 蛋白表达	BMP-4 在创伤性骨化性肌炎大鼠模型的表达与骨化程度呈正相关，非类固醇类抗炎药塞来昔布可以在一定程度上抑制创伤性骨化性肌炎的发生
LIN 等 ^[26]	2020	MC3T3-E1	MC3T3-E1 细胞模型	BMP 诱导的 Smad1/5, Smad6, ALP 活性和细胞矿化降低	二甲双胍可以在一定程度上防止创伤诱导的小鼠异位骨化的发生，其主要机制可能在于二甲双胍抑制了 ALP 的活性和细胞矿化
KUSANO 等 ^[29]	2021	C57BL/6 小鼠	跟腱横断模型	Smad1/5/8	地鼠雷他定抑制了 BMP2 诱导的 PDGFRα+ 细胞中 Smad1/5/8 的磷酸化，进而抑制横断跟腱异位骨化的形成。
STRONG 等 ^[28]	2021	SD 大鼠	创伤性异位骨化模型	Micro-CT 测定新生骨体积、组织病理学苏木精 - 伊红染色切片	抑制 BMP 相关分子和蛋白可以抑制组织间充质干细胞早期和晚期成骨分化
ZHAO 等 ^[23]	2021	大鼠	胸腰段周期性拉伸应力形成黄韧带骨化	BMP-2、COL-1、骨桥蛋白、Runx2、血管内皮生长因子蛋白和 mRNA	大鼠黄韧带异位骨化的发生可能是成骨相关因子相互作用的结果，异位骨化形成的细胞来源可能是神经内层膜

表注: BMP 为骨形态发生蛋白; COL-1 为 I 型胶原; OCN 为骨钙蛋白; Runx2 为 Runx 相关转录因子; 血管内皮生长因子为血管内皮生长因子; ALP 为碱性磷酸酶; TGF-β 为转化生长因子 β; Micro-CT 为小型动物显微 CT; IL-1β 为白细胞介素 1β; TGF-α 为肿瘤坏死因子 α; TGF-β 为肿瘤坏死因子 β; PDGFRα 为血小板衍生生长因子 α; Smad 为母系抗偏瘫同源物; MC3T3-E1 为小鼠胚胎成骨细胞前体细胞。

形成存在双向调节作用。前期研究中，基于不同的实验方法和动物模型，转化生长因子调节异位骨化得出不一致甚至相互矛盾的结果，其具体作用机制尚未达成共识。近年研究显示，转化生长因子的异常表达是异位骨化形成的重要因素^[75]，它也成为防治异位骨化的潜在靶点。ZHONG 等^[76]通过改变转化生长因子受体蛋白结构阻断转化生长因子 / Smad7 信号传递，显著抑制异位骨化的形成。ZENG 等^[77]向大鼠跟腱创伤异位骨化模型中注入高分子聚乙烯颗粒后可显著减少异位骨化形成，组织学检测发现实验组转化生长因子、骨形态发生蛋白 2 及 Runx2 等成骨因子表达均低于对照组。MAO 等^[78]将苦参碱药液按 75 mg/kg 进行腹腔注射可有效削弱小鼠跟腱创伤异位骨化的形成，其机制在于苦参碱通过抑制转化生长因子下游 Smad2/3 磷酸化和 Runx2、碱性磷酸酶和骨钙蛋白的转录，减少局部微环境中间充质干细胞的迁移和成骨分化以发挥作用。在跟腱创伤性异位骨化局部，破骨细胞介导骨吸收可显著提高活化的转化生长因子含量，后者向局部微环境中募集间充质干 / 祖细胞促进异位骨化的发展，应用转化生长因子中和性抗体可削弱异位骨的形成，进一步敲除间充质干细胞内转化生长因子 II 型受体，可显著抑制异位骨化的进展^[79]。Smad7 可竞争性阻碍 Smad4 与 Smad2/3 形成复合物，扰乱转化生长因子信号传导。王威等^[80]通过正弦交变电磁场促进 Smad7 表达抑制 Smad3 磷酸化，从而阻断转化生长因子信号传导抑制大鼠跟腱创伤性异位骨化的进展。除了 Smad 靶点，阻断下游非经典 TAK1 信号转导亦可显著抑制间充质祖细胞和成软骨细胞的分化，削弱创伤性异位骨化的形成^[81]。由此说明，基于转化生长因子受体复合物或下游信号因子，降低异位骨化微环境中转化生长因子的表达是抑制异位骨化的有效途径，详见图 3。

2.1.3 Hedgehog 信号通路 Hedgehog(HH)在物种间具有高度保守性，对肌腱、长骨生长及骨组织修复具有重要作用，HH 与骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子及 Wnt 等多种信号通路相互作用，参与到生长板及干骺端软骨细胞的增殖、肥大、软骨内化骨及异位骨化的形成中^[82]。Mkx 基因在肌腱组织稳态中起关键作用，阻断 Mkx 表达可激活小鼠跟腱组织中 HH 异常表达，诱导跟腱源细胞进行软骨内化骨最终导致跟腱异位骨化的形成^[83]。FENG 等^[84]利用 Ctsk-Cre 标记跟腱组织中具有高度自我更新和分化潜能的肌腱源祖细胞，HH 信号由于下游 Sufr 转录因子的功能缺失可介导肌腱源祖细胞命运改变，促进其向软骨和成骨细胞分化，由此促进异位骨化的形成。HH 仅在异位骨化病灶周围组织中表达增高，在病灶内部表达减弱，抑制 HH 信号通路可降低局部 Runx2、碱性磷酸酶、Osterix、骨钙蛋白、骨桥蛋白等成骨标志物的水平^[85]，但并不足以完全



图注: 以 BMP 和 TGF-β 主要信号通路相互作用为例，BMP 和 TGF-β 在细胞表面接受细胞外刺激，经分别作用于多种 Smad、p38 MAPK 联合 HIF 等下游枢纽因子将刺激信号传递入细胞核，最终作用于 BMP-2、Runx2 和血管内皮生长因子等相关基因，从而诱导骨髓间充质干细胞或血管内皮细胞分别向成骨、成血管方向分化，最终促进异位骨形成。在该过程中，BMP-2 及 TGF-β 两条信号通路相关因子为异位骨形成主要启动因素，而 HIF、Runx2 和血管内皮生长因子等枢纽因子在信号转入细胞质及入细胞核过程中发挥关键传导作用。BMP-2 为骨形态发生蛋白 2; TGF-β 为转化生长因子 β; Smad 为母系抗偏瘫同源物; Runx2 为 RUNT 相关转录因子 2; HIF 为缺氧诱导因子; 血管内皮生长因子为血管生长因子; EC 为血管内皮细胞。

图 3 | BMP-2 和 TGF-β 交互促异位骨形成作用机制图

阻止软骨内异位骨化进程，说明 HH 信号通路参与了异位骨化形成，但其作用并不是必须的，这与膜内成骨具有不同的机制^[86]。创伤性异位骨化主要通过软骨内成骨形成，HH 仅在软骨细胞肥大前作为非必需调节因素参与异位骨化的形成，这导致 HH 靶向抑制在异位骨化防治中作用有限，对创伤后异位骨化的有效预防需要不同类型 HH 抑制剂或与其他

