

# 力学刺激对软骨细胞整合素亚单位的调控

朱鸿飞, 刘益杰, 褚立希, 冯伟  
(上海中医药大学康复医学院, 上海 201203)

**【摘要】** 骨关节炎(osteoarthritis, OA)是以关节软骨退变、关节缘骨质增生为主要改变的疾病。机械应力可以调节细胞的多种功能,而整合素作为细胞表面应力受体之一,主要介导细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)间的黏附,在传导力学信号从而调节细胞的生理功能方面起着重要作用。因此,在软骨病变早中期选择适当的良性刺激(如推拿手法)作用于软骨,调控整合素的表达影响软骨细胞的功能,修复损伤的软骨细胞,延缓关节软骨退变,这对于骨关节炎的治疗有重要意义。

**【关键词】** 骨关节炎; 软骨细胞; 力学; 整合素类; 综述文献

DOI:10.3969/j.issn.1003-0034.2011.03.027

**Effects of mechanical stimulation on expression of integrin subunits in chondrocyte** ZHU Hong-fei, LIU Yi-jie, CHU Li-xi, FENG Wei. *Acupuncture and Manipulation College Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai* 201203, China

**ABSTRACT** Osteoarthritis (OA) is a kind of degenerative disease characterized by hyperosteoecy at the joint margins and articular cartilage degeneration. Mechanical stress can regulate the multiple functions of cells. The integrin as one of the mechanoreceptors on the surface of cells, mainly mediated adhesion between cells and extracellular matrix, which plays an important role in the mechanical signal transmission to regulate the physiological functions of cell. Therefore, it is very important to select proper mechanical stimulation (such as naprapathy) in the early and middle stage of osteoarthritis, which regulate the expression of integrins to affect the function of chondrocytes, repair the damaged chondrocyte and delay the articular cartilage degeneration.

**KEYWORDS** Osteoarthritis; Chondrocytes; Mechanics; Integrins; Review literature

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2011, 24(3):266-268 www.zggszz.com

整合素作为细胞表面应力受体之一,通过 ECM-整合素-细胞骨架信号传导通路完成力的传导,在防止细胞凋亡、调节基因表达、肿瘤的侵袭和转移等生理和病理方面均起着重要的作用<sup>[1-2]</sup>。关节运动时软骨经历循环应力载荷而发生周期性变形和恢复,循环载荷是软骨细胞执行正常功能和维持胞外基质正常表型的基本因素<sup>[3]</sup>。软骨生物力学研究认为在骨性关节炎的预防和治疗中软骨及软骨细胞起关键作用<sup>[4]</sup>。力学刺激是软骨细胞的一个重要调节者,适当的力学刺激能促进软骨细胞外基质的代谢,有利于损伤软骨的修复。本文就力学刺激对整合素亚单位和 OA 的调控进展做一阐述。

## 1 整合素在软骨中的表达

软骨组织主要由软骨细胞和 ECM 及纤维组成,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。胶原是基质的主要结构大分子,胶原纤维形成密集的网络状结构,使关节软骨产生较强的张力及剪切力。软骨细胞位

