

· 基础研究 ·

## JAK-STAT 信号通路在激素性股骨头坏死的意义<sup>△</sup>

陈文恒<sup>1</sup>, 高山<sup>1</sup>, 代志鹏<sup>2</sup>, 江晨阳<sup>2</sup>

(1. 驻马店市中心医院骨科, 河南驻马店 463000; 2. 河南省人民医院骨科, 河南郑州 450003)

**摘要:** [目的] 探讨 Janus 激酶-信号转导和转录激活因子信号通路 (Janus kinase-signal transducer and activator of transcription signaling pathway, JAK-STAT signaling pathway) 与激素性股骨头坏死发生机制之间的关联。[方法] 体内试验, 36 只 Sprague-Dawley (SD) 大鼠按随机分为三组, 每组 12 只, 分别为空白对照组、模型组和干预组, 给予相应药物处理, 行股骨头 HE 染色和 TUNEL 染色。体外试验, 自幼鼠颅骨分离成骨细胞, 分为同体内试验相同的三组, 给予相应体外处理, 检测 ALP 和 JAK-STAT 通路蛋白 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达水平。[结果] 体内试验, HE 染色骨空隐窝率由高至低依次为: 模型组 > 干预组 > 对照组, 差异有统计学意义 [(38.9±1.3)% vs (18.9±0.9)% vs (3.2±0.6)%,  $P<0.001$ ]; TUNEL 染色细胞凋亡率依次为: 模型组 > 干预组 > 对照组, 差异有统计学意义 [(42.2±2.7)% vs (16.1±1.3)% vs (6.2±1.1)%,  $P<0.001$ ]。体外试验, TUNEL 染色细胞凋亡率由高至低依次为: 模型组 > 干预组 > 对照组, 差异有统计学意义 [(42.3±3.5)% vs (18.2±1.6)% vs (10.2±1.3)%,  $P<0.001$ ]; ALP 由低至高依次为: 模型组 < 干预组 < 对照组, 差异有统计学意义 [(53.6±7.7) IU vs (79.2±6.5) IU vs (92.4±4.4) IU,  $P=0.037$ ]。此外, 模型组 JAK-STAT 相关标志蛋白表达均显著高于对照组和干预组, p-JAK2 [(1.6±0.2), (1.0±0.1), (1.3±0.3),  $P<0.05$ ]、p-STAT [(1.4±0.2), (1.0±0.1), (1.2±0.3),  $P<0.05$ ], 差异具有统计学意义。[结论] JAK-STAT 信号通路特异性抑制剂 AG490 可抑制激素引发细胞凋亡, 其机理可能与抑制 p-JAK2 和 p-STAT 蛋白表达有关。

**关键词:** 股骨头坏死, 发病机制, JAK-STAT 信号通路

**中图分类号:** R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2024) 19-1797-06

**Significance of JAK-STAT signaling pathway in steroid-induced osteonecrosis of femoral head // CHEN Wen-heng<sup>1</sup>, GAO Shan<sup>1</sup>, DAI Zhi-peng<sup>2</sup>, JIANG Chen-yang<sup>2</sup>. 1. Department of Orthopaedics, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China; 2. Department of Orthopaedics, People's Hospital of Henan Province, Zhengzhou 450003, China**

**Abstract:** [Objective] To investigate the relationship of the Janus kinase-signal transducer and activator of transcription (JAK-STAT) signaling pathway with the pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis of femoral head. [Methods] In vivo experiment, 36 Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups with 12 animals in each group, including the blank control group, model group and intervention group, which were treated with corresponding drugs respectively. The femoral head was harvest for HE and TUNEL staining 28 days later. In vitro test, osteoblasts were separated from the skull of a young rat and divided into three groups as in vivo test. After corresponding treatments were given in vitro, the expression levels of ALP and JAK-STAT pathway related protein, such as JAK2 and p-STAT3, were assessed. [Results] In vivo test, the rates of empty bone crypts revealed by HE stain was ranked up-down as follows: the model group > the intervention group > the control group, with a statistically significant difference [(38.9±1.3)% vs (18.9±0.9)% vs (3.2±0.6)%,  $P<0.001$ ], likewise, the apoptosis rates showed by TUNEL stain was of the model group > the intervention group > the control group, with a statistically significant different [(42.2±2.7)% vs (16.1±1.3)% vs (6.2±1.1)%,  $P<0.001$ ]. In vitro test, apoptosis rate by TUNEL staining was ranked as: the model group > the intervention group > the control group and the difference was statistically significant [(42.3±3.5)% vs (18.2±1.6)% vs (10.2±1.3)%,  $P<0.001$ ], whereas the ALP activity was ranked from low to high as: the model group < the intervention group < the control group with a statistically significant difference [(53.6±7.7) IU vs (79.2±6.5) IU vs (92.4±4.4) IU,  $P=0.037$ ]. In addition, JAK-STAT-related marker protein expression in model group was significantly higher than that in the control group and the intervention group, including p-JAK2 [(1.6±0.2) vs (1.0±0.1) vs (1.3±0.3),  $P<0.05$ ] and p-STAT [(1.4±0.2) vs (1.0±0.1) vs (1.2±0.3),  $P<0.05$ ]. [Conclusion] The JAK-STAT signaling pathway specific inhibitor AG490 does inhibit steroid-induced cell apoptosis, its mechanism may be related to the inhibition of p-JAK2 and p-STAT protein expression.

