

## · 综述 ·

## 细胞凋亡在激素性股骨头坏死中作用机制的研究进展

张华峰 徐倩

**【摘要】** 激素在临床中的大量使用导致激素性股骨头坏死的患者逐年增多,但是激素性股骨头坏死的确切发病机制仍未明确。一般认为骨坏死的发生是多种因素共同作用的结果,而细胞凋亡学说越来越成为热点。本文就细胞凋亡在激素性股骨头坏死中的作用机制做一综述。

**【关键词】** 股骨头坏死; 激素; 凋亡; 基因

**Mechanism progress of apoptosis in hormonal caput femoris necrosis** Zhang Huafeng, Xu Qian. Department of Orthopaedics, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China  
Corresponding author: Zhang Huafeng, Email: tijmuhua516@163.com

**【Abstract】** The patients of steroid induced osteonecrosis of femoral head increased year by year because of excessive use of steroid in the clinic. But the exact pathogenesis of steroid induced osteonecrosis of femoral head remained uncertain. Generally believed that the occurrence of osteonecrosis was the result of combined action in many factors, and the theory of apoptosis became a focus. The article reviewed the mechanism of apoptosis in steroid induced osteonecrosis of femoral head.

**【Key words】** Femoral head necrosis; Steroid; Apoptosis; Genes

目前激素已广泛应用于临床,成为治疗如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、哮喘、器官移植后等疾病的有效手段,但随之而来的副作用也逐渐显现出来,如骨丢失,特别是由此引起的激素性股骨头坏死病例不断涌现,给临床医师带来很大困扰<sup>[1-3]</sup>。而激素性股骨头坏死的发病机制尚无统一论,近年来很多实验研究显示:在激素的不同作用下,骨细胞、成骨细胞、破骨细胞及软骨细胞均存在细胞凋亡的现象,并推测细胞凋亡参与了激素性股骨头坏死的病理过程,是股骨头坏死发生、发展和演变的细胞学基础<sup>[4]</sup>。随着研究的不断深入,发现激素性股骨头坏死机制中细胞凋亡是受相关基因调控的<sup>[5]</sup>。本文查阅国内外相关文献,对激素性股骨头坏死发病机制中与细胞凋亡相关的不同关键基因作一综述。

#### 一、细胞凋亡在激素性股骨头坏死中的作用

细胞凋亡是细胞主动性、程序性的死亡过程,不同于被动的细胞坏死。凋亡细胞的主要病理特点是:染色质发生不同比例的凝聚化和外周化、细胞的胞浆内细胞质数量减少、细胞质发生不同程度的致密化、细胞核发生不同程度的片段等细胞内变化,细胞核片段化促使细胞凋亡小体逐渐形成<sup>[6]</sup>。

众所周知,糖皮质激素的过量使用可造成股骨头坏死。研究发现过量使用糖皮质激素可诱导成熟的骨细胞和成骨细胞凋亡,进而导致活性骨细胞减少,最终结局是骨质疏松的并发症出现<sup>[7-9]</sup>。Weinstein等<sup>[10-11]</sup>首先发现进行髋关节置换的激素性股骨头坏死患者的股骨头内有大量凋亡的骨细胞,而其他髋关节置换患者(如镰状细胞增多症和股骨颈骨折)的股骨头内没有凋亡的骨细胞。Bejar等<sup>[12]</sup>认为激素导致细胞凋亡是独立的致病因素,长期使用会导致股骨皮质上的成骨细胞和骨细胞发生凋亡。Calder等<sup>[13]</sup>研究发现在酒精性和激素性股骨头坏死患者的股骨头内存在成骨细胞和骨细胞的凋亡。

此外,很多体外实验证实激素可以诱导成骨细胞凋亡。激素可促进 MLO-Y4 骨细胞系的凋亡<sup>[14-17]</sup>及 C3H10T1/2 骨祖细胞系和 MC3T3-E1 成骨细胞系的凋亡<sup>[18-19]</sup>。大鼠颅骨原代成骨细胞培养后使用皮质激素处理 72 h 发现可以增加细胞凋亡并减少 Bcl/Bax 的表达<sup>[20]</sup>。Kim等<sup>[21]</sup>发现激素的过量表达可以促进成骨细胞的凋亡而阻止破骨细胞的凋亡。动物试验中,O'Brien等<sup>[22]</sup>发现在 11 $\beta$ -HSD2 转基因的小鼠中,

