

基于Notch/Hes1/DLL4信号通路探讨成血管–成骨耦联机制干预骨缺损的研究进展

彭冉东 刘红喜 杨文博 周君 王玉磊 杨洋 殷雪松 毕军伟*

(甘肃省中医院骨髓炎病科, 兰州 730050)

摘要 成血管–成骨耦联是骨修复与再生中的核心过程, 通过协调血管生成与骨形成间的动态平衡, 为骨组织稳态重建提供关键支持。Notch信号通路及其关键效应分子Hes1、配体DLL4在此过程中发挥重要调控作用。DLL4作为Notch通路的重要配体, 在机械刺激(如牵张)或化学诱导下可通过增强H型血管生成促进成骨分化, 而H型血管作为特异性血管亚型, 通过分泌VEGF、BMP2等因子直接耦联血管生成与骨形成。在骨缺损模型中, 可通过激活Notch/Hes1/DLL4通路, 显著提升成骨标志物及血管生成因子的表达水平, 进而改善骨微结构与力学性能。而Notch信号与PI3K/AKT、BMP等通路存在交叉调控, 提示多通路协同机制的存在。未来研究需进一步解析Notch/Hes1/DLL4在时空特异性调控中的分子细节, 并探索靶向该通路的精准干预策略, 为骨代谢疾病治疗及骨缺损修复提供新思路。

关键词 成血管–成骨耦联; Notch/Hes1/DLL4信号通路; 骨修复; H型血管; 骨缺损

Research Progress on the Mechanism of Promoting Osteogenesis through Vascular Osteogenic Coupling based on Notch/Hes1/DLL4 Signaling Pathway

PENG Randong, LIU Hongxi, YANG Wenbo, ZHOU Jun, WANG Yulei, YANG Yang, YIN Xuesong, BI Junwei*

(Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Gansu 730050, China)

Abstract Vascular osteogenic coupling is a core process in bone repair and regeneration, providing critical support for the steady-state reconstruction of bone tissue by coordinating the dynamic balance between angiogenesis and bone formation. The Notch signaling pathway, along with its key effector molecule Hes1 and ligand DLL4, plays a crucial regulatory role in this process. As an important ligand of the Notch pathway, DLL4 can promote osteogenic differentiation by enhancing H-type vessel formation under mechanical stimuli (such as stretching) or chemical induction. H-type vessels, as a specific vascular subtype, directly couple angiogenesis and bone formation through the secretion of factors such as VEGF and BMP2 in bone defect models, activation of the Notch/Hes1/DLL4 pathway can significantly enhance the expression of osteogenic markers and angiogenic factors, thereby improving bone microstructure and mechanical properties. The Notch signal is cross regulated with pathways such as PI3K/AKT and BMP, indicating the existence of a multi pathway synergistic mechanism. Future research needs to analyze the molecular details of Notch/Hes1/DLL4 in spatiotemporal specific regulation, and explore precise intervention strategies targeting this pathway, providing new ideas for bone metabolism diseases and

收稿日期: 2025-04-08

接受日期: 2025-07-04

甘肃省中医药高水平重点课题(批准号: GZKG-2024-5)资助的课题

*通信作者。Tel: 17794204060, E-mail: pengrandong@163.com

Received: April 8, 2025

Accepted: July 4, 2025

This work was supported by the High Level Key Project of Traditional Chinese Medicine in Gansu Province (Grant No.GZKG-2024-5)

*Corresponding author. Tel: +86-17794204060, E-mail: pengrandong@163.com

bone defect repair.

Keywords vascular osteogenic coupling; Notch/Hes1/DLL4 signaling pathway; bone repair; H-shaped blood vessels; bone defect

骨缺损修复是骨科领域亟待解决的临床难题,其病理核心在于骨代谢失衡导致的成骨-破骨偶联失调及血管化不足。近年来,成血管-成骨耦联机制逐渐成为骨再生研究的前沿方向,其中Notch/Hes1(hairy and enhancer of split 1)/DLL4信号通路通过调控间充质干细胞分化、血管内皮细胞功能及骨形成相关基因表达,在骨稳态维持中发挥关键作用^[1]。骨缺损导致的骨代谢失衡以成骨不足为特征,传统治疗手段因药物副作用或疗效局限难以满足临床需求。骨组织再生依赖于成骨细胞介导的骨形成与血管内皮细胞主导的血管新生之间的动态平衡,这一过程被称为成血管-成骨耦联^[2]。Notch信号通路通过Hes1、DLL4等效应分子,不仅调控间充质干细胞向成骨细胞分化,还可通过上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等促血管生成因子表达,实现血管网络构建与骨基质沉积的时空协调^[3]。ZOU等^[4]研究发现,在牵张刺激下,骨髓间充质干细胞(bone marrow stem cells, BMSCs)通过Notch1受体激活DLL4表达,促使Hes1入核并上调碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性,促进成骨分化。这种机械-化学信号的整合机制,为理解力学刺激促进骨再生提供了分子层面的解释。Notch信号对成血管-成骨耦联的调控具有双向性:一方面,DLL4通过旁分泌作用促进内皮细胞出芽及血管成熟,为骨组织提供氧和营养支持;另一方面,Hes1通过抑制PPAR γ 通路减少脂肪分化,同时激活Runx2等成骨关键转录因子^[5]。Notch信号也与其他骨代谢相关通路存在复杂交互,如与Wnt/ β -catenin协同促进骨祖细胞增殖,与BMP/Smad通路竞争性调控间充质干细胞分化命运,这种网络式调控模式为多靶点药物开发提供了理论依据^[6]。本文拟从该通路在成血管与成骨协同调控中的分子机制出发,系统阐述其在骨修复领域的研究进展。