**Key words:** femoral head necrosis, pathogenesis, JAK-STAT signaling pathway

DOI:10.20184/j.cnki.issn1005-8478.091110

<sup>△</sup>基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 2002300)

作者简介: 陈文恒, 副主任医师, 研究方向: 骨外科, (电子信箱) dzp01234@163.com

激素性股骨头坏死 (steroid-induced osteonecrosis of femoral head, SONFH) 是一种代谢性疾病, 自皮质类固醇药物应用于临床后, SONFH 的数量和发病率呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>。长期或大量应用糖皮质激素 (glucocorticoids, GCs) 已成为股骨头坏死 (osteonecrosis of femoral head, ONFH) 的首要发病机制。SONFH 主要累及中青年, 多为双侧, 坏死发生范围较宽, 约 70% 的患者需行髋关节置换术<sup>[2]</sup>。SONFH 因骨坏死组织修复困难、致残率高, 部分患者在被确诊 ONFH 后仍需要继续长期使用 GCs, 给患者及家庭和社会带来巨大的经济负担<sup>[3]</sup>。因此, 研究 SONFH 的发病机制和临床疗效对于预防、诊断和治疗具有重要意义。目前为止, SONFH 的详细发病机制仍然不明确<sup>[4]</sup>, 大多数对于 SONFH 发病机制的研究集中在脂代谢紊乱、血管内凝血、细胞凋亡和自噬等方面<sup>[5]</sup>。随着对 SONFH 发病机制研究的深入, 骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 成骨分化相关信号通路异常在 SONFH 的发生发展中所起的作用得到了越来越多学者的关注<sup>[6]</sup>。Janus 激酶-信号转导和转录激活因子信号通路 (Janus kinase-signal transducer and activator of transcription signaling pathway, JAK-STAT) 是一条由细胞因子刺激并广泛参与机体内多个生物学过程的重要通路, 其总体结构非常简单, 由 3 个主要成分组成, 即酪氨酸激酶相关受体、Janus 激酶 (Janus kinase, JAK) 和信号转导及转录激活因子 (signal transducer and activator of transcription, STAT)<sup>[7]</sup>。STAT 首先被 JAK 磷酸化、二聚化, 然后二聚化的 STAT 转位到细胞核内与特定基因的调控序列结合, 调节相关基因的表达。多种细胞因子和生长因子通过 JAK-STAT 信号通路传递信号, 如白介素 2-7、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子等<sup>[8]</sup>。目前针对 JAK-STAT 信号通路的许多研究都集中于免疫反应与免疫调控<sup>[9]</sup>。其作为受细胞因子调节的主要信号通路, 对于启动先天免疫, 协调适应性免疫机制以及最终限制炎症和免疫反应至关重要<sup>[10]</sup>。本研究通过动物实验探讨 JAK-STAT 信号通路及其特异性抑制剂 AG490 在 SONFH 发生发展中的作用, 为今后以 JAK-STAT 信号通路及上下游细胞因子和靶蛋白作为 SONFH 的治疗靶点提供参考, 为 SONFH 发病机制及治疗的探索提供新的研究思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 体内实验

