

· 综述 ·

磨损微粒诱导细胞凋亡与无菌性松动的研究进展

刘国印, 赵建宁, 王瑞

(南京大学临床医院 南京军区南京总医院骨科, 江苏 南京 210002)

【摘要】 无菌性松动是关节置换术后最常见的远期并发症之一, 限制了关节假体的使用寿命。近年来人们对假体周围界膜组织内的巨噬细胞、成骨细胞、破骨细胞及成纤维细胞作了大量的研究发现, 人工关节置换产生的磨损颗粒在与界膜组织周围的细胞接触或被吞噬后可诱导假体周围界膜的慢性炎症反应并引起细胞凋亡, 最终导致假体周围骨溶解以及无菌性松动的发生, 提示细胞凋亡在无菌性松动中起着重要作用, 细胞凋亡有可能成为无菌性松动新的治疗方法。本文就磨损颗粒引起细胞凋亡与无菌松动之间关系做一综述。

【关键词】 巨噬细胞; 成骨细胞; 破骨细胞; 成纤维细胞; 细胞凋亡

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2013.09.023

Progress on the relationship between wear debris-induced apoptosis and aseptic loosening of prosthesis LIU Guo-yin, ZHAO Jian-ning, and WANG Rui. Department of Orthopaedics, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, Jiangsu, China

ABSTRACT Aseptic loosening is one of the most frequent long-term complications after joint replacement, which limits the service life of prosthesis. A lot of studies have been focused on macrophage, osteoblast, osteoclast and fibroblast in interface membranes around prostheses recently. Aseptic loosening of orthopedic implants used in joint replacement results from bone loss that occurs through the resorptive activity of inflammatory cells activated by the presence of wear particles. Apoptosis has been observed in the periprosthetic site and it has been interpreted as a sign of resolution of inflammation suggesting that apoptosis-related events are indeed associated with periprosthetic osteolysis, targeting the Apoptosis pathway may lead to novel therapeutic approaches for the treatment of aseptic prosthesis loosening. In this thesis, the relationship between wear debris-induced apoptosis and aseptic loosening of prostheses are expounded in detail.

KEYWORDS Macrophage; Osteoblasts; Osteoclast; Fibroblasts; Apoptosis

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(9):791-796 www.zggszz.com

人工关节置换术是治疗骨关节病的有效方法之一, 能达到解除关节疼痛、重建活动功能、改善生活质量的目的。然而随着假体植入时间的延长, 假体无菌性松动影响了人工关节的长期稳定性和使用寿命, 因此需行翻修手术。目前全世界每年有超过 100 万台关节置换手术, 翻修手术已经达到同期关节置换手术的 20%, 其主要原因是人工关节发生的无菌性松动^[1]。而人工关节远期松动最常见的原因是假体磨损产生的颗粒诱发假体周围组织细胞产生一系列生物学反应, 导致假体周围骨溶解。大量研究证实^[2], 翻修术中取下的界膜组织里可看到大量磨损颗粒, 磨损颗粒在多种动物模型身上均可引起骨质溶解, 并可引起体外培养的巨噬细胞的炎症反应。假体周围的组织细胞吞噬理化性质稳定的磨损颗粒后, 这些细胞的降解功能受挫, 因体内的酶不能使其降解, 而磨损颗粒引起细胞自身功能活性的改变, 诱导细胞损伤, 出现细胞凋亡, 结果已被吞噬的磨损颗粒再次释放到细胞外基质中, 诱导新的炎症细胞来吞噬, 磨损颗粒被反复吞噬后导致激活的细胞分泌更多的炎症细胞因子和蛋白酶水解酶, 从而诱导、维持, 甚至加剧慢性炎症反应, 导致假体周围骨量丢失。假体松动的直接原因是骨溶解所引起的骨性支持结构力学性能下降造成假

体机械稳定性丧失, 中间摩擦、磨损、磨损颗粒及其所发生的骨吸收、骨缺损、骨溶解在假体松动机制中扮演重要角色。

1 假体周围界膜中细胞凋亡现象

世上无永不磨损的材料, 只要有相对界面接触运动, 必然会产生磨损颗粒。磨损颗粒随着关节运动渗透到假体与骨之间界膜或更远间隙, 纤维界膜继而成为假体松动生物学因素作用空间。Hardinge 等^[3]首先在临床上发现松动假体周围有一层界膜组织并通过对假体周围组织学观察, 认为术后无菌性松动主要与假体长期磨损产生的微粒所诱导的生物学反应有关。Jasty 等^[4]在取界膜组织进行组织学观察时发现含有大量的 T 淋巴细胞、浆细胞和肥大细胞, 界膜的巨噬细胞内可见亚微米的金属微粒, 认为在这层界膜上发生的组织细胞反应对假体松动起着重要作用。之后大量研究证实, 无菌性松动的假体周围界膜组织中存在细胞凋亡现象, 细胞凋亡参与磨损颗粒诱导的假体无菌性松动的病理过程, 且与 caspase-3 信号激活有关。Landgraeber 等^[5]研究证实翻修术中取出的界膜组织存在巨噬细胞、异物巨细胞、T 淋巴细胞凋亡现象, 凋亡调控基因 caspase-3、bak、p53 表达阳性。假体周围界膜组织 caspase-3 的表达和细胞凋亡具有一定规律性, 并与磨损微粒的局部聚积和骨溶解程度密切相关, 可能是磨损颗粒造成界面骨重建受阻而溶骨大量发生的关键环节之一。程涛

