

· 综述 ·

H 型血管铁死亡对骨质疏松性骨关节炎的影响及调节机制研究

付长龙^{1,2*} 梅阳阳³ 李西海^{1,2} 叶锦霞^{1,2} 谢新宇^{1,2} 邱志伟^{1,2}

1.福建中医药大学中西医结合研究院,福建 福州 350122

2.福建省中西医结合老年性疾病重点实验室,福建 福州 350122

3.福建卫生职业技术学院,福建 福州 350101

中图分类号: R684.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 01-0139-04

摘要: 随着全社会人口老龄化的加剧,绝经后女性罹患骨质疏松性骨关节炎的风险亦呈现高发趋势,严重危害中老年人的健康。研究证实血管形成及功能异常是加剧骨质疏松、骨关节炎病理退变的重要事件。H 型血管(内皮细胞)在骨与软骨损伤修复中兼具成骨和成血管偶联功能,其形态与功能异常将影响骨质疏松、骨关节炎的损伤修复。铁死亡作为近年来发现的一种新型细胞死亡模式,其主要由铁依赖性脂质过氧化和活性氧诱导损伤引起细胞膜断裂,线粒体变小等改变。而 H 型血管铁死亡对骨质疏松性骨关节炎病程的影响途径及调节机制尚需进一步探讨,旨在为今后以 H 型血管铁死亡为切入点进而防治骨质疏松性骨关节炎开辟新方向。

关键词: H 型血管;铁死亡;骨关节炎;骨质疏松

The effect and regulatory mechanism of the ferroptosis in type H vessels on osteoporotic osteoarthritis

FU Changlong^{1,2*}, MEI Yangyang³, LI Xihai^{1,2}, YE Jinxia^{1,2}, XIE Xinyu^{1,2}, QIU Zhiwei^{1,2}

1.Academy of Integrative Medicine of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122

2.Fujian Key Laboratory of Integrative Medicine on Geriatrics, Fuzhou 350122

3.Fujian Health College, Fuzhou 350101, China

* Corresponding author: FU Changlong, Email: 993001232@qq.com

Abstract: The risk of osteoporotic osteoarthritis increases with age in postmenopausal women, which seriously endangers the life and health of the elderly. Modern research has found that vascular formation and abnormal function are important events that aggravate the pathological degeneration of osteoporosis and osteoarthritis. However, the function of type H vessels coupling for angiogenesis and osteogenesis is beneficial to the repair of osteoporosis and osteoarthritis. Ferroptosis, as a new cell death pattern, has been discovered in recent years which is mainly caused by iron-dependent lipid peroxidation and damage induced by reactive oxygen species. However, the way and mechanism of the effect of ferroptosis of type H vessels on the course of osteoporotic osteoarthritis is to be explored. This paper aims to open up a new direction for the prevention and treatment of osteoporotic osteoarthritis by taking the ferroptosis of type H vessels as the entry point in the future.

Key words: type H vessels; ferroptosis; osteoarthritis; osteoporosis

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种主要由生物因素及力学稳态异常等引起的受累关节部位结构与组织形态紊乱,致使关节功能退变乃至丧失的关节

疾病,其显著病理特点表现为关节处软骨组织发生变性、退化,软骨下骨渐进性破坏以及继发性骨赘形成^[1]。骨质疏松症(osteoporosis, OP)作为一种与骨代谢平衡偶联失衡密切相关的代谢性骨科疾患,其主要特征表现在骨量趋向降低,骨组织微结构受累破坏,骨脆性异常增加等,其病因涵盖性别、年龄、遗传、营养状况、细胞因子及激素水平异常等^[2]。而

基金项目:福建省自然科学基金(2019J01363);福建中医药大学高层次人才科研启动资金项目(X2019011-人才)

* 通信作者:付长龙,Email:993001232@qq.com

骨质疏松症合并骨关节炎,亦称为骨质疏松性骨关节炎(osteoporosis osteoarthritis, OPOA),其主要以软骨结构损伤、骨组织疏松并伴随着骨代谢水平改变为主要病理特点。流行病学与临床研究数据显示^[3],绝经后妇女患有 OPOA 的发生率高达 30%~80%^[4],且与年龄因素具有密切关联性,即当年龄趋于增加时,OPOA 的发病率也随之不断增高^[5]。随着全社会人口老龄化的加剧,OPOA 的发病率亦呈现高发趋势,严重危害着中老年人的健康。