#### 1.1.1 动物分组方法

清洁级 36 只雄性 7 周龄 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体重 (210.1±10.2) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。将 SD 大鼠按随机数字表法分为三组, 每组 12 只, (1) 对照组: 大鼠在 7 d 内接受 0.9% 的生理盐水注射; (2) 模型组: 在第 1~2 d 尾静脉注射 2 mg/kg 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS), 每次间隔 24 h, 在第 3~7 d 通过肌肉注射甲基强的松龙 (methylprednisolone, MPS) 20 mg/kg, 每次间隔 24 h; (3) 干预组: 在模型组的基础上, 在 MPS 给予前腹腔注射 AG490 溶液 (25 mg/kg), 其中 AG490 为 JAK-STAT 信号通路特异性抑制剂。在第 28 d 麻醉处死动物, 取下股骨头样本, 用于进一步分析。

#### 1.1.2 检测指标

石蜡包埋及切片: 脱钙后的固定组织经流水冲洗过夜后放入全自动脱水机脱水, 逐级脱水、透明、浸蜡。在包埋框中把浸蜡结束的股骨头标本进行包埋, 待蜡块变硬后取出, 做好标记, 室温保存。将蜡块适当修整后放置于石蜡切片机上切片, 以片厚 5 μm 为标准均匀切片。待水烤干、蜡烤化后取出常温保存备用。

HE 染色: 对切片进行梯度脱水; 采用苏木素染液, 对切片进行染色, 持续染色 5 min; 把切片放到 Scott 液中, 进行返蓝处理; 在伊红溶液内, 放入切片, 染色, 持续时间为 3 min, 冲洗干净。脱水、封片。镜下观察, 每张股骨头组织石蜡切片至少观察 3 个视野, 用于形态学分析与评估。

TUNEL 染色: 将切片复水后, 采用双蒸水洗涤 2 次; 使用 PBS 缓冲液清洗 5 min, 重复进行两次; 分别在样本中加入 20 μl 蛋白酶 K, 在室温环境孵育 10 min, 随后用 PBS 缓冲液洗涤; 加入 10% 胎羊血清, 孵育 1 h; 配制 Label 和 Enzyme solution 混合液 (体积比为 1:9), 将上述混合液滴加到股骨头组织石蜡切片上, 在室温孵育 1 h, 使用 PBS 缓冲液漂洗 2 min, 重复此步骤 1 次; 封片, 每张切片至少观察 3 个视野。

### 1.2 体外实验

#### 1.2.1 成骨细胞分离与培养

腹腔注射 300 mg/kg 水合氯醛, 处死大鼠幼鼠, 置于 75% 乙醇中消毒 5 min, 提取幼鼠颅骨, 剔除软组织。PBS 液重复洗涤 3 次, 再将其剪成 1 mm×1 mm×1 mm 左右的碎片。将剪碎的骨片放入 0.25% 胰

蛋白酶液, 37℃ 恒温水浴中消化 30 min, 倒掉上清液, 重复消化 2 次, 4℃ 冰箱过夜; 再次更新胰蛋白酶液, 消化 2 h, 用 PBS 液洗涤 2 次。将骨块取出移入铺有薄层胎牛血清的培养瓶中, 使其贴壁, 2 d 后, 倒掉胎牛血清, 加入 DMEM 培养液, 3 d 换 1 次液。传代后剩下的骨片, 再加入含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 可以反复培养 3~5 次。成骨细胞有 80% 汇合时, 倒掉培养液, 用 PBS 洗涤 1 次, 加入 0.25% 胰蛋白酶液, 37℃ 消化, 在显微镜下观察到 80% 细胞变圆, 脱壁时, 加入相同体积的 DMEM 培养液终止消化。在 1 000 r/min 速度下离心 5 min, 倒掉上清, 加入 DMEM 培养液, 用吸管轻轻吹打, 制备细胞悬浮液, 按 1:1 比例一分为二传代。

### 1.2.2 成骨细胞生长曲线测定

从细胞培养箱中取出成骨细胞, 在传代培养前吸除培养基, PBS 缓冲液清洗 3 次, 加入胰蛋白酶 3 ml, 将细胞放入培养箱中充分消化; 在显微镜下观察细胞, 当细胞贴壁运动消失, 多数细胞突起回缩, 加入 4 ml 培养液, 停止消化; 1 300 r/min 离心 4 min, 弃上清, 加入培养基 3 ml; 按照  $1 \times 10^3$ /孔, 向 96 孔板中滴加细胞悬液; 使用 CCK-8 试剂盒, 从第 1 d 开始检测, 连续进行检测, 为期 7 d。

### 1.2.3 成骨细胞分组与体外处理

将所获取的大鼠成骨细胞分为三组。

对照组: 以培养基 (DMEM) 添加 10% 胎牛血清作为基础培养基模型。

模型组: 以培养基 (DMEM) 添加 10% 胎牛血清作为基础培养基, 添加地塞米松 (dexamethasone, Dex) 为 100 mmol/L, 操作过程在避光条件下进行; 加完药完毕后培养 24 h 进行检测

