

机械敏感性离子通道蛋白Piezo1调控 软骨细胞凋亡的研究进展

周绪昌¹ 杜玉香¹ 张玲莉^{1,2*}

(¹上海体育学院, 上海 200438; ²华南师范大学, 广州 510631)

摘要 软骨细胞能够承受复杂的机械应力负荷, 可对变化的机械负荷进行识别并作出灵敏和准确的反应, 以维持软骨的稳态。机械转导通路阻断可能导致软骨破坏, 从而导致骨关节炎相关疾病。机械门控离子通道在软骨细胞的机械转导中发挥着重要的功能。研究表明, Piezo1离子通道蛋白介导的机械转导途径能够调节关节软骨细胞损伤, 保护软骨细胞免受机械诱导的细胞凋亡。该文通过查阅Piezo1蛋白与软骨细胞相关文献, 阐述机械应力刺激下Piezo1对软骨细胞凋亡的调控作用, 为骨关节炎等软骨细胞相关疾病的治疗研究提供依据。

关键词 Piezo1; 机械应力; 软骨细胞; 细胞凋亡

The Research Progress of Mechanosensitive Ion Channel Protein Piezo1 on Regulating Chondrocytes Apoptosis

ZHOU Xuchang¹, DU Yuxiang¹, ZHANG Lingli^{1,2*}

(¹Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China; ²South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract Chondrocytes experience a complex mechanical environment and respond to changing mechanical loads sensitively and accurately in order to maintain cartilage homeostasis. If mechanotransduction pathways are disrupted, the cartilage may become damaged, which can result in osteoarthritis and other painful joint diseases. Mechanically gated ion channels are of functional importance in chondrocyte mechanotransduction. Some studies showed that the Piezo1-mediated mechanotransduction pathway modulates mechanical load-mediated chondrocyte injury, protecting articular chondrocytes from mechanically induced cell death. In this paper, we summarized the regulation of Piezo1 on chondrocytes apoptosis under mechanical stress stimulation by reviewing the literature on Piezo1 protein and chondrocytes, which can provide a basis for the treatment of chondrocyte-related diseases such as osteoarthritis.

Keywords Piezo1; mechanical stress; chondrocytes; apoptosis

步态分析显示, 膝关节软骨在日常活动中承受的载荷约为体重的3倍, 在跑步中承受的载荷约为体重的10倍, 在跳跃中承受的载荷约为体重的20倍^[1]。正常生理条件下, 软骨细胞每年承受数百万次循环

的机械负荷^[2]。机械负荷使软骨细胞暴露于复杂的物理信号阵列, 包括压缩、牵张和剪切力等。软骨细胞感知并对机械负荷刺激做出反应以维持软骨稳态。部分外界机械负荷能够通过基质传播到细

收稿日期: 2019-02-21 接受日期: 2019-04-04

国家自然科学基金青年科学基金(批准号: 81902298)资助的课题

*通讯作者。Tel: 15121007778, E-mail: lingliwde@163.com

Received: February 21, 2019

Accepted: April 4, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China Youth Program (Grant No.81902298)

*Corresponding author. Tel: +86-15121007778, E-mail: lingliwde@163.com

网络出版时间: 2019-09-30 10:26:10

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190930.1026.012.html>

胞, 调控软骨细胞合成分解代谢进而维持组织完整性^[3]。因此, 机械信号能够影响关节软骨基质降解酶的产生和基质的修复, 在调节软骨细胞合成分解代谢活动中发挥着重要作用^[4]。肥胖、关节不稳以及日常活动中负荷增加等均可能导致关节软骨累积性微损伤或关节创伤。机械转导能够将上述异常机械刺激转化成电信号或化学信号, 从而启动下游一系列信号级联, 导致软骨细胞代谢平衡破坏出现细胞凋亡, 最终诱导软骨发生骨关节炎等退行性疾病表型转换^[2,5-6]。因此, 合理调控软骨细胞的机械转导将为抑制骨关节炎的病理损伤反应提供一种新的手段。

