

细胞内胆固醇含量对血管平滑肌细胞钙化的影响

刘 莎 韩 雪 郭维康 刁宗礼 刘文虎

摘 要 **目的** 探讨细胞内胆固醇含量对血管平滑肌细胞钙化的影响。**方法** 分别采用生长培养基(磷 1.4mmol/L)和钙化培养基(磷 3.0mmol/L),培养人脐静脉血管平滑肌细胞,使用甲基酚酞络合铜法检测细胞基质钙、比色法检测碱性磷酸酶活性、荧光酶标法检测细胞内胆固醇含量,茜素红 S 染色观察细胞基质钙盐沉积。在钙化培养基下,细胞给予不同浓度的胆固醇刺激,观察上述指标的变化。**结果** 与生长培养基比较,钙化培养基培养细胞 3 天、7 天时均能增加细胞基质钙、碱性磷酸酶活性和细胞内胆固醇含量,组间和组内差异有统计学意义($P < 0.05$),培养 14 天时茜素红染色显示大量染色阳性的钙质沉积。在钙化培养基下,分别添加 10、15、20、25 $\mu\text{mol/L}$ 胆固醇刺激细胞 72h,呈剂量依赖式地增加细胞基质钙、碱性磷酸酶活性和细胞内胆固醇含量,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。细胞内胆固醇含量与基质钙、ALP 活性呈正相关($P < 0.05$)。**结论** 细胞内的高胆固醇含量,能加重高磷诱导的血管平滑肌细胞钙化。

关键词 细胞内胆固醇 血管平滑肌细胞 血管钙化

中图分类号 R543

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.10.008

Effect of Intracellular Cholesterol Content on Vascular Smooth Muscle Cells Calcification. Liu Sha, Han Xue, Guo Weikang, et al. Department of Nephrology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Abstract **Objective** To investigate the effect of intracellular cholesterol content on vascular smooth muscle cells calcification. **Methods** With either growth medium (1.4mmol/L Pi) or calcification medium (3.0mmol/L Pi), primary human umbilical vein smooth muscle cells were incubated. Matrix calcium quantitation was analyzed using the o-cresolphthalein complex one method. Alkaline phosphatase activity was assessed colorimetrically. Total cellular cholesterol content was measured using Fluorescence microplate reader. Alizarin Red S staining was used to show the matrix calcification morphologically. Under treatment with calcification medium, vascular cells were further incubated with exogenous cholesterol in different concentrations, to observe the changes of above indexes. **Results** Compared with treatment using growth medium, treatment using calcification medium for 3 days, 7 days increased matrix calcium, alkaline phosphatase activity and intracellular cholesterol level, the difference of intergroup or between-group was statistically significant ($P < 0.05$). Upon treatment of vascular cells with CM for 14 days, abundant mineral deposits could be detected in the extracellular matrix. Addition of 10、15、20、25 $\mu\text{mol/L}$ cholesterol contributed to increased further matrix calcification and alkaline phosphatase activity in a dose-dependent manner, and the difference between the groups was statistically significant ($P < 0.05$). Intracellular cholesterol level was positively correlated with levels of matrix calcification and alkaline phosphatase activity ($P < 0.05$). **Conclusion** High intracellular cholesterol content contributes to phosphate-induced vascular smooth cells calcification.

Key words Intracellular cholesterol; Vascular smooth muscle cell; Vascular calcification

血管钙化是慢性肾脏病患者常见并发症,是心血管发生率和病死率的独立危险因素^[1~4]。目前认为,血管钙化是一个主动的、高度调节的细胞过程,主要由血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell,

VSMC)所介导。在血管钙化过程中,一个主要的事件是细胞外基质的钙和磷含量增加,从而使得 VSMC 从收缩表型向骨-软骨样表型转化,同时细胞外的促钙化基质和囊泡形成。囊泡又可进一步形成羟磷灰石的晶核。这个过程同样伴随有抑制钙化的因子减少,钙、磷依赖的细胞死亡,凋亡小体产生和矿化晶核的形成^[5~8]。但是,血管钙化的具体机制仍不明了。

