

## • 综述 •

## 软骨稳态与骨关节炎关系的研究进展

牛鲁豫<sup>1,2</sup>, 张涛<sup>1</sup>, 李嘉萌<sup>1,2</sup>, 潘思华<sup>1</sup>, 崔进<sup>1</sup>

**【摘要】**骨关节炎(OA)是一种以进行性软骨退行性变为特征的关节疾病。OA可由多种病因诱发,而关节软骨稳态破坏被认为是OA发生的关键驱动因素之一。了解软骨退行性变的分子水平变化对未来寻找OA新型治疗靶点具有重要的意义。本文从软骨退行性变的角度对OA的发病机制、相关的信号通路及分子,以及新型临床治疗研究进展进行综述,以期对OA的防治提供新思路。

**【关键词】**骨关节炎;关节软骨;软骨退行性变

**【中图分类号】** R684.3

**【文章编号】** 2095-9958(2024)04-0377-08

**【文献标志码】** A

DOI:10.3969/j.issn.2095-9958.2024.04.14

## Research progress on the relationship between cartilage homeostasis destruction and osteoarthritis

NIU Luyu<sup>1,2</sup>, ZHANG Tao<sup>1</sup>, LI Jiameng<sup>1,2</sup>, PAN Sihua<sup>1</sup>, CUI Jin<sup>1</sup>

1. Department of Traumatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. College of Basic Medical Sciences, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Corresponding Author: PAN Sihua, CUI Jin

**【Abstract】** Osteoarthritis (OA) is a joint disease characterized by progressive cartilage degeneration. OA can be induced by various causes, and the disruption of articular cartilage homeostasis is known to be one of the key drivers in the development of OA. A more comprehensive understanding of the molecular changes in cartilage degeneration may facilitate the development of effective therapeutic targets for OA. This article reviews the pathogenesis, related signaling pathways and molecules, and new clinical treatment attempts of OA from the perspective of cartilage degeneration, providing new ideas for the prevention and treatment of OA.

**【Key words】** Osteoarthritis; Articular Cartilage; Cartilage Degradation

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种常见的慢性关节病,表现为软骨损伤、软骨下骨侵蚀、骨赘生成和滑膜炎,常见症状有疼痛、肿胀、僵硬和活动受限。随着人均寿命的增长,我国中老年人群骨关节炎的患病率显著增高<sup>[1]</sup>。OA的发病机制尚不清楚,目前临床缺乏针对性的治疗药物,只能局限于非甾体抗炎药、镇痛药和糖皮质激素等,以缓解疼痛、炎症为主<sup>[2]</sup>。*Lancet*发布的临床指南提出,OA的发生是由于关节组织修复与破坏不平衡所导致的,而非退行性疾病<sup>[3]</sup>。这一观点为OA的研究提供了新的方向。本文对软骨稳态破坏对OA的影响及相关的分子机制,以及针对软骨稳态的OA治疗药物研究进展进行综述。

## 1 软骨在OA进程中的病理变化

软骨主要由软骨细胞和细胞外基质构成,细胞外基质的主要成分是Ⅱ型胶原蛋白、蛋白多糖,正常情况下软骨细胞源源不断地合成细胞外基质来维持软骨正常结构<sup>[4]</sup>。电子显微镜下显示,软骨可以分为4个类似拱廊的层次结构:①浅层,平行于表面的Ⅱ型、Ⅲ型和Ⅳ型胶原蛋白包围细长的软骨细胞;②中层,胶原纤维随机倾斜排列,圆形软骨细胞环绕其中;③深层,软骨细胞柱状排列,与胶原纤维平行,与关节线垂直;④钙化区,通过钙化线与其他层相隔,内含较少的肥厚软骨细胞<sup>[5]</sup>。

**【基金项目】** 海军军医大学“三航”人才培养计划(2023年度)

**【作者单位】** 1. 海军军医大学第一附属医院创伤骨科,上海 200433; 2. 海军军医大学基础医学院,上海 200433

**【通信作者】** 潘思华, E-mail: pansh1980@163.com; 崔进, E-mail: cuijin6163@163.com

**【引用格式】** 牛鲁豫, 张涛, 李嘉萌, 等. 软骨稳态与骨关节炎关系的研究进展[J]. 中华骨与关节外科杂志, 2024, 17(4): 377-384.

软骨退化性变是OA的特征性病理改变之一。由于软骨缺乏血管,其自身维持稳定的能力有限,因此软骨极易受损。目前认为OA的发生是关节组织修复与破坏之间不平衡所引起的一种主动变化,OA软骨细胞由于暴露于异常的生化 and 生物力学环境而被激活,导致转录和转录后事件,使细胞不断向肥大表型转变,异常激活基质降解酶,破坏了胞外基质的完整性,扰乱了组成成分,并进一步引发OA软骨细胞向肥大软骨细胞的异常分化和不可逆的软骨破坏<sup>[6-7]</sup>(图1)。

