

骨性关节炎软骨的生化与代谢变化

郭建刚 冯 坤

河南省洛阳正骨研究所 (471002)

正常关节软骨具有耐磨、传导关节负荷、吸收震荡和润滑关节等作用^[1]。软骨要发挥其正常的生理特性,依赖于它化学组成及组织结构两方面的正常。骨性关节炎(Osteoarthritis, 以下简称 OA) 时软骨退变, 关节周围有增生性改变, 特征可概括为功能退变, 软骨损害, 关节周围的新骨形成^[2]。一系列的研究表明, OA 时退变软骨的生化及代谢发生了显著变化, 现就有关资料综述如下。

正常关节软骨的生化

软骨由软骨细胞、基质、胶原纤维和水分构成, 基质和胶原纤维由软骨细胞合成。

蛋白聚糖(Proteoglycan)是构成基质的主要成分, 占软骨干重的 30%^[1], 蛋白聚糖是多种成分构成的复合体^[3], 软骨的蛋白聚糖有蛋白质和氨基多糖以共价键连结构成, 氨基多糖包括透明质酸、硫酸软骨素 A (4-硫酸软骨素), 硫酸软骨素 C (6-硫酸软骨素) 以及硫酸角质素。蛋白聚糖在软骨内以其复合体和特有结构发挥其作用。这种结构有二个特点^[4]: (1) 分子巨大(约在 $30 \times 10^6 \sim 210 \times 10^6$ 之间), (2) 分子上有许多酸性基团(-COCH, -SO₃H)。在生理 pH 条件下, 这些基团可以解离而使蛋白聚糖带有许多负电荷, 其与水结合后形成粘稠的凝胶, 其在溶液内充分伸展, 并能进行可逆压缩, 使软骨组织有粘弹性。结合水的特性对维持基质内的细胞外液量有重要影响, 多阴离子的特性使其具有阳离子交换树脂的特点, 对细胞外液阳离子平衡有重要作用^[4], 另外也参与胶原纤维的形成^[5]和软骨钙化的过程^[6]。

胶原是一种纤维蛋白, 分散在基质中, 占软骨干重 50%, 在软骨内形成网架, 维持着软骨的构形, 并赋予组织一定的抗张强度, 关节软骨中的胶原是 II 型胶原 [$\alpha 1$ (II)]₃, 以三条 $\alpha 1$ (II) 链构成三重螺旋分子^[4,5], 专一性的胶原酶可使其在一定部位断裂, 然后被其它蛋白酶类降解, 各种胶原对胶原酶的敏感性也不同, 软骨的 II 型胶原比 I 型胶原对胶原酶的敏感性低。老化的成熟的胶原, 由于胶原内部分子共价交联的增多, 也更不易分解。胶原在软骨内由深层到表面呈垂直向上转

向平行于软骨面, 构成拱形网架, 对应力传导有重要作用^[7]。蛋白聚糖胶体即附着在胶原网架上, 共同构成一个弹性体。

OA 软骨胶原的改变

一些资料显示一个共同的规律, 即 OA 病变时软骨的胶原含量基本不变^[8-11]。这可能和胶原自身的稳定性有关, 但也应看到, 以上的研究并非到 OA 的终期, 只能代表 OA 发展过程中相对早期的改变, 病变晚期或末期, 随着软骨的严重丢失, 骨质暴露, 胶原也应是完全的丢失, 此之前, 也应伴有胶原缓慢丢失的过程。

胶原含量在相对早期虽没有显著的变化, 但通过电镜的研究证明, OA 病变时伴有胶原纤维的肿胀^[12]。Maroudas 等^[13]研究比较了人 OA 时股骨头软骨和正常股骨头软骨的肿胀特性, 在排除水自身对软骨作用的变化后, 他们认为退变软骨的肿胀是由于胶原网的破坏减弱了对来自蛋白聚糖的肿胀压力限制所造成。用胶原酶处理纤维软骨可看到类似的肿胀发生, 证明退变软骨的肿胀和胶原破坏有密切关系。