近年来,有研究显示胆固醇代谢在血管钙化中可能发挥了重要的作用^[9]。使用蛋白激酶 A 激动剂诱

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81300607, 81570660);北京市科技计划项目(D131100004713003);北京市医管局青苗计划(QML20160101)

作者单位:100050 首都医科大学附属北京友谊医院

通讯作者:刘文虎,电子邮箱:liuwh2013@163.com

导 VSMC 钙化, 细胞内胆固醇含量增加, 而减少胆固醇的摄入能减弱细胞钙化^[8]。在经典的高磷诱导的血管钙化模型, 细胞内胆固醇含量的变化, 及其对血管钙化的作用尚不清楚。在本研究中, 笔者探讨细胞内胆固醇含量对高磷诱导的 VSMC 钙化的影响。

材料与方法

1. 主要材料及试剂: 原代人脐静脉血管平滑肌细胞 (human umbilical vein smooth muscle cell, HU-VSMC) 和血管平滑肌细胞培养基 (smooth muscle cell medium, SMCM) 购自美国 ScienCell 公司。HUVSMC 用含 5% 胎牛血清的 SMCM 培养, 培养箱条件为 37℃ 和 5% CO₂, 胰酶传代, 取第 3~5 代细胞用于后续实验。生长培养基 (growth medium, GM) 为含有 2% 胎牛血清的 SMCM, 其中无机磷的含量为 1.4 mmol/L。无机磷酸盐 Na₂HPO₄ · 7H₂O 的分子质量为 156, 称取无机磷酸盐 0.468 g 配制 10 ml 灭菌双蒸水, 得到 300 mmol/L 无机磷储存液, 使用过滤器过滤。取 107 μl 无机磷储存液, 加入 GM (1.4 mmol/L Pi) 20 ml 中, 得到 CM (3.0 mmol/L Pi)。钙检测试剂盒和碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 检测试剂盒均购于中国南京建成公司, Amplex Red 胆固醇检测试剂盒和 BCA 蛋白定量试剂盒购于美国 Invitrogen 公司。水溶性胆固醇购于美国 Sigma 公司。称取胆固醇混合物 179.84 mg, 其中含胆固醇 7.733 mg, 加入 1 ml PBS, 得到 20 mmol/L 胆固醇储存液, 使用过滤器过滤。分别取 10、15、20、25 μl 胆固醇储存液加入 20 ml CM 中, 得到 10、15、20、25 μmol/L 胆固醇溶液。

2. 细胞培养方法: 将 HUVSMC 以 1.0×10^5 /ml 的密度接种于 6 孔板中, 用含 2% 胎牛血清的 SMCM 培养 48 h, 待细胞生长至 70%~80% 融合时, 按照 GM、CM 分组, 分别于 3、7 天收集细胞, 进行相关指标的检测。

3. 细胞基质钙盐含量检测: 在培养细胞的 6 孔板中, 用 PBS 洗涤后, 加 0.6 mol/L 盐酸 500 μl, 37℃ 脱钙 24 h, 吸取上清液待测。盐酸悬液中钙含量用甲氧酚酞络合酮方法测定, 按试剂盒说明书操作。取盐酸脱钙处理后的细胞, 用 PBS 洗涤后, 每孔加入 0.1 mol/L NaOH 和 0.1% SDS 的裂解液 500 μl, 抽提脱钙后细胞总蛋白, 用 BCA 方法测定细胞总蛋白含量, 用蛋白含量校正钙含量。

4. ALP 活性检测: 在培养细胞的 6 孔板中, 用 PBS 洗涤后, 加入 0.1% Triton X-100 裂解液 500 μl 裂解细胞 30 min, 离心后收取上清。ALP 活性用比色

法测定, 按试剂盒说明书操作。用 BCA 方法测定细胞总蛋白含量, 用蛋白含量校正 ALP 含量。

5. 细胞内胆固醇含量检测: 在培养细胞的 6 孔板中, 用 PBS 洗涤后, 加入 0.1% Triton X-100 裂解液 500 μl 裂解细胞 30 min, 离心后收取上清。使用荧光酶标法测定细胞内胆固醇, 按试剂盒说明书操作。用 BCA 方法测定细胞总蛋白含量, 用蛋白含量校正细胞内胆固醇含量。

