

· 基础研究 ·

β -catenin 与 NF- κ B 信号通路在膝骨关节炎滑膜炎中的表达特点及意义

张栋^{1,3}, 王庆甫², 张晓哲¹, 阮安民¹, 田宇¹, 刘思婷¹, 樊小燕¹, 沈家豪¹

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 北京中医药大学第三附属医院, 北京 100029; 3. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078)

【摘要】 目的: 探讨 β -catenin 与 NF- κ B 信号通路在不同程度膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 模型大鼠滑膜组织中的表达情况。方法: 选取 SPF 级雄性大鼠 48 只, 体重 (200±20) g, 采用随机数字表法将大鼠分为造模组 (32 只)、假手术组 (8 只) 和对照组 (8 只)。造模组采用 Hulth 法建立 KOA 模型大鼠, 并分别于造模后第 2、4、8、12 周取材处死 8 只, 模拟轻度、早期、中度、重度 KOA 模型大鼠; 假手术组仅切开膝关节囊后缝合排除手术因素干扰; 对照组不做任何处理。观察各组大鼠动物行为、滑膜增生与软骨退变情况, 采用实时荧光 PCR 检测各组大鼠滑膜组织中 NF- κ B 信号通路及 β -catenin 的表达。结果: 成功建立 KOA 大鼠模型, 取材过程中可见滑膜增生在轻度、早期 KOA 模型中表现明显, 之后逐渐减少; 而软骨退变在中度、重度 KOA 模型中表达明显, 并随时间延长逐渐加重。PCR 结果显示造模后 4 周组 8.57±0.46、8 周组 4.23±0.09 β -catenin 水平高于对照组 1.18±0.22 ($P<0.05$); 2 周组 12.04±4.02、4 周组 8.54±2.13 TLR-2 水平高于对照组 0.88±0.15 ($P<0.05$); TLR-4 则在 2 周组 5.04±0.93、4 周组 3.29±0.58 及 8 周组 1.63±0.12 中表达显著高于对照组 1.12±0.11 ($P<0.05$), NF- κ B 在 2 周组 10.15±2.04、4 周组 15.97±4.17、8 周组 7.69±1.48 及 12 周组 6.70±1.58 中表达显著高于对照组 1.26±0.27 ($P<0.05$); IL-1 β 在 4 周组 2.79±0.25、8 周组 2.46±0.32 中表达显著高于对照组 1.00±0.00 ($P<0.05$)。结论: 在 RNA 表达层面, β -catenin 与 NF- κ B 信号通路均参与了大鼠 KOA 模型的滑膜炎反应, 两者在其下游炎症因子 IL-1 β 的表达及 KOA 退变中可能共同发挥调控作用。

【关键词】 骨关节炎, 膝; 滑膜炎; 大鼠; Toll 样受体

中图分类号: R684 R681.3

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2019.08.009

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

**Expression and significance of β -catenin and NF- κ B signaling pathway in knee osteoarthritis synovial inflammation**

ZHANG Dong, WANG Qing-fu*, ZHANG Xiao-zhe, RUAN An-min, TIAN Yu, LIU Si-ting, FAN Xiao-yan, and SHEN Jia-hao.

*The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

ABSTRACT Objective: To explore expression of β -catenin and NF- κ B signaling pathway in synovial tissue of rats with different degrees of knee osteoarthritis (KOA). **Methods:** Forty-eight SPF male rats weighed (200±20) g were randomly divided into three groups, namely model group (32 rats), sham operation group (8 rats) and control group (8 rats). KOA model rats were established by Hulth method, and 8 rats were killed at 2, 4, 8, 12 weeks respectively after modeling, in order to establish KOA model rats with moderate, early, mild and severe degree. Sham operation group was only cut off capsule of knee joint and suture to exclude interference factor, control group was untreated. Behavior, synovial hyperplasia and cartilage degeneration of rats among each group were observed. Expression of NF- κ B and signaling pathway and β -catenin in synovial tissue of rats were detected by real-time PCR. **Results:** KOA rat model was successfully established, and synovial hyperplasia was observed in KOA model at mild and early degree, and then gradually decreased; while cartilage degeneration in the early moderate and severe KOA model was significantly expressed, and gradually aggravated with time. The results of PCR showed that expression of β -catenin in 4-week group (8.57±0.46) and 8-week group (4.23±0.09) were higher than those in control group ($P<0.05$); expression of TLR-2 in 2-week group (12.04±4.02) and 4-week group (8.54±2.13) were higher than those in control group ($P<0.05$), and TLR-4 in 2-week group (5.04±0.93), 4-week group (3.29±0.58) and 8-week group (1.63±0.12) were higher than those in control group; expression of NF- κ B was significantly higher in 2-week group (10.15±2.04), 4-week group (15.97±4.17), 8-week group (7.69±1.48) and 12-week group (6.70±1.58) than that in control group ($P<0.05$), and expression of IL-