药物联合应用才能发挥完全阻断作用^[86-87]。

2.1.4 Wnt 信号通路 Wnt/ β -catenin 是 Wnt 信号传导的经典通路，主要作用于骨代谢促进骨重塑，该作用具有精确的时空特异性，其异常表达可导致骨质疏松或高骨量疾病发生，包括异位骨化和肿瘤的形成。

近年 Wnt 参与异位骨化相关研究大都集中于强直性脊柱炎疾病相关异位骨化形成中。ZOU 等^[88]研究发现，与对照组比较，强直性脊柱炎患者髋关节滑膜组织中 DKK-1 表达下调，一方面促进了成纤维细胞过度增殖和凋亡率降低，另一方面，降低了对 Wnt 配体与其受体结合的抑制作用，增加 Wnt 下游 β -catenin 信号传导促进强直性脊柱炎患者异位骨组织的形成，这可能成为强直性脊柱炎患者异位骨化发展的潜在机制。另有研究发现，雷公藤红素可抑制前列腺素 E2 的表达，降低其成骨诱导性，同时可增加 GSK-3 的表达，抑制 Wnt/ β -catenin 信号传导，由此抑制强直性脊柱炎成纤维细胞的增殖和成骨分化，且抑制作用具有时间剂量依赖性^[89]，这为治疗强直性脊柱炎患者异位骨化形成提供了潜在靶点。一定浓度补肾舒脊颗粒含药血清作用于骨髓间充质干细胞，可有效下调细胞 Wnt5a、 β -catenin 相应 mRNA 和蛋白的表达，干预骨髓间充质干细胞成骨，这为延缓强直性脊柱炎患者异位骨化进展提供了新思路^[90]。机械载荷在强直性脊柱炎患者异位骨化进展中具有重要作用，ZHANG 等^[91]通过尾部悬吊减少强直性脊柱炎小鼠模型骶髂关节的机械负荷，观察发现局部组织中 miR103 上调，它可抑制 MAPK 信号通路中机械激酶 ROCK1 和 p-Erk1/2 的活性，从而抑制局部组织中 Wnt/ β -catenin 通路，延缓强直性脊柱炎骶髂关节骨化进展。然而，将跟腱干细胞在低负荷环境下进行长时间培养后，细胞内 β -catenin 持续累积，最终导致异位骨化的发生和进展^[92]。典型的弥漫性特发性骨肥厚症 (diffuse idiopathic skeletal hyperostosis, DISH) 患者颈椎体前可见到大量异位骨化组织，局部骨髓间充质干细胞中半乳糖凝集素 3 具有更高表达，体内实验显示，它可激活 Wnt/ β -catenin 的表达，促进异位骨化的形成，体外研究表明半乳糖凝集素 3 可增加 β -catenin 在骨髓间充质干细胞细胞核内积累，促进其成骨分化，这说明异位骨化形成与半乳糖凝集素 3 和 Wnt/ β -catenin 关系密切相关，后者可作为预防 DISH 患者异位骨化进展的潜在靶点^[93]。

2.1.5 mTOR 信号通路 mTOR 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，通过 mTORC1 和 mTORC2 两个不同蛋白介导多种信号因子传递，与骨形态发生蛋白和 Wnt 等共同作用，对骨骼发育及内稳态调节起到重要作用，其异常表达可导致多种骨代谢疾病产生。XU 等^[94]在肌腱炎患者组织中发现 Nesfatin-1 具有高表达，体内大鼠跟腱损伤模型研究显示，Nesfatin-1 主要通过激活 mTOR 通路，抑制跟腱干细胞肌腱表型，促进跟腱局部异位骨化的产生。将雷帕霉素在跟腱损伤局部缓释，可有效抑制 p-mTOR 的表达，抑制白细胞介素 1 诱导的跟腱干细胞的成骨分化，显著缓解异位骨化的进展，当敲除跟腱细胞中 mTOR 后，局部组织中骨形态发生蛋白、转化生长因子表达亦显著降低^[95]。氧化应激可加剧异位骨化早期局部缺氧，雷帕霉素不仅抑制了 mTOR 的表达^[96]，同时也削弱了局部微环境中氧化应激过程^[97]，这使得基于 mTOR 干预干细胞成骨分化或削弱氧化应激，成为防治异位骨化的有效靶点。

2.2 核心枢纽因子

2.2.1 Runx2 信号因子 即 Runt 相关转录因子 2(Runx2)，又被称为 Cbfa1、PEBP2 α A 或 AML3，是 runt 同源结构域家族 3 个成员之一。作为成骨细胞分化的调节剂，Runx2 在控制干细胞向成骨细胞分化、软骨/骨骼形成、牙齿发育和血管形成中均发挥重要作用。在复杂的骨形成过程中，Runx2 与包括转录因子和辅助因子的多种蛋白质协作并进行翻译后修饰，整合细胞内外多种信号，共同调节成骨细胞的增殖、分化与成骨功能。创伤性异位骨化最常见原因即骨骼及周围肌肉肌腱损伤，Runx2 在局部微环境中的表达显著增加^[98]，由此部分研究者尝试将 Runx2 作为治疗异位骨化的潜在靶点。林霖等^[99]通过特异性 siRNA 抑制 Runx2 的表达可抑制成骨细胞分化，相关成骨基因表达也受到抑制，包括 I 型胶原、碱性磷酸酶、骨桥蛋白和骨钙蛋白等。TU 等^[100]发现连接素 43(Cx43) 参与到创伤性异位骨化的发展中，下调 Cx43 的表达可降低细胞外调节激酶 (ERK) 活性，减少 Runx2 及相关成骨基因的表达，显著减少异位骨化的形成。单独阻断 Runx2 表达可有效减少异位骨化异位骨组织的形成，其效果与单独阻断 Smad4 效果近似^[101]，联合阻断 Runx2 和 Smad4 的表达后，异位骨化的防治疗效进一步增强。对 Runx2 的抑

制主要干扰了成骨细胞的分化及细胞外基质矿化的形成，Smad4 是成骨细胞中骨形态发生蛋白和转化生长因子通路传递信号入核过程中重要的协作因子，对 Smad4 的抑制可能影响了成骨细胞中骨形态发生蛋白和转化生长因子与其他信号因子的作用^[102]。另有研究通过慢病毒搭载 Runx2 和缺氧诱导因子 1 特异性 siRNA，同时抑制 Runx2 和缺氧诱导因子 1 的表达亦可显著抑制异位骨化的形成，阻断 Runx2 可作用于软骨形成整个阶段，而阻断缺氧诱导因子 1 可协同 Runx2 抑制软骨内成骨过程，同时也显著抑制了新血管的形成^[103]。