6. 茜素红 S 染色: 用十二孔板培养细胞, 分组为 CM 和 GM。培养细胞 14 天后, 用 PBS 洗涤后, 使用 95% 乙醇固定细胞 30 min, 加入 pH 值为 4.2 的 1% 茜素红 S 染液 1 ml, 室温染色 30 min。显微镜下观察并摄片, 钙化区域呈桔红色。

7. 胆固醇的培养液培养细胞: 将细胞接种于 6 孔板中, 用 SMCM 于 37℃ 培养 48 h, 待细胞生长至 70%~80% 融合时, 换用含有不同浓度 0、10、15、20、25 μmol/L 水溶性胆固醇的 CM 继续培养细胞 72 h, 进行相关指标的检测。

8. 统计学方法: 所有实验均至少重复 3 次, 每组至少设立 4 个复孔, 数据采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组间的比较采用 Student's *t* 检验, 多组间比较采用方差分析。Pearson 相关分析用来检验两个参数间的线性关系, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. CM 增加基质钙、ALP 活性和细胞内胆固醇含量: 与使用 GM 的对照组比较, 使用 CM 培养细胞 3~7 天, 细胞基质钙 (图 1A)、细胞 ALP 活性 (图 1B)、细胞胆固醇含量 (图 1C) 均明显增加。与使用 GM 的对照组比较, 使用 CM 培养 3 天, 基质钙组间比较, 差异有统计学意义 [0.086 ± 0.007 mmol/(g · prot) vs 0.063 ± 0.008 mmol/(g · prot), $t = 4.610$, $P = 0.002$], ALP 活性组间差异有统计学意义 [8.088 ± 0.964 U/(g · prot) vs 4.853 ± 0.606 U/(g · prot), $t = 5.217$, $P = 0.001$], 胆固醇含量组间比较差异有统计学意义 [14.834 ± 1.486 μg/(mg · prot) vs 11.216 ± 0.842 μg/(mg · prot), $t = 3.836$, $P = 0.006$]。与使用 GM 的对照组比较, 使用 CM 培养 7 天, 基质钙组间比较, 差异有统计学意义 [0.153 ± 0.039 mmol/(g · prot) vs 0.081 ± 0.027 mmol/(g · prot), $t = 3.722$, $P = 0.004$], ALP 活性组间比较差异有统计学意义 [9.198 ± 0.393 U/(g · prot) vs 5.477 ± 0.697 U/(g · prot), $t = 11.397$, $P = 0.000$], 胆固醇含量组间比

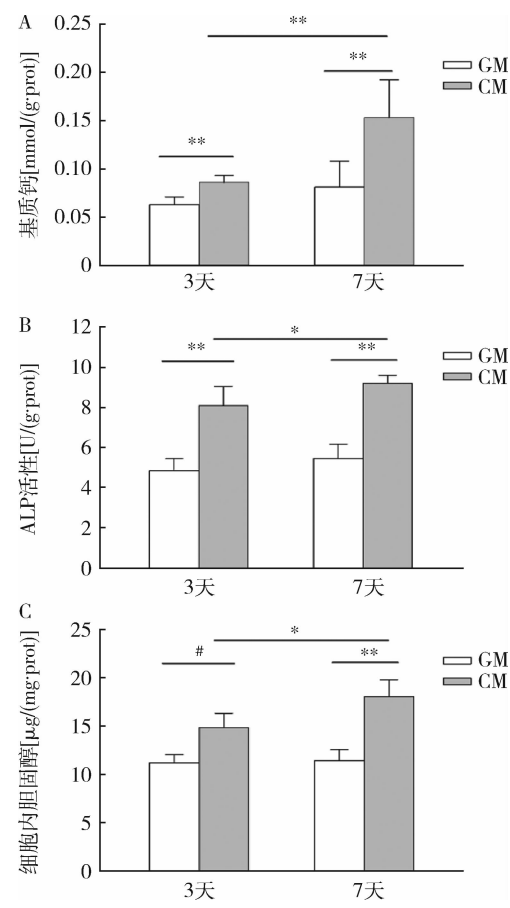


图1 CM增加基质钙、ALP活性和细胞内胆固醇含量
两组间比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01