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号: 81373662); 北京中医药大学研究生自主选题项目(编号: 2017-JYB-XS-125)

Fund program: National Natural Science Foundation of China (No. 81373662)

通讯作者: 王庆甫 E-mail: qingpu-wang@sohu.com

Corresponding author: WANG Qing-fu E-mail: qingpu-wang@sohu.com

IL-1 β was significantly higher in 4-week group (2.79 \pm 0.25) and 8-week group (2.46 \pm 0.32) than that of control group (P <0.05).

Conclusion: On the RNA expression level, both of β -catenin and NF- κ B signaling pathways are involved in synovial inflammation in KOA model rats, and they play a regulatory role in expression of IL-1 β , degeneration of KOA.

KEYWORDS Osteoarthritis, knee; Synovitis; Rats; Toll-like receptors

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是一种以滑膜炎、软骨磨损及软骨下骨损伤为主要特点,多发生于中老年人的退行性骨关节疾病。研究显示^[1], KOA 的发病及其程度与患者高龄、肥胖、病程、反复发作、下肢畸形、股四头肌萎缩有关。本病的发病率高,我国 40 岁以上人群 KOA 的患病率为 15.6%^[2]。总体看来, KOA 发病率高,致残致畸率高, KOA 患者将成为未来骨科及社区门诊就诊的中老年患者的主体,给国民经济带来极大的负担。尽管 KOA 的发病率很高,但其具体发病机制尚不清楚。本研究采用实时荧光 PCR 检测不同时间点 KOA 模型大鼠膝关节滑膜组织中 NF- κ B 信号通路及 β -catenin 的转录水平,探讨 β -catenin 与 NF- κ B 信号通路在 KOA 进程中的相互关系,推测两者在 KOA 滑膜炎中的协同调控机制,从分子生物学层面探讨 KOA 的发病机制,为其防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验试剂与仪器

主要试剂:微量样品总 RNA 提取盒(天根生化科技有限公司, DP420), FastKing cDNA 第 1 链合成试剂盒(天根生化科技有限公司, KR116-01), Talent 荧光定量检测试剂盒(天根生化科技有限公司, FP209-01), PCR 引物(安徽通用), 无酶纯水(Hy-Clone, SH30538.02)。

主要仪器:电子天平(FA1004):上海天平仪器厂;4℃低温高速离心机(TGL16):Yingtai;多样品研磨珠均质仪(Bead Ruptor 12):Omni;荧光定量 PCR 仪(LC480):ROCHE;分光光度计(UV1800):岛津;离心管、TIP 头:Axygen Biosciences。

1.2 实验动物及分组方法

雄性 Wistar 大鼠 48 只,体重(200 \pm 20) g, SPF 级饲养。将全部大鼠标记编号,采用随机数字表法将大鼠分为造模组、假手术组、对照组。其中造模组 32 只、假手术组 8 只、对照组 8 只。

1.3 造模方法

模型组采用 Hulth 法^[3]建立大鼠 KOA 模型:术前称重,按 0.35 ml/100 g 体重给予 10%水合氯醛腹腔注射麻醉。全部造模取大鼠右侧后腿膝关节,麻醉充分后,碘伏消毒,于关节胫侧切一长约 1 cm 切口,切断髌骨内侧支持带,向外侧剥离髌骨暴露股胫关节前侧。依次切断前交叉韧带、内侧副韧带,离断并切除内侧半月板,检查抽屉试验阳性,关节复位后依

次缝合关节囊、皮肤切口。术后不固定伤肢,自由活动。分别于造模后第 2、4、8、12 周处死 8 只大鼠建立早期、轻度、中度、重度 KOA 模型,通过滑膜及软骨形态最终确定其病变程度。

假手术组取 8 只大鼠,手术入路同前,仅切开关节囊后,不切断前交叉韧带、内侧副韧带和内侧半月板,随即缝合关节囊、皮肤切口。设立本组用于排除单纯膝关节手术入路对于膝关节的影响。对照组取 8 只大鼠,称重后不做任何处理,常规饲养。

