

## Connexins和Pannexins在骨细胞交流中的作用\*

刘文静, 张德茂, 周学东, 谢静<sup>△</sup>

口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院(成都 610041)

**【摘要】** Connexins和Pannexins在骨细胞和成骨细胞分化、细胞内信号转导、维持骨平衡以及骨再生中起着重要作用。本文就Connexins介导的缝隙连接及Pannexins介导的半通道在骨中的研究进展和局限性进行综述。目前的研究已经阐明这些分子以缝隙连接的形式或是独立的半通道的形式传递外界刺激到骨骼系统。然而,对于Connexins和Pannexins家族成员在骨发育和骨稳态中其他类型细胞如成骨细胞前体、骨髓间充质干细胞等,在维持正常生物学行为中的作用所知甚少。此外,目前Connexins家族中研究最多的成员是Connexin43(Cx43),其他成员在骨骼发育中的作用与机制尚缺乏研究。基因编辑动物模型为研究Connexins和Pannexins在骨骼系统中的作用提供了基本的信息,但是Connexins和Pannexins之间的异同仍然有待发现。将一种特定功能定位于Connexins或Pannexins对骨作用刺激和骨骼疾病的影响仍然是一个难题,其困扰是通道之间药理选择性重叠、其他亚型的补偿、评估通道功能的方法差异,以及与转基因小鼠模型相关的基因改变。因此,需要更好的工具和研究途径来了解这些通道在骨和软骨中的作用。未来研究的一个基本任务是找到特定的可以调节Connexins或Pannexins亚型的化合物,使其能够作为药物制剂治疗骨骼疾病,为改善骨骼健康、治疗骨骼系统的疾病开发新的治疗策略提供可能。

**【关键词】** Connexins Pannexins 骨细胞 成骨细胞 细胞交流

**The Role of Connexins and Pannexins in the Cell Communications of Bone Cells** LIU Wen-jing, ZHANG De-mao, ZHOU Xue-dong, XIE Jing<sup>△</sup>. State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 60041, China

<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: xiejing@scu.edu.cn

**【Abstract】** Connexins and Pannexins play important roles in osteocytes and osteoblasts differentiation, intracellular signal transduction, maintenance of bone balance, and bone regeneration. This article reviews the progress and limitations of Connexins-mediated gap junctions and Pannexins mediated hemichannel in bone. Current research has shown that these molecules, in the form of gap junctions or separate hemichannels, deliver external stimuli to the skeletal system. However, little is known about the role of other cell types in bone development and homeostasis, such as pre-osteoblasts and bone marrow mesenchymal stem cells, in maintaining normality. In addition, at present, the most well-studied member of the Connexins family is Connexin43 (Cx43), while the roles and mechanisms of other members in bone development are still behind the veil. Gene-edited animal models provide basic information on the role of Connexins and Pannexins in the skeletal system, but the similarities and differences between Connexins and Pannexins remain to be discovered. Targeting a specific function of Connexins or Pannexins for bone stimulation and bone disease remains a challenge, with pharmacological selective overlap between channels, compensation of other subtypes, differences in methods for assessing channel function, and genetic changes associated with transgenic mouse models. Therefore, better tools and research pathways are needed to understand the role of these pathways in bone and cartilage. An essential task for future research will be to identify specific compounds that regulate Connexins or Pannexins subtypes to enable them to be used as pharmaceutical agents in the treatment of bone diseases, providing the possibility to develop new therapeutic strategies for improving bone health and treating diseases of the skeletal system.

**【Key words】** Connexins Pannexins Osteocyte Osteoblast Cell communication

骨骼系统面临大量的机械刺激和系统信号,需要细胞之间紧密组织的反应来维持结构和功能的完整性<sup>[1]</sup>。细胞对这些胞外信号的协调反应可以直接或间接通过细胞间连接通道发生,包括缝隙连接和半通道。在骨骼系统中,骨细胞、成骨细胞形成一个广泛的相互连接的网络,主要由连接蛋白Connexin43(Cx43)和其他Connexins蛋白成员以及半通道蛋白家族Pannexins形成<sup>[2]</sup>。这个紧密连接的网络,对于骨在机械应力下的反应以及骨在激

素和生长因子的作用下发生的骨再生和骨重建具有至关重要的作用。骨代谢平衡由成骨细胞和破骨细胞的活动协同调控。骨细胞由成骨细胞分化而来,被骨基质包裹,被认为具有同时调节成骨细胞及破骨细胞分化和功能的作用,其分化、功能和活力可受Connexins的水平影响。骨细胞和成骨细胞通过产生核因子(nuclear factor, NF)- $\kappa$ B受体激活因子的配体(receptor activator of NF-kappaB ligand, RANKL)及骨保护素(osteoprotegerin, OPG)来调节破骨细胞分化。两种分子之间的比率受到Connexins表达的调节,该比率决定了破骨细胞的分化,同时,Connexins