正常情况下, 透明软骨内只含有 II 型胶原, II 型胶原纤维较之其它组织内的胶原纤维纤细, 并有可变的横纹周期, 而不显示 64nm 规律周期性横纹, 最纤细的甚至不显横纹^[14], 常呈束状排列, 胶原纤维之间的聚合度也不如其它组织内的高。柴本甫等^[12,15]用电镜观察到, 随 OA 进展, 软骨表面暴露的胶原纤维增粗, 软骨修复性肉芽组织内在出现了较粗的具有 64nm 周期横纹的 I 型胶原纤维。这些表明, OA 时存在显著的胶原结构与性质改变。

OA 软骨蛋白聚糖的变化

OA 时软骨蛋白聚糖的变化包括两方面, 一方面是它在关节软骨中的浓度, 另一方面是它的组成成分的比例和分子链结构的变化, 即一个是量的变化, 一个是质的变化。OA 时软骨在这两方面均有显著变化, 以糖醛酸浓度代表氨基己糖的浓度, 乳糖氨/葡糖氨代表硫酸软骨素和硫酸角质素的比。

Ehroich 等^[8]在家兔的 OA 模型中观察到, 随着组

织学改变的严重性增加, 蛋白聚糖的含量下降, 并证明内外侧股骨髁软骨的蛋白聚糖含量不一, 和局部病变的严重性相关。

Mankin 等^[9]用人的股骨头研究, 结果显示糖醛酸的变化与 OA 的严重程度相关, 随着疾病发展, 糖醛酸逐渐减少。

Brandt^[11]研究牛的 OA 软骨与正常关节软骨, 发现 OA 软骨比正常减少近 10% 的糖醛酸含量, 并且乳糖氨/葡萄糖氨增加 (1.6:1 和 1.1:1), 病变软骨的蛋白聚糖更易抽提, 在 0.15M 醋酸钠液中, 正常软骨 1 小时和 1 小时 5 分钟抽提出 0.6% 和 0.7%, 而 OA 软骨相应是 5.3% 和 4.8%, 是正常软骨抽提率的 7~9 倍。

McDevitt 等^[16]以剪断狗膝交叉韧带法造 OA 模型, 研究股骨髁、胫骨平台及髌骨软骨的化学成分和性质的变化, 正常对照关节软骨 35%~55% 总蛋白聚糖可被 2M CaCl₂ 溶液 (pH6.8) 抽提, 造模术后 2 周, 软骨蛋白聚糖抽提率即开始比对照关节增加, 术后 7 周关节软骨 68%~83% 的总蛋白聚糖可被抽提, 16 周时对照关节软骨抽提 50% 而手术关节抽提 60%~70% 的总蛋白聚糖, 并且不受酶抑制因子是否存在的影响, 乳糖氨/葡萄糖氨, 在同一关节内, 病变严重区比轻受累区小, 并且不同关节随 OA 严重程度增加该比率减小。

McDevitt 另一项研究^[17]结果是, 术后 6~9 周, OA 软骨用 2M CaCl₂ 溶液 48 小时可抽提 60%~75% 的总蛋白聚糖, 而对照正常关节软骨仅抽提 50%, OA 软骨用生理盐水经 48 小时抽提其蛋白聚糖抽提率也有升高, 提示 OA 软骨内蛋白聚糖结构已产生了解聚, 因为生理盐水不抽提聚合态的蛋白聚糖。乳糖氨/葡萄糖氨的比, 在所有受累软骨增加, 提示该 OA 软骨相对有较多的硫酸软骨素, 类似于幼稚软骨, 也提示软骨细胞产生了较多新基质替代原有基质。

