

文章编号: 1004-7220(2024)04-0775-08

# 力学刺激在破骨细胞分化中的作用

王 涵, 于志锋

(上海交通大学医学院附属第九人民医院 骨科, 上海市骨科内植物重点实验室, 上海 200011)

**摘要:** 骨组织细胞主要有成骨细胞、破骨细胞、骨细胞 3 种类型, 与细胞外基质共同维持骨的结构完整性和功能性。破骨细胞专门负责骨吸收, 通过释放酸性物质和蛋白水解酶降解骨基质, 发挥骨吸收作用; 通过与成骨细胞相互协调, 共同维持骨稳态。破骨细胞增多, 导致骨吸收增加, 从而引起骨质疏松症等骨骼疾病; 破骨细胞生成过少, 将导致骨吸收减弱等相关疾病, 例如骨硬化症。因此, 对于破骨细胞功能的精确调控, 在维持骨稳态的平衡中发挥极为关键的作用。既往研究多从生物化学角度解释和阐述各种生物因素对破骨细胞的调控。然而越来越多的研究证实, 力学刺激在破骨细胞分化过程中发挥着重要的作用。本文着眼于力学刺激对破骨细胞分化的影响, 讨论力学刺激在其中可能发挥的作用, 并对该领域的新发现以及未来的发展进行探讨。

**关键词:** 破骨细胞; 力学刺激; 骨吸收; 骨重建

**中图分类号:** R 318.01 **文献标志码:** A

**DOI:** 10.16156/j.1004-7220.2024.04.030

## Role of Mechanical Stimulation in Osteoclast Differentiation

WANG Han, YU Zhifeng

(Shanghai Key Laboratory of Orthopedic Implants, Department of Orthopedic Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China)

**Abstract:** The main types of bone tissue cells include osteoblasts, osteoclasts, and osteocytes, which work together with the extracellular matrix to maintain the structural integrity and functionality of the bone. Osteoclasts are specifically responsible for bone resorption, degrading the bone matrix through the release of acidic substances and proteolytic enzymes. Osteoclasts coordinate with osteoblasts to maintain bone homeostasis. An increased number of osteoclasts leads to an increased bone resorption, which can cause osteoporosis and other skeletal diseases; deficiency in osteoclast generation can lead to a weakened bone resorption and related diseases, such as osteopetrosis. Therefore, a precise regulation of osteoclast function plays a crucial role in maintaining the balance of bone homeostasis. Previous studies have mostly explained and elaborated on the regulation of osteoclasts by various biological factors from a bio-chemical perspective. However, more and more studies have confirmed that mechanical stimulation plays an important role in the differentiation process of osteoclasts. This review focuses on the impact of mechanical stimulation on osteoclast differentiation, discusses the possible roles it may play, and explores the new discoveries and future development in this field.

**Key words:** osteoclasts; mechanical stimulation; bone resorption; bone remodeling

收稿日期: 2024-07-01; 修回日期: 2024-07-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (12372308, 12172223)

通信作者: 于志锋, 研究员, E-mail: zfyu@outlook.com

骨骼通过持续不断的骨重建或骨改建来维持骨结构的稳定。破骨细胞(osteoclast, OC)是参与其中的重要细胞,通过分泌酸与降解酶完成对基质的降解与吸收,与成骨细胞(osteoblast, OB)协同维持骨结构的动态平衡。

OC 来源于骨髓造血系统,一般由单核巨噬细胞前体细胞分化成熟融合而形成多核细胞。OC 的分化成熟需要依赖两个关键 OC 分化因子:巨噬细胞刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)和核因子  $\kappa$ B NF- $\kappa$ B 受体(receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)的配体(RANKL),在两种关键因子共同调控下,骨髓单核巨噬细胞逐渐转变成独特的具有多核形态的 OC。OC 具有独特的细胞骨架结构——肌动蛋白环,可以形成一个独特的功能膜域——褶皱膜,同时依赖  $\alpha$ v $\beta$ 3 整合素附着在骨基质上,分泌蛋白酶与酸,发挥骨吸收的作用<sup>[1]</sup>。在体内,骨骼受到的力学载荷包括流体剪切力、静水压力、牵张应力、压缩应力等多种力学刺激<sup>[2]</sup>。OC 处于力学刺激活跃的骨骼环境中,除了各种破骨分化调控因子的调节,不同水平的力学刺激能够在不同程度上影响 OC 增殖、分化与功能。OC 力学刺激在 OC 分化和发挥功能的过程中非常重要。越来越多的证据表明,在不同的力学条件或模型中,OC 的关键基因或蛋白受到重要调控。不同类型和强度的力学刺激在 OC 分化的不同阶段调节着 OC 生物学功能,维持骨代谢稳态。

## 1 力学刺激影响 OC 分化

目前认为,OC 分化主要是由 RANKL 控制,RANKL 信号转导靶点包括丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)、NF- $\kappa$ B 和活化 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T-cells, NFATc)等。随着研究推进,力学影响 OC 分化的作用逐渐被证实。骨髓来源巨噬细胞(bone marrow-derived macrophages, BMMs)作为 OC 的前体细胞,其分化受到力学微环境的调控,力学刺激能够促进 BMMs 的增殖以及向 OC 的分化<sup>[3]</sup>。OC 前体细胞开始表达特定的 OC 标志物,如抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP),对力学刺激更为敏感,力学刺激可调节 OC 前体细胞的进一步成熟,并对其迁移产生影响。在 OC 前