等^[6]采用免疫组化法及 TUNEL 检测翻修术中取出的界膜组织,发现重度磨损处细胞凋亡指数高于轻度磨损处,松动或骨溶解组 caspase-3 阳性细胞率和细胞凋亡指数明显高于松动或非骨溶解组 and 对照组。Huk 等^[7]等应用 TUNEL 染色、DNA 琼脂糖凝胶电泳以及蛋白质印迹法分析界膜组织的天然多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶(PARP)溶解片段等实验技术证实,界膜组织中存在明显的细胞凋亡且凋亡现象和假体周围骨溶解密切相关。这些现象均说明磨损颗粒诱导的慢性炎症反应与细胞凋亡存在一定的关系。

2 细胞凋亡

细胞凋亡又称程序性细胞死亡,死亡受体活化和线粒体损伤途径是细胞内两条经典的凋亡途径,内质网应激启动的凋亡途径是近年才发现的一种新的凋亡途径。细胞凋亡的发生是由 caspase 家族介导的蛋白酶级联反应过程,凋亡的最后过程是通过 caspase 的激活而实现。caspase-3 被认为是在多种诱导刺激后导致凋亡的关键酶,是凋亡过程中所特有的。caspase-3 的升高早于细胞发生凋亡,因此,它的活化预示着细胞凋亡执行阶段的开始。细胞发生凋亡后虽不能释放大量的炎性介质,但在清除这些已经死亡的细胞时,巨噬细胞同样会释放炎性因子,引发炎症反应,而这些炎症反应往往是假体周围骨溶解的起始点,当细胞内的酶不能降解其内的磨损产物时,磨损产物被再次释放到细胞外基质中,导致更多的炎性细胞因子和蛋白水解酶的释放,形成恶性循环,从而维持甚至加剧慢性炎症反应,最终导致假体周围骨溶解的发生。

3 磨损微粒与细胞凋亡

无论假体采用何种材质或何种固定方式,术后关节摩擦和微动必然会产生颗粒,磨损颗粒主要有:骨水泥颗粒、超高分子聚乙烯颗粒、金属颗粒及陶瓷颗粒等。而微粒的产生又会在假体周围产生异物反应,激活细胞因子,加剧微动和关节摩擦,两者相互促进,最终导致假体松动。磨损颗粒在假体周围骨溶解的发生和发展过程中起着关键性作用。磨损颗粒可诱导吞噬细胞释放 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 PGE2 等炎性介质,这些炎性介质在促进破骨细胞分化、成熟及功能活动过程中起着最主要作用,通过一系列生物反应,激活破骨细胞,从而刺激细胞凋亡及破骨细胞吸收骨质,造成假体周围骨溶解,最终导致假体松动。Greenfield 等^[8]研究发现将钛颗粒与鼠骨髓细胞或人外周血共培养,能使破骨细胞分化的细胞因子量增加 20~30 倍。Ingham 等^[9]将不同成分的骨水泥磨损颗粒和同位素 ⁴⁵Ca 标记过的小鼠颅盖骨以及 U937 单核细胞共培养,结果培养上清液中标志着骨溶解的 ⁴⁵Ca 在各实验组中均高于对照组。Warashina 等^[10]将陶瓷和高分子聚乙烯等 3 种磨损颗粒分别直接植于小鼠的颅盖骨上,1 周后处死动物,取颅盖骨分析,结果显示植入的磨损颗粒处颅盖骨均出现了骨溶解,结果表明磨损颗粒可以导致骨溶解。Baumann 等^[11]将聚乙烯颗粒、TiALV 颗粒与 THP-1 单核细胞共培养,结果发现培养上清液中 NF- κ B 和 TNF- α 启动子均高于对照组,并认为在颗粒诱导巨噬细胞炎症反应直至假体周围骨溶解的整个过程中 NF- κ B 信号传导途径起着关键作用。Stea 等^[12]发现细胞凋亡与磨损颗粒种类有关,含金属颗粒的界膜组织细胞凋亡率最高为 24%,其次是超高分子聚乙烯颗粒为 2.8%,陶瓷颗粒为 1.5%,而不含磨损颗粒的界膜组织为 6%。

3.1 金属磨损颗粒 金属假体在植入人体后将不断承受弯

曲、撞击、挂擦等形式的外力作用,这将导致假体表面惰性氧化层的破坏和金属磨损颗粒的产生。Sauvé 等^[13]在行关节翻修术时以金属-高分子聚乙烯假体替代初装的金-金假体,结果患者血清中钴、铬离子浓度降至正常水平,表明金属离子几乎全由关节假体产生。Petit 等^[14]发现钴离子和铬离子可抑制 bcl-2,同时激活 bax、caspase-3 和 caspase-8。由于 bcl-2 和 caspase 基因家族参与调控钴离子和铬离子诱导的吞噬细胞凋亡,因此,金属离子可以通过调控 bcl-2 和 caspase 的表达诱导吞噬细胞凋亡。金属微粒通过有效关节间隙进入假体周围,分布于骨髓腔中,直接与假体周围细胞接触,为吞噬反应的发生提供了可能性。与其他无法降解消化的微粒一样,当其持续刺激假体周围细胞时,正常吞噬反应将引起病理改变,导致骨溶解吸收。Wooley 等^[15]将 15 μ m 的钴铬合金颗粒与患者手术前后外周血中提取的单核细胞共培养,发现术后单核细胞产生更多的细胞因子。Trindade 等^[16]将 CoCrMo 微粒与巨噬细胞或与巨噬细胞-淋巴细胞共培养 48 h 后发现 IL-6 和 TNF- α 水平升高。Kanaji 等^[17]在 MLO-Y4 细胞中加入 1.2 μ m 的 CoCrMo 微粒,发现 6 h 后 TNF- α 基因表达上调。Mostardi 等^[18]研究发现 CoCrMo 微粒可以导致成纤维细胞的活力下降。以上实验说明金属磨损微粒可以通过产生溶骨性细胞因子诱导炎症反应从而参与无菌性松动的病理过程。