于胶原纤维间隙,通过整合素与其相连。整合素是由异源二聚体组成的细胞膜黏附蛋白,由一个  $\alpha$  亚单位和一个  $\beta$  亚单位组成,两个亚基都含有一条较长的细胞外片断和跨膜片断,以及较短的胞内片段,在维持关节生理稳定中起重要作用,它与相应的细胞外基质胶原蛋白结合是软骨细胞力学信号转导的前提。整合素通过连接软骨细胞与 ECM 而调节它们之间的相互作用,从而影响软骨的分化、增殖、生长、凋亡以及 ECM 结构<sup>[5]</sup>。已知软骨细胞表达的整合素有:整合素  $\alpha 1\beta 1$ 、 $\alpha 2\beta 1$ 、 $\alpha 3\beta 1$ 、 $\alpha 5\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 1$ 、 $\alpha 10\beta 1$ 、 $\alpha V\beta 3$ 、 $\alpha V\beta 5$  等,其中以  $\alpha 1\beta 1$ 、 $\alpha 3\beta 1$ 、 $\alpha 5\beta 1$  在软骨细胞力学信号转导中的作用最为突出, $\alpha 10\beta 1$  则是稳定软骨细胞表型的最主要分子<sup>[6-7]</sup>。 $\beta 1$  整合素通过结合和装配重要的结构性细胞外基质蛋白如胶原,在软骨组织修复和重塑中起着关键性的作用。例如  $\alpha 1\beta 1$  和  $\alpha 2\beta 1$  能介导软骨细胞黏附到 II 型胶原和层粘连素;而  $\alpha 3\beta 1$  和  $\alpha 5\beta 1$  却能介导软骨细胞黏附到 II 型胶原和纤维结合素。Schagemann 等<sup>[8]</sup>则在组织工程化软骨的研究中发现生物材料能促进软骨细胞的 CD44 和整合素  $\beta 1$  表达,有利于软骨修复和重建。Camper 等<sup>[9]</sup>研究发现在小鼠软骨中各整合素的表达分布不同,其中在软骨发育中或成熟透明软骨中作为与胶原结合最主要的整合素  $\alpha 10\beta 1$  主要在干骺端和骺板表达,而  $\alpha 1\beta 1$  在关节软骨中表达水平较高,但  $\alpha 2\beta 1$  未表达。研究发现软骨的各个阶段其表型和整合素表达是有差异的,在软骨形成过程中,胶原由 I 型向 II 型(为软骨特异表型)转变伴随整合素

基金项目:1.上海市卫生局中医药科研基金(编号:2008L043A);2.上海高校创新团队(第二期)建设项目(沪教委科[2009]26号文件);3.上海市自然科学基金(编号:09ZR432000);4.上海市浦江人才计划(编号:109J1409300)

Fund program:Supported by Health Administration of Shanghai for the study on Traditional Chinese Medicine(No:2008L043A)

通讯作者:褚立希 冯伟 Tel:021-51323046 E-mail:chulixi2@126.com fengweifw@yahoo.com.cn

表达由  $\alpha 1$  向  $\alpha 3$  转变,相反,老龄关节软骨细胞去分化伴随 I 型胶原和整合素  $\alpha 1$  出现<sup>[10]</sup>。

## 2 力学刺激对软骨细胞及其整合素表达的影响

关节软骨在正常生理应力作用下,关节液与软骨基质内液相互交换使软骨细胞获取营养进而维持软骨的正常结构和功能。研究表明,机械应力是维持骨骼系统的最重要生理因素之一,可以被骨细胞或其他细胞感应,既可减少骨的形成又可增强骨的吸收,从而调节细胞的多种功能<sup>[11]</sup>。力学刺激信号可以通过力学刺激、细胞外基质和整合素来调控软骨细胞的增殖和分化功能,软骨基质受体作为一种应力感受器在软骨基质网络中通过力学刺激信号来调控软骨细胞。生理学负荷低强度、周期性、动态压力对于软骨细胞有一定的修复作用,而过度的负荷、静压力、持续压力则可能使软骨细胞产生一些病理改变。黄正等<sup>[12]</sup>在应力对体外软骨细胞表型影响的实验中发现,在循环静水压力刺激下,软骨细胞能上调 II 型胶原、蛋白多糖和糖氨聚糖等 mRNA 的表达,并且生理水平的循环静水压越高,软骨细胞表型越稳定。De Croos 等<sup>[13]</sup>研究了周期性压应力作用下软骨分解代谢的变化,发现 MMP3、MMP13 在力学作用 2 h 后相对于未受刺激细胞其表达水平明显增加,6 h 后回到初始水平,24 h 后水平降低,同时还发现在受刺激 12 h 后 II 型胶原和多聚蛋白聚糖的 mRNA 表达水平增加,这说明压应力可能改善软骨组织的形成。研究表明不同的压力刺激对于同一种整合素的表达具有的影响也是不一样的。马军利等<sup>[14]</sup>发现大小、时间适宜的静压力对整合素  $\alpha 2$  的表达有增强作用,长时间、较大的静压力则抑制软骨  $\alpha 2$  整合素的表达。Lucchinetti 等<sup>[3]</sup>对牛的关节软骨组织块分别施以连续 6 h 和 24 h 的周期应力,加压以后,用流式细胞仪对软骨细胞整合素亚单位  $\alpha 5$  和  $\beta 1$  表达进行测定,发现机械应力可导致整合素  $\alpha 5$  增加但  $\beta 1$  却未增加,并且加压 6 h 后软骨细胞内的整合素表达达到峰值,卸载压力 24 h 后整合素表达又恢复到施压前水平,说明软骨细胞通过整合素  $\alpha 5$  和  $\beta 1$  感应软骨细胞与 ECM 之间的机械应力环境的变化。Lahiji 等<sup>[15]</sup>对体外培养的软骨细胞施加 24 h 周期性的牵张力后发现 II 型胶原表达上调,并且作为其受体的  $\alpha 2$  和  $\alpha 5$  整合素与之同步上调,说明受体的表达与基质成分的变化具有一定的协同性,这些结果表明胞外基质通过调节整合素来应答力学刺激,整合素在传导机械力学信号方面起着非常重要的作用。