术后给予 0.15 g/kg 肌肉注射用头孢唑啉钠预防感染,术后观察各组大鼠整体状态、膝关节造模处愈合情况及活动情况。模型组大鼠分别于术后第 2、4、8、12 周取材造模侧膝关节滑膜后处死,假手术组与对照组饲养 12 周后处死,取材同模型组。取材时拍照记录各组大鼠造模侧膝关节滑膜增生及软骨退变情况,标本取出后保存于-80℃冰箱以备 PCR 检测。

1.4 检测项目与方法

1.4.1 组织总 RNA 提取及反转录 将各组大鼠膝关节滑膜从冰箱中取出后室温解冻,应用组织研磨器研碎后按微量样品总 RNA 提取盒(天根生化科技有限公司, DP420)说明书逐步提取组织总 RNA,将提取出的 RNA 溶液适度稀释后应用紫外分光光度计检测其浓度和纯度,使各组样品浓度在 150~200 ng/ μ l、OD 260/OD 280 范围在 1.8~2.0 范围内可用。按 FastKing cDNA 第 1 链合成试剂盒(天根生化科技有限公司, KR116-01)说明书配制反转录体系并置于 PCR 仪中设置条件完成反转录,所得 cDNA 溶液低温保存用于后续 PCR 扩增试验。

1.4.2 Real-time PCR 反应 取出试剂、引物及 cDNA 模板室温下解冻,将 Talent 荧光定量检测试剂盒(天根生化科技有限公司, FP209-01)中试剂按说明书配制反应体系,涡旋震荡混匀后分装至 PCR 专用 96 孔板各反应孔,最后加入 cDNA 模板及上下游引物,引物设计序列见表 1,每个样品设 3 个复孔。将上样好的 96 孔板放置于荧光定量 PCR 仪中,设定反应条件:变性(95℃, 5 s)-退火(60℃, 10 s)-延伸(72℃, 15 s) \times 40 个循环,在最后一次循环中采集各组扩增曲线、溶解曲线及 CT 值,以相对定量法处理 CT 值数据。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,定量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较先检验各组数

表 1 引物序列
Tab.1 Primer sequences

基因名称		碱基序列	长度(bp)
TLR-2	正向	CTGTTCGCTTACATCTTG	18
	反向	TCCGTATTGTTACCGTTT	18
TLR-4	正向	GCCATTGCTGCCAACATC	18
	反向	TGCCAGAGCGGCTACTCA	18
NF-κB	正向	GCACCAAGACCGAAGCAA	18
	反向	TCCCCTAACCGCTAGTC	18
β-catenin	正向	AAGTTCTTGGCTATTACGACA	21
	反向	ACAGCACCTTCAGACTCT	19
IL-1β	正向	TTCAAATCTCACAGCAGCAT	20
	反向	AGGTCGTCATCATCCAC	18
GAPDH	正向	GGGTTTCCCGTTGATGACC	20
	反向	GGGTTTCCCGTTGATGACC	19

据是否符合正态分布,符合正态分布数据采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和独立样本 *t* 检验分析(Independent sample *t* test),若不符合正分布则采用非参数检验分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物行为及形态学观察

各组大鼠在术后未出现手术切口感染、延迟愈合等情况,1 周后各组大鼠基本恢复了正常活动。对照组大鼠膝关节活动未见明显异常,造模组大鼠均出现了造模侧膝关节活动受限、患肢收缩、痉挛、跛行等症状,并随造模时间增加程度逐渐加重。在取材

中可见对照组及造模 2 周组大鼠膝关节滑膜未见明显增生紊乱,血运良好,关节软骨透明,未见磨损;造模 4 周组滑膜增生明显,血供良好,关节软骨透亮度减低;造模 8 周组大鼠关节滑膜增生较 4 周组减少,血运差,股骨软骨透亮度降低,可见轻度磨损;造模 12 周组大鼠节关节滑膜增生不明显,血运较 8 周组差,关节软骨可见明显磨损,关节腔内可见少量钙化游离体。见图 1。

2.2 实时荧光 PCR 结果

2.2.1 各组大鼠滑膜组织 Toll 样受体(TLRs)表达差异 造模后 2 周组、4 周组大鼠滑膜组织中 TLR-2、TLR-4 表达高于对照组,其中 TLR-4 在造模后第 8 周仍高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),并且上述基因在造模后第 2 周时表达量最高,并随时间延长逐渐减少,造模后 8、12 周 TLR-2 基因表达量与对照组比较差异无统计学意义,TLR-4 在第 12 周与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。假手术组各基因表达量与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),排除手术因素的影响。见表 2。

