

· 综述 ·

骨内血管作为骨质疏松症治疗靶点的研究进展

桑晓文^{1,2} 詹红生^{2*}

1 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000

2 上海市中医药研究院骨伤科研究所, 上海 201203

中图分类号: R589.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 08-1209-04

摘要: 在哺乳动物体内, 骨形成与骨吸收共同维持骨稳态, 其中骨形成减少和骨吸收增多可导致骨质疏松症的发生。目前临床中用于治疗骨质疏松症的药物多从抑制骨吸收、促进骨形成入手, 但仍存在局限性。骨组织是一种富含血管的结缔组织, 随着血管生物学的深入研究, 目前对骨内血管结构、功能有了更多认识。研究表明血管形成与骨形成偶联调控、骨内血管特殊类型、内皮细胞 Notch 信号通路对维持骨稳态、促骨形成有重要意义, 对骨内血管研究可为骨质疏松症防治提供新的治疗思路和防治靶点。

关键词: 骨内血管; 骨形成; 骨质疏松症

Research progress on intraosseous blood vessels as therapeutic targets for osteoporosis

SANG Xiaowen^{1,2}, ZHAN Hongsheng^{2*}

1. Affiliated Hospital of Shaanxi University of TCM, Xianyang 712000

2. Institute of Traumatology & Orthopedics, Shanghai Academy of TCM, Shanghai 201203

* Corresponding author: ZHAN Hongsheng, Email: 13918449223@139.com

Abstract: Bone formation and bone resorption work together to maintain bone homeostasis in mammals, in which decreased bone formation and increased bone resorption can lead to osteoporosis. At present, the drugs used in the treatment of osteoporosis mostly start from inhibiting bone absorption and promoting bone formation, but there are still many limitations. Bone tissue is a kind of connective tissue rich in blood vessels, with the in-depth study of vascular biology, the structure and function of blood vessels in skeletal have been more understood. Studies have shown that the coupling of angiogenesis and bone formation, the special types of intra osseous vessels, and the Notch signaling pathway of endothelial cells are important for maintaining bone homeostasis and promoting bone formation. The study of the blood vessels in the bone can provide new ideas and targets for the prevention and treatment of osteoporosis.

Key words: bone vessel; bone formation; osteoporosis

骨组织是一种富含血管的结缔组织, 血液供应由小动脉网络提供, 并通过血管新生过程发展^[1]。脉管系统可向骨细胞输送氧气、营养素、激素、神经递质和生长因子等, 并对于骨发育、再生和重塑起到重要作用^[2-3]。随着血管结构生物学发展, 人们对于骨内血管在生理和病理条件下的特点有了更深入了解, 而靶向骨内血管促进新骨形成可能成为治疗骨质疏松症的新治疗靶点。

1 血管及血管新生过程

血管由内层血管内皮细胞、外周壁细胞(包括周细胞和血管平滑肌细胞)组成^[4]。血管新生包括血管发生(vasculogenesis)和血管形成(angiogenesis)两种形式, 前者指从中胚层来源的内皮前体细胞(angiolast 成血管细胞)新形成血管, 而后者指从原始血管床出芽形成新血管^[5]。vasculogenesis 一般发生在胚胎期, 成人体的血管新生大多通过angiogenesis 过程产生^[6]。血管形成过程中, 新形成的小毛细血管由外周壁细胞支持的内皮细胞构成的中空管腔, 并有基底膜和细胞外基质(ECM)包裹^[7]。在成人中, 血管和内皮细胞保持静止状态且

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81473702); 上海市科学技术委员会“科技创新行动计划”生物医药领域产学研合作项目(17DZ920200)