Bollet 等^[18]研究了人膝 OA 病变软骨的硫酸软骨素的变化, 发现在疾病过程中存在着硫酸软骨素 (包括 A、C) 浓度的减低, 正常关节软骨含量为 $1.84 \pm 0.13\text{g/dl}$, 轻微 OA 软骨为 $1.31 \pm 0.17\text{g/dl}$ ($P < 0.05$), 严重 OA 软骨为 $0.65 \pm 0.045\text{g/dl}$ ($P < 0.001$), 随着 OA 严重程度增加, 减低越来越显著, 同时硫酸软骨素的链长也产生了变化, 正常为 $(14.7 \pm 0.6) \times 10^3$, 轻微 OA 为 $(11.1 \pm 0.7) \times 10^3$, 严重 OA 为 $(8.2 \pm 0.5) \times 10^3$, 均有显著差异, 表明随疾病发展, 硫酸软骨素的分子降解进一步加重。同时硫酸软骨素与中性糖复合物 (中性糖, 硫酸角质素及糖蛋白) 的比率下降, 其现象类似于透明质酸酶对软骨的作用结果, 暗示着 OA 时蛋白聚

糖聚合体的瓦解。

以上资料显示, 动物 (包括人) 不分种属, 在 OA 时受累软骨显示一个规律性变化, 即蛋白聚糖浓度随 OA 严重度增加而逐渐降低, 蛋白聚糖的多聚体解聚, 分子变小, 以致在低浓度盐液中更易被抽提, 组成成分中硫酸软骨素的浓度降低, 硫酸软骨素与硫酸角质素的相对比却是不定的。有资料显示该比值 OA 时比正常时要增加^[11,18], 有的结果则相反^[16,17], 可能与基质的合成分解所处的状态有关。蛋白聚糖抽提率在 OA 时的升高, 一方面反映了蛋白聚糖的解聚降解, 另一方面反映着蛋白聚糖与胶原网架的联系变弱, 这种联系的减弱, 与蛋白聚糖分子结构变化及胶原分子的结构和类型变化均有关。

OA 时软骨的代谢性变化

有关代谢的研究均采用同位素标记技术。Bollet 等^[18]的资料显示, OA 软骨的³⁵SO₄ 和¹⁴C 结合增加, 与 OA 严重程度呈正相关。Mankin 等^[9]发现在组织形态评分 10 级以前 (分级越高, 病变越重), 代谢与分级呈非线性正相关,³⁵SO₄ 及³H-胸腺嘧啶结合率随严重程度增高而增加, 直到 10 级, 10 级以后则相反,³⁵SO₄ 的结合率与糖醛酸含量负相关,³H-胸腺嘧啶结合率与 DNA 浓度呈非线性负相关。Ehroich 等^[9]在家兔 Hulth OA 模型中发现, 术后 6 个月 OA 软骨同位素标记³⁵SO₄ 比正常软骨增加 377%, ³H-甘氨酸增加 609%, ³H-胸腺嘧啶增加 57%。以上资料显示, 在 OA 严重度达一定程度前, 蛋白聚糖浓度减低过程中, 伴有合成增加, 同时细胞分裂增加, 这是软骨对损伤的修复反应。在正常软骨, 软骨细胞也不断合成基质, 基质的分解与之平衡, OA 时蛋白聚糖浓度下降, 暗示着基质的代谢不再能维持平衡, 尽管合成率上升, 但分解代谢最终超越了合成代谢,³H-胸腺嘧啶结合率上升, 表明 OA 时细胞分裂增加, 而 DNA 含量却逐渐下降, 证明细胞增生虽然显著, 但死亡细胞数仍是占优势, 组织学评分 10 级以上时, 残存可分裂、合成基质的细胞数已减少到不可代偿的程度。超微结构的研究^[19]亦证明, 退变软骨细胞数随 OA 严重度增加而增多, 在严重的病变, 几乎所有的软骨细胞均退变, 从早期到中期的病变, 伴有软骨细胞克隆增生的进行性增加, 这些细胞的高尔基器、内质网增加, 代表细胞合成和分泌活动的加强。