离子通道蛋白在机械转导中发挥着重要作用。通道在机械应力刺激作用下被打开, 允许细胞膜外的离子流入细胞。这种离子的运动产生电信号, 从而影响细胞外基质合成和分解代谢相关蛋白的表达^[7]。Piezo1蛋白是一种与机械应力刺激信号密切相关的新型机械敏感性离子通道蛋白。Piezo1和Piezo2蛋白在猪和人软骨细胞中均有表达, 但是在小鼠软骨细胞中, 只能检测到Piezo1蛋白的表达。同时, 大量研究显示, Piezo1离子通道蛋白可能参与软骨细胞凋亡过程^[3,8-9], 然而具体作用机制尚不明确。因此, 本文通过综述Piezo1蛋白相关的机械转导对软骨细胞凋亡的作用, 为骨关节炎等相关疾病的机制研究提供参考和依据。

1 Piezo离子通道蛋白概述

细胞表达一系列的力传感器, 可将机械输入转化为生化信号从而激活一系列下游细胞信号转导途径, 影响细胞的增殖、分化、迁移及凋亡^[10]。离子通道是一种跨膜蛋白, 可被机械应力刺激直接激活, 导致局部跨膜离子通量电流的产生。这种通道介导的机械-电转导非常迅速, 在刺激开始和通道激活之间测量的潜伏期低于5 ms, 激活时间常数小于2 ms^[3]。2010年, Coste等^[11]首次在N2A细胞系中筛选鉴定出Piezo1机械敏感性离子通道蛋白, 并在随后通过序列同源性发现第2种蛋白质Piezo2。Piezo1蛋白是一种成孔通道亚基, 由3个弯曲的“叶片”组成, 这些叶片环绕着一个中心孔, 机械信号通过变形传递到Piezo1蛋白的孔核结构, 从而打开通道并介导离子流入细胞^[12-13]。Piezo1蛋白通道可以非选择性通过二价离子Ca²⁺、Mg²⁺、Mn²⁺和Ba²⁺以及一价

碱性离子K⁺、Na⁺、Cs⁺和Li⁺等。根据物种的不同, Piezo蛋白含有2 100~4 700个氨基酸, 有24~40个跨膜结构域, 是目前人类已知的跨膜区最多的蛋白, 且与其他已知的机械敏感通道蛋白或者电压敏感通道蛋白没有同源性^[14]。Piezo1蛋白和Piezo2蛋白分别由FAM38A和FAM38B基因编码, 在各种机械传导, 如触摸、疼痛、本体感受、血管发育和血压调节等过程中发挥着关键作用^[15]。Piezo1蛋白和Piezo2蛋白均能够介导神经元细胞和神经元细胞系中的机械门控离子电流。除神经系统外, 目前已发现, Piezo1蛋白在膀胱尿路上皮细胞、输卵管上皮细胞、红细胞、软骨细胞中均具有功能相关性^[16-17]。

2 Piezo1门控通道的作用

不同强度和类型机械应力刺激的识别对细胞机械转导至关重要。高强度机械输入由Piezo1和Piezo2通道介导, 低强度机械输入由TRPV4通道介导^[5,18-19]。此外, 细胞膜上的离子通道也能对不同的机械应力刺激做出识别。Servin-Vences等^[16]使用高速压力钳和弹性微柱阵列研究原代小鼠软骨细胞对膜牵张力和细胞-基底界面上施加偏转(模拟通过基质接触转移到细胞的刺激)的反应, 结果表明, Piezo1和TRPV4通道蛋白都能够介导通过在细胞-基底接触处施加刺激激活的电流反应, 但机械牵张激活的电流仅由Piezo1介导, 而偏转激活电流由Piezo1和TRPV4共同介导。具体表现为Piezo1敲低后软骨细胞中的牵张激活电流消除; Piezo1敲低或TRPV4敲除后细胞中偏转激活电流部分减少^[16]。当Piezo1和TRPV4同时被敲除时, 偏转激活的电流几乎完全消失^[3]。这表明, 在软骨细胞中存在单独但重叠的机械-电信号转导途径, 这种门控差异可以使软骨细胞能够准确识别和调节外界不同的机械应力刺激进而维持软骨稳态。

