

综述

骨关节炎细胞凋亡与一氧化氮的调控作用

刘耀升 毕大卫

(浙江省中西医结合医院, 浙江 杭州 310004)

凋亡是有核细胞在一定条件下,启动自身内部机制,通过内源性 DNA 内切酶的激活而发生的细胞自然死亡过程。目前已认识到细胞凋亡在胚胎发生、器官发育、炎症损伤、肿瘤发生及保持机体的稳态中发挥着至关重要的作用^[1]。骨关节炎(OA)是以关节软骨基质降解为特征的退行性关节疾病,其发生发展与软骨细胞凋亡及一氧化氮的调控异常有关,现将近年有关文献综述如下。

1 细胞凋亡与 OA 发病

Blaw 等^[2]用 TUNEL 法、透射电镜和流式细胞仪技术对 7 例正常人和 16 例 OA 病人关节软骨的软骨细胞进行了研究,结果显示 OA 病人软骨细胞中有典型的细胞凋亡,而且凋亡的细胞主要分布于软骨的表层和中层,且有细胞凋亡的软骨呈现糖蛋白缺失,凋亡数量与 OA 分级明显相关。裴明等^[3]用原位杂交方法检测到 OA 关节软骨的较深层有 X 型胶原基因表达,在上层纤维化区可用免疫组化法检测到 X 型胶原蛋白的存在而无 mRNA 的表达。Gibson 等^[4]则认为 X 型胶原的表达是引起软骨细胞凋亡的原因,通过对 X 型胶原表达的抑制可以有效地防止凋亡发生。Hashimoto 等^[5]通过免疫组化、电镜观察实验性 OA 半月板中有大量的凋亡细胞,其中主要是软骨细胞,且 NO 原位产物持续存在,证明半月板病变作为实验性 OA 的病理特征与 NO 产生、半月板内细胞凋亡有关。胡建华等^[6]通过 TUNEL 法观察到 OA 软骨细胞 bax、bcl-2、mRNA 表达高于正常对照组(0%~2%),二者可使 OA 软骨细胞凋亡增加(4%~14%),明显高于正常对照组($P < 0.01$)。在另一项研究中,Hashimoto 等^[7]用流式细胞术和电镜方法检测了正常人关节软骨细胞及 OA 软骨细胞 Fas/FasL 的表达和 FasL 及其受体在调整细胞凋亡方面的作用,结果发现 Fas 抗体处理后的正常人关节滑膜细胞约 20% 呈现凋亡。Fas 抗体诱导的凋亡不依赖于 NO,该抗体亦不会诱导 NO 的产生。正常人和 OA 病人滑膜细胞中 Fas 阳性主要位于表层和中部,相反,在纤维化的 OA 软骨,Fas 阳性细胞仅在深层检测到。在静止或活化的正常和 OA 软骨细胞中,无法检测到 FasL mRNA。电镜分析表明:经 Fas 抗体处理的培养的细胞,其细胞核和胞浆均呈现典型的凋亡现象,故认为软骨细胞表达 Fas 抗原并可被 Fas 诱导发生凋亡,Fas 诱导的软骨细胞凋亡有助于 OA 软骨退变。

2 NO 对 OA 细胞凋亡的调控

NO 是一种高度反应性、细胞毒性、弥散性物质,参与各种疾病的组织损伤^[8],如抑制细胞增殖、诱导各种细胞凋亡,并可能与 OA 的发病机理有关。朱洁等^[9]采用 L-Arg-NO 途径的 NO 检测试剂盒检测 OA 软骨中 NO 的浓度为 $168.1 \pm$