根据细胞分型,OA患者的软骨可以定义为增殖性软骨细胞、肥大软骨细胞、前肥大软骨细胞、纤维软骨细胞、效应软骨细胞、调节软骨细胞和稳态软骨细胞7个细胞簇<sup>[8]</sup>。在OA的不同时期,细胞群的分布也不同,早期主要是效应软骨细胞和调节软骨细胞,晚期则以前肥大软骨细胞、肥大软骨细胞和纤维软骨细胞为主<sup>[8]</sup>。肥大软骨细胞可以调节周围基质钙化,吸引血管与骨细胞侵袭软骨,造成细胞凋亡与钙沉积,导致OA。同时新发现的效应软骨细胞具有高代谢率,与多种能量代谢供应相关。调节软骨细胞参与多种OA相关调节因子的信号转导通路,扰乱正常的细胞外基质环境<sup>[9]</sup>。软骨作为关节的重要结构,常受到自身体重和运动的机械刺激,软骨细胞表面的机械敏感离子通道与细胞间生化信号存在联系,机械刺激通过离子通道诱导细胞动员阳离子,从而调节软骨细胞代谢来影响软骨稳态。而OA软骨细胞的电生理特性和基因表达与正常细胞存在差

异,其机械反应失调导致OA的进展<sup>[4,10]</sup>。这些改变影响软骨细胞表型代谢,进而影响细胞外基质成分和数量,引起胶原蛋白降解、蛋白多糖丢失、软骨寡聚基质蛋白和软骨中间层蛋白表达上调等,说明OA中的软骨细胞和细胞外基质状态异常,软骨稳态已被破坏。

## 2 软骨稳态破坏导致OA的发生

软骨稳态是指软骨细胞外基质成分合成与降解的平衡<sup>[11]</sup>。软骨细胞作为关节软骨中唯一的细胞,对软骨稳态具有重要的调节作用。正常情况下软骨处于低代谢状态,周围基质成分很少周转。促炎反应、机械过载、代谢变化及细胞衰老等均可以作为OA发生的危险因素,影响软骨细胞功能,引起软骨基质成分降解。当这种破坏超过软骨的修复能力时,软骨稳态被打破,细胞外基质成分、含量和黏弹性发生异常变化,软骨处于异常负荷环境。这种改变进一步导致细胞功能障碍和炎症的产生,并最终演变为OA。

### 2.1 软骨基质降解

基质金属蛋白酶13(matrix metalloproteinase-13, MMP-13)是参与细胞外基质降解的主要蛋白酶,在OA发病过程中发挥了重要作用。软骨细胞受到炎症介质刺激后产生MMP-13,降解细胞外基质中的胶原蛋白和蛋白聚糖。正常成人关节软骨内分泌的MMP-13会迅速被软骨细胞内吞降解,通过自噬避免软骨损伤。当软骨稳态被打破时,软骨中产生过量

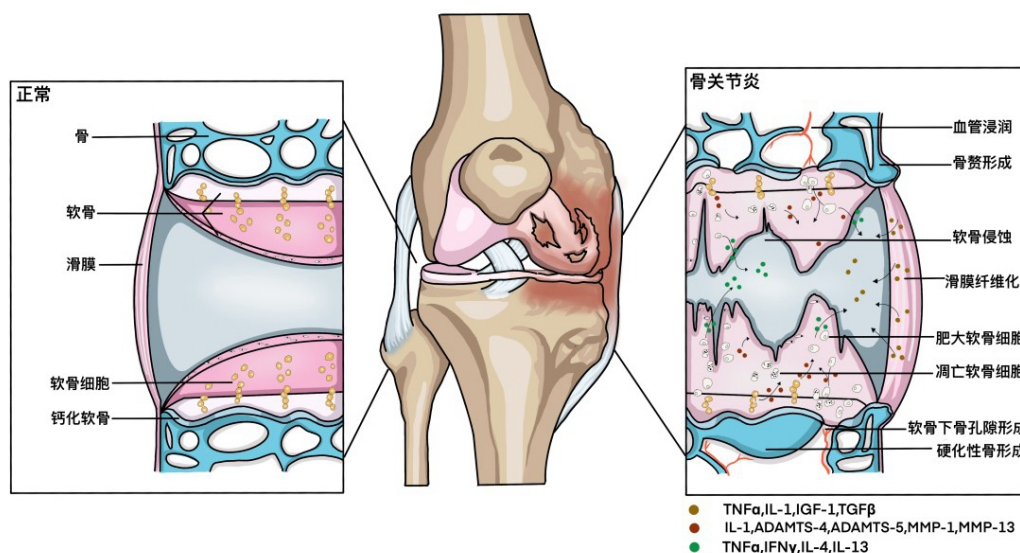


图1 软骨在OA进程中的病理变化

的MMP-13,不可逆地降解细胞外基质,导致软骨退行性变。半月板韧带损伤的小鼠会出现与人类OA相似的病理改变,而MMP-13敲除小鼠半月板韧带损伤后,其关节软骨的Ⅱ型胶原蛋白和聚糖表达上调,说明过度激活的MMP-13在OA发病机制中起重要作用<sup>[12]</sup>。当MMP-13水平升高超过一定范围就会出现软骨退行性变,组织金属蛋白酶抑制因子3(tissue inhibitors of metalloproteinase 3, TIMP3)双敲除小鼠关节的胶原蛋白降解随着年龄的增长而增加,出现类似OA的变化<sup>[12]</sup>。MMP-13过表达导致细胞外基质过度降解,造成软骨退行性变,逐步发展引起软骨糜烂、滑膜增生、滑膜炎伴弥漫性单核细胞浸润,机体出现OA的病理变化与临床症状<sup>[13]</sup>。具有血栓反应素基序的崩解蛋白、金属蛋白酶4(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-4, ADAMTS-4)和ADAMTS-5也在OA的发生中发挥重要的软骨基质降解作用。同时Runx2相关转录因子2(Runx2)可以调节体内MMP-13和ADAMTS-5的表达,这个过程受多个因子的调控,可能成为OA的潜在治疗靶点<sup>[12,14]</sup>。