\* 国家自然科学基金(No.81600840, No.81771047)资助

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: xiejing@scu.edu.cn

蛋白可以直接影响破骨细胞的分化<sup>[1]</sup>。Pannexins通道蛋白成员与Connexins蛋白成员之间尽管没有序列同源性,但是具有相似的拓扑结构<sup>[3]</sup>。近年来,Pannexins通道蛋白家族在骨和软骨中的功能已经开始被发现,但尚需要更多的研究来确定Pannexins通道蛋白在骨发育、成人骨量和骨骼稳态中的作用。本文对Connexins与Pannexins在骨中的研究进展做一综述。

## 1 细胞交流

在多细胞生物中,细胞交流对于细胞分化、形态形成、细胞生长和维持细胞稳态至关重要。细胞间通过直接或间接的信号传递进行交流。直接信号传递包括自分泌、胞内分泌以及近分泌。间接信号传递包括旁分泌、突触信号以及内分泌。细胞交流的必要组成部分包括通讯连接(缝隙连接、半通道、胞间连丝、离子通道、化学突触)、紧密连接和锚定连接(黏附连接、桥粒、黏着斑、半桥粒)<sup>[4]</sup>。缝隙连接是两个相邻细胞的细胞质之间的直接连接,为细胞间通讯的直接通道。这些通道是由通道形成蛋白形成的,通道形成蛋白密集地聚集在质膜空间微区。

通道形成蛋白包括Innexins(Inxs)、Connexins(Cxs)和Pannexins(Panxs)三大家族,Innexins存在于原口动物,Connexins和Pannexins存在于后口动物。在脊椎动物中,Connexins以半通道或者组装为缝隙连接的形式发挥功能,Pannexins则通常被认为是一种特殊的通道形成蛋白,以半通道的形式发挥功能。Pannexins家族有pannexin1、pannexin2和pannexin3三个成员,主要作用是连接细胞内外环境,促进离子及小分子沿电化学梯度的被动移动。

Connexins的基因突变被报道与骨骼异常的发生相关。编码Cx43的*Gja1*基因突变被发现是造成眼齿指发育不良(oculodentodigital dysplasia, ODDD)的原因。几乎所有的ODDD突变都以常染色体显性遗传的方式遗传,导致并指畸形、颅面异常、牙釉质发育不全、软骨异常、细鼻以及眼部异常。值得注意的是,几乎所有的Cx43突变体都有骨骼异常<sup>[5-6]</sup>。

## 2 缝隙连接促成细胞间交流

目前的研究表明,通道蛋白Connexins是形成缝隙连接的主要蛋白簇。所有的通道蛋白Connexins都有类似的整体结构。在脊椎动物中,相应基因的命名以“GJ”开始,代表相邻细胞间2~4 nm的间隙连接(gap junction)<sup>[7]</sup>;蛋白的命名则以“Cx”开始,加上代表蛋白相对分子质量的相应数字<sup>[8]</sup>。

### 2.1 Connexins的结构

每个Connexins蛋白由4个跨膜结构域通过两个细胞外环和一个细胞内环连接形成<sup>[7]</sup>。较长的C-端与较短的N-端则位于细胞质一侧。目前,根据序列的差异与共同点,Cxs可被分为5个亚家族,即 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 或GJA、GJB、GJC、GJD、GJE<sup>[8]</sup>。其分布取决于细胞类型、发育时期及它们在内质网合成后向质膜运输的过程。Cx43在骨骼系统中的分布最高,在骨细胞、成骨细胞、骨衬细胞和破骨细胞中均有表达。在骨细胞突触中和成骨细胞膜接触部位有大量Cx43的分布。Cx43在线粒体膜上也有表达,称为线粒体Cx43(mito Cx43)<sup>[9]</sup>。

### 2.2 缝隙连接的结构和功能

六分子Connexins配体聚集在一起形成一个六聚体,即半通道或Connexon。根据组成成分的不同,半通道可以分为同质(由一种Connexin蛋白组成)或异质(由两种或多种Connexin蛋白组成)。这些半通道被运送到细胞膜,通过与相邻细胞细胞膜上相应的半通道对接,形成一个连通相邻细胞的通道,即缝隙连接。缝隙连接可分为同型和异型,同型由组分相同的两个半通道构成,反之,异型由组分不同的两个半通道构成<sup>[10]</sup>。