应用同剂量的激素, 骨细胞和成骨细胞的凋亡发生几率明显低于对照组。尽管在此转基因鼠上可以有效预防激素诱导骨形成的减低, 但是早期仍然存在骨量的快速丢失, 因此转基因鼠不能防止激素对破骨细胞的作用。Kabata 等<sup>[23]</sup>发现在兔激素性股骨头坏死模型中存在广泛的凋亡现象, 大量的 TUNEL 染色阳性细胞存在。Eberhardt 等<sup>[24]</sup>研究发现, 激素性股骨头坏死的兔子模型之中, 股骨头内软骨下骨的骨小梁在光镜下可以观察到变细的现象, 骨小梁周围特殊染色可见骨细胞凋亡现象的发生。激素性骨坏死的首要也是关键的病理学改变可能是细胞凋亡现象的出现。当兔股骨头内出现广泛的骨细胞凋亡时, 虽然供应股骨头的血管通畅, 供应股骨头的血运还没有出现明显减少, 但是骨坏死却已经发生了<sup>[25-26]</sup>。

在正常骨组织中, 存在一个十分庞大的细胞之间的微观通讯网络, 这可能是由埋在骨陷窝中的成骨细胞和骨细胞通过细胞突起及其间的间隙连接而形成的。这个微观通讯网络可以感应骨组织之间的机械应力以及微小损伤从而促进骨组织完成修复反应, 包括代偿性的骨组织的增加和减少, 骨结构和骨量会相应的发生变化。破骨细胞可以吸收损伤或者退化的细胞, 可以在骨组织内保留一定新的空间, 为成骨细胞构建新的骨陷窝提供了条件。糖皮质激素可以诱导骨细胞和成骨细胞的凋亡增加, 使得骨组织内负重区骨小梁产生损伤和破裂, 微骨折最终发生于骨组织中。同时由于成骨细胞和骨细胞凋亡的发生, 新生骨组织的形成率下降, 骨组织的重建和修复都不能得到充分完成, 骨组织不能对骨内的微损伤进行及时和有效的修复。此外, 糖皮质激素还可以通过诱导氧自由基的产生而直接影响到骨细胞、成骨细胞和破骨细胞的生命。骨组织内不同类型细胞均发生不同程度的凋亡现象, 最终累积而形成不可修复的后果, 结局是股骨头坏死和骨组织塌陷的发生<sup>[27-28]</sup>。激素对骨组织的副作用主要通过直接作用在成骨细胞和破骨细胞, 使成骨细胞的数量减少及凋亡增加, 破骨细胞的生命延长, 增加骨细胞凋亡的同时伴有 VEGF 表达的减少, 从而减少骨组织血运和骨强度<sup>[29-30]</sup>。

## 二、激素性股骨头坏死机制中细胞凋亡相关基因

### (一) Bcl-2 家族

细胞凋亡研究中最受重视的癌基因之一是 B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2) 基因, 简称 Bcl-2。目前发现的 Bcl-2 蛋白家族按功能可分为两类: 一类具有促进细胞凋亡的作用, 分成多种亚型: Bax、Bak、Bad、Bcl-Xs、Bik/Nbk、Harakiri 和 Bid<sup>[31-32]</sup>。另一类像 Bcl-2 一样具有明显的抑制凋亡作用, 如 Bcl-W、Mcl-1、Bcl-xL、A1 等。Bcl-2 的抗凋亡和细胞保护机制可能通过以下方式起作用<sup>[33-35]</sup>:

(1) Bcl-2 通过改变线粒体疏基的氧化还原状况抑制自由基产生来抗凋亡, 亦可以抑制过氧化物的产生; (2) 抑制细胞内钙离子的释放, 钙离子在细胞凋亡中起重要作用, 转基因的实验方法发现高表达 Bcl-2 可以抑制内质网释放钙离子, 可以推测 Bcl-2 对细胞凋亡的抑制作用可能与钙离子在

细胞内质网中的释放与否有关; (3) Bcl-2 通过阻止促凋亡基因信号或者通过阻止凋亡诱导基因 (A1F) 产物的生成而发挥抗凋亡作用; (4) Bcl-2 能够将凋亡蛋白前体 (Apaf-1) 定位固定于线粒体膜上, 通过互相的结合, 使 Apaf-1 不能激活凋亡信号传导的中心效应分子含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (cysteine specific proteinase, Caspase)。Bad 可以增加线粒体外膜的通透性, 通过细胞色素 C 的释放, 诱导产生细胞凋亡。相反 Bcl-2 和 Bcl-xL 减少线粒体外膜的通透性而起到抑制细胞凋亡的作用<sup>[36]</sup>。