## 2.2 软骨基质合成

性别决定区Y框蛋白9(SRY-box transcription factor 9, SOX9)是软骨合成的关键转录因子,是软骨发育与骨骼形成过程中必不可少的促进因子。染色质免疫沉淀测序与RNA测序结果显示,SOX9可以调节一组特定的软骨细胞外基质基因,SOX9蛋白中含有高迁移率组(high mobility group, HMG)结构域,可以有效地与DNA的HMG盒区内含子剪接位点结合,从而反式激活Ⅱ型胶原蛋白和聚集聚糖的表达<sup>[15]</sup>。SOX9表达下调与OA的发生有密切关系。SOX9与软骨合成密切相关,调节软骨生成的多个事件:保证生长板的存活增殖和软骨基因的高表达、抑制成骨细胞生成、促进软骨细胞外基质合成、增强间充质干细胞的软骨分化等<sup>[11,16]</sup>。SOX9正常表达可以有效保证软骨稳态的维持,但当平衡打破时,SOX9表达的异常下调使软骨调节细胞外基质合成的能力进一步减弱,软骨不能有效修复OA进程中的损伤,而这种损伤则会进一步导致OA进展。在OA进展过程中可以检测到SOX9持续低表达,研究发现4周龄的SOX9双敲除小鼠出现蛋白聚糖和肥大区的丢失,生长板加快闭合,同时根据国际骨关节炎研究协会六级量表对OA动物模型进行评分,SOX9突变小鼠

的评分高于对照小鼠<sup>[16]</sup>,说明SOX9的正常表达可以调控软骨合成,抑制OA的发生。但SOX9表达不足则不能满足软骨修复的需求,无法抵抗持续高表达的降解酶所导致的关节损伤效应,二者共同作用,打破软骨稳态,使软骨分解的效果大于软骨合成的效果,最终引起软骨退行性变,发生OA。

## 3 与软骨稳态相关的关键信号通路及分子

### 3.1 转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factors- $\beta$ , TGF- $\beta$ )通路

TGF- $\beta$ 通路对软骨稳态至关重要。TGF- $\beta$ 家族包括TGF- $\beta$ s、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、激活素和生长分化因子(growth differentiation factor, GDF)等30多种成员,这些因子与丝氨酸苏氨酸蛋白激酶受体结合形成复合物,激活受体调节的Smad细胞内通路,是TGF- $\beta$ 家族的主要信号通路。Smad作为细胞内介质,在受体介导的羧基末端磷酸化激活后可以迁移到细胞核,作为转录因子参与基因表达。除此以外,TGF- $\beta$ 可以激活磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)和细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)等来进一步完善生物学功能<sup>[17]</sup>。TGF- $\beta$ 作为调节细胞活动的关键因子,可以通过许多信号转导途径改变软骨细胞基因表达,影响增殖、识别、分化、形态发生等多种细胞活动,改变软骨细胞正常功能,从而破坏细胞外基质环境。

TGF- $\beta$ s通过p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogenactivated protein kinase)和Smad依赖性机制来调节软骨细胞内SOX9的磷酸化表达,用TGF- $\beta$ 1对ATDC5软骨细胞系进行处理,6h后可以观察到SOX9蛋白水平升高<sup>[18]</sup>。TGF- $\beta$ s通过激活素受体样激酶(activin receptor-like kinase, ALK)5和ALK1实现Smad2/3和Smad1/5/8依赖性信号转导,参与软骨细胞外基质的产生、抗炎、阻断软骨细胞肥大与终末分化。BMP也参与软骨发育,BMP的缺失常造成骨骼发育异常,严重者无法存活。BMP常与Smad1/5/8相偶联,维持SOX9表达,促进软骨细胞成熟、肥大和增殖,加快早期软骨形成<sup>[17]</sup>。TGF- $\beta$ 家族作为一种软骨的保护因子,在早期软骨发育和晚期软骨稳态的维持上发挥巨大作用,

在OA发生发展的过程中,TGF- $\beta$ 相关通路多表现出两面性。在OA的动物模型和人体标本中TGF- $\beta$

表达上调,高浓度的活性TGF- $\beta$ 1可以改变MMP-13在软骨中的含量和分布,引起骨赘形成和软骨降解<sup>[19]</sup>。通过药物或中和抗体抑制TGF- $\beta$ 信号可以减轻软骨下骨血管的过度生成与软骨退行性变,恢复偶联骨重塑,从而减缓OA进程<sup>[19]</sup>。另一方面,在实验性OA小鼠上发现miR-26b-5p在软骨中的含量显著降低,从而抑制软骨细胞的TGF- $\beta$ 1/Smad2途径而引起OA恶化<sup>[20]</sup>。TGF- $\beta$ 作为保护因子又可以诱导泛素E3连接酶组成部分之一*FBXO6*基因的转录,增强*FBXO6*对MMP-14的泛素化修饰,从而抑制MMP-13的活化,软骨细胞外基质降解减弱,OA损伤减轻,保护软骨<sup>[21]</sup>。综上,TGF- $\beta$ 或Smad2/3的缺乏与过度激活都会引起OA的发生,因此有观点认为TGF- $\beta$ 只在很小的浓度范围内才能保护软骨<sup>[21]</sup>,其中具体的原因并不清楚,但TGF- $\beta$ 已经成为治疗OA的目标靶点,并进入相关的临床试验。