1 Notch/Hes1/DLL4信号通路

1.1 通路组成

Notch受体家族包含Notch1-4四种I型跨膜蛋白,其结构特征决定信号转导机制。受体胞外区由

29~36个表皮生长因子样重复序列构成配体结合域,近膜区包含Lin12重复序列及异源二聚化结构域。在未激活状态下,Notch受体以前体形式存在,经Furin蛋白酶在跨膜区S1位点切割后形成成熟的异源二聚体^[7-8]。当相邻细胞表面的Delta样配体DLL4与受体结合时,DLL4通过机械牵引力诱导受体构象改变,触发ADAM金属蛋白酶在胞外区近膜处S2位点的二次切割,释放胞外结构域。随后 γ -分泌酶复合物在跨膜区S3位点进行第三次切割,最终释放具有转录活性的Notch胞内结构域(Notch1 intracellular domain, NICD)^[9]。NICD进入细胞核后,与DNA结合蛋白CSL[CBF1/RBP-J κ /Su(H)/Lag-1]形成复合物,招募MAML等共激活因子,启动靶基因转录。Hes1作为典型下游效应因子,属于碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)转录抑制因子家族。其蛋白结构包含Orange结构域和WRPW基序,可通过二聚化抑制神经分化基因如*Mash1*等的表达,维持干细胞未分化状态^[10]。Hes1自身启动子含有CSL结合位点,形成负反馈调节环路,这种自调控机制导致Hes1表达呈现周期性振荡,在神经前体细胞的时间模式调控中起关键作用。DLL4作为Notch通路的重要配体,属于DSL(Delta/Serrate/LAG-2)蛋白家族,其胞外区含有典型的DSL结构域和8个EGF样重复序列^[11]。与其他配体相比,DLL4具有更强的受体激活能力,在血管尖端细胞中特异性高表达,通过“横向抑制”机制(横向抑制是通过细胞间信号传递,限制相邻细胞采取相同分化方向的关键调控策略,在血管生成中由DLL4主导,保障复杂结构的精准形成)调控内皮细胞分化方向^[12]。

1.2 通路活化

Notch/Hes1/DLL4信号通路的活化始于相邻细胞间的配体-受体相互作用。当表达DLL4的信号细胞与邻近细胞表面Notch受体接触时,受体胞外域的EGF样重复序列与DLL4的DSL结构域特异性结合,触发受体构象改变。这种物理接触是通路激活的必要条件,强调了细胞间直接接触在信号传递中的核心地位^[13]。配体结合后,Notch受体经历两次连续的蛋白水解切割过程。ADAM家族金属蛋白酶在胞外

域S2位点实施切割,释放胞外片段。该过程解除受体自抑制状态,暴露跨膜区结构。随后, γ -分泌酶复合物在跨膜区S3位点进行切割,释放具有转录活性的Notch胞内结构域(NICD)^[14]。NICD通过核定位信号快速转运至细胞核,与DNA结合蛋白CSL形成复合物,并募集MAML等共激活因子,共同启动下游靶基因转录^[15]。*Hes1*基因作为经典Notch信号靶点在此阶段被激活。*Hes1*蛋白属于bHLH转录抑制因子,通过结合E-box序列抑制神经分化基因及自身启动子,形成负反馈环路。这种自我调节机制导致*Hes1*表达呈现周期性振荡,使细胞维持未分化状态并动态响应微环境信号^[16]。值得注意的是,*Hes1*同时调控*DLL4*表达,构成正反馈回路——活化的Notch信号通过上调*Hes1*抑制相邻细胞*DLL4*表达,这种横向抑制机制在细胞命运决定中起关键作用。*DLL4*在该通路中具有双重调节功能。作为Notch配体,其表达水平直接影响信号传递强度^[17]。活化的Notch信号通过*Hes1*抑制*DLL4*转录,形成细胞自主性调节。同时,*DLL4*蛋白经历泛素化修饰后被内吞降解,这种配体内化过程产生机械拉力,促进Notch受体激活。这种配体循环利用机制使信号细胞能动态调控配体可用性,实现信号传递的时空精准控制^[18]。该通路的活化强度受多层面调控。配体-受体结合亲和力受糖基转移酶Fringe家族修饰影响,通过改变Notch受体糖基化模式调节其对不同配体的响应特性。表观遗传修饰如组蛋白乙酰化可调节*Hes1*启动子可及性,而microRNA通过靶向*NICD*或*Hes1* mRNA实现转录后调控^[19-20]。

