

流体剪切力对人牙周膜细胞作用的研究进展

马成华,张宇,景鹏举,李培武
兰州大学第二医院急救中心,甘肃 兰州 730000

【摘要】为了明确流体剪切力对牙周膜细胞的作用以及为后续相关研究提供理论依据,通过查阅文献发现流体剪切力可通过miRNA-132/PI3K/mTOR信号通路、ERK/p38/JNK MAPK信号通路和Wnt/LEF-1信号通路促进牙周膜细胞成骨分化,此外,还可调控牙周膜细胞的增殖,抑制细胞的迁移,还可影响炎症因子COX-2的表达。未来可进一步研究流体剪切力对牙周膜细胞确切的增殖效应及其具体机制。

【关键词】流体剪切力;牙周膜细胞;信号通路;细胞增殖;细胞分化;综述

【中图分类号】R782.1;R318

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2020)07-0908-04

Effects of fluid shear stress on human periodontal ligament cells: a review

MA Chenghua, ZHANG Yu, JING Pengju, LI Peiwu
Emergency Center, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730000, China

Abstract: The study aims to clarify the effects of fluid shear stress on periodontal ligament cells and provide a theoretical basis for subsequent related researches. By reviewing the related literatures, it is revealed that fluid shear stress can promote the osteogenic differentiation of periodontal ligament cells via miRNA-132/PI3K/mTOR signaling pathway, ERK/p38/JNK MAPK signaling pathway and Wnt/LEF-1 signaling pathway. In addition, fluid shear stress can also regulate the proliferation of periodontal ligament cells, inhibit cell migration, and affect the expression of inflammatory factor COX-2. In the future, the exact proliferation effect of fluid shear stress on periodontal ligament cells and its specific mechanism can be further studied.

Keywords: fluid shear stress; periodontal ligament cell; signaling pathway; cell proliferation; cell differentiation; review

前言

牙周膜(Periodontal Ligament, PDL)由PDL细胞、成纤维细胞、成牙骨质细胞、成骨细胞及破骨细胞构成,其中PDL细胞最多。暴露于机械应力的PDL细胞不仅积极响应机械应力刺激而且还会向周围细胞发出信号,因此,它们在PDL和周围组织重塑、再生和修复过程中发挥着重要作用。由牙齿和牙槽骨之间的扭转和剪切产生的剪切应力是PDL最常受到的机械应力类型。当牙齿和牙槽骨之间的压力增加时,加压的间质液在PDL细胞膜上流动产生流体剪切力(Fluid Shear Stress, FSS)。近年来,有关

FSS促进PDL细胞分化增殖等成为研究热点,为了明确FSS对PDL细胞的作用以及为后续相关研究提供理论依据,笔者通过查阅文献,了解到FSS对PDL细胞作用的具体机制,现拟从FSS的介绍、FSS对人PDL细胞分化的影响、FSS对人PDL细胞增殖的影响、FSS对人PDL细胞迁移的影响和FSS对人PDL细胞炎症因子表达的影响等方面作一综述。

1 FSS

组织液于压力负荷驱动下在人体各种细胞表面流动会产生一种流体源性的机械力,即FSS。研究表明FSS在调节多种细胞功能中起着重要作用,如FSS可通过激活细胞外信号激酶5(Extracellular Signal Regulated Kinase 5, ERK5)信号通路来促进成骨细胞的增殖^[1],可促进成骨细胞表达骨保护素(Osteoprotegerin, OPG)、核因子 κ -B配体受体致活剂(Receptor activator of nuclear factor κ -B ligand, RANKL)促进成骨,还可以通过NFATc1-ERK5信号通路促进成骨细胞表达骨形态发生蛋白(Bone

【收稿日期】2020-02-18

【基金项目】国家自然科学基金(81672207)

【作者简介】马成华,从事颌面外科研究, E-mail: machenghua2019@sohu.com

【通信作者】李培武,主任医师,从事急诊医学研究, E-mail: lipeiwu2019@sohu.com

Morphogenetic Protein 7, BMP7)等^[2]。PDL细胞在咀嚼和正畸牙齿移动期间,一直处于机械应力下,例如剪切、压缩和拉伸应力^[3-4]。这些应力负荷驱动间质液在PDL细胞周围的空間中流动,可对PDL细胞产生FSS。研究表明FSS可通过相关通路促进人PDL细胞的增殖及分化。