## 3 整合素与骨关节炎

生理条件下,软骨成分的降解与合成之间保持动态平衡,而当关节的负荷传导紊乱,超生理限度的异常应力作用软骨时,可使基质中胶原纤维断裂,进而导致软骨代谢的动态平衡被打破,从而诱发骨关节炎。刘文华等<sup>[16]</sup>对新西兰大白兔左后肢的髌股关节间进行固定造成持续及间歇的不同压应力模型,最后进行髌股关节间压应力测试并观察软骨细胞及关节软骨的组织学变化,发现关节间持续及间歇的较高压应力可以引起软骨细胞凋亡,并继而出现软骨退变。与正常的关节软骨细胞相比,OA 软骨内的整合素表达与之不同。Ostergaard 等<sup>[17]</sup>研究发现骨性关节炎部位的软骨细胞除了表达正常的整合素外,还表达整合素  $\alpha 2$ 、 $\alpha 4$  和  $\beta 2$ ,且相对于深层软骨,浅层表达更多的整合素  $\alpha V$ 。Zemmyo 等<sup>[18]</sup>发现整合素  $\alpha 1$  缺乏与早期软骨动态平衡的失调以及骨关节炎的加速发生有关,说明在 OA 早期整合素  $\alpha 1$  表达上调可能对软骨细胞的修复

至关重要。整合素尤其是整合素  $\beta 1$  在骨性关节炎的病理变化中起着重要作用。Millward-Sadler 等<sup>[19]</sup>发现,来源于骨性关节炎的软骨细胞通过  $\alpha 5\beta 1$  整合素途径传导机械应力刺激。Raducanu 等<sup>[20]</sup>人为地有条件地剔除老鼠的整合素  $\beta 1$  基因,通过一种调压装置来测定,发现剔除整合素  $\beta 1$  基因的老鼠关节软骨严重异常,但并没有加速关节软骨的破坏。Hollidge 等<sup>[21]</sup>发现来源于正常关节和骨性关节炎的软骨细胞途径  $\alpha V\beta 5$  整合素传导的力学刺激可诱导软骨细胞产生不同的基质产物,这些研究发现可能对认识力学刺激对软骨细胞基质代谢调节有重要的意义。Iannone 等<sup>[22]</sup>报道骨性关节炎时,整合素不正常的表达会影响软骨细胞与基质间的信号传导,促炎因子激活导致软骨代谢失衡,环氧化酶-2(COX-2)介导产生的前列腺素 E2(PGE2)参与关节软骨的破坏。Zaric 等<sup>[23]</sup>实验证实整合素  $\alpha V\beta 3$  和配体的结合通过多种信号途径促进 COX-2 的 mRNA 的合成。骨关节炎早期,给予适当的力学刺激能诱导细胞抗炎,对软骨有一定的修复作用。Chowdhury 等<sup>[24]</sup>报道压应力可以通过整合素  $\alpha 5\beta 1$  途径降低软骨细胞 i-NOS 和 COX-2 的基因表达来逆转由 IL-1 诱导的 NO 和 PGE2 释放。一些细胞因子,如 TGF- $\beta$ 、IGF、NO、IL 等受体可以调控软骨细胞整合素的表达并与整合素协调调控力学信号传导,将信号整合入细胞,调节细胞应答。Gouttenoire 等<sup>[25]</sup>通过实验对老鼠的软骨细胞观察发现 BMP-2 相较于 TGF 能更好地调控整合素  $\alpha 10$  的表达来刺激软骨细胞的修复与再生,这对于更深入地认识骨关节炎的治疗有着重要意义。