2 成血管-成骨耦联机制

骨组织再生过程中,血管生成与骨形成呈现高度协同的时空耦联特征,这种独特的生物学现象被称为成血管-成骨耦联。其核心机制在于血管内皮细胞与成骨细胞之间通过复杂的分子对话构建起精密的功能网络,为骨形成提供结构支撑与微环境调控^[21]。在骨修复的初始阶段,局部缺氧微环境激活HIF-1 α 信号通路,诱导内皮细胞大量分泌VEGF。这种关键生长因子不仅直接促进血管新生,更通过旁分泌途径作用于间充质干细胞表面的VEGFR2受体,触发下游PI3K/AKT/mTOR信号级联反应,显著提升Runx2、Osterix等成骨转录因子的表达水平^[22]。此时形成的H型血管系统具有独特的形态特征,其管

壁内皮细胞持续分泌骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)等成骨诱导因子,在新生血管周围形成浓度梯度场。随着血管网络向骨缺损区域延伸,内皮细胞释放的PDGF-BB与CXCL12等趋化因子形成化学导航路径^[23]。这些信号分子引导表达CXCR4受体的成骨前体细胞定向迁移至骨形成区域。在此过程中,血管基底膜分泌的层粘连蛋白(Laminin-511)与整合素 $\alpha 6 \beta 1$ 的结合,不仅增强细胞黏附稳定性,还通过激活FAK/Src通路促进成骨细胞分化^[24]。血管腔形成的流体剪切力刺激内皮细胞分泌一氧化氮(nitric oxide, NO),该气体信号分子可穿透细胞膜直接作用于邻近的成骨细胞,上调碱性磷酸酶活性并促进钙结节沉积^[25]。在骨基质矿化阶段,新生血管系统发挥双重功能:一方面通过高效的物质运输保障钙磷离子供应;另一方面,血管周细胞通过细胞直接接触传递Wnt3a信号,激活成骨细胞内的 β -catenin通路,促进I型胶原合成与矿化核心形成^[26]。值得注意的是,血管内皮细胞膜表面表达的EphrinB2与成骨细胞表面的EphB4受体相互作用,建立双向信号转导,这种细胞间直接通讯可精确调节成骨速率与血管生成速度的同步性。Notch信号通路在其中也扮演关键枢纽角色。内皮细胞表达的Jagged1配体激活邻近间充质干细胞Notch受体后,诱导*Hes1*蛋白表达,该蛋白通过抑制Twist2维持成骨分化进程^[27]。同时,机械敏感离子通道Piezo1感知血管生成过程中的力学刺激,触发YAP/TAZ转录共激活因子入核,协同调控VEGF与BMP2的协同表达,形成正反馈调节环路。这种多维度、多层次的耦联机制在病理条件下尤为重要^[28]。在骨质疏松症大鼠模型中,H型血管密度降低导致成骨因子供应不足,造成骨形成-吸收失衡^[29]。

3 Notch/Hes1/DLL4信号通路在成血管-成骨耦联中的作用机制

3.1 DLL4介导的血管生成调控

DLL4作为Notch信号通路的核心配体,在血管生成与骨形成的动态耦联中发挥关键调控作用。其作用机制始于内皮细胞表面Notch受体与邻近细胞DLL4配体的特异性结合,这一过程通过细胞间接触依赖性信号转导形成空间定位精确的调控网络^[30]。当DLL4激活Notch受体后,触发 γ -分泌酶介导的胞

内结构域剪切, 释放的NICD片段进入核内与RBP-J κ 转录因子结合, 启动*Hes1*等靶基因转录。这一级联反应产生的负反馈调控构成血管分支精细调控的分子基础^[31]。在血管新生过程中, DLL4通过建立“尖端-柄细胞”分化模式实现对血管分支的时空控制。微环境中的VEGF梯度诱导部分内皮细胞获得尖端细胞表型, 高表达DLL4的尖端细胞通过Notch信号抑制邻近细胞向尖端细胞分化, 促使其维持柄细胞特性。这种侧向抑制机制不仅决定血管分支间距, 还通过调节血管内皮细胞生长因子受体1(vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR1)表达控制VEGF信号敏感性^[32]。DLL4的梯度表达差异导致不同区域内皮细胞对促血管生成因子的响应阈值分化, 形成自组织化的血管网络模式。DLL4的调控作用延伸至血管成熟阶段。通过上调Nrp1表达增强Wnt/ β -catenin信号, 促进周细胞募集和基底膜形成。同时, DLL4-Notch信号通过抑制内皮细胞增殖相关基因(如*Cyclin D1*)表达, 将内皮细胞从增殖状态转换为成熟表型^[33]。这种双重调控确保新生血管在形成功能性管腔结构的同时建立稳定的微环境, 为后续成骨过程提供必要的机械支撑和信号传递基础^[19]。在成血管-成骨耦联中, DLL4介导的血管生成通过多重机制影响骨形成。首先, 规则排列的血管网络为骨祖细胞提供定向迁移的物理支架。其次, 血管内皮细胞分泌的BMP2、PDGF-BB等因子通过旁分泌途径激活间充质干细胞的成骨分化程序^[34]。AMORE等^[35]研究发现, DLL4高表达的血管区域中, 内皮细胞特异性分泌的Noggin拮抗剂可解除BMP信号抑制, 促进局部骨形成。此外, 血管生成过程中机械应力变化通过integrin-FAK通路激活Runx2转录因子, 直接调控成骨相关基因表达。骨缺损修复早期, 低氧微环境通过HIF-1 α 诱导DLL4瞬时高表达, 促进快速血管化; 随着氧分压恢复, DLL4表达下调促使血管进入重塑期。这种振荡式调控模式与骨形成过程的阶段性需求精确匹配, 确保血管生成与骨再生在时间和空间上的协同^[36]。

