

· 继续教育园地 ·

力学因素对骨关节炎软骨的影响

李香云 邹琳 张长杰

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一组有不同病因但有相似的生物学、形态学和临床表现的疾病。该病不仅发生关节软骨损害,还累及整个关节,包括软骨下骨、韧带、关节囊、滑膜和关节周围肌肉等,最终发生关节软骨的退变、纤维化、断裂、溃疡及整个关节面的损害。目前已知易感因素包括性别、年龄、种族、营养因素、创伤等,这些易感因素导致局部生物力学改变(如关节损伤、关节变形、肌力下降等),从而引起关节软骨退变,诱发严重的关节炎。许多研究均已证明,力学因素对 OA 的影响较大。现将力学因素对 OA 的影响综述如下。

正常软骨的特性

关节软骨主要由大量的细胞外基质与散在分布其中的高度特异性细胞(软骨细胞)组成。基质的主要成分是水、蛋白多糖及胶原,另有少量的糖蛋白与其他蛋白。这些成分一起构成了关节软骨组织独特而复杂的结构与力学特性。活动关节的软骨要承受一生中几十年的静态的、周期的及反复的高负荷。因此,其结构分子(即胶原、蛋白多糖)与其他分子要组成一种强大、耐疲劳、坚韧的固体基质来承受负重时组织中产生的高的压力与张力。压力使固体基质压缩和组织间隙压力升高,促使水分流出组织。正常软骨中,液体在渗透性很小的柔软基质中流动,产生的摩擦力较大。为维持有效流动需要较高的流体动力压力。如此液压成了承担负重的主要形式,使固体基质上的应力减至最小。渗透效应调节软骨对压力的反应,防止随着压力的增加组织中液体过多过快的流出,提高组织间隙的液压来支持负荷。同时也能够调整软骨在循环负重时分散应力的能力。组织间隙中的液体压力产生于软骨承重(受压),它包括了基质在承受负荷时的压力。持续负重时,随着蠕变持续,承重相逐渐由液相(当液体压力消失时)转变为固相。到达平衡点,液体压力消失,所有的负重均由被挤压的胶原-蛋白多糖固体基质承受。在生理情况下,关节软骨几乎是处于动态负载中,也就是说即使在睡眠时,由于关节还有活动,没有平衡状态的出现。所以,组织中总会存在液体压力。在骨关节的正常软骨中,液体压力可能是主要的生理承重机制。骨关节炎中软骨早期发生的最显著的变化是含水率先少后多与蛋白多糖减少^[1]。这种变化增加了组织的渗透能力,使软骨中的液压承重的机制减弱,固体基质胶原-蛋白多糖的承重增加,这样会降低软骨的寿命,在骨关节炎患者的软骨退变发展过程中发挥重要作用。

力学环境对软骨的影响

日常生活中,适当的运动或持续被动运动产生的力学刺激会限制关节软骨的退变,提高炎症和关节术后软骨的修复,创伤及过度负荷会导致软骨破坏和骨关节炎^[2]。这些都提示生物

力学因素、负荷在维持软骨内环境稳定以及修复或破坏中起重要作用。体内及体外研究已证明,力学刺激的种类(应力、张力)、频率、持续时间及强度对软骨细胞均有影响,而且对关节软骨最终的变化起决定作用。力学刺激对软骨的作用主要通过影响软骨结构与组成和炎性介质的表达来完成。