较,差异有统计学意义[$18.015 \pm 1.772 \mu\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{prot})$ vs $11.429 \pm 1.126 \mu\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{prot})$, $t = 7.508$, $P = 0.000$]。与使用CM培养3天比较,使用CM培养7天,基质钙组内比较,差异有统计学意义[$0.153 \pm 0.039 \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{prot})$ vs $0.086 \pm 0.007 \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{prot})$, $t = 3.370$, $P = 0.007$], ALP活性组内比较,差异有统计学意义[$9.198 \pm 0.393 \text{U}/(\text{g} \cdot \text{prot})$ vs $8.088 \pm 0.964 \text{U}/(\text{g} \cdot \text{prot})$, $t = 2.612$, $P = 0.026$],胆固醇含量组内比较,差异有统计学意义[$18.015 \pm 1.772 \mu\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{prot})$ vs $14.834 \pm 1.486 \mu\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{prot})$, $t = 2.975$, $P = 0.014$]。

2. 茜素红染色显示CM诱导的基质钙化:使用CM培养HUVSMCs 14天,细胞外基质可见大量茜素红染色染色阳性的钙质沉积,而使用GM培养的对照组,细胞外基质几乎没有阳性染色(图2)。

3. 外源性胆固醇增加CM培养的细胞基质钙,ALP活性和胆固醇含量:向CM培养的HUVSMCs中分别加入0、10、15、20、25 μmol/L胆固醇培养72h,基

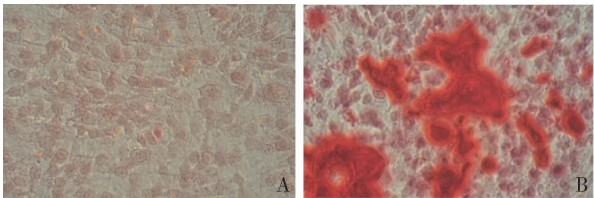


图2 茜素红染色显示CM诱导的基质钙化(×400)
A. GM; B. CM

质钙(图3A),ALP活性(图3B)和胆固醇含量(图3C),均呈胆固醇浓度依赖性增加。与0 μmol/L胆固醇组比较,10 μmol/L胆固醇组[$0.137 \pm 0.012 \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{prot})$ vs $0.091 \pm 0.010 \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{prot})$, $t = 5.083$, $P = 0.007$], 15 μmol/L胆固醇组[$0.193 \pm 0.015 \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{prot})$ vs $0.091 \pm 0.010 \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{prot})$, $t = 9.600$, $P = 0.001$], 20 μmol/L胆固醇组[$0.280 \pm 0.011 \text{mmol}/$