3.2 DLL4信号调控H型血管

H型血管作为骨骼系统中独特的毛细血管亚型, 以共表达CD31和EMCN(Endomucin)为标志, 其空间分布与骨形成热点区域高度重叠, 构成血管-骨代谢耦联的解剖学基础^[37]。在H型血管形成过程中, DLL4通过Notch信号建立内皮细胞的功能异质

性。骨微环境中的低氧信号通过HIF-1 α 上调VEGF表达, 诱导特定区域内皮细胞向尖端细胞分化, 同时触发DLL4高表达。这些DLL4阳性的尖端细胞通过侧向抑制机制, 限制邻近细胞获得相同表型, 形成具有方向选择性的血管芽突^[38]。这种空间限制作用不仅决定H型血管的树状分支模式, 更通过调控内皮细胞代谢重编程, 维持其在低氧骨微环境中的存活与功能。H型血管的特殊功能与其独特的分子特征密切相关^[39]。DLL4-Notch信号通过双重机制塑造H型血管的成骨支持特性: 一方面激活Hey1/2转录因子, 上调PIGF、PDGF-BB等促血管生成因子分泌; 另一方面抑制Jagged1表达, 阻断促炎性内皮表型转化。这种分子调控网络使H型血管内皮细胞持续释放BMP2、Noggin等骨形态发生蛋白调节因子, 在局部形成促成骨微环境^[40]。LIU等^[41]研究显示, H型血管周围CD31⁺内皮细胞分泌的结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)可直接激活骨膜干细胞的Wnt/ β -catenin通路, 启动成骨分化程序。DLL4对H型血管的调控还体现在血管-骨单元的动态平衡中。在骨改建过程中, 破骨细胞分泌的Semaphorin 4D通过反向信号激活H型血管内皮细胞的Notch3受体, 触发DLL4表达上调。这种跨细胞对话促使H型血管向骨吸收区定向延伸, 为后续成骨细胞募集提供基质锚定位点^[42]。TALIB等^[43]研究证实, DLL4缺陷小鼠的H型血管无法形成规则的栅栏状排列, 导致骨小梁修复延迟。

3.3 Notch信号激活与Hes1的转录抑制功能

在成血管-成骨耦联的动态调控网络中, Notch信号通路通过精确的配体-受体交互作用构建了独特的分子调控框架。当DLL4配体与邻近细胞膜表面的Notch受体结合后, 受体经历 γ -分泌酶介导的两次蛋白水解切割, 释放出具有转录活性的Notch胞内结构域^[9]。这个关键的信号分子迅速转位至细胞核, 与转录因子CSL形成复合物, 进而招募组蛋白乙酰转移酶等共激活因子, 启动下游靶基因的转录程序^[11]。Hes1作为该通路的核心效应分子, 其表达受Notch信号直接调控。Hes1蛋白的bHLH结构域通过竞争性结合E-box元件, 有效抑制成骨分化关键调控因子Runx2、Osterix等基因的转录启动^[30-33]。这种抑制作用在间充质干细胞命运抉择中具有双重调控特征: 在早期阶段, Hes1通过抑制成骨特异性转录因子维持细胞未分化状态; 而在微环境信号动态变

化时,其表达水平的时序性波动可解除对成骨程序的压制^[44]。此外,DLL4介导的Notch信号在血管内皮细胞中展现出独特的时空表达模式。活化的内皮细胞通过旁分泌DLL4配体,触发邻近间充质干细胞Notch信号级联反应,形成跨细胞类型的信号传递网络。这种细胞间对话机制使得血管新生微环境中的力学信号与生化信号得以整合,通过Hes1的动态表达精确控制成骨前体细胞的分化节奏^[45]。CUI等^[33]研究发现,条件性敲除内皮细胞DLL4将导致骨髓间充质干细胞中Hes1表达显著下调,同时伴随过早的成骨分化表型。在分子互作层面,Hes1的转录抑制功能具有多层级调控特性。除直接结合靶基因启动子外,Hes1还可通过募集组蛋白去乙酰化酶等表观遗传修饰复合物,诱导局部染色质结构致密化。这种表观遗传调控机制与经典转录抑制形成协同效应,确保成骨相关基因在未分化状态下的长期沉默^[46]。而当机械应力或生长因子信号激活Smad通路时,磷酸化的Smad1/5/8可竞争性取代Hes1与共抑制因子的结合,从而解除其对成骨基因的抑制作用^[47]。

4 Notch/Hes1/DLL4信号通路与其他信号通路的相互作用

Notch/Hes1/DLL4信号通路作为胚胎发育和组织稳态的关键调控系统,其核心组分Hes1和配体DLL4通过与Wnt/ β -catenin、BMP/Smad、HIF-1 α 等多条信号通路的交叉对话,在血管-骨耦联中形成复杂的调控网络^[48]。