干预组: 以培养基 (DMEM) 添加 10% 胎牛血清作为基础培养基, 添加 AG490 的浓度为 40 mmol/L, 再次添加 Dex 100 mmol/L, 操作过程在避光条件下进行, 加药完毕后培养 24 h 进行检测。

### 1.2.4 检测指标

成骨细胞 TUNEL 染色: 取大鼠成骨细胞, 用培养基制成单细胞悬液, 按每孔  $5 \times 10^5$  个细胞均匀接种于 6 孔板中, 在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养过夜; 根据不同分组处理细胞 24 h; 用 pH 7.2 的 PBS 轻轻洗细胞 1 次, 用冰冷的甲醇固定 10 min。室温空气干燥玻片 5 min, 在 pH 7.2 的 PBS 中温育 10 min 重新水合。根据 Tunel 试剂盒说明, 将合适的 Parafilm 膜放入温室, 膜上加 50 μl TdT 反应混合液, 放

盖玻片, 细胞朝下在反应液上。37℃ 孵育 1 h。随后将玻片置于荧光显微镜下观察图像。

碱性磷酸酶活性测定: 将细胞接种到 12 孔板中, 每孔  $5 \times 10^4$  个细胞, 暴露于不同处理条件, 洗涤后用 100 μl 裂解缓冲液处理细胞, 使用 ALP 试剂盒测量 ALP 活性水平 (U/ml)。培养 7 d 后, 根据试剂盒操作说明检测 ALP 活性水平。

Western blot 检测: 把蛋白样品放在 2 ml EP 管中, 加入 PBS 100 μl 混匀, 滴加 RIPA 裂解液混匀, 充分裂解后, 12 000 g、4℃ 离心 10 min, 进一步检测; BCA 蛋白定量 80 μl 双蒸水加入 20 μl 的裂解液, 将样品稀释, 加入标准品蛋白和稀释后蛋白样品, 计算样品的浓度; 制备分离胶滴加至玻璃板中, 室温静置直至凝固; 蛋白上样和电泳设置电泳仪参数: 电压 80 V (浓缩胶), 120 V (分离胶); 转膜将转膜夹放入电泳槽里, 转膜仪器参数设定为 80 V, 200 mA, 2 h 开始转膜; 用 5% 脱脂牛奶封闭液对 PVDF 膜进行封闭; 一抗孵育 PVDF 膜洗涤 3 次, 20 min/次, 一抗溶液摇床过夜; 二抗孵育 PVDF 膜洗涤 3 次, 二抗溶液摇床 1 h; 把 PVDF 膜放入 TBS-T 溶液, 摇床洗涤 3 次, 20 min/次, 显影后对蛋白条带灰度值进行分析。

## 1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 25.0 进行统计分析, 所有的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 其中符合正态的数据采用单因素方差 (one-way ANOVA) 分析, 两两比较采用 LSD 法。不符合正态分布的选用非参数秩和检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 体内实验

#### 2.1.1 大鼠股骨头成骨细胞 HE 染色

大鼠股骨头成骨细胞 HE 染色图 1a~1c, 表 1。与对照组相比, 模型组大鼠可见空骨陷窝现象, 股骨头内部结构紊乱, 骨小梁断裂、排列紊乱; 模型组大鼠股骨头空骨陷窝率显著高于对照组 (P<0.05); 但是与模型组相比, 干预组空骨陷窝率显著减少 (P<0.05), 并且干预组骨小梁未见明显狭窄或断裂。

#### 2.1.2 大鼠股骨头成骨细胞 TUNEL 染色

大鼠股骨头成骨细胞 TUNEL 染色见图 1d~1f, 表 1, 成骨细胞 TUNEL 染色结果表明, 模型组成骨细胞凋亡显著高于对照组及干预组 (P<0.05)。