体细胞融合为多核 OC 后,力学刺激能够调节 OC 活性,从而影响骨吸收功能<sup>[4]</sup>。

在不同类型及不同强度的力学刺激下,OC 的力学响应也不相同。在骨骼环境中,流体剪切力是最为直接的对细胞的力学刺激。外在的力学刺激引起骨骼组织形变导致间质液体受压沿梯度运动,处于流体环境中的 OC 受到不同程度的流体剪切力,一定的流体剪切力对破骨分化具有抑制作用<sup>[5]</sup>。体外实验证明,流体剪切力能够通过细胞外信号调节激酶 5(extracellular regulated protein kinases, ERK5)信号通路抑制 OC 分化,该影响具有时间和剂量依赖性。随着流体剪切力持续时间的延长,OC 出现体积增大、折射率增强和透射率降低,在剪切力超过一定时间和阈值后,OC 内 V 型质子 ATP 酶催化亚基 A(V-type proton ATPase catalytic subunit A, ATP6V1A)和 T 细胞免疫调节剂 1(T cell immune regulator 1, TCIRG1)基因表达发生显著降低,抑制 OC 的活化<sup>[6]</sup>。因此,通常认为力学刺激能够直接抑制 OC 的分化,去除力学刺激有利于 OC 的形成与功能。然而有研究表明,微重力环境下 OC 生成相关的信号分子 ERK、p38 和 NFATc1 被激活,RANKL 在失重环境下刺激细胞后 OC 活性明显增强,同时伴随着 OC 标记基因 TRAP 和组织蛋白酶(cathepsin K, CTSK)的上调<sup>[7]</sup>。因此,不同的力学刺激在 OC 分化的不同阶段可能发挥着不同的作用。研究表明,持续性的高强度、高频率的力学刺激能够抑制 OC 活化,而间歇性的低强度中频率刺激能够促进 OC 的活化和功能<sup>[8]</sup>。这种作用具有一定的时间和剂量的依赖性,需要多种力学转导通路的参与,是一种精密复杂的调控<sup>[9]</sup>。以上研究表明,力学刺激的大小、持续时间和频率之间存在相互影响,共同决定了 OC 的最终响应,然而这三者之间如何协调发挥调控 OC 的机制,仍有待揭示。

## 2 影响 OC 分化的力学信号感受器

细胞通过感受器感受外部环境的力学刺激变化。细胞通过膜表面力学感受器与细胞外基质(extracellular matrix, ECM),或细胞与细胞间发生相互作用,单一力学刺激感受器可介导某种特定的细胞反应,同一力学刺激也可能需要多种力感受器的参与,最终通过紧密相扣的力学转导影响细胞功

能。与 OC 细胞分化有关的力学感受器主要包括整合素,连接蛋白和相关离子通道。

## 2.1 整合素

整合素是广泛存在于细胞中的一种跨膜受体,是介导细胞-ECM 和细胞-细胞间黏附的主要力敏感受体。整合素通过  $\beta$  胞质尾部结合附属蛋白,与肌动蛋白丝连接,将 ECM 和细胞内骨架连接起来,介导细胞内、细胞间以及与 ECM 的相互作用,在力学信号传导过程中发挥关键作用<sup>[10]</sup>。整合素对于 OC 识别、附着到骨基质以及随后的骨吸收非常重要。OC 通过整合素调节胞内骨架,帮助其运动至骨基质表面并附着于其表面,整合素的缺失会导致 OC 伪足小体结构的减少,丧失附着骨基质的能力。研究发现,OC 前体存在  $\alpha 9\beta 1$  整合素,敲除该基因的小鼠 OC 出现了肌动蛋白环重组障碍,OC 形成减少和骨吸收能力受损<sup>[11]</sup>。小鼠中  $\beta 3$  整合素基因的缺失导致小鼠的骨量增加,组织学和影像学上出现明显的骨硬化,证明了 OC 吸收功能的缺陷<sup>[12]</sup>。同样,在给予大鼠整合素  $\beta 3$  亚基单克隆抗体后,能够有效抑制其 OC 介导的骨吸收作用。力学刺激通过整合素传导力学信号,调节破骨功能。研究发现基质刚度的增加抑制了整合素  $\beta 3$  相关的机械传导,促进 OC 的发生<sup>[13]</sup>。在药理性阻断整合素的作用后,OC 分化和吸收功能均受到明显的抑制。Tablysin-15 能够在不影响细胞通透性的情况下,与整合素  $\alpha v\beta 3$  结合,抑制 RANKL 诱导的 OC 生成和 F-actin 环形成,从而抑制骨吸收作用<sup>[14]</sup>。西仑吉肽可以通过阻断整合素介导的 FAK/Src 信号通路抑制 OC 黏附,减少骨吸收<sup>[15]</sup>。这些证据证明了整合素在 OC 发挥功能的过程中必不可少,为骨代谢疾病药物治疗的临床应用提供了靶点。