在 Runx2 成骨相关信号网络中，除了膜内外信号蛋白，多种 miRNA (miR) 与 Runx2 调节异位骨化发展密切相关。TU 等^[104]进行体外研究显示上调 miR-203 的表达可抑制 Runx2 的表达，削弱成骨细胞活性减少基质矿化；进一步在跟腱横断异位骨化小鼠模型中，miR-203 的过表达则直接靶向 Runx2 抑制异位骨化的形成。有研究显示，miR-29b 可抑制转化生长因子 3 的翻译，促进 Runx2 的表达，是韧带成纤维细胞向成骨细胞分化形成异位骨的潜在机制^[105]。miR-92b-3p 高表达上调 Runx2 同时可抑制 DKK1，从而促进 Wnt 信号通路，最终促进入脐带间充质干细胞的成骨分化，敲除 miR-92b-3p 则综合抑制了 Runx2 表达和 Wnt 信号，可显著削弱异位骨的形成^[106]。综合而言，Runx2 主要被作为异位骨形成标志或特异性作用靶点参与到多种上游信号因子对异位骨化的调节中^[107-112]。

2.2.2 血管内皮生长因子信号因子 血管内皮生长因子在早期又被称为血管通透因子，其参与到机体多种生理病理过程中。一方面，血管内皮生长因子作为目前研究最广泛的促血管形成因子，可显著促进骨折愈合；另一方面，异常表达的血管内皮生长因子也参与到风湿性关节炎、老年性黄斑变性、糖尿病视网膜病变及肿瘤进展中。大量研究显示血管内皮生长因子参与到异位骨化的发生发展中。组织损伤早期，局部形成缺氧微环境，它可诱导缺氧诱导因子 1 的产生，后者可上调局部组织细胞血管内皮生长因子、SRY 家族包含高迁移率核框 9(SRY-related HMG box-containing, Sox9) 的表达，它们对新血管和软骨形成起到促进作用，进而为异位骨化形成创造条件^[113]。肘关节创伤后异位骨化患者局部组织中 Cox2 表达升高，可引起骨形态发生蛋白 2 和血管内皮生长因子表达上升促进异位骨组织形成和新血管重建，导致异位骨化的发生和发展^[114]。

中枢神经系统损伤是异位骨化发生的高危因素，在神经损伤联合肌肉骨骼创伤后，异位骨化发生率常进一步增加。有研究者在脊髓损伤患者异位骨组织中亦可检测到 Cox2 与血管内皮生长因子相应 mRNA 表达较正常组显著升高^[115]，这说明虽然从病因上将神经源性异位骨化与创伤性异位骨化进行了区别，但在不同的异位骨化病理微环境中存在着，至少部分相似的病理性成骨过程。SUNG 等^[116]在跟腱损伤小鼠唾液中也发现了血管内皮生长因子较正常组显著增高，且唾液血管内皮生长因子浓度与血清血管内皮生长因子浓度呈正相关，由此提出唾液内血管内皮生长因子增高可作为异位骨化的早期诊断标志。有研究发现，创伤和炎症诱导早期促血管生成微环境产生，其中形成了大量内皮组织样结构，但微环境中血管内皮生长因子 A 并不是来源于血管祖细胞，而是源自于局部组织中募集的大量间充质祖细胞及其分化的后代细胞，阻断间充质祖细胞中血管内皮生长因子 A 基因表达可显著抑制肢体创伤后异位骨化的形成，因此，作者认为间充质来源的血管内皮生长因子 A 是异位骨化发展的一个关键因子，它也成为延缓异位骨化发展或预防异位骨化发生的一个潜在靶点^[117]。基于血管内皮生长因子强烈促血管形成活性，大量血管内皮生长因子相关研究集中在促生理性成骨及预防局部微血管病变及肿瘤治疗中，以血管内皮生长因子为靶点的异位骨化防治仍需要更深入和广泛的探索。

2.2.3 缺氧诱导因子信号因子 该因子是组织细胞适应周围环境的关键调控因子。缺氧诱导因子 1 对调节骨代谢、促进骨形成起到重要促进作用。缺氧诱导因子参与到了异位骨化的形成中。在大鼠跟腱横断损伤术后 10 周，异位骨化实验组跟腱组织中缺氧诱导因子 1 蛋白和基因表达较假手术组均有显著提高^[118]。ZHAO 等^[119]发现牛膝下颌关节损伤局部组织中除了可观察到血管内皮生长因子、Sox9 及骨钙蛋白等骨、软骨及血管形成因子的表达，也可观察到缺氧诱导因子 1 的显著表达，尤其在纤维增殖区和纤维软骨形成区，缺氧诱导因子 1 主要在局部低氧和炎症微环境中介导间充质干细胞向软骨细胞和成骨细胞分化促进异位骨化的形成。另有研究显示，炎症环境也可激活缺氧诱导因子 2 介导肌腱干细胞命运

向(软)骨细胞分化,促进异位骨化的形成^[120]。缺氧诱导因子1在低氧诱导异位骨化过程中起到核心作用,低氧微环境可刺激缺氧诱导因子1产生,后者除了直接作用于成骨前体细胞,也可与缺氧诱导因子1形成复合物增加骨形态发生蛋白、血管内皮生长因子及神经纤毛蛋白1的翻译,促进软骨细胞分化、基质矿化和血管化,为异位骨化创造条件^[121-122]。内皮间充质转化和血管化在烧伤诱导异位骨化过程中发挥着重要作用,烧伤后48 h即可检测到缺氧诱导因子1和血管内皮生长因子的表达,伤后3 d达到高峰,由此被认为是介导内皮间充质转化和血管化促异位骨化的关键启动因子^[123]。基于对细胞氧代谢稳态调节和促成骨分化作用,缺氧诱导因子被作为异位骨化防治靶点,缺氧诱导因子相关抑制剂主要包括缺氧诱导因子1和缺氧诱导因子2两类,研究显示抑制缺氧诱导因子1对小鼠烧伤或创伤性异位骨化可起到显著抑制作用^[124],而缺氧诱导因子2则更多被用于癌症治疗中^[125]。

2.2.4 成纤维细胞生长因子信号因子 成纤维细胞生长因子主要通过旁分泌方式与其特异性受体成纤维细胞生长因子受体结合,可与骨形态发生蛋白/Smads、Wnt/ β -catenin成骨信号通路共同调节骨形成。在跟腱创伤模型中,Col²⁺淋巴内皮细胞中,成纤维细胞生长因子R3的缺失可引起骨形态发生蛋白/Smad1/5信号表达上调,同时淋巴管生成受阻,淋巴引流减少,加重局部炎症,最终促进异位骨化的发展^[126]。特异性敲除神经嵴细胞中成纤维细胞生长因子R1可导致小鼠在胚胎期和出生后颅面骨缝间异位软骨和异位骨的形成,在局部组织中,可检测到骨形态发生蛋白4、Wnt1的表达^[127]。由此说明,成纤维细胞生长因子参与到了异位骨化形成信号网络中,与骨形态发生蛋白和Wnt信号共同维持成骨内稳态的平衡。