* 通信作者: 詹红生, Email: 13918449223@139.com

很少被激活形成新的分支,而内皮细胞周围的基底膜和周细胞维持内皮细胞稳定的位置,仅在特定刺激如缺氧、炎症状态时,血管形成才启动^[8,9]。首先,周细胞分离,ECM 和基底膜被基质金属蛋白酶(MMPs)降解,这导致血管的不稳定和血管通透性增加。此外,细胞外基质的分解过程释放诸多促血管生成因子和趋化因子,如血管内皮生长因子(VEGF)、纤维细胞生长因子-2(FGF-2)和基质细胞衍生因子-1(SDF-1)^[9]。此类细胞因子可与内皮细胞受体结合,激活内皮细胞,并诱导内皮形成新的出芽分支。此过程需要特定的“尖细胞”(tip cell)和“杆细胞”(stalk cell)在 VEGF/Notch 信号通路调控下完成^[6,10]。内皮细胞形成诸多伪足,来协调细胞迁移方向,而 stalk cell 跟随 tip cell 方向增殖生长,而 stalk cell 通过细胞内囊泡融合和结构排列形成新的管腔^[11],并伴随新的细胞外基质沉积和周细胞的招募,最后形成稳定的血管。如果没有周细胞的附着,血管形成不稳定,并可以被迅速分解退化^[11]。促血管新生因子(VEGF、FGF-2、SDF-1、EGF)与血管抑制因子(thrombospondin、endostatin、angiostatin、angiopoietin-2)在局部微环境中保持动态平衡是维持器官稳态的重要机制,而血管形成功能下降是损伤后修复困难的主要原因之一^[8,12]。

2 骨内血管结构特征

骨组织具有丰富的血管网络,消耗大约 10%~15%的心脏输出,骨内血管的分布可有效地将氧气和营养物质输送至骨髓腔。研究^[1,3,13]表明无论骨骼形态,骨的血管供应大多都来源于来自皮质骨区域的营养动脉,通过骨内纵向的 Haversian 管内动脉和横向的 Volkmann's 管内动脉,与干骺端或骨内膜毛细血管连接,最终完成静脉回流,而骨骺区域动脉血管有其独立动静脉系统。骨内毛细血管的直径通常为 5~10 μm ,并由单层排列的内皮细胞构成,其一般分连续型、孔隙型和血窦型^[14]。连续型毛细血管的网络屏障在体内普遍存在,内皮细胞紧密相连。此类毛细血管的独特结构允许水、小分子和脂溶性材料扩散到周围组织或间质液中,而不会损失循环细胞和血浆蛋白,而较大的分子如葡萄糖和其他营养素通过转胞吞作用通过单层内皮细胞。孔隙型毛细血管具有穿透内皮细胞衬内的隔膜,孔隙存在不仅加速了水的交换,而且还允许溶质通过。血窦型内皮细胞在细胞之间具有间隙,这种特征导致水的自由交换,并为等离子体和间质液之间的大量溶质

如血浆蛋白提供导管。由于在这些器官中需要广泛交换,血流在血窦中减速以延长跨越血窦屏障的外部变化的时间。与此同时,沿着肝脏、脾脏和骨髓血窦分布的吞噬细胞充当着处理和吞噬外源性病原体、受损细胞和碎片的作用^[15]。在骨骼系统内,孔隙型毛细血管和血窦型毛细血管占大多数,且与其他器官毛细血管类型不同,骨内毛细血管不表达 VEGFR3^[16]。