在细胞外力学信号传入后,整合素通过多个下游效应器发出信号,包括整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK),同时能够与各种信号分子结合,通过几种信号级联相互作用,调节 OC 肌动蛋白环和细胞骨架的形成,从而影响 OC 的分化与功能<sup>[16]</sup>。力学刺激能够激活整合素结合黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK),上调其磷酸化水平,使其结合并激活下游 Src-家族激酶分子。其下游是 Ras 同族体基因家族成员 A (Ras homolog family member A, RhoA) 介导的信号通路,通过该信号通

路可以调控 OC 骨架的形成、重构及解离等动力学过程,从而调节 OC 分化进程。OC 在缺失 ILK 后,其分化并未受到影响,但 OC 吸收功能明显受到了抑制<sup>[17]</sup>,表明整合素对 OC 的调节可能有多种调节机制的参与。总之,由于多种信号通路的参与,整合素对于 OC 的调节具有多样性,可能通过激活不同的下游效应分子,发挥不同的调控作用(见图 1)。由于力学刺激和生化信号的复杂性,力学刺激与生化信号偶联的生物学过程仍有待进一步揭示。

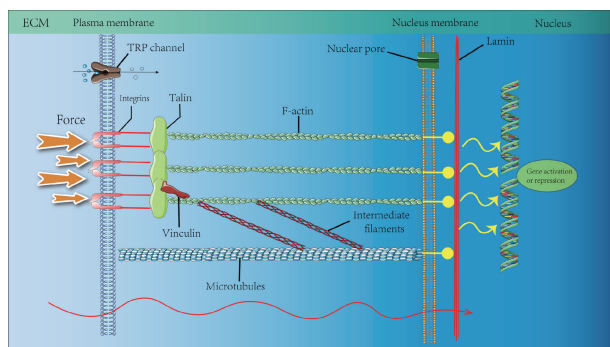


图 1 整合素参与的力学传导示意图

Fig. 1 Diagram of integrin-associated mechanotransduction

## 2.2 连接蛋白

细胞连接蛋白是一种细胞间信息传导的通道,介导细胞与相邻细胞或与胞外环境的相互沟通发挥生物学效应。在 OC 中以连接蛋白 43 (connexin43, Cx43) 分布最为丰富。研究发现 Cx43 介导 OC 分化过程中细胞间的通讯,主要在单核细胞向多核 OC 分化的融合过程中发挥关键作用。Cx43 被抑制后,OC 的活性降低。在后肢悬吊模型中,Cx43 缺失能够降低小鼠体内的 OC 数量,表明 Cx43 缺失可以抑制 OC 活性从而抑制骨吸收<sup>[18]</sup>。然而 Cx43 对于 OC 的影响仍存在着一定的争议。Buo 等<sup>[19]</sup>研究发现,在 Cx43 基因敲除小鼠中,股骨皮质骨内表面的 OC 数量增加了近 3 倍,导致皮质骨内膜骨吸收增加。Cx43 的缺失促使骨细胞释放促破骨生成的细胞因子,并且能够通过 Cx43/miR21/HMGB1/RANKL 轴调控 OC 生成<sup>[20]</sup>。同样,OC 中  $\alpha 5$  整合素的缺失能够阻碍机械力诱导的 Cx43 半通道开放,导致 PGE2 的产生和释放,促进 OC 的活化<sup>[21]</sup>。两种对于 Cx43 调节 OC 效应的不同观点可能是由于骨细胞与成骨细胞对于 OC 的串扰作用导致,骨细胞与成骨细胞对 OC 的调节同样

依赖于 Cx43 的作用,这可能对 OC 的分化的过程产生影响<sup>[22]</sup>。

连接蛋白 37 (connexin37, Cx37) 是连接蛋白家族的另一个成员。Pacheco-Costa 等<sup>[23]</sup> 研究认为, Cx37 是 OC 分化和融合所必需的, OC 中 Cx37 的缺失会导致 OC 成熟停滞和骨量增高, 并且体内 Cx43 并不能补偿这一作用。该研究结果提示, 连接蛋白家族的不同成员可能在 OC 分化中的作用不同, 不同连接蛋白家族亚型在 OC 中的具体作用有待进一步研究。