2.2.5 Sox9 信号因子 该因子是SRY家族包含高迁移率族框(SRY-related HMG box-containing, Sox)结构域的转录因子,在多潜能干细胞、软骨细胞和其他组织中表达,对机体软骨生长、性别决定及脏器发育等具有重要作用。基于对软骨的正向及对骨的负向调节,Sox9一方面参与到了异位骨化的早期发生过程中,另一方面,过表达的Sox9或可成为防治异位骨化进展潜在靶点,在后纵韧带骨化患者异位骨化局部软骨样细胞中,可直接检测到Sox9的表达^[128]。创伤性异位骨化患者组织中也发现miR-1和miR-206的上调,体外研究显示,它们在间充质祖细胞成骨分化早期作用于Sox9促进软骨细胞的增殖与成熟,进而促进异位骨化形成^[129]。SUZUKI等^[130]发现Mohawk基因缺失可加速小鼠跟腱异位骨化的形成,在肌腱源细胞中过表达则可显著上调Sox5、Sox6及Sox9,促进跟腱组织分化而抑制异位骨化形成,这使Sox9成为Mohawk调控异位骨化的作用靶点。LIAO等^[131]亦得出类似的结果,研究发现,Sox9可增强骨形态发生蛋白2诱导的间充质干细胞成软骨分化和软骨形成,而过表达可抑制骨形态发生蛋白2诱导的间充质干细胞成骨分化及软骨细胞肥大,阻断软骨内化骨,这为组织工程防治异位骨化提供了潜在靶点。

3 讨论 Discussion

3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题 获得性异位骨化的发生和发展有着极为复杂的病理生理学过程,既往的研究中初步阐释了对该疾病的预防和治疗起到一定作用的方法,如非类固醇类抗炎药以及放射治疗等,对该疾病起到了一定的预防和治疗作用,为临床中的治疗提供了一定的选择性。但是伴随着获得性异位骨化研究的逐步深入以及分子生物学的逐步发展,该疾病发生的潜在分子生物学机制引起了科研和临床工作者的关注,因此有必要对该疾病发生发展可能存在的分子生物学机制做进一步阐述。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 作者通过归纳、分析和总结国内外文献,对获得性异位骨化发生发展可能涉及的信号通路以及其中所蕴含的核心枢纽因子进行了初步的总结,发现该疾病的发生发展可能与局部组织的异常成骨性有关系,涉及骨形态发生蛋白、转化生长因子 β 、Hedgehog、Wnt及mTOR共5条主要信号通路,同时在局部微环境中涉及到的Runx2、血管内皮生长因子、缺氧诱导因子、成纤维细胞生长因子及Sox9共5项核心枢纽因子,为后期该疾病的进一步研究提供了一定的借鉴意义,也为以后的研究方向提供了参考。

3.3 综述的局限性 在文献检索以及信息提取过程中,由于语言表达习惯的不同,可能不可避免的会遗漏某些信息,忽略一部分研究成果,但

作者尽可能提取并分析了较为重要的研究成果;同时该文章在检索和阅读过程中以中、英文文献为主,可能会遗漏相关国家的最新研究结果。

3.4 综述的重要意义及未来展望 临床中异位骨化仍缺乏理想防治方法,目前主要应用非类固醇类消炎药及放射疗法进行预防,或对已形成的异位骨进行手术切除,但仍存在疗效不稳定、不良反应明显、手术时机及切除范围尚未达成共识等不足,且术后存在再复发风险,探索新的防治方法已成为临床亟待解决的问题,近年针对于不同信号通路或因子进行靶向干预已成为防治异位骨化研究热点。部分文献显示,对于异位骨化相关主要信号通路或关键枢纽因子进行靶向药物干预或可阻断异位骨的形成,从而推测其可能成为靶向防治异位骨化的潜在方法,然而其临床安全性和有效性仍有待进一步验证,否则靶向防治只能停留于实验研究,而不能使其真正应用于临床。

获得性异位骨化因其复杂的发病机制以及致病隐匿性的特点,是临床治疗过程中较为棘手的一种疾病,通过对该疾病可能发生和发展机制做出初步总结,有利于临床和科研工作者更好地治疗及研究该疾病。随着研究的逐步深入发现该病的发生、发展可能伴随着周围组织的异常骨化过程,而骨形态发生蛋白、转化生长因子 β 等相关信号通路在此过程中可能伴随着一定变化,基于异常成骨性进而研究相关信号通路和核心因子可能是未来研究该疾病的方向所在。

当然,获得性异位骨化是一个动态发展过程,病理进展具有时空特异性,不同亚型的异位骨化具有不同病因或诱导因素,但在异位骨化中后期进展阶段又表现出相似的病理过程。近年来与骨形态发生蛋白、转化生长因子信号通路和Runx2、血管内皮生长因子核心枢纽因子相关的分子生物学研究似乎证实了与获得性异位骨化之间存在一定的相关性。然而,在受到外界干预后,异位骨化的整个分子信号网络均可受到直接或间接影响,最终对异位骨化的调节作用是整个分子信号网络的综合作用结果,目前其具体机制仍只看到“冰山一角”,这也是基于分子生物学调节异位骨化过程中导致诸多不良反应及出现结果差异的重要原因。为了加深对获得性异位骨化机制的认识,在未来可以异位骨化相关单细胞的成骨内稳态为研究单元,如成骨细胞、破骨细胞及前体细胞和干细胞等,探索各细胞成骨内稳态在不同时空条件下的特征,比较不同种类、不同个体细胞成骨内稳态异同,从整体视角观测异位骨化分子信号网络调控机制,这有利于未来临床防治异位骨化新方法的探究。

作者贡献: 文章设计者为熊洋。资料收集者为熊洋、周世博、仇子叶和美国正。数据分析者为熊洋、毕连涌、杨济洲、王逢贤、曲戈、杨永栋、赵丁岩和赵赫。熊洋和周世博撰写论文。通讯作者俞兴负责审核。

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《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA声明);出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行3次文字和图表查重;经小同行外审专家双盲审稿,同行评议认为符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] BEMENDERFER TB, DAVIS WH, ANDERSON B, et al. Heterotopic ossification in total ankle arthroplasty: case series and systematic review. *J Foot Ankle Surg.* 2020;59(4):716-721.
- [2] WAHL EP, CASEY PM, RISOLI T, et al. Heterotopic ossification formation after fractures about the elbow. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2021;31(6):1061-1067.
- [3] WONG KR, MYCHASIUK R, O BRIEN TJ, et al. Neurological heterotopic ossification: novel mechanisms, prognostic biomarkers and prophylactic therapies. *Bone Res.* 2020;8(1):1-14.
- [4] GONZÁLEZ EH, LUJARDO YG, DELA FE AD, et al. Heterotopic ossification: prevalence and clinical characteristics in spinal cord injured patients treated at CIREN. *Ann Orthop Trauma Rehabil.* 2022;4(1):1-7.
- [5] CHAPUT CD, SIDDQUI M, RAHM MD. Obesity and calcification of the ligaments of the spine: a comprehensive CT analysis of the entire spine in a random trauma population. *Spine J.* 2019;19(8):1346-1353.
- [6] YU T, ZHANG J, ZHU W, et al. Chondrogenesis mediates progression of ankylosing spondylitis through heterotopic ossification. *Bone Res.* 2021;9(1):1-12.
- [7] ZHANG Q, ZHOU D, WANG H, et al. Heterotopic ossification of tendon and ligament. *J Cell Mol Med.* 2020;24(10):5428-5437.