一、对软骨结构与组成的影响

研究发现,高、低压应力均可导致关节软骨的退变。余存泰等^[3]通过手术在膝关节间隙上下 1.5 cm 处各钻入克氏针一根,低压应力组通过撑开克氏针和高压应力组通过以细钢丝拉紧克氏针来分别建立高、低压应力动物模型,结果低压应力引起的退变首先表现为早期软骨细胞功能减退,软骨细胞代偿增生反应轻,然后基质破坏,最终导致整个软骨退变,低压应力造成软骨退变的主要机制是软骨细胞功能下降、退变所造成的一系列反应,高压应力引起的退变首先是早期基质破坏与软骨细胞代偿增生同时发生,继而软骨细胞退变,最终整个关节软骨退变。循环压力、间歇应力、剪应力、张应力等不同的力作用于软骨,对软骨细胞及基质产生不同的影响。间歇性流体静力压(intermittent hydrostatic pressure, IHP)主要是保护关节软骨,剪应力促使关节软骨破坏和骨化。应用有限元分析发现,流体静力压和剪应力共同作用形成关节软骨的各层结构^[4]。但过度的应力集中,使软骨细胞表型改变,导致蛋白多糖代谢的异常增加,早期合成多于分解。随着细胞功能的丧失,蛋白多糖的分解多于合成,最终使大量的蛋白多糖丢失,引起软骨退变^[1]。Lafeber 等^[5]在体外对 OA 和正常软骨块施加间歇性流体静力压,发现 OA 软骨中蛋白多糖的合成增加,而正常软骨却未受到任何影响。Nerucci 等^[6]进一步研究了周期性压力及持续性压力对 OA 和正常软骨形态学及超微结构的影响,在接近生理状态的周期性压力下正常软骨细胞没有任何改变,骨关节炎的软骨细胞在形态学及超微结构方面均表现出修复,而受持续压力的正常及 OA 软骨则表现出不同程度的退变。兔膝关节制动可引起关节软骨退变的原因之一可能就是持续高压^[7],测量制动后股骨干髌端、膝关节内的压力,发现股骨干髌端在制动 2 d 后压力最高,膝关节内压力 7 d 后最高,2 周后压力降至正常。推测骨内压及关节内压力增高可能是膝关节制动诱发骨关节炎的重要因素。Fioravanti 等^[8]对周期性压力对正常及 OA 软骨的超微结构的影响做了更细致的研究,发现在电镜下正常及 OA 软骨细胞核、胞浆、细胞骨架的结构不同。压力对正常软骨细胞不起作用,也不会改变 OA 软骨细胞骨架的结构,但负责合成反应的细胞器的数量增加了。通过这些研究可以看出,生理学负荷(低强度、周期性、动态压力)可以刺激炎症关节软骨合成反应,而过度的负荷、静压力、持续压力则起相反作用。

二、对分解型介质的影响

(一)对细胞因子和蛋白酶的影响

细胞因子和蛋白酶在 OA 的发病过程中起重要作用,它可加速软骨基质的分解代谢,加速软骨退变。

1. 白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1):它可促进滑膜细胞及软骨细胞释放前列腺素 E_2 (prostaglandin E_2 , PGE_2) 和胶原酶,产生强大的促炎症作用^[9],引起滑膜炎和骨的吸收,而且形成的 PGE_2 反过来又进一步加强 IL-1 对软骨的分解作用。IL-1 α 和 IL-1 β 可能共同作用于同一受体,发挥类似的生物活性。IL-1 β 刺激滑膜成纤维细胞增殖,促进滑膜细胞粘附分子的表达,使滑膜细胞与浸润性炎性细胞反应性增强,从而造成关节软骨生存的恶劣微环境。

2. 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α):TNF- α 与 IL-1 有许多相似的生物学特性。TNF- α 可激活多型核细胞,刺激滑膜细胞的 PGE_2 产生,增加骨、软骨的破坏。在 OA 动物模型中,软骨及细胞中 TNF- α 免疫组化染色阳性的强度与范围和 OA 的严重程度相平行^[10]。

3. 白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6):正常人滑膜免疫组化测不出 IL-6,但在 OA 滑膜衬里细胞及浸润的单核巨噬细胞中可检测其存在。IL-6 通过自分泌形式作用于软骨细胞,促进软骨细胞的增殖。

4. 一氧化氮(nitric oxygen, NO)与一氧化氮合成酶(nitric oxygen synthase, NOS):NO 可引起软骨代谢的紊乱及诱导软骨细胞的凋亡^[11],与 OA 软骨退变的发生、发展密切相关,NOS 可催化 NO 的产生,加速软骨退变。NO 还可以促进 IL-1、基质金属蛋白酶等介质合成,从而降低软骨合成代谢。

5. 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs):是软骨基质分解代谢反应酶的主要来源,生理条件下合成与降解保持动态平衡。若活性增强会加速基质退变,导致 OA 发生。MMPs 在中性 pH 值下,需要内在的 Zn^{2+} 及外在的 Ca^{2+} 存在的条件下发挥酶活性。体内还存在 MMPs 抑制物金属蛋白酶抑制物(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP),两者比例的失调与软骨退变也有关系。

上述炎性介质之间相互联系,共同作用于软骨,促使软骨发生退变。IL-1 β 和 TNF- α 是导致关节软骨破坏的主要介质^[12]。IL-1 可诱导 PGE_2 和胶原酶的合成,促进关节的炎症发展,抑制 II 型、IX 型胶原蛋白的合成,促进 I 型、III 型胶原蛋白的合成,使具有张力和剪力性质的软骨胶原组成改变,从而影响所具有的生物力学特性。IL-1 抑制细胞合成蛋白多糖,影响了软骨的生物力学行为,它还促进软骨细胞合成与分泌 MMPs,降解软骨。TNF- α 协同 IL-1 的作用,可独立刺激 PGE_2 产生,激活 IL-6 基因,诱导 IL-6 的生成。致炎基因及其基因相关产物的诱导,抑制基质合成,建立一个自我维持的炎症链,加速软骨的破坏^[13]。

