

• 论 著 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.02.001

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210118.1451.054.html>(2021-01-18)

骨内压干预对 DH 豚鼠退变胫股关节软骨保护作用及软骨内 2 型胶原与 MMP13 表达的影响^{*}

王 硕^{1,2}, 马剑雄², 杜育任², 黄洪超², 焦尚起¹, 史建国¹, 马信龙^{2△}

(1. 中国人民解放军天津康复疗养中心/原解放军 464 医院骨科, 天津 300381;

2. 天津医院骨科研究所 300050)

[摘要] **目的** 探讨骨内压干预对 DH 豚鼠退变胫股关节软骨的保护作用及对软骨内 2 型胶原、基质金属蛋白酶 13(MMP13)表达的影响。**方法** 雄性 DH 豚鼠 6、9、12、18 月龄各 10 只分成非减压组(每月龄各 5 只)及减压组(每月龄各 5 只);非减压组适应性饲养结束后,测定胫股关节骨内压;减压组行减压术后测定骨内压。实验结束后,实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)及免疫组织化学法测定胫股关节软骨 2 型胶原、MMP13 mRNA 和蛋白表达水平。**结果** 减压组 6、9、12、18 月龄豚鼠胫股关节骨内压、MMP13 mRNA 和蛋白表达水平均明显低于非减压组($P<0.05$);随月龄增长,非减压组、减压组胫股关节骨内压先升后降,在 12 月龄时达到峰值($P<0.05$),MMP13 mRNA 和蛋白表达水平逐渐升高,至 18 月龄时达到峰值($P<0.05$)。减压组胫股关节 2 型胶原 mRNA 和蛋白表达水平均明显高于非减压组($P<0.05$);随月龄增长,非减压组、减压组胫股关节 2 型胶原 mRNA 和蛋白表达水平逐渐降低,至 18 月龄时达到最低值($P<0.05$)。**结论** 骨内减压能明显降低 DH 豚鼠退变胫股关节骨内压,对胫股关节软骨具有保护作用,其机制可能与其促进退变胫股关节 2 型胶原 mRNA 和蛋白表达,抑制 MMP13 mRNA 和蛋白表达相关。

[关键词] 骨关节炎;膝;软骨退变;骨内压;软骨内 2 型胶原;基质金属蛋白酶 13;豚鼠

[中图分类号] R684.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2021)02-0181-07

The effect of intraosseous pressure intervention on protection of degeneration tibiofemoral joint cartilage of DH guinea pig and the expressions of type 2 collagen and MMP13 in cartilage^{*}

WANG Shuo^{1,2}, MA Jianxiong², DU Yuren², HUANG Hongchao²,

JIAO Shangqi¹, SHI Jianguo¹, MA Xinlong^{2△}

(1. Department of Orthopaedics, Tianjin Rehabilitation and Sanatorium Center of People's Liberation Army/the original PLA NO. 464 Hospital, Tianjin 300381, China;

2. Institute of Orthopaedics, Tianjin Hospital, Tianjin 300050, China)

[Abstract] **Objective** To explore the protective effect of intraosseous pressure intervention on the degeneration of tibiofemoral articular cartilage in DH guinea pigs and the effect on the expressions of type 2 collagen and matrix metalloproteinase 13 (MMP13) in the cartilage. **Methods** Forty male DH guinea pigs aged 6, 9, 12, and 18 months old (10 per each month age) were randomly divided into the non-decompression group (5 per each month age) and the decompression group (5 per each month age). Intraosseous pressure of tibiofemoral joint was measured after adaptive feeding in the non-decompression group, intraosseous pressure was measured after decompression surgery in the decompression group. After the experiment, real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR) and immunohistochemistry were used to determine the levels of type 2 collagen, MMP13 mRNA and protein of tibiofemoral articular cartilage. **Results** The intraosseous pressure, MMP13 mRNA and protein expression levels of tibiofemoral joint of each month-old guinea pig in the decompression