3.2 聚乙烯和陶瓷磨损颗粒 磨损产生的聚乙烯和陶瓷颗粒诱导吞噬细胞释放炎性介质,通过一系列生物学反应,造成假体周围骨溶解。Yagil-Kelmer 等^[19]将陶瓷磨损颗粒与 U937 细胞共培养,发现上清液中 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-8、IL-10 和 TNF- α 的含量明显高于对照组。聚乙烯和陶瓷磨损颗粒诱导的细胞凋亡也参与假体无菌性松动的病理过程。Warashina 等^[10]将钛合金、聚乙烯、氧化铝陶瓷和氧化锆陶瓷 4 种磨损颗粒植于小鼠颅骨,1 周后取颅骨观察,结果发现这 4 种磨损颗粒的骨溶解区均较对照组升高。Petit 等^[20]实验证实聚乙烯和陶瓷颗粒能够诱导 TNF- α 的释放,促进 caspase-3 的表达以及细胞凋亡。以上实验说明聚乙烯和陶瓷颗粒也通过 caspase 途径诱导细胞凋亡并参与无菌性松动的过程。

3.3 骨水泥(PMMA)磨损颗粒 关节置换术会在体内产生大量骨水泥颗粒,这些颗粒不能被机体清除而在界膜上聚积,从而引起一系列反应。Horowitz 等^[21]发现巨噬细胞吞噬骨水泥颗粒后导致了 TNF- α 的释放并抑制巨噬细胞对 H3-胸腺嘧啶的摄取,说明此类颗粒不仅能激活巨噬细胞,而且对其具有毒性。体外研究证明,骨水泥颗粒可以诱导细胞凋亡。Cimpan 等^[22]发现骨水泥颗粒增大了人体单核细胞样细胞株(uq37)的凋亡和死亡,用鼠成纤维细胞株(L929)做实验,同样发现增大了细胞的凋亡和坏死,其中以凋亡为主。Granchi 等^[23]研究了骨水泥对淋巴细胞的影响,测试细胞的生存率、早期细胞凋亡事件、细胞前凋亡基因(pro-p53, c-myc, ICE)和抗凋亡基因(bcl-2 等)的表达,发现骨水泥有修改淋巴细胞凋亡程序的能力且与时间有关。Pioletti 等^[24]证实骨水泥颗粒通过 caspase 途径诱导成骨细胞凋亡,从而参与无菌性松动的过程。因此,骨水泥颗粒也能诱导细胞凋亡从而参与无菌性松动的过程

4 细胞凋亡与无菌性松动

在松动的界膜组织中存在大量的磨损颗粒,这些磨损颗粒被吞噬后可诱导吞噬细胞凋亡。细胞凋亡与假体周围骨

溶解有关并参与了假体无菌性松动的病理过程。赵建宁等^[25]发现聚乙烯、钛合金、骨水泥组假体隧道边缘的组织细胞含量明显高于对照组,并可见巨噬细胞浸润,各实验组组织中的 TNF- α 含量明显高于对照组。磨损微粒能诱导 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、PGE2 和 NF- κ B 等炎症因子的产生,而这些因子与骨关节炎的发病风险密切相关^[26-29]。Rego 等^[27]认为存在 TNF- α 依赖的细胞凋亡现象。Valdes 等^[28]也认为 TNF 受体家族在细胞凋亡中起到了重要作用。许多学者认为这些因子可能与无菌性松动的发生发展密切相关^[30]。Schwarz 等^[31]报道 TNF- α 基因敲除的小鼠对骨溶解有很高的耐受性。Childs 等^[32]在鼠模型中阻断 TNF- α 的活性,能部分抑制破骨细胞的分化和骨溶解。Godoy-Santos 等^[26]认为,IL-1 β 、IL-6、IL-8、PGE2 和 NF- κ B 都具有类似作用。因此,TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、PGE2 和 NF- κ B 都参与骨溶解和无菌性松动的过程并在其中发挥重要作用。体外实验已经证实,聚乙烯、陶瓷、金属、骨水泥磨损微粒能够导致细胞凋亡,界膜组织中参与炎症反应的细胞主要是巨噬细胞、单核细胞、破骨细胞、成骨细胞、成纤维细胞以及骨髓基质干细胞等。