机械牵张刺激通过Piezo1蛋白离子通道引起Ca²⁺内流导致电流瞬间上升, 在刺激仍然存在的情况下电流出现衰减。这种衰减可能是由于离子通道对刺激的适应性, 也可能是由于失活机制导致通道孔隙闭合^[20]。近期研究表明, 离子通道对刺激的适应性在Piezo1介导的机械电转导中只占小部分因素, 导致电流衰减的主要机制是失活^[21]。这意味着, Piezo1蛋白通道中存在一种内在失活机制——由Piezo1蛋白通道内孔螺旋结构域的电压依赖性构象

介导, 并与C-端胞外结构域发生变构耦合^[22]。Piezo1通道的失活在生理上是非常重要的, 其能够过滤重复的机械应力刺激, 调节整体机械感应的灵敏度。

3 Piezo1调控软骨细胞凋亡

在人类退变软骨细胞中, Piezo1蛋白能够稳定表达, 在加载周期性机械牵张后, Piezo1蛋白表达量增多, 并且与机械应力之间存在时间依赖关系^[23]。最近研究表明, 机械压应力负荷下Piezo1介导的细胞内Ca²⁺积累与软骨细胞凋亡有关^[24], 可能参与骨关节炎的发病进程。机械负荷过大能够导致细胞凋亡, 使用siRNA技术扰乱Piezo1蛋白表达可以减少机械牵张导致的细胞凋亡^[8], 并且Piezo1蛋白的特异性多肽抑制剂GsMTx4也可以抑制机械加压诱导的软骨细胞晚期凋亡, 可能的途径为经典MAPK/ERK1/2信号转导通路^[25]。此外有研究表明, 尿皮素可以将Piezo1离子通道蛋白关闭, 通过增加环腺苷酸并在随后抑制磷脂酶A2的表达, 最终保护软骨细胞免于凋亡, 可能与p53依赖性细胞凋亡密切相关^[9]。上述研究表明, Piezo1蛋白在软骨细胞凋亡中发挥重要作用。

3.1 Ca²⁺在Piezo1蛋白介导的软骨细胞凋亡中的作用

Ca²⁺超载导致的线粒体功能障碍是细胞过度凋亡的关键机制^[26], 主要表现为线粒体膜电位的逆转^[27]。Piezo离子通道具有Ca²⁺渗透性, 在外界机械应力刺激后快速失活。最近发现, 机械应力刺激能够直接激活Piezo离子通道^[11,28]。机械压应力能够导致Ca²⁺通过Piezo离子通道从细胞外介质中流入软骨细胞导致细胞凋亡, 当Piezo1或Piezo2蛋白表达被GsMTx4抑制后, 机械应力激活的Ca²⁺瞬变效应被消除^[17]。

L型电压门控Ca²⁺通道(voltage-gated Ca²⁺ channels, VGCCs)有助于Piezo1/2介导的高应变机制转导软骨细胞中的Ca²⁺信号, 其抑制剂维拉帕米能够显著降低机械应力诱导的Ca²⁺内流。最近研究表明, 在Piezo1/2通道被超生理机械应力激活后, VGCCs通过软骨细胞的去极化激活并放大Ca²⁺信号^[1]。最近研究报道, VGCCs阻滞剂可以减少骨关节炎患者来源的软骨细胞凋亡^[29]。Piezo1的功能类似于VGCCs, 因此骨关节炎来源的软骨细胞中Piezo1蛋白可能通过Ca²⁺超载介导细胞凋亡。可推测Ca²⁺可能作为激活

Piezo1和软骨细胞凋亡之间的第二信使。当Ca²⁺流入细胞内时, 除了去极化之外, Ca²⁺本身可以作为关键的细胞内信使调节激酶级联反应^[30]。因此, Ca²⁺通道在Piezo1蛋白激活后开放, 介导细胞去极化导致Ca²⁺内流, 随后激活凋亡相关的激酶级联反应最终诱导软骨细胞凋亡。