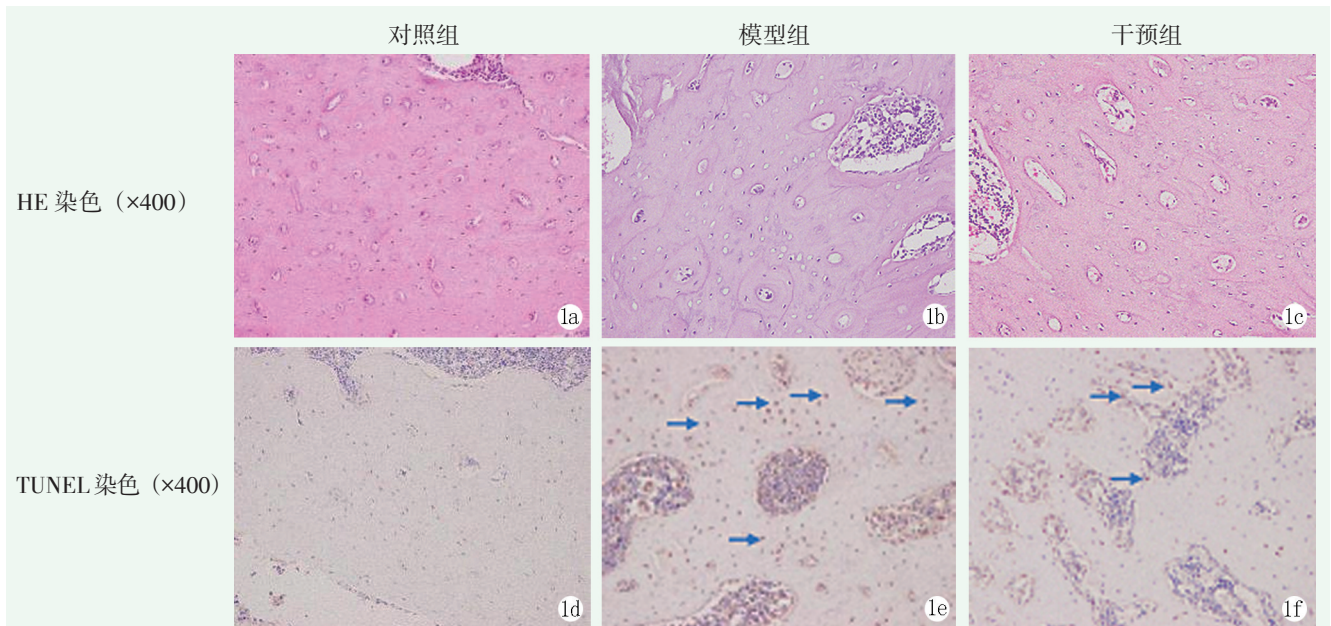


图 1. 体内实验股骨头组织学观察。1a: 对照组 HE 染色; 1b: 模型组 HE 染色; 1c: 干预组 HE 染色; 1d: 对照组 TUNEL 染色; 1e: 模型组 TUNEL 染色; 1f: 干预组 TUNEL 染色。

Figure 1. Histological observation of femoral head in vivo experiment. 1a: control group HE staining; 1b: model group HE staining; 1c: intervention group HE staining; 1d: control group TUNEL staining; 1e: model group TUNEL staining; 1f: intervention group TUNEL staining.

## 2.2 体外实验

### 2.2.1 大鼠原代成骨细胞的提取与鉴定

在光学显微镜下, 大鼠原代成骨细胞呈典型梭形(图 2a)。在成骨细胞培养的第 2~5 d 中, 其增殖速度

相较第 1 d 明显加快, 通过绘制细胞生长曲线, 发现成骨细胞在第 2~5 d 的增殖已经达到了对数生长期(图 2b), 当细胞培养至第 5~7 d 时, 成骨细胞的生长速度明显放缓, 代表已进入平台期。