3 骨内血管与促骨形成偶联调控

骨内血管灌注不足与骨折愈合障碍和骨质疏松症密切相关^[17-18]。通过卵巢切除(OVX)骨质疏松症模型发现,骨内血流灌注减少的同时发生骨量下降的比例几乎同步^[19];通过小鼠的活体成像显示,当血流受损伤可导致骨内血管生成和骨形成减少,以及内皮细胞 Notch 信号通路的下调;在老年小鼠中,骨内血流和内皮细胞 Notch 活性也降低,导致血管生成和成骨减少^[3]。研究表明,骨系细胞可以产生血管因子,而内皮细胞同样可以贡献促成骨的细胞因子,在成骨细胞与内皮细胞共培养体系中发现血管生成和骨的矿化作用均得到增强^[20],血管内皮生长因子(VEGF)^[21]、成纤维细胞生长因子 2(FGF-2)^[22]、血小板衍生因子 BB(PDGF-BB)^[23]、缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)^[24]、表皮生长因子 7(EGFL7)^[25]及基质细胞衍生因子 1/趋化因子 4(SDF1/CXCR4)轴^[26]在血管形成和骨形成偶联中发挥重要作用。同样内皮细胞 Notch 信号传导可促进出生后长骨中的内皮细胞增殖和血管生长,Notch 信号传导的破坏不仅损害了骨血管的形态和生长,而且还导致骨生成减少,长骨缩短,软骨细胞缺损,骨小梁减少和骨量减少^[27]。目前研究^[28]发现,骨生长活跃区域如干骺端、骨膜区域具有 CD31⁺/endomysin⁺的 H 亚型血管,其周围有 osterix 阳性骨祖细胞聚集,并与成骨明确相关,而髓腔区域具有 CD31⁻/endomysin⁻的 L 型血管,在结构上 H 型血管在干骺端、骨膜区域呈现柱状排列,而 L 型血管在髓腔内呈现网状结构。通过对骨内微循环的测定,H 型血管内血流流速更高^[3,29],通过测量活体小鼠氧分压(PO_2)得出,在 H 型血管丰富的骨内膜区域的氧分压比 L 型血管分布的髓腔组织高^[30]。此外发现,骨内血管特殊类型 CD31⁺/PDGFR β ⁺阳性血管周围,小动脉形成明显增加,而老年小鼠此类血管明显减少。国内学者^[31]研究发现在老年人群和骨质疏松症人群中 H 型血管数量同样减少,骨内 H 型

血管可能是成人骨量的生物标志物。

4 骨内血管与骨质疏松症治疗

在哺乳动物体内,骨形成与骨吸收共同维持骨稳态,但由于成骨与破骨偶联机制,在抑制骨吸收同时骨形成同样受到抑制^[32]。而近期临床研究证实,对于重度骨质疏松症患者,促骨形成优于抑制骨吸收治疗^[33]。骨形成效应是从根本治疗骨质疏松症的关键所在,而靶向骨内血管促进新骨形成可能成为治疗骨质疏松症新的研究方向^[34]。研究^[35]表明,促骨形成药物特立帕肽在对卵巢切除(OVX)大鼠干预后发现可以提高骨量,同时可促进缺损部分新血管形成。Notch 信号通路是一条在物种进化过程中高度保守的信号通路,该通路在骨质疏松症、骨性关节炎及骨肿瘤等疾病中均有表达,对骨骼系统有重要影响^[36]。Notch 信号通路通过调节内皮生长因子受体 2 (VEGFR2) 影响内皮细胞向尖端细胞(tip cell)与茎细胞(stalk cell)的分化选择,调节血管生成^[37]。通过激活内皮细胞 Notch 信号通路,可以促进出生后长骨中的内皮细胞增殖和血管生长及造血干细胞微环境的扩张^[38];此外,破骨细胞前体细胞分泌的血小板源性生长因子(PDGF-BB)能诱导血管新生及骨形成,利用外源性 PDGF-BB 增加了骨内 H 型血管并刺激骨形成^[23]。小鼠中内皮细胞特异性 ZEB1 的缺失,可损害骨内 H 型血管形成,导致成骨减少,ZEB1 的缺失减少了 Dll4 和 Notch1 启动子上的组蛋白乙酰化,从而抑制 Notch 信号传导^[39]。通过激活 NOTCH 通路可释放蛋白 noggin,外源性 noggin 可以使 Dll4-NOTCH 信号突变小鼠的长骨长度、骨量恢复正常化^[38]。此外,Slit3 可由脉管系统中的内皮细胞和血管平滑肌细胞表达和分泌,并且 Slit3 同源受体 Robo1 和 Robo4 由内皮细胞普遍表达^[40]。体内实验表明,Slit3 敲除小鼠在胚胎发生期间显示出血管生成的破坏,而成骨细胞分泌的 Slit3 可促进 H 型血管形成,并使 H 型血管内皮细胞大量表达其受体 Robo1,小鼠敲除 Slit3 可减少骨内 H 型血管数量,导致低骨量的发生;当给予重组 Slit3 可同时增强骨折愈合和对抗骨质疏松小鼠骨丢失^[41]。