(二) 压力对软骨的影响

接近生理水平的负荷会刺激 OA 软骨基质中蛋白多糖、胶原的合成,直接导致具有合成功能的细胞器增加,那么力学刺激对这些在 OA 基质的分解破坏中起重要作用的炎性介质的影响又如何呢?是否可以通过对分解型介质的作用延缓 OA 软骨退变或修复 OA 软骨呢?Trindade 等^[14]通过实验证实了间歇性流体静水压(intermittent hydrostatic pressure, IHP)可以调节基质金属蛋白酶和炎性介质的释放。他们分离人骨关节炎软骨细胞在体外培养,一组不施加任何负荷,其余组分别暴露于负荷(10 MPa, 1 Hz)下 6 h、12 h、24 h,检测培养液中金属蛋白酶-2(metalloproteinase-2, MMP-2)、金属蛋白酶抑制物-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)、IL-6、单核细胞趋化因子

(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)的水平。结果无负荷组的 MMP-2、TIMP-1、IL-6、MCP-1 随着时间的延长在培养液中水平平均增加,IHP 组的 MMP-2 水平在所有时间段相对于无负荷组均有明显下降,TIMP-1 各时间段组无任何变化。IL-6、MCP-1 水平在 12 h 组、24 h 组降低。因此认为 IHP 会减少体外 OA 软骨细胞释放 MMP-2、IL-6、MCP-1,提示压力对软骨稳定性的影响是通过调节体内软骨细胞致退变及致炎蛋白的表达发生作用的。Pelletier 等^[13]通过研究却发现高强度流体静水压(10 ~ 50 MPa)可以诱导软骨细胞 IL-6、TNF- α mRNA 表达,减少蛋白多糖的合成。生理水平下的流体静压会增加蛋白多糖的表达。由此看出应力的强度不同对相同因子的诱导方向也不同。低强度的循环张应力(cyclic tensile strain, CTS)可以拮抗 IL-1 β 和 TNF- α 的致炎作用,它可以抑制 IL-1 β 诱导的多种致炎基因的表达。这些基因产物包括诱导型一氧化氮合酶、MMPs、环氧合酶等。通过这些诱导分解代谢的蛋白的下调,抑制 NO 和 PGE_2 抑制基质退变,循环压应力(cyclic compressive force)也有同样作用^[14,15]。但是最近 Matsukawa 等对 CTS 的研究却得出相反的结果,发现作用于软骨细胞上的 CTS 会增加 NO 的合成而且会增加 NO 抑制蛋白多糖合成。这些发现提示力学信号作用于细胞时依赖强度大小。高低强度的应力信号均作用于炎症信号传导的 mRNA 级联反应,但具体诱导途径尚不清楚。应力的类型对炎性介质也有影响。Smith 等^[16]比较剪应力与 IHP 对成人软骨细胞的作用,发现剪应力会增加炎症介质 NO 的释放,减少蛋白多糖和 II 型胶原的合成,并且诱导与凋亡相关分子的改变,IHP 则作用相反。静压力和动态压力对软骨的影响也不同。静压力会产生致炎作用,而且还会抑制合成代谢对生长因子 IGF-1 的反应,适宜强度、频率的动压力会诱导抗炎作用,支持生长因子对软骨细胞的反应,动压力还可以抑制表层软骨释放 NO 和 PGE_2 ,但对深层软骨的作用不大^[17]。这说明炎性介质的调节不仅与力学信号的强度有关,还与频率有关。