### 2.3 离子通道

目前发现了多种离子通道负责感受外界的力学刺激。瞬时受体电位 (transient receptor potential ion channel family, TRP) 家族成员是 OC 的一个重要的  $\text{Ca}^{2+}$  流入通道。TRP 通道几乎在所有细胞都有表达, 并发挥不同功能以维持细胞稳态。RANKL 可激活瞬时受体电位离子通道 V 亚家族成员 2 (transient receptor potential cation channel subfamily V member 2, TRPV2)、瞬时受体电位离子通道 V 亚家族成员 4 (transient receptor potential cation channel subfamily V member 4, TRPV4) 和瞬时受体电位离子通道 V 亚家族成员 5 (transient receptor potential cation channel subfamily V member 5, TRPV5), 从而促进细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  流入 OC。在这些通道中, TRPV2 在 OC 分化早期发挥着重要的调节作用, RANKL 能够显著上调 OC 前体细胞中 TRPV2 的表达, 并诱发  $\text{Ca}^{2+}$  振荡和瞬态内向阳离子电流, 随后激活 NFATc1 诱导 OC 生成<sup>[24]</sup>。TRPV4 在 OC 分化后期介导  $\text{Ca}^{2+}$  流入, 主要在 OC 分化晚期发挥调节作用。在流体剪切力刺激下, OC 内阻断 TRPV4 导致胞内  $\text{Ca}^{2+}$  振荡减少, 证实 TRPV4 作为 OC 分化晚期的力学敏感离子通道发挥调节  $\text{Ca}^{2+}$  的作用<sup>[25]</sup>。而 TRPV5 主要调节 OC 的吸收功能, 尽管 TRPV5 缺失导致 OC 数量增多, 但 OC 的吸收功能丧失。同时 TRPV5 介导的  $\text{Ca}^{2+}$  流入参与了雌激素抑制的 OC 生成和骨吸收过程<sup>[26]</sup>。这些证据表明,  $\text{Ca}^{2+}$  对于 OC 的生物学行为非常重要<sup>[27]</sup>, TRP 家族通过介导细胞内外  $\text{Ca}^{2+}$  平衡影响 OC 的分化过程, 流体剪切力诱导的单核细胞和 OC 的定向迁移受到钙信号通路的调控<sup>[28]</sup>。除了  $\text{Ca}^{2+}$ , OC 内氯离子水平对于 OC 发挥吸收功能也非常重要。研究发现, 氯离子通道

Anoctamin 1 与 RANK 相互作用, 共同促进 RANKL 诱导的下游信号通路, 促进 OC 的吸收<sup>[29]</sup>。这些证据表明, 不同离子通道, 尤其是  $\text{Ca}^{2+}$  通道, 对于 OC 的分化成熟、骨吸收等诸多方面发挥着至关重要的作用。

Piezo 作为力学传感器, 负责将感受到的细胞外力学刺激转化为生化信号, 随后电化学信号会引起细胞内下游信号传导变化。Piezo1 可选择性地传导  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  等阳离子, 但是对  $\text{Ca}^{2+}$  具有相对的特异性。相反, Piezo2 具有非选择性阳离子传导的特性<sup>[30]</sup>。目前, Piezo1 在 OC 中是否发挥生物学作用尚缺乏直接证据, 在 OC 中敲除 Piezo1 后, 并不能影响 OC 的功能, 与对照组小鼠相比, OC 中 Piezo1 缺乏的小鼠的骨吸收和骨量基本没有变化<sup>[31]</sup>。同样, Piezo2 在 OC 中的作用尚不明确。目前主要认为, Piezo 对骨吸收的影响主要通过骨细胞和成骨细胞与 OC 间串扰发挥作用<sup>[32]</sup>。

## 3 力学刺激影响 OC 分化的力学信号转导通路

力学刺激能够引导细胞对周围环境做出反应从而促进细胞适应环境变化, 通过力学信号转导变为控制细胞生长、分化、凋亡和迁移的生化信号, 最终实现对细胞命运的调控。尽管几乎所有的信号通路都可以被力学刺激激活或抑制, 但是只有部分力学信号转导通路在细胞内发挥着更为重要的作用。

### 3.1 细胞骨架网络

细胞骨架包括细胞核骨架、细胞质骨架、细胞膜骨架和 ECM 形成的纤维网络, 构成了基本的细胞形态, 并成为力学信号传导的通道。在动物细胞中, 细胞骨架主要由 3 个丝状的亚结构构成, 包括微管、肌动蛋白丝和中间丝。施加在细胞的力学刺激会在胞内单个丝状蛋白结构的尺度上引起各种局部的变化, 包括弯曲、拉伸和扭转。这些力学因素可以改变微丝与肌动蛋白结合蛋白的相互作用, 调节它们的动力学。因此, 细胞骨架网络是力学信号传导的重要媒介。OC 附着于骨表面展现了一种独特极化的能力, 形成“皱褶”的特殊结构, 同时, 形成一个富含丝状肌动蛋白的封闭区域, 这种复杂的内褶和封闭区是 OC 发挥吸收功能的重要途

径<sup>[1]</sup>。除了 F-actin 外,这些结构中还含有 vinculin、talin 和  $\alpha$ -actinin 等蛋白,它们将基质与细胞骨架联系起来。这些证据提示,力学刺激可能在 OC 分化和发挥功能过程中的重要作用。