日前对骨质疏松性骨关节炎的药物治疗策略主要以缓解临床症状(疼痛不适等),改善关节功能,提高骨量为主。临床应用多以活性维生素 D 类似物(α 骨化醇、骨化三醇等)、雌激素受体调节剂(雷洛昔芬等)、骨吸收抑制剂(双膦酸盐等)、非甾体类(依托考昔等)、软骨营养类(氨基葡萄糖)及其他类联合用药为主,其联合应用虽在一定程度上改善 OPOA 患者的部分临床症状,但联合用药的入体剂量倍增亦增加了药物所致副作用的风险,且其联合应用并未有效阻断或逆转骨质疏松性骨关节炎的病情进展^[6]。鉴于 H 型血管(内皮细胞)在骨与软骨损伤修复中兼具成骨和成血管偶联功能,其形态与结构变化将影响骨质疏松、骨关节炎的损伤修复,有望成为今后治疗 OPOA 的热点之一。其中,H 型血管铁死亡将对骨质疏松性骨关节炎的病程将产生重要影响,现就其影响途径及调节机制进行初步探讨,以期今后以 H 型血管铁死亡为切入点进而防治骨质疏松性骨关节炎开辟新方向。

1 H 型血管在 OPOA 损伤修复中的调节作用

H 型血管可特异表达血小板-内皮细胞粘附分子抗体(CD31)与内皮粘蛋白抗体(endomucin, EMCN)^[7],其作为一种新的血管亚型(即 H 型)通常分布于发育中的长骨干骺端与骨内膜处,起初由 Kusumbe 团队将研究成果刊登在《Nature》杂志^[8],并认为此类血管可兼具成血管与成骨功能,且 H 型血管的分布、数量与年龄变化具有重要关联,即伴随增龄,出现此类型血管及其周围汇集的成骨祖细胞数量锐减现象。亦有研究证实^[9],在大鼠骨缺损的修复进程中,H 型血管主要分布在靠近生长前沿(干骺端、骨内膜等)新生骨小梁表面;而在去卵巢小鼠的骨组织中,H 型血管的数量显著减低^[10]。H 型血管在调节骨质疏松性骨关节炎损伤修复中的具体作用体现在:①成血管作用:构成 H 型血管的内

皮细胞可促进血管新生,血管新生交汇互通后形成血管网,而血管网的主要功能是作为一个运输营养物质、氧气、代谢产物、激素、细胞因子(炎性、趋化及成骨与破骨诱导因子等)或细胞的管道^[11],通过延伸贯通于骨小梁的表面、骨外膜、骨内膜、皮质骨的哈弗氏管内干骺端软骨及软骨下骨的交界面上,具有滋养与修复损伤关节,促进软骨及关节周围组织的新陈代谢作用,最终可减轻软骨退变,缓解骨量降低等病理进程^[12]。②成骨作用:基于成骨细胞、破骨细胞和 H 型血管内皮细胞之间诸多信号分子的密切交互联系,即“成骨和成血管偶联”:成骨作用的发挥是一个血管依赖的过程,其原因则为 H 型血管内皮细胞可吸引并诱导成骨、破骨祖细胞向受损关节部位富集迁移^[13]。Sojo 等^[14]亦研究证实,血管再生过程可先于成骨发生,而新生的血管为循环成骨、破骨细胞的前体细胞提供稳定的通道保障,从而确保其输送至骨损伤源部位。由此可见,在骨质疏松性骨关节损伤修复中,H 型血管可促进血管网新生与成骨分化,为软骨、软骨下骨及塌陷受损的骨组织提供成骨介质、修复因子等,并促进软骨与骨组织的新陈代谢,进而促进损伤修复。此外,众多证据表明,许多骨骼的病理变化,如骨质疏松^[15-16]、骨关节炎^[17]等都与血管形成异常密切相关。因此,通过维持 H 型血管正常功能,改善其异常状态,可能是延缓骨质疏松性骨关节炎病理进程的重要治疗途径之一。