4.1 Wnt/ β -catenin信号通路

在骨祖细胞分化过程中,Notch信号通过Hes1介导的转录抑制机制与Wnt/ β -catenin通路形成动态平衡。当DLL4与邻近细胞Notch受体结合后, γ -分泌酶介导的胞内结构域(NICD)释放入核,激活Hes1表达^[49]。Hes1蛋白通过直接结合Runx2启动子区,抑制该成骨关键转录因子的表达,同时竞争性抑制 β -catenin/TCF复合体与靶基因结合位点的结合,形成对Wnt信号的跨通路抑制。这种双重抑制作用在间充质干细胞向成骨细胞分化过程中建立“分子刹车”机制,确保骨形成过程的可控性^[50]。

4.2 BMP信号通路

BMP信号通路在此调控网络中扮演桥梁角色。BMP通过Smad1/5/8磷酸化级联反应促进成骨分化,而活化的Smad复合体可物理性结合Hes1蛋白,解除

其对Runx2的转录抑制。这种蛋白互作形成Notch-BMP信号通路的时空协同:在骨祖细胞增殖期,Notch信号维持细胞未分化状态;当BMP信号强度超过阈值时,Smad介导的Hes1失活触发成骨分化程序^[51]。NOVAK等^[36]研究发现,条件性敲除骨细胞DLL4导致BMP2诱导的异位骨化显著增强,证实了两条通路的拮抗关系。

4.3 PDGF-BB/PDGFR β

在血管-骨界面,Notch信号与PDGF-BB/PDGFR β 通路形成双向调节。内皮细胞分泌的PDGF-BB通过激活周细胞PDGFR β 促进血管稳定性,而Notch信号通过调控PDGF-BB的旁分泌水平影响血管成熟度^[11]。反之,PDGFR β 下游的PI3K/AKT通路可磷酸化NICD,增强其转录活性。这种正反馈机制在骨折愈合早期促进血管化软骨痂形成,而在重塑期通过上调DLL4表达加速硬骨痂转化^[52]。

4.4 整合素 $\alpha 5 \beta 1$ /PI3K通路

流体剪切力通过整合素 $\alpha 5 \beta 1$ /PI3K通路诱导骨细胞DLL4表达,激活Notch信号抑制Sost表达,进而解除Sost对Wnt通路的抑制。这种力化学转导机制将力学刺激转化为生化信号,在骨塑形过程中协调血管侵入与骨重建^[53]。STELLPFLUG等^[54]的实验表明,成骨细胞特异性Hes1缺失小鼠在机械负荷下出现异常血管增生和骨小梁结构破坏。

5 临床转化及存在问题

近年来,Notch/Hes1/DLL4信号通路在成血管-成骨耦联中的作用机制逐渐成为骨代谢研究的热点。这一通路通过调控血管新生与成骨分化的动态平衡,在骨修复、再生及病理状态中展现出复杂的生物学功能。然而,其临床转化面临多重挑战。核心难点在于其功能的高度情境依赖性:Notch既能促进间充质干细胞向成骨细胞分化,也可能在特定阶段或过度激活时反而抑制成骨并维持干细胞状态,这种双向性使得治疗窗口难以精确界定。另外,靶向干预的精准度是重大障碍。Notch通路涉及多种受体和配体,它们在骨修复不同阶段和细胞类型中表达各异并可能起相反作用。开发能选择性调控特定受体/配体组合,且仅在缺损局部有效发挥作用的药物或基因疗法极其困难。此外,剂量控制至关重要,轻微偏差即可能导致疗效丧失或严重脱靶效应。体内递送效率低下也是瓶颈,如何将调控分子

高效、稳定且持续地递送至骨缺损部位并作用于目标细胞,同时避免全身毒性,是显著障碍。最后,Notch与其他关键骨修复通路(如BMP、Wnt)存在广泛交互作用,单一靶向Notch可能无法充分协调复杂的再生网络。这些因素共同构成了Notch通路从机制研究迈向骨缺损有效临床治疗的鸿沟。此外,DLL4在肿瘤血管生成中的促血管作用与骨修复中的生理性血管化存在矛盾,这一矛盾性并非孤立存在,而是由力学微环境(如基质刚度、流体剪切力)与生化信号协同调控。骨再生初期,高刚度(>30 kPa)的骨基质通过整合素-FAK通路激活机械敏感转录因子YAP/TAZ,上调DLL4表达。生理性层流剪切力(如骨骼微血管的1~10 dyn/cm²)通过激活BMP/Smad通路,与DLL4-Notch信号形成正反馈^[55]。BMP2诱导的Smad1/5磷酸化与NICD协同提高成骨分化效率;同时,剪切力刺激内皮细胞DLL4表达,促进血管成熟,为新生骨组织提供氧气和营养支持。机械拉伸力通过机械门控离子通道Piezo1引发钙内流,激活钙调蛋白依赖性激酶II(calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII),后者磷酸化并稳定NICD,进一步放大DLL4-Notch信号,加速骨痂形成^[56]。在肿瘤微环境中,异常的力学信号(如纤维化硬基质、高间质液压)重塑DLL4的功能,使其从“修复者”转为“破坏者”。肿瘤组织纤维化导致局部刚度升高(如乳腺癌中>20 kPa),通过整合素-PYK2信号激活肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs),上调其DLL4表达。DLL4与肿瘤细胞Notch3结合,诱导上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),增强侵袭能力;同时,DLL4过表达促使内皮细胞形成杂乱血管网络,加剧缺氧和免疫抑制。肿瘤间质液的高剪切力(>20 dyn/cm²)通过TRAIL-R2/DR5通路诱导肿瘤细胞凋亡抵抗,同时激活内皮细胞DLL4-Notch1信号,导致血管通透性增加,促进循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)外渗^[57]。此外,剪切力通过YAP/TAZ-DLL4轴维持肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)的干性^[58]。如何精准调控其表达以避免脱靶效应是未来研究的重点。未来,基于Notch/Hes1/DLL4通路的治疗策略有望通过多模态干预实现成血管-成骨耦联的精准调控。