^{*} 基金项目:科技部国家重点研发计划(2016YFC0105805);国家自然科学基金项目(11772226, 81572154)。 作者简介:王硕(1980—),博士,主要从事创伤与关节研究。 △ 通信作者, E-mail: mjsx969@163.com。

group were significantly lower than those in the non-decompression group ($P < 0.05$). With the increase of months, the intraosseous pressure of the tibiofemoral joint in both non-decompression group and decompression group firstly increased and then declined, reaching its peak at 12 months of age ($P < 0.05$), and the expression levels of MMP13 mRNA and protein gradually increased, reaching the peak at 18 months of age ($P < 0.05$). The expression levels of type 2 collagen mRNA and protein of tibiofemoral joint in the decompression group were significantly higher than those in the non-decompression group ($P < 0.05$). With the increase of months, the expression levels of type 2 collagen of tibiofemoral joint in both non-decompression group and decompression group gradually decreased, reaching the lowest value at 18 months of age ($P < 0.05$). **Conclusion** Intraosseous decompression surgery can significantly reduce the intraosseous pressure of degenerative tibiofemoral joint in DH guinea pigs, and has a protective effect on tibiofemoral articular cartilage. The mechanism may be related to promoting the expression of type 2 collagen mRNA and protein and inhibiting expressions of MMP13 mRNA and protein in the degeneration tibiofemoral articular cartilage.

[Key words] osteoarthritis; knee; cartilage degeneration; intraosseous pressure; cartilage type 2 collagen; matrix metalloproteinase 13; guinea pigs

退行性膝骨关节炎是常见关节退变性疾病,约 80% 的 65 岁以上人群患有退行性膝骨关节炎,因关节软骨退变,最终可导致关节功能丧失^[1-2]。退行性膝骨关节炎的主要危险因素是年龄,随着人口的老齡化,其发病率迅速升高,带来严重的社会经济问题。生理情况下,软骨细胞及软骨基质维持着关节软骨的稳态;在退行性膝骨关节炎中,关节软骨中的蛋白聚糖被切割,2 型胶原也被降解^[3-4]。胶原蛋白是一种三螺旋蛋白,对大多数蛋白酶具有抗性,但可被基质金属蛋白酶 13(MMP13)有效识别和降解。MMP13 在一个独特的位点催化 2 型胶原的水解,从而产生 3/4 和 1/4 长度的多肽产物^[5-6]。MMP13 属于基质金属蛋白酶(MMPs)家族,是参与细胞外基质(ECM)重塑的锌依赖性内肽酶。骨内高压被认为与退行性膝骨关节炎疼痛相关,主要指骨内血流动力学异常^[7]。研究发现,髌骨软骨软化存在膝前痛的患者,其髌骨内压升高。通过穿刺减压或截骨可迅速降低骨内压,缓解疼痛^[8]。本研究拟探讨骨内压干预对 Dunkin Hartley(DH)豚鼠退变胫股关节软骨的保护作用,以及对关节软骨内 2 型胶原、MMP13 表达的影响,为退变性关节炎的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物喂养及分组

雄性 DH 豚鼠 6、9、12、18 月龄各 10 只($n=40$),由重庆医科大学动物实验中心提供,动物合格证号:SYXK(渝)2019-0011,豚鼠生产许可证号:SYXK(渝)2016-0018。其中,非减压组各月龄 5 只,减压组各月龄 5 只。动物饲养环境:温度(22 ± 2)℃,湿度(55 ± 3)%,12 h 光照-黑暗循环(光照时间 6:00—18:00)。

1.1.2 实验仪器与试剂

PT-30 陶瓷厚膜压力传感器(美国 DJ 公司),TR-Izol[®] 试剂(美国 ThermoFisher Scientific 公司),mi Script II RT 试剂盒(德国 Qiagen GmbH 公司),SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒(美国 Clontech Laboratories 公司),ABI 7500 型 RT-qPCR 仪(美国 ThermoFisher Scientific 公司),2 型胶原、MMP13 兔多克隆一抗(美国 Sigma 公司),MaxVision TM HRP-聚合物抗鼠/兔 IHC 试剂盒(美国 MaxVision 公司),3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐(DAB,上海碧云天生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 各组 DH 豚鼠膝关节骨内压测定

非减压组适应性饲养结束后测定骨内压,减压组减压术后测定骨内压。操作方法:膝关节内侧纵形切口,近端起自股骨内髁,远端至胫骨内髁,逐层切开皮肤、皮下组织,保护膝内侧血管及神经,显露膝内侧副韧带,选择膝关节内侧副韧带股骨远端、胫骨近端附着点为测压穿刺点,逐级穿刺针由内侧向外侧穿刺至抵住对侧骨皮质,测压孔直径为 $\varnothing 0.7 \text{ mm}$ ^[9],连接 PT-30 陶瓷厚膜压力传感器,股骨远端、胫骨近端测压完毕后,拔除穿刺针,逐层严密缝合伤口。

