

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2021.07.010

# 基于软骨细胞机械敏感性离子通道力学转导的疼痛机制探讨\*

许博洋<sup>1,2</sup> 李浩然<sup>3</sup> 郭义<sup>3,4,5 Δ</sup>

(<sup>1</sup> 天津中医药大学针灸推拿学院, 天津 301617; <sup>2</sup> 北京大学运动医学研究所, 北京市运动医学关节伤病重点实验室, 北京 100191; <sup>3</sup> 天津中医药大学中医学学院, 天津 301617; <sup>4</sup> 天津中医药大学实验针灸学研究中心, 天津 301617; <sup>5</sup> 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300381)

**摘要** 关节局部慢性疼痛是骨性关节炎 (osteoarthritis, OA) 软骨组织缺损后的核心症状, 严重影响中老年人的生活质量, 但其起源和具体诱发机制尚不清楚。OA 软骨组织一方面存在机械载荷损伤诱导的炎症修复过程, 另一方面伴随着骨赘、毛细血管和周围神经纤维的新生。因此软骨组织可能是有别于滑膜组织的介导 OA 慢性疼痛的另一重要源头。但目前国内外均缺乏系统全面的总结和论述, 机械敏感性离子通道 (mechanically sensitive ion channel, MSC) 所诱导的生物力学疼痛机制是其中一个较为关键的因素。研究 MSC 的生物物理学及神经生物学机制是研发干预 OA 软骨损伤及慢性疼痛的重要前提。本文将主要介绍其中三种钙离子调控的软骨细胞 MSC 的机械转导机制及其级联下游细胞通路介导骨性关节炎疼痛发生发展的分子机制。

**关键词** 机械敏感性离子通道; 软骨细胞; 机械转导; 机械痛敏

骨性关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种慢性滑膜关节疾病, 易累及髌膝关节, 其主要临床症状是关节疼痛、僵硬和功能下降。在这些症状中, 疼痛是生物-心理-社会医学模式所描述下的临床决策最主要的参考因素。主要包括两种疼痛类型 (间歇性逐渐加深以及持续性疼痛)。在 OA 的早期阶段, 功能活动引起的可预见性疼痛发作 (运动痛) 是其明显症状, 而持续的疼痛 (尤其是在夜间) 则常在 OA 的中期阶段发生。患有晚期 OA 的病人会出现更多的夜间持续性疼痛 (静息痛) 表现。疼痛管理不佳将会促使病人不得不进行全关节置换, 增加病人的经济负担。疼痛作为 OA 发生过程中的一种病理主观感受, 具体机制较为复杂。OA 的病理特征是关节软骨的损伤以及伴随性的骨组织异常改变。关节软骨的逐渐丧失将导致关节间隙变窄, 同时发生软骨下骨重塑, 骨赘形成和滑膜炎。软骨细胞的大量凋亡是 OA 各种病理表现的生物学基础。但目前软骨细胞与 OA 慢性疼痛之间的联系较为薄弱, 目前国内外均未见有详细论述。同时 OA 本质上是组织生物力学和生物化学耦合作用的病理结局。关节软骨作为一种机械敏感型组织, 是关节的主要承重部位, 其提供几乎无摩擦的支撑面, 并可以吸收

和传递多种机械应力。有研究证实软骨细胞膜表面存在 MSC 可参与调控多条信号通路, 并可能介导炎症及慢性疼痛过程。然而, 机械信号转导背后的具体机制目前尚不明确, 涉及软骨细胞对机械诱导的合成代谢反应的信号通路也未得到很好地描述。本文将主要探讨软骨细胞 MSC 机械转导过程中疼痛发生发展机制, 以及与软骨细胞生理病理功能的联系, 详细论述机械载荷介导下的软骨细胞和 OA 慢性疼痛之间的联系, 以为骨关节疾病潜在分子靶向镇痛药物的研发提供一定的理论依据。

## 一、介导骨性关节炎疼痛的生物学机制

以人类膝关节为例, 其受到感觉神经 (快速传导的有髓 A $\delta$  纤维、缓慢传导的无髓 C 纤维、粗髓 A $\beta$  纤维) 和交感神经末梢神经纤维的支配, 它们执行诸如伤害感受, 血供调节和本体感受的作用。因此在正常生理条件下, 伤害感受器位于除软骨组织外的整个关节组织中, 包括关节囊、滑膜、脂肪垫、韧带、骨膜和软骨下骨。而发生 OA 后, 在压力和缺氧的条件下包括半月板在内的软骨组织会遭到破坏, 形成缺损并局部新生血管和感觉神经。传统意义上认为, 异常生物力学变化造成关节软骨受损,

\* 基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (81330088); 国家级大学生创新创业训练项目 (201910063002); 大学生科技创新基金项目 (CXJJ2019YC06)