缝隙连接的底物特异性较低,可通过相对分子质量低于 $1 \times 10^3$ 的分子,包括小的代谢物、离子及细胞间信号分子,如ATP、ADP、葡萄糖、环核苷酸、寡核苷酸等<sup>[10]</sup>。缝隙连接介导的细胞交流参与了细胞的多种生理活动,包括细胞增殖、分化、凋亡。在一些可兴奋组织中,短暂而快速的电流传递也可通过缝隙连接来实现<sup>[11]</sup>。缝隙连接也可以促进信号分子的传递,研究表明缝隙连接可以通过所有可溶性的第二信使,如氨基酸、核苷酸、葡萄糖及其代谢物<sup>[12]</sup>。

目前的研究中,也提及另一类分子Pannexins通道蛋白参与到通道的形成中,进而影响细胞的信号交流<sup>[3]</sup>,但目前对Pannexins的报道主要集中于其对ATP释放形成的半通道<sup>[3,13-14]</sup>,涉及缝隙连接的具体功能以及其中的作用机制尚且不明。

## 3 缝隙连接蛋白家族在骨骼细胞中的表达

### 3.1 Connexins家族

**3.1.1 Connexins在不同骨骼细胞中的表达** 在骨骼系统中,缝隙连接存在于所有细胞中,但在成骨细胞和骨细胞中的表达尤其丰富<sup>[1]</sup>。在成骨细胞系中,Cx45、Cx40、Cx46、Cx37有表达,Cx37在骨细胞和破骨细胞中均有表达<sup>[3]</sup>。Cx43的表达最广泛,在各种骨骼细胞中均有表达<sup>[15-16]</sup>。在软骨细胞中,Cx43是主要表达的Connexin蛋

白,而Cx45、Cx32和Cx46的表达也被报道过<sup>[17-18]</sup>。缝隙连接将不同的骨骼细胞连接为一个精密的整体<sup>[19]</sup>。

**3.1.2 Connexins在骨的信号传导中的作用** 骨骼对激素和机械应力做出的适应性改变依赖于信号分子通过缝隙连接的传递。半通道也可以作为代谢产物和信号分子释放到细胞外基质的通道。研究表明缺少Cx43的C-端结构的小鼠皮质骨对甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)的反应异常<sup>[20]</sup>。Cx43可以通过与 $\beta$ -arrestin形成复合体,有效隔绝 $\beta$ -arrestin并且允许甲状旁腺激素受体-1(parathyroid hormone receptor-1, PTH1R)的持续作用,使cAMP在细胞内积累,增强细胞存活。Cx43在成骨细胞和骨祖细胞中作用的一个关键靶点是Runx2,它是成骨的主要调节因子。Cx43表达的改变与Runx2转录活性的改变相同,敲低骨髓间充质干细胞Cx43后,其Runx2的表达也降低<sup>[21]</sup>。Cx43可能影响Runx2进而影响成骨细胞和破骨细胞的功能。其原因可能为Cx43的表达也影响细胞外蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)和蛋白激酶C6(protein kinase C, PKC6)通路。InsP7是一个可以激活PKC6进而影响Runx2的第二信使,其相对分子质量约为740,可以穿过Cx43缝隙连接<sup>[22]</sup>。越来越多的证据表明,Connexins通过缝隙连接斑块为信号分子复合体提供支架来参与信号转导,这些信号分子包括PKC6、 $\beta$ -arrestin、 $\beta$ -catenin以及 $\alpha$ 5 $\beta$ 1整合素。每一种Connexin蛋白都可能招募一种信号效应因子与其C-端相互作用,从而引起特定的下游信号,赋予Connexins物理通道之外的其他生物学效应。

作用于骨组织的机械应力信号由骨细胞通过整合素、细胞纤毛及钙离子通道等感知,通过缝隙连接在细胞与细胞之间得到快速传递。细胞骨架蛋白Spectrin,是成骨细胞向骨细胞分化所必需的,被认为是骨细胞的机械敏感组成结构。干扰Spectrin网络可以增加Cx43缝隙连接斑块,促进Ca<sup>2+</sup>内流和一氧化氮分泌,导致细胞硬度降低<sup>[23]</sup>。

机械负荷促进小鼠骨细胞和成骨细胞Cx43的表达,且增加Cx43的磷酸化和蛋白质在质膜上的分布,促进细胞与细胞之间的交流<sup>[24]</sup>。在机械力作用下,骨陷窝-骨小管网络中的液体流动激发细胞内Ca<sup>2+</sup>流。研究表明将骨细胞暴露于培养液流中,增加细胞膜对荧光探针的通透性,这与前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE<sub>2</sub>)和ATP的释放有关<sup>[25]</sup>。另一项研究发现流体剪切力可以诱导小鼠骨细胞Cx43半通道的开放<sup>[26]</sup>。流体引起的半通道开放需要Cx43和 $\alpha$ 5 $\beta$ 1整合素之间的接触和AKT信号通路的激活。机械应力导致磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-

