

· 综述 ·

靶向治疗骨关节炎的研究进展

刘印 田京

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种以关节软骨退行性变和继发性骨质增生为特征的慢性关节疾病,是老年人残疾的主要原因之一^[1],起病缓慢,隐匿发生,渐进加重^[2]。目前治疗方法包括药物对症、关节置换、功能锻炼等。随着认识的不断深入,OA 靶向疗法渐引起重视。笔者运用相关关键词检索 PubMed、中国期刊全文数据库 (CNKI)、维普数据库和万方数据库等,纳入与 OA 靶向疗法密切相关的非陈旧性文献 46 篇,分析总结涉及 OA 基因靶向、软骨代谢靶向 (如一氧化氮、蛋白酶)、滑膜炎靶向 (如 IL-1 β 、TNF- α 抑制剂) 和软骨下骨重塑的靶向治疗作用机制及其研究进展,并述及其局限性,以期促进其应用。

基因靶向

人类染色体上,3 个位点的基因与 OA 密切相关,分别为 7q22, 生长分化因子-5 (growth differentiation factor-5, GDF5) 以及 DIO2^[3]。

对于 7q22 区段,COG5、DUS4L 与软骨发生有关;BCAP29、COG5、DUS4L、HBP1 与软骨代谢有关。这些基因的突变均提高了 OA 发病风险^[4]。

GDF5 又称为软骨源性形态发生蛋白-1,参与骨、软骨及关节其它组织的形态维持及修复^[3]。故 OA 发生时 GDF5 等位基因表达的不平衡不单局限于软骨,还涉及关节其它软组织。

DIO2 基因,编码可激活细胞内甲状腺激素的酶,间接调节钙磷平衡,从而对骨、软骨代谢造成影响^[5]。

这些基因均可能成为 OA 的治疗靶标,但相关研究尚不成熟,且 OA 的发生受基因与环境共同影响,故其临床应用也存在一些局限性。

软骨代谢靶向

一、靶向于 MMP 和 ADAMTS

OA 早期,蛋白水解酶合成增加、胶原蛋白网被破坏、蛋白聚糖解聚与基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP) 及聚蛋白多糖酶 (ADAMTS) 有关。

MMP 一般为游离型,可降解细胞外基质高分子,由蛋白水解酶激活,OA 炎症因子可诱导其表达。MMP 生理性抑制剂为基质金属蛋白酶组织抑制剂 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMPs),人工合成抑制剂有肽类和非肽类。由于 MMP 低选择性,MMP 抑制剂在 OA 临床试验中表现出肌肉骨骼不良反应如关节僵硬、纤维增生等^[6]。

ADAMTS 使蛋白聚糖丢失,软骨外基质降解,进而导致 OA

软骨破坏。TIMP-3 是 ADAMTS 特异性抑制剂。人工抑制剂 AGG-523 对鼠因半月板撕裂造成的关节不稳定,可显著减少 ADAMTS-4/5 产生的蛋白聚糖片段^[7]。这些抑制剂可能利于治疗或预防 OA。

二、靶向于一氧化氮

OA 时软骨产生多于正常的一氧化氮,加强分解代谢,减少蛋白聚糖合成,增加 MMP 活性,抑制软骨细胞分化并诱导凋亡。诱导型一氧化氮合酶选择性抑制剂亚氨基乙基赖氨酸 (L-NIL) 应用于外科手术诱导的 OA 动物模型时,显著减少关节软骨损伤的严重程度、滑膜炎和骨赘产生^[8]。所以,L-NIL 有望成为一种治疗 OA 的药物。

三、靶向于软骨修复

生长因子可增加基质合成,刺激软骨细胞增殖,有利于 OA 软骨修复。随年龄增大,OA 患者关节软骨细胞对生长因子反应性下降,甚至新形成的软骨以纤维组织为主。且生长因子半衰期短,难以维持治疗。