2.2.2 各组大鼠滑膜组织 NF-κB 表达 造模后各组大鼠滑膜组织中 NF-κB 表达均显著高于对照组($P < 0.05$),NF-κB 的基因表达量在造模后 2 周组中开始升高,4 周时达到顶峰,之后随着造模时间递减。假手术组基因表达量与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

2.2.3 各组大鼠滑膜组织 β-catenin 表达 造模后 4 周组、8 周组大鼠滑膜组织中 β-catenin 表达量较

表 2 各组大鼠滑膜组织不同时间点目的基因表达量
Tab.2 Expression of target genes in synovial tissues of rats in each groups

组别	例数	TLR-2	TLR-4	NF-κB	β-catenin	IL-1β
对照组	8	0.88±0.15	1.12±0.11	1.26±0.27	1.18±0.22	1.00±0.00
假手术组	8	0.75±0.14*	1.36±0.35 [△]	1.42±0.31 [#]	1.33±0.59 [§]	1.19±0.21 [¥]
2 周组	8	12.04±4.02**	5.04±0.93 ^{△△}	10.15±2.04 ^{##}	1.39±0.27 ^{§§}	1.54±0.42 ^{¥¥}
4 周组	8	8.54±2.13***	3.29±0.58 ^{△△△}	15.97±4.17 ^{###}	8.57±0.46 ^{§§§}	2.79±0.25 ^{¥¥¥}
8 周组	8	0.72±0.61****	1.63±0.12 ^{△△△△}	7.69±1.48 ^{####}	4.23±0.09 ^{§§§§}	2.46±0.32 ^{¥¥¥¥}
12 周组	8	1.35±0.33*****	1.18±0.22 ^{△△△△△}	6.70±1.58 ^{#####}	0.85±0.15 ^{§§§§§}	1.80±0.83 ^{¥¥¥¥¥}
F 值		20.92	32.02	21.11	232.28	7.59
P 值		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

注:与对照组比较,* $t=1.07, P=0.35$; ** $t=4.80, P<0.01$; *** $t=-6.22, P<0.01$; **** $t=0.43, P=0.69$; ***** $t=-2.26, P=0.09$; [△] $t=-1.11, P=0.33$; ^{△△} $t=-7.24, P<0.01$; ^{△△△} $t=-6.34, P<0.01$; ^{△△△△} $t=-5.26, P<0.01$; ^{△△△△△} $t=-0.40, P=0.71$; [#] $t=-0.69, P=0.53$; ^{##} $t=-7.49, P<0.01$; ^{###} $t=-6.10, P<0.01$; ^{####} $t=-7.41, P<0.01$; ^{#####} $t=-5.88, P<0.01$; [§] $t=-0.41, P=0.70$; ^{§§} $t=-1.05, P=0.35$; ^{§§§} $t=-25.18, P<0.01$; ^{§§§§} $t=-22.55, P<0.01$; ^{§§§§§} $t=2.15, P=0.10$; [¥] $t=-0.51, P=0.64$; ^{¥¥} $t=-1.63, P<0.18$; ^{¥¥¥} $t=-9.41, P<0.01$; ^{¥¥¥¥} $t=-6.35, P<0.01$; ^{¥¥¥¥¥} $t=-1.41, P=0.23$

Note: Compared with control group, * $t=1.07, P=0.35$; ** $t=4.80, P<0.01$; *** $t=-6.22, P<0.01$; **** $t=0.43, P=0.69$; ***** $t=-2.26, P=0.09$; [△] $t=-1.11, P=0.33$; ^{△△} $t=-7.24, P<0.01$; ^{△△△} $t=-6.34, P<0.01$; ^{△△△△} $t=-5.26, P<0.01$; ^{△△△△△} $t=-0.40, P=0.71$; [#] $t=-0.69, P=0.53$; ^{##} $t=-7.49, P<0.01$; ^{###} $t=-6.10, P<0.01$; ^{####} $t=-7.41, P<0.01$; ^{#####} $t=-5.88, P<0.01$; [§] $t=-0.41, P=0.70$; ^{§§} $t=-1.05, P=0.35$; ^{§§§} $t=-25.18, P<0.01$; ^{§§§§} $t=-22.55, P<0.01$; ^{§§§§§} $t=2.15, P=0.10$; [¥] $t=-0.51, P=0.64$; ^{¥¥} $t=-1.63, P<0.18$; ^{¥¥¥} $t=-9.41, P<0.01$; ^{¥¥¥¥} $t=-6.35, P<0.01$; ^{¥¥¥¥¥} $t=-1.41, P=0.23$