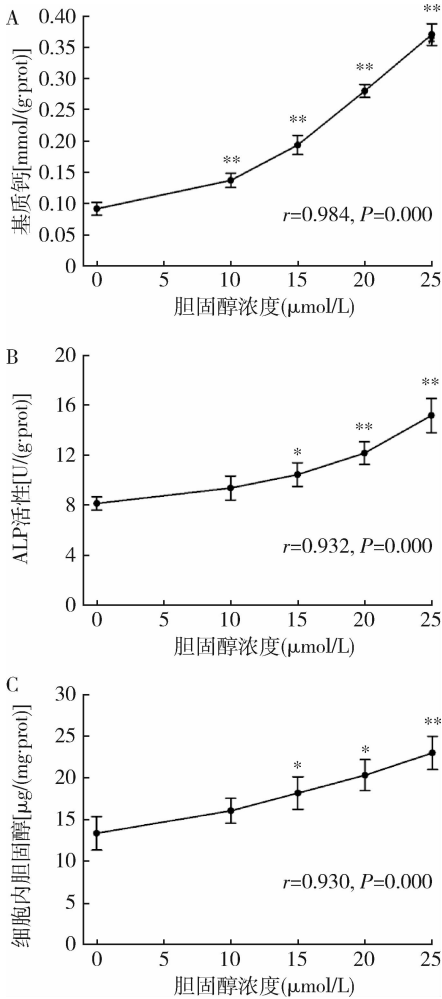


图3 外源性胆固醇增加CM培养的细胞基质钙,ALP活性和胆固醇含量

与加入0 μmol/L胆固醇的对照组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01

($g \cdot prot$) vs $0.091 \pm 0.010 mmol/(g \cdot prot)$, $t = 22.212$, $P = 0.000$], $25 \mu mol/L$ 胆固醇组 [$0.360 \pm 0.030 mmol/(g \cdot prot)$ vs $0.091 \pm 0.010 mmol/(g \cdot prot)$, $t = 23.974$, $P = 0.000$], 基质钙组间比较, 差异有统计学意义。基质钙多组间比较, 差异有统计学意义 ($F = 212.941$, $P = 0.000$)。外源性胆固醇浓度与基质钙水平呈正相关 ($r = 0.984$, $P = 0.000$)。与 $0 \mu mol/L$ 胆固醇组相比, $15 \mu mol/L$ 胆固醇组 [$10.437 \pm 0.947 U/(g \cdot prot)$ vs $8.127 \pm 0.534 U/(g \cdot prot)$, $t = 3.678$, $P = 0.021$], $20 \mu mol/L$ 胆固醇组 [$12.153 \pm 0.914 U/(g \cdot prot)$ vs $8.127 \pm 0.534 U/(g \cdot prot)$, $t = 9.404$, $P = 0.001$], $25 \mu mol/L$ 胆固醇组 [$15.167 \pm 1.372 U/(g \cdot prot)$ vs $8.127 \pm 0.534 U/(g \cdot prot)$, $t = 8.276$, $P = 0.001$], 细胞 ALP 活性组间比较差异有统计学意义。ALP 活性多组间比较, 差异有统计学意义 ($F = 26.320$, $P = 0.000$)。外源性胆固醇浓度与细胞 ALP 活性呈正相关 ($r = 0.932$, $P = 0.000$)。与 $0 \mu mol/L$ 胆固醇组相比, $15 \mu mol/L$ 胆固醇组 [$18.170 \pm 1.949 \mu g/(mg \cdot prot)$ vs $13.337 \pm 2.029 \mu g/(mg \cdot prot)$, $t = 3.738$, $P = 0.020$], $20 \mu mol/L$ 胆固醇组 [$20.307 \pm 1.856 \mu g/(mg \cdot prot)$ vs $13.337 \pm 2.029 \mu g/(mg \cdot prot)$, $t = 4.390$, $P = 0.012$], $25 \mu mol/L$ 胆固醇组 [$22.983 \pm 2.003 \mu g/(mg \cdot prot)$ vs $13.337 \pm 2.029 \mu g/(mg \cdot prot)$, $t = 5.860$, $P = 0.004$], 胆固醇含量组间比较, 差异有统计学意义。胆固醇含量多组间比较, 差异有统计学意义 ($F = 16.389$, $P = 0.000$)。外源性胆固醇浓度与细胞胆固醇含量呈正相关 ($r = 0.930$, $P = 0.000$)。细胞胆固醇含量与基质钙 ($r = 0.902$, $P = 0.000$)、细胞 ALP 活性 ($r = 0.932$, $P = 0.000$) 呈正相关。

讨 论

本研究旨在探讨细胞内胆固醇含量对高磷诱导的 VSMC 钙化的影响。首先, 笔者通过使用含有高磷的培养基进行 VSMC 培养, 构建了高磷诱导的 VSMC 钙化的模型。高磷血症是慢性肾脏病患者常见并发症。已有的研究证实, 高磷可以诱导 VSMCs 表型转分化和血管钙化, 表现为 VSMC 的分化标志减少, 成骨样细胞标志增加, 细胞基质钙增加和细胞形态学改变^[10~14]。本研究结果证实, 高磷作用于 VSMC, 能够呈时间依赖性诱导细胞 ALP 活性和基质钙含量增加, 细胞外基质中的钙盐沉积, 与之前的研究一致^[10~14]。