4.1 单核或巨噬细胞 巨噬细胞是磨损颗粒靶向作用最重要的细胞。磨损微粒可引起假体周围巨噬细胞凋亡、坏死,刺激假体周围活性细胞分泌各种炎症因子而介导假体周围骨溶解,还可通过引起巨噬细胞凋亡及破坏成骨细胞、破骨细胞与成纤维细胞之间的平衡等导致假体松动。Haynes 等^[2]发现钛合金和 Co-Cr 微粒可以使巨噬细胞寿命缩短,介质释放下降。Huk 等^[7]和 Catelas 等^[33]在体外将 Co²⁺和 Cr³⁺与单核-巨噬细胞共培养,发现细胞死亡方式取决于金属离子浓度和培养时间,体外培养 24 h 可通过 caspase-3 途径导致单核-巨噬细胞凋亡。Petit 等^[34]发现 bcl-2、caspase 家族在钴微粒诱导的单核-巨噬细胞凋亡调控中起着重要作用。单核或巨噬细胞的凋亡参与了假体周围骨溶解的病理过程,此外,单核或巨噬细胞的凋亡会引起更多的单核或巨噬细胞聚集,不仅坏死的单核或巨噬细胞释放炎症介质,而且在清除这些死亡细胞时也释放各种炎症介质,引发大量炎症反应,而炎症反应通常又是假体周围骨溶解的起点,从而加重假体周围骨溶解和假体松动。

4.2 成纤维细胞 松动的关节与骨界面之间有一层纤维组织膜,透射电镜下主要见到巨噬细胞和成纤维细胞,这两类细胞在颗粒介导骨溶解过程中起重要作用。界膜组织中的巨噬细胞、成纤维细胞及多核巨细胞均具有吞噬颗粒的能力,但它们与颗粒反应的程度和作用不尽相同。成纤维细胞吞噬磨损颗粒后会释放许多生物活性物质,分泌一些促骨溶解因子,促进破骨细胞分化,参与关节松动和骨溶解的病理过程。松动的假体周围界膜中 IL-6 和 TNF- α 水平要明显高于无松动假体周围组织。Sun 等^[35]研究发现 IL-6 和 TNF- α 是激活成纤维细胞的主要因子。Kang 等^[36]通过 HE 染色法在界膜中频繁观察到成纤维细胞的存在,被激活的成纤维细胞在巨噬细胞刺激下促进骨吸收反应。成纤维细胞吞噬磨损微粒后可以通过 caspase 途径促进凋亡。Olivier 等^[37]发现聚乙烯颗粒可诱导成纤维细胞凋亡且与颗粒浓度相关。Renò 等^[38]研究证实,松动假体界膜有成纤维细胞凋亡现象,caspase-8 阳性的细胞主要是成纤维细胞,对照组的感染界膜组织则无凋亡,caspase-8 位于肿瘤坏死因子受体 (TNFR)-1 促发的凋亡途径上游,界

膜组织中存在 caspase-8 阳性的成纤维细胞,表明存在 TNF- α 依赖的细胞凋亡,亦即成纤维细胞凋亡的原因可能是 TNF- α 激活 caspase-8。因此,成纤维细胞的凋亡也参与到了无菌性松动的过程中。

4.3 成骨细胞 虽然认为成骨细胞为非吞噬细胞,但体外研究证实这种细胞具备吞噬功能^[39]。磨损颗粒可引起成骨细胞自身功能受到抑制、增殖能力减弱、胞外基质分泌减少,进而引起邻近骨基质形成减少,还可诱导成骨细胞凋亡。Pioletti 等^[24]发现将 3 种不同成熟阶段的成骨细胞与钛、骨水泥颗粒置于体外共培养,颗粒通过 caspase 途径诱导成骨细胞凋亡,且细胞成熟度越低,凋亡率越高,体内情况亦如此。成骨细胞吞噬微粒后可引起细胞凋亡,这源于吞噬微粒引起的细胞直接毒性反应及在吞噬过程中或吞噬后,成骨细胞释放的炎症因子对其他成骨细胞的毒性反应(属间接作用)。Pioletti 等^[24]还发现成骨细胞吞噬钛颗粒后产生对其他成骨细胞有毒性的物质并诱导成骨细胞凋亡,提示假体周围微环境中,颗粒在局部的聚集严重影响成骨细胞功能,高浓度钛颗粒及死亡细胞释放的可溶性因子可直接或间接引起骨溶解。局部大量磨损颗粒通过假体-骨界膜可激发巨噬细胞、成纤维细胞、成骨细胞和破骨细胞释放潜在的细胞炎症介质及其代谢副产物。但是破骨细胞表面不存在这些因子的受体,不能对其发生反应,而成骨细胞恰好相反。这些促进骨吸收的因子主要通过维生素 D3 受体途径、蛋白激酶 A 途径以及 gp130 途径等作用于成骨细胞,使成骨细胞表达骨吸收信号,并通过特定的信号转导通路作用于破骨细胞前体和破骨细胞,进而使破骨细胞分化成熟、激活,同时促进破骨细胞从骨膜释放、转移、黏附到骨质表面最终诱发溶骨作用。磨损颗粒作用于成骨细胞的生物学反应是双相的,且反应程度因颗粒大小和作用时间的不同而又有所不同。Wu 等^[40]发现钛颗粒刺激成骨细胞产生大量促骨吸收因子(IL-6、ODF)的同时快速而短暂地释放抑骨吸收因子(IL-10)。同时,在对人工关节翻修术后界膜的分析时,也确实发现其中包含一定浓度的 IL-4、IL-10 等抑骨吸收因子和高浓度的 PGE2、TNF、IL-1 和 IL-6 等促骨吸收因子。TNF 等炎症介质可以通过成骨细胞的凋亡参与无菌性松动的过程。Thammasitboon 等^[41]报道在牙骨中,LPS(脂多糖类)可以引起成骨细胞凋亡,并证实 TNF 是引起成骨细胞凋亡的中间介质。Hock 等^[42]认为 TNF 引起成骨细胞凋亡,并会由此影响成骨细胞和破骨细胞的平衡,进而影响骨代谢。Hallab 等^[43]和 Cunningham 等^[44]报道在脊柱内固定时,在固定物周围的组织中 TNF 含量升高,细胞凋亡数目增加,并认为和人工关节松动一样,存在磨损颗粒释放后,刺激 TNF 等炎症介质分泌机制。将磨损颗粒 PE、Co-Cr-Mo、Ti-6Al-4V 刺激体外培养单核细胞 thp-1 可分泌 TNF- α ,同时将磨损颗粒刺激单核细胞 thp-1 的条件培养基在体外培养成骨细胞,可以引起成骨细胞凋亡^[45]。单核巨噬细胞吞噬磨损颗粒后局部分泌的 TNF 可以引起成骨细胞凋亡,进一步影响成骨细胞和破骨细胞之间的平衡,导致骨溶解和骨吸收,最终引起人工关节的松动。