3.2 内质网应激在Piezo1蛋白介导软骨细胞凋亡中的作用

内质网应激是细胞凋亡过程中另一个重要的影响因素。内质网是一种细胞器, 在细胞适应性反应, 细胞凋亡和其他细胞功能过程中发挥重要作用^[31]。caspase是一类参与细胞凋亡的半胱氨酸蛋白酶的统称, 能够将异常的机械牵张和炎症等凋亡信号传递到蛋白水解级联中, 裂解并激活其他的caspase, 进而降解细胞内靶标最终导致细胞凋亡^[32]。内质网应激可激活caspase蛋白家族, 特别是与内质网膜功能密切相关的caspase-12, 因此caspase-12可作为内质网应激的标志物^[33]。牵张应力刺激髓核细胞发现, 外界机械牵张应力刺激首先活化Piezo1蛋白, 随后引起线粒体功能障碍和内质网应激^[31]。同样, 来自于骨关节炎患者的软骨细胞在机械负荷下显示出晚期凋亡的倾向, Piezo1和caspase-12在静态压缩刺激下均显著上调, 表达量与机械应力负载期间骨关节炎软骨细胞的凋亡率呈现出一定的相关性^[17]。这证明, Piezo1能够通过caspase-12依赖途径激活细胞核中的凋亡基因在软骨细胞凋亡中发挥重要作用。

除了内质网外, 线粒体也参与Piezo1离子通道蛋白介导的细胞凋亡^[31]。Ca²⁺超载是内质网和线粒体的致死因素, 可导致线粒体呼吸功能障碍和内质网应激^[34]。因此, Piezo1蛋白可作为机械应力诱导细胞凋亡的启动子。在外界超负荷机械应力刺激下Piezo1蛋白被激活, 促使Ca²⁺内流, 随后启动凋亡信号级联, 引起线粒体呼吸功能障碍和内质网应激, 最终导致软骨细胞凋亡。

4 小结与展望

机械敏感通道蛋白是一类在生物体内广泛分布的离子通道蛋白, 主要负责将外界各种机械信号转化成电信号参与生物体内多种正常的生理过程, 其结构异常及功能障碍与多种疾病的发生发展密切相关。在软骨细胞中, 膜上的Piezo1离子通道蛋白能够有效识别不同强度和类型的外界机械应力刺

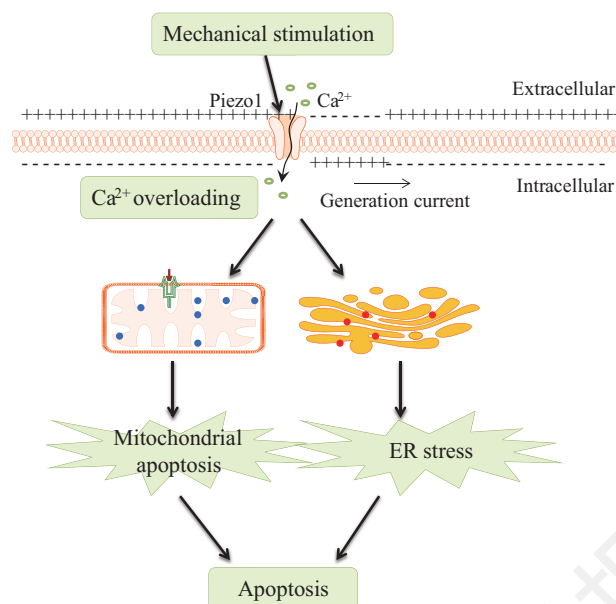


图1 Piezo1介导软骨细胞凋亡的示意图

Fig.1 The schematic diagram of Piezo1 mediating chondrocyte apoptosis

激, 通过调控 Ca^{2+} 内流完成机械-电信号转导, 随后通过内质网应激和线粒体凋亡途径最终诱导软骨细胞凋亡(图1)。因此, Piezo1蛋白可以作为抑制软骨细胞凋亡的潜在治疗靶点。

目前的研究主要集中在机械牵张应力诱导的Piezo1蛋白响应。然而在日常活动中, 软骨细胞主要受到重复机械加压负荷或静压力的作用。因此, 后期研究可以着重于软骨细胞加压实验对Piezo1蛋白的影响, 同时进一步探究Piezo1对下游基因表达和信号转导通路的调控作用。此外, 除了软骨细胞凋亡, 还可将研究集中于在Piezo1离子通道蛋白的介导下, 适当机械应力对软骨细胞的促进作用, 将软骨细胞相关疾病的预防和治疗相结合。因此, Piezo1蛋白与软骨细胞相关的研究需要更多的深入研究。

参考文献 (References)