5 展望

随着血管生物学的不断深入,对骨内血管结构、功能有了更多认识。骨内血管不仅为循环系统发挥作用,而且在骨骼系统疾病中也有重要意义。

内皮细胞与骨系细胞互相调控,对于维持骨稳态、促骨形成有重要意义,通过对骨内血管新生、血管形成与骨形成偶联调控、内皮细胞 Notch 信号通路及骨内 H 型血管展开深入的研究,可为骨质疏松症防治提供新的治疗思路和防治靶点。

【参考文献】

- [1] Tomlinson RE, Silva MJ. Skeletal blood flow in bone repair and maintenance[J]. Bone Res, 2013, 1(4): 311-322.
- [2] Stegen S, van Gestel N, Carmeliet G. Bringing new life to damaged bone; the importance of angiogenesis in bone repair and regeneration[J]. Bone, 2015, 70: 19-27.
- [3] Ramasamy SK, Kusumbe AP, Schiller M, et al. Blood flow controls bone vascular function and osteogenesis [J]. Nat Commun, 2016, 7: 13601.
- [4] Armulik A, Genove G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises[J]. Dev Cell, 2011, 21(2): 193-215.
- [5] Herbert SP, Stainier DY. Molecular control of endothelial cell behaviour during blood vessel morphogenesis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011, 12(9): 551-564.
- [6] Ribatti D, Crivellato E. "Sprouting angiogenesis", a reappraisal [J]. Dev Biol, 2012, 372(2): 157-165.
- [7] Eble JA, Niland S. The extracellular matrix of blood vessels [J]. Curr Pharm Des, 2009, 15(12): 1385-1400.
- [8] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis [J]. Nature, 2011, 473(7347): 298-307.
- [9] Arroyo AG, Iruela-Arispe ML. Extracellular matrix, inflammation, and the angiogenic response [J]. Cardiovasc Res, 2010, 86(2): 226-235.
- [10] Phng LK, Gerhardt H. Angiogenesis: a team effort coordinated by notch [J]. Dev Cell, 2009, 16(2): 196-208.
- [11] Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis [J]. Cell, 2011, 146(6): 873-887.
- [12] Bhadada SV, Goyal BR, Patel MM. Angiogenic targets for potential disorders [J]. Fundam Clin Pharmacol, 2011, 25(1): 29-47.
- [13] Marenzana M, Arnett TR. The key role of the blood supply to bone [J]. Bone Res, 2013, 1(3): 203-215.
- [14] Sivaraj KK, Adams RH. Blood vessel formation and function in bone [J]. Development, 2016, 143(15): 2706-2715.
- [15] Augustin HC, Koh CY. Organotypic vasculature: From descriptive heterogeneity to functional pathophysiology [J]. Science, 2017, 357(6353): 2877-2914.
- [16] Kopp HG, Hooper AT, Vecilla ST, et al. Functional heterogeneity of the bone marrow vascular niche [J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, 1176: 47-54.
- [17] Carano RA, Filvaroff EH. Angiogenesis and bone repair [J]. Drug Discov Today, 2003, 8(21): 980-989.
- [18] Alagiakrishnan K, Juby A, Hanley D, et al. Role of vascular