这些代谢指标的研究结合生化研究的结果分析, 揭示在 OA 进行到最后阶段前, 病变软骨在努力进行自身修复。

OA 时软骨内水的变化

软骨化学成分与分子结构决定了软骨胶体是高度

水化的,水分在维持关节软骨弹性和润滑的重要作用是大家所认同的,水分减少将可能改变软骨的特性,并导致关节功能损害。软骨中的蛋白聚糖和水分关系紧密,但 OA 时,蛋白聚糖的浓度是下降的,似乎可推论,相应水含量可能减少,事实上则相反,OA 时软骨的水含量是增加的,而且与水的结合力也更大。

Mankin 等^[20]研究了正常和 OA 软骨的水含量和水结合力 (avidity); 正常软骨含水量 $66.2 \pm 2.2\%$ 而 OA 软骨 $72.1 \pm 1.4\%$, OA 软骨比正常软骨增加了 9% 的水分 ($P < 0.001$), 把软骨在 $^3\text{H}_2\text{O}$ 中孵育, 正常软骨结合 $8816 \pm 1975 \mu\text{g}/\text{min}$, OA 软骨结合 $7336 \pm 3974 \mu\text{g}/\text{min}$, OA 软骨比正常减少 16.8% ($P > 0.30$), 当与 $^3\text{H}_2\text{O}$ 结合过的软骨加热 60°C 5 分钟 (该条件下可维持蛋白聚糖不变性), 正常软骨保留 $24.2\% \pm 6.5\%$ 的 $^3\text{H}_2\text{O}$, 而 OA 软骨则保留了 $36.3\% \pm 12.6\%$ $^3\text{H}_2\text{O}$, 比正常增加 12.11% ($P < 0.025$), 结果提示, OA 时软骨水含量增加。与水的亲和力也增加, 这个结果在同一实验室被用 4M 盐酸胍抽提了蛋白聚糖的软骨所复制, 证明水的增加与基质的丢失成负相关关系。Bollet 等^[18]的实验也证明了同样的结果。

关于上述现象的解释, Mankin 等^[20]提出了三种假说: (1) 基于以前研究, 水在软骨内以蛋白聚糖-胶原凝胶 (Proteoglycan-collagen gel) 形式存在, OA 时软骨水含量增加, 是由于蛋白聚糖丢失后胶原凝胶 (Collagen gel) 形成所致, 胶原凝胶是比蛋白聚糖-胶原凝胶更有效结合水的胶体, 从而使退变软骨含有更多的水, 也暗示水和蛋白聚糖竞争结合胶原的结合点, 蛋白聚糖的丢失允许更多水分子结合到胶原上; (2) 蛋白聚糖是大分子结构, 在大分子中蛋白聚糖一级或二级聚合体的星状多阴离子末梢被认为直伸向空间, 维持大量阴离子负荷在它的领域, 由于胶原的刚性限制基质, 可施加压力在所含的蛋白聚糖上, 当蛋白聚糖有丢失, 剩余的大分子可被展开并增加占有空间, 蛋白聚糖凝胶因此而增其水含量; (3) 水结合的改变是由于基质组成质变的结果, 因 OA 时硫酸软骨素浓度增加而硫酸角质素浓度减少, 另外 Nini 和 Deshmukh 证明, OA 软骨细胞主要合成 I 型胶原而不是正常的 II 型胶原, 可能是由于这些成分的改变和其它未知因素改变了软骨的水结合。第三假说显然没有第一、第二假说有说服力, 因为它不能解释 4M 盐酸胍抽提正常软骨而产生软骨水含量增加的现象。

小 结

从人到动物模型的 OA 软骨均有较显著的生化、代谢及水分的改变。胶原在 OA 时维持相对稳定, 蛋白

聚糖在病变软骨中的浓度随着 OA 严重度增加而减少, 蛋白聚糖的分子聚合状态遭破坏, 使其分子变小, 内含的硫酸软骨素与硫酸角质素也发生比例变化。软骨在 OA 病变后伴自身修复的企图, 表现为软骨细胞分裂增生, 蛋白聚糖合成增加。软骨的水含量及与水的亲和力在 OA 时增加。