4.4 破骨细胞 在骨重建的代谢转换过程中,破骨细胞的凋亡率对维持破骨细胞群的大小和骨组织自身平衡至关重要,破骨细胞的消失是细胞凋亡的结果。若破骨细胞凋亡过早,凋亡细胞数目增加,破骨细胞数目减少,则旧骨被吸收的范围减少;反之,则吸收的范围增大。MacQuarrie 等^[46]研究证实骨

髓培养中施加 5 000 次循环微应力后可抑制破骨细胞分化, 加入磨损颗粒后, 仍进一步抑制破骨细胞分化; 单独施加机械应力可诱导破骨细胞凋亡, 加入聚乙烯和骨水泥磨损颗粒可抑制应力诱导的破骨细胞凋亡, 加入钛颗粒和钴、铬颗粒则诱导细胞凋亡。机械力学变化和磨损颗粒引起的不良反应可相互影响、相互促进而形成恶性循环, 最终导致细胞凋亡和假体松动。金属离子的影响似乎取决于破骨细胞分化阶段。Nichols 等^[47]研究表明 100 $\mu\text{g/L}$ 的钴、铬离子能诱导骨髓前破骨细胞凋亡。而 Rousselle 等^[48]发现 104 $\mu\text{g/L}$ 钴、铬离子不会引起成熟破骨细胞凋亡。因此磨损颗粒和机械刺激相互作用, 通过改变不同分化阶段的破骨细胞的功能和存活从而参与到无菌性松动的过程中。

5 纳米磨损颗粒

以往认为微米级颗粒是诱导骨溶解的主要微粒, 但是随着激光捕获显微切割技术(LCM)和透射电镜(TEM)的引入, 在松动界膜组织中发现了各种纳米级微粒, 包括金属纳米颗粒^[49-50]、陶瓷纳米颗粒^[51-53]、高分子聚乙烯纳米颗粒^[54-55]。由于纳米级微粒更易被吞噬细胞所吞噬, 因而在无菌性松动中可能扮演了更为重要的作用。最新研究表明^[56-57], 纳米颗粒可以在不同细胞系引起内质网应激反应(ERS)和细胞凋亡, 同时产生明显的生物学反应并促进 TNF- α 等炎性介质的释放。而 ERS 可以导致 NF- κB 的核易位以及 TNF- α 等炎性介质的释放^[58]。也能诱导 ROS 信号转导通路, 激活 NF- κB 和 JNK 通路并能产生急性炎症相关因子^[59], 而这些炎性因子与无菌性松动关系密切。此外, 缺氧和氧化应激导致的细胞氧化还原规律的失调也能触发 ERS^[60-62]。种种迹象表明, ERS 可能与纳米颗粒诱导的骨溶解之间有着一定的关系。Wang 等^[63]研究发现在金属纳米磨损颗粒处理过的巨噬细胞、骨溶解动物模型的骨膜组织以及临床上的假体松动标本中 ERS 的标志物显著升高。应用 ERS 特异性抑制剂 4-PBA 大大减少了纳米颗粒粒子在体外和体内的炎症性细胞因子表达。此外, 在金属纳米磨损颗粒处理过的巨噬细胞内 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等松动相关细胞因子表达水平上调, 加入 4-PBA 后细胞因子表达降低; 在 PIO 动物模型内, 应用 4-PBA 能显著抑制破骨细胞的分化并减少溶骨反应。因此, 内质网应激反应在纳米磨损颗粒诱导骨溶解中起着关键作用。虽然对纳米颗粒及其产物的细胞毒性机制仍不很清楚, 但随着研究的进展, 纳米颗粒在细胞摄取及其随后的生理反应中的作用已逐渐被人们所熟知^[64]。可是, 对于假体周围产生的磨损微粒能否引发内质网应激反应并诱导骨溶解还有待进一步的研究。抑制内质网应激反应有可能成为无菌性松动新的治疗方法。