2 H 型血管铁死亡对 OPOA 病理进程的影响

铁死亡(Ferroptosis)是一种呈现铁依赖性脂质过氧化反应及活性氧(ROS)聚集、过载为主要特点的新型细胞死亡模式,其可引起细胞膜断裂,线粒体变小等改变,常涉及一系列基因异常表达和信号传导^[18]。研究发现^[19],通过抑制谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)活性,可阻碍并减少谷胱甘肽的合成与释放,其所致结局则可促使 ROS 在膜脂内大量汇集乃至过载,进而诱发铁死亡模式的开启。而酯酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4(AcylCoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)作为调节铁死亡的关键因素,可催化酸类物质(花生四烯酸、肾上腺酸)生成为辅酶 A 物质(花生四烯酰 CoA、肾上腺酰 CoA),进而作为重要组分合成带负电膜磷脂(磷脂酰乙醇胺或磷脂酰肌醇等)。Doll 等^[20]研究发现,通过敲除 ACSL4 基因,

可有效减少 GPX4 抑制剂 (RSL3) 诱导的细胞铁死亡。此外,铁代谢紊乱在介导铁死亡过程中发挥了主导作用,一旦细胞内铁离子超额,可催化机体形成具有代谢毒性的 ROS。在骨质疏松性骨关节炎病理状态下,H 型血管在异常应力与生物因素刺激下,会出现局部供血受限,氧气和营养物质的消耗,加之铁代谢异常(受损的红细胞释放过载铁等)又可激活 Fenton 反应生成大量 ROS,将引起 H 型血管(内皮细胞)铁死亡发生。

在骨质疏松性骨关节炎的病理进程中,H 型血管铁死亡可能通过影响以下途径参与对其调控。首先,H 型血管铁死亡参与对成骨和成血管偶联功能的调节。诸多研究显示,铁死亡模式的启动可加剧血管(内皮细胞)损伤。研究表明^[21],在大脑血管闭塞模型中,铁死亡抑制剂可保护小鼠免于缺血-再灌注的损伤。另有研究证实^[22],铁死亡诱导剂 erastin (5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度)可启动并引起血管内皮细胞发生铁死亡:光镜下观察显示,启动铁死亡模式的血管内皮细胞核发生固缩,胞浆结构趋于完全消失,但其细胞膜结构保持光滑且完整;而电镜下观察可见内皮细胞线粒体固缩、缩小,铁死亡相关蛋白 GPX4 表达显著降低,而铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 则可逆转血管内皮细胞铁死亡的发生。其次,H 型血管铁死亡亦可加剧 OPOA 关节软骨基质稳态失衡,进而加速软骨变性、退化。H 型血管发生铁死亡后,其代谢产物可通过直接或间接分泌、渗透途径,将使局部关节内及其周围聚集过载的活性氧(ROS)及其他异常细胞因子成分。其中:①过载的活性氧(ROS)作为诱导铁死亡模式启动的重要因素,主要类型包括过氧化氢(H_2O_2)、羟基自由基($\cdot\text{OH}$)、一氧化氮(NO)自由基以及超氧阴离子等。当关节发生病变后,关节内环境紊乱失衡,伴随关节软骨细胞内的活性氧生成异常增多,不仅可阻碍软骨细胞分泌细胞外基质及 II 型胶原合成,其又可加剧软骨基质降解^[23]。②环加氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)作为一种代谢合成过程中的关键性限速酶,可将花生四烯酸初步催化转化为前列腺素类物质。研究发现^[24],经应用铁死亡抑制剂 liprostatin-1 干预小鼠后,可抑制 COX-2 功能,而在介导软骨退变过程中,异常表达的 COX-2 可诱导前列腺素 E2(PGE2)合成与释放增加,后者不仅可诱导并启动软骨细胞凋亡模式,又可加强 IL-1 β 对软骨细胞的破坏与分解作用,从而导致软骨基质稳态趋于失衡^[25]。