$\Delta$  通信作者 郭义 guoyi\_168@163.com

可经伤害感受器激活 MSC 引起伤害性疼痛。随着 OA 病程的逐渐递进, 其显现出多因素诱发的复合疼痛迹象 (见图 1)。一方面, 软骨细胞的代谢不平衡, 将引起炎症细胞因子和基质降解酶的过量产生, 再加上同化信号转导的下调, 最终导致组织降解、分解代谢增强。同时伴随滑膜炎, 滑膜细胞 (成纤维细胞<sup>[1]</sup>) 和巨噬细胞) 释放大量免疫炎症细胞因子到关节内环境中, 继续侵蚀软骨组织, 造成恶性循环。特定介质可通过直接或间接作用使初级传入神经纤维机械敏感, 发生痛觉过敏。同时软骨缺损后破骨细胞活性也会增强, 加速骨组织分解并造成软骨下骨髓水肿样病变或暴露软骨下骨中的神经于关节内环境中, 各种炎症介质会刺激神经导致外周敏化并产生炎症疼痛<sup>[2]</sup>。甚者在持续的伤害感受袭击下, 可导致脊髓背角中的二级神经元兴奋性增加。这种中枢敏化的过程增强了伤害感受信号, 从而更

加放大了疼痛感。另一方面, 软骨损伤后有很大的概率会造成关节内的神经损伤, 引起躯体感觉系统的病变或异常疼痛, 称为神经病理性疼痛。OA 神经损伤的调控机制目前尚不明确, 可能由软骨细胞 MSC 级联交互转导机制有关。由于具体机制并不明确, 对常见镇痛药并不敏感, 目前临床上大部分采用非局部的全身给药措施干预。所以于机械载荷作用下的软骨细胞, 在介导 OA 的各类型疼痛中均发挥有一定的主导作用, 同时可主动调控或被动反馈来自其他细胞 (如成纤维细胞、破骨细胞、白色脂肪细胞和巨噬细胞) 的病理信号共同调控疼痛过程。

## 二、机械敏感性离子通道

关节软骨特殊的生物力学性质可归因于细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的分子组成和结构。软骨细胞作为软骨组织唯一的细胞类型, 负责 ECM 的生物合成和分解代谢。ECM 主要由胶原纤维网络 (II 型、IX 型、XI 型胶原蛋白交织而成) 和夹带于其中的蛋白聚糖 (proteoglycans, PGs)、糖胺聚糖 (glycosaminoglycans, GAGs) 组成, 可通过截留溶质和水来创造组织刚性, 使软骨组织能够承受较大的机械载荷。机械载荷通过 ECM 引起的物理刺激可产生跨组织的机械压力 (组织压)、静水压力 (液压)、化学和电信号的变化, 从而调节软骨细胞的代谢活动<sup>[3]</sup>。在软骨组织机械转导的过程中, 游离电解质的移动是软骨细胞对物理刺激的反应基础。ECM 中 PGs 和高度硫酸化 GAGs 侧链上的高负固定电荷吸引移动反作用阳离子, 沿 PGs 分布产生唐南效应和动电现象, 即在维持高渗压环境的同时进行带电物质转运和其他电化学反应, 进行生物物理学信号的输出, 引起细胞反应。软骨细胞表面的 MSC 可感受相应离子的变化进行机械转导以及细胞内信号传递的过程。根据机械力的感受机制, 可将 MSC 分为感受膜传递机械力和感受细胞骨架机械力两大类。软骨细胞对细胞外生物物理学信号输入的最早反应之一是细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平的一过性升高, 通常发生在几秒至几分钟内<sup>[4]</sup>。MSC 的渗透性激活引发了  $\text{Ca}^{2+}$  从 ECM 自我强化流入胞质的过程。受刺激激活后的软骨细胞间将通过缝隙连接以钙波的形式使多个细胞构建信号转导网络, 最终维持软骨组织的稳定。目前已明确证实有三种通过调控  $\text{Ca}^{2+}$  感受机械信号的离子通道, 包括电压门控钙离子通道 (voltage-gated calcium channels, VGCC)、瞬时感受器电位通道香草素受体 (transient receptor potential channel vanillin receptor, TRPV) 亚家族和 Piezo 机械敏感性离子通道。