2 FSS对人PDL细胞分化的影响

2.1 FSS通过miRNA-132/PI3K/mTOR信号通路诱导PDL细胞分化

近年来基因表达的转录后调节因子受到广泛关注,如微小RNA(MicroRNA, miRNA),由19~25个核苷酸组成的非编码RNA,可与靶基因序列的非翻译区中的互补靶点相互作用,对靶信使RNA(Messenger RNA, mRNA)进行翻译抑制或去稳定化,在靶基因的转录后调控中发挥重要作用^[5]。先前的研究已经证明miRNA参与细胞增殖、细胞分化和细胞凋亡等生物学过程^[6]。研究表明miR-132在神经元树突分支和脊柱形成、肿瘤生长过程中的血管生成以及免疫调节和病毒复制等过程中起着核心作用^[7-8]。Kamata等^[9-10]使用抗坏血酸诱导PDL细胞,观察到碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase, ALP)、骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)、骨钙素(Osteocalcin, OCN)等PDL细胞分化标志物表达的增加。Qi等^[11]研究证实PDL细胞通过FSS诱导可以使这些分化标志物的表达增加,那么FSS诱导PDL细胞分化的具体机制是什么呢?研究发现FSS诱导的PDL细胞中的miR-132比未诱导组多3倍,同样,敲低PDL细胞中的miR-132可以抵消FSS对PDL细胞的诱导效应,这就说明miR-132在FSS诱导PDL细胞分化中起着关键作用^[11]。研究发现在FSS处理的PDL细胞中,磷脂酰肌醇-3激酶(Phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶B(Protein Kinase B, AKT)、雷帕霉素靶蛋白(Mammalian Target of Rapamycin, mTOR)和p70S6K蛋白的磷酸化水平显著增加,敲低miR-132或使用阻断剂BEZ235阻断PI3K/mTOR信号通路可抑制FSS对PDL细胞的分化效应,这表明miR-132可以激活mTOR信号传导途径,并且该途径对于用FSS诱导PDL细胞分化是至关重要的^[12]。另外一项研究也证实,FSS可通过增加miR-132的表达从而激活经典的mTOR信号通路,促进PDL细胞分化^[11]。在牙周伤口愈合过程中,PDL细胞的分化对牙槽骨和牙本质表面的修复至关重要^[13]。因此,控制PDL细胞中miR-132和mTOR信号传导途径之间的平衡可能具有潜在价值。

2.2 FSS通过ERK/p38/JNK MAPK信号通路诱导PDL细胞分化

丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPKs)被认为是细胞机械信号转导中涉及的主要成分^[14-15]。MAPKs由细胞外信号调节激酶1/2(Extracellular Signal Regulated Kinase, ERK1/2)、c-Jun N末端激酶、p38 MAPK和ERK5组成,可在特定丝氨酸/苏氨酸处被磷酸化^[16-17]。研究表明ERK1/2信号通路对FSS诱导的骨髓间充质干细胞(Bone Marrow Stromal Cells, BMSCs)的分化至关重要^[18],已证实p38 MAPK参与低强度脉冲超声诱导的人PDL细胞成骨分化^[19]。Tang等^[20]研究发现FSS使人PDL细胞的肌动蛋白丝变粗,成骨分化标志物RUNT相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, RUNX2)mRNA、SP7 mRNA、骨形态发生蛋白2(Bone Morphogenetic Protein 2, BMP2)mRNA和COL-1 mRNA均显著增加,ALP的活性也显著升高,并且在加载FSS后14~21 d发现细胞外基质的显著矿化(COL-1是细胞外基质的主要成分,其矿化是骨样结构形成所必需的过程)。这就说明FSS可诱导人PDL细胞成骨分化。那么FSS是否是通过ERK1/2和p38信号通路来诱导人PDL细胞成骨分化的呢?研究表明对人PDL细胞加载FSS后,ERK1/2和p38的表达水平显著增加,在分别使用ERK1/2和p38的阻断剂U0126和SB203580预处理后加载FSS后发现,PDL细胞的ALP、RUNX2、BMP2、SP7的表达水平显著下降,细胞外基质的矿化也随之降低。这就说明FSS是通过ERK1/2和p38信号通路来诱导人PDL细胞成骨分化的^[20]。这也得到了另一项研究的证实,Zheng等^[15]研究发现FSS可在5~10 min内快速激活ERK、P38和JNK。MAPKs抑制剂实验证明ERK参与FSS诱导PDL细胞基质金属蛋白酶1(Matrix Metalloproteinase-1, MMP-1)表达的增加,而P38介导了FSS诱导的基质金属蛋白酶2(Matrix Metalloproteinase-2, MMP-2)的表达。JNK通路由FSS激活,但其抑制剂未能阻断FSS诱导PDL细胞MMP-1和MMP-2表达的增加,这表明JNK途径可能介导FSS诱导的其他分子的表达^[15]。这也与MMP-1的张力刺激表达受ERK-NF kappa B信号传导途径的研究一致^[21]。这些发现表明FSS通过ERK/p38/JNK MAPK信号通路调节BMP2、COL-1、ALP、MMPs和金属蛋白酶抑制因子(Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinases, TIMPs)系统在牙周组织基质重塑中发挥作用,为进一步的牙齿组织工程提供科学依据。