### 3.2 Wnt通路

Wnt通路有多个分支,其中对 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)依赖性经典途径目前研究得比较透彻:在没有Wnt-Wnt受体相互作用的情况下, $\beta$ -catenin会被一种多蛋白破坏复合物捕获,磷酸化并靶向蛋白酶体降解。而Wnt与低密度脂蛋白受体相关蛋白5/6与卷曲蛋白(frizzled, FZD)受体形成的复合物结合后,可以保护 $\beta$ -catenin,并积聚转移至细胞核,与其他转录因子结合来调控细胞基因表达<sup>[22]</sup>。

人类遗传关联研究表明,Wnt/ $\beta$ -catenin信号可能在OA的发病机制中发挥重要作用,累积数据也证实Wnt/ $\beta$ -catenin信号的过度激活与OA的发生有关<sup>[23]</sup>。Wnt3a可以通过规范Wnt级联反应促进软骨细胞肥大分化, $\beta$ -catenin过度表达可以引起软骨细胞表型丢失,Wnt/ $\beta$ -catenin信号下调软骨细胞中SOX9和II型胶原蛋白的表达,上调分解代谢酶MMP-13等的表达,破坏软骨稳态,触发细胞反应,产生OA的病理表型<sup>[22]</sup>。因此Wnt通路可能成为治疗OA的新型靶点。研究发现,向OA小鼠模型的关节内注射Wnt/ $\beta$ -catenin信号的小分子抑制剂,可以改善滑膜炎和软骨退行性变,促进软骨细胞抗分解代谢作用和滑膜成纤维细胞抗纤维化作用<sup>[24]</sup>。但是软骨健康也需要一定量的Wnt信号转导,过低水平会导致软骨细胞功能减退与死亡,出现关节炎迹象。*Wnt16*缺乏的小鼠关节内润滑素含量降低,软骨细胞凋亡增加,甚至发展为更严重的OA<sup>[25]</sup>。因此中等Wnt活性对于软骨稳态的维

持至关重要。

Wnt通路还有一条分支称为非规范Wnt通路。Wnt配体与FZD受体和共受体酪氨酸激酶样孤儿受体2(receptor tyrosine kinase like orphan receptors 2, ROR2)结合,形成复合物,诱导细胞内钙释放,激活蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)和钙-钙调蛋白依赖性蛋白激酶II(calcium-calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II),或者直接激活应激激活蛋白激酶(stress-activated protein kinase, SAPK),这些物质最终作用于细胞核改变基因表达<sup>[22]</sup>。尽管此途径的研究与依赖性经典途径相比还不完善,但近些年也发现非规范Wnt通路可能影响OA的发生。非规范Wnt通路的典型蛋白Wnt5a与ROR2的含量在OA患者中上调,阻断这些物质可以改善软骨症状<sup>[26]</sup>。

### 3.3 核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)通路

NF- $\kappa$ B通路参与细胞炎症应答,在OA发生中发挥重要作用。该通路在OA中表达上调<sup>[6]</sup>。在关节软骨中,NF- $\kappa$ B通路被机械应力、分解代谢物、促炎因子如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )等危险因素激活,参与MMPs、许多炎症介质的合成释放及软骨细胞凋亡,同时NF- $\kappa$ B蛋白可以下调SOX9表达,引起软骨细胞炎症和细胞外基质降解,并以正反馈加强NF- $\kappa$ B的激活,进一步加快OA的进程<sup>[27]</sup>。NF- $\kappa$ B通路可以与氧化应激过程联合参与OA发生,NF- $\kappa$ B激活强烈依赖于体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的水平,ROS可以降解NF- $\kappa$ B抑制物NF- $\kappa$ B抑制蛋白(inhibitor of NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B),促进NF- $\kappa$ B活化,从而介导高级氧化蛋白产物引起的软骨细胞凋亡过程<sup>[28]</sup>。

调节NF- $\kappa$ B通路可以控制OA的进程。多种微小RNAs(microRNAs, miRNAs)可以通过不同的调节方式调控NF- $\kappa$ B通路来发挥作用,miR-99b-5p可以调控乳脂球-表皮生长因子8,进而抑制NF- $\kappa$ B通路,延缓软骨细胞衰老,增强M2巨噬细胞极化,恢复OA小鼠的软骨稳态<sup>[29]</sup>。骨髓间充质干细胞分泌的外泌体可将miR-326转运至软骨,通过靶向STAT1/NF- $\kappa$ B p65通路来抑制软骨细胞凋亡<sup>[30]</sup>。许多针对NF- $\kappa$ B通路的药物也可以发挥治疗OA的作用,莫诺昔可以抑制NF- $\kappa$ B信号通路来减少软骨基质降解和软骨细胞凋亡<sup>[31]</sup>,胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth

factor-1, IGF-1)通过抑制NF- $\kappa$ B以减少MMPs表达来阻止实验动物OA的发生<sup>[32]</sup>。NF- $\kappa$ B作为OA发生的关键通路,在其治疗与预防中充当桥梁来连接各个分子。