近期研究显示凋亡拮抗因子 (Bcl-2 等) 和凋亡激动因子 (Bax、Bad、Bid 等) 的比值可以决定细胞是否对凋亡信号发生反应, Bcl/Bax 的比例是通过相互竞争形成二聚体而决定的。激素可以通过激活 Bcl-2 家族的凋亡激动因子, 抑制凋亡拮抗因子, 减少 Bcl-2/Bax 的比率而导致凋亡的发生。Mocetti 等<sup>[37]</sup>用 10 mg/d 的皮质酮处理 Wistar 大鼠三周后, 免疫组化检查发现在其股骨可见 Bcl-2 和 Bax 的表达, 并且 Bcl-2 的表达减低, 而 Bax 的表达增强。同样的动物模型 Silvestrini 等<sup>[38]</sup>发现骨细胞的 Bcl-2 表达减低而 Bax 免疫阳性骨细胞增多, 细胞凋亡明显增加。

Hockenbery 等<sup>[32]</sup>研究发现, 内源性核酸内切酶的 DNA 切割活性可以被 Bcl-2 蛋白阻断从而发生细胞凋亡。p53 和 Bax 凋亡基因的表达在高剂量的激素和低氧情况下可以被诱导表达上调, 抑制凋亡基因 Bcl-2 和 MDM2 的表达可以被诱导下调。Nagase 等<sup>[39]</sup>发现 Bcl-2 基因敲出鼠骨细胞凋亡量是野生型鼠的 4 倍。Tsuji 等<sup>[40]</sup>发现低氧状态细胞更容易出现凋亡现象。Zalavras 等<sup>[41]</sup>研究发现激素性股骨头坏死中细胞凋亡是激素和缺氧共同作用的结果, 而 Bcl-2/Bax 在细胞凋亡中起到重要的作用。

### (二) p53 基因

p53 基因的定义是人体抑癌基因编码一种分子量为 53 kDa 的蛋白质。肿瘤会在 p53 基因的表达失活下而产生。但是另一个方面, p53 基因可以导致癌细胞的凋亡, 是十分重要的抗癌基因; p53 基因同时可以辅助修复细胞基因的缺陷。另一个方面 p53 促进细胞凋亡的功能研究进行得比较深入。通过 Fas/Apo1、IGF-BP3、Bax/Bcl2 等蛋白, p53 可调控细胞凋亡。Bcl-2 可抑制细胞色素 C 等物质从线粒体释放出来, 进而起到抗细胞凋亡作用, 而 Bax 的作用和 Bcl-2 正好相反。p53 通过下调 Bcl-2 的表达和上调 Bax 的表达的协同作用, 共同完成促进细胞凋亡作用。p53 同样可以通过死亡信号受体蛋白途径诱导细胞凋亡, 部分学者认为 p53 诱导细胞凋亡的作用是通过直接刺激线粒体释放高毒性氧自由基的方式来实现的。Ookawa 等<sup>[42]</sup>研究发现在成骨细胞培养系中, 成骨细胞大量停滞并积聚在细胞成长分化周期的 G0/G1 和 G2 阶段, 而 p53 基因的表达出现上调, 表明 p53 可以诱导成骨细胞凋亡。Li 等<sup>[43]</sup>体外培养 MC3T3-E1 成骨样细胞, 用不同浓度的地塞米松干预发现随着地塞米松浓度的增高,

细胞的凋亡发生率及 p53 蛋白的表达随之升高。p53 作为重要的凋亡因子可以被 ROS、DNA 损伤、低氧等因素激活。此外 p53 可以调节 ROS 的产生,通过 p66Shc 的激活而产生 ROS 诱导线粒体途径细胞凋亡<sup>[44]</sup>。

### (三) Fas/FasL 系统

Fas/FasL 系统是导致细胞凋亡的主要途径之一, Fas 和 FasL 是这几年来研究得较为深入的膜表面分子,与细胞凋亡有很大的关系,通过研究它们在细胞凋亡中的作用机制,对进一步的了解细胞凋亡的机制可以起到深远的影响。1989 年 Yonehara 等<sup>[45]</sup>发现了一株特殊的单克隆抗体,这株抗体的特殊性在于它可以识别一种表达于髓样细胞、成纤维细胞和 T 细胞表面的未知分子,从而诱导细胞发生不同程度的凋亡,这种未知的分子就是 Fas。同年, Trauth 等<sup>[46]</sup>也发现了一株可以诱导淋巴细胞凋亡的不同单克隆抗体,他们将这株抗体所识别的蛋白命名为凋亡蛋白-1 (Apo-1)。

Fas/Apo-1 是 I 型跨膜糖蛋白,它属于神经生长因子/肿瘤坏死因子受体超家族,其蛋白前体长 335AA, N 端有 16 个疏水性氨基酸组成的信号肽,成熟蛋白长 319AA。Fas/Apo-1 是细胞表面的死亡受体,可以导致程序性细胞死亡,是两种重要的细胞凋亡途径之一,另一种是线粒体途径<sup>[47]</sup>。Suda 等<sup>[48]</sup>1993 年 CTL 杂交瘤衍生的细胞系 PC60-d10S 细胞系中成功克隆出 Fas 的配体 FasL, FasL 长为 278 氨基酸,为 II 型跨膜糖蛋白,由跨膜区 (22aa)、胞浆区 (77aa) 和胞膜外区 (179aa) 组成。FasL 是 II 型膜蛋白,属于 TNF 家族成员,主要在活化 T 细胞膜上表达。FasL 和其配体 Fas 结合可以导致凋亡的发生。Fas/FasL 在免疫调节和肿瘤的发生发展起到重要的作用。