kinase, PI3K)依赖性 $\alpha$ 5 $\beta$ 1磷酸化,整合素的构象改变,Cx43半通道打开,PGE<sub>2</sub>通过半通道释放。PGE<sub>2</sub>通过其同源E型前列腺素受体2(E-type prostaglandin receptor 2, EP2)EP2受体发出信号,诱导PI3K/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)通路的激活和cAMP的积累。cAMP/PKA和PI3K/AKT依赖性通路集中于 $\beta$ -catenin,这是骨细胞机械负荷反应的关键效应因子<sup>[27]</sup>。AKT通路的激活促进支架分子14-3-3 $\theta$ 和Cx43及 $\alpha$ 5 $\beta$ 1整合素间的相互作用。14-3-3 $\theta$ 蛋白有利于Cx43向细胞膜上的定位,而14-3-3 $\theta$ 蛋白的减少可以抑制Cx43在质膜上的积累,进而减少液体流动引起的半通道开放<sup>[28]</sup>。

### 3.2 Pannexins家族

2000年起,Pannexins引起关注。与Connexins蛋白的拓扑结构相似,Pannexins包括4个跨膜结构域,其胞质端为N-端和C-端。Pannexins以半通道的形式发挥功能。Panx1与Panx3主要分布于细胞膜,而Panx2则高表达于细胞质<sup>[13]</sup>。Panx1在神经免疫系统、眼、血管、外分泌腺、肝、肾等器官中均有表达。Panx2高表达于中枢神经系统、肾、视网膜和胃肠道中也有表达。Panx3则主要表达于软骨、皮肤、肾脏等器官<sup>[29]</sup>。在骨中,Panx1在小鼠成骨细胞中被发现,Panx3则表达于多种成骨细胞系、颅骨来源原代成骨细胞以及软骨细胞<sup>[3]</sup>。

Pannexins蛋白形成的六聚体(Pannexon)为ATP释放通道,ATP可直接在细胞质与细胞外基质间传递。Pannexins半通道可由半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶裂解其C末端来激活。这种通过Pannexins半通道释放ATP涉及正常的生理功能以及细胞在病理状态时的反应<sup>[29]</sup>。这些半通道的功能包括调节细胞分化和迁移,影响组织发育及再生,介导炎症和细胞凋亡,作用机制尚不清楚。

## 4 Connexins和Pannexins在骨内的具体研究

### 4.1 Connexins在骨内的研究

**4.1.1 体外研究** 成骨细胞中Cx43的表达水平影响其分化能力。增加Cx43的表达可以促进成骨细胞的分化,反之,减少Cx43可抑制成骨细胞的分化。此外,Cx43缝隙连接细胞交流影响骨基质的矿化,从Cx43缺失的小鼠颅骨分离的原代成骨细胞细胞外基质的合成减弱<sup>[30]</sup>。相反,成骨细胞Cx45减弱缝隙连接细胞交流(gap junctional intercellular communication, GJIC)以及矿化基质合成基因的表达。增加成骨细胞Cx43的表达可以激活ERK通路,这种激活需要细胞间信号交流参与,当Cx43过表达时,能够响应ERK信号的细胞的百分比增加<sup>[1]</sup>。

骨细胞突触末端的缝隙连接对机械环境的变化如机

械负荷做出反应,并通过骨细胞突触网络传递这些信号给其他骨细胞以及成骨细胞。此外,阻断GJIC可以抑制骨细胞向成骨细胞传递机械信号。因此,GJIC可能是这些力通过骨传递的重要机制,引发骨形成。

GJIC也可能参与调节骨吸收。破骨细胞也表达Cx43,体外阻断人和小鼠破骨细胞Cx43介导的细胞交流可以影响破骨细胞的融合与功能。Cx37在破骨细胞中的作用已被证实,来源于Cx37敲除小鼠的破骨细胞体积更小,细胞核更少,破骨细胞标志物表达更少而Notch信号增强<sup>[31]</sup>。与野生型小鼠相比,成骨细胞/骨细胞Cx43缺失的小鼠骨吸收增加,抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatases, TRAP)阳性破骨细胞增多。体外研究表明,与对照组相比Cx43缺失的MLO-Y4细胞核因子 $\kappa$ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL)/骨保护素(osteoprotegerin, OPG)比例升高,说明骨细胞Cx43缺失可以促进破骨细胞生成<sup>[32]</sup>。