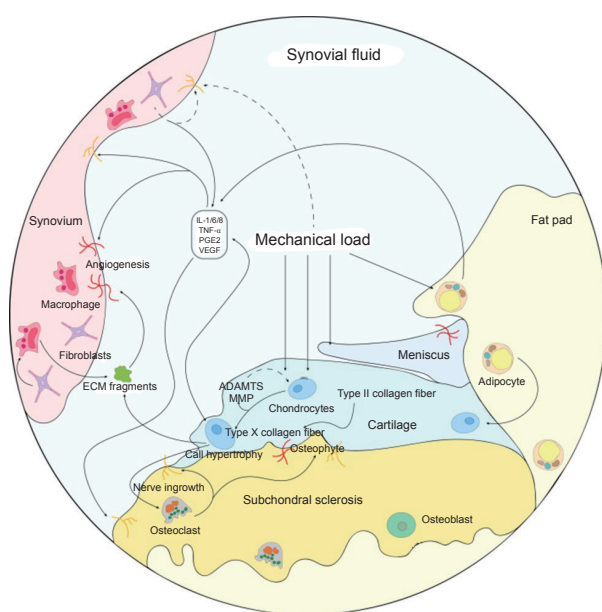


图 1 OA 滑膜关节中的多细胞交互作用

滑液: Synovial fluid; 机械载荷: Mechanical load; 软骨: Cartilage; 软骨下骨: Subchondral sclerosis; 滑膜: Synovium; 脂肪垫: Fat pad; 半月板: Meniscus; 软骨细胞: Chondrocytes; 巨噬细胞: Macrophage; 成纤维细胞: Fibroblasts; 脂肪细胞: Adipocyte; 成骨细胞: Osteoblast; 破骨细胞: Osteoclast; 骨赘: Osteophyte; 胶原纤维: Collagen fiber; 新生血管: Angiogenesis; 神经内生: Nerve ingrowth; 肥大: Hypertrophy; 基质金属蛋白酶: MMP; 解聚蛋白样金属蛋白酶: ADAMTS; 血管内皮生长因子: VEGF; 前列腺素 E2: PGE2; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ : TNF- $\alpha$ ; 白介素: IL; 细胞外基质: ECM

### 1. 电压门控钙离子通道

VGCCs 又称电压依赖性钙通道或电压激动钙离子通道, 是软骨细胞感受外界机械载荷变化的关键通道蛋白之一。根据  $\alpha 1$  亚单位和拮抗剂的种类, 可将其分为 L 型和非 L 型两大类, 非 L 型包含四个亚型: R 型、N 型、P/Q 型和 T 型 (见表 1)。另外值得注意的是, L、N 和 P/Q 型 VGCC 在高电压下被激活, R 型 VGCC 可被中等电压被激活, 而 T 型 VGCC 由于在静息膜电位下被激活而被视为低压激活的通道蛋白。VGCC 介导  $\text{Ca}^{2+}$  流入的功能可受到机械应力等多种细胞内外因素的影响, 目前仅发现 L 型和 T 型 VGCC 在软骨细胞表面表达。随着软骨细胞 ECM 内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高, T 型和 L 型的 VGCC 介导了  $\text{Ca}^{2+}$  大量流入软骨细胞的过程, 引起软骨细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高<sup>[5]</sup>。这种效应是软骨细胞感受 ECM 机械刺激所必经的信号转导途径。其中 T 型分布较多且占主导地位, 软骨细胞极度依赖 T 型 VGCC 介导下的钙离子响应机制。其主要发挥细胞内自发性钙稳态机制的调节作用, 并促进钙波在级联细胞网络中的传播 (见图 2)。在 ECM 的机电转导过程中, 由于流体中的游离阳离子和阴离子不平衡, ECM 的压缩会导致流动电位和扩散电位在组织中同时存在的现象。一方面低电压会介导细胞膜发生去极化, 诱使细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  聚集, 进而激活 T 型 VGCC。另一方面在 L 型 VGCC 受高压激动后, 其  $\alpha 1$  亚基同源结构域中的跨膜  $\alpha$  螺旋胞质内环 S4-S6 积极响应, 使 S4 构象转化为传导状态。此时三者的 P 环可共同形成非对称性的选择滤孔 (离子选择筛) 将仅选择透过  $\text{Ca}^{2+}$ 。S6 和胞质内 S-S 结构域、C 末端共同构成电压依赖性失活的结构基础。因此,

S6 是大多数 L 型 VGCC 的特异性孔道拮抗药物的靶点。VGCCs 也可通过与钙释放激活钙通道耦合形成的蛋白信号受体以及胰岛素样生长因子-1 来参与第二信使  $\text{Ca}^{2+}$  的分泌。同时有研究提示 VGCC 不仅能通过感受膜电位变化的方式而介导  $\text{Ca}^{2+}$  的流入, 其也可以特异性识别细胞骨架传递的机械应力并且响应这种机械信号。广义的细胞骨架包括细胞核骨架、细胞质骨架、细胞膜骨架和 ECM<sup>[6]</sup>。整联蛋白作为联系 ECM 与软骨细胞内应力纤维的重要组成部分, VGCC 可较好的接受其调控, 并与退行性蛋白/上皮钠通道可形成机械感受络合物, 功能共表达于小鼠肢芽衍生的软骨细胞。但目前具体机制尚不明确, 可能与应力变化时启动的丝裂原激活蛋白激酶 (MAPK) 和核因子 NF- $\kappa$ B 途径有关。通过激动应力纤维 (肌动蛋白丝) 的滑动机制产生张力稳定细胞形状, 进一步激活 VGCC。

### 2. 瞬时感受器电位通道香草素受体亚家族

瞬时感受器电位通道 (transient receptor potential channel, TRP) 根据相关蛋白的序列结构可主要分为 7 个亚类: TRPC、TRPV、TRPM、TRPA、TRPN、TRPP 和 TRPML<sup>[7]</sup>。其中部分可受局部的机械载荷的作用下激活开放, 如 TRPV1、TRPV2、TRPV3、TRPV4、TRPM8 和 TRPA1<sup>[8]</sup> 等。作为非选择性阳离子通道, 大多数通道蛋白对于  $\text{Ca}^{2+}$  具有较好的选择通透性<sup>[9]</sup>。但实际上 TRP 的激活潜伏期较第二信使通路要短, 目前除 TRPV4 由  $\text{Ca}^{2+}$  介导以外, 其余的其他通道皆为直接门控通道, 可直接将机械信号转化为可传导的电化学信号。软骨细胞表面也仅表达 TRPV4, 而 TRPV1 则主要分布于关节滑膜或周围神经纤维中。在大多数情况下,  $\text{Ca}^{2+}$