参考文献

1. 翁习生, 任玉珠. 骨性关节炎病因研究进展. 中华骨科杂志, 1996, 16 (1): 60
2. 娄思权. 骨关节炎的病理与发展因素. 中华骨科杂志, 1996, 16 (1): 56
3. 上海第一医学院生化教研室. 生物化学译丛 (第 6 辑). 上海: 上海科技出版社, 1984. 44~52
4. 浙江医科大学, 等合编. 生理生化与医学. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1987. 1~15
5. 张增明 (译). 病理生化学. 北京: 科学出版社, 1984. 299~305
6. 上海第一医学院主编. 医学生物化学 (下册). 北京: 人民卫生出版社, 1979. 1252~1292
7. 毕五蝉, 王亦璠. 膝关节载荷传导紊乱所致的关节软骨退变. 中华骨科杂志, 1991, 11 (4): 303
8. Ehrlich MG, Mankin HJ, Jones H, et al. Biochemical confirmation of an experimental osteoarthritis model. J Bone Joint Surg, 1975, 57-A: 392
9. Mankin HJ, Dorfman H, Louis L, et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. J Bone Joint Surg 1971, 53-A (3): 523
10. Mankin HJ, Louis L. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. J Bone Joint Surg, 1970, 52-A: 424
11. Brandt KD. Enhance extractability of articular cartilage proteoglycans in osteoarthritis. Biochem J, 1974, 143: 475
12. 柴本甫, 汤雪明. 髌关节骨关节炎超微结构研究. 中华骨科杂志, 1990. 10 (1): 290
13. Maroudas A, Venn M. Chemical composition and swelling of normal and osteoarthritic femoral head cartilage. II. Swelling. Ann Rheum Dis, 1977, 36: 399
14. Weiss L. Histology (Cell and Tissue Biology). 5th ed. New York: Elsevier Science Publishing, 1983. 201~206
15. 柴本甫, 汤雪明. 骨关节炎股骨头肉芽组织的超微结构研究. 中华骨科杂志, 1991, 11 (1): 40
16. McDevitt CA, Gilbertson E, Mair H. An experimental model of osteoarthritis; early morphological and biochemical changes. J Bone Joint Surg, 1977, 59 (1): 24
17. McDevitt CA, Muir H. Biochemical changes in the cartilage of the knee in experimental and natural osteoarthritis in the

dog. J Bone Joint Surg, 1976, 58-B (1): 94

18. Bollet AJ, Nance JL. Biochemical findings in normal and osteoarthritic articular cartilage. II. chondroitin sulfate concentration and chain length, water and ash content. J Clin Invest, 1966, 45 (7): 1170

19. Weiss C, Mirow S. An ultrastructural study of osteoarthritic

change in the articular cartilage of human knee. J Bone Joint Surg, 1972, 54-A (5): 954

20. Mankin HJ, Thrasher AZ. Water content and binding in normal and osteoarthritic human cartilage. J Bone Joint Surg, 1975, 57-A: 76

(收稿: 1998-04-29)

中药治疗骨质增生症临床应用分析

周建伟 张 凡

四川省中医药研究院附属医院 (成都 610041)

中药疗法治疗骨质增生症的报道甚多, 笔者收集近 10 年来国内刊物发表的相关文献 178 篇进行临床分析, 以期寻找其内在规律。

文献资料

检索 1985~1995 年国内公开期刊发表的有关中药治疗骨质增生症的文献 178 篇 (漏检者难免), 年平均 16.18 篇。其中治疗颈椎骨质增生的报道 117 篇, 腰椎骨质增生 93 篇, 增生性膝关节炎 51 篇, 跟骨骨刺 39 篇, 其他 18 篇 (互有渗透)。累积治疗病例 18354 例, 其中颈椎骨质增生 8675 例, 腰椎骨质增生 6467 例, 增生性膝关节炎 1539 例, 跟骨骨刺 1112 例, 其他 561 例。