一般成熟的成骨细胞可以出现 Fas 基因的表达,成熟钙化期时出现 Fas 基因的表达增加,大约有三分之一的大鼠前成骨细胞在蛋白水平表达 Fas,随着前成骨细胞的成熟,该比例有所增高,而研究表明 Fas/FasL 系统抑制小鼠成骨细胞分化<sup>[49]</sup>。有研究表明地塞米松诱导细胞凋亡在多种细胞系中均存在 Fas/FasL 途径的参与, Fas/FasL 与地塞米松诱导细胞凋亡具有重要相关性<sup>[50]</sup>。Martin 等<sup>[51]</sup>发现用地塞米松处理 MLO-Y4 骨细胞出现 Fas mRNA 表达增加,并导致骨细胞凋亡的发生。使用 Caspase8 抑制剂可以抑制 Dex 诱导的骨细胞凋亡,可以不通过 FasL 途径,直接激活 Caspase 途径<sup>[52]</sup>。

Kawakami 等<sup>[53]</sup>通过体外培养成骨细胞,发现细胞表面可以表达 Fas 抗原, Fas 和可溶性的膜性 FasL 结合之后,激活 Fas/FasL 通路诱导成骨细胞凋亡的产生。Hashimoto 等<sup>[54]</sup>通过体外培养软骨细胞,在软骨细胞上发现了 Fas 和 FasL 的表达,将 Fas antibody 加入到体外培养的软骨细胞中,可以诱导出现软骨细胞的凋亡。激素因为其调节免疫反应的能力已经被广泛用于临床抗炎使用,主要是通过激活重要的细胞凋亡通路 Fas/FasL 实现<sup>[55-56]</sup>。FasL 和受体 FasR 结合,可以引起 Fas 三聚化从而使得胞内的死亡结构域构象改变,招

募细胞内适配蛋白 (FADD),和 Caspase-8 前体蛋白结合反应,形成死亡诱导信号复合体 (DISC),而 Caspase-8 可以激活下游的 Caspase 级联反应,通过降解胞内结构蛋白和功能蛋白,导致凋亡的发生<sup>[50, 57]</sup>。

### (四) Caspase 家族

Caspase 存在于细胞质中,存在很多亚型,是一类具有类似结构的蛋白酶。Caspase 在凋亡、坏死方面被证实起到重要作用<sup>[58]</sup>。至 2009 年,已经在人类鉴定了 12 种不同的 Caspase<sup>[59]</sup>,有两类不同类型的 Caspase,起始者 (initiator) 和执行者 (executioner),在外来蛋白信号的作用下起始 Caspase (Casp2、Casp8、Casp9 和 Casp10) 被切割激活,执行者 Caspase (Casp3、Casp6、Casp7) 在起始 Caspase 的作用下被切割并激活, Caspase 靶蛋白被激活的执行者 Caspase 水解,最终导致程序性细胞死亡。Caspase3 是 Caspase 家族重要的一员,一旦被激活,它可以切割细胞基质导致细胞凋亡<sup>[60-61]</sup>。

原代分离培养的成骨样细胞可以在地塞米松的诱导下发生凋亡,而且这种凋亡效应的产生呈药物浓度。细胞凋亡的过程中 Caspase-3 的活性呈现显著升高的趋势,说明地塞米松诱导成骨样细胞凋亡是 Caspase-3 依赖的,而糖皮质激素诱导胸腺细胞等免疫细胞凋亡过程中是对 Caspase-9 依赖的,这两个过程明显不同<sup>[62-63]</sup>,证明了糖皮质激素诱导的细胞凋亡,在不同细胞是通过诱导不同的 Caspase 途径来实现的。Lee 等<sup>[64]</sup>发现在地塞米松诱导的细胞凋亡中,通过加用 Caspase-3 和 Caspase-7 抑制剂可以抑制细胞凋亡,说明 Dex 诱导的细胞凋亡是 Caspase 依赖性的。Liu 等<sup>[65]</sup>发现糖皮质激素可以通过外源性或者内源性凋亡通路激活 Caspase3 而导致 MC3T3-E1 成骨细胞的凋亡。Abdi 等<sup>[66]</sup>2011 年报道在股骨头坏死的凋亡机制中 Caspase3 起到了作用。而 Xu 等<sup>[67]</sup>报道在激素性股骨头坏死中, Caspase3 的上调导致细胞凋亡是主要致病因素,而 Caspase3 上游 STAT1 的高表达表明 STAT1-Caspase3 通路在激素性股骨头坏死中起到重要的作用。