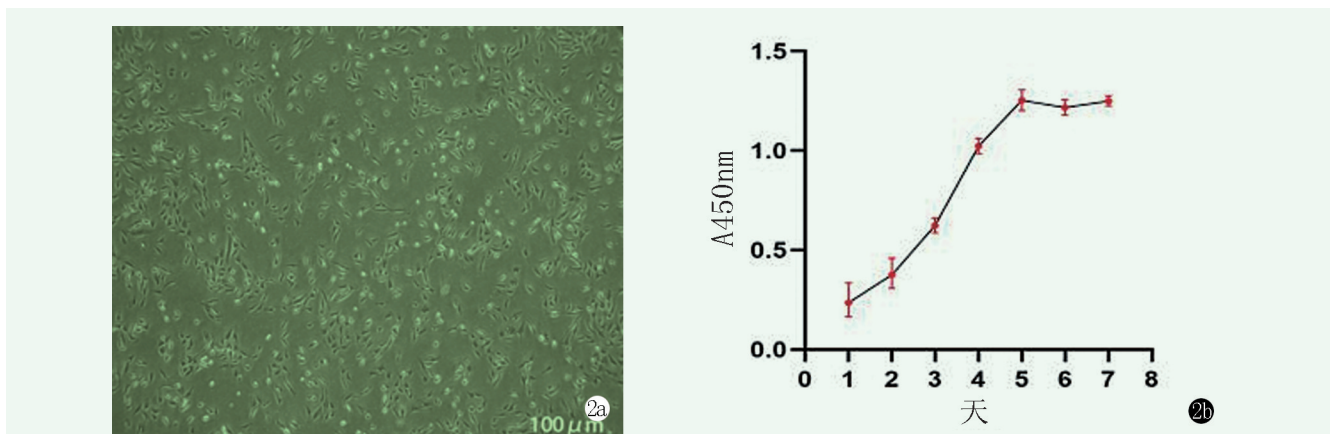


图 2. 大鼠原代成骨细胞的提取与鉴定。2a: 光学显微镜下成骨细胞形态观察; 2b: 成骨细胞生长曲线。

Figure 2. Extraction and identification of primary osteoblasts from rats. 2a: Observation of osteoblast morphology under optical microscope; 2b: osteoblast growth curve.

### 2.2.2 成骨细胞 ALP 活性

成骨细胞 ALP 表达水平见表 1。培养 7 d 后, 相对于对照组, 模型组 ALP 活性水平显著下降 ( $P < 0.05$ )。与模型组相比, 干预组 ALP 活性水平显著增加 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2.3 JAK-STAT 信号通路蛋白及相关凋亡蛋白表达水平

JAK-STAT 信号通路蛋白及相关凋亡蛋白表达水平见表 1, 模型组中 p-JAK2、p-STAT 蛋白表达较对照组及干预组显著上调 ( $P < 0.05$ )。Dex 下调了大鼠成骨细胞中 Bcl-2 的表达, 上调了 Bax 凋亡相关蛋白的表达。将 Dex 和 AG490 共处理大鼠成骨细胞 24 h, Western blot 结果表明, 与模型组相比, AG490 上调了成骨细胞中 Bcl-2 表达, 下调了 Bax 促凋亡蛋白的表达。

表 1. 体内和体外实验三组检测结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 1. Comparison of test results among the three groups in vivo and in vitro ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	对照组 (n=12)	模型组 (n=12)	干预组 (n=12)	P 值
体内实验				
HE 染色骨空陷窝率 (%)	3.2±0.6	38.9±1.3	18.9±0.9	<0.001
TUNEL 染色细胞凋亡率 (%)	6.2±1.1	42.2±2.7	16.1±1.3	<0.001
体外实验				
TUNEL 阳性率 (%)	10.2±1.3	42.3±3.5	18.2±1.6	<0.001
ALP (IU)	92.4±4.4	53.6±7.7	79.2±6.5	0.037
p-JAK2	1.0±0.1	1.6±0.2	1.3±0.3	0.029
p-STAT	1.0±0.1	1.4±0.2	1.2±0.3	0.041

### 3 讨论

GCs 目前被广泛用于治疗风湿性、自身免疫性和造血系统疾病,取得良好的临床效果。SONFH 可引起股骨头血运障碍,骨细胞和骨髓成分死亡,进而导致结构改变、股骨头塌陷和关节功能障碍,最终需要通过 THA 进行治疗,严重损害了患者的生活质量<sup>[11]</sup>。部分患者因病情需要长期应用 GCs,长期且过量激素的使用使得 SONFH 发病率呈逐年上升趋势。SONFH 一旦发生,随着病程发展会造成股骨头不可逆损伤,致残率极高,给患者带来沉重的经济负担<sup>[12]</sup>。目前临床已有脂肪栓塞、骨髓内压力升高、BMSCs 的成骨和成脂分化失调等学说来解释 SONFH 的发病过程。近年来,随着对基因研究的深入,SONFH 发生的分子机制有了很大的进展<sup>[13]</sup>。Zhang 等<sup>[14]</sup>通过建立 SONFH 大鼠模型,发现激素可通过调控 Wnt-β-catenin 信号通路下游相关基因的表达,进而影响成骨细胞的凋亡来诱导大鼠 SONFH 的发生。Jiang 等<sup>[15]</sup>研究发现,牛膝提取物可治疗大鼠 SONFH,其通过调节 OPG-RANKL-RANK 信号通路,预防 SONFH 的发生。然而对于 SONFH 的确切发病机制,至今仍无统一论。