1.2.2 减压术实施

选择膝关节内侧副韧带股骨远端、胫骨近端附着点为穿刺减压点,使用直径 $\varnothing 1.5 \text{ mm}$ 、 $\varnothing 2.0 \text{ mm}$ 麻花钻头,由内侧向外侧穿刺扩孔减压,至抵住对侧骨皮质,减压孔直径为 $\varnothing 2.0 \text{ mm}$,减压后分别于术后 4 周测压。

1.2.3 胫股关节软骨 2 型胶原、MMP13 mRNA 表达的测定

实验期间无 DH 豚鼠死亡,实验结束后(实验周

期为 4 周),立刻处死 DH 豚鼠,获取胫股关节软骨;应用 TRIzol®分离总 RNA,mi Script II RT 试剂盒逆转录为 cDNA,应用 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒检测 mRNA 表达水平。反应系统以 20 μ L 的体积进行,热循环条件如下:95 $^{\circ}$ C 持续 10 min,然后 40 个循环(95 $^{\circ}$ C 持续 10 s,60 $^{\circ}$ C 持续 2 min,72 $^{\circ}$ C 持续 2 min,在 72 $^{\circ}$ C 下延长 10 min)。通过实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)分析目标基因和对照。2 型胶原引物正向:5'-ATG ACA GCG GCA CCT ACC T-3',反向:5'-CCT ATT GTC CCT CGT GCG-3';MMP13 引物正向:5'-ACA CTC CAG CTG GGA TAT AAT ACA ACC TGC TA-3',反向:5'-CTC AAC TGG TGT CGT GGA GTC GGC AAT TCA GTT GAG CAC TTA GC-3';GAPDH 引物正向:5'-TGT TCG TCA TGG GTG TGA GA-3',反向:5'-ATG GCA TGG ACT GTG GTC AT-3';U6 引物正向:5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3',反向:5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'。使用 Livak 法分析数据,将目的 mRNA 表达水平相对于 GAPDH/U6 标准化。所有数据表示为 3 个独立实验的均值。

1.2.4 胫股关节软骨 2 型胶原、MMP13 表达的测定

将脱钙后石蜡包埋的 5 μ m 胫股关节组织切片置于 75 $^{\circ}$ C 烤箱中 6 h,逐级脱蜡至水,3%过氧化氢(H_2O_2)去离子水室温孵育 10 min 以灭活内源性过氧化物酶活性,之后于 0.01 mol/L 柠檬酸盐缓冲液(pH=6.0)行抗原热修复。将组织切片分别与抗 2 型胶原、MMP13 的一抗以 1:400 的稀释度孵育过夜,之后用 MaxVision TM HRP-聚合物抗鼠/兔 IHC 试剂盒和 DAB 处理,用 0.5%苏木素行轻度核复染。

1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件对数据进行录入及统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内不同月龄比较采用方差分析,组间比较采用 t 检验;检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 减压与非减压组 DH 豚鼠胫股关节骨内压比较

6、9、12、18 月龄减压组 DH 豚鼠胫股关节骨内压均明显低于非减压组($P<0.05$);且随月龄增长,两组骨内压均先增加后降低,至 12 月龄时骨内压达到峰值,两组组内不同月龄组胫股关节骨内压存在明显差异(股骨侧: $F=12.548、9.875,P<0.001$;胫骨侧: $F=11.687、9.667,P<0.001$),见表 1。

表 1 两组 DH 豚鼠胫股关节骨内压比较($\bar{x} \pm s$,mm Hg)

组别	股骨侧				胫骨侧			
	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄
非减压组	8.74 $\pm$ 2.45	8.75 $\pm$ 3.19	11.56 $\pm$ 2.57	5.89 $\pm$ 1.70	7.24 $\pm$ 1.76	7.29 $\pm$ 2.34	9.81 $\pm$ 3.99	4.60 $\pm$ 1.77
减压组	3.30 $\pm$ 1.02	3.30 $\pm$ 1.43	4.46 $\pm$ 2.07	2.72 $\pm$ 1.99	4.20 $\pm$ 0.77	4.43 $\pm$ 1.19	5.50 $\pm$ 1.10	3.66 $\pm$ 1.36
t	8.654	8.548	12.654	9.547	12.548	9.419	8.149	12.537
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 减压与非减压组 DH 豚鼠胫股关节形态学改变