微丝主要由肌动蛋白亚单位组成,肌动蛋白聚集形成螺旋状结构,是细胞骨架的重要成员,与其结合蛋白以及肌球蛋白三者共同构成细胞骨架力学传导系统。当受到外力或内力时,肌球蛋白可引导肌动蛋白丝的组装模式,根据环境条件通过调节蛋白丝的滑动、重新排列或者分解,使肌动蛋白网络变硬或变软,以平衡胞内结构的力学改变,以及在面对外界力学刺激时保持细胞整体细胞结构的稳定。研究发现,在一定的应力条件下,细胞膜上瞬时受体电位阳离子通道 C 亚家族成员 6 (transient receptor potential cation channel subfamily C member 6, TRPC6) 通过调节胞内肌动蛋白骨架,降低了 OC 抗压能力以及迁移能力,进而导致其 OC 的分化减少<sup>[33]</sup>。低分子型钙调素 (low molecular weight form caldesmon, l-CaD) 能够促进 OC 肌动蛋白环结构形成,改变了细胞铺展和细胞表面粘附力的力学特性,从而促进 OC 生成中融合成多核细胞的过程<sup>[34]</sup>。通过原子力显微镜 (atomic force microscope, AFM) 发现,单核细胞在向巨噬细胞分化过程中,细胞体积和表面积急剧增加,分化后的细胞出现永久性的刚度增加和弹性降低,提示在 OC 分化成熟的过程中,肌动蛋白骨架可能出现了永久性的重排。同时,ECM 刚度下降、黏滞度增高可以阻碍 OC 肌动蛋白环形成,阻碍 OC 的分化<sup>[35]</sup>。这些证据表明,肌动蛋白骨架在 OC 内承担着力学传导的功能,并对其分化过程产生不可或缺的调节作用。微管是由微管蛋白以二聚体的形式连接形成特殊的中孔管状结构,参与细胞骨架的构成。在 OC 中,微管主要参与了 OC 骨吸收过程中的极化和转运,维持 OC 伪足小体和封闭区域的吸收结构。研究发现,微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein light chain 3, LC3) 通过降低细胞分裂周期蛋白 42 (cell division cycle 42, CDC42) 抑制肌动蛋白环形成,同时抑制组织蛋白酶 K 释放和 OC 随后的骨吸收能力<sup>[36]</sup>。非常规肌球蛋白 X (myosin X, Myo10) 能够通过结合微管促进伪足小体和封闭区的形成,促进 OC 的吸收。两种保守的

卡西塔斯 B 淋巴瘤家族蛋白 c-Cbl 和 Cbl-b 蛋白能够通过稳定微管促进 OC 形成伪足体,并且促进 OC 存活,进而促进骨吸收功能<sup>[37]</sup>。这些证据证实微管对于 OC 吸收功能不可或缺,然而这些精细的骨架结构空间排列的调节机制仍不明确。

### 3.2 YAP/TAZ 信号通路

Hippo 通路由丝氨酸-苏氨酸激酶级联组成,最终形成转录辅激活剂 Yes 相关蛋白 (Yes1 associated transcriptional regulator, YAP) 和带有 PDZ 结合基序的转录共激活因子 (transcriptional coactivator with a PDZ-binding domain, TAZ)。这一过程涉及 Ras 关联域家族成员 2 (Ras association domain family member 2, RASSF2)、Moesin-Ezrin-Radixin 样肿瘤抑制因子 (Moesin-Ezrin-Radixin like tumor suppressor, NF2)、哺乳动物 STE20 样蛋白激酶 1/2 (mammalian STE20-like protein kinases 1/2, MST1/2)、萨尔瓦多家族含 WW 域蛋白 1 (Salvador family WW domain containing protein 1, SAV1)、大肿瘤抑制激酶 1/2 (large tumor suppressor kinase 1/2, LATS1/2)、MOB 激酶激活因子 1 (Mps one binder kinase activator-like 1, MOB1)、YAP 和 TAZ 等众多关键调控分子。当 Hippo 信号开启时, MST1-MST2-SAV1 复合物磷酸化 LATS1-LATS2-MOB1A-MOB1B 复合物,后者随后磷酸化 YAP/TAZ 并使其失活。YAP/TAZ 被磷酸化后,它们就会被定位于细胞质中被降解。当 Hippo 信号减弱时,未磷酸化的 YAP/TAZ 就会在细胞核中聚集,通过 DNA 结合转录因子转录增强关联结构域 (transcriptional enhanced associate domain, TEAD) 家族诱导靶基因的转录<sup>[38]</sup>。

研究证实, YAP1 在 OC 分化过程中必不可少,缺乏 YAP1 阻碍了多核 OC 的形成和功能,并且显著降低 OC 相关基因的表达。YAP1/TEADs 能够通过 AP-1 相互作用,调节 AP-1 转录活性,促进 OC 相关基因的表达。Mst2 在 Hippo 通路中起着核心作用, Mst2 缺陷小鼠表现骨质疏松表型, OC 数量增加, OC 相关基因 Nfatc1、TRAP 表达增高 (见图 2)。目前认为,力学信号能够调节 YAP/TAZ 在细胞核内的定位,从而调节基因表达,影响 OC 命运。加载机械应力条件下,腰椎软骨细胞可以释放趋化细胞因子配体 3 (chemotactic cytokine ligand 3, CCL3) 通过 Hippo 信号通路招募并激活 OC 分化<sup>[39]</sup>。然而,

也有研究提出不同的看法。研究人员利用水凝胶模拟生理骨骼微环境发现,基质硬度增加后会抑制整合素  $\beta 3$  介导的 RhoA-ROCK2-YAP 相关的力学转导,促进 OC 的生成,提示 YAP 活性的增加不利于 OC 的分化<sup>[13]</sup>,这可能是由于力学环境的不同导致。因此,YAP 在 OC 中的作用可能依赖力学环境的不同,其与 OC 分化之间的联系仍然有待进一步研究。