### (五) 氧调节蛋白 150 和血红素氧合酶 1

氧调节蛋白 150 (oxygen-regulated protein 150, ORP150) 是一类存在于内质网的蛋白质多肽,1996 年在神经胶质细胞中被发现<sup>[68]</sup>,广泛分布于肝脏、脑、胰腺、肺等组织。它与其他葡萄糖调节蛋白一起应对各种应激环境。ORP150 的功能虽然还没有完全阐明,但当机体处于应激环境时, ORP150 处于高表达状态,发挥着保护性作用<sup>[69-72]</sup>。其作为内质网的分子伴侣,在很多疾病的发病过程中均发挥着保护作用。有研究报道, ORP150 可抑制缺氧导致的细胞凋亡,对缺氧情况下的脑组织和心肌细胞的凋亡有保护作用<sup>[73]</sup>。此外, ORP150 的表达能加快皮肤伤口愈合,改善大鼠缺血性骨坏死。

血红素氧合酶 (heme oxygenases, HO-1) 在人体内被发现

有几十年的历史, 近期研究发现其在缺血和氧化应激方面起重要的作用<sup>[74-77]</sup>。在生物体内, HO 分为 HO-1、HO-2 和 HO-3 三种。Sato 等<sup>[78]</sup>2001 年研究发现 ORP150 和 HO-1 的表达与缺血性股骨头坏死中的细胞凋亡有密切关系, 动物模型发现在骨细胞、骨髓细胞和软骨细胞内出现 DNA 损伤和凋亡小体的存在。在股骨头坏死的每个阶段都出现 TUNEL 染色阳性细胞和 ORP150 和 HO-1mRNA 的高表达。HO-1 为诱导形式, 被认为是热休克蛋白家族成员之一, 其相对分子量是 32 KD, 又称热休克蛋白 32 (heat shock protein 32, HSP32), 广泛分布。HO-1 的表达易受多种因素如某些重金属、热休克、高氧、低氧、紫外线、内毒素、炎性细胞因子、激素等影响, 诱导其产生<sup>[79]</sup>。

### 三、总结

细胞凋亡是激素性股骨头坏死的重要病因之一, 激素诱导成骨细胞凋亡是骨坏死的潜在发病机制, 并在人或者动物体内均得到了证实, 而其在骨坏死中的作用尚不清楚。细胞凋亡机制的机理还需要进一步明确。在研究激素与细胞凋亡的关系时, 应选择合适的切入点进行干预, 从而明确其机制的作用靶点。这样既可以保证临床使用激素的疗效, 又可以最大程度的避免或减缓股骨头坏死发生发展, 减轻患者痛苦。