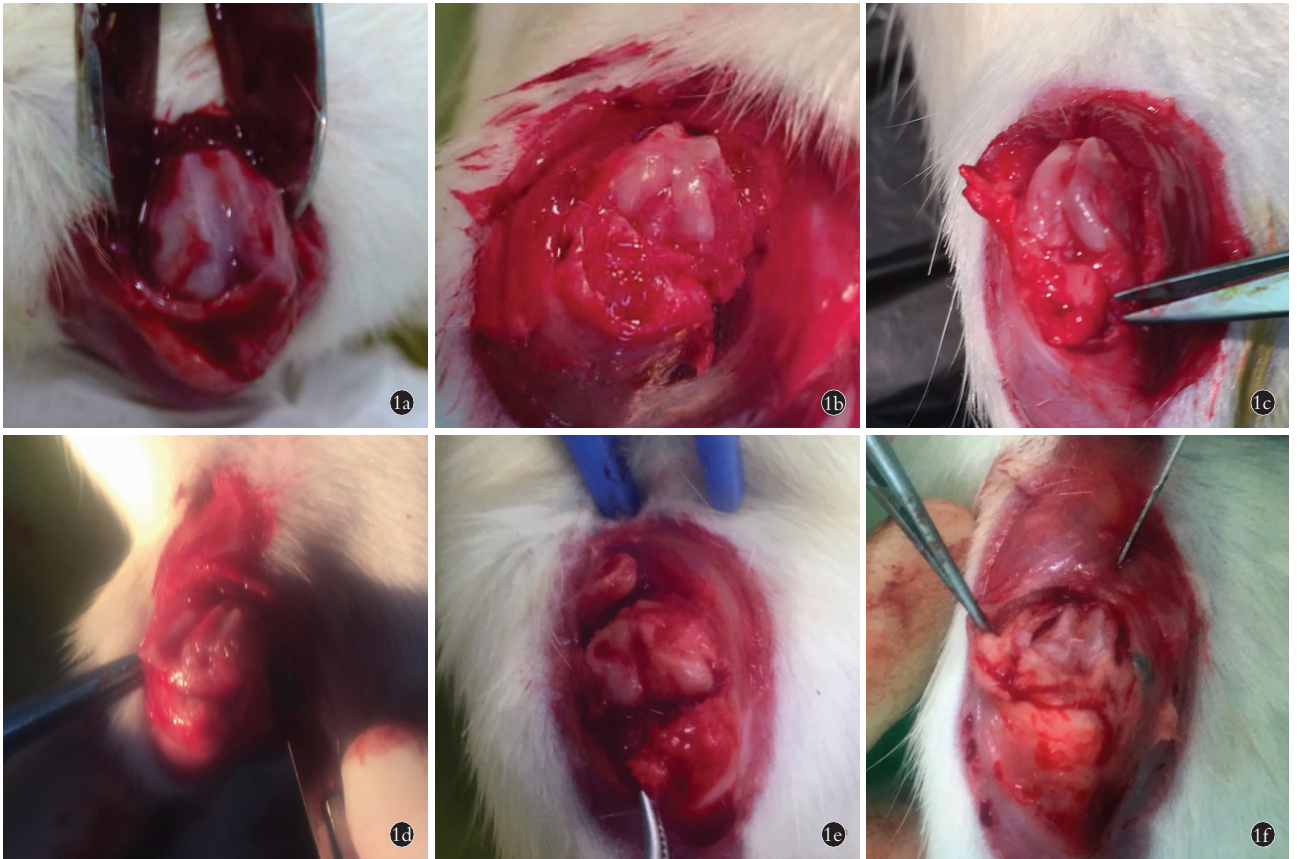


图 1 各组大鼠取材术中膝关节表现 1a. 对照组 1b. 假手术组 1c. 2 周组 1d. 4 周组 1e. 8 周组 1f. 12 周组

Fig.1 Performance of knee joint in each group during operation 1a. Control group 1b. Sham-operated group 1c. Two-week group 1d. Four-week group 1e. Eight-week group 1f. Twelve-week group

对照组显著增高($P<0.05$),其中 4 周组 β -catenin 基因表达量最高,随着时间延长逐渐减少。其余各时间与对照组无统计学意义。见表 2。

2.2.4 各组大鼠滑膜组织 IL-1 β 表达差异 造模后 4 周组、8 周组大鼠 IL-1 β 表达量较对照组显著增高($P<0.05$),其余各时间与对照组比较差异无统计学意义,假手术组基因表达量与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