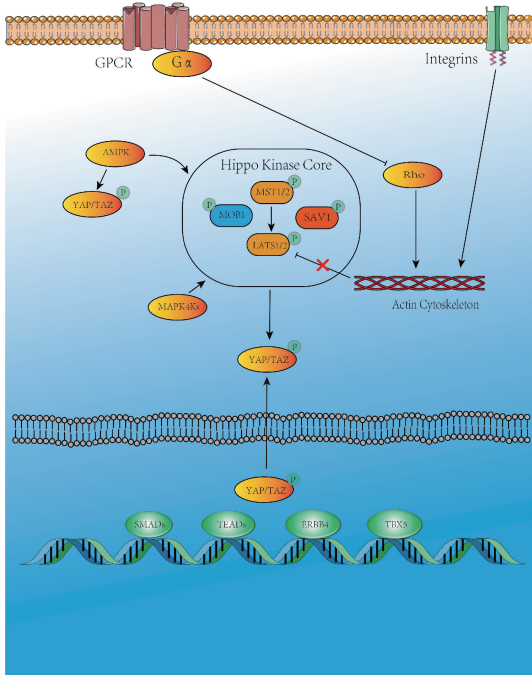


图2 YAP 信号通路示意图

Fig. 2 Diagram of the YAP signaling pathway

### 3.3 MAPK 信号通路

目前认为,力学刺激在各种细胞几乎都能激活各种不同的激酶触发细胞内的级联反应。MAPK 是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,p38 激酶(p38 MAPK) 是丝氨酸/苏氨酸激酶 MAPK 家族中的脯氨酸定向丝氨酸/苏氨酸激酶,p38 通常由细胞内或细胞外的力学刺激激活,MAPK/p38 通路的激活对细胞的分化、增殖和存活至关重要。

力学刺激可触发不同细胞类型中的 p38 激活,以识别周围环境信息,同时可以驱动从细胞增殖和分化到细胞死亡的多种细胞反应。施加于细胞的力能够通过激活 Rho 相关激酶(Rho-associated kinase,ROCK)和 p38,导致肿瘤蛋白 p53 进一步升高,从而导致细胞死亡。在巨噬细胞内敲除 Erk1 导

致巨噬细胞的迁移能力降低了 200%~300%,同时整合素  $\alpha v\beta 3$  介导的黏附能力降低了 200%,证明 Erk1 能积极调节巨噬细胞向 OC 的分化<sup>[40]</sup>。力学刺激通过降低细胞中配体 RANKL 的表达来抑制 OC 的形成,该过程需要 ERK1/2 的激活。研究发现,在 OC 生成的早期阶段,MAPK/p38 上游成分转化生长因子- $\beta$  激活激酶 1(transforming growth factor- $\beta$  activated kinase 1,TAK1)、丝裂原活化蛋白激酶 3(mitogen-activated protein kinase 3,MKK3)、丝裂原活化蛋白激酶 6(mitogen-activated protein kinase 6,MKK6)在 OC 中增加,从而导致 MAPK/p38 激活增强,提示 MKK6 和 MKK3 在骨髓前体 OC 生成中发挥着重要作用<sup>[41]</sup>。相反,抑制 MAPK 可以抑制 OC 的形成。Ugonin L 能够通过抑制 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 通路抑制 OC 形成并促进 OC 凋亡<sup>[42]</sup>。上述研究证实了 MAPK/p38 在 OC 分化中的重要作用。

## 4 总结与展望

自 1892 年 Wolff 教授提出骨结构与施加在骨骼上的力相适应的理论以来,力与骨结构之间的关系一直是研究关注的热点。尤其是太空飞行期间,宇航员由于骨吸收增加导致骨骼中钙和矿物质的流失,骨量出现明显的降低主要与骨吸收增加有关,而骨形成变化不大<sup>[43]</sup>。因此,这种骨代谢的紊乱和骨量变化提示着力学刺激对于 OC 的重要调节作用,OC 可能通过直接感知力学刺激或接受成骨细胞或骨细胞的信号来调节骨量。然而,力学传导调节 OC 命运背后的机制非常复杂,包括复杂的力学环境影响,OC 分化不同阶段对力学刺激响应的差异,以及受力学刺激的信号传导通路的多样性。

尽管调控机制非常复杂,有关 OC 的研究仍存在一些潜在的科学问题值得研究:

(1) OC 从单核巨噬细胞谱系来源,到向成熟的 OC 分化,再到迁移至骨表面发挥吸收功能的过程是一个多步骤的过程,力学刺激在这一过程中发挥的作用也必然是分阶段的,不同阶段的力学刺激对 OC 的影响应当也存在差异。

(2) 不同的运动方式对骨有不同的影响。锻炼的强度和类型可能会导致不同的结果。适当的运动可以增加骨量,而过度的运动强度会导致应力

性骨折的增加,提示力学刺激对 OC 的调节可能具有一定的时间、频率、幅度的条件差异性,体内体外的研究应当关注 OC 响应力学刺激的空间和时间因素。

(3) 现阶段仍然缺乏合适的研究生物体中力学刺激的研究设备。目前,多数研究采取二维或是三维的体外模拟方式。三维结构支架包括由胶原蛋白、羟基磷灰石基质和合成材料制成的多孔结构,在一定程度上可以模拟生理环境。在动物模型中,力学的加载和卸载可以通过对长骨施压、跑步运动设备和尾部悬吊来实现。然而,这些模型本身并不足以完全体现失重或运动环境下各种组织和细胞从代谢到遗传学或表观遗传学等多个维度的变化,开发更为合适的生物力学研究设备将为研究力学如何调控 OC 命运提供多维度的视野,有利于对 OC 调节骨稳态的机制有着更为深入的理解。