### 参 考 文 献

- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [J]. *Br J Cancer*, 1972, 26(4): 239-257.
- Guo KJ, Zhao FC, Guo Y, et al. The influence of age, gender and treatment with steroids on the incidence of osteonecrosis of the femoral head during the management of severe acute respiratory syndrome: a retrospective study [J]. *Bone Joint J*, 2014, 96-B(2): 259-262.
- Laporte DM, Mont MA, Mohan V, et al. Multifocal osteonecrosis [J]. *J Rheumatol*, 1998, 25(10): 1968-1974.
- Chernetsky SG, Mont MA, Laporte DM, et al. Pathologic features in steroid and nonsteroid associated osteonecrosis [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1999, 11(368): 149-161.
- Youm YS, Lee SY, Lee SH. Apoptosis in the osteonecrosis of the femoral head [J]. *Clin Orthop Surg*, 2010, 2(4): 250-255.
- Kerachian MA, Séguin C, Harvey EJ. Glucocorticoids in osteonecrosis of the femoral head: a new understanding of the mechanisms of action [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2009, 114(3/5): 121-128.
- Wu X, Feng X, He Y, et al. IL-4 administration exerts preventive effects via suppression of underlying inflammation and TNF- $\alpha$ -induced apoptosis in steroid-induced osteonecrosis [J]. *Osteoporos Int*, 2016, 11: (Epub ahead of print).
- Wu X, Yang S, Wang H, et al. G-CSF/SCF exert beneficial effects via anti-apoptosis in rabbits with steroid-associated osteonecrosis [J]. *Exp Mol Pathol*, 2013, 94(1): 247-254.
- Zheng H, Yang E, Peng H, et al. Gastrodin prevents steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats by anti-apoptosis [J]. *Chin Med J*, 2014, 127(22): 3926-3931.
- Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, et al. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone [J]. *J Clin Invest*, 1998, 102(2): 274-282.
- Weinstein RS, Chen JR, Powers CC, et al. Promotion of osteoclast survival and antagonism of bisphosphonate-induced osteoclast apoptosis by glucocorticoids [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(8): 1041-1048.
- Bejar J, Peled E, Boss JH. Vasculature deprivation--induced osteonecrosis of the rat femoral head as a model for therapeutic trials [J]. *Theor Biol Med Model*, 2005, 2(2): 24.
- Calder JD, Buttery L, Revell PA, et al. Apoptosis--a significant cause of bone cell death in osteonecrosis of the femoral head [J]. *J Bone Joint Surg Br*, 2004, 86(8): 1209-1213.
- Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, et al. Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone [J]. *J Clin Invest*, 1999, 104(4): 439-446.
- Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, et al. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin [J]. *J Clin Invest*, 1999, 104(10): 1363-1374.
- Plotkin LI, Manolagas SC, Bellido T. Transduction of cell survival signals by connexin-43 hemichannels [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(10): 8648-8657.
- Kousteni S, Bellido T, Plotkin LI, et al. Nongenotropic, sex-nonspecific signaling through the estrogen or androgen receptors: dissociation from transcriptional activity [J]. *Cell*, 2001, 104(5): 719-730.
- Chen HL, Demiralp B, Schneider A, et al. Parathyroid hormone and parathyroid hormone-related protein exert both pro- and anti-apoptotic effects in mesenchymal cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(22): 19374-19381.
- Ahuja SS, Zhao S, Bellido T, et al. CD40 ligand blocks apoptosis induced by tumor necrosis factor alpha, glucocorticoids, and etoposide in osteoblasts and the osteocyte-like cell line murine long bone osteocyte-Y4 [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(5): 1761-1769.
- Gohel A, McCarthy MB, Gronowicz G. Estrogen prevents glucocorticoid-induced apoptosis in osteoblasts in vivo and in vitro [J]. *Endocrinology*, 1999, 140(11): 5339-5347.
- Kim HJ, Zhao H, Kitaura H, et al. Glucocorticoids suppress bone formation via the osteoclast [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(8): 2152-2160.
- O'Brien CA, Jia D, Plotkin LI, et al. Glucocorticoids act directly on osteoblasts and osteocytes to induce their apoptosis and reduce bone formation and strength [J]. *Endocrinology*, 2004, 145(4): 1835-1841.
- Kabata T, Kubo T, Matsumoto T, et al. Apoptotic cell death in steroid induced osteonecrosis: an experimental study in rabbits [J]. *J Rheumatol*, 2000, 27(9): 2166-2171.
- Eberhardt AW, Yeager-Jones A, Blair HC. Regional trabecular bone matrix degeneration and osteocyte death in femora of glucocorticoid-treated rabbits [J]. *Endocrinology*, 2001, 142(3): 1333-1340.
- Mollazadeh S, Fazly Bazzaz BS, Kerachian MA. Role of apoptosis in pathogenesis and treatment of bone-related diseases [J]. *J Orthop Surg Res*, 2015, 10: 15.
- Zhang C, Zou YL, Ma J, et al. Apoptosis associated with Wnt/ $\beta$ -catenin pathway leads to steroid-induced avascular necrosis of femoral head [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2015, 16: 132.
- Weinstein RS. Glucocorticoids, osteocytes, and skeletal fragility: the role of bone vascularity [J]. *Bone*, 2010, 46(3): 564-570.
- Kim HJ. New understanding of glucocorticoid action in bone cells