- factors in osteoporosis[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2003, 58(4): 362-366.
- [19] Leblanc AD, Schneider VS, Evans HJ, et al. Bone mineral loss and recovery after 17 weeks of bed rest[J]. *J Bone Miner Res*, 1990, 5(8): 843-850.
- [20] Shah AR, Wenke JC, Agrawal CM. Manipulation of human primary endothelial cell and osteoblast coculture ratios to augment vasculogenesis and mineralization[J]. *Ann Plast Surg*, 2016, 77(1): 122-128.
- [21] Wang DS, Miura M, Demura H, et al. Anabolic effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on osteoblasts are enhanced by vascular endothelial growth factor produced by osteoblasts and by growth factors produced by endothelial cells[J]. *Endocrinology*, 1997, 138(7): 2953-2962.
- [22] Ornitz DM, Marie PJ. Fibroblast growth factor signaling in skeletal development and disease[J]. *Genes Dev*, 2015, 29(14): 1463-1486.
- [23] 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.
- [24] Schipani E, Maes C, Carmeliet G, et al. Regulation of osteogenesis-angiogenesis coupling by HIFs and VEGF[J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(8): 1347-1353.
- [25] Chim SM, Kuek V, Chow ST, et al. EGFL7 is expressed in bone microenvironment and promotes angiogenesis via ERK, STAT3, and integrin signaling cascades[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(1): 82-94.
- [26] Kawakami Y, Ii M, Matsumoto T, et al. SDF-1/CXCR4 axis in Tie2 - lineage cells including endothelial progenitor cells contributes to bone fracture healing[J]. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(1): 95-105.
- [27] Ramasamy SK, Kusumbe AP, Wang L, et al. Endothelial Notch activity promotes angiogenesis and osteogenesis in bone[J]. *Nature*, 2014, 507(7492): 376-380.
- [28] Kusumbe AP, Ramasamy SK, Adams R H. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone[J]. *Nature*, 2014, 507(7492): 323-328.
- [29] Itkin T, Gur-Cohen S, Spencer JA, et al. Distinct bone marrow blood vessels differentially regulate haematopoiesis[J]. *Nature*, 2016, 532(7599): 323-328.
- [30] Spencer JA, Ferraro F, Roussakis E, et al. Direct measurement of local oxygen concentration in the bone marrow of live animals[J]. *Nature*, 2014, 508(7495): 269-273.
- [31] Wang L, Zhou F, Zhang P, et al. Human type H vessels are a sensitive biomarker of bone mass[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(5): e2760.
- [32] Gennari L, Merlotti D, Falchetti A, et al. Emerging therapeutic targets for osteoporosis[J]. *Expert opinion on therapeutic targets*, 2020, 24(2): 115-130.
- [33] Lewiecki EM, Dinavahi RV, Lazaretti-Castro M, et al. One year of romosozumab followed by two years of denosumab maintains fracture risk reductions: results of the FRAME extension study[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2019, 34(3): 419-428.
- [34] Park YE, Musson DS, Naot D, et al. Cell-cell communication in bone development and whole-body homeostasis and pharmacological avenues for bone disorders[J]. *Current Opinion in Pharmacology*, 2017, 34: 21-35.
- [35] Xie Z, Weng S, Li H, et al. Teriparatide promotes healing of critical size femur defect through accelerating angiogenesis and degradation of beta-TCP in OVX osteoporotic rat model[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 960-967.
- [36] Zieba JT, Chen YT, Lee BH, et al. Notch signaling in skeletal development, homeostasis and pathogenesis[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 332-350.
- [37] Zhang SY, Kim JY, Xu SW, et al. Endothelial-specific YY1 governs sprouting angiogenesis through directly interacting with RBPJ[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(9): 4792-4801.
- [38] Kusumbe AP, Ramasamy SK, Itkin T, et al. Age-dependent modulation of vascular niches for haematopoietic stem cells[J]. *Nature*, 2016, 532(7599): 380-384.
- [39] Fu R, Lv WC, Xu Y, et al. Endothelial ZEB1 promotes angiogenesis-dependent bone formation and reverses osteoporosis[J]. *Nature communications*, 2020, 11(1): 460.
- [40] Zhang B, Dietrich UM, Geng JC, et al. Repulsive axon guidance molecule Slit3 is a novel angiogenic factor[J]. *Blood*, 2009, 114(19): 4300-4309.
- [41] Xu R, Yallowitz A, Qin A, et al. Targeting skeletal endothelium to ameliorate bone loss[J]. *Nature medicine*, 2018, 24(6): 823-833.

(收稿日期: 2020-08-04; 修回日期: 2020-10-21)