**4.1.2 体内研究** 为了研究Cx43的作用,建立多种条件性敲除小鼠模型,研究Cx43在不同生理过程中的作用,包括机械应力负载、骨折愈合和骨细胞凋亡。全身敲除Cx43的小鼠出生前即死亡,表现为成骨细胞功能障碍导致的迟发性骨化<sup>[33]</sup>。敲除成骨细胞中Cx43的小鼠可以存活,由于Connexins敲除的细胞表现为低分化,其骨表型逐渐加重<sup>[34]</sup>。利用Dermo1/Twist2启动子从骨软骨祖细胞中敲除Cx43,可以导致骨密度下降和长骨长度的缩短<sup>[34]</sup>。最近的一项研究表明,在Osterix-cre小鼠中,成骨细胞祖细胞中Cx43的缺失导致膜内成骨延迟<sup>[35]</sup>。在其他表达Osterix的细胞中敲除Cx43,小鼠也表现出类似的皮质骨表型。在不成熟的成骨细胞中敲除Cx43,小鼠的骨表型加重,这说明Cx43在成骨细胞功能中发挥作用<sup>[31, 36]</sup>。与小鼠一样,其他脊椎动物Cx43的敲除也会导致同样的骨表型<sup>[1]</sup>。

Cx43不仅在非刺激条件下维持骨发育和骨的正常结构,也可以影响骨在刺激作用下做出反应。双磷酸盐类药物通过打开Cx43半通道来保护骨细胞和成骨细胞的活性,且这种药物的保护作用在骨细胞Cx43敲除的小鼠体内消失<sup>[37]</sup>。间歇性给药甲状旁腺素(parathyroid hormone, PTH)是美国食品和药物管理局(FDA)批准的一种增加骨量的治疗方法<sup>[38]</sup>,在此过程中Cx43的表达似乎必不可少,成骨细胞Cx43敲除的小鼠中PTH诱导的成骨细胞矿化速率减慢<sup>[39]</sup>,证实成骨细胞Cx43在激素条件下对骨形成发挥重要作用。

体外研究中骨细胞和成骨细胞的GJIC对机械应力作用下的成骨分化是必需的,Cx43在体内对机械应力的反

应很复杂,Cx43缺失既能减弱也能增强机械负荷对骨形成的作用<sup>[40]</sup>。通过采用Col1-cre来敲除成骨细胞和骨细胞的Cx43,GRIMSTON等<sup>[41]</sup>发现小鼠皮质骨变薄,骨髓增加。在机械负荷下,与野生型小鼠相比,骨矿化沉积率(mineral apposition rate, MAR)降低,Cx43可能限制骨细胞及成骨细胞对机械应力的反应。然而也有学者发现在骨细胞和成骨细胞Cx43敲除的小鼠,胫骨机械力加载后,骨矿化高于野生型小鼠<sup>[40]</sup>。介导Cx43对机械应力诱导的骨形成抑制作用的具体分子途径仍有待确定。

Cx43调节骨稳态和骨对负荷的反应,并在骨折愈合中发挥重要作用。野生型小鼠骨折后新骨形成区骨细胞和成骨细胞中Cx43的表达丰富。成骨细胞/骨细胞Cx43缺失的小鼠会同时出现骨形成和骨吸收减少,导致骨折愈合减慢<sup>[42]</sup>。

目前已有在骨细胞中表达突变Cx43的小鼠模型的骨骼表型的报道。其中一个模型为点突变R67W,在该模型中,Cx43可以形成半通道,但是不能形成缝隙连接。删除氨基酸130~136( $\Delta$ 130-136),Cx43通道渗透性缺失,因而既不能形成功能性半通道也不能形成缝隙连接<sup>[43]</sup>。 $\Delta$ 130-136突变小鼠表现出骨量增加,而R67W小鼠与野生型小鼠无法区分。两种小鼠的松质骨均没有变化,但 $\Delta$ 130-136小鼠的皮质骨与敲除骨细胞Cx43的小鼠相似,其皮质骨中骨细胞凋亡增加<sup>[32, 44]</sup>,抗破骨因子OPG减少。而且前者促破骨因子RANKL水平降低,后者则表现出RANKL高表达<sup>[45]</sup>。

## 4.2 Pannexins在骨内的研究

**4.2.1 体外研究** Panx1与Panx3在成骨细胞中表达,但对它们功能的研究才刚开始。在成骨分化过程中,Panx3是成骨细胞转录因子Runx2的直接靶蛋白<sup>[46]</sup>。过表达Panx3可促进C2C12细胞的成骨向分化,上调Sp7/Osterix和骨钙素的表达<sup>[47]</sup>。Panx3半通道可以通过增加 $\beta$ -catenin的功能来促进成骨分化<sup>[48]</sup>。而Panx1在骨细胞和成骨细胞中的作用尚未研究,Panx1和Panx3在破骨细胞中的作用也尚无报道。Panx3已被证实可在软骨细胞中表达,可以通过激活细胞内Ca<sup>2+</sup>信号通路来调控软骨细胞的分化。