### 3.4 5'-磷酸腺苷依赖的蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)通路

AMPK是一种主能量传导器,与多种与衰老有关的疾病密切相关。AMPK通路调节软骨细胞衰老和代谢应激,进而影响软骨细胞正常功能,破坏软骨稳态的维持,促进OA的发展<sup>[33]</sup>。该通路为OA的干预治疗提供了新的研究方向。AMPK是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,它的活动变化主要与细胞能量代谢有关,受到细胞内ATP水平的影响,因此AMP与ATP比例升高可以激活AMPK。同时钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶2(calmodulin-dependent protein kinase  $\beta$ , CaMKK $\beta$ )、TGF- $\beta$ 激活激酶1和肝激酶B1等蛋白作为AMPK的上游分子同样可以触发AMPK活化域T172的磷酸化变构激活<sup>[33]</sup>。在OA软骨组织中发现软骨能量失衡,磷酸化AMPK表达降低,通过二甲双胍上调软骨组织中总AMPK和磷酸化AMPK的表达可以减少软骨降解,有效缓解OA模型的病程进展<sup>[34]</sup>。AMPK与其下游的乙酰化酶(sirtuin, SIRT)共同作用,发挥抑制炎症、减少氧化应激、抑制细胞凋亡、调控线粒体自噬的生理功能,当AMPK-SIRT通路异常时线粒体功能障碍,引起OA的发生<sup>[33]</sup>。槲皮素可以激活AMPK/SIRT1通路来减轻氧化应激和内质网应激,在接受槲皮素处理的OA小鼠软骨中发现软骨退行性变和软骨细胞凋亡均减轻<sup>[35]</sup>。AMPK/SIRT还可以直接调节细胞外基质的表达,维持软骨稳态。SIRT1的表达上调可以降低MMP-13的表达,从而抑制软骨细胞凋亡和细胞外基质降解。

### 3.5 缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)

由于关节软骨缺乏血管,因此软骨组织常暴露于低氧环境,HIF常作为一种介质来调控软骨稳态。OA的发生可以引起软骨下骨H型血管长入,改变软骨的氧分压环境<sup>[36]</sup>,HIF蛋白作为反映缺氧环境的介导物质,可以调控软骨细胞的基因表达,从而诱导OA的持续进展<sup>[25]</sup>。HIF蛋白家族是由HIF- $\alpha$ 和HIF- $\beta$ 亚基形成的二聚体,其中的HIF-1 $\alpha$ 和HIF-2 $\alpha$ 在软骨稳态维持和OA的发生中发挥重要作用。

HIF-1 $\alpha$ 作为一种转录因子,在常氧条件下会被

HIF脯氨酰羟化酶2(prolyl hydroxylase 2, PHD2)迅速降解。在缺氧条件下,降解酶活性降低,从而升高细胞内HIF-1 $\alpha$ 蛋白水平,并转移至细胞核,与HIF-1 $\beta$ 结合形成二聚体,通过缺氧反应元件参与相应基因的调节<sup>[37]</sup>。HIF-1 $\alpha$ 可以增强细胞外基质合成和抑制软骨细胞凋亡以维持软骨稳态。在人和小鼠OA软骨中可以检测到HIF-1 $\alpha$ 表达下调<sup>[36]</sup>。在PHD2-/-小鼠中,HIF-1 $\alpha$ 过度积累导致骨小梁基质内出现更多的II型胶原蛋白和蛋白多糖,并且胶原蛋白被HIF-1 $\alpha$ 过度修饰使之更能抵抗蛋白酶降解<sup>[38]</sup>。研究发现HIF-1 $\alpha$ 是介导软骨细胞线粒体自噬激活的必要条件,在缺氧软骨细胞中,HIF-1 $\alpha$ 的表达可以上调II型胶原蛋白,下调MMP-13,有利于软骨调节<sup>[39]</sup>。同时自噬过程通过消除去极化和受损线粒体来防止线粒体功能障碍,阻止ROS产生,提高了软骨细胞在病理环境下的生存率<sup>[40]</sup>。另一方面,HIF-1 $\alpha$ 可以调节软骨细胞糖酵解,并诱导血管内皮生长因子和促红细胞生成素的表达,增加氧气和营养输送,来补偿OA期间加速的能量消耗,从而防止软骨细胞凋亡<sup>[41]</sup>。

HIF-2 $\alpha$ 转录因子与缺氧响应元件特异性结合,与HIF-1 $\alpha$ 共同作用,调节缺氧环境下软骨基因的表达。HIF-2 $\alpha$ 是OA中重要的分解代谢转录因子。在人和动物OA软骨中HIF-2 $\alpha$ 均高表达,HIF-2 $\alpha$ 可以直接诱导软骨中分解代谢因子MMP-13等的表达,破坏软骨稳态<sup>[25]</sup>。米特拉霉素A可以抑制NF- $\kappa$ B/HIF-2 $\alpha$ 通路来抑制MMP-3、MMP-13的表达<sup>[42]</sup>。研究发现miR-455-5p和miR-3p可以直接靶向HIF-2 $\alpha$ ,抑制其表达,调节软骨稳态,从而保护OA模型小鼠的软骨<sup>[43]</sup>。HIF-2 $\alpha$ 是成熟软骨细胞自噬的有效调节因子,当抑制软骨中HIF-2 $\alpha$ 表达时,ROS含量上升,整个软骨自噬反应升高。同时甘露糖可以抑制HIF-2 $\alpha$ 表达来减弱软骨细胞对铁死亡的敏感性,从而缓解OA进程<sup>[44]</sup>。HIF-2可以作为HIF-1自噬功能的制动力。