- [8] FUERY MA, LIANG L, KAPLAN FS, et al. Vascular ossification: pathology, mechanisms, and clinical implications. *Bone*. 2018;109:28-34.
- [9] DU J, CHEN Y, PENG Y, et al. Calcification of the intervertebral disc and ossification of posterior longitudinal ligament in children. *BMC Musculoskelet Disord*. 2018; 19(1):1-6.
- [10] WANG G, KANG Y, CHEN F, et al. Cervical intervertebral disc calcification combined with ossification of posterior longitudinal ligament in an 11-year old girl: case report and review of literature. *Childs Nerv Syst*. 2016;32(2):381-386.
- [11] LICINI C, FARINELLI L, CERQUENI G, et al. Heterotopic ossification in a patient with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis: input from histological findings. *Eur J Histochem*. 2020;64(4):317-322.
- [12] PIGNOLO RJ, HSIAO EC, BAUAT G, et al. Prevalence of fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) in the United States: estimate from three treatment centers and a patient organization. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16(1):1-8.
- [13] BAUAT G, CHOQUET R, BOUÉE S, et al. Prevalence of fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) in France: an estimate based on a record linkage of two national databases. *Orphanet J Rare Dis*. 2017;12(1):1-9.
- [14] ELLI F M, MANTOVANI G. Pseudohypoparathyroidism, acrodysostosis, progressive osseous heteroplasia: different names for the same spectrum of diseases? *Endocrine*. 2021;72(3):611-618.
- [15] HAN SR, LEE YA, SHIN C, et al. Clinical and molecular characteristics of GNAS inactivation disorders observed in 18 Korean patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2021;129(2):118-125.
- [16] 罗涛. 肋骨骨折后异位骨化形成中 BMP-2、BMP-9 及 TNF- α 表达的变化 [J]. 武汉大学学报 (医学版), 2017,38(1):112-114.
- [17] 柳明忠, 曾荣东, 张志珊, 等. 塞来昔布对创伤性异位骨化模型大鼠的 BMP-4 影响 [J]. 中外医疗, 2017,36(28):18-21.
- [18] 宁尚龙, 陈仲强, 马信龙, 等. 胸椎黄韧带骨化患者韧带细胞成骨潜能的评估及相关高通量测序分析 [J]. 中华骨科杂志, 2017,37(20):1300-1309.
- [19] LEES-SHEPARD JB, GOLDFAMER DJ. Stem cells and heterotopic ossification: lessons from animal models. *Bone*. 2018;109:178-186.
- [20] LI L, JIANG Y, LIN H, et al. Muscle injury promotes heterotopic ossification by stimulating local bone morphogenetic protein-7 production. *J Orthop Translat*. 2019;18:142-153.
- [21] DAI G, LI Y, LIU J, et al. Higher BMP expression in tendon stem/progenitor cells contributes to the increased heterotopic ossification in achilles tendon with aging. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:570605.
- [22] 柳明忠, 曾荣东, 施建辉, 等. 骨形态发生蛋白 4 在创伤性骨化性肌炎大鼠模型的表达及意义 [J]. 福建医药杂志, 2020,42(6):131-134.
- [23] ZHAO Y, YUAN B, CHENG L, et al. Cyclic tensile stress to rat thoracolumbar ligamentum flavum inducing the ossification of ligamentum flavum. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2021;46(17):1129-1138.
- [24] AGARWAL S, LODER SJ, BREULER C, et al. Strategic targeting of multiple BMP receptors prevents trauma-induced heterotopic ossification. *Mol Ther*. 2017; 25(8):1974-1987.
- [25] 史光耀, 鄢泽然, 白雯, 等. 补肾舒脊颗粒对人骨髓间充质干细胞 BMP-4、Smad-4 mRNA 及蛋白表达的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2017,37(7):819-824.
- [26] LIN H, SHI F, JIANG S, et al. Metformin attenuates trauma-induced heterotopic ossification via inhibition of bone morphogenetic protein signalling. *J Cell Mol Med*. 2020;24(24):14491-14501.
- [27] WU J, REN B, SHI F, et al. BMP and mTOR signaling in heterotopic ossification: does their crosstalk provide therapeutic opportunities? *J Cell Biochem*. 2019; 120(8):12108-12122.
- [28] STRONG AL, SPREADBOROUGH PJ, DEY D, et al. BMP ligand trap ALK3-Fc attenuates osteogenesis and heterotopic ossification in blast-related lower extremity trauma. *Stem Cells Dev*. 2021;30(2):91-105.
- [29] KUSANO T, NAKATANI M, ISHIGURO N, et al. Desloratadine inhibits heterotopic ossification by suppression of BMP2-Smad1/5/8 signaling. *J Orthop Res*. 2021; 39(6):1297-1304.
- [30] LIANG Q, LU Y, YU L, et al. Disruption of the mouse Bmal1 locus promotes heterotopic ossification with aging via TGF- β /BMP signaling. *J Bone Miner Metab*. 2022;40(1):40-55.
- [31] WOSCZYNA MN, BISWAS AA, COGSWELL CA, et al. Multipotent progenitors resident in the skeletal muscle interstitium exhibit robust BMP-dependent osteogenic activity and mediate heterotopic ossification. *J Bone Miner Res*. 2012;27(5):1004-1017.
- [32] OLMSTED-DAVIS E A, SALISBURY E A, HOANG D, et al. Progenitors in peripheral nerves launch heterotopic ossification. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(4):1109-1119.
- [33] CAPPATO S, GAMBERALE R, BOCCIARDI R, et al. Genetic and acquired heterotopic ossification: a translational tale of mice and men. *Biomedicines*. 2020;8(12):611.
- [34] ŁĘGOSZ P, DRELA K, PULIK A, et al. Challenges of heterotopic ossification-Molecular background and current treatment strategies. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2018;45(12):1229-1235.
- [35] 张辉, 王茜, 陶建峰, 等. 国产多孔钽复合骨形态发生蛋白 7 植入兔腰椎肌内的生物相容性 [J]. 中国组织工程研究, 2016,20(16):2376-2383.
- [36] PUVANESARAJAH V, JAIN A, CANCIENNE JM, et al. BMP use and the risk of revision surgery after long posterolateral fusions in the elderly. *Clin Spine Surg*. 2017;30(7):E931-E937.
- [37] BRANNAN PS, GASTON RG, LOEFFLER BJ, et al. Complications with the use of BMP-2 in scaphoid nonunion surgery. *J Hand Surg Am*. 2016;41(5):602-608.
- [38] SHI L, SUN W, GAO F, et al. Heterotopic ossification related to the use of recombinant human BMP-2 in osteonecrosis of femoral head. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(27):e7413.
- [39] PAPANAGIOTOU M, DALLIANA ZH, KARACHALIOS T, et al. Heterotopic ossification after the use of recombinant human bone morphogenetic protein-7. *World J Orthop*. 2017;8(1):36-41.