- Lee W, Guilak F, Liedtke W. Role of Piezo channels in joint health and injury. *Curr Top Membr* 2017; 79: 263-73.
- Guilak F. Biomechanical factors in osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2011; 25(6): 815-23.
- Servin-Vences MR, Richardson J, Lewin GR, Poole K. Mechano-electrical transduction in chondrocytes. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2018; 45(5): 481-8.
- Sun H. Mechanical loading, cartilage degradation, and arthritis. *Ann NY Acad Sci* 2010; 1211: 37-50.
- Phan MN, Leddy HA, Votta BJ, Kumar S, Levy DS, Lipshutz DB, *et al.* Functional characterization of TRPV4 as an osmotically sensitive ion channel in porcine articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2009; 60(10): 3028-37.
- Haudenschild DR, D'Lima DD, Lotz MK. Dynamic compression of chondrocytes induces a Rho kinase-dependent reorganization of the actin cytoskeleton. *Biorheology* 2008; 45(3/4): 219-28.
- 徐曼秋, 费素娟. 机械敏感性离子通道Piezo2的研究进展. *安徽医药*(Xu Manqiu, Fei Sujuan. Research progress of mechanosensitive ion channel Piezo2. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*) 2019; 23(02): 217-21.
- Jiang L, Zhao YD, Chen WX. The function of the novel mechanical activated ion channel Piezo1 in the human osteosarcoma cells. *Med Sci Monit* 2017; 23: 5070-82.
- Lawrence KM, Jones RC, Jackson TR, Baylie RL, Abbott B, Bruhn-Olszewska B, *et al.* Chondroprotection by urocortin involves blockade of the mechanosensitive ion channel Piezo1. *Sci Rep* 2017; 7(1): 5147.
- 闫亮, 姜金, 万浪, 马崇文, 杨信信, 夏亚一. Piezo机械敏感性离子通道研究现状及其在骨与关节组织的研究进展. *中国医学物理学杂志*(Yan Liang, Jiang Jin, Wan Lang, Ma Chongwen, Yang Xinxin, Xia Yayi. Research status of Piezomechanosensitive ion channels and their research progress in bone and joint tissues. *Chinese Journal of Medical Physics*) 2018; 35(08): 962-7.
- Coste B, Mathur J, Schmidt M, Earley TJ, Ranade S, Petrus MJ, *et al.* Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. *Science* 2010; 330(6000): 55-60.
- Romac JM, Shahid RA, Swain SM, Vigna SR, Liddle RA. Piezo1 is a mechanically activated ion channel and mediates pressure induced pancreatitis. *Nat Commun* 2018; 9(1): 1715.
- Wang Y, Chi S, Guo H, Li G, Wang L, Zhao Q, *et al.* A lever-like transduction pathway for long-distance chemical- and mechanogating of the mechanosensitive Piezo1 channel. *Nat Commun* 2018; 9(1): 1300.
- 李娟, 陈珊, 李婧影, 杨黄浩. 机械敏感通道蛋白的研究进展. *福*