## 4 靶向修复软骨稳态治疗OA

目前针对OA的治疗提出了抑制OA进展药物治疗方案,希望在缓解疼痛改善症状的同时能够进一步减缓OA的进展。目前很多用于调控OA靶点的药物已经进入临床试验阶段。针对软骨退行性变,靶向修复软骨稳态的药物分为促进合成和抑制降解2种类型。

#### 4.1 促进软骨再生

重组人成纤维细胞生长因子 Sprifermin 是靶向治疗 OA 的一种新型临床试验药物。在早期的动物实验研究中发现,向 OA 动物模型的关节内注射 Sprifermin 可以改善软骨修复的能力<sup>[45]</sup>。Sprifermin 与软骨细胞表面对应受体结合,刺激软骨细胞增殖和诱导细胞外基质成分表达,从而促进软骨愈合。在一项剂量递增的 I 期临床试验中发现,试验组与对照组紧急不良事件发生率差异无统计学意义,接受了全膝关节置换术的 OA 患者没有可测量的安全效应与安全问题<sup>[46]</sup>。在为期 5 年的 II 期 OA Sprifermin 重复给药随机试验研究中,与安慰剂组相比,给药组患者软骨变薄评分显著降低,接近于正常人,而软骨黏稠评分则显著升高,说明 Sprifermin 可以有效增加软骨厚度,减少软骨的损失<sup>[47]</sup>。从现有数据来看, Sprifermin 在安全性和软骨修复的有效性上存在积极作用,但在疼痛缓解上与安慰剂相比差异无统计学意义,需要更大规模及更长时间的临床 III 期试验来确定 Sprifermin 治疗 OA 的疗效<sup>[48]</sup>。除了 Sprifermin 以外, BMP-7、包含多种生长因子的富血小板血浆 (platelet-rich plasma, PRP) 都证明了其可以促进软骨再生、刺激软骨基质合成的修复功能,正作为可能治疗 OA 的新型靶点药物进行相应的临床试验<sup>[49]</sup>。

#### 4.2 抑制软骨分解

Orecivivint (SM04690) 是一种 Wnt 通路小分子抑制剂,一项为期 24 周的随机对照 I 期试验证实了其在 OA 治疗中的安全性、耐受性良好,在改善疼痛和功能方面也具有积极作用<sup>[50]</sup>。一项 II 期随机试验对受试者分别应用剂量为 0.03、0.07、0.23 mg 的 orecivivint 和安慰剂进行处理,根据 52 周的数据发现, orecivivint 在以单侧症状为主且无广泛疼痛的受试群体中应用效果更佳,疼痛、功能和内侧关节间隙均有所改善<sup>[51]</sup>。在接下来的 24 周 II b 期试验中进一步证明 orecivivint 对 OA 患者具有很好的疼痛缓解、功能改善作用,并确定 0.07 mg 是最低有效剂量<sup>[52]</sup>。但是根据目前的数据, orecivivint 在临床试验的效果并没有完全达到预期,仍存在很多的挑战。由于 Wnt 信号通路在癌症中具有复杂作用,其安全性需要进一步探究。同时如何阻断过量而非全部 Wnt 信号,以及如何改变 Wnt 信号下调引起的关节病变,还需要进

一步的研究。MMPs 抑制剂的相关药物在近年也取得了一定进展,但由于存在人体毒性,所以部分药物的临床研究终止,针对 MMP-13 这一靶点还需要进一步寻找新的抑制剂<sup>[49]</sup>。

### 5 小结与展望

OA 的发病机制仍不清楚,目前普遍认为疾病的始动部位是软骨下骨,并逐渐进展到整个关节。但软骨作为关节重要的组成部分,也是 OA 发生的一个重要领域,了解软骨稳态破坏对 OA 的影响对于理解疾病的发展具有重要作用。年龄、机械应力、炎症刺激这些高危因素打破了原本的软骨稳态,造成软骨细胞的能量紊乱、异常肥大,甚至凋亡,促使相关的降解酶高表达,分解胶原蛋白,同时抑制软骨细胞合成细胞外基质。这两种变化共同作用,造成软骨合成与降解的不均衡,最终导致 OA 软骨退行性变的发生。这个过程的分子机制十分复杂,多个信号通路参与其中,相互串联、互相协同,共同调节 OA 的发展,引起软骨退行性变。目前临床上缺乏可以有效阻止 OA 进程的治疗药物,发现针对 OA 的新型靶点并将其应用于临床是广大研究者们追求的目标。通过研究软骨稳态与软骨结构的关系,探索 OA 中软骨退行性变的机制,为 OA 的诊断提供了新的策略,为 OA 的靶向治疗提供了新的方向。

【利益冲突】所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] Sun X, Zhen X, Hu X, et al. Osteoarthritis in the middle-aged and elderly in China: prevalence and influencing factors[J]. Int J Environ Res Public Health, 2019, 16(23): 4701.
- [2] Cho Y, Jeong S, Kim H, et al. Disease-modifying therapeutic strategies in osteoarthritis: current status and future directions[J]. Exp Mol Med, 2021, 53(11): 1689-1696.
- [3] Hunter DJ, Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis[J]. Lancet, 2019, 393(10182): 1745-1759.
- [4] Hodgkinson T, Kelly DC, Curtin CM, et al. Mechanosignaling in cartilage: an emerging target for the treatment of osteoarthritis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2022, 18(2): 67-84.
- [5] Charlier E, Deroyer C, Ciregia F, et al. Chondrocyte dedifferentiation and osteoarthritis (OA) [J]. Biochem Pharmacol, 2019, 165: 49-65.