3 讨论

3.1 滑膜炎是早期 KOA 的重要病理表现

本研究结果表明 TLRs/NF- κ B 信号通路与 β -catenin 共同参与的滑膜炎是 KOA 的重要病理表现,特别是在早期 KOA 中表现最为明显,研究结果从基础实验层面进一步验证了笔者前期临床观察结果^[7]。传统观点认为软骨破坏是 KOA 的核心病理改变,但滑膜炎作为 KOA 进程中的一个重要表现,已越来越被学术界重视。近年来大量研究显示滑膜炎在 KOA 发病、发展进程中的作用不容忽视^[4],并且与 KOA 影像学分级呈相关性^[5-6],可以作为 KOA 病变严重程度的评价指标。在早期 KOA 模型大鼠中,由于关节力学失稳引起的关节内环境变化,

导致滑膜细胞炎症反应,并随着级联放大效应,出现关节滑膜增生、充血、关节积液增多等无菌性炎症表现,然而随着 KOA 的进展,滑膜炎反应逐渐稳定,而软骨破坏成为 KOA 的主要病理表现。本研究通过动物实验从分子生物学层面观察滑膜炎在 KOA 进程中的表达及变化规律,进一步验证了其在早期 KOA 中的表现特点及其在 KOA 进程中的表现规律。

3.2 β -catenin 与 NF- κ B 信号通路在 KOA 滑膜炎中的表现特点

Toll 样受体(TLRs)介导的 NF- κ B 信号通路作为机体固有免疫反应通路,在骨关节炎疾病的发病、进程中也发挥了重要调控作用^[8-10],本课题组前期观察到 TLRs/NF- κ B 信号通路在 KOA 滑膜炎中具有一定调控作用^[11]。 β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 信号通路的核心元件,大量研究已证实该通路在软骨基质合成与降解、软骨细胞凋亡等过程中发挥调控作用^[12],但其在滑膜炎中的调控作用尚处于研究空白。TLRs/NF- κ B 信号通路与 Wnt/ β -catenin 信号通路在 KOA 进程中均会启动 MMP-13、IL-1 β 等下游炎性因子表达,从而进一步诱导 KOA 的退变进程^[13]。两者在 KOA 进展过程中是否发挥交互作用值

得探讨。

本研究结果显示,TLRs 作为固有免疫反应中重要的模式识别受体在 KOA 的进程中被激活显著表达,并通过一系列下游级联反应激活 NF- κ B 使其表达升高,促进下游 IL-1 β 等炎症因子表达升高,与此同时关节滑膜增生程度也在造模 4 周后达到顶峰。然而在造模 4 周后,TLRs 与 NF- κ B 的表达强度随时间逐渐减弱,此时 Wnt/ β -catenin 信号通路元件 β -catenin 在造模第 4 周后的表达上调,与之相应的滑膜炎症程度逐渐减弱而软骨退变开始产生并进展。根据实验结果推测:首先,Wnt/ β -catenin 信号通路同 TLRs/NF- κ B 信号通路一样参与了 KOA 滑膜炎症反应过程;其次, β -catenin 及 TLRs/NF- κ B 信号通路的表达可能在 KOA 滑膜炎症过程中存在交互调控作用。目前 β -catenin 与 NF- κ B 通路交互机制主要有以下假说:(1) β -catenin 通过抑制 NF- κ B 活性,影响 NF- κ B 靶基因 Fas 表达以及干扰 NF- κ B 核易位等方式影响 NF- κ B 通路表达,降低 IL、TNF- α 等下游细胞因子表达^[14-18]。(2) β -catenin 通路激活后,GSK-3 β 表达降低,导致 β -catenin 泛素化降解减少而在细胞质内蓄积,降低 I κ B 降解和 RelA 核易位,抑制 NF- κ B 进入细胞核,从而抑制该通路表达^[19-20]。(3)NF- κ B 通路可通过提高 Wnt/ β -catenin 转录因子 Lef1 表达,增加 β -catenin 转录水平,间接调控提高 Wnt/ β -catenin 通路活性^[21-23]。本实验结果提示, β -catenin 与 NF- κ B 主导的炎症信号通路在 KOA 滑膜炎症进展过程中均被激活,发挥着重要作用,并且两者在激活、表达过程中可能存在相互影响。除此之外,发现 β -catenin 及其信号通路在 KOA 疾病进程中不仅广泛参与了关节软骨退变反应,同样在滑膜炎症反应中显著表达,在 KOA 整体结构退变过程中均发挥重要调控作用。