表 1 VGCC 分型

| 超家族    | 分型  | $\alpha 1$ 亚单位    | 拮抗剂                             | 主要定位表达细胞类型                         |
|--------|-----|-------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| 高电压激动  | L   | $\text{Ca}_v 1.1$ | 二氢吡啶 (硝苯地平)                     | 骨骼肌细胞、白色脂肪细胞、软骨细胞、成骨细胞             |
|        |     | $\text{Ca}_v 1.2$ | 苯基烷基胺 (维拉帕米)                    | 心肌细胞、平滑肌细胞、肾脏内分泌细胞、胰岛细胞、神经细胞、软骨细胞  |
|        |     | $\text{Ca}_v 1.3$ |                                 | 神经细胞                               |
|        |     | $\text{Ca}_v 1.4$ | 钙西平 (carbamazepine)             | 视网膜细胞 (感光细胞、双极细胞)                  |
|        | N   | $\text{Ca}_v 2.1$ | $\omega$ -芋螺毒素                  | 神经细胞、心肌细胞、肾脏内分泌细胞                  |
|        | P/Q | $\text{Ca}_v 2.2$ | $\omega$ -agatoxin-IVA (蜘蛛毒提取物) | 神经细胞 (浦肯野细胞/小脑颗粒细胞)、肾脏细胞           |
| 中等电压激动 | R   | $\text{Ca}_v 2.3$ | 肽神经素 SNX-482                    | 神经细胞、心肌细胞、胰岛细胞、精细胞、胃肠道内分泌细胞、嗜中性粒细胞 |
| 低电压激动  | T   | $\text{Ca}_v 3.1$ |                                 |                                    |
|        |     | $\text{Ca}_v 3.2$ | 迄今未发现任何选择特异性抑制剂                 | 癌细胞、神经细胞、心肌细胞、软骨细胞                 |
|        |     | $\text{Ca}_v 3.3$ |                                 |                                    |

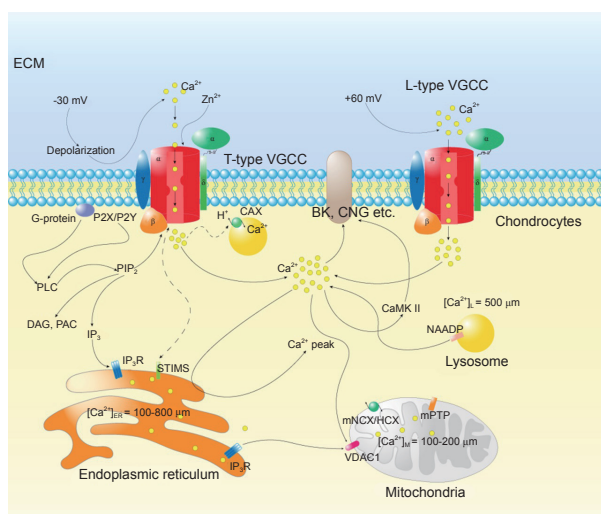


图2 VGCC 机械转导机制

去极化: Depolarization; 溶酶体: Lysosome; 线粒体: Mitochondria; 内质网: Endoplasmic reticulum; 嘌呤能受体: P2X/P2Y; 磷脂酶 C: PLC; 磷脂酰肌醇二磷酸: PIP<sub>2</sub>; 二酰甘油: DAG; 活化磷脂酶 C: PAC; 肌醇三磷酸: IP<sub>3</sub> 肌醇 1, 4, 5-三磷酸受体: IP<sub>3</sub>R; 单次跨膜蛋白: STIMS; 钙离子转运蛋白: CAX; 钙调素依赖型蛋白激酶 II: CaMK II; 烟酸腺嘌呤二核苷酸磷酸: NAADP; 大电导钙离子激活钾通: BK; 环核苷酸门控离子通道: CNG; 线粒体膜通透性转换孔: mPTP; Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> 交换体: mNCX/HCX; 电压依赖性阴离子通道蛋白 1: VDAC1

并不直接作用于 TRP, 而是依赖其 C 端的钙调蛋白 (calmodulin, CaM) 结合域发挥作用。因此, Ca<sup>2+</sup> 更可能作为通道的增强剂而不是主要的激活剂。软骨组织的 Ca<sup>2+</sup> 主要有胞外流入和胞内内质网储存释放两个来源。但内质网腔释放 Ca<sup>2+</sup> 的前提是胞外 Ca<sup>2+</sup> 的大量流入诱发。软骨细胞膜表面的 TRPV4 可分别介导这两个过程的胞内外钙离子传递过程。目前 TRPV4 的具体机械转导分子变构机制尚不明确, 可能与 N、C 末端激动后彼此相互分离靠近的调节功能有关。在使用 TRPV4 抑制剂后, 会降低力学刺激诱导的软骨细胞 Ca<sup>2+</sup> 的反应以及基质的合成与积聚, 表现为对机械载荷和渗透压敏感性的降低。由于 Ca<sup>2+</sup>-CaM 结合引起的双相电流变化, TRPV4 也存在一定的反馈调节机制。当其通道被激活, 钙离子内流, 胞内钙离子浓度缓慢升高至阈值水平, 接着不同因素激活该通道的速度和幅度可显著快速提高, Ca<sup>2+</sup> 水平上升; 而一段时间后, 胞内钙离子升高至饱和状态, 通道又可被 Ca<sup>2+</sup> 的依赖性负反馈机制所阻断, 反映出细胞钙超载的现象, 保护细胞本身不会因为过大的电压差而出现异常。另有研究发