参考文献 (References)

[1] YANG Q, LIU S, LIU H, et al. A new paradigm in bone tissue

- biomaterials: enhanced osteogenesis-angiogenic coupling by targeting H-type blood vessels [J]. *Biomaterials*, 2025, 324: 123423.
- [2] SHAN X, YUAN X, WU X. An electrospun DFO-loaded microsphere/SAIB system orchestrates angiogenesis-osteogenesis coupling via HIF-1 α activation for vascularized bone regeneration [J]. *Polymers*, 2025, 17(11): 1538.
- [3] WANG Z, ZHU P, LI H, et al. Sodium hyaluronate-PDGF repairs cartilage and subchondral bone microenvironment via HIF-1 α -VEGF-Notch and SDF-1-CXCR4 inhibition in osteoarthritis [J]. *J Cell Mol Med*, 2025, 29(7): e70515.
- [4] ZOU J, DU C, LIU S, et al. Notch1 signaling regulates Sox9 and VEGFA expression and governs BMP2-induced endochondral ossification of mesenchymal stem cells [J]. *Genes Dis*, 2024, 12(3): 101336.
- [5] DILAWAR M, YU X, JIN Y, et al. Notch signaling pathway in osteogenesis, bone development, metabolism, and diseases [J]. *FASEB J*, 2025, 39(4): e70417.
- [6] WILSON H M, BUCKLES M A, ACEVEDO P K, et al. Notch signaling in osteoblast progenitor cells is required for BMP-induced bone formation [J]. *Bone*, 2025, 194: 117425.
- [7] ZHU L, LUO Y, LIU Y, et al. *Clostridium butyricum* ameliorates indomethacin-induced enteropathy by promoting MUC2 secretion via suppressing the Notch pathway [J]. *Front Microbiol*, 2025, 16: 1509876.
- [8] SAADH M J, OMAR T M, BALLAL S, et al. Notch signaling and cancer: insights into chemoresistance, immune evasion, and immunotherapy [J]. *Gene*, 2025, 14(21): 149461.
- [9] ALI D E, SWEILAM S H, ATWA A M, et al. HPLC-HRMS/MS and anti-inflammatory effects of bunya pine resin through multifaceted pathway modulation: NUMB/NOTCH1/HES1/mTOR/PI3K/HMGB1 signaling cascades [J]. *Inflammopharmacology*, 2025, 9(22): 1461-82.
- [10] WU J, ZHANG J, SHU W, et al. *Taraxacum sinicum* Kitag. (Binpu-3) root extract inhibits tumor invasion via Notch signaling in *Drosophila* and human breast cancer MDA-MB-231 cells [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1494545.
- [11] WU Y, WANG Q, ZHU W, et al. NOTCH pathway was involved in Kaempferol 3-O-gentiobioside attenuated airway inflammation and mucus hypersecretion [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 10383.
- [12] LIU S, WU H, ZHANG P, et al. NELL2 suppresses epithelial-mesenchymal transition and induces ferroptosis via notch signaling pathway in HCC [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 10193.
- [13] SONG L, ZHANG Q, SUI H, et al. Recent advances in synthetic notch receptors for biomedical application [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2025, 13(8): 783657.
- [14] WANG J, YAN K, MA L, et al. Notch signaling pathway interfering as a possible asthma treatment: a narrative review [J]. *J Asthma Allergy*, 2025, 18: 437-46.
- [15] ZHONG W, XU L, JIANG G, et al. Sodium tanshinone IIA sulfonate promotes proliferation and differentiation of endogenous neural stem cells to repair rat spinal cord injury via the Notch pathway [J]. *J Transl Med*, 2025, 23(1): 367.
- [16] LIU Z, LEI Y, ZUO J, et al. Activated Notch1 promotes macrophage polarization and exacerbates sepsis-induced acute lung injury via β -catenin/NF- κ B signaling. *Biochem Pharmacol* [J]. 2025, 236(19): 116892.
- [17] CHENG Y, SUN Q, CHEN Y, et al. DTX3 suppresses blad-