2.3 FSS通过Wnt/LEF-1信号通路诱导PDL细胞分化

PDL细胞在成骨分化过程中可将感受到的力学刺激信号转化为细胞内化学信号,研究发现核内转录因子参与细胞内相关信号通路的调控^[22]。据报道Wnt/LEF-1信号通路可调控BMSCs成骨分化,促进成骨。之前的研究表明FSS可促进PDL细胞成骨分化,提示FSS也有可能通过Wnt/LEF-1信号通路调控PDL细胞分化。研究发现加载1.2 Pa的FSS、持续8 h后,LEF-1 mRNA的表达水平显著提高,这就说明FSS确实可以通过Wnt/LEF-1信号通路诱导PDL细胞成骨分化,对正畸过程中牙槽骨的改建与重塑发挥重要作用^[23]。

3 FSS对人PDL细胞增殖、迁移和炎症因子表达的影响

3.1 FSS对人PDL细胞增殖的影响

如前所述FSS可促进成骨细胞的增殖,而PDL细胞在咀嚼和正畸移动时常受到FSS的作用,FSS是否也可以促进PDL细胞增殖呢?据报道在6 h内加载固定增量(3-6-9-12-15 dyn/cm²)的FSS促进了PDL细胞的增殖^[11]。然而,Zheng等^[24]研究却得出了相反的结论,将PDL细胞暴露于6 dyn/cm²的FSS下12 h,使用MTT评估PDL细胞的活力发现,与对照组相比,FSS组的活细胞数更少。细胞周期分析显示,PDL细胞在加载FSS后S期减少和G₁期增加,造成这一结果的原因有可能是FSS促进PDL细胞凋亡而使细胞数量减少,在进一步使用TUNEL后却发现FSS组和对照组中并没有明显的细胞凋亡,这表明FSS能够抑制增殖而不诱导细胞凋亡^[24]。以上研究得出截然相反的结论可能有以下几个原因:首先,前者加载的最大FSS为15 dyn/cm²且加载时间仅为6 h^[11],而后的FSS仅为前者最大值的一半,时间为前者的2倍^[24]。较大的FSS不利于载玻片上的细胞存活,可能会因黏附不牢固而被流体冲走,导致细胞数减少;其次,可能是因为研究者们所使用的FSS加载模式及加载装置不同所致,毕竟FSS有多种加载模式可以选择;最后,也有可能是因为FSS对PDL细胞的增殖呈双相,在早期(前6 h)为促进作用,在后期(后6 h)为抑制作用。总之,通过研究不难发现,FSS对人PDL细胞的增殖有显著的作用,至于是正性还是负性作用有待后续的研究进一步证实。

3.2 FSS对人PDL细胞迁移的影响

最新的研究表明对PDL细胞加载6 dyn/cm²的FSS 12和24 h后,通过伤口愈合测定法测量PDL细

胞的迁移,发现FSS组的迁移距离更短,提示FSS可抑制PDL细胞的迁移^[24]。我们发现外力刺激对PDL细胞的迁移不利,也就是不利于牙周膜组织损伤的愈合,不利于正畸改建的重塑。