现, TRPV4 不能感知膜传导的机械力, 并且可能在功能上与其他力传导因子或细胞器耦合。初级纤毛作为软骨细胞最为重要的机械力感受细胞器, 其本身机械转导功能及结构的完整性是 TRPV4 发挥正常生理功能的基础, 力学信号激活 TRPV4, 可形成钙离子微区, 同时诱导钙离子大量内流纤毛, 进而引起下游级联反应, 影响软骨细胞功能。但目前 VGCC 与 TRPV 之间并没有相应联系。

### 3. Piezo 机械敏感性离子通道

Piezo 机械敏感性离子通道是来源于小鼠 Neuro2A 细胞系的一种新型非选择性阳离子 MSC, 对 Ca<sup>2+</sup> 有明显的偏嗜, 其三聚体形成三叶螺旋桨状结构<sup>[10,11]</sup>。主要表达于受力学刺激较多的组织中, 对压缩载荷、拉伸载荷以及超声刺激等机械载荷皆敏感<sup>[12]</sup>。包含 Piezo1 和 Piezo2 两个亚类, 是人类已知跨膜区最多的蛋白, 并且与目前已知的其他 MSC 没有同源性<sup>[13]</sup>。通过实验研究已证实 Piezo 的两个亚型皆在软骨细胞表面表达。研究发现, Piezo 机械敏感性离子通道通过感受膜传递的机械力, 介导机械应力激发的软骨细胞内 Ca<sup>2+</sup> 电流, 从而在软骨细胞的机械应力信号转导中发挥作用。Piezo1 本身的杠杆式机械结构, 适合于响应非对称膜曲率的大幅度变化, 可以将远端刀片型梁结构较大的构象变化有效地转换为离子传导孔的门控动力源, 选择性的发生阳离子渗透过程<sup>[14]</sup>。另外, ECM 的胶原纤维蛋白在 Piezo1 悬臂的末端修饰包裹, 能促进其与细胞的相互作用, 在细胞间形成机械联结网络, 使拉动细胞膜的力量能更有效地激活 Piezo1, 引发 Ca<sup>2+</sup> 内流从而提高 Piezo1 对机械力的敏感性。有研究<sup>[15]</sup>提出, MAPK/ERK5 和 MAPK/ERK1/2 是 Piezo1 介导软骨细胞在高应变刺激下晚期过度凋亡的下游信号分子。但 Piezo 2 在软骨细胞力学信号转导机制中的作用目前尚不明确。目前仅发现 Piezo1/2 可共同介导的高应变机械转导过程<sup>[16]</sup>, 并且 L 型 VGCC 在此过程起辅助作用, 在 Piezo1/2 通道的超生理机械激活后, VGCC 通过软骨细胞去极化激活并放大 Ca<sup>2+</sup> 信号。Piezo 机械敏感性离子通道常用的非特异性拮抗剂包括钆红、钆三价离子和南美狼蛛提取物 GsMTx-4<sup>[17]</sup>, 特异性 Piezo1 激活剂包括 Yoda1 和 Jedi1/2<sup>[18,19]</sup>。但 GsMTx4 对 Piezo1 并非存在完全的阻滞作用, 它通过调节局部细胞膜张力间接产生作用, 仍需进一步研究 Piezo 的高效阻滞剂。

在 MSC 参与软骨细胞机械转导的过程中, 软骨细胞对复杂机械环境中不同幅度物理刺激的敏感度不尽相同。其具有一套 MSC 的分工负责机制:

TRPV4 → Piezo1/2 → Piezo2, 它们参与了软骨细胞由低应变到高应变的力传递过程; TRPV4 → Piezo1/2, 参与了软骨细胞从高基质刚度到低基质刚度的机械转导<sup>[20,21]</sup>。TRPV4 介导的  $\text{Ca}^{2+}$  信号在软骨细胞对正常生理水平应变的反应中发挥主要作用, 而 Piezo2 介导的  $\text{Ca}^{2+}$  信号在软骨细胞对损伤水平应变的反应中起核心作用<sup>[22]</sup>。此外, TRPV4 和 Piezo1 两者的机械转导通路彼此分离却又有重合, 它们皆可介导基底扭转激活电流, 以响应以基底为媒介的细胞物理信号输入过程, 但 Piezo1 也可响应拉伸激活电流, 在 TRPV4 缺失或不完善时, 进行功能代偿行为<sup>[23]</sup>。