- der cancer cell invasion and metastasis by inhibiting the Notch signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 153(28): 114529.
- [18] SUN Y, ZHENG W, LIU X, et al. Kindlin-3 promotes angiogenesis via Notch signalling and is crucial for functional recovery postmyocardial infarction [J]. *J Cell Mol Med*, 2025, 29(6): e70494.
- [19] ZHANG K, WANG X, LIU F, et al. miR-34a-5p modulation of polycystic ovary syndrome via targeting the NOTCH signaling pathway [J]. *J Ovarian Res*, 2025, 18(1): 55.
- [20] LEMMEX A C D, ALLRED J, OSTERGARD J, et al. Single-chain nanobody inhibition of Notch and avidity enhancement utilizing the β -pore-forming Toxin aerolysin [J]. *ACS Chem Biol*, 2025, 20(3): 656-69.
- [21] 樊佳煊, 张维, 崔瑞, 等. miRNA调控H型血管在骨代谢疾病中的作用机制及中药活性成分干预作用研究进展[J]. *中国药理学通报* (FAN J X, ZHANG W, CUI R, et al. Research progress on the mechanism of iRNA regulation of H-type blood vessels in bone metabolism diseases and the intervention effect of traditional Chinese medicine active ingredients [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*), 2025, 41(4): 606-12.
- [22] 朱甜甜, 吾西坤·吾然, 何惠宇. 成血管-成骨耦联相关因子在骨缺损中的研究进展[J]. *中国医疗美容* (ZHU T T, WUXIKUN W R, HE H Y. Research progress on vascular osteogenic coupling related factors in bone defects [J]. *Chinese Journal of Medical Aesthetics*), 2025, 15(2): 99-102.
- [23] 谢庆晟, 于海洋, 马涛, 等. 外泌体在成血管成骨耦联中作用的研究[J]. *中国骨质疏松杂志* (XIE Q S, YU H Y, MA T, et al. Study on the role of extracellular vesicles in vascular osteogenic coupling [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*), 2024, 30(12): 1810-4.
- [24] 干霖, 李玉才, 赵超前, 等. 负载SVVYGLR多肽的骨支架对血管生成和成骨分化的促进作用[J]. *脊柱外科杂志* (GAN L, LI Y C, ZHAO C Q, et al. The promoting effect of bone scaffolds loaded with SVVYGLR peptides on angiogenesis and osteogenic differentiation [J]. *Journal of Spinal Surgery*), 2024, 22(5): 313-20.
- [25] CHU M, ZHANG Y, YE M, et al. Yi Shen Tiao Gan decoction alleviates aromatase inhibitor-related bone loss by promoting H-type vessel formation [J]. *Transl Oncol*, 2025, 55(19): 102377.
- [26] 田佳庆, 刘良燕, 彭鹏, 等. 基于“成骨-成血管”理论探讨全身振动疗法治疗激素性股骨头坏死的效果及作用机制[J]. *中医正骨* (TIAN J Q, LIU L Y, PENG P, et al. Exploring the effect and mechanism of whole-body vibration therapy on steroid induced osteonecrosis of the femoral head based on the theory of “osteogenesis angiogenesis” [J]. *Traditional Chinese Medicine Orthopedics*), 2024, 36(9): 59-68,82.
- [27] 陈景昕. 桃仁-红花药对对骨缺损成骨成血管的作用研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2024.
- [28] 张华, 何琪, 杨均政, 等. 内皮细胞Piezo1调控H型血管生成在骨质疏松症病理机制中的意义[J]. *中国骨质疏松杂志* (ZHANG H, HE Q, YANG J Z, et al. The significance of Piezo1 regulation of H-type angiogenesis by endothelial cells in the pathological mechanism of osteoporosis [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*), 2024, 30(6): 875-9.
- [29] 卫愉轩. 3D打印促成骨和成血管多肽修饰水凝胶支架修复骨缺损的实验研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2024.
- [30] PEREPLETCHIKOVA D, KUCHUR P, BASOVICH L, et al. Endothelial-mesenchymal crosstalk drives osteogenic differentiation of human osteoblasts through Notch signaling [J]. *Cell Commun Signal*, 2025, 23(1): 100.
- [31] PEREPLETCHIKOVA D, MALASHICHEVA A. Communication between endothelial cells and osteoblasts in regulation of bone homeostasis: Notch players [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2025, 16(1): 56.
- [32] RESUELA-GONZALEZ J L, GONZALEZ-GOMEZ M J, RODRIGUEZ-CANO M M, et al. NOTCH1, 2, and 3 receptors enhance osteoblastogenesis of mesenchymal C3H10T1/2 cells and inhibit this process in preosteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *Differentiation*, 2025, 142(32): 100837.
- [33] CUI L, MAI Z, LU Y, et al. Laboratory investigation of METTL7A driving MSC osteogenic differentiation through YAP1 translation enhancement via eIF4F recruitment [J]. *Int Endod J*, 2025, 58(4): 587-603.
- [34] RODRIGUEZ-CANO M M, GONZALEZ-GOMEZ M J, MONSALVE E M, et al. DLK1 and DLK2, two non-canonical ligands of NOTCH receptors, differentially modulate the osteogenic differentiation of mesenchymal C3H10T1/2 cells [J]. *Biol Res*, 2024, 57(1): 77.
- [35] AMORE E, CENNI V, PIAZZI M, et al. Myoblast-derived Galectin 3 impairs the early phases of osteogenesis affecting Notch and Akt activity [J]. *Biomolecules*, 2024, 14(10): 1243.
- [36] NOVAK S, TANIGAWA H, SINGH V, et al. Endothelial to mesenchymal Notch signaling regulates skeletal repair [J]. *JCI Insight*, 2024, 9(12): e181073.
- [37] 张华, 何琪, 杨均政, 等. 内皮细胞Piezo1调控H型血管生成在骨质疏松症病理机制中的意义[J]. *中国骨质疏松杂志* (ZHANG H, HE Q, YANG J Z, et al. The significance of Piezo1 regulation of H-type angiogenesis by endothelial cells in the pathological mechanism of osteoporosis [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*), 2024, 30(6): 875-9.
- [38] XU Z, KUSUMBE A P, CAI H, et al. Type H blood vessels in coupling angiogenesis-osteogenesis and its application in bone tissue engineering [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2023, 111(7): 1434-46.
- [39] 赵常红, 关彩萍. H型血管在骨构建和重塑中的作用机制[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志* (ZHAO C H, GUAN C P. The mechanism of H-shaped blood vessels in bone construction and remodeling [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Diseases*), 2023, 16(4): 404-12.
- [40] TEFFT J B, BAYES J L, LAMMERS A, et al. Notch1 and Notch3 coordinate for pericyte-induced stabilization of vasculature [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2022, 322(2): C185-96.
- [41] LIU L, ZHOU N, FU S, et al. Endothelial cell-derived exosomes trigger a positive feedback loop in osteogenesis-angiogenesis coupling via up-regulating zinc finger and BTB domain containing 16 in bone marrow mesenchymal stem cell [J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 721.
- [42] ZHAO K, ZHU G Z, LI H Z, et al. Accumulation of advanced oxidation protein products promotes age-related decline of type H vessels in bone [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2024, 80(1): 271.
- [43] TALIB AL-SUDANI B, AL-MUSAWI M H, KAMIL M M, et al. Vasculo-osteogenic keratin-based nanofibers containing merwin-