- [40] NIU S, ANASTASIO AT, FARAJ RR, et al. Evaluation of heterotopic ossification after using recombinant human bone morphogenetic protein-2 in transforaminal lumbar interbody fusion: a computed tomography review of 996 disc levels. *Global Spine J*. 2020;10(3):280-285.
- [41] 袁佳滨, 缪雄, 栗景峰, 等. 骨形态发生蛋白 2 临床应用的不良反应 [J]. 第二军医大学学报, 2019,40(9):1010-1014.
- [42] SEBASTIAN AS, WANDERMAN NR, CURRIER BL, et al. Prospective evaluation of radiculitis following bone morphogenetic protein-2 use for transforaminal interbody arthrodesis in spine surgery. *Asian Spine J*. 2019;13(4):544-555.
- [43] ARZENO A, WANG T, HUDDLESTON JR. Abundant heterotopic bone formation following use of rhbmp-2 in the treatment of acetabular bone defects during revision hip arthroplasty. *Arthroplast Today*. 2018;4(2):162-168.
- [44] POLMEAR MM, ANDERSON AB, LANIER PJ, et al. Bone morphogenetic protein in scaphoid nonunion: a systematic review. *J Wrist Surg*. 2021;10(3):184-189.
- [45] ELIAS E, NASSER Z, WINEGAN L, et al. Bone morphogenetic protein usage in anterior lumbar interbody fusion: what else can go wrong? *World Neurosurg*. 2018;111:55-59.
- [46] RUEHLE MA, KRISHNAN L, VANTUCCI CE, et al. Effects of BMP-2 dose and delivery of microvascular fragments on healing of bone defects with concomitant volumetric muscle loss. *J Orthop Res*. 2019;37(3):553-561.
- [47] IHN H, KANG H, IGLESIAS B, et al. Regional gene therapy with transduced human cells: the influence of "cell dose" on bone repair. *Tissue Eng Part A*. 2021; 27(21-22):1422-1433.
- [48] PRIDDY LB, KRISHNAN L, HETTIARATCHI MH, et al. Amniotic membrane attenuates heterotopic ossification following high-dose bone morphogenetic protein-2 treatment of segmental bone defects. *J Orthop Res*. 2023;41(1):130-140.
- [49] HETTIARATCHI MH, KRISHNAN L, ROUSE T, et al. Heparin-mediated delivery of bone morphogenetic protein-2 improves spatial localization of bone regeneration. *Sci Adv*. 2020;6(1):y1240.
- [50] WANG M, LAM R, ABBAS SA, et al. Heparin-based polyelectrolyte complex enhances the therapeutic efficacy of bone morphogenetic protein-2 for posterolateral fusion in a large animal model. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2016;41(15): 1199-1207.
- [51] VANTUCCI CE, KRISHNAN L, CHENG A, et al. BMP-2 delivery strategy modulates local bone regeneration and systemic immune responses to complex extremity trauma. *Biomater Sci*. 2021;9(5):1668-1682.
- [52] 余翔, 夏远军, 郑晓辉, 等. 两种壳聚糖载 rhbmp-2 纳米微球对 SD 大鼠体内异位成骨的影响 [J]. 中国临床解剖学杂志, 2016,34(4):412-418.
- [53] KRISHNAN L, PRIDDY LB, ESANCY C, et al. Delivery vehicle effects on bone regeneration and heterotopic ossification induced by high dose BMP-2. *Acta Biomater*. 2017;49:101-112.
- [54] JEON EY, UM S, PARK J, et al. Precisely localized bone regeneration mediated by marine-derived microdroplets with superior BMP-2 binding affinity. *Small*. 2022;18(24):e2200416.
- [55] 胡洋洋, 卢海妹, 刘亚坤, 等. 获得性异位骨化的研究进展 [J]. 基础医学与临床, 2017,37(11):1634-1639.
- [56] 龙国庚, 程娇, 蒋练. BMP9 介导多种干细胞成骨分化的研究进展 [J]. 医学综述, 2020,26(11):2099-2105.
- [57] 张保良, 陈仲强. 胸椎黄韧带骨化相关分子信号通路的研究进展 [J]. 中华骨科杂志, 2020,40(10):680-688.
- [58] YANG P, TRONCONE L, AUGUR ZM, et al. The role of bone morphogenetic protein signaling in vascular calcification. *Bone*. 2020;141:115542.
- [59] DAVIS EL, SONNET C, LAZARD ZW, et al. Location-dependent heterotopic ossification in the rat model: the role of activated matrix metalloproteinase 9. *J Orthop Res*. 2016;34(11):1894-1904.
- [60] KAN C, DING N, YANG J, et al. BMP-dependent, injury-induced stem cell niche as a mechanism of heterotopic ossification. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):14.
- [61] AGARWAL S, CHOLOK D, LODER S, et al. Mtor inhibition and BMP signaling act synergistically to reduce muscle fibrosis and improve myofiber regeneration. *JCI Insight*. 2016;1(20):e89805.
- [62] SHAH A, UY M, YAN JR, et al. Heterotopic ossification following total elbow arthroplasty in a patient with Parkinson's disease: case report and literature review. *Case Rep Surg*. 2020;2020:2068045.
- [63] NAGANO H, TOGAWA T, WATANABE T, et al. Heterotopic ossification in lymph node metastasis after rectal cancer resection: a case report and literature review. *World J Surg Oncol*. 2021;19(1):2.
- [64] KATONO N, TSUDA M, SUZUKA J, et al. Involvement of BMP and Wnt signals leading to epithelial-mesenchymal transition in colon adenocarcinoma with heterotopic ossification. *Ann Clin Lab Sci*. 2021;51(2):271-276.
- [65] FU HD, WANG HR, LI DH. BMP-7 accelerates the differentiation of rabbit mesenchymal stem cells into cartilage through the Wnt/ β -catenin pathway. *Exp Ther Med*. 2017;14(6):5424-5428.
- [66] TUZMEN C, VERDELIS K, WEISS L, et al. Crosstalk between substance P and calcitonin gene-related peptide during heterotopic ossification in murine Achilles tendon. *J Orthop Res*. 2018;36(5):1444-1455.
- [67] DAVIS EL, DAVIS AR, GUGALA Z, et al. Is heterotopic ossification getting nervous? The role of the peripheral nervous system in heterotopic ossification. *Bone*. 2018;109:22-27.
- [68] DROUIN G, COUTURE V, LAUZON MA, et al. Muscle injury-induced hypoxia alters the proliferation and differentiation potentials of muscle resident stromal cells. *Skelet Muscle*. 2019;9(1):18.
- [69] GUGALA Z, OLMSTED-DAVIS EA, XIONG Y, et al. Trauma-induced heterotopic ossification regulates the blood-nerve barrier. *Front Neurol*. 2018;9:408.
- [70] CROWGEY EL, WYFFELS JT, OSBORN PM, et al. A systems biology approach for studying heterotopic ossification: proteomic analysis of clinical serum and tissue samples. *genomics proteomics bioinformatics*. 2018;16(3):212-220.

