

流体剪切力刺激下破骨细胞 不同分化阶段的钙响应及其信号传导机制

霍波^{1,2}, 李平^{2,3}, 张丁³

1. 北京理工大学宇航学院, 北京市中关村南大街5号, 100081;

2. 中国科学院力学研究所, 北京市北四环西路15号, 100190; 3. 北京协和医院口腔科, 100730

Email: huobo@bit.edu.cn; Tel: 15001035101

力学因素可参与调控骨的结构, 而破骨细胞所主导的骨吸收过程是最为关键的问题之一。已有研究表明, 破骨细胞的钙振荡现象及其下游通路是调控破骨细胞分化及发挥其骨吸收功能的主要途径, 但尚无人研究力学刺激(特别是流体剪切力)所导致的钙振荡现象。此文工作的主要目标是检测流体剪切力作用下破骨前体细胞在融合分化过程不同阶段的钙振荡特性以及钙信号的传导机制。

使用 MC3T3-E1 细胞的条件培养液诱导 RAW264.7 细胞形成破骨细胞, 并在不同诱导时间(0, 4, 8 天)检测破骨细胞的抗酒石酸性磷酸酶(TRAP)、凋亡、细胞核数目与面积关系等。在以上不同时间点, 使用流动腔加载系统对破骨细胞施加大小为 1 或 10 dyne/cm² 的流体剪切力, 记录并分析细胞内钙离子浓度的动态变化。进而使用 7 种不同试剂分别阻断钙响应通路, 包括: 阻断细胞表面机械敏感钙离子通道(MSCC)、抑制细胞内磷酸酯酶 C(PLC)活性、阻断细胞表面电压敏感通道(L-VSCC)、消耗尽细胞内质网内钙离子、阻断细胞表面的 ATP 受体、阻断细胞的间隙连接、去除细胞外钙离子等。

研究结果表明成骨细胞 MC3T3-E1 的分泌物可诱导 RAW264.7 细胞形成 TRAP 阳性的多核破骨细胞, 且破骨细胞核数目与面积存在相关性, 因而可在钙染色图片中根据细胞面积判断其核数目。流体剪切力可诱发破骨细胞钙振荡的发生, 但分化后期的成骨细胞的钙振荡能力减弱。阻断 MSCC、PLC 或耗尽内质网中钙离子后, 细胞都不会对流体剪切力产生响应; 而在去除掉细胞外钙离子或阻断细胞表面 ATP 受体时, 部分细胞也会出现钙响应, 但一般只出现一个响应峰, 不会发生钙振荡; 阻断细胞的间隙连接和电压敏感通道后, 流体剪切力所诱发的破骨细胞钙振荡强度和形式与正常组相比无明显差别。

以上研究结果将有助于深入了解力致骨重建过程中破骨细胞是如何通过胞内钙离子浓度的变化来行使其骨吸收功能的(国家自然科学基金面上项目(30970707, 31070829))。