**4.2.2 体内研究** 关于Panxs在骨细胞生物学中作用的体内研究尚较少,目前已构建了Panx1和Panx3敲除的小鼠,Panx3敲除鼠较Cx43敲除鼠的骨骼异常更严重<sup>[49]</sup>。对Panx3-KO小鼠表型分析的研究表明,Panx3通过促进血管内皮生长因子(VEGF)和基质金属蛋白酶来调节软骨细胞的终末分化。此外,Panx3可以通过调节Wnt/ $\beta$ -catenin来促进Cx43的表达<sup>[50]</sup>。已有研究表明Panx3在骨关节炎中具有重要作用,因为在大鼠的软骨中,它的表达增高,可能加速骨关节炎的发展。IWAMOTO等<sup>[51]</sup>发现敲除

Panx3可以阻止肥大软骨细胞的分化。在全身敲除和软骨敲除Panx3的骨关节炎小鼠,骨关节炎的严重程度较野生型低<sup>[32]</sup>。

## 5 存在的问题及未来发展方向

Connexins和Pannexins在骨细胞和成骨细胞分化、细胞内信号转导、维持骨平衡以及骨再生中起着重要作用。目前的研究已经阐明这些分子,以缝隙连接的形式或是独立的半通道的形式传递外界刺激到骨骼系统。然而,对于Connexins和Pannexins家族成员在骨发育和骨稳态中其他类型细胞如成骨细胞前体、骨髓间充质干细胞等,在维持正常生物学性中的作用所知甚少。此外,目前Connexins家族中研究最多的成员是Cx43,其他成员在骨骼发育中的作用与机制尚缺乏研究。基因编辑动物模型为研究Connexins和Pannexins在骨骼系统中的作用提供了基本的信息,但是Connexins和Pannexins之间的异同仍然有待发现。将一种特定功能定位于Connexins或Pannexins对骨作用刺激和骨骼疾病的影响仍然是一个难题,其困扰是通道之间药理选择性重叠、其他亚型的补偿、评估通道功能的方法差异,以及与转基因小鼠模型相关的基因改变。因此,需要更好的工具和研究途径来了解这些通道在骨和软骨中的作用。未来研究的一个基本任务是找到特定的可以调节Connexins或Pannexins亚型的化合物,使其能够作为药物制剂治疗骨骼疾病,为改善骨骼健康、治疗骨骼系统的疾病开发新的治疗策略提供可能。

## 参 考 文 献

- [1] PLOTKIN L I, STAINS J P. Connexins and pannexins in the skeleton: gap junctions, hemichannels and more. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(15): 2853–2867.
- [2] DONAHUE H J, QU R W, GENETOS D C. Joint diseases: from connexins to gap junctions. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 14(1): 42–51.
- [3] PLOTKIN L I, DAVIS H M, CISTERNA B A, *et al*. Connexins and pannexins in bone and skeletal muscle. *Curr Osteoporos Rep*, 2017, 15(4): 326–334.
- [4] BRÜCHER B L, JAMALL I S. Cell-cell communication in the tumor microenvironment, carcinogenesis, and anticancer treatment. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 34(2): 213–243.
- [5] KUMAR V, COUSER N L, PANDYA A. Oculodentodigital dysplasia: a case report and major review of the eye and ocular adnexa features of 295 reported cases. *Case Rep Ophthalmol Med*, 2020, 4: 6535974[2020-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7165356/>. doi: 10.1155/2020/6535974.
- [6] 黄卫民, 张小敏, 陶亮. 细胞缝隙连接与骨及相关疾病研究进展. *新疆医科大学学报*, 2016, 39(11): 1474–1477.
- [7] ROY S, JIANG J X, LI A F, *et al*. Connexin channel and its role in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res*, 2017, 61: 35–59.
- [8] BEYER E C, BERTHOUD V M. Gap junction gene and protein families: connexins, innexins, and pannexins. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2018, 1860(1): 5–8.
- [9] RODRÍGUEZ-SINOVAS A, RUIZ-MEANA M, DENUC A, *et al*. Mitochondrial Cx43, an important component of cardiac preconditioning. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2018, 1860(1): 174–181.
- [10] TOTLAND M Z, RASMUSSEN N L, KNUDSEN L M, *et al*. Regulation of gap junction intercellular communication by connexin ubiquitination: physiological and pathophysiological implications. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(4): 573–591.
- [11] EPIFANTSEVA I, SHAW R M. Intracellular trafficking pathways of Cx43 gap junction channels. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2018, 1860(1): 40–47.
- [12] HERVE J C, DERANGEON M. Gap-junction-mediated cell-to-cell communication. *Cell Tissue Res*, 2013, 352(1): 21–31.
- [13] WILLEBRORDS J, MAES M, CRESPO YANGUAS S, *et al*. Inhibitors of Connexin and Pannexin channels as potential therapeutics. *Pharmacol Ther*, 2017, 180: 144–160.
- [14] SCEMES E, VELÍŠKOVÁ J. Exciting and not so exciting roles of Pannexins. *Neurosci Lett*, 2019, 695: 25–31.
- [15] CARPINTERO-FERNANDEZ P, GAGO-FUENTES R, WANG H Z, *et al*. Intercellular communication via gap junction channels between chondrocytes and bone cells. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2018, 1860(12): 2499–2505.
- [16] LIU W, ZHANG D, LI X, *et al*. TGF- $\beta$ 1 facilitates cell-cell communication in osteocytes via Connexin43- and Pannexin1-dependent gap junctions. *Cell Death Discov*, 2019, 5: 141[2020-05-25]. <https://www.nature.com/articles/s41420-019-0221-3>. doi: 10.1038/s41420-019-0221-3.
- [17] PLOTKIN L I, LAIRD D W, AMEDEE J. Role of Connexins and Pannexins during ontogeny, regeneration, and pathologies of bone. *BMC Cell Biol*, 2016, 17 (Suppl 1): 19[2020-05-25]. <https://bmcmolcellbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12860-016-0088-6>. doi: 10.1186/s12860-016-0088-6.
- [18] 陈骞, 蒋科, 陈路, 等. 连接蛋白43在骨关节炎发病机制中的研究进展. *川北医学院学报*, 2016, 31(6): 799–804.
- [19] STAINS J P, CIVITELLI R. Connexins in the skeleton. *Semin Cell Dev Biol*, 2016, 50: 31–39.
- [20] PACHECO-COSTA R, DAVIS H M, SORENSON C, *et al*. Defective cancellous bone structure and abnormal response to PTH in cortical bone of mice lacking Cx43 cytoplasmic C-terminus domain. *Bone*, 2015, 81: 632–643.
- [21] LIN F X, ZHENG G Z, CHANG B, *et al*. Connexin 43 modulates osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells through gsk-3 $\beta$ /beta-catenin signaling pathways. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(1): 161–175.
- [22] BUO A M, TOMLINSON R E, EIDELMAN E R, *et al*. Connexin43 and Runx2 interact to affect cortical bone geometry, skeletal development, and osteoblast and osteoclast function. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(8): 1727–1738.