生长因子如骨原蛋白-1 具很强的抗软骨分解代谢作用,促进基质中关键蛋白的合成。成纤维生长因子-18 增加蛋白聚糖的合成。在外伤所致的 OA 鼠模型中,它可增加胫骨平台软骨厚度^[9]。

滑膜炎炎症靶向

晚期 OA 患者多伴明显滑膜炎,多为继发性改变,由软骨碎片及骨质增生刺激引起^[10]。滑膜炎时分泌一些细胞因子,扩散进入软骨,刺激软骨细胞产生分解代谢因子,进一步促进 OA 的演进。

一、IL-1 β 抑制剂

IL-1 β 在关节组织破坏中起关键作用,是与酶系统生化进程相关的主要细胞因子。IL-1 β 可增加自身的生成,刺激酶尤其是 MMPs 的产生,抑制 OA 相关酶的生理抑制因子合成^[11]。因此,IL-1 β 可作为 OA 治疗的主要靶标。

1. 转换酶抑制剂:IL-1 β 的无活性前体可被转换酶 (ICE) 活化,并从胞内转运出来。ICE 在滑膜和软骨组织中均有发现,在 OA 关节组织中表达显著增加^[12]。通过抑制 ICE 从而抑制 IL-1 β ,可成为 OA 的一种治疗方向。体外研究表明,特定 ICE 抑制剂可完全阻止活性 IL-1 β 的形成。ICE 抑制剂可有效减轻 II 型胶原蛋白特异性关节炎程度及 OA 关节损伤程度^[13]。不过,关于 ICE 抑制剂 Pralnacasan 治疗类风湿关节炎的临床试验因为药物毒性作用而终止。

2. 抑制 IL-1R:IL-1 β 与细胞膜上 I 型或 II 型受体 IL-1R 结合。I 型 IL-1R 与关节组织细胞中信号转换有关^[14]。调节 IL-1R 的活动有可能减缓 OA 病变进程。

3. IL-1Ra 的应用:IL-1Ra 是 IL-1 β 受体水平的竞争性抑制剂。重组人 IL-1Ra 对缓解 OA 症状作用较小,单纯膝关节注射 12 周后症状无缓解^[15]。Bacconier 等^[16]对侵蚀性手 OA 患者

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.02.018

基金项目:广东省科技计划项目 (2011B031800147)

作者单位:510282 广州,南方医科大学珠江医院 (刘印);南方医科大学珠江医院骨科 (田京)

通信作者:田京,Email:tian_jing6723@yahoo.com.cn

皮下注射 IL-1Ra, 3 个月后疼痛及活动障碍显著增加。阿那白滞素, 一种重组 IL-1Ra, 与甲氨蝶呤联用时, 对风湿性关节炎有效。所以, 用 IL-1Ra 治疗 OA 需更多研究。

4. 游离受体 IL-1sR: 与可降解游离受体 (I 型及 II 型 IL-1sR) 结合, 也可抑制 IL-1 β 。游离受体配体结合部保守。IL-1sR 结合并抑制游离 IL-1 β 。IL-1Ra 也可结合 IL-1sR, 但结合紧密度不同。II 型 IL-1sR 与 IL-1 β 结合更稳定, I 型 IL-1sR 与 IL-1Ra 结合更紧密。故单独使用 II 型或与 IL-1Ra 联用对治疗 OA 很有前景。但游离受体半衰期短, 需重复使用, 不过聚合化或结合免疫球蛋白 G 可克服此局限性^[17]。

5. sIL-1RAcP: IL-1 与 I 型 IL-1R 结合后, 与受体关联蛋白 (IL-1RAcP) 组成复合体, 继续信号传导。sIL-1RAcP 可与 IL-1RAcP 竞争, 妨碍复合体形成, 对 OA 有预防性作用^[15]。Smeets 等^[18]发现, sIL-1RAcP 也可与 II 型 IL-1sR 相互作用, 导致可降解性 IL-1 清洁工受体的形成, 使得 II 型 IL-1sR 与 IL-1 β 的结合结合紧密性增加, 而与 IL-1Ra 低结合率不变。因此, 当 IL-1Ra 与 sIL-1RAcP 同时存在时, 对 IL-1 β 抑制性增加。