- ite nanoparticles and sildenafil for bone tissue regeneration [J]. *Int J Pharm*, 2024, 667(11): 124875.
- [44] ZHANG Y, LI M, ZHANG H, et al. 3D-printed intelligent photo-thermal conversion Nb₂C MXene composite scaffolds facilitate the regulation of angiogenesis-osteogenesis coupling for vascularized bone regeneration [J]. *Mater Today Bio*, 2025, 31(11): 101647.
- [45] YAN C, ZHANG P, QIN Q, et al. 3D-printed bone regeneration scaffolds modulate bone metabolic homeostasis through vascularization for osteoporotic bone defects [J]. *Biomaterials*, 2024, 311(29): 122699.
- [46] ZHU S, CHEN W, MASSON A, et al. Cell signaling and transcriptional regulation of osteoblast lineage commitment, differentiation, bone formation, and homeostasis [J]. *Cell Discov*, 2024, 10(1): 71.
- [47] LIU W, ZOU M, CHEN M, et al. Hypoxic environment promotes angiogenesis and bone bridge formation by activating Notch/RBPJ signaling pathway in HUVECs [J]. *Genomics*, 2024, 16(3): 110838.
- [48] ZHANG Z, XU W, ZHANG Z, et al. The bone-protective benefits of kaempferol combined with metformin by regulation of osteogenesis-angiogenesis coupling in OVX rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173: 116364.
- [49] PERRIN S, ETHEL M, BRETEGNIER V, et al. Single-nucleus transcriptomics reveal the differentiation trajectories of periosteal skeletal/stem progenitor cells in bone regeneration [J]. *eLife*, 2024, 13(9): RP92519.
- [50] WEI L, XIE Y, YU P, et al. Bioinformatics analysis and validation of RNA methylation-related genes in osteogenic and adipogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2024, 739(12): 150570.
- [51] XIA Z, ZHANG H, LI Q, et al. The biomimetic electrical stimulation system inducing osteogenic differentiations of BMSCs [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2024, 16(42): 56730-43.
- [52] HANKENSON K D, GAGNE K, SHAUGNESSY M. Extracellular signaling molecules to promote fracture healing and bone regeneration [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 94(12): 3-12.
- [53] ZHANG C, HONG F F, WANG C C, et al. TRIB3 inhibits proliferation and promotes osteogenesis in hBMSCs by regulating the ERK1/2 signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10342.
- [54] STELLPFLUG A, CARON J, FASCIANO S, et al. Bone-derived nanoparticles (BNPs) enhance osteogenic differentiation via Notch signaling [J]. *Nanoscale Adv*, 2024, 7(3): 735-47.
- [55] WANG Y, LI W, GUO Y, et al. Mitochondria transplantation to bone marrow stromal cells promotes angiogenesis during bone repair [J]. *Adv Sci*, 2024, 11(39): e2403201.
- [56] CAO L, SUN K, ZENG R, et al. Adipose-derived stem cell exosomal miR-21-5p enhances angiogenesis in endothelial progenitor cells to promote bone repair via the NOTCH1/DLL4/VEGFA signaling pathway [J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 1009.
- [57] KATOH M, KATOH M. Precision medicine for human cancers with Notch signaling dysregulation [J]. *Int J Mol Med*, 45(2): 279-97.
- [58] CHA S, KIM H G, JANG H, et al. Steppogenin suppresses tumor growth and sprouting angiogenesis through inhibition of HIF-1 α in tumors and DLL4 activity in the endothelium [J]. *Phytomedicine*, 2023, 108(14): 154513.