**利益冲突声明:**无。

**作者贡献声明:**王涵负责文献收集、整理及论文撰写;于志锋负责论文设计、撰写和修改。

## 参考文献:

- [ 1 ] VEIS DJ, O'BRIEN CA. Osteoclasts, master sculptors of bone [J]. *Ann Rev Pathol*, 2023, 18(1): 257-281.
- [ 2 ] XU J. Mechanotransduction in osteoclasts: Novel strategies of bone repairs [J]. *Mechanobiol Med*, 2023, 1(1): 100008.
- [ 3 ] WANG W, ZHENG X, WANG H, *et al.* Mechanical unloading promotes osteoclastic differentiation and bone resorption by modulating the MSC secretome to favor inflammation [J]. *Cell Transplant*, 2024 ( 33 ): 9636897241236584.
- [ 4 ] QIN YX, ZHAO J. Mechanobiology in cellular, molecular, and tissue adaptation [J]. *Mechanobiol Med*, 2023, 1(2): 100022.
- [ 5 ] WANG S, SUN Q, ZHAO Y, *et al.* Distribution of intracellular calcium during flow-induced migration of RAW264.7 cells [J]. *Mechanobiol Med*, 2024, 2(1): 100012.
- [ 6 ] GUO D, ZHANG Q, LI J, *et al.* Fluid shear stress changes cell morphology and regulates the expression of ATP6V1A and TCIRG1 mRNA in rat osteoclasts [J]. *Mol Med Rep*, 2010, 3(1): 173-178.
- [ 7 ] SAXENA R, PAN G, DOHM ED, *et al.* Modeled microgravity and hindlimb unloading sensitize osteoclast precursors to RANKL-mediated osteoclastogenesis [J]. *J Bone Miner Metabol*, 2011, 29(1): 111-122.
- [ 8 ] FANG B, ZHANG K, ZHANG J, *et al.* Mechanical strain regulates osteoclastogenesis via modulating the PTEN/PI3K/Akt signal pathway through miR-21 [J]. *Cytotechnology*, 2022, 74(1): 65-75.
- [ 9 ] 张玲莉, 赵一龙, 雷乐, 等. 压应力对破骨细胞活化的影响 [J]. *医用生物力学*, 2018, 33(1): 55-61.
- [ 9 ] ZHANG LL, ZHAO YL, LEI L, *et al.* Effects of compressive stress on osteoclast activation [J]. *J Med Biomech*, 2018, 33(1): 55-61.
- [ 10 ] MORENO-LAYSECA P, ICHA J, HAMIDI H, *et al.* Integrin trafficking in cells and tissues [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(2): 122-132.
- [ 11 ] RAO HW, LU GW, KAJIYA H, *et al.* Alpha9beta1: A novel osteoclast integrin that regulates osteoclast formation and function [J]. *J Bone Miner Res*, 2006, 21(10): 1657-1665.
- [ 12 ] MCHUGH KP, HODIVALA-DILKE K, ZHENG MH, *et al.* Mice lacking beta3 integrins are osteosclerotic because of dysfunctional osteoclasts [J]. *J Clin Investig*, 2000, 105(4): 433-440.
- [ 13 ] WANG X, JI L, WANG J, *et al.* Matrix stiffness regulates osteoclast fate through integrin-dependent mechanotransduction [J]. *Bioact Mater*, 2023(27): 138-153.
- [ 14 ] ZENG Q, LU W, DENG Z, *et al.* Tablynin-15 inhibits osteoclastogenesis and LPS-induced bone loss via attenuating the integrin  $\alpha(v)\beta(3)$  pathway [J]. *Chem Biol Interact*, 2020(327): 109179.
- [ 15 ] GUO DY, CHEN ZH, FU YF, *et al.* Cilengitide inhibits osteoclast adhesion through blocking the  $\alpha v \beta 3$ -mediated FAK/Src signaling pathway [J]. *Heliyon*, 2023, 9(7): e17841.
- [ 16 ] KONG L, WANG B, YANG X, *et al.* Integrin-associated molecules and signalling cross talking in osteoclast cytoskeleton regulation [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(6): 3271-3281.
- [ 17 ] DOSSA T, ARABIAN A, WINDLE JJ, *et al.* Osteoclast-specific inactivation of the integrin-linked kinase (ILK) inhibits bone resorption [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 110(4): 960-967.
- [ 18 ] LLOYD SA, LOISELLE AE, ZHANG Y, *et al.* Evidence for the role of connexin 43-mediated intercellular communication in the process of intracortical bone resorption via osteocytic osteolysis [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014(15): 122.
- [ 19 ] BUO AM, TOMLINSON RE, EIDELMAN ER, *et al.* Connexin43 and Runx2 interact to affect cortical bone geometry, skeletal development, and osteoblast and