## 4 展望

适当的力学刺激对维持软骨细胞的表型和整合素的表达十分重要,老龄化和过度的力学刺激会造成关节软骨的损伤和退变,导致关节炎的发生<sup>[26]</sup>。但是,对于什么样的力(如强度、频率及作用时间)是适当的力学刺激,目前还缺乏深入的研究。推拿手法治疗骨关节炎是中医骨伤科的传统特色之一,在长期的临床实践中积累了大量的经验,能够明显缓解膝 OA 患者的症状,极大地改善关节的功能状况。实验研究表明,手法治疗可以增加软骨容积,修复软骨缺损,改善软骨功能,减轻关节炎症<sup>[27]</sup>。目前对于手法治疗的研究还不是很多,深入探讨推拿手法延缓和治疗关节软骨退变的理论依据,这对我们以后研究什么是适当的力学刺激以及如何通过调控整合素亚单位的表达来修复受损软骨细胞是一个很好的挑战。

## 参考文献

- [1] Shewchuk LJ, Bryan S, Ulanova M, et al. Integrin beta3 prevents apoptosis of HL-1 cardiomyocytes under conditions of oxidative stress[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2010, 88(3): 324-330.
- [2] Garmy-Susini B, Avraamides CJ, Schmid MC, et al. Integrin alpha4beta1 signaling is required for lymphangiogenesis and tumor metastasis[J]. Cancer Res, 2010, 70(8): 3042-3051.
- [3] Lucchinetti E, Bhargava MM, Torzilli PA. The effect of mechanical load on integrin subunits alpha5 and beta1 in chondrocytes from mature and immature cartilage explants [J]. Cell Tissue Res, 2004, 315(3): 385-391.
- [4] Buckwalter JA, Martin JA, Brown TD. Perspectives on chondrocyte mechanobiology and osteoarthritis[J]. Biorheology, 2006, 43(3-4): 603-609.
- [5] Brakebusch C, Bouvard D, Stanchi F, et al. Integrins in invasive growth[J]. J Clin Invest, 2002, 109(8): 999-1006.