3.3 滑膜炎症是 KOA 退行性改变的重要始动因素

膝关节退变是一种全膝关节整体的退变,软骨退变与滑膜炎症等软组织炎症在疾病进程中具有协同作用,滑膜炎症作为筋伤的一种表现形式,可能是关节软骨退变等骨病表现的重要始发和诱导因素。

本研究结果观察膝关节周围滑膜炎症在早期 KOA 中是主要病理表现,而软骨退变等骨性结构改变在后期 KOA 中开始逐渐占据主导,并且与软骨退变密切相关的 β -catenin 在滑膜炎症中亦有着显著表达。据此笔者推测滑膜炎症是 KOA 疾病进展的重要始动因素,其与软骨破坏等骨性结构变化具有密切联系,与笔者前期临床研究结果不谋而合^[7]。滑膜炎症与软骨退变相互作用的潜在机制可能有以下效果:(1)早期滑膜炎症反应所导致的关节积液增生、

滑膜厚度增加打破了膝关节内部力学平衡模式,导致关节软骨不正常的应力磨损,加快了软骨破坏。(2)由 TLRs/NF- κ B 信号通路诱导的滑膜炎症进程中,滑膜组织中 Wnt/ β -catenin 信号通路同样被激活,其通路元件及下游炎症因子通过滑膜的分泌功能传递至关节液、关节软骨中,进而促进关节软骨破坏。结合本研究结果,滑膜炎症在 KOA 中的病理作用和治疗方面作用应引起高度重视。

综上所述,本研究以大鼠膝关节滑膜组织为研究对象,实时荧光 PCR 为检测方法,检测不同程度 KOA 模型大鼠滑膜组织中 TLR-2、TLR-4、NF- κ B、IL-1 β 及 β -catenin 表达的差异,研究 TLRs/NF- κ B 信号通路与 Wnt/ β -catenin 信号通路在 KOA 滑膜炎症进程中的表现规律。结果证实,TLRs/NF- κ B 信号通路与 Wnt/ β -catenin 信号通路在不同 KOA 进程中表现具有显著差异,具有显著的时间依赖性,可见 2 条通路共同参与了 KOA 滑膜炎症的进程。研究通过现代分子生物学技术揭示了滑膜炎症 KOA 发病及进展中的病理机制,为进一步探寻 KOA 各环节靶向治疗提供了依据,并为未来进一步探究 KOA 滑膜炎症与软骨破坏的整体关系提供了思路。

参考文献

- [1] 王佩,张兴平,高云,等.基于临床科研共享系统建立膝骨关节炎分级模型[J].中国骨伤,2018,31(6):528-533.
WANG P,ZHANG XP,GAO Y,et al. Establishment of grading model of knee osteoarthritis based on clinical research system[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma,2018,31(6):528-533. Chinese with abstract in English.
- [2] 李宁华,张耀南,张毅,等.国内六大行政区六城市中老年人群膝关节骨性关节炎患病危险因素比较[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(39):7758-7760.
LI NH,ZHANG YN,ZHANG Y,et al. Risk factors of knee osteoarthritis among middle-aged and elderly population in six cities in China[J]. Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu Yu Lin Chuang Kang Fu,2007,11(39):7758-7760. Chinese.
- [3] Hayami T, Funaki H, Yaoeda K, et al. Expression of the cartilage derived anti-angiogenic factor chondromodulin-I decreases in the early stage of experimental osteoarthritis[J]. J Rheumatol, 2003, 30(10):2207-2217.
- [4] Bondeson J, Blom AB, Wainwright S, et al. The role of synovial macrophages and macrophage-produced mediators in driving inflammatory and destructive responses in osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(3):647-657.
- [5] Roemer FW, Guermazi A, Felson DT, et al. Presence of MRI-detected joint effusion and synovitis increases the risk of cartilage loss in knees without osteoarthritis at 30-month follow-up: the MOST study [J]. Ann Rheum Dis, 2011, 70(10):1804-1809.
- [6] Ayril X, Pickering EH, Woodworth TG, et al. Synovitis: a potential predictive factor of structural progression of medial tibiofemoral knee osteoarthritis—results of a 1 year longitudinal arthroscopic study in 422 patients[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2005, 13(5):361-367.