- osteoclast function [J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(8): 1727-1738.
- [20] DAVIS HM, PACHECO-COSTA R, ATKINSON EG, *et al.* Disruption of the Cx43/miR21 pathway leads to osteocyte apoptosis and increased osteoclastogenesis with aging [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(3): 551-563.
- [21] ZHAO DZ, HUA R, RIQUELME MA, *et al.* Osteocytes regulate bone anabolic response to mechanical loading in male mice via activation of integrin  $\alpha 5$  [J]. *Bone Res*, 2022, 10(1): 49.
- [22] MA L, HUA R, TIAN Y, *et al.* Connexin 43 hemichannels protect bone loss during estrogen deficiency [J]. *Bone Res*, 2019(7): 11.
- [23] PACHECO-COSTA R, HASSAN I, REGINATO RD, *et al.* High bone mass in mice lacking Cx37 because of defective osteoclast differentiation [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(12): 8508-8520.
- [24] KAJIYA H, OKAMOTO F, NEMOTO T, *et al.* RANKL-induced TRPV2 expression regulates osteoclastogenesis via calcium oscillations [J]. *Cell Calcium*, 2010, 48(5): 260-269.
- [25] LI P, BIAN X, LIU C, *et al.* STIM1 and TRPV4 regulate fluid flow-induced calcium oscillation at early and late stages of osteoclast differentiation [J]. *Cell Calcium*, 2018(71): 45-52.
- [26] MASUYAMA R. Role of local vitamin D signaling and cellular calcium transport system in bone homeostasis [J]. *J Bone Miner Metab*, 2014, 32(1): 1-9.
- [27] 胡漫, 李平, 高宇欣, 等. 流体剪切力作用下无间隙连接成骨细胞阵列内的钙响应[J]. *医用生物力学*, 2011, 26(5): 402-427.
- HU M, LI P, GAO YX, *et al.* Calcium response in osteoblastic pattern without gap junction under flow shear stress [J]. *J Med Biomech*, 2011, 26(5): 402-427.
- [28] LIU C, LI S, JI B, *et al.* Flow-induced migration of osteoclasts and regulations of calcium signaling pathways [J]. *Cell Mole Bioeng*, 2015(8): 213-223.
- [29] SUN WJ, GUO S, LI YH, *et al.* Anoctamin 1 controls bone resorption by coupling Cl-channel activation with RANKL-RANK signaling transduction [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 2899.
- [30] COSTE B, MATHUR J, SCHMIDT M, *et al.* Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels [J]. *Science*, 2010, 330(6000): 55-60.
- [31] WANG LJ, YOU XL, LOTINUN S, *et al.* Mechanical sensing protein PIEZO1 regulates bone homeostasis via osteoblast-osteoclast crosstalk [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 282.
- [32] 霍波, 康英永, 胡漫, 等. 成骨细胞力致钙响应和钙传递的研究进展[J]. *医用生物力学*, 2011, 26(4): 382-328.
- HUO B, KANG YY, HU M, *et al.* Advances of mechanical stimulation-induced calcium response and transfer in osteoblasts [J]. *J Med Biomech*, 2011, 26(4): 382-328.
- [33] WANG L, LIANG H, SUN B, *et al.* Role of TRPC6 in periodontal tissue reconstruction mediated by appropriate stress [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 401.
- [34] CHAN CL, CHEN JY, SHIH MC, *et al.* L-caldesmon alters cell spreading and adhesion force in RANKL-induced osteoclasts [J]. *J Biomed Sci*, 2019, 26(1): 12.
- [35] KUO CH, CHEN JY, CHEN CM, *et al.* Effects of varying gelatin coating concentrations on RANKL induced osteoclastogenesis [J]. *Exp Cell Res*, 2021, 400(2): 112509.
- [36] CHUNG YH, YOON SY, CHOI B, *et al.* Microtubule-associated protein light chain 3 regulates Cdc42-dependent actin ring formation in osteoclast [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(6): 989-997.
- [37] MCMICHAEL BK, CHENEY RE, LEE BS. Myosin X regulates sealing zone patterning in osteoclasts through linkage of podosomes and microtubules [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(13): 9506-9615.
- [38] DRISKILL JH, PAN DJ. Control of stem cell renewal and fate by YAP and TAZ [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(12): 895-911.
- [39] LI HW, TANG YC, LIU ZX, *et al.* Lumbar instability remodels cartilage endplate to induce intervertebral disc degeneration by recruiting osteoclasts via Hippo-CCL3 signaling [J]. *Bone Res*, 2024, 12(1): 34.
- [40] HE YZ, STASER K, RHODES SD, *et al.* Erk1 plays critical role in macrophage development [J/OL]. *Blood*, 2011, DOI:10.1182/BLOOD.V118.21.517.
- [41] HUANG H, RYU J, Ha J, *et al.* Osteoclast differentiation requires TAK1 and MKK6 for NFATc1 induction and NF- $\kappa$ B transactivation by RANKL [J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(11): 1879-1891.
- [42] LIU CL, HO TL, FANG SY, *et al.* Ugonin L inhibits osteoclast formation and promotes osteoclast apoptosis by inhibiting the MAPK and NF- $\kappa$ B pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023(166): 115392.
- [43] GARRETT-BAKELMAN FE, DARSHI M, GREEN SJ, *et al.* The NASA twins study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight [J]. *Science*, 2019, 364(6436): eaau8650.