### 三、机械敏感性离子通道与骨性关节炎

OA 是以生物力学稳态破坏造成软骨细胞损伤为核心的慢性退行性关节类疾病。正常生理情况下, 软骨组织不受神经支配; 而在病理状态下, OA 关节软骨中的软骨细胞作为靶细胞对机械载荷的反应显著改变, 伴随着软骨细胞大量凋亡钙化的同时, 已有的血管网络会从软骨下骨中向钙化软骨层延伸, 生长出新的毛细血管。新生血管的形成还参与了骨赘形成以及周围神经纤维的蔓延。因此异常负荷模式从而引起了关节慢性疼痛的核心症状。同时软骨中新生血管形成与滑膜中的新生血管形成是各自独立病理过程, 这提示我们软骨组织本身也是 OA 病理慢性疼痛产生的重要源头之一。其相关的疼痛机制是多因素交织的结果, 其主要基于机械刺激或 MSC 级联软骨细胞炎性凋亡通路分泌的炎性细胞因子激活伤害感受器 (A $\delta$  型和 C 型伤害感受器), 而导致病理性疼痛阈值改变<sup>[24]</sup>。

#### 1. 机械性疼痛

频繁的机械或温度刺激易导致外周敏化, 可表现为机体机械敏感阈值降低, 对机械刺激的敏感性增加, 外周伤害感受器高度兴奋, 疼痛感增强。研究发现某些离子通道或受体的分布及功能变化对外周敏化具有一定影响。TRPV1 可介导包括渗透压、机械和温度在内的多重刺激, 在周围神经末梢和伤害感受器中皆表达, 同时于 OA 疼痛模型中高表达<sup>[25]</sup>。在虽然目前有关 TRPV1 机械痛敏的分子机制尚不清楚, 但应用其高选择性激动剂辣椒素可发生外周敏化现象<sup>[26]</sup>, 在将 TRPV1 敲除后会出现明显的机械性刺激阈值降低。同时, 作为同族的 TRPV4 在 OA 早期疼痛中发挥作用, 参与了 C 型伤害感受器对正常关节的有害机械刺激的反应<sup>[27]</sup>。并且可能是通过背根神经节神经元的磷酸化而发生外周敏化, 应用 TRPV4 拮抗剂对 OA 疼痛模型大鼠具有较好

镇痛作用<sup>[28]</sup>。Piezo2 近年来研究发现可介导痛觉感受<sup>[29,30]</sup>并参与有害机械刺激的转导<sup>[31]</sup>, 但尚无直接研究 Piezo2 在骨髓内伤害感受器中发挥功能的报道。尽管 Piezo2 基因敲除后并不能完全阻止伤害感受器转导机械刺激, 但它确实有选择地降低了 A $\delta$  型纤维机械伤害感受器的敏感性<sup>[32]</sup>。有研究证实膜联蛋白 A6 作为  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的磷脂结合蛋白超家族的成员, 它的过度表达抑制了部分由 Piezo2 介导的快速适应电流, 减轻了骨性关节炎小鼠模型的机械疼痛<sup>[33]</sup>。

#### 2. 炎性疼痛

异常的机械载荷作用于软骨组织, 会造成关节软骨结构的改变, 软骨细胞大量凋亡, 关节发炎肿胀, 炎症介质和促炎细胞因子伤害感受器, 关节间质液增加, 对关节内和关节外结构施加压力, 从而通过引起囊内压力升高也可直接刺激滑膜伤害感受器或机械感受器。其本质在于 MSC 介导下软骨细胞凋亡后残存的 ECM 碎片将刺激关节内环境, 产生大量氧自由基和免疫炎症因子 (白介素-1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子及前列腺素等), 刺激软骨组织新生血管发生缺血再灌注损伤, 同时周围神经纤维分泌 P 物质等增强血管内皮细胞的增殖从而造成恶性循环, OA 疼痛加剧并构成外周疼痛敏化。MSC 的表达与炎症的严重程度密切相关, 主要依赖级联下游炎性细胞通路 (主要是 NF- $\kappa$ B 和 JNK/SAPK 信号通路)。研究发现 TRPV4 可通过介导炎症 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活, 上调基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 的表达, 促进软骨降解, 促进疼痛<sup>[34]</sup>。另外 TNF- $\alpha$  也可通过经典 MAPK-p38 炎症通路调控 TRPV4 诱发疼痛<sup>[35]</sup>。但目前 MSC 与下游炎性细胞通路的联系较为薄弱, 应从机械载荷介导下的细胞交互网络进行深入的研究。

#### 四、总结

深入了解诱发 OA 的生物力学机制对于确定临床的干预目标至关重要。软骨细胞是介导 OA 疼痛的重要靶细胞之一。软骨细胞的数量、密度与 OA 疼痛程度呈明显负相关。同时软骨组织是有别于滑膜组织和脂肪组织的另一介导 OA 疼痛机制的独立组织来源。在滑膜关节中, 软骨组织是最大的机械敏感型组织, MSC 大部分都定位表达于软骨细胞及新生血管、周围神经纤维表面。因此, MSC 表达和功能的长期变化是 OA 疼痛发生机制的关键组成部分, 并在软骨细胞膜表面逐渐形成了以 Piezo 新型机械敏感性离子通道为核心的第二信使机械转导途径, 它们可能会驱动各种慢性疼痛状态下的神经元过度兴奋现象。虽然部分 MSC 具体的机械转导机