JAK-STAT 通路参与细胞增殖、分化、凋亡、免疫调节和造血等多种机体功能密切相关。在 JAK-STAT 信号通路中已发现 50 多种细胞因子和生长因子,例如激素、干扰素、白细胞介素和集落刺激因子等。JAK 可与细胞因子受体结合,通过传递胞外细胞因子信号,激活 STAT 蛋白转位到细胞核,调节效应基因的转录<sup>[16]</sup>。既往研究表明,JAK1 和 JAK2 的选择性抑制剂——鲁索替尼,可显著抑制促炎因子和基质降解酶 (ADAMTS-4、MMP-13) 的产生<sup>[17]</sup>,此外,

JAK-STAT 信号通路还参与了骨稳态的调节<sup>[18]</sup>。Chen 等<sup>[19]</sup>发现白细胞介素 21 等多种炎性细胞因子通过上调 JAK-STAT 信号通路,加重软骨炎症并破坏软骨,导致 ONFH 的发生。目前 JAK-STAT 信号通路在 SONFH 发生发展中的相关研究报道较少,JAK-STAT 信号通路是否参与 SONFH 的发生尚不明确。

空骨陷窝增多是 SONFH 的特征改变之一。HE 染色和分析可用于评估 AG490 干预后大鼠股骨头空骨陷窝和 SONFH 的发生情况,本研究 HE 染色结果显示空骨陷窝增多,TUNEL 染色结果显示大鼠股骨头细胞凋亡增多,符合严重骨坏死标准,提示 SONFH 模型造模成功。相比模型组,干预组骨细胞分布均匀,空骨陷窝率和细胞凋亡数量显著减少。表明 AG490 改善了 SONFH 大鼠股骨头的微观结构,减少细胞凋亡,减少了 GCs 诱导的骨小梁减少和骨量丢失,使骨小梁数量、形态等均趋近正常。上述结果证明,AG490 可能通过抑制 JAK-STAT 信号通路减少成骨细胞凋亡,有效减轻骨组织损伤。

通过 TUNEL 染色,检测大鼠股骨头中的凋亡成骨细胞,评估 AG490 干预后大鼠股骨头成骨细胞凋亡情况,结果发现模型组中 JAK-STAT 信号通路中相关蛋白质 p-JAK2、p-STAT3 显著高于对照组及干预组。模型组中下调了成骨细胞中 Bcl-2 的表达,上调了 Bax 凋亡相关蛋白的表达。而 AG490 增加了成骨细胞中 Bcl-2 表达,下调了 Bax 促凋亡蛋白的表达,证实 JAK-STAT 信号通路激活参与了 SONFH 大鼠的病理过程。ALP 是由成骨细胞分泌的可反应成骨细胞活性的标志,本研究中发现,GCs 干预处理可能会造成大鼠成骨细胞受到抑制,从而减少 ALP 的生成与活性,而 AG490 提高了成骨细胞 ALP 活性水平。同时,通过对原代成骨细胞 TUNEL 染色发现 AG490 减轻了 Dex 诱导的原代成骨细胞凋亡,证实 AG490 可能通过抑制 JAK-STAT 信号通路而改善

SONFH 大鼠的骨结构, 减轻 Dex 诱导 SONFH 模型中的骨组织损伤。

综上所述, 本研究在 SD 大鼠中使用 GCs 诱导成功建立 SONFH 模型, 证实 JAK-STAT 信号通路异常激活在 SONFH 大鼠股骨头坏死的病理作用, 并可能成为 SONFH 患者新的治疗靶点。本研究不足之处在于对 JAK-STAT 通路变化的研究仅在组织水平上进行了初步探讨。今后, 我们将进一步研究 JAK-STAT 信号通路在破骨细胞和成骨细胞中的表达, 以进一步阐明 JAK-STAT 信号通路在 SONFH 中的病理作用。