3.3 FSS对人PDL细胞炎症因子表达的影响

在牙齿正畸过程中,人PDL成纤维细胞可感受到力学的变化,在改建与重塑过程中起到重要作用^[25]。PDL成纤维细胞正常情况下可分泌少量的炎症因子,在受到外力刺激的情况下会释放大量炎症因子,参与重塑,如环氧合酶2(Cyclooxygenase 2, COX-2)是合成前列腺素E₂的限速酶,可激活前列腺素E₂,对牙齿正畸的改建与重塑至关重要^[26-27]。FSS作为牙齿正畸及咀嚼过程中所受的外力之一,对改建与重塑可能有调控作用。吴忱等^[28]研究发现牙周膜成纤维细胞在加载FSS后,其表达COX-2蛋白的水平明显升高,且FSS为12 r/min及加载时间为2 h时,COX-2蛋白的表达水平最高,这就表明FSS在牙齿正畸及咀嚼过程中可通过促进COX-2蛋白的表达调控改建与重塑。这也得到了另外一项研究的佐证,研究发现FSS加载6 h后COX-2的表达即升高,且发现纤维粘连蛋白对FSS促进COX-2的表达具有抑制作用,这为纤维粘连蛋白治疗力学刺激引起的牙周炎症反应奠定了实验基础^[29]。综上所述,FSS可通过影响炎症因子COX-2的表达影响正畸的改建与重塑,但是FSS作用于牙周膜成纤维细胞调控COX-2的上下游分子及相关信号通路还没有被阐述清楚,未来的研究可尝试阐述这种机制。

4 小结与展望

PDL细胞在牙齿咀嚼及正畸移动期间会受到FSS的刺激,这种力学刺激信号会经过相关信号通路的传导,调控PDL细胞的分化、增殖及迁移,对牙周的改建与重塑起着重要作用。研究表明FSS可通过miRNA-132/PI3K/mTOR信号通路、ERK/p38/JNK MAPK信号通路和Wnt/LEF-1信号通路促进PDL细胞成骨分化;FSS亦可调控PDL细胞的增殖,尽管这种增殖效应的正负性有待研究进一步证实;FSS还会抑制PDL细胞的迁移,这种效应不利于牙周膜组织损伤的愈合;FSS可通过影响炎症因子COX-2的表达影响正畸的改建与重塑。综上所述,近年来的研究阐明了FSS作用于PDL细胞的部分机制,但仍有部分问题亟待解决。未来可进一步研究FSS调控牙周膜成纤维细胞表达COX-2的上下游分子及相关信号通路以及FSS对调控PDL细胞增殖的确切效应及其机制。