- [6] Choi MC, Jo J, Park J, et al. NF- $\kappa$ B signaling pathways in osteoarthritic cartilage destruction[J]. *Cells*, 2019, 8(7): 734.
- [7] Singh P, Marcu KB, Goldring MB, et al. Phenotypic instability of chondrocytes in osteoarthritis: on a path to hypertrophy[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2019, 1442(1): 17-34.
- [8] Ji Q, Zheng Y, Zhang G, et al. Single-cell RNA-seq analysis reveals the progression of human osteoarthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78(1): 100-110.
- [9] Lv Z, Han J, Li J, et al. Single cell RNA-seq analysis identifies ferroptotic chondrocyte cluster and reveals TRPV1 as an anti-ferroptotic target in osteoarthritis[J]. *EBioMedicine*, 2022, 84: 104258.
- [10] Zhang K, Wang L, Liu Z, et al. Mechanosensory and mechanotransductive processes mediated by ion channels in articular chondrocytes: potential therapeutic targets for osteoarthritis[J]. *Channels (Austin)*, 2021, 15(1): 339-359.
- [11] Fujii Y, Liu L, Yagasaki L, et al. Cartilage homeostasis and osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 6316.
- [12] Hu Q, Ecker M. Overview of MMP-13 as a promising target for the treatment of osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1742.
- [13] Mehana EE, Khafaga AF, El-Blehi SS. The role of matrix metalloproteinases in osteoarthritis pathogenesis: an updated review[J]. *Life Sci*, 2019, 234: 116786.
- [14] Nagata K, Hojo H, Chang SH, et al. Runx2 and Runx3 differentially regulate articular chondrocytes during surgically induced osteoarthritis development[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 6187.
- [15] Song H, Park KH. Regulation and function of SOX9 during cartilage development and regeneration[J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 67(Pt 1): 12-23.
- [16] Haseeb A, Kc R, Angelozzi M, et al. SOX9 keeps growth plates and articular cartilage healthy by inhibiting chondrocyte dedifferentiation/osteoblastic redifferentiation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(8): e2019152118.
- [17] Wu M, Wu S, Chen W, et al. The roles and regulatory mechanisms of TGF- $\beta$  and BMP signaling in bone and cartilage development, homeostasis and disease[J]. *Cell Res*, 2024, 34(2): 101-123.
- [18] Coricor G, Serra R. TGF- $\beta$  regulates phosphorylation and stabilization of Sox9 protein in chondrocytes through p38 and Smad dependent mechanisms[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38616.
- [19] Zheng L, Pi C, Zhang J, et al. Aberrant activation of latent transforming growth factor- $\beta$  initiates the onset of temporomandibular joint osteoarthritis[J]. *Bone Res*, 2018, 6: 26.
- [20] Liu L, Zhao C, Zhang H, et al. Asporin regulated by miR-26b-5p mediates chondrocyte senescence and exacerbates osteoarthritis progression via TGF- $\beta$ 1/Smad2 pathway[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2022, 61(6): 2631-2643.
- [21] Wang G, Chen S, Xie Z, et al. TGF $\beta$  attenuates cartilage extracellular matrix degradation via enhancing FBXO6-mediated MMP14 ubiquitination[J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(8): 1111-1120.
- [22] Cheng J, Li M, Bai R. The Wnt signaling cascade in the pathogenesis of osteoarthritis and related promising treatment strategies[J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 954454.
- [23] De Palma A, Nalesso G. WNT signalling in osteoarthritis and its pharmacological targeting[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2021, 269: 337-356.
- [24] Lietman C, Wu B, Lechner S, et al. Inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling ameliorates osteoarthritis in a murine model of experimental osteoarthritis[J]. *JCI Insight*, 2018, 3(3): e96308.
- [25] Yao Q, Wu X, Tao C, et al. Osteoarthritis: pathogenic signaling pathways and therapeutic targets[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 56.
- [26] Cherifi C, Monteagudo S, Lories RJ. Promising targets for therapy of osteoarthritis: a review on the Wnt and TGF- $\beta$  signalling pathways[J]. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2021, 13: 1759720X211006959X.
- [27] Buhrmann C, Brockmueller A, Mueller AL, et al. Curcumin attenuates environment-derived osteoarthritis by Sox9/NF- $\kappa$ B signaling axis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7645.
- [28] Chen H, Tu M, Liu S, et al. Dendrobine alleviates cellular senescence and osteoarthritis via the ROS/NF- $\kappa$ B Axis[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2365.
- [29] Lu Y, Liu L, Pan J, et al. MFG-E8 regulated by miR-99b-5p protects against osteoarthritis by targeting chondrocyte senescence and macrophage reprogramming via the NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(6): 533.
- [30] Xu H, Xu B. BMSC-derived exosomes ameliorate osteoarthritis by inhibiting pyroptosis of cartilage via delivering miR-326 targeting HDAC3 and STAT1/NF- $\kappa$ B p65 to chondrocytes[J]. *Mediators Inflamm*, 2021: 9972805.
- [31] Yu H, Yao S, Zhou C, et al. Morroniside attenuates apoptosis and pyroptosis of chondrocytes and ameliorates osteoarthritic development by inhibiting NF- $\kappa$ B signaling[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266: 113447.
- [32] Hossain MA, Adithan A, Alam MJ, et al. IGF-1 facilitates cartilage reconstruction by regulating PI3K/AKT, MAPK,