6 展望

人工关节置换随着假体植入时间的延长会在体内产生大量的磨损颗粒, 这些理化性质稳定的磨损颗粒在与界膜组织周围的细胞接触或被吞噬后可诱导假体周围界膜的慢性炎症反应, 引起细胞凋亡或内质网应激反应, 最终导致假体周围骨溶解以及无菌性松动的发生。由于不会引起炎症反应, 细胞凋亡或内质网应激可能是未来无菌性松动新的治疗方法。人工关节无菌性松动是一个多因素相互作用、相互调节的极为复杂的过程。而磨损微粒引起的细胞凋亡引起无菌性松动是近年来新的发现, 许多因素仍未确定, 因此需要进一步的研究来阐明该细胞凋亡途径的调节机制。事实上, 磨损不可能完全消

除。因此, 寻找一种更加耐磨的材料将磨损率降至最低, 以及寻找一种能有效阻断巨噬细胞活化过程的药物以阻止骨吸收, 是今后的研究方向, 进一步研究细胞凋亡及其基因调控和信号传导途径在人工关节假体无菌性松动中作用, 可能揭开人工关节假体松动的奥秘, 探索新的治疗方法, 进而使人工关节假体在体内获得长期稳定性成为可能, 避免翻修术给患者带来的痛苦。

参考文献

- [1] Del Buono A, Denaro V, Maffulli N. Genetic susceptibility to aseptic loosening following total hip arthroplasty: a systematic review [J]. Br Med Bull, 2012, 101: 39-55.
- [2] Haynes DR, Crotti TN, Zreiqat H. Regulation of osteoclast activity in peri-implant tissues [J]. Biomaterials, 2004, 25(20): 4877-4885.
- [3] Hardinge K, Cleary J, Charnley J. Low-friction arthroplasty for healed septic and tuberculous arthritis [J]. J Bone Joint Surg Br, 1979, 61(2): 144-147.
- [4] Jasty M, Bragdon C, Jiranek W, et al. Etiology of osteolysis around porous-coated cementless total hip arthroplasties [J]. Clin Orthop Relat Res, 1994, (308): 111-126.
- [5] Landgraaber S, von Knoch M, L  er F, et al. Extrinsic and intrinsic pathways of apoptosis in aseptic loosening after total hip replacement [J]. Biomaterials, 2008, 29(24-25): 3444-3450.
- [6] 程涛, 戴闽, 韦金忠, 等. 无菌性松动全髋关节假体周围界膜组织中 caspase-3 表达和细胞凋亡的研究 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2007, 21(8): 810-813.
Cheng T, Dai M, Wei JZ, et al. Expression of caspase-3 and apoptosis in interface membranes of aseptically-loose total hip replacement [J]. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi, 2007, 21(8): 810-813. Chinese.
- [7] Huk OL, Zukor DJ, Ralston W, et al. Apoptosis in interface membranes of aseptically loose total hip arthroplasty [J]. J Mater Sci Mater Med, 2001, 12(7): 653-658.
- [8] Greenfield EM, Bechtold J. What other biologic and mechanical factors might contribute to osteolysis [J]. J Am Acad Orthop Surg, 2008, 16(Suppl 1): S56-S62.
- [9] Ingham E, Fisher J. The role of macrophages in osteolysis of total joint replacement [J]. Biomaterials, 2005, 26(11): 1271-1286.
- [10] Warashina H, Sakano S, Kitamura S, et al. Biological reaction to alumina, zirconia, titanium and polyethylene particles implanted onto murine calvaria [J]. Biomaterials, 2003, 24(21): 3655-3661.
- [11] Baumann B, Seufert J, Jakob F, et al. Activation of NF- κB signalling and TNF α expression in THP-1 macrophages by TiAlV- and polyethylene-wear particles [J]. J Orthop Res, 2005, 23(6): 1241-1248.
- [12] Stea S, Visentin M, Granchi D, et al. Apoptosis in peri-implant tissue [J]. Biomaterials, 2000, 21(13): 1393-1398.
- [13] Sauvé P, Mountney J, Khan T, et al. Metal ion levels after metal-on-metal Ring total hip replacement: a 30-year follow-up study [J]. J Bone Joint Surg Br, 2007, 89(5): 586-590.
- [14] Petit A, Mwale F, Zukor DJ, et al. Effect of cobalt and chromium ions on bcl-2, bax, caspase-3, and caspase-8 expression in human U937 macrophages [J]. Biomaterials, 2004, 25(11): 2013-2018.
- [15] Wooley PH, Petersen S, Song Z, et al. Cellular immune responses to orthopaedic implant materials following cemented total joint re-