### 参考文献

- [1] 孙懿, 赵海燕, 成杰, 等. 激素性股骨头坏死发生机制的研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2023, 31 (1): 58-62. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.01.11  
Sun Y, Zhao HY, Cheng J, et al. Research progress on the mechanism of glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. Orthopedic Journal of China, 2023, 31 (1): 58-62. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.01.11
- [2] Cao H, Guan H, Lai Y, et al. Review of various treatment options and potential therapies for osteonecrosis of the femoral head [J]. J Orthop Translat, 2016, 4: 57-70. DOI: 10.1016/j.jot.2015.09.005.
- [3] Bischel OE, Seeger JB, Suda AJ. Risk factors for failure after cementless femoral revision THA: a consecutive series of 105 cases [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2022, 142 (5): 763-768. DOI: 10.1007/s00402-020-03723-w.
- [4] Hines JT, Jo WL, Cui Q, et al. Osteonecrosis of the femoral head: an updated review of ARCO on pathogenesis, staging and treatment [J]. J Korean Med Sci, 2021, 36 (24): e177. DOI: 10.3346/jkms.2021.36.e177.
- [5] Guggenbuhl P, Robin F, Cadiou S, et al. Etiology of avascular osteonecrosis of the femoral head [J]. Morphologie, 2021, 105 (349): 80-84. DOI: 10.1016/j.morpho.2020.12.002.
- [6] 梁川, 康庆林, 贾亚超, 等. 骨髓间充质干细胞: 激素性股骨头坏死早期治疗的新希望 [J]. 中国矫形外科杂志, 2018, 26 (9): 821-825. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.09.11.  
Liang C, Kang QL, Jia YC, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells: a new hope to treat the steroid-induced osteonecrosis of femoral head in early stages [J]. Orthopedic Journal of China, 2018, 26 (9): 821-825. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.09.11.
- [7] Hu X, Li J, Fu M, et al. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic [J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6 (1): 402. DOI: 10.1038/s41392-021-00791-1.
- [8] 薛忠书, 张小伟, 陈宁杰. 白细胞介素在椎间盘退变中的作用 [J]. 中国矫形外科杂志, 2023, 31 (4): 341-345. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.04.11.  
Xue ZS, Zhang XW, Chen NJ. Role of interleukin in intervertebral disc degeneration [J]. Orthopedic Journal of China, 2023, 31 (4): 341-345. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.04.11.
- [9] Owen K L, Brockwell N K, Parker BS. JAK-STAT signaling: a double-edged sword of immune regulation and cancer progression [J]. Cancers (Basel), 2019, 11 (12): 2002. DOI: 10.3390/cancers11122002.
- [10] Xin P, Xu X, Deng C, et al. The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 80: 106210. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106210.
- [11] Zhao D, Zhang F, Wang B, et al. Guidelines for clinical diagnosis and treatment of osteonecrosis of the femoral head in adults (2019 version) [J]. J Orthop Translat, 2020, 21: 100-110. DOI: 10.1016/j.jot.2019.12.004.
- [12] Boontanapibul K, Steere JT, Amanatullah DF, et al. Diagnosis of osteonecrosis of the femoral head: too little, too late, and independent of etiology [J]. J Arthroplasty, 2020, 35 (9): 2342-2349. DOI: 10.1016/j.arth.2020.04.092.
- [13] Chen X, Li J, Liang D, et al. LncRNA AWPPH participates in the development of non-traumatic osteonecrosis of femoral head by upregulating Runx2 [J]. Exp Ther Med, 2020, 19 (1): 153-159. DOI: 10.3892/etm.2019.8185.
- [14] Zhang C, Zou Y L, 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. DOI: 10.1186/s12891-015-0606-2.
- [15] Jiang Y, Zhang Y, Chen W, et al. Achyranthes bidentata extract exerts osteoprotective effects on steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats by regulating RANKL/RANK/OPG signaling [J]. J Transl Med, 2014, 12: 334. DOI: 10.1186/s12967-014-0334-7.
- [16] Kiu H, Nicholson SE. Biology and significance of the JAK/STAT signalling pathways [J]. Growth Factors, 2012, 30 (2): 88-106. DOI: 10.3109/08977194.2012.660936.
- [17] Geng W, Zhang W, Ma J. IL-9 exhibits elevated expression in osteonecrosis of femoral head patients and promotes cartilage degradation through activation of JAK-STAT signaling in vitro [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 60: 228-234. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.05.005.
- [18] Damerou A, Gaber T, Ohrndorf S, et al. JAK/STAT activation: a general mechanism for bone development, homeostasis, and regeneration [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (23): 9004. DOI: 10.3390/ijms21239004.
- [19] Chen B, Liu Y, Cheng L. IL-21 Enhances the degradation of cartilage through the jak-stat signaling pathway during osteonecrosis of femoral head cartilage [J]. Inflammation, 2018, 41 (2): 595-605. DOI: 10.1007/s10753-017-0715-1.

(收稿:2023-07-14 修回:2024-05-04)  
(同行评议专家:李宏宇, 袁普卫)  
(本文编辑:宁桦)