6. IL-1 β 特异性抗体: 特异性抗体的使用也可抑制 IL-1 β 。单抗 canakinumab 应用于鼠, IL-1 β 导致的关节炎及软骨破坏被完全抑制, 目前已用于多种炎症疾病的治疗, 生物相容性较好, 未见严重不良反应^[19]。但未见康纳单抗 (Canakinumab) 用于 OA 患者的研究。

单抗 AMG 108 与 I 型 IL-1R 结合, 非选择性抑制 IL-1 α 及 IL-1 β ^[18], 目前处于 OA II 期临床评估。

二、TNF- α 抑制剂

TNF- α 能增加蛋白水解酶的合成, 并阻碍酶生理抑制因子合成, 抑制基质中大分子产生, 也是 OA 病变过程中重要部分。

阿达木单抗 (Adalimumab) 是一种 TNF- α 抗体。Grunke 等^[20]研究发现 1 例 68 岁双膝 OA 患者使用 adalimumab 后, 夜间痛完全缓解, 膝关节滑液分泌减少, 滑膜炎减轻, 骨髓水肿几乎消失。Magnano 等^[21]证明腕关节 OA 患者使用 adalimumab 后症状未显著加重。

英夫利昔单抗治疗腕 OA 患者, 与对照组相比, 疼痛显著减轻, 关节损伤评分改善, 且能减少指间关节 OA 发生率^[22]。

ESBA 105, 一种 TNF- α 抗体, 正处于严重膝关节 OA 患者的 I/II 期实验。Urech 等^[23]证明 ESBA 105 和英夫利昔单抗 (Infliximab) 相似, 能抑制 TNF- α , 且还能穿过并围绕软骨组织。

三、IL-6 抑制剂

多种炎症情况及骨吸收代谢时, IL-6 水平升高。不同于 TNF- α , 当高剂量使用 IL-6 时, 不引起炎症症状, 但能促使肝脏产生 C-反应蛋白 (C - reaction protein, CRP)。关节内成纤维细胞、软骨细胞等可产生 IL-6。而且 IL-1 β 和 TNF- α 的合成可诱导 IL-6 的生成, 促进 OA 病程进展。研究表明: ①血 CRP 水平的升高, 滑液中 IL-6 产生增加, 慢性滑膜炎的组织学分级严重程度之间有关联; ②关节 IL-6 水平可作为膝关节 OA 的预测因素^[24]; ③IL-6 的高水平可反映 OA 中软骨缺损的风险增高及治疗反应不佳^[25]。因此, IL-6 抑制剂可成为 OA 治疗靶标。

四、炎症因子相关信号通路抑制剂

当炎症因子与膜上特异受体结合后, 多种信号通路分子磷酸化, 从而诱导分解代谢及抗合成代谢相关基因的表达。这些通路主要包括丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein ki-

nase, MAPK) 通路, NF- κ B 通路。Pearle 等^[26]发现, MAPK 超家族分为丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 (ERKs)、C-Jun 氨基端激酶/应激活蛋白激酶 (JNK/SAPK) 和 p38 家族。

实验表明, ERKs 抑制剂可使 OA 关节软骨破坏及骨赘宽度等显著减少, 滑膜炎的严重度减轻^[27]。

JNK 抑制剂对 OA 模型的疗效少有报道。Ahmed 等^[28]研究表明, N-3-丁基苯可通过抑制 JNK 通路, 下调 IL-1 诱导的 MMP-13 的表达。

p38 抑制剂动物模型中显示有软骨抗炎作用, 但在 OA 临床试验中效果不理想^[29]。相反, 阻碍 p38 通路可下调抗炎因子 IL-10 的表达, 降解炎症调节因子, 增强 JNK 的活动。不过, p38 抑制剂 PH-797804 对缓解红肿明显的膝关节 OA 的疼痛效果明显^[30]。