3 miRNAs 介导 H 型血管铁死亡对 OPOA 病理进程的调节

miRNAs 作为一种进化保守的微小非编码 RNA,可通过结合靶基因 mRNA (3'-UTR) 非翻译区域介导靶基因的转录后沉默,发挥负调节基因表达功能。miRNAs 可广泛参与细胞增殖、分化、死亡(凋亡、铁死亡)等生物学效应。近年大量研究发现,miRNAs 作为潜在治疗靶点已成为前沿研究热点之一^[26]。诸多研究表明,miRNAs 与血管内皮细胞损伤密切相关,其中 miRNA-9 不仅可通过介导铁死亡(ferroptosis)参与调节血管内皮细胞功能^[27],miRNA-9 还作为一种致炎因子脂多糖诱导炎症反应的应答基因^[28],可对 NF- κB 转录因子进行调控,进而调节炎症反应^[29]。而异常细胞因子(脂多糖、TNF- α 与 IL-1 等)可激活 NF- κB 经典途径,发生活化的 NF- κB p65 进入细胞核,最终可引起骨关节炎反应的发生,加剧软骨退变^[30]。此外,相关研究发现^[31-32],miRNA17-92(主要包括 miRNA-17、miRNA-18a、miRNA-19a/b、miRNA-20a、miRNA-92a)作为一种泛功能的 miRNA 基因簇,对血管生成及其功能的发挥具有重要调控作用。有学者证实^[33],过表达 miRNA17-92 可保护 erastin 诱导血管内皮细胞的铁死亡,并降低 lipid-ROS 产生与释放,其调节机制与干涉 miRNA17-92 的靶分子 A20,进而抑制铁死亡相关蛋白 ACSL4 密切相关。鉴于相关 miRNAs 对 H 型血管铁死亡发挥的重要调节作用,其是否也通过介导 H 型血管铁死亡进而影响骨质疏松性骨关节炎的病理进程,例如 miRNA-9 等是否在骨质疏松性骨关节炎动物模型中发挥双效调节作用,即 miRNA-9 等不仅介导 H 型血管内皮细胞铁死亡进而影响“成骨与成血管”功能,又可抑制软骨细胞炎症反应,延缓软骨退变的机制尚需进一步探讨与验证。

4 小结

综上,H 型血管功能的维持与发挥将对以软骨结构损伤、骨组织疏松并伴随着骨代谢水平改变为主要病理特点的骨质疏松性骨关节炎的治疗提供新思路。其中,针对 H 型血管铁死亡的靶向调节有望成为延缓骨质疏松性骨关节炎病程的新策略。但关于 H 型血管铁死亡在治疗骨质疏松性骨关节炎的临床与基础研究仍需进一步开展与丰富,而其特定调节基因的功能发挥是否具有多效调节作用,尚需要深入探讨;其次,基于 H 型血管铁死亡途径的靶向药物研

发可作为延缓骨质疏松性骨关节病程的重要课题之一,可运用计算机模拟或大数据分析技术初步筛选其潜在的有效药物成分,并通过开展基础及临床研究进行科学验证,对今后指导并应用于临床治疗将具有重要的价值。