- placement[J]. *J Orthop Res*, 1997, 15(6):874-880.
- [16] Trindade MC, Lind M, Sun D, et al. In vitro reaction to orthopaedic biomaterials by macrophages and lymphocytes isolated from patients undergoing revision surgery[J]. *Biomaterials*, 2001, 22(3):253-259.
- [17] Kanaji A, Caicedo MS, Viridi AS, et al. Co-Cr-Mo alloy particles induce tumor necrosis factor alpha production in MLO-Y4 osteocytes; a role for osteocytes in particle-induced inflammation[J]. *Bone*, 2009, 45(3):528-533.
- [18] Mostardi RA, Kovacic MW, Ramsier RD, et al. A comparison of the effects of prosthetic and commercially pure metals on retrieved human fibroblasts; the role of surface elemental composition[J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(2):702-707.
- [19] Yagil-Kelmer E, Kazmier P, Rahaman MN, et al. Comparison of the response of primary human blood monocytes and the U937 human monocytic cell line to two different sizes of alumina ceramic particles[J]. *J Orthop Res*, 2004, 22(4):832-838.
- [20] Petit A, Mwale F, Antoniou J, et al. Effect of bisphosphonates on the stimulation of macrophages by alumina ceramic particles; a comparison with ultra-high-molecular-weight polyethylene[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2006, 17(7):667-673.
- [21] Horowitz SM, Doty SB, Lane JM, et al. Studies of the mechanism by which the mechanical failure of polymethylmethacrylate leads to bone resorption[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1993, 75(6):802-813.
- [22] Cimpan MR, Cressey LI, Skaug N, et al. Patterns of cell death induced by eluates from denture base acrylic resins in U937 human monoblastoid cells[J]. *Eur J Oral Sci*, 2000, 108(1):59-69.
- [23] Granchi D, Ciapetti G, Filippini F, et al. Modulation of pro- and anti-apoptotic genes in lymphocytes exposed to bone cements[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2000, 11(6):633-646.
- [24] Pioletti DP, Leoni L, Genini D, et al. Gene expression analysis of osteoblastic cells contacted by orthopedic implant particles[J]. *J Biomed Mater Res*, 2002, 61(3):408-420.
- [25] 赵建宁, 王骏骅, 王与荣, 等. 磨损微粒在无菌性松动关节假体周围迁移聚积的实验研究[J]. *骨与关节损伤杂志*, 2004, 19(1):31-34.
- Zhao JN, Wang JH, Wang YR, et al. Experimental studies of the movement and accumulation of wear debris around the prostheses[J]. *Gu Yu Guan Jie Sun Shang Za Zhi*, 2004, 19(1):31-34. Chinese.
- [26] Godoy-Santos AL, D'Elia CO, Teixeira WJ, et al. Aseptic loosening of total hip arthroplasty: preliminary genetic investigation[J]. *J Arthroplasty*, 2009, 24(2):297-302.
- [27] Rego I, Fernández-Moreno M, Fernández-López C, et al. Role of European mitochondrial DNA haplogroups in the prevalence of hip osteoarthritis in Galicia, Northern Spain[J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(1):210-213.
- [28] Valdes AM, Spector TD. The clinical relevance of genetic susceptibility to osteoarthritis[J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2010, 24(1):3-14.
- [29] Blankenhorn EP, Butterfield R, Case LK, et al. Genetics of experimental allergic encephalomyelitis supports the role of T helper cells in multiple sclerosis pathogenesis[J]. *Ann Neurol*, 2011, 70(6):887-896.
- [30] 刘宏潇, 殷海波, 王海南, 等. 白介素-1 在骨关节炎发病机制中的研究进展[J]. *中国骨伤*, 2012, 25(2):175-178.
- Liu HX, Yin HB, Wang HN, et al. Research progression of interleukin-1 in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2012, 25(2):175-178. Chinese with abstract in english.
- [31] Schwarz EM, Lu AP, Goater JJ, et al. Tumor necrosis factor-alpha/nuclear transcription factor-kappaB signaling in periprosthetic osteolysis[J]. *J Orthop Res*, 2000, 18(3):472-480.
- [32] Childs LM, Goater JJ, O'Keefe RJ, et al. Effect of anti-tumor necrosis factor-alpha gene therapy on wear debris-induced osteolysis[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2001, 83(12):1789-1797.
- [33] Catelas I, Petit A, Zukor DJ, et al. TNF-alpha secretion and macrophage mortality induced by cobalt and chromium ions in vitro-qualitative analysis of apoptosis[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(3):383-391.
- [34] Petit A, Mwale F, Zukor DJ, et al. Effect of cobalt and chromium ions on bcl-2, bax, caspase-3, and caspase-8 expression in human U937 macrophages[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(11):2013-2018.
- [35] Sun SG, Ma BA, Zhou Y, et al. Effects of bone cement particles on the function of pseudocapsule-derived fibroblasts[J]. *Acta Orthop*, 2006, 77(2):320-328.
- [36] Kang JD, Figgie MP, Bohlman HH. Sagittal measurements of the cervical spine in subaxial fractures and dislocations. An analysis of two hundred and eighty-eight patients with and without neurological deficits[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1994, 76(11):1617-1628.
- [37] Olivier V, Duval JL, Hindié M, et al. Comparative particle-induced cytotoxicity toward macrophages and fibroblasts[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2003, 19(3):145-159.
- [38] Renò F, Sabbatini M, Massè A, et al. Fibroblast apoptosis and caspase-8 activation in aseptic loosening[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(22):3941-3946.
- [39] Fleury C, Petit A, Mwale F, et al. Effect of cobalt and chromium ions on human MG-63 osteoblasts in vitro: morphology, cytotoxicity, and oxidative stress[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(18):3351-3360.
- [40] Wu PT, Wang CJ, Yen CY, et al. Cementless large-head metal-on-metal total hip arthroplasty in patients younger than 60 years-a multicenter early result[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2012, 28(1):30-37.
- [41] Thammasitboon K, Goldring SR, Boch JA. Role of macrophages in LPS-induced osteoblast and PDL cell apoptosis[J]. *Bone*, 2006, 38(6):845-852.
- [42] Hock JM, Krishnan V, Onyia JE, et al. Osteoblast apoptosis and bone turnover[J]. *J Bone Miner Res*, 2001, 16(6):975-984.
- [43] Hallab NJ, Anderson S, Caicedo M, et al. Immune responses correlate with serum-metal in metal-on-metal hip arthroplasty[J]. *J Arthroplasty*, 2004, 19(8 Suppl 3):88-93.
- [44] Cunningham BW, Orbegoso CM, Dmitriev AE, et al. The effect of titanium particulate on development and maintenance of a posterolateral spinal arthrodesis: an in vivo rabbit model[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2002, 27(18):1971-1981.
- [45] Refai AK, Textor M, Brunette DM, et al. Effect of titanium surface topography on macrophage activation and secretion of proinflammatory cytokines and chemokines[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2004, 70(2):194-205.
- [46] MacQuarrie RA, Fang CY, Coles C, et al. Wear-particle-induced osteoclast osteolysis: the role of particulates and mechanical strain