- [23] WU X T, SUN L W, YANG X, *et al.* The potential role of spectrin network in the mechanotransduction of MLO-Y4 osteocytes. *Sci Rep*, 2017, 7: 40940[2020-05-25]. <https://www.nature.com/articles/srep40940>. doi: 10.1038/srep40940.
- [24] PLOTKIN L I, SPEACHT T L, DONAHUE H J. Cx43 and mechanotransduction in bone. *Curr Osteoporos Rep*, 2015, 13(2): 67–72.
- [25] BATRA N, RIQUELME M A, BURRA S, *et al.* Direct regulation of osteocytic Connexin 43 hemichannels through AKT kinase activated by mechanical stimulation. *J Biol Chem*, 2014, 289(15): 10582–10591.
- [26] RIQUELME M A, BURRA S, KAR R, *et al.* Mitogen-activated protein kinase (MAPK) activated by prostaglandin E2 phosphorylates Connexin 43 and closes osteocytic hemichannels in response to continuous flow shear stress. *J Biol Chem*, 2015, 290(47): 28321–28328.
- [27] BUO A M, STAINS J P. Gap junctional regulation of signal transduction in bone cells. *FEBS Lett*, 2014, 588(8): 1315–1321.
- [28] RIQUELME M A, CARDENAS E R, XU H, *et al.* The role of Connexin channels in the response of mechanical loading and unloading of bone. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 1146[2020-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7038207/>. doi: 10.3390/ijms21031146.
- [29] WEI C J, FRANCIS R, XU X, *et al.* Connexin43 associated with an N-cadherin-containing multiprotein complex is required for gap junction formation in NIH3T3 cells. *J Biol Chem*, 2005, 280(20): 19925–19936.
- [30] CHUNG D J, CASTRO H M, WATKINS M. Low peak bone mass and attenuated anabolic response to parathyroid hormone in mice with an osteoblast-specific deletion of Connexin43. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt 20): 4187–4198.
- [31] PACHECO-COSTA R, HASSAN I, REGINATO R D, *et al.* High bone mass in mice lacking Cx37 because of defective osteoclast differentiation. *J Biol Chem*, 2014, 289(12): 8508–8520.
- [32] BIVI N, CONDON K W, ALLEN M R, *et al.* Cell autonomous requirement of Connexin 43 for osteocyte survival: consequences for endocortical resorption and periosteal bone formation. *J Bone Miner Res*, 2012, 27(2): 374–389.
- [33] CHAIBLE L M, SANCHES D S, COGLIATI B, *et al.* Delayed osteoblastic differentiation and bone development in Cx43 knockout mice. *Toxicol Pathol*, 2011, 39(7): 1046–1055.
- [34] WATKINS M, GRIMSTON S K, NORRIS J Y, *et al.* Osteoblast Connexin43 modulates skeletal architecture by regulating both arms of bone remodeling. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(8): 1240–1251.
- [35] HASHIDA Y, NAKAHAMA K, SHIMIZU K, *et al.* Communication-dependent mineralization of osteoblasts via gap junctions. *Bone*, 2014, 61: 19–26[2020-05-25]. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.12.031>.
- [36] LLOYD S A, LOISELLE A E, ZHANG Y, *et al.* Evidence for the role of connexin 43-mediated intercellular communication in the process of intracortical bone resorption via osteocytic osteolysis. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014, 15: 122[2020-05-25]. <https://bmcmusculoskeletdisord.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2474-15-122>. doi: 10.1186/1471-2474-15-122.