三、力学信号传导

(一) 核转录因子信号传导

信号传导是细胞外因子通过与细胞膜或核受体结合所引发的细胞内一系列激酶活化或抑制的多酶级联反应过程,从而使各条信号通路之间通过复杂的相互作用形成一高度有序的调控网络。信号传导和基因调控关系十分密切。因为信号传导的终点,即是基因转录表达的起点。适当的主动运动和被动活动通过对 OA 软骨基质及炎性介质的影响发生修复效应,而过度的力学负荷导致关节软骨破坏。研究发现力学信号利用核转录因子(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)作为一条常见的路径,来激活或抑制炎症基因的翻译,从而控制软骨的代谢^[18]。低强度循环张应力(low-magnitude cyclic tensile strain, TENS-L)作用于 OA 软骨细胞,软骨细胞对 IL-1 β 的作用仍有反应,提示力学信号并不能明显下调 IL-1 β /TNF- α 受体,TENS-L 通过抑制 IL-1 β 信号传导级联反应这个关键步骤而起作用,NF- κ B 信号传导途径对炎症基因诱导来说是很重要的。在细胞静息状态时 NF- κ B 在胞浆中不被激活,与其抑制蛋白(inhibitor of nuclear factor-kappa B, I- κ B)互相作用。细胞被 IL-1 β 、TNF- α 刺激后 I- κ B 立即发生磷酸化并分解,I- κ B 的降解导致 NF- κ B 释放并立即转移至核内,与特异性共有序列结合,然后激活致炎基因^[19]。TENS-L 抑制 IL-1 β 介导 NF- κ B 转移至核内需 15 min,而这种抑制作用可

以持续几个小时,提示 TENS-L 可能特异性作用于被 IL-1 β 激活的途径。可以看出炎症信号是 TENS-L 刺激合成反应的必要条件,TENS-L 自身不能诱导基质合成,也就是说必须在 IL-1 β 、TNF- α 等炎性介质诱导下 TENS-L 才能起作用。低强度的力学刺激阻止 NF- κ B 核传导途径,从而抑制致炎基因的表达,高强度的力学刺激诱导 NF- κ B 的转录活性,诱导致炎基因的表达,所以生理水平的力学刺激或运动可以通过抑制炎症或分解介质的信号传导从而防止软骨退变。

(二) 细胞力学信号传导

细胞表面的受体如整合素、细胞粘附分子、离子活性通道等可以诱导信号传导。

1. 整合素途径:软骨细胞利用 β 1 整合素受体来传导细胞外力学信号至细胞内引起生物化学反应。整合素是细胞表面粘附受体,联系细胞外基质与细胞表面胞质配体。刺激后整合素被酪氨酸磷酸化,粘着斑激酶、踝蛋白激酶等几种细胞骨架相关蛋白激活。粘着斑激酶在整合素受体与下游目标的联系中起重要作用。这些分子激活 NF- κ B 和激活蛋白因子,从而完成信号传导过程。IHP 就是通过细胞外基质复合物与转膜蛋白 α 5- β 1 整合素的相互作用诱发信号传导的,引起糖胺聚核心蛋白 mRNA 的上调及 MMP-3mRNA 水平的下调^[20]。整合素途径与 IL-4 受体自分泌激活有联系,被激活的 IL-4 受体激活磷脂酶 C 通过其激活 Ca^{2+} 库一定波动范围内的 Ca^{2+} 的释放,激活钙依赖性激活蛋白从而增加合成代谢基因表达,抑制分解代谢基因和凋亡。

2. Ca^{2+} 途径:近来研究证明,单轴间歇压力通过磷脂酶 C 或激活胞膜表面电压门控 Ca^{2+} 通过增加细胞浆中 Ca^{2+} 水平,但 Ca^{2+} 增加发生在 200 s 之后,所以 Ca^{2+} 可能不是压力诱导软骨细胞刺激时最初的启动刺激器^[21],其它级联反应如 IL-4 的分泌可能为最初的启动器。在静力负荷条件下,关节软骨的生物合成活性下调。因为 Na^+ 通道被静压力激活,诱导细胞膜去极化,部分电压门控 Ca^{2+} 通道被去极化激活,一定波动范围的 Ca^{2+} 内流抑制糖胺多糖核心蛋白基因的表达,软骨基质合成受抑制。

3. MAPK 途径:丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联是细胞内重要的信号传导系统。细胞运用这一系统将胞外刺激信号传递给胞核,参与细胞生长、发育、分化和凋亡等一系列病理生理过程。MAPK 途径不依赖 Ca^{2+} 独立发挥作用。稳定的毛细液流(steady fluid flow)刺激会通过 MAPK 途径下调核心蛋白多糖 mRNA 的表达。Shakibaei 等^[22]证实 MAPK 途径的阻断会诱导软骨细胞的凋亡。Mobasheri 等^[23]假设整合素/MAPK 存在互相影响,那么在软骨过度负荷时,整合素与细胞外基质的互相作用会被阻断,则引起凋亡的软骨细胞的死亡。因此过度的力学负荷是继发性 OA 发展的一个危险因素。