- [J]. BMB Rep, 2010, 43(8): 524-529.
- 29 Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death [J]. Annu Rev Immunol, 1998, 16: 395-419.
- 30 Bai R, Liu W, Zhao A, et al. Nitric oxide content and apoptosis rate in steroid-induced avascular necrosis of the femoral head [J]. Exp Ther Med, 2015, 10(2): 591-597.
- 31 Kelekar A, Thompson CB. Bcl-2-family proteins: the role of the BH3 domain in apoptosis [J]. Trends Cell Biol, 1998, 8(8): 324-330.
- 32 Hockenbery DM, Oltvai ZN, Yin XM, et al. Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis [J]. Cell, 1993, 75(2): 241-251.
- 33 Krajewski S, Tanaka S, Takayama S, et al. Investigation of the subcellular distribution of the bcl-2 oncoprotein: residence in the nuclear envelope, endoplasmic reticulum, and outer mitochondrial membranes [J]. Cancer Res, 1993, 53(19): 4701-4714.
- 34 Li Y, Chopp M, Zhang ZG, et al. p53-immunoreactive protein and p53 mRNA expression after transient middle cerebral artery occlusion in rats [J]. Stroke, 1994, 25(4): 849-855; discussion 855-6.
- 35 Dufour C, Holy X, Marie PJ. Skeletal unloading induces osteoblast apoptosis and targets alpha5beta1-PI3K-Bcl-2 signaling in rat bone [J]. Exp Cell Res, 2007, 313(2): 394-403.
- 36 Vander Heiden MG, Thompson CB. Bcl-2 proteins: regulators of apoptosis or of mitochondrial homeostasis? [J]. Nat Cell Biol, 1999, 1(8): E209-E216.
- 37 Mocetti P, Silvestrini G, Ballanti P, et al. Bcl-2 and Bax expression in cartilage and bone cells after high-dose corticosterone treatment in rats [J]. Tissue Cell, 2001, 33(1): 1-7.
- 38 Silvestrini G, Ballanti P, Patacchioli FR, et al. Evaluation of apoptosis and the glucocorticoid receptor in the cartilage growth plate and metaphyseal bone cells of rats after high-dose treatment with corticosterone [J]. Bone, 2000, 26(1): 33-42.
- 39 Nagase S, Katabuchi H, Hiura M, et al. Evidence-based guidelines for treatment of uterine body neoplasm in Japan: Japan Society of Gynecologic Oncology (JSGO) 2009 edition [J]. Int J Clin Oncol, 2010, 15(6): 531-542.
- 40 Tsuji M, Ikeda H, Ishizu A, et al. Altered expression of apoptosis-related genes in osteocytes exposed to high-dose steroid hormones and hypoxic stress [J]. Pathobiology, 2006, 73(6): 304-309.
- 41 Zalavras C, Shah S, Birnbaum MJ, et al. Role of apoptosis in glucocorticoid-induced osteoporosis and osteonecrosis [J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2003, 13(2/4): 221-235.
- 42 Ookawa K, Tsuchida S, Adachi J, et al. Differentiation induced by RB expression and apoptosis induced by p53 expression in an osteosarcoma cell line [J]. Oncogene, 1997, 14(12): 1389-1396.
- 43 Li H, Qian W, Weng X, et al. Glucocorticoid receptor and sequential P53 activation by dexamethasone mediates apoptosis and cell cycle arrest of osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. PLoS One, 2012, 7(6): 37030.
- 44 Almeida M. Aging mechanisms in bone [J]. Bonekey Rep, 2012, 1: 102.
- 45 Yonehara S, Ishii A, Yonehara M. A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-downregulated with the receptor of tumor necrosis factor [J]. J Exp Med, 1989, 169(5): 1747-1756.
- 46 Trauth BC, Klas C, Peters AM, et al. Monoclonal antibody-mediated tumor regression by induction of apoptosis [J]. Science, 1989, 245(4915): 301-305.
- 47 Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm [J]. Science, 2002, 296(5573): 1635-1636.
- 48 Suda T, Takahashi T, Golstein P, et al. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family [J]. Cell, 1993, 75(6): 1169-1178.
- 49 Kovacic N, Lukić IK, Grcević D, et al. The Fas/Fas ligand system inhibits differentiation of murine osteoblasts but has a limited role in osteoblast and osteoclast apoptosis [J]. J Immunol, 2007, 178(6): 3379-3389.
- 50 Schmidt M, Lügering N, Lügering A, et al. Role of the CD95/CD95 ligand system in glucocorticoid-induced monocyte apoptosis [J]. J Immunol, 2001, 166(2): 1344-1351.
- 51 Martin DA, Siegel RM, Zheng L, et al. Membrane oligomerization and cleavage activates the caspase-8 (FLICE/MACH $\alpha$ 1) death signal [J]. J Biol Chem, 1998, 273(8): 4345-4349.
- 52 Micheau O, Solary E, Hammann A, et al. Fas ligand-independent, FADD-mediated activation of the Fas death pathway by anticancer drugs [J]. J Biol Chem, 1999, 274(12): 7987-7992.
- 53 Kawakami A, Eguchi K, Matsuoka N, et al. Fas and Fas ligand interaction is necessary for human osteoblast apoptosis [J]. J Bone Miner Res, 1997, 12(10): 1637-1646.
- 54 Hashimoto S, Setareh M, Ochs RL, et al. Fas/Fas ligand expression and induction of apoptosis in chondrocytes [J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(10): 1749-1755.
- 55 Ashwell JD, Lu FW, Vacchio MS. Glucocorticoids in T cell development and function [J]. Annu Rev Immunol, 2000, 18: 309-345.
- 56 Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: Signaling and modulation [J]. Science, 1998, 281(5381): 1305-1308.
- 57 Kogianni G, Mann V, Ebetino F, et al. Fas/CD95 is associated with glucocorticoid-induced osteocyte apoptosis [J]. Life Sci, 2004, 75(24): 2879-2895.
- 58 Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature [J]. Cell, 1996, 87(2): 171.
- 59 Ghavami S, Hashemi M, Ande SR, et al. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes [J]. J Med Genet, 2009, 46(8): 497-510.
- 60 Zhang J, Mikecz K, Finnegan A, et al. Spontaneous thymocyte apoptosis is regulated by a mitochondrion-mediated signaling pathway [J]. J Immunol, 2000, 165(6): 2970-2974.
- 61 Savill J, Fadok V. Corpse clearance defines the meaning of cell death [J]. Nature, 2000, 407(685): 784-788.
- 62 Gao YS, Guo SC, Ding H, et al. Caspase-3 May be employed as an early predictor for fracture-induced osteonecrosis of the femoral head in a canine model [J]. Mol Med Rep, 2012, 6(3): 611-614.
- 63 Hakem R, Hakem A, Duncan GS, et al. Differential requirement for caspase 9 in apoptotic pathways in vivo [J]. Cell, 1998, 94(3): 339-352.
- 64 Lee D, Long SA, Adams JL, et al. Potent and selective nonpeptide inhibitors of caspases 3 and 7 inhibit apoptosis and maintain cell functionality [J]. J Biol Chem, 2000, 275(21): 16007-16014.
- 65 Liu Y, Porta A, Peng X, et al. Prevention of glucocorticoid-induced apoptosis in osteocytes and osteoblasts by calbindin-D28k [J]. J Bone Miner Res, 2004, 19(3): 479-490.
- 66 Abdi A, Sadraie H, Dargahi L, et al. Apoptosis inhibition can be threatening in A $\beta$ -induced neuroinflammation, through promoting cell proliferation [J]. Neurochem Res, 2011, 36(1): 39-48.
- 67 Xu X, Wen H, Hu Y, et al. STAT1-caspase 3 pathway in the apoptotic process associated with steroid-induced necrosis of the femoral head [J]. J Mol Histol, 2014, 45(4): 473-485.
- 68 Li JK, Cheng L, Zhao YP, et al. ADAMTS-7 exhibits elevated expression in cartilage of osteonecrosis of femoral head and has a positive correlation with TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B P65 [J]. Mediators Inflamm, 2015: 196702.