【参考文献】

- [1] 张波, 杨利娟, 丁宁, 等. 震荡流体剪切力通过 ERK5 信号通路促进成骨细胞增殖[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(10): 1237-1240. ZHANG B, YANG L J, DING N, et al. Oscillating fluid shear stress promotes osteoblast proliferation through ERK5 signaling pathway[J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2016, 22(10): 1237-1240.
- [2] 丁宁, 闫亮, 万浪, 等. NFATc1-ERK5 通路介导流体剪切力促进成骨细胞 BMP7 表达[J]. 中国医学物理学杂志, 2018, 35(3): 358-363. DING N, YAN L, WAN L, et al. NFATc1-ERK5 pathway mediates fluid shear stress and promotes BMP7 expression in osteoblasts[J]. Chinese Journal of Medical Physics, 2018, 35(3): 358-363.
- [3] PAVASANT P, YONGCHAITRAKUL T. Role of mechanical stress on the function of periodontal ligament cells[J]. Periodontology, 2011, 56(1): 154-165.
- [4] WANG H C, THAMPATTY B P. An introductory review of cell mechanobiology[J]. Biomech Model Mechan, 2006, 5(1): 1-16.
- [5] HE L, HANNON G J. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation[J]. Nat Rev Genet, 2004, 5(7): 522.
- [6] AMBROS V. The evolution of our thinking about microRNAs[J]. Nat Med, 2008, 14(10): 1036-1040.
- [7] MANAVENDRA P, JUAN T R, LILY Y, et al. miR-132 enhances dendritic morphogenesis, spine density, synaptic integration, and survival of newborn olfactory bulb neurons[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e38174.
- [8] ANAND S, MAJETI B K, ACEVEDO L M, et al. MicroRNA-132 - mediated loss of p120RasGAP activates the endothelium to facilitate pathological angiogenesis[J]. Nat Med, 2010, 16(8): 909-914.
- [9] KAMATA N, FUJIMOTO R, TOMONARI M, et al. Immortalization of human dental papilla, dental pulp, periodontal ligament cells and gingival fibroblasts by telomerase reverse transcriptase[J]. J Oral Pathol Med, 2010, 33(7): 417-423.
- [10] KANZAKI H, CHIBA M, SHIMIZU Y, et al. Dual regulation of osteoclast differentiation by periodontal ligament cells through RANKL stimulation and OPG inhibition[J]. J Dent Res, 2001, 80(3): 887-891.
- [11] QI L, ZHANG Y. The microRNA 132 regulates fluid shear stress-induced differentiation in periodontal ligament cells through mTOR signaling pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 33(2): 433-445.
- [12] SEITZ C, HUGLE M, CRISTOFANON S, et al. The dual PI3K/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 and chloroquine synergize to trigger apoptosis via mitochondrial-lysosomal cross-talk[J]. Int J Cancer, 2013, 132(11): 2682-2693.
- [13] SHIMONO M, ISHIKAWA T, ISHIKAWA H, et al. Regulatory mechanisms of periodontal regeneration[J]. Microsc Res Tech, 2010, 60(5): 491-502.
- [14] LIEDERT A, KASPAR D, BLAKYTN Y R, et al. Signal transduction pathways involved in mechanotransduction in bone cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 349(1): 1-5.
- [15] ZHENG L, HUANG Y, SONG W, et al. Fluid shear stress regulates metalloproteinase-1 and 2 in human periodontal ligament cells: involvement of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and P38 signaling pathways[J]. J Biomech, 2012, 45(14): 2368-2375.
- [16] JOHNSON G L, LAPADAT R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases[J]. Science, 2002, 298(5600): 1911-1912.
- [17] RAMAN M, CHEN W, COBB M H. Differential regulation and properties of MAPKs[J]. Oncogene, 2007, 26(22): 3100-3112.
- [18] LIU L, SHAO L, LI B, et al. Extracellular signal-regulated kinase1/2 activated by fluid shear stress promotes osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells through novel signaling pathways[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2011, 43(11): 1591-1601.
- [19] REN L, YANG Z, SONG J, et al. Involvement of p38 MAPK pathway in low intensity pulsed ultrasound induced osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells[J]. Ultrasonics, 2013, 53(3): 686-690.
- [20] TANG M, PENG Z, MAI Z, et al. Fluid shear stress stimulates osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells via the extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2) and p38 MAPK signaling pathways[J]. J Periodontol, 2014, 85(12): 1.
- [21] KOOK S H, JANG Y S, LEE J C. Involvement of JNK-AP-1 and ERK-NF- κ B signaling in tension-stimulated expression of type I collagen and MMP-1 in human periodontal ligament fibroblasts[J]. J Appl Physiol, 2011, 111(6): 1575-1583.
- [22] KAHLER R A, GALINDO M, LIAN J, et al. Lymphocyte enhancer-binding factor 1 (Lef1) inhibits terminal differentiation of osteoblasts[J]. J Cell Biochem, 2006, 97(5): 969-983.
- [23] 张桂荣, 陈罗萍, 王雪, 等. 流体剪切力对人牙周膜细胞 LEF-1 mRNA 表达影响研究[J]. 中国实用口腔科杂志, 2015, 8(1): 32-35. ZHANG G R, CHEN L P, WANG X, et al. Effects of fluid shear stress on expression of LEF-1 mRNA in human periodontal ligament cells[J]. Chinese Journal of Practical Stomatology, 2015, 8(1): 32-35.
- [24] ZHENG L, CHEN L, CHEN Y, et al. The effects of fluid shear stress on proliferation and osteogenesis of human periodontal ligament cells[J]. J Biomech, 2016: S0021929016300641.
- [25] HAN X, AMAR S. IGF-1 signaling enhances cell survival in periodontal ligament fibroblasts vs. gingival fibroblasts[J]. J Dent Res, 2003, 82(6): 454-459.
- [26] JW V D. Effects of mechanical tension on matrix degradation by human periodontal ligament cells cultured in collagen gels[J]. J Periodontal Res, 2010, 38(5): 449-457.
- [27] PROFF P, RÖMER P. The molecular mechanism behind bone remodelling: a review[J]. Clin Oral Investig, 2009, 13(4): 355-362.
- [28] 吴忱, 张军梅. 不同流体剪切力对牙周膜成纤维细胞分泌 COX-2 的影响[J]. 贵州医科大学学报, 2016, 41(4): 441-445. WU Y, ZHANG J M. Effects of different fluid shear forces on secretion of COX-2 by periodontal ligament fibroblasts[J]. Journal of Guizhou Medical University, 2016, 41(4): 441-445.
- [29] 张广道, 洪岩松, 艾红军, 等. 纤维粘连蛋白与流体剪切力对体外培养的牙周膜成纤维细胞 COX-2 表达的影响[J]. 上海口腔医学, 2007, 16(3): 290-294. ZHANG G D, HONG Y S, AI H J, et al. Effects of fibronectin and fluid shear stress on the expression of COX-2 in cultured human periodontal ligament fibroblasts[J]. Shanghai Journal of Stomatology, 2007, 16(3): 290-294.

(编辑:陈丽霞)