制尚不清晰, 但及时的在 OA 早期抑制或拮抗相应 MSC 的活性, 能够很大程度上缓解疼痛的进程, 抑制软骨凋亡和新生血管的形成。

### 参 考 文 献

- [1] Croft AP, Campos J, Jansen K, *et al.* Distinct fibroblast subsets drive inflammation and damage in arthritis[J]. *Nature*, 2019, 570(7760):246-251.
- [2] Zhu S, Zhu J, Zhen G, *et al.* Subchondral bone osteoclasts induce sensory innervation and osteoarthritis pain[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(3):1076-1093.
- [3] Chen X, Zhou Y, Wang L, *et al.* Determining tension-compression nonlinear mechanical properties of articular cartilage from indentation testing[J]. *Ann Biomed Eng*, 2016, 44(4):1148-1158.
- [4] Jung H, Akkus O. Activation of intracellular calcium signaling in osteoblasts colocalizes with the formation of post-yield diffuse microdamage in bone matrix[J]. *Bonekey Rep*, 2016, 5:778.
- [5] Jung H, Best M, Akkus O. Microdamage induced calcium efflux from bone matrix activates intracellular calcium signaling in osteoblasts via L-type and T-type voltage-gated calcium channels[J]. *Bone*, 2015, 7(6):88-96.
- [6] 王艳娉, 杨俊龙, 张小梅, 等. 软骨细胞微丝骨架的研究进展 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2017, 23(5):376-379.
- [7] Somogyi CS, Matta C, Foldvari Z, *et al.* Polymodal transient receptor potential vanilloid (TRPV) ion channels in chondrogenic cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(8):18412-18438.
- [8] Mickle AD, Shepherd AJ, Mohapatra DP. Sensory TRP channels: The key transducers of nociception and pain[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2015, 131:73-118.
- [9] O'Connor CJ, Leddy HA, Benefield HC, *et al.* TRPV4-mediated mechanotransduction regulates the metabolic response of chondrocytes to dynamic loading[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(4):1316-1321.
- [10] Gnanasambandam R, Bae C, Gottlieb PA, *et al.* Ionic selectivity and permeation properties of human PIEZO1 channels[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0125503.
- [11] Zhao Q, Zhou H, Chi S, *et al.* Structure and mechanogating mechanism of the Piezo1 channel published correction appears in *Nature*[J]. *Nature*, 2018, 562(7730):487-492.
- [12] Volkers L, Mechoukhi Y, Coste B. Piezo channels: From structure to function[J]. *Pflugers Arch*, 2015, 467(1):95-99.
- [13] Coste B, Xiao B, Santos JS, *et al.* Piezo proteins are pore-forming subunits of mechanically activated channels[J]. *Nature*, 2012, 483(7388):176-181.
- [14] Xiao B. Levering mechanically activated piezo channels for potential pharmacological intervention[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2020, 60:195-218.
- [15] Li XF, Zhang Z, Li XD, *et al.* Mechanism of the piezo1 protein-induced apoptosis of the chondrocytes through the MAPK/ERK1/2 signal pathway[J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2016, 96(31):2472-2477.
- [16] Lee W, Leddy HA, Chen Y, *et al.* Synergy between Piezo1 and Piezo2 channels confers high-strain mechanosensitivity to articular cartilage[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(47):E5114-E5122.
- [17] Bae C, Sachs F, Gottlieb PA. The mechanosensitive ion channel Piezo1 is inhibited by the peptide GsMTx4[J]. *Biochemistry*, 2011, 50(29):6295-6300.
- [18] Syeda R, Xu J, Dubin AE, *et al.* Chemical activation of the mechanotransduction channel Piezo1[J]. *Elife*, 2015, 4:e07369.
- [19] Wang Y, Chi S, Guo H, *et al.* A lever-like transduction pathway for long-distance chemical-and mechanogating of the mechanosensitive Piezo1 channel[J]. *Nat Commun*, 2018, 9:1300.
- [20] Cox CD, Bavi N, Martinac B. Origin of the force: The force-from-lipids principle applied to piezo channels[J]. *Curr Top Membr*, 2017, 79:59-96.
- [21] Lee W, Guilak F, Liedtke W. Role of piezo channels in joint health and injury[J]. *Curr Top Membr*, 2017, 79:263-273.
- [22] Du G, Li L, Zhang X, *et al.* Roles of TRPV4 and piezo channels in stretch-evoked  $Ca^{2+}$  response in chondrocytes[J]. *Exp Biol Med*, 2019, 245(3): 1535370219892601.
- [23] Servin-Vences MR, Richardson J, Lewin GR, *et al.* Mechano-electrical transduction in chondrocytes[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2018, 45(5):481-488.
- [24] Dubin AE, Patapoutian A. Nociceptors: The sensors of the pain pathway[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(11):3760-3772.
- [25] Kelly S, Chapman RJ, Woodhams S, *et al.* Increased function of pronociceptive TRPV1 at the level of the joint in a rat model of osteoarthritis pain[J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(1):252-259.
- [26] Nencini S, Ivanusic J. Mechanically sensitive A $\delta$  nociceptors that innervate bone marrow respond to changes in intra-osseous pressure[J]. *J Physiol*, 2017, 595(13):4399-4415.
- [27] Richter F, Segond von Banchet G, Schaible HG. Transient Receptor Potential vanilloid 4 ion channel in C-fibres is involved in mechanonociception of the normal and inflamed joint[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):109-128.
- [28] Hinata M, Imai S, Sanaki T, *et al.* Sensitization of transient receptor potential vanilloid 4 and increasing its endogenous ligand 5,6-epoxyeicosatrienoic acid in rats with monoiodoacetate-induced osteoarthritis[J].