- [6] Loeser RF, Sadiev S, Tan L, et al. Integrin expression by primary and immortalized human chondrocytes: evidence of a differential role for alpha1beta1 and alpha2beta1 integrins in mediating chondrocyte adhesion to types II and VI collagen[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2000, 8(2): 96-105.
- [7] Gigout A, Jolicœur M, Nelea M, et al. Chondrocyte aggregation in suspension culture is FFOGER-GPP-and beta1 integrin-dependent [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(46): 31522-31530.
- [8] Schagemann JC, Kurz H, Casper ME, et al. The effect of scaffold composition on the early structural characteristics of chondrocytes and expression of adhesion molecules[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(10): 2798-2805.
- [9] Camper L, Holmvall K, Wängnerud C, et al. Distribution of the collagen-binding integrin alpha10beta1 during mouse development[J]. *Cell Tissue Res*, 2001, 306(1): 107-116.
- [10] Shakibaei M, Zimmermann B, Merker HJ. Changes in integrin expression during chondrogenesis in vitro; an immunomorphological study[J]. *J Histochem Cytochem*, 1995, 43(10): 1061-1069.
- [11] Inoue D. Musculoskeletal rehabilitation and bone. Mechanical stress on the skeletal system[J]. *Clin Calcium*, 2010, 20(4): 503-511.
- [12] 黄正, 傅文彧, 冯伟, 等. 循环静水压力对维持兔软骨细胞表型的影响[J]. *中国骨伤*, 2007, 20(3): 180-183.  
Huang Z, Fu WY, Feng W, et al. Effect of cyclic hydrostatic pressure on the stability of chondrocyte phenotype in vitro [J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2007, 20(3): 180-183. Chinese with abstract in English.
- [13] De Croos JN, Dhaliwal SS, Grynblas MD, et al. Cyclic compressive mechanical stimulation induces sequential catabolic and anabolic gene changes in chondrocytes resulting in increased extracellular matrix accumulation[J]. *Matrix Biol*, 2006, 25(6): 323-331.
- [14] 马军利, 王美青, 张曼. 静压力对体外培养髌状突软骨  $\alpha 2$  整合素表达的影响[J]. *实用口腔医学杂志*, 2004, 20(3): 286-289.  
Ma JL, Wang MQ, Zhang M. Effect of static compressive stress on the expression of  $\alpha 2$  integrin condylar cartilage cultured in vitro [J]. *Shi Yong Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 2004, 20(3): 286-289. Chinese.
- [15] Lahiji K, Polotsky A, Hungerford DS, et al. Cyclic strain stimulates proliferative capacity, alpha2 and alpha5 integrin, gene marker expression by human articular chondrocytes propagated on flexible silicone membranes[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2004, 40(5-6): 138-142.
- [16] 刘文华, 刘亚, 王韶峰, 等. 压应力下兔软骨细胞凋亡的实验性研究[J]. *潍坊医学院学报*, 2007, 29(6): 443-446.  
Liu WH, Liu Y, Wang SF, et al. Chondrocyte apoptosis induced by compressive stress [J]. *Wei Fang Yi Xue Yuan Xue Bao*, 2007, 29(6): 443-446. Chinese.
- [17] Ostergaard K, Salter DM, Petersen J, et al. Expression of alpha and beta subunits of the integrin superfamily in articular cartilage from macroscopically normal and osteoarthritic human femoral heads [J]. *Ann Rheum Dis*, 1998, 57(5): 303-308.
- [18] Zemmy M, Meharra EJ, Kühn K, et al. Accelerated, aging-dependent development of osteoarthritis in alpha1 integrin-deficient mice [J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(10): 2873-2880.
- [19] Millward-Sadler SJ, Wright MO, Lee H, et al. Altered electrophysiological responses to mechanical stimulation and abnormal signalling through alpha5beta1 integrin in chondrocytes from osteoarthritic cartilage [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2000, 8(4): 272-278.
- [20] Raducanu A, Hunziker EB, Drosse I, et al. Beta1 integrin deficiency results in multiple abnormalities of the knee joint [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(35): 23780-23792.
- [21] Holledge MM, Millward-Sadler SJ, Nuki G, et al. Mechanical regulation of proteoglycan synthesis in normal and osteoarthritic human articular chondrocytes—roles for alpha5 and alphaVbeta5 integrins [J]. *Biorheology*, 2008, 45(3-4): 275-288.
- [22] Iannone F, Lapadula G. The pathophysiology of osteoarthritis [J]. *Aging Clin Exp Res*, 2003, 15(5): 364-372.
- [23] Zaric J, Rüegg C. Integrin-mediated adhesion and soluble ligand binding stabilize COX-2 protein levels in endothelial cells by inducing expression and preventing degradation [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(2): 1077-1085.
- [24] Chowdhury TT, Akanji OO, Salter DM, et al. Dynamic compression influences interleukin-1beta-induced nitric oxide and prostaglandin E2 release by articular chondrocytes via alterations in iNOS and COX-2 expression [J]. *Biorheology*, 2008, 45(3-4): 257-274.
- [25] Gouttenoire J, Bougault C, Aubert-Foucher E, et al. BMP-2 and TGF-beta1 differentially control expression of type II procollagen and alpha 10 and alpha 11 integrins in mouse chondrocytes [J]. *Eur J Cell Biol*, 2010, 89(4): 307-314.
- [26] Inoue D. Musculoskeletal rehabilitation and bone. Mechanical stress on the skeletal system [J]. *Clin Calcium*, 2010, 20(4): 503-511.
- [27] 杜宁, 陆勇, 顾翔, 等. 手法促进膝关节炎软骨修复的核磁共振病例对照研究 [J]. *中国骨伤*, 2008, 21(11): 824-827.  
Du N, Lu Y, Gu X, et al. Magnetic resonance assessment the effect of manipulation on knee cartilaginous recovery of osteoarthritis [J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2008, 21(11): 824-827. Chinese with abstract in English.

(收稿日期: 2010-06-18 本文编辑: 王玉蔓)