其次, 本研究检测了在高磷诱导的 VSMC 钙化的过程中细胞内的胆固醇含量的变化。在血管钙化的

过程中, 细胞内胆固醇被包裹进基质小泡, 并被运输至细胞外基质, 进一步形成钙化晶核, 参与基质钙化^[6]。胆固醇是细胞膜和基质小泡的主要成分, 基质小泡中的胆固醇含量远高于细胞质。因此, 有人推测除非细胞内胆固醇的合成是上调的, 否则在血管钙化的过程中基质小泡的产生将耗竭细胞内存储的胆固醇^[9]。之前的研究表明, 使用蛋白激酶 A 激动剂诱导 VSMC 细胞转分化和钙化, 伴随有细胞内胆固醇含量增加^[9]。本研究首次发现在经典的高磷诱导的 VSMC 钙化的过程中, 同样伴随有细胞内的胆固醇含量增加, 提示上调的胆固醇代谢在高磷诱导的 VSMC 钙化中可能也发挥了重要作用。

最后, 本研究观察了细胞内的胆固醇含量的变化对高磷诱导的血管钙化的影响。已知细胞内的胆固醇水平是受几个步骤的严格调控的影响, 包括转运 (摄入和输出), 从头合成、利用、存储、回收和分解代谢^[15~19]。在细胞内严密的调控之下, 细胞通过内质网上的 HMG-辅酶 A 还原酶等, 进行内源性合成胆固醇^[17,18]。当 HMG-辅酶 A 还原酶受到抑制, 或者循环中的胆固醇水平升高时, 细胞更多地通过细胞膜上的低密度脂蛋白受体摄入外源性胆固醇^[9]。本研究发现, 在 CM 中加入不同浓度的外源性胆固醇时, 细胞内的胆固醇含量呈浓度依赖性增加, 同时血管钙化程度加重, 细胞内的胆固醇含量与血管钙化程度呈正相关。结果证实细胞内的高胆固醇含量, 能加重高磷诱导的血管平滑肌细胞钙化。之前的体外试验发现, 在蛋白激酶 A 激动剂诱导的小鼠的 VSMC 钙化模型, 或者具有自发性钙化倾向的牛钙化血管细胞模型中, 减少外源性胆固醇摄入, 均能明显降低细胞内的胆固醇, 减弱细胞钙化和转分化的程度^[9]。因此, 如何抑制细胞内胆固醇代谢, 有望在将来成为抑制血管钙化的一种新的手段。

参考文献

- 1 Anaya P, Blomquist GA, Davenport DL, *et al.* Coronary artery calcification in CKD - 5D patients is tied to adverse cardiac function and increased mortality[J]. Clin Nephrol, 2016, 86(12):291 - 302
- 2 Tatami Y, Yasuda Y, Suzuki S, *et al.* Impact of abdominal aortic calcification on long - term cardiovascular outcomes in patients with chronic kidney disease[J]. See comment in PubMed Commons below Atherosclerosis, 2015, 243(2):349 - 355
- 3 Benz K, Varga I, Neureiter D, *et al.* Vascular inflammation and media calcification are already present in early stages of chronic kidney disease[J]. Cardiovasc Pathol, 2017, 27:57 - 67
- 4 Paloutian NJ, Giachelli CM. A current understanding of vascular calcification in CKD[J]. Am J Physiol Renal Physiol. 2014, 307(8):