NF- κ B 通过形成二聚体调节基因转录。IL-1 β 、TNF- α 可激活 NF- κ B 通路。Yehuda 等^[31]发现, NF- κ B 还能调控软骨细胞向肥大样细胞分化, 减少关节破坏的严重程度。然而, NF- κ B 的靶向治疗需要注意提高药物的特异性。

A3 腺苷受体参与多种胞内信号传导途径。拮抗剂 CF101 为很有效的抗炎药物, 反向调节 NF- κ B 及 TNF- α 的表达, 诱导炎症反应细胞的凋亡, 抗软骨细胞凋亡^[32]。

五、花生四烯酸通路抑制剂

膜结合型前列腺素 E2 合酶-1, 是花生四烯酸转化为前列腺素物质过程中重要限速酶, 在关节炎、炎症相关性发热和疼痛中发挥重要作用^[33], 因此, 可作为新的药物开发靶点。但相关抑制剂是否抑制上游 COX-2 造成心血管副作用, 还有待研究^[34]。

白三烯 (leukotriene, LT) 和 PGE 均由花生四烯酸衍生而来。Pelletier 等^[35]证明, 在 OA 滑膜中 LTB4 可刺激 IL-1 β 和 TNF- α 等的释放。非甾体抗炎药治疗 OA 的局限性缘于只抑制了 COX 途径, 长期使用后 LT 代偿性增加。故同时抑制前列腺素 E (Prostaglandin, PGE2) 和 LTB4 的产生可起协同作用。

COX 抑制剂利克飞龙 (Licoferone) 有抗炎、止痛、退热功效, 可减轻软骨及软骨下骨的病变程度。与非甾体抗炎药 (non-steroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs) 相比, 它可显著减少整体软骨容量损失^[36]。

软骨下骨重塑靶向

软骨下骨的改变与 OA 进程密切相关, 可能先于软骨的一系列病理变化。Kwan 等^[37]发现, 在 OA 早期软骨下骨水平即出现生物学和形态学平衡的紊乱。所以, 介入软骨下骨代谢也可治疗 OA。抗骨吸收药物, 如双膦酸盐、雷奈酸锶、降钙素、蛋白酶 K 抑制剂和雌激素等, 均可能适于延缓 OA 病程。

口服利塞膦酸盐治疗膝关节 OA, II 期临床实验显示有效。但在 III 期试验中, 患者病情无变化^[38]。但是, 利塞膦酸盐可显著减少放射学病变水平, 保持软骨下骨小梁结构, 增加骨小梁数量, 从而保证软骨下骨的相对完整性^[39]。

Tat 等^[40]实验发现, 雷奈酸锶用于治疗绝经后骨质疏松症, 可抑制破骨细胞的分化和吸收活动, 从而改进骨结构。其在 OA 治疗中的作用尚未阐明, 但它对骨代谢的作用可以维持软骨下骨的动态平衡。研究表明, 雷奈酸锶可减轻骨质疏松症妇女伴发的脊柱 OA 引起的背痛及尿 CTX-II 水平^[41]。

降钙素可抑制骨吸收代谢^[42]。Nielsen 等^[43]研究证明降钙

素通过抑制关节软骨细胞内 MMPs, 直接影响 II 型胶原的分解。在大鼠 OA 模型中, 降钙素显著缓和软骨的损害。

组织蛋白酶 K 可分解 I 型及 II 型胶原蛋白。蛋白酶 K 抑制剂用于 OA 患者的 II 期临床研究因严重不良反应而终止。关于雌激素类药物, 研究证明骨吸收可被抑制, 而软骨代谢不受影响^[44]。

另外, 维生素 D 也能影响软骨及软骨细胞的动态平衡^[45], 骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 可抑制破骨细胞^[46], 均可能靶向治疗 OA。

展 望

传统 OA 治疗药物均有局限性。近年来, 新型靶向治疗 OA 药物渐受重视。但目前还存在许多问题如给药方式的优化, 如何尽量避免非特异性导致的不良反应, 如何联合各种治疗等都有待进一步解决。相信不久的将来, 随着更多研究的开展, OA 靶向治疗可更好地运用于临床。