- [7] 张栋,王庆甫,石鑫超,等. 膝关节关节炎肌骨超声与 X 线片表现的比较与分析[J]. 中国骨伤, 2016, 29(5): 429-433.
ZHANG D, WANG QF, SHI XC, et al. Analysis and comparison about musculoskeletal ultrasonography and X-ray of knee osteoarthritis [J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2016, 29(5): 429-433. Chinese with abstract in English.
- [8] 王永福,林剑,詹宏刚. CD14/TLR-4-NF- κ B 信号通路参与骨关节炎发病机制的研究[J]. 实用骨科杂志, 2013(6): 528-530.
WANG YF, LIN J, ZHAN HG. CD14/TLR-4-NF- κ B signal pathway in the onset of knee osteoarthritis[J]. Shi Yong Gu Ke Za Zhi, 2013(6): 528-530. Chinese.
- [9] 王欢,王庆甫,殷岳杉,等. Toll 样受体在骨关节炎中的作用研究新进展[J]. 长春中医药大学学报, 2016, 32(6): 1265-1268.
WANG H, WANG QF, YIN YS, et al. Toll-like receptors in osteoarthritis[J]. Chang Chun Zhong Yi Yao Da Xue Xue Bao, 2016, (6): 1265-1268. Chinese.
- [10] Tian J, Zhang FJ, Lei GH. Role of integrins and their ligands in osteoarthritic cartilage[J]. Rheumatol Int, 2015, 35(5): 787-798.
- [11] 王欢,王庆甫,石鑫超,等. TLRs 与 NF- κ B 在大鼠骨关节炎滑膜中的表达及意义[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24(6): 4-8.
WANG H, WANG QF, SHI XC, et al. Expression and significance of TLRs and NF- κ B in knee osteoarthritic synovial rats[J]. Zhongguo Zhong Yi Gu Shang Ke Za Zhi, 2016, 24(6): 4-8. Chinese.
- [12] Hoepfner LH, Secretó FJ, Westendorf JJ. Wnt signaling as a therapeutic target for bone diseases [J]. Expert Opin Ther Targets, 2009, 13(4): 485-496.
- [13] Ma B, Hottiger MO. Crosstalk between Wnt/ β -catenin and NF- κ B signaling pathway during inflammation [J]. Front Immunol, 2016, 7: 378.
- [14] Deng J, Miller SA, Wang HY, et al. Beta-catenin interacts with and inhibits NF- κ B in human colon and breast cancer [J]. Cancer Cell, 2002, 2(4): 323-334.
- [15] Liu J, Liao Y, Ma K, et al. PI3K is required for the physical interaction and functional inhibition of NF- κ B by beta-catenin in colorectal cancer cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 434(4): 760-766.
- [16] Ma B, Fey M, Hottiger MO. WNT/ β -catenin signaling inhibits CBP-mediated RelA acetylation and expression of proinflammatory NF- κ B target genes [J]. J Cell Sci, 2015, 128(14): 2430-2436.
- [17] Sun J, Hobert ME, Duan Y, et al. Crosstalk between NF- κ B and beta-catenin pathways in bacterial-colonized intestinal epithelial cells [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2005, 289(1): G129-G137.
- [18] Duan Y, Liao AP, Kuppireddi S, et al. Beta-Catenin activity negatively regulates bacteria-induced inflammation [J]. Lab Invest, 2007, 87(6): 613-624.
- [19] Die L, Yan P, Jun J Z, et al. Glycogen synthase kinase-3 β inhibitor suppresses Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-induced CD40 expression by inhibiting nuclear factor- κ B activation in mouse osteoblasts [J]. Mol Immunol, 2012, 52(1): 38-49.
- [20] Jiang R, Chen D, Hou J, et al. Survival and inflammation promotion effect of PTPRO in fulminant hepatitis is associated with NF- κ B activation [J]. J Immunol, 2014, 193(10): 5161-5170.
- [21] Yun K, Choi YD, Nam JH, et al. NF- κ B regulates Lef1 gene expression in chondrocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 357(3): 589-595.
- [22] Hyun HC, Hye JJ, Ji SS, et al. Crossregulation of β -catenin/Tcf pathway by NF- κ B is mediated by I κ S2 in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells [J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1783(3): 419-428.
- [23] Cho HH, Song JS, Yu JM, et al. Differential effect of NF- κ B activity on β -catenin/Tcf pathway in various cancer cells [J]. FEBS Lett, 2008, 582(5): 616-622.

(收稿日期: 2018-12-17 本文编辑: 李宜)