$67 \mu\text{mol/L}$,正常对照组为 $35.3 \pm 23.5 \mu\text{mol/L}$,二者间存在显著差异($P < 0.005$)。提示 NO 可能在 OA 关节软骨损害中起重要作用。在另一项研究中^[8],即使不加入 IL-1 或脂多糖等刺激物,OA 患者软骨细胞在体外仍可产生大量的 NO,体外培养发现:NO 对软骨细胞功能有许多不利影响,包括抑制胶原和粘多糖的合成、促进细胞凋亡,以及抑制细胞外基质聚集。Hashimoto 等^[10]观察到经 NO 处理的软骨细胞的细胞外基质密度降低,软骨陷窝内凋亡小体聚集,功能检测表明:经 NO 处理的软骨细胞或软骨分离出的凋亡小体可产生焦磷酸,含碱性磷酸酶和 NTP 焦磷酸水解酶的凋亡小体活化后可促进钙化,故认为软骨细胞源性凋亡小体在衰老和 OA 中有助于病理性软骨钙化。该学者^[11]还在前交叉韧带横段术(ACL T)所致 OA 的软骨培养液中检测到较高水平的亚硝酸盐和 NO,高于非手术侧和未进行手术的软骨培养液。原位染色证实凋亡细胞位于 ACL T 术软骨中上层,在有血管翳的关节中可见大量的细胞凋亡。凋亡数量与亚硝酸盐产生水平和 OA 分级呈明显相关性,由此推断,OA 早期 NO 产生可导致软骨的细胞凋亡,二者均与软骨退变的病理机制有关。Cherung 等^[12]的研究证实磷酸柠檬酸盐可阻断 NO 诱导的软骨和软骨源性凋亡小体的钙化,体外培养进一步发现硫酸软骨素(CS4、CS6)对 NO 诱导的软骨细胞凋亡具有保护作用。Conrozier^[13]的研究表明:NO 使家兔软骨细胞凋亡的数量显著升高,20% 的标本给予 100mg/ml CS4 或 CS6 可减少死亡率,其保护率平均 28%,并随暴露在 NO 中的时间而异,NO 抑制剂可限制动物骨关节病变的进展。

另外,有学者对 NO 在 OA 发病中的作用有不同认识,Studer 等^[14]观察发现,在活化的关节软骨细胞可产生大量的 NO,由于半衰期很短,内源性 NO 的生物效应与关节软骨内产生的 NO 相似。尽管这些软骨细胞周围 NO 水平很高,并未见细胞凋亡或其他形式的细胞死亡。但是,NO 可通过自分泌或旁分泌方式抑制基质合成,并抑制 IL-1 处理的细胞产生 TGF- β_1 ,同时可减弱 TGF 诱导的基质产生。NO 合成抑制剂可解除 IL-1 引起的对基质合成的抑制。

3 NO 对细胞凋亡的调控方式

NO 是一种重要的保护分子,无论是人还是实验性骨关节炎软骨中均有 NO 产生,且总是与基质的降解和软骨细胞的凋亡相伴。在一定条件下,NO 对关节软骨有同化或异化作用。NO 亦被认为是 IL-1 诱导的 MMP mRNA 及其蛋白表达的介质,也是原酶的激活物。在其他组织,特别是皮肤和肌肉,NO 在细胞外基质修复中有促进作用,并能对抗细菌性关节炎。Lotz^[15]认为 NO 对关节炎以及其他组织的保护作用非

常重要。到目前为止, NO 对 OA 软骨细胞凋亡的调控方式尚不甚清楚, 可能是通过 cGMP 途径而发挥其生物作用的, 非 cGMP 途径主要是通过作用于蛋白质的铁硫中心蛋白中的巯基等而影响底物的功能的。而在最常见的 cGMP 途径中, NO 作用于无活性的 GTP 环化酶, 与其血红素中的亚铁离子共轭结合, 致 GTP 环化酶空间结构发生改变, 使酶的活性中心暴露, 而且有催化 GTP 产生 cGMP 的能力。同时, 细胞内 GTP 增加后可影响细胞凋亡的相关基因如 bcl-2、p53 等的蛋白合成, 从而影响细胞凋亡的发生和发展。

综上所述, 软骨细胞凋亡在 OA 发病中起重要作用, 且与软骨细胞减少、软骨基质降解密切相关。NO 对 OA 软骨细胞凋亡的影响主要表现为促进作用, 同时可抑制细胞外基质的合成与粘集。因此, NO 合成以及软骨细胞凋亡的抑制剂可抑制 OA 的病变发展, 具有治疗价值。

参考文献

[1] Kerr JFR, Wyllie AJ, Currie AE. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Brit J Cancer*, 1972, 26: 239-257.

[2] Blaw FJ, Guistain R, Vazquez ME, et al. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis: A possible pathway for osteoarthritis pathology. *Arthritis Rheum*, 1998, 41(2): 284-289.

[3] 裴明, 曲绵域, 于长隆, 等. 凋亡在骨关节病发病机制中的作用. *中华骨科杂志*, 1999, 3(19): 167-169.

[4] Gibson G, Lin DL, Roque M. Apoptosis of terminally differentiated chondrocyte in culture. *Exp Cell Res*, 1997, 233: 372-382.

[5] Hashimoto S, Takahashi K, Ochs RL, et al. Nitric oxide production

and apoptosis in cells of the Meniscus during experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 1999, 42(10): 2123-2131.