参 考 文 献

- [1] 吴毅, 俞晓杰, 胡永善, 等. 膝关节骨关节炎患者的本体感觉及其与疼痛和功能障碍间的相关性研究. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 334-338.
- [2] 周悦婷, 黄飞龙, 陈玉兰, 等. 超声电导经皮局部透药治疗膝关节炎的疗效观察. 中华物理医学与康复杂志, 2009, 31: 839-840.
- [3] Kerkhof HJ, Lories RJ, Meulenbelt I, et al. A genome-wide association study identifies an osteoarthritis susceptibility locus on chromosome 7q22. Arthritis Rheum, 2010, 62: 499-510.
- [4] Evangelou E, Valdes AM, Kerkhof HJ, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies confirms a susceptibility locus for knee osteoarthritis on chromosome 7q22. Ann Rheum Dis, 2011, 70: 349-355.
- [5] Meulenbelt I, Bos SD, Chapman K, et al. Meta-analyses of genes modulating intracellular T3 bioavailability reveal a possible role for the DIO3 gene in osteoarthritis susceptibility. Ann Rheum Dis, 2011, 70: 164-167.
- [6] Renkiewicz R, Qiu L, Lesch C, et al. Broad-spectrum matrix metalloproteinase inhibitor marimastat-induced musculoskeletal side effects in rats. Arthritis Rheum, 2003, 48: 1742-1749.
- [7] Chockalingam PS, Sun W, Rivera-Bermudez MA, et al. Elevated aggrecanase activity in a rat model of joint injury is attenuated by an aggrecanase specific inhibitor. Osteoarthritis Cartilage, 2011, 19: 315-323.
- [8] Pelletier JP, Lascou-Coman V, Jovanovic D, et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental osteoarthritis is associated with reduction in tissue levels of catabolic factors. J Rheumatol, 1999, 26: 2002-2014.
- [9] Moore EE, Bendele AM, Thompson DL, et al. Fibroblast growth factor-18 stimulates chondrogenesis and cartilage repair in a rat model of injury-induced osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage, 2005, 13: 623-631.
- [10] Schnute ME, O'Brien PM, Nahra J, et al. Discovery of (pyridin-4-yl)-2H-tetrazole as a novel scaffold to identify highly selective matrix metalloproteinase-13 inhibitors for the treatment of osteoarthritis. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20: 576-580.
- [11] Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier JP, et al. Etiopathogenesis of osteoarthritis//Koopman WJ, Moreland LW. Arthritis and allied conditions. A textbook of rheumatology. 15th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2005: 2199-2226.
- [12] Saha N, Moldovan F, Tardif G, et al. Interleukin-1 beta-converting enzyme/Caspase-1 in human osteoarthritic tissues: localization and role in the maturation of IL-1 beta and IL-18. Arthritis Rheum, 1999, 42: 1577-1587.
- [13] Rudolph K, Gerwin N, Verzijl N, et al. Pralnacasan, an inhibitor of interleukin-1 beta converting enzyme, reduces joint damage in two murine models of osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage, 2003, 11: 738-746.
- [14] Moore EE, Bendele AM, Thompson DL, et al. Fibroblast growth factor-18 stimulates chondrogenesis and cartilage repair in a rat model of injury-induced osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage, 2005, 13: 623-631.