[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2004, 69(1): 104-112.

[47] Nichols KG, Puleo DA. Effect of metal ions on the formation and function of osteoclastic cells in vitro[J]. J Biomed Mater Res, 1997, 35(2): 265-271.

[48] Rousselle AV, Heymann D, Demais V, et al. Influence of metal ion solutions on rabbit osteoclast activities in vitro[J]. Histol Histopathol, 2002, 17(4): 1025-1032.

[49] Billi F, Campbell P. Nanotoxicology of metal wear particles in total joint arthroplasty: a review of current concepts[J]. J Appl Biomater Biomech, 2010, 8(1): 1-6.

[50] Langton DJ, Jameson SS, Joyce TJ, et al. Early failure of metal-on-metal bearings in hip resurfacing and large-diameter total hip replacement: a consequence of excess wear[J]. J Bone Joint Surg Br, 2010, 92(1): 38-46.

[51] Zhang YF, Zheng YF, Qin L. A comprehensive biological evaluation of ceramic nanoparticles as wear debris[J]. Nanomedicine, 2011, 7(6): 975-982.

[52] Roualdes O, Duclos ME, Gutknecht D, et al. In vitro and in vivo evaluation of an alumina-zirconia composite for arthroplasty applications[J]. Biomaterials, 2010, 31(8): 2043-2054.

[53] Zhang YF, Zheng YF, Qin L. A comprehensive biological evaluation of ceramic nanoparticles as wear debris[J]. Nanomedicine, 2011, 7(6): 975-982.

[54] Fulin P, Pokorny D, Slouf M, et al. MORF method for assessment of the size and shape of UHMWPE wear microparticles and nanoparticles in periprosthetic tissues[J]. Acta Chir Orthop Traumatol Cech, 2011, 78(2): 131-137.

[55] Gallo J, Slouf M, Goodman SB. The relationship of polyethylene wear to particle size, distribution, and number: a possible factor explaining the risk of osteolysis after hip arthroplasty[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2010, 94(1): 171-177.

[56] Zhang R, Piao MJ, Kim KC, et al. Endoplasmic reticulum stress signaling is involved in silver nanoparticles-induced apoptosis[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44(1): 224-232.

[57] Zhao S, Shu F, Li Y, et al. Synthesis and luminescence properties of ZnO:Eu³⁺ nano crystalline via a facile solution method[J]. J Nanosci Nanotechnol, 2012, 12(3): 2607-2611.

[58] Frand AR, Cuzzo JW, Kaiser CA. Pathways for protein disulphide bond formation[J]. Trends Cell Biol, 2000, 10(5): 203-210.

[59] Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response[J]. Nature, 2008, 454(7203): 455-462.

[60] Szegezdi E, Logue SE, Gorman A M, et al. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis[J]. EMBO Rep, 2006, 7(9): 880-885.

[61] Kim I, Xu W, Reed JC. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities[J]. Nat Rev Drug Discov, 2008, 7(12): 1013-1030.

[62] Li G, Scull C, Ozcan L, et al. NADPH oxidase links endoplasmic reticulum stress, oxidative stress, and PKR activation to induce apoptosis[J]. J Cell Biol, 2010, 191(6): 1113-1125.

[63] Wang R, Wang Z, Ma Y, et al. Particle-induced osteolysis mediated by endoplasmic reticulum stress in prosthesis loosening [J]. Biomaterials, 2013, 34(11): 2611-2623.

[64] Tsai YY, Huang YH, Chao YL, et al. Identification of the nanogold particle-induced endoplasmic reticulum stress by omic techniques and systems biology analysis [J]. ACS Nano, 2011, 5(12): 9354-9369.

(收稿日期:2013-02-25 本文编辑:李宜)

·读者·作者·编者·

《中国骨伤》杂志正式启用稿件远程处理系统通知

《中国骨伤》杂志已于 2010 年 1 月正式启用稿件远程处理系统。通过网站 <http://www.zggszz.com> 可实现不限时在线投稿、审稿、编辑、退修、查询等工作。本刊将不再接受纸质版和电子信箱的投稿。

欢迎广大的作者、读者和编者登录本刊网站,进入稿件处理系统进行网上投稿、审稿和稿件查询等工作。咨询电话:010-84020925。

《中国骨伤》杂志社