【参 考 文 献】

- [1] Barnett R. Osteoarthritis [J]. Lancet, 2018, 391 (10134) : 1985.
- [2] Aspray TJ, Hill TR. Osteoporosis and the ageing skeleton [J]. Subcell Biochem, 2019, 91 : 453-476.
- [3] Zheng W, Ding B, Li X, et al. Knee loading repairs osteoporotic osteoarthritis by relieving abnormal remodeling of subchondral bone via Wnt/ β -catenin signaling [J]. FASEB J, 2020, 34 (2) : 3399-3412.
- [4] Deshpande BR, Katz JN, Solomon DH, et al. Number of persons with symptomatic knee osteoarthritis in the US: Impact of race and ethnicity, age, sex, and obesity [J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2016, 68 : 1743-1750.
- [5] Geusens PP, van den Bergh JP. Osteoporosis and osteoarthritis: shared mechanisms and epidemiology [J]. Curr Opin Rheumatol, 2016, 28 (2) : 97-103.
- [6] Herrero-Beaumont G, Roman-Blas JA, Mediero A, et al. Treating osteoporotic osteoarthritis, or the art of cutting a balding man's hair [J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2020, 28 (3) : 239-241.
- [7] 韩钧, 孙伟, 高福强, 等. H 亚型血管与骨质疏松症 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24 (10) : 1353-1356.
- [8] Kusumbe AP, Ramasamy SK, Adams RH. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone [J]. Nature, 2014, 507 (7492) : 323-328.
- [9] Wang JM, Gao Y, Cheng PZ, et al. CD31hiEmcnhi vessels support new trabecular bone formation at the frontier growth area in the bone defect repair process [J]. Scientific Reports, 2017, 7 (1) : 4990.
- [10] Xie H, Cui Z, Wang L, et al. PDGF-BB secreted by preosteoclasts induces angiogenesis during coupling with osteogenesis [J]. Nat Med, 2014, 20 (11) : 1270-1278.
- [11] Pu C, Rke J. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis [J]. Nature, 2011 (7347) : 298-307.
- [12] Fu L. Building strong bones: molecular regulation of the osteoblast lineage [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2011 (1) : 27-38.
- [13] Goerke SM, Obermeyer J, Plaha J, et al. Endothelial progenitor cells from peripheral blood support bone regeneration by provoking an angiogenic response [J]. Microvasc Res, 2015, 98 : 40-47.
- [14] Sojo K, Sawaki Y, Hattori H, et al. Immunohistochemical study of vascular endothelial growth factor (VEGF) and bone morphogenetic protein - 2, -4 (BMP-2, -4) on lengthened rat femurs [J]. J Cranio-Maxillo-Facial Surgery, 2005 (4) : 238-245.
- [15] Ka A, Aufd J, Du H, et al. Role of vascular factors in osteoporosis [J]. J Gerontology, 2003, 4 : 362-366.
- [16] Reeve J, Arlot M, Wootton R, et al. Skeletal blood flow, iliac histomorphometry, and strontium kinetics in osteoporosis: a relationship between blood flow and corrected apposition rate [J]. J Clin Endocrinology and Metabolism, 1988, 6 : 1124-1131.
- [17] Da W. Angiogenesis in osteoarthritis [J]. Current Opinion in Rheumatology, 2008, 5 : 573-580.
- [18] Viswanathan VS, Ryan MJ, Dhruv HD, et al. Dependency of a therapy-resistant state of cancer cells on a lipid peroxidase pathway [J]. Nature, 2017, 547 (7664) : 453-457.
- [19] Dixon S, Lemberg K, Lamprecht M, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. Cell, 2012, 149 : 1060-1072.
- [20] Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, et al. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells [J]. Cancer Cell, 2003, 3 (3) : 285-296.
- [21] Tuo QZ, Lei P, Jackman KA, et al. Tau-mediated iron export prevents ferroptotic damage after ischemic stroke [J]. Mol Psychiatry, 2017, 22 (11) : 1520-1530.
- [22] Xiao FJ, Zhang D, Wu Y, et al. miRNA-17-92 Protects Endothelial cells from erastin-induced ferroptosis targeting the A20-ACSL4 Axis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 515 (3) : 448-454.
- [23] Tikun ML, Liesch JB, Robertson FM. Production of hydrogen peroxide by rabbit articular chondrocytes. Enhancement by cytokines [J]. J Immunol, 1990, 145 (2) : 690-696.
- [24] Qian L, Han X, Xi L, et al. Inhibition of neuronal ferroptosis protects hemorrhagic brain [J]. JCI Insight, 2017, 2 (7) : e90777.
- [25] Shimada K, Hayano M, Pagano N, et al. Cell-line selectivity improves the predictive power of pharmacogenomic analyses and helps identify NADPH as biomarker for ferroptosis sensitivity [J]. Cell Chem Biol, 2016, 23 : 225-235.
- [26] Wang YS, Yu T, Jin H, et al. Knockdown MiR-302b alleviates LPS-induced injury by targeting Smad3 in C28/I2 chondrocytic cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 45 : 733-743.
- [27] Zhang K, Wu L. miR-9 regulates ferroptosis by targeting glutamic-oxaloacetic transaminase GOT1 in melanoma [J]. Mol Carcinog, 2018, 57 (11) : 1566-1576.
- [28] Contreras J, Rao DS. MicroRNAs in inflammation and immune responses [J]. J Contreras, 2012, 26 (3) : 404-413.
- [29] Bazzoni F, Rossato M, Fabbri M, et al. Induction and regulatory function of miR-9 in human monocytes and neutrophils exposed to proinflammatory signals [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2009, 106 (13) : 5282-5287.
- [30] Hu ZC, Xie ZJ, Tang Q, et al. Hydroxysafflor yellow A (HSYA) targets the NF- κ B and MAPK pathways and ameliorates the development of osteoarthritis [J]. Food Funct, 2018, 9 (8) : 4443-4456.
- [31] Olive V, Jiang I, He L. miR-17-92, a cluster of miRNAs in the midst of the cancer network [J]. Int J Biochemistry & Cell Biology, 2010, 42 (8) : 1348-1354.
- [32] Treguer K, Heinrich EM, Ohtani K, et al. Role of the microRNA-17-92 cluster in the endothelial differentiation of stem cell [J]. J Vascular Research, 2012, 49 (5) : 447-60.
- [33] Xiao FJ, Zhang D, Wu Y, et al. miRNA-17-92 protects endothelial cells from erastin-induced ferroptosis through targeting the A20-ACSL4 axis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 515 (3) : 448-454.

(收稿日期: 2020-05-21; 修回日期: 2020-06-01)