- [71] YU D, JU J, XUE F, et al. Expression and significance of related genes in the early stage of post-traumatic heterotopic ossification in a rat model of Achilles tenotomy. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2021;55(2):94-101.
- [72] ZHANG Q, ZHANG Y, YAN M, et al. Big-h3 enhances chondrogenesis via promoting mesenchymal condensation in rat Achilles tendon heterotopic ossification model. *Aging (Albany NY).* 2020;12(8):7030-7041.
- [73] YAN L, GAO R, LIU Y, et al. The pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament. *Aging Dis.* 2017;8(5):570-582.
- [74] ALEXANDER KA, TSENG H, SALGA M, et al. When the nervous system turns skeletal muscles into bones: how to solve the conundrum of neurogenic heterotopic ossification. *Curr Osteoporos Rep.* 2020;18(6):666-676.
- [75] XIONG Y, YANG YL, GAO YS, et al. Histological changes of cervical disc tissue in patients with degenerative ossification. *J Korean Neurosurg Soc.* 2022;65(2):186-195.
- [76] ZHONG B, ZHANG C, GUO S, et al. Rational design of cyclic peptides to disrupt TGF- β /SMAD7 signaling in heterotopic ossification. *J Mol Graph Model.* 2017;72:25-31.
- [77] ZENG LR, ZHU FB, WANG JY, et al. Local influence of high molecular polyethylene particles on heterotopic ossification. *Exp Ther Med.* 2017;13(6):2934-2938.
- [78] MAO D, PAN X, RUI Y, et al. Matrine attenuates heterotopic ossification by suppressing TGF- β induced mesenchymal stromal cell migration and osteogenic differentiation. *Biomed Pharmacother.* 2020;127:110152.
- [79] WANG X, LI F, XIE L, et al. Inhibition of overactive TGF- β attenuates progression of heterotopic ossification in mice. *Nat Commun.* 2018;9(1):551.
- [80] 王威, 刘伟军, 黎清波, 等. 电磁场干预对异位骨化大鼠模型的抗异位骨化效应及机制探讨 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2020,42(10):870-876.
- [81] STRONG AL, SPREADBOROUGH PJ, PAGANI CA, et al. Small molecule inhibition of non-canonical (TAK1-mediated) BMP signaling results in reduced chondrogenic ossification and heterotopic ossification in a rat model of blast-associated combat-related lower limb trauma. *Bone.* 2020;139:115517.
- [82] FANG F, SUP M, LUZZI A, et al. Hedgehog signaling underlying tendon and enthesis development and pathology. *Matrix Biol.* 2022;105:87-103.
- [83] LIU H, XU J, JIANG R. Mx-deficient mice exhibit hedgehog signaling-dependent ectopic ossification in the achilles tendons. *J Bone Miner Res.* 2019;34(3):557-569.
- [84] FENG H, XING W, HAN Y, et al. Tendon-derived cathepsin K-expressing progenitor cells activate Hedgehog signaling to drive heterotopic ossification. *J Clin Invest.* 2020;130(12):6354-6365.
- [85] GAO R, SHI C, YANG C, et al. Cyclic stretch promotes the ossification of ligamentum flavum by modulating the Indian hedgehog signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2020;22(2):1119-1128.
- [86] KAN C, CHEN L, HU Y, et al. Gli1-labeled adult mesenchymal stem/progenitor cells and hedgehog signaling contribute to endochondral heterotopic ossification. *Bone.* 2018;109:71-79.
- [87] CHAKRABORTY A, GVOZDENOVIC-JEREMIC J, WANG F, et al. Hedgehog pathway inhibitors significantly reduce the formation of heterotopic ossification in a direct trauma/burn mouse model. *Biorxiv.* 2021. doi:10.1101/2021.01.31.429058.
- [88] ZOU YC, YANG XW, YUAN SG, et al. Downregulation of dickkopf-1 enhances the proliferation and osteogenic potential of fibroblasts isolated from ankylosing spondylitis patients via the Wnt/ β -catenin signaling pathway in vitro. *Connect Tissue Res.* 2016;57(3):200-211.
- [89] ZOU YC, YANG XW, YUAN SG, et al. Celestrol inhibits prostaglandin E2-induced proliferation and osteogenic differentiation of fibroblasts isolated from ankylosing spondylitis hip tissues in vitro. *Drug Des Devel Ther.* 2016;10:933-948.
- [90] 郭泽然, 史光耀, 王晓瞳, 等. 补肾舒脊颗粒含药血清对人骨髓间充质干细胞 Wnt5a、 β -catenin mRNA 及蛋白表达的影响 [J]. *中医杂志*, 2018,59(5):415-419.
- [91] ZHANG Z, ZENG J, LI Y, et al. Tail suspension delays ectopic ossification in proteoglycan-induced ankylosing spondylitis in mice via mir-103/DKK1. *Exp Ther Med.* 2021;22(3):965.
- [92] WANG T, CHEN P, CHEN L, et al. Reduction of mechanical loading in tendons induces heterotopic ossification and activation of the β -catenin signaling pathway. *J Orthop Translat.* 2021;29:42-50.
- [93] XU L, QIAN Z, WANG S N, et al. Galectin-3 enhances osteogenic differentiation of precursor cells from patients with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis via wnt/ β -catenin signaling. *J Bone Miner Res.* 2022;37(4):724-739.
- [94] XU K, ZHANG Z, CHEN M, et al. Nesfatin-1 promotes the osteogenic differentiation of tendon-derived stem cells and the pathogenesis of heterotopic ossification in rat tendons via the mtor pathway. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:547342.
- [95] CHEN Y, SHEN W, TANG C, et al. Targeted pathological collagen delivery of sustained-release rapamycin to prevent heterotopic ossification. *Sci Adv.* 2020;6(18):y9526.
- [96] YAO L, SUN B, WANG B, et al. The mtorc1 signaling pathway inhibitor rapamycin inhibits leptin induced osteogenic differentiation of tdscs and ectopic ossification of achilles tendon. *Acta Medica Mediterranea.* 37(1):115-121.
- [97] HU Y, WANG Z. Rapamycin prevents heterotopic ossification by inhibiting the mtor pathway and oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021;573:171-178.
- [98] MOLLIGAN J, MITCHELL R, SCHON L, et al. Influence of bone and muscle injuries on the osteogenic potential of muscle progenitors: contribution of tissue environment to heterotopic ossification. *Stem Cells Transl Med.* 2016;5(6):745-753.