资料分析

1. 病例选择: 一般均将具有骨质增生症临床表现 (骨与关节的疼痛、麻木、肿胀、活动受限等) 和被 X 线检查证实的病人作为治疗对象。

2. 治疗原则: 治则主要包括滋补肝肾、益气养血、温经散寒、祛风除湿、活血化瘀几端。除少数以某一治则为主外, 多数互有参合。

3. 遣方用药: 178 篇报道涉及中药处方 204 首 (内服方 117 首, 外用方 87 首)、单味中药 145 种, 其中 54 篇报道同时辅用针灸、推拿、理疗、牵引等疗法。所遣之方, 既有经方, 如虎潜丸^[1]、地骨皮汤^[2]、补阳还五汤^[3]、桂枝葛根汤^[4]、桂附八味丸^[5]、葛根汤^[6]、身痛逐瘀汤^[7]等共 38 首; 又有自拟验方, 如平椎丸^[8]、颈痛灵^[9]、助阳化痰汤^[10]、益精壮骨汤^[11]、桂附骨宁片^[12]、回春骨刺膏^[13]、益肾蠲痹丸^[14]等共 166 首。所用之药, 共 145 种, 其中内服药 102 种, 外用药 90 种, 重迭 47 种, 据其性味归属以下几类: ①滋补肝肾类 (骨碎补、川断、狗脊、怀牛膝、杜仲、苁蓉、枸杞、生地、枣皮、淫羊藿、巴戟、鹿角霜、菟丝子、龟板、附

片、寄生等 16 种); ②益气养血类 (党参、黄芪、白术、大枣、熟地、鸡血藤、首乌、阿胶、楮实子、当归等 10 味); ③祛风除湿类 (羌活、独活、防风、防己、灵仙、木瓜、秦艽、苡仁、藿香、仙灵脾、透骨草、寻骨风、鹿衔草、千年健、五加皮、海桐皮、青风藤、海风藤、白花蛇、乌梢蛇等 20 种); ④温经散寒类 (肉桂、细辛、艾叶、花椒、干姜、生姜、葱等 7 种); ⑤化痰除湿类 (莱菔子、白芥子、天南星、白附子、苍术、半夏、皂刺等 7 种); ⑥通络止痛类 (伸筋草、地龙、路路通、桂枝、土鳖、全蝎、蜈蚣、木通、桑枝、马钱子、白芍、葛根、川乌、草乌、玄胡、乌药等 16 种); ⑦活血化痰类 (川芎、乳香、没药、三七、降香、桃仁、红花、丹参、赤芍、甲珠、穿山甲、虻虫、五灵脂、血竭、大云、三棱、莪术、苏木、自然铜、泽兰、虎杖等 21 种); ⑧其他类 (甘草、麻黄、蒲公英、木香、泽泻、冰片、斑蝥等 48 种)。

4. 药物使用频率: 在内服 117 首方剂中, 有 4 味药在半数以上的处方中出现: 白芍 59.83%, 当归 54.70%, 川芎 52.99%, 甘草 51.28%; 有 6 味药在 1/3 以上的处方中使用: 桑枝 44.44%, 葛根 40.17%, 全蝎 39.32%, 羌活 38.46%, 黄芪 36.75%, 川断 34.42%; 另有 7 味药在 20% 的处方中出现: 狗脊 30.77%, 鸡血藤 28.21%, 熟地 26.50%, 灵仙 24.79%, 丹参 23.08%, 怀牛膝 21.39%, 桂枝 20.51%。在外用 87 首处方中, 有 3 味药的使用过半: 生川乌 56.32%, 生草乌 52.87%, 灵仙 50.57%; 另外使用率较高的药物尚有: 麝香 34.48%, 全蝎 33.33%, 蜈蚣 33.33%, 生半夏 29.99%, 地龙 27.59%, 细辛 26.44%, 乳香 25.29%, 没药 22.99%, 羌活 20.68%。

5. 给药途径: 内服方中, 除少数制成合剂^[15]、散剂^[16]、丸剂^[17]、片剂^[18]外, 大部分均为传统的水煎剂^[19-21]。外用则涉及散剂外敷^[22]、膏药外贴^[23]、热