- 69 Willis MS, Patterson C. Into the heart: the emerging role of the ubiquitin-proteasome system [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 41(4): 567-579.
- 70 Aleshin AN, Sawa Y, Kitagawa-Sakakida S, et al. 150-kDa oxygen-regulated protein attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in rat heart [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, 38(3): 517-525.
- 71 Bando Y, Tsukamoto Y, Katayama T, et al. ORP150/HSP12A protects renal tubular epithelium from ischemia-induced cell death [J]. *FASEB J*, 2004, 18(12): 1401-1403.
- 72 Kitano H, Nishimura H, Tachibana H, et al. ORP150 ameliorates ischemia/reperfusion injury from middle cerebral artery occlusion in mouse brain [J]. *Brain Res*, 2004, 1015(1/2): 122-128.
- 73 Kitao Y, Hashimoto K, Matsuyama T, et al. ORP150/HSP12A regulates Purkinje cell survival: a role for endoplasmic reticulum stress in cerebellar development [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(6): 1486-1496.
- 74 Wang HQ, Du ZX, Zhang HY, et al. Different induction of GRP78 and CHOP as a predictor of sensitivity to proteasome inhibitors in thyroid cancer cells [J]. *Endocrinology*, 2007, 148(7): 3258-3270.
- 75 Maines MD. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1997, 37: 517-554.
- 76 Chen S, Li J, Peng H, et al. Administration of erythropoietin exerts protective effects against glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats [J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(4): 840-848.
- 77 Zou W, Yang S, Zhang T, et al. Hypoxia enhances glucocorticoid-induced apoptosis and cell cycle arrest via the PI3K/Akt signaling pathway in osteoblastic cells [J]. *J Bone Miner Metab*, 2015, 33(6): 615-624.
- 78 Sato M, Sugano N, Ohzono K, et al. Apoptosis and expression of stress protein (ORP150, HO1) during development of ischaemic osteonecrosis in the rat [J]. *J Bone Joint Surg Br*, 2001, 83(5): 751-759.
- 79 Mautes AE, Kim DH, Sharp FR, et al. Induction of heme oxygenase-1 (HO-1) in the contused spinal cord of the rat [J]. *Brain Res*, 1998, 795(1/2): 17-24.
- (收稿日期: 2015-12-04)  
(本文编辑: 杨娜)

张华峰, 徐倩. 细胞凋亡在激素性股骨头坏死中作用机制的研究进展 [J/CD]. *中华老年骨科与康复电子杂志*, 2016, 2(2): 119-124.