- of post-traumatic osteoarthritis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 6438.
- [11] Xu L, Sun C, Zhang S, *et al.* Sam68 Promotes NF-kappaB activation and apoptosis signaling in articular chondrocytes during osteoarthritis[J]. *Inflamm Res*, 2015, 64(11):895-902.
- [12] Liang P, Zhang H, Wang G, *et al.* KPNB1, XPO7 and IPO8 mediate the translocation of NF-kappaB/p65 into the nucleus[J]. *Traffic*, 2013, 14(11):1132-1143.
- [13] Chang SH, Mori D, Kobayashi H, *et al.* Excessive mechanical loading promotes osteoarthritis through the gremlin-1-NF-kB pathway[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1442.
- [14] Li T, Chubinskaya S, Esposito A. TGF-beta type 2 receptor-mediated modulation of the IL-36 family can be therapeutically targeted in osteoarthritis[J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(491):eaan2585.
- [15] Fu Y, Lei J, Zhuang Y, *et al.* Overexpression of HMGB1 A-box reduced IL-1beta-induced MMP expression and the production of inflammatory mediators in human chondrocytes[J]. *Exp Cell Res*, 2016, 349(1):184-190.
- [16] Uchimura T, Foote AT, Smith EL, *et al.* Insulin-like growth factor II (IGF-II) inhibits IL-1beta-induced cartilage matrix loss and promotes cartilage integrity in experimental osteoarthritis[J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(12):2858-2869.
- [17] 郑洁, 刘焕, 郭海英, 等. 表观遗传调控与骨性关节炎研究进展 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2014, 20(9): 665-667, 670.
- [18] Tasselli L, Zheng W, Chua KF. SIRT6: Novel mechanisms and links to aging and disease[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28(3):168-185.
- [19] Meng F, Zhang Z, Chen W, *et al.* MicroRNA-320 regulates matrix metalloproteinase-13 expression in chondrogenesis and interleukin-1beta-induced chondrocyte responses[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(5):932-941.
- [20] Mao G, Wu P, Zhang Z, *et al.* MicroRNA-92a-3p regulates Aggrecanase-1 and Aggrecanase-2 expression in chondrogenesis and IL-1beta-induced catabolism in human articular chondrocytes[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(1):38-52.
- [21] Wei ZJ, Liu J, Qin J. miR-138 suppressed the progression of osteoarthritis mainly through targeting p65[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(9):2177-2184.
- [22] Rasheed Z, Al-Shobaili HA, Rasheed N, *et al.* MicroRNA-26a-5p regulates the expression of inducible nitric oxide synthase via activation of NF-kappaB pathway in human osteoarthritis chondrocytes[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2016, 594:61-67.
- [23] Park SJ, Cheon EJ, Kim HA. MicroRNA-558 regulates the expression of cyclooxygenase-2 and IL-1beta-induced catabolic effects in human articular chondrocytes[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(7):981-989.
- [24] Jin L, Zhao J, Jing W, *et al.* Role of miR-146a in human chondrocyte apoptosis in response to mechanical pressure injury in vitro[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(2):451-463.
- [25] Zhang X, Wang C, Zhao J, *et al.* miR-146a facilitates osteoarthritis by regulating cartilage homeostasis via targeting Camk2d and Ppp3r2[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(4):e2734.
- Pain, 2018, 159(5):939-947.
- [29] Szczot M, Liljencrantz J, Ghitani N, *et al.* PIEZO2 mediates injury-induced tactile pain in mice and humans[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(462):eaat9892.
- [30] Murthy SE, Loud MC, Daou I, *et al.* The mechanosensitive ion channel Piezo2 mediates sensitivity to mechanical pain in mice[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(462): eaat9897.
- [31] Eijkelkamp N, Linley JE, Torres JM, *et al.* A role for Piezo2 in EPAC1-dependent mechanical allodynia[J]. *Nat Commun*, 2013, 4:1682.
- [32] Ranade SS, Woo SH, Dubin AE, *et al.* Piezo2 is the major transducer of mechanical forces for touch sensation in mice[J]. *Nature*, 2014, 516(7529):121-125.
- [33] Raouf R, Lolignier S, Sexton JE, *et al.* Inhibition of somatosensory mechanotransduction by annexin A6[J]. *Sci Signal*, 2018, 11(535):eaao2060.
- [34] Gisela Segond von Banchet, Boettger MK, König C, *et al.* Neuronal IL-17 receptor upregulates TRPV4 but not TRPV1 receptors in DRG neurons and mediates mechanical but not thermal hyperalgesia[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2013, 52:152-160.
- [35] El Karim I, McCrudden MT, Linden GJ, *et al.* TNF-alpha-induced p38MAPK activation regulates TRPA1 and TRPV4 activity in odontoblast-like cells[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(11):2994-3002.

---

(上接第 539 页)