- and NF- $\kappa$ B signaling in rabbit osteoarthritis[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 3555-3568.
- [33] Liu HY, Chang CF, Lu CC, et al. The role of mitochondrial metabolism, AMPK-SIRT mediated pathway, lncRNA and microRNA in osteoarthritis[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(7): 1477.
- [34] Wang J, Li J, Song D, et al. AMPK: implications in osteoarthritis and therapeutic targets[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(12): 7670-7681.
- [35] Feng K, Chen Z, Pengcheng L, et al. Quercetin attenuates oxidative stress-induced apoptosis via SIRT1/AMPK-mediated inhibition of ER stress in rat chondrocytes and prevents the progression of osteoarthritis in a rat model[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 18192-18205.
- [36] Zhang H, Wang L, Cui J, et al. Maintaining hypoxia environment of subchondral bone alleviates osteoarthritis progression[J]. *Sci Adv*, 2023, 9(14): eabo7868.
- [37] Zeng CY, Wang XF, Hua FZ. HIF-1 $\alpha$  in osteoarthritis: from pathogenesis to therapeutic implications[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 927126.
- [38] Stegen S, Laperre K, Eelen G, et al. HIF-1 $\alpha$  metabolically controls collagen synthesis and modification in chondrocytes[J]. *Nature*, 2019, 565(7740): 511-515.
- [39] Lu J, Peng Y, Zou J, et al. Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  is a regulator of autophagy in osteoarthritic chondrocytes[J]. *Cartilage*, 2021, 13(2\_suppl): 1030S-1040S.
- [40] Fernández-Moreno M, Rego-Pérez I, Blanco FJ. Is osteoarthritis a mitochondrial disease? What is the evidence[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2022, 34(1): 46-53.
- [41] Stegen S, Carmeliet G. Hypoxia, hypoxia-inducible transcription factors and oxygen-sensing prolyl hydroxylases in bone development and homeostasis[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2019, 28(4): 328-335.
- [42] Choi MC, Choi WH. Mithramycin a alleviates osteoarthritic cartilage destruction by inhibiting HIF-2 $\alpha$  expression [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5): 1411.
- [43] Ito Y, Matsuzaki T, Ayabe F, et al. Both microRNA-455-5p and -3p repress hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  expression and coordinately regulate cartilage homeostasis[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4148.
- [44] Zhou X, Zheng Y, Sun W, et al. D-mannose alleviates osteoarthritis progression by inhibiting chondrocyte ferroptosis in a HIF-2 $\alpha$ -dependent manner[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(11): e13134.
- [45] Song Z, Li Y, Shang C, et al. Sprifermin: effects on cartilage homeostasis and therapeutic prospects in cartilage-related diseases[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 786546.
- [46] Dahlberg LE, Aydemir A, Muurahainen N, et al. A first-in-human, double-blind, randomised, placebo-controlled, dose ascending study of intra-articular rhFGF18 (sprifermin) in patients with advanced knee osteoarthritis[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2016, 34(3): 445-450.
- [47] Eckstein F, Kraines JL, Aydemir A, et al. Intra-articular sprifermin reduces cartilage loss in addition to increasing cartilage gain independent of location in the femorotibial joint: post-hoc analysis of a randomised, placebo-controlled phase II clinical trial[J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(4): 525-528.
- [48] Li J, Wang X, Ruan G, et al. Sprifermin: a recombinant human fibroblast growth factor 18 for the treatment of knee osteoarthritis[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2021, 30(9): 923-930.
- [49] 苏博雅, 许元生, 王华, 等. 骨关节炎疾病改善型药物研究进展[J]. *中国药科大学学报*, 2021, 52(2): 253-260.
- [50] Yazici Y, Mcalindon TE, Fleischmann R, et al. A novel Wnt pathway inhibitor, SM04690, for the treatment of moderate to severe osteoarthritis of the knee: results of a 24-week, randomized, controlled, phase 1 study[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017, 25(10): 1598-1606.
- [51] Yazici Y, Mcalindon TE, Gibofsky A, et al. Lorecivint, a novel intraarticular CDC-like kinase 2 and dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A inhibitor and Wnt pathway modulator for the treatment of knee osteoarthritis: a phase II randomized trial[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2020, 72(10): 1694-1706.
- [52] Yazici Y, Mcalindon TE, Gibofsky A, et al. A phase 2b randomized trial of lorecivint, a novel intra-articular CLK2/DYRK1A inhibitor and Wnt pathway modulator for knee osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, 29(5): 654-666.

【收稿日期:2023-7-8】

【本文编辑:曹静】