[6] 胡建华, 黄公怡, 黄尚志, 等. 骨关节炎软骨细胞凋亡调控基因的研究. *中华骨科杂志*, 2000, 38(4): 266-268.

[7] Hashimoto S, Setareh M, Ochs RL, et al. Fas/ Fas ligand expression and induction of apoptosis in chondrocytes. *Arthritis Rheum*, 1997, 41(10): 1749-1755.

[8] Amin AR, Abramson SB. The role of nitric oxide in articular cartilage breakdown in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*, 1998, 10(3): 262-268.

[9] 朱洁, 岳珍, 王嘉芙. 骨关节病关节软骨一氧化氮检测的意义. *当代医师*, 1998, 3(11): 10-11.

[10] Hashimoto S, Ochs RL, Roson F, et al. Chondrocyte-derived apoptotic bodies and calcification of articular cartilage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(6): 3094-3099.

[11] Hashimoto S, Takahashi K, Amid D, et al. Chondrocyte apoptosis and nitric oxide production during experimentally induced osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 1998, 41(7): 1266-1274.

[12] Cheung HS, Ryan LM. Phosphoite blocks nitric oxide-induced calcification of cartilage and chondrocyte-derived apoptotic bodies. *Osteoarthritis Cartilage*, 1999, 7(4): 409-412.

[13] Conrozier T. Death of articular chondrocyte, mechanisms and protection. *Press Med*, 1998, 27(36): 1859-1861.

[14] Studer R, Jaffurs D, Stefanovic-raw M, et al. Nitric oxide in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 1999, 7(4): 377-379.

[15] Lotz M. The role of nitric oxide in articular cartilage damage. *Rheum Dis Clin North Am*, 1999, 25(2): 269-282.

(收稿: 2000-10-19 编辑: 李为农)

短篇报道 ·

麦氏鹅头钉治疗股骨粗隆间骨折钉板结合部螺钉滑出 3 例

刘小平 王婧

(靖边县人民医院, 陕西 靖边 718500)

我院 1989 ~ 1996 年用麦氏鹅头钉治疗股骨粗隆间骨折, 发生鹅头钉钉板结合部螺钉脱出 3 例, 现报告如下。

1 临床资料

3 例中女 2 例, 男 1 例; 年龄 37 ~ 48 岁。左侧 2 例, 右侧 1 例。Evan 氏分型: Ⅰ型 1 例, Ⅱa 型 2 例。高空坠伤、行走时摔倒致伤、车祸伤各 1 例。

2 治疗方法

硬膜外麻醉下, 取股骨上段及大转子外侧切口, 显露大小转子及股骨上段, 复位后在大转子顶点下约 4 ~ 5cm 处, 向股骨颈方向凿孔, 打入鹅头钉, 安放钢板并用螺钉固定钢板与鹅头钉、钢板与股骨干。术毕用长腿石膏托固定或皮牵引。3 例中, 1 例于术后第 1 天, 2 例于

术后第 3 天发生鹅头钉钉板结合部螺钉滑出。均于失败后次日再行切开内固定, 1 例因螺钉滑丝而更新螺钉, 2 例将原螺钉重新拧入。术后均行单侧髌人字石膏外固定于外展内旋位 8 周, 去除外固定开始功能锻炼。

3 治疗结果

3 例患者于术后 1 ~ 1.5 年随访, 均未发生切口感染及并发症, 髌关节功能恢复基本正常, 无髓内翻及下肢外旋畸形。

4 讨论

粗隆间骨折部位由于受高度弯曲应力影响, 易造成鹅头钉钉板结合部第一螺钉部损坏。我们所遇 3 例的原因及教训为: 由于青中年患者下肢肌肉发达,

收缩力大, 致粗隆部位屈服应力增强, 易形成鹅头钉第一螺钉处损坏。故本材料适用于老年股骨粗隆间骨折的内固定。

术后没有可靠的外固定时, 患者在床上活动(如大小便)势必影响股骨颈干角处应力, 如果患肢内收时进一步增加钉板夹角的屈服现象, 极易造成钉板结合部螺钉损坏。故术后要加强外固定。由于钉板结合部螺丝钉细而短, 抗应能力差, 也为成因之一。总之, 麦氏鹅头钉治疗股骨粗隆间骨折, 易造成钉板结合部螺钉滑出等, 且术后负重时间及临床愈合时间均长, 故除非对稳定型的粗隆间骨折, 应尽量少用。

(收稿: 1999-10-08 修回: 2000-08-14 编辑: 房世源)