参 考 文 献

- 卫晓恩. 骨关节炎软骨基质蛋白多糖变化的实验研究. 中华风湿病学杂志, 2002, 2: 25-27.
- Lequesne MG, Dang N, Lane NE. Sport practice and osteoarthritis of the limbs. Osteoarthritis Cartilage, 1997, 5: 75-86.
- 余存泰. 压力导致关节软骨退变机制的实验研究. 实用骨科杂志, 2004, 10: 411-414.
- Beaupre GS, Stevens SS, Carter DR. Mechanobiology in the development, maintenance, and degeneration of articular cartilage. J Rehabil Res Dev, 2000, 37: 145-151.
- Lafeber F, Veldhuijzen JP, Vanroy JL, et al. Intermittent hydrostatic compressive force stimulates exclusively the proteoglycan synthesis of osteoarthritic human cartilage. Br J Rheumatol, 1992, 31: 437-442.
- Nerucci F, Fioravanti A, Collodel G, et al. Effect of hydrostatic pressure on morphological and ultrastructural aspects of normal and osteoarthritic human articular chondrocytes. Boll Soc Ital Biol Sper, 1999, 75: 55-62.
- 邱贵兴, 王桂生. 兔膝制动引起关节软骨退变的实验研究. 中华外科杂志, 1987, 25: 175-177.
- Fioravanti A, Nerucci F, Anfield M, et al. Morphological and cytoskeletal aspects of cultivated normal and osteoarthritic human articular chondrocytes after cyclical pressure: a pilot study. Clin Exp Rheumatol, 2003, 21: 739-46.
- Pelletier JP, D Battista JA, Routhley P, et al. Cytokines and inflammation in cartilage degradation. Rheum Dis Clin North Am, 1993, 19: 545-568.
- Neidel J, Sihulze M, Sova L, et al. Practical significance of cytokine determination in joint fluid patients with arthroses or rheumatoid arthritis. Z Orthop Ihre Grenzgeb, 1996, 134: 381-385.
- 彭丹, 孙材江, 周江南. 一氧化氮在实验性骨关节炎软骨细胞凋亡中的作用. 中华风湿病学杂志, 2000, 4: 232-234.
- Evans CH. Nitric oxide: what role does it play in inflammation and tissue destruction? Agents Actions, 1995, 47: 107-116.
- Pelletier JP, Dibattista JA, Raynald JP, et al. The in vivo effects of intraarticular corticosteroid injections on cartilage lesions, stromelysin, interleukin-1 and oncogene protein synthesis in experimental osteoarthritis. Lab Invest, 1995, 72: 578-588.
- Trindade MC, Shida J, Ikenoue T, et al. Intermittent hydrostatic pressure inhibits matrix metalloproteinase and proinflammatory mediator release from human osteoarthritic chondrocytes in vitro. Osteoarthritis Cartilage, 2004, 12: 729-735.
- Lee DA, Frean SP, Lees P, Baader DL. Dynamic mechanical compression influences nitric oxide production by articular chondrocytes seeded in agarose. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 251: 580-585.
- Smith RL, Carter DR, Schurraan DJ. Pressure and shear differentially alter human articular chondrocyte metabolism: a review. Clin Orthop Relat Res, 2004, 427 (Suppl): 89-95.
- Chowdhury TT, Bader DL, Lee DA. Dynamic compression counteracts IL-1 beta-induced release of nitric oxide and PGE2 by superficial zone chondrocytes cultured in agarose constructs. Osteoarthritis Cartilage, 2003, 11: 688-696.
- Agarwal S, Deschner J, Long P, et al. Role of NF-kappaB transcription factors in antiinflammatory and proinflammatory actions of mechanical signals. Arthritis Rheum, 2004, 50: 3541-3548.
- Karin M, Lin A. NF-kappaB at the crossroads of life and death. Nat Immunol, 2002, 3: 221-227.
- Salter DM, Millward-Sadler SJ, Nuld G, et al. Integrin-interleukin-4 mechanotransduction pathways in human chondrocytes. Clin Orthop, 2001, 391 (Suppl): 49-60.
- Roberts SR, Knight MM, Lee DA, et al. Mechanical compression influences intracellular Ca^{2+} signaling in chondrocytes seeded in agarose constructs. J Appl Physiol, 2001, 90: 1385-1391.
- Shakibaei M, Schulze-Tanzil G, De Souza P, et al. Inhibition of mitogen-activated protein kinase induces apoptosis of human chondrocytes. J Biol Chem, 2001, 276: 13289-13294.
- Mobasheri A, Carter SD, Martin-Vasallo P, et al. Integrins and stretch activated ion channels; putative components of functional cell surface mechanoreceptors in articular chondrocytes. Cell Biol Int, 2002, 26: 1-18.

(修回日期: 2006-01-02)

(本文编辑: 松 明)