- [15] Chevalier X, Giraudeau B, Conrozier T, et al. Safety study of intraarticular injection of interleukin 1 receptor antagonist in patients with painful knee osteoarthritis: a multicenter study. J Rheumatol, 2005, 32: 1317-1323.
- [16] Bacconier L, Jorgensen C, Fabre S, et al. Erosive osteoarthritis of the hand: clinical experience with anakinra. Ann Rheum Dis, 2009, 68: 1078-1079.
- [17] Chevalier X, Goupille P, Beaulieu AD, et al. Intraarticular injection of anakinra in osteoarthritis of the knee: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. Arthritis Rheum, 2009, 61: 344-352.
- [18] Smeets RL, van de Loo FA, Joosten LA, et al. Effectiveness of the soluble form of the interleukin-1 receptor accessory protein as an inhibitor of interleukin-1 in collagen-induced arthritis. Arthritis Rheum, 2003, 48: 2949-2958.
- [19] Alten R, Gram H, Joosten LA, et al. The human anti-IL-1 beta monoclonal antibody ACZ885 is effective in joint inflammation models in mice and in a proof-of-concept study in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther, 2008, 10: R67.
- [20] Grunke M, Schulze-Koops H. Successful treatment of inflammatory knee osteoarthritis with tumour necrosis factor blockade. Ann Rheum Dis, 2006, 65: 555-556.
- [21] Magnano MD, Chakravarty EF, Broudy C, et al. A pilot study of tumor necrosis factor inhibition in erosive/inflammatory osteoarthritis of the hands. J Rheumatol, 2007, 34: 1323-1327.
- [22] Guler-Yuksel M, Allaart CF, Watt I, et al. Treatment with TNF-alpha inhibitor infliximab might reduce hand osteoarthritis in patients with rheumatoid arthritis. Osteoarthritis Cartilage, 2010, 18: 1256-1262.
- [23] Urech DM, Feige U, Ewert S, et al. Anti-inflammatory and cartilage-protecting effects of an intra-articularly injected anti-TNF alpha single-chain Fv antibody (ESBA105) designed for local therapeutic use. Ann Rheum Dis, 2010, 69: 443-449.
- [24] Livshits G, Zhai G, Hart DJ, et al. Interleukin-6 is a significant predictor of radiographic knee osteoarthritis: the Chingford study. Arthritis Rheum, 2009, 60: 2037-2045.
- [25] Pelletier JP, Raynauld JP, Caron J, et al. Decrease in serum level of matrix metalloproteinases is predictive of the disease-modifying effect of osteoarthritis drugs assessed by quantitative MRI in patients with knee osteoarthritis. Ann Rheum Dis, 2012, 69: 2095-2101.
- [26] Pearle AD, Scanzello CR, George S, et al. Elevated high-sensitivity C-reactive protein levels are associated with local inflammatory findings in patients with osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage, 2007, 15: 516-523.
- [27] Pelletier JP, Fernandes JC, Brunet J, et al. In vivo selective inhibition of mitogen-activated protein kinase kinase 1/2 in rabbit experimental os-