- 州大学学报(自然科学版)(Li Juan, Chen Shanshan, Li Jingying, Yang Huanghao. Research progress of Piezomechano-sensitive ion channels. *Journal of Fuzhou University(Natural Science Edition)* 2018; doi: 10.7631/issn.1000-2243.18396.
- 15 Wang Y, Xiao B. The mechanosensitive Piezo1 channel: structural features and molecular bases underlying its ion permeation and mechanotransduction. *J Physiol* 2018; 596(6): 969-78.
 - 16 Servin-Vences MR, Moroni M, Lewin GR, Poole K. Direct measurement of TRPV4 and PIEZO1 activity reveals multiple mechanotransduction pathways in chondrocytes. *Elife* 2017; 6: pii: e21074.
 - 17 Lee W, Leddy HA, Chen Y, Lee SH, Zelenski NA, McNulty AL, *et al.* Synergy between Piezo1 and Piezo2 channels confers high-strain mechanosensitivity to articular cartilage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(47): E5114-22.
 - 18 Clark AL, Votta BJ, Kumar S, Liedtke W, Guilak F. Chondro-protective role of the osmotically sensitive ion channel transient receptor potential vanilloid 4: age- and sex-dependent progression of osteoarthritis in Trpv4-deficient mice. *Arthritis Rheum* 2010; 62(10): 2973-83.
 - 19 O'Connor CJ, Ramalingam S, Zelenski NA, Benefield HC, Rigo I, Little D, *et al.* Cartilage-specific knockout of the mechanosensory ion channel TRPV4 decreases age-related osteoarthritis. *Sci Rep* 2016; 6: 29053.
 - 20 Honore E, Patel AJ, Chemin J, Suchyna T, Sachs F. Desensitization of mechano-gated K2P channels. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(18): 6859-64.
 - 21 Lewis AH, Cui AF, McDonald MF, Grandl J. Transduction of repetitive mechanical stimuli by Piezo1 and Piezo2 ion channels. *Cell Rep* 2017; 19(12): 2572-85.
 - 22 Wu J, Young M, Lewis AH, Martfeld AN, Kalmeta B, Grandl J. Inactivation of mechanically activated Piezo1 ion channels is determined by the C-terminal extracellular domain and the inner pore helix. *Cell Rep* 2017; 21(9): 2357-66.
 - 23 杨骐宁, 曹杨, 周勇伟, 倪硕, 傅蔚聪, 施铁军, 等. Piezo1蛋白在人退变软骨细胞应力模型中的表达特点. *中国骨伤*(Yang Qining, Cao Yang, Zhou Yongwei, Ni Shuo, Fu Weicong, Shi Tiejun, *et al.* Expression characteristics of Piezo1 protein in stress models of human degenerative chondrocytes. *China J Orthop Trauma*) 2018; 31(6): 550-5.
 - 24 Li XF, Zhang Z, Chen ZK, Cui ZW, Zhang HN. Piezo1 protein induces the apoptosis of human osteoarthritis-derived chondrocytes by activating caspase-12, the signaling marker of ER stress. *Int J Mol Med* 2017; 40(3): 845-53.
 - 25 Li XF, Zhang Z, Li XD, Wang TB, Zhang HN. Mechanism of the Piezo1 protein-induced apoptosis of the chondrocytes through the MAPK/ERK1/2 signal pathway. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2016; 96(31): 2472-7.
 - 26 Kaus A, Sareen D. ALS patient stem cells for unveiling disease signatures of motoneuron susceptibility: perspectives on the deadly mitochondria, ER stress and calcium triad. *Front Cell Neurosci* 2015; 9: 448.
 - 27 Dela Paz NG, Frangos JA. Yoda1-induced phosphorylation of Akt and ERK1/2 does not require Piezo1 activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 497(1): 220-5.
 - 28 Xiao R, Xu XZ. Mechanosensitive channels: in touch with Piezo. *Curr Biol* 2010; 20(21): R936-8.
 - 29 Takamatsu A, Ohkawara B, Ito M, Masuda A, Sakai T, Ishiguro N, *et al.* Verapamil protects against cartilage degradation in osteoarthritis by inhibiting Wnt/beta-catenin signaling. *PLoS One* 2014; 9(3): e92699.
 - 30 Chen NX, Ryder KD, Pavalko FM, Turner CH, Burr DB, Qiu J, *et al.* Ca²⁺ regulates fluid shear-induced cytoskeletal reorganization and gene expression in osteoblasts. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278(5): C989-97.
 - 31 Li XF, Leng P, Zhang Z, Zhang HN. The Piezo1 protein ion channel functions in human nucleus pulposus cell apoptosis by regulating mitochondrial dysfunction and the endoplasmic reticulum stress signal pathway. *Exp Cell Res* 2017; 358(2): 377-89.
 - 32 Green DR, Llambi F. Cell death signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2015; 7(12): a006080.
 - 33 Pannaccione A, Secondo A, Molinaro P, D'Avanzo C, Cantile M, Esposito A, *et al.* A new concept: Abeta1-42 generates a hyperfunctional proteolytic NCX3 fragment that delays caspase-12 activation and neuronal death. *J Neurosci* 2012; 32(31): 10609-17.
 - 34 Guo MF, Yu JZ, Ma CG. Mechanisms related to neuron injury and death in cerebral hypoxic ischaemia. *Folia Neuropathol* 2011; 49(2): 78-87.