- F891 – 900
- 5 Chen NX, Moe SM. Pathophysiology of vascular calcification [J]. Curr Osteoporos Rep, 2015, 13(6):372 – 380
- 6 New SE, Aikawa E. Role of extracellular vesicles in de novo mineralization: an additional novel mechanism of cardiovascular calcification [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(8):1753 – 1758
- 7 Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, *et al.* Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate [J]. Circ Res, 2011, 109(6):697 – 711
- 8 Shanahan CM. Autophagy and matrix vesicles: new partners in vascular calcification [J]. Kidney Int, 2013, 83(6):984 – 986
- 9 Geng Y, Hsu JJ, Lu J, *et al.* Role of cellular cholesterol metabolism in vascular cell calcification [J]. J Biol Chem, 2011, 286(38):33701 – 33706
- 10 Yoshida T, Yamashita M, Hayashi M. Kruppel – like factor 4 contributes to high phosphate – induced phenotypic switching of vascular smooth muscle cells into osteogenic cells [J]. J Biol Chem, 2012, 287(31):25706 – 25714
- 11 Yao L, Sun YT, Sun W, *et al.* High phosphorus level leads to aortic calcification via β – catenin in chronic kidney disease [J]. Am J Nephrol, 2015, 41(1):28 – 36
- 12 Deng D, Diao Z, Han X, *et al.* Secreted frizzled – related protein 5 attenuates high phosphate – induced calcification in vascular smooth muscle cells by inhibiting the Wnt/ β – catenin pathway [J]. Calcif Tissue Int, 2016, 99(1):66 – 75
- 13 Razzaque MS. Phosphate toxicity and vascular mineralization [J]. Contrib Nephrol, 2013, 180:74 – 85
- 14 Han X, Wang LY, Diao ZL, *et al.* Apelin: a novel inhibitor of vascular calcification in chronic kidney disease [J]. Atherosclerosis, 2016, 244:1 – 8
- 15 Burns MP, Rebeck GW. Intracellular cholesterol homeostasis and amyloid precursor protein processing [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1801(8):853 – 859
- 16 Stevenson J, Huang EY, Olzmann JA. Endoplasmic reticulum – associated degradation and lipid homeostasis [J]. Annu Rev Nutr, 2016, 36:511 – 542
- 17 Howe V, Sharpe LJ, Alexopoulos SJ, *et al.* Cholesterol homeostasis: how do cells sense sterol excess? [J]. Chem Phys Lipids, 2016, 199:170 – 178
- 18 Faust PL, Kovacs WJ. Cholesterol biosynthesis and ER stress in peroxisome deficiency [J]. Biochimie, 2014, 98:75 – 85
- 19 Dong XY, Tang SQ, Chen JD. Dual functions of Insig proteins in cholesterol homeostasis [J]. Lipids Health Dis, 2012, 11:173
- (收稿日期:2017 – 09 – 17)
- (修回日期:2017 – 10 – 08)

胰岛素样生长因子 1 (IGF – 1) 通过抑制 RUNX2 促进骨折愈合的机制研究

易知非 周 芳 谢增如

摘 要 **目的** 探讨 IGF – 1 信号促进骨折愈合的分子机制。**方法** 建立 IGF – 1 成骨细胞特异性敲除小鼠的骨折模型, 三点弯曲试验分析 IGF – 1 敲除组 (KO) 与对照组 (Con) 的最大载荷。通过 Q – PCR 和 TRAP 染色方法检测 KO 组和 Con 组成骨细胞分化指标的表达式破骨细胞的个数。分离并培养来自 KO 组和 Con 组小鼠的骨髓基质细胞 (BMSC), 经瞬时转染 si – RUNX2, 采用 Q – PCR 和 Western blot 法检测转染前后 BMSC 细胞中成骨细胞分化指标的表达式情况。**结果** 骨折后 10 天和 21 天, KO 组的最大载荷明显低于 Con 组。与 Con 组相比, KO 组愈合组织的 OCN 和 ALP 表达显著降低, 而 RUNX2 则明显提高, 且 TRAP 阳性破骨细胞数显著减少, 表明敲除 IGF – 1 破坏了小鼠的骨折愈合能力。通过瞬时转染 si – RUNX2 于 BMSC 细胞, 发现干扰 RUNX2 表达能够有效挽救因 IGF – 1 敲除而破坏的成骨细胞分化潜能。表明 RUNX2 参与 IGF – 1 信号调节的骨折愈合过程。**结论** IGF – 1 能够诱导成骨细胞分化和破骨细胞形成, 其诱导成骨细胞分化的机制可能是通过抑制 RUNX2 的表达, 这为骨折愈合的机制提供新的理论依据。

关键词 骨折愈合 IGF – 1 RUNX2 成骨细胞 破骨细胞

中图分类号 R318 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.10.009

Mechanism of Insulin – like Growth Factor 1 (IGF – 1) Promoting Fracture Healing by Inhibiting RUNX2. Yi Zhifei, Zhou Fang, Xie

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660368)

作者单位: 830054 乌鲁木齐, 新疆医科大学第一附属医院创伤科

通讯作者: 谢增如, 主任医师, 教授, 博士生导师, 电子信箱: xinhospital@163.com