- [37] SADR-ESHKEVARI P, ASHNAGAR S, RASHAD A, *et al.* Bisphosphonates and Connexin 43: a critical review of evidence. *Cell Commun Adhes*, 2014, 21(5): 241–247.
- [38] SMIT M A, VAN KINSCHOT C M J, VAN DER LINDEN J, *et al.* Clinical guidelines and PTH measurement: does assay generation matter? *Endocr Rev*, 2019, 40(6): 1468–1480.
- [39] CHUNG D J, CASTRO C H M, WATKINS M, *et al.* Low peak bone mass and attenuated anabolic response to parathyroid hormone in mice with an osteoblast-specific deletion of Connexin43. *J Cell Sci*, 2006, 119(20): 4187–4198.
- [40] RIQUELME M A, CARDENAS E R, XU H, *et al.* The role of Connexin channels in the response of mechanical loading and unloading of bone. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 1146[2020-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7038207/>. doi: 10.3390/ijms21031146.
- [41] GRIMSTON S K, BRODT M D, SILVA M J, *et al.* Attenuated response to *in vivo* mechanical loading in mice with conditional osteoblast ablation of the Connexin43 gene (*Gja1*). *J Bone Miner Res*, 2008, 23(6): 879–886.
- [42] LOISELLE A E, PAUL E M, LEWIS G S, *et al.* Osteoblast and osteocyte-specific loss of Connexin43 results in delayed bone formation and healing during murine fracture healing. *J Orthop Res*, 2013, 31(1): 147–154.
- [43] MA L, HUA R, TIAN Y, *et al.* Connexin 43 hemichannels protect bone loss during estrogen deficiency. *Bone Res*, 2019, 7: 11[2020-05-25]. <https://www.nature.com/articles/s41413-019-0050-2>. doi: 10.1038/s41413-019-0050-2.
- [44] XU H Y, GU S M, RIQUELME M A, *et al.* Connexin 43 channels are essential for normal bone structure and osteocyte viability. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(3): 436–448.
- [45] CHEN Y, CHEN M, XUE T, *et al.* Osteocytic Connexin 43 channels affect fracture healing. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 19824–19832.
- [46] BOND S R, LAU A, PENUELA S, *et al.* Pannexin 3 is a novel target for Runx2, expressed by osteoblasts and mature growth plate chondrocytes. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(12): 2911–2922.
- [47] ISHIKAWA M, IWAMOTO T, NAKAMURA T, *et al.* Pannexin 3 functions as an ER Ca<sup>2+</sup> channel, hemichannel, and gap junction to promote osteoblast differentiation. *J Cell Biol*, 2011, 193(7): 1257–1274.
- [48] ISHIKAWA M, IWAMOTO T, FUKUMOTO S, *et al.* Pannexin 3 inhibits proliferation of osteoprogenitor cells by regulating Wnt and p21 signaling. *J Biol Chem*, 2014, 289(5): 2839–2851.
- [49] HANSTEIN R, NEGORO H, PATEL N K, *et al.* Promises and pitfalls of a Pannexin1 transgenic mouse line. *Front Pharmacol*, 2013, 4: 61[2020-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3648696/>. doi: 10.3389/fphar.2013.00061.
- [50] ISHIKAWA M, YAMADA Y. The role of Pannexin 3 in bone biology. *J Dent Res*, 2017, 96(4): 372–379.
- [51] IWAMOTO T, NAKAMURA T, DOYLE A, *et al.* Pannexin 3 regulates intracellular ATP/cAMP levels and promotes chondrocyte differentiation. *J Biol Chem*, 2010, 285(24): 18948–18958.

(2020-06-23收稿, 2020-10-30修回)

编辑 余琳