- teoarthritis is associated with a reduction in the development of structural changes. *Arthritis Rheum*, 2003, 48: 1582-1593.
- [28] Ahmed S, Rahman A, Hasnain A, et al. PhenylN-tert-butyl nitron down-regulates interleukin-1 beta-stimulated matrix metalloproteinase-13 gene expression in human chondrocytes; suppression of c-Jun NH2-terminal kinase, p38-mitogen-activated protein kinase and activating protein-1. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 305: 981-988.
- [29] Genovese MC. Inhibition of p38: has the fat lady sung? *Arthritis Rheum*, 2009, 60: 317-320.
- [30] Tomita T, Takeuchi E, Tomita N, et al. Suppressed severity of collagen-induced arthritis by in vivo transfection of nuclear factor kappaB decoy oligodeoxynucleotides as a gene therapy. *Arthritis Rheum*, 1999, 42: 2532-2542.
- [31] Bar-Yehuda S, Rath-Wolfson L, Del Valle L, et al. Induction of an anti-inflammatory effect and prevention of cartilage damage in rat knee osteoarthritis by CF101 treatment. *Arthritis Rheum*, 2009, 60: 3061-3071.
- [32] Kamei D, Yamakawa K, Takegoshi Y, et al. Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin synthase-1. *J Biol Chem*, 2004, 279: 33684-33695.
- [33] Trebino CE, Stock JL, Gibbons CP, et al. Impaired inflammatory and pain responses in mice lacking an inducible prostaglandin E synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 9044-9049.
- [34] Lauder SN, Carty SM, Carpenter CE, et al. Interleukin-1beta induced activation of nuclear factor-kappaB can be inhibited by novel pharmacological agents in osteoarthritis. *Rheumatology*, 2007, 46: 752-758.
- [35] Pelletier JP, Boileau C, Boily M, et al. The protective effect of licofelone on experimental osteoarthritis is correlated with the downregulation of gene expression and protein synthesis of several major cartilage catabolic factors: MMP-13, cathepsin K and aggrecanases. *Arthritis Res Ther*, 2005, 7: R1091- R1102.
- [36] Raynauld JP, Martel-Pelletier J, Bias P, et al. Protective effects of licofelone, a 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibitor, versus naproxen on cartilage loss in knee osteoarthritis: a first multicentre clinical trial using quantitative MRI. *Ann Rheum Dis*, 2009, 68: 938-947.
- [37] Kwan Tat S, Pelletier JP, Lajeunesse D, et al. The differential expression of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts is an indicator of the metabolic state of these disease cells. *Clin Exp Rheumatol*, 2008, 26: 295-304.
- [38] Bingham CO, Buckland-Wright JC, Garnero P, et al. Risedronate decreases biochemical markers of cartilage degradation but does not decrease symptoms or slow radiographic progression in patients with medial compartment osteoarthritis of the knee: results of the two-year multinational knee osteoarthritis structural arthritis study. *Arthritis Rheum*, 2006, 54: 3494-3507.
- [39] Garnero P, Aronstein WS, Cohen SB, et al. Relationships between biochemical markers of bone and cartilage degradation with radiological progression in patients with knee osteoarthritis receiving risedronate: the Knee Osteoarthritis Structural Arthritis randomized clinical trial. *Osteoarthritis Cartilage*, 2008, 16: 660-666.
- [40] Tat SK, Pelletier JP, Mineau F, et al. Strontium ranelate inhibits key factors affecting bone remodeling in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts. *Bone*, 2011, 49: 559-567.
- [41] Bruyere O, Delferriere D, Roux C, et al. Effects of strontium ranelate on spinal osteoarthritis progression. *Ann Rheum Dis*, 2008, 67: 335-339.
- [42] Granholm S, Lundberg P, Lerner UH. Expression of the calcitonin receptor, calcitonin receptor-like receptor, and receptor activity modifying proteins during osteoclast differentiation. *J Cell Biochem*, 2008, 104: 920-933.
- [43] Nielsen RH, Bay-Jensen A-C, Byrjalsen I. Oral salmon calcitonin reduces cartilage and bone pathology in an osteoarthritis rat model with increased subchondral bone turnover. *Osteoarthritis Cartilage*, 2011, 19: 466-473.
- [44] Karsdal MA, Byrjalsen I, Leeming DJ, et al. Tibolone inhibits bone resorption without secondary positive effects on cartilage degradation. *BMC Musculoskelet Disord*, 2008, 9: 153.
- [45] Ding C, Cicuttini F, Parameswaran V, et al. Serum levels of vitamin D, sunlight exposure, and knee cartilage loss in older adults: the Tasmanian older adult cohort study. *Arthritis Rheum*, 2009, 60: 1381-1389.
- [46] Nakashima T, Wada T, Penninger JM. RANKL and RANK as novel therapeutic targets for arthritis. *Curr Opin Rheumatol*, 2003, 15: 280-287.

(修回日期: 2012-10-25)

(本文编辑: 汪 玲)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》,《中华物理医学与康复杂志》对论文中有关实验动物的描述,要求写清楚以下事项:①品种、品系及亚系的确切名称;②遗传背景或其来源;③微生物检测状况;④性别、年龄、体重;⑤质量等级及合格证书编号;⑥饲养环境和实验环境;⑦健康状况;⑧对实验动物的处理方式。

医学实验动物分为四级:一级为普通级;二级为清洁级;三级为无特定病原体(SPF)级;四级为无菌级。卫生部课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。