- [99] 林霖, 陈连旭, 王海军, 等. Runx2 特异性 siRNA 筛选和功能鉴定 [J]. *中国运动医学杂志*, 2009,28(5):530-533.
- [100] TU B, LIU S, LIU G, et al. Inhibition of connexin 43 prevents trauma-induced heterotopic ossification. *Sci Rep.* 2016;6:37184.
- [101] 薛涛, 林霖, 魏学磊, 等. siRNA 抑制 Smad4 或 Runx2 基因表达治疗大鼠异位骨化效果比较 [J]. *中国运动医学杂志*, 2011,30(7):644-649.
- [102] XUE T, MAO Z, LIN L, et al. Non-virus-mediated transfer of siRNAs against Runx2 and Smad4 inhibit heterotopic ossification in rats. *Gene Ther.* 2010;17(3):370-379.
- [103] LIN L, SHEN Q, LENG H, et al. Synergistic inhibition of endochondral bone formation by silencing Hif1 α and Runx2 in trauma-induced heterotopic ossification. *Mol Ther.* 2011;19(8):1426-1432.
- [104] TU B, LIU S, YU B, et al. Mir-203 inhibits the traumatic heterotopic ossification by targeting Runx2. *Cell Death Dis.* 2016;7(10):e2436.
- [105] 张秀梅, 崔亚洲, 周小艳, 等. MicroRNAs 参与韧带成纤维细胞成骨分化相关分子表达的调节 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2011,27(6):540-547.
- [106] 张燕, 严冰洁, 徐辰, 等. Mir-92b-3p 促进人脐带间充质干细胞的成骨分化 [J]. *基础医学与临床*, 2016,36(5):598-603.
- [107] YIN J, ZHUANG G, ZHU Y, et al. Mir-615-3p inhibits the osteogenic differentiation of human lumbar ligamentum flavum cells via suppression of osteogenic regulators GDF5 and FOXO1. *Cell Biol Int.* 2017;41(7):779-786.
- [108] XU C, ZHANG H, GU W, et al. The microRNA-10a/ID3/RUNX2 axis modulates the development of ossification of posterior longitudinal ligament. *Sci Rep.* 2018;8(1):9225.
- [109] LOGAN NJ, CAMMAN M, WILLIAMS G, et al. Demethylation of ITGAV accelerates osteogenic differentiation in a blast-induced heterotopic ossification in vitro cell culture model. *Bone.* 2018;117:149-160.
- [110] ZHANG J, WANG L, CAO H, et al. Neurotrophin-3 acts on the endothelial-mesenchymal transition of heterotopic ossification in rats. *J Cell Mol Med.* 2019;23(4):2595-2609.
- [111] LI D, TIAN Y, YIN C, et al. Silencing of lncRNA AK045490 promotes osteoblast differentiation and bone formation via β -Catenin/TCF1/Runx2 signaling axis. *Int J Mol Sci.* 2019;20(24):6229.
- [112] KIM JM, YANG YS, PARK KH, et al. A RUNX2 stabilization pathway mediates physiologic and pathologic bone formation. *Nat Commun.* 2020;11(1):2289.
- [113] ROBINSON TE, COX SC, GROVER LM. Heterotopic ossification following traumatic blast injury. Aikawa E, Hutcheson JD. cardiovascular calcification and bone mineralization. Cham: Springer International Publishing. 2020:297-315.
- [114] 田建, 范存义, 芮永军, 等. 环氧化酶 2、骨形态形成蛋白 2 和血管内皮生长因子在异位骨化组织中的表达 [J]. *中国组织工程研究*, 2012,16(42):7814-7818.
- [115] 董利薇, 董国栋, 曹建业, 等. 环氧化酶 2、血管内皮生长因子 mRNA 在异位骨化组织中的表达 [J]. *临床合理用药杂志*, 2018,11(1):152-153.
- [116] SUNG HH, CHUNG MT, ALLEN RM, et al. Evaluation of salivary cytokines for diagnosis of both trauma-induced and genetic heterotopic ossification. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8:74.
- [117] HWANG C, MARINI S, HUBER AK, et al. Mesenchymal VEGFA induces aberrant differentiation in heterotopic ossification. *Bone Res.* 2019;7(1):1-17.
- [118] 李国松, 赫明堂, 马立峰, 等. 大鼠跟腱异位骨化模型中低氧诱导因子 1 α 及血管内皮生长因子的表达及作用 [J]. *中国现代药物应用*, 2015,9(14):278-279.
- [119] ZHAO Y, LIU P, CHEN Q, et al. Development process of traumatic heterotopic ossification of the temporomandibular joint in mice. *J Craniomaxillofac Surg.* 2019;47(7):1155-1161.
- [120] HU JJ, YIN Z, SHEN WL, et al. Pharmacological regulation of in situ tissue stem cells differentiation for soft tissue calcification treatment. *Stem Cells.* 2016;34(4):1083-1096.
- [121] HUANG Y, WANG X, LIN H. The hypoxic microenvironment: a driving force for heterotopic ossification progression. *Cell Commun Signal.* 2020;18(1):20.
- [122] PETERS N, BALTIN CT, BARHAM M, et al. An unusual finding: Heterotopic ossification located in the subcutis of the iliac region-A case report in the context of current literature. *Transl Res Anat.* 2021. doi:10.1016/J.TRIA.2021.100137.
- [123] HU X, SUN Z, LI F, et al. Burn-induced heterotopic ossification from incidence to therapy: key signaling pathways underlying ectopic bone formation. *Cell Mol Biol Lett.* 2021;26(1):34.
- [124] AGARWAL S, LODER S, BROWNLEY C, et al. Inhibition of Hif1 α prevents both trauma-induced and genetic heterotopic ossification. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(3):E338-E347.
- [125] BAN HS, UTO Y, NAKAMURA H. Hypoxia-inducible factor (HIF) inhibitors: a patent survey (2016-2020). *Expert Opin Ther Pat.* 2021;31(5):387-397.
- [126] ZHANG D, HUANG J, SUN X, et al. Targeting local lymphatics to ameliorate heterotopic ossification via FGFR3-BMP1a pathway. *Nat Commun.* 2021;12(1):4391.
- [127] KAWAI M, HERRMANN D, FUCHS A, et al. Fgfr1 conditional-knockout in neural crest cells induces heterotopic chondrogenesis and osteogenesis in mouse frontal bones. *Med Mol Morphol.* 2019;52(3):156-163.
- [128] MAEDA S, KAWAMURA I, TOMINAGA H, et al. Histopathological features of ossification of the posterior longitudinal ligament. *Springer.* 2020.
- [129] DE VASCONCELLOS JF, JACKSON WM, DIMITCHEV A, et al. A microRNA signature for impaired wound-healing and ectopic bone formation in humans. *J Bone Joint Surg Am.* 2020;102(21):1891-1899.
- [130] SUZUKI H, ITO Y, SHINOHARA M, et al. Gene targeting of the transcription factor Mohawk in rats causes heterotopic ossification of Achilles tendon via failed tenogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(28):7840-7845.
- [131] LIAO J, HU N, ZHOU N, et al. Sox9 potentiates BMP2-induced chondrogenic differentiation and inhibits BMP2-induced osteogenic differentiation. *PLoS One.* 2014;9(2):e89025.

(责任编辑: WJ, ZN, QY, ZLJ)