随时间推移,6、9、12、18 月龄豚鼠胫股关节均表现出软骨退变(胫骨近端内外侧缘可见明显流水样软骨样或骨样增生、明显软骨缺损等),但与非减压组相比,减压组退变程度更轻。骨内减压对于退变程度不同的关节软骨均展现了明显的保护作用,见图 1。

2.3 减压与非减压组 DH 豚鼠胫股关节 2 型胶原 mRNA 水平比较

减压组 6、9、12、18 月龄 DH 豚鼠胫股关节 2 型胶原 mRNA 水平均明显高于非减压组($P<0.05$);随月龄增长,两组 2 型胶原 mRNA 水平逐渐降低,至 18 月龄时,2 型胶原 mRNA 水平达到最低值,两组组内不同月龄 DH 豚鼠 2 型胶原 mRNA 水平存在明显差异(股骨侧: $F=10.657、8.997,P<0.001$;胫骨侧: $F=8.635、6.694,P<0.001$),见表 2。

2.4 减压与非减压组 DH 豚鼠胫股关节 MMP13

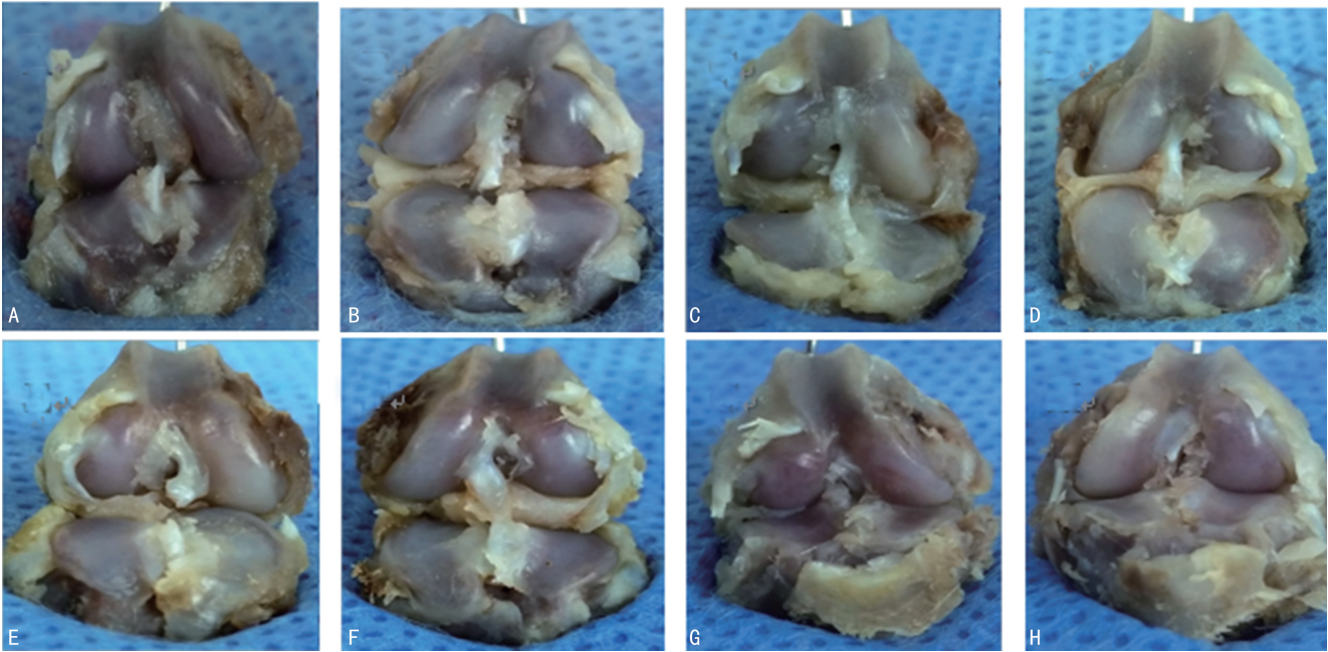
mRNA 水平比较

减压组 6、9、12、18 月龄 DH 豚鼠胫股关节 MMP13 mRNA 水平均明显低于非减压组($P<0.05$);随月龄增长,两组 MMP13 mRNA 水平逐渐升高,至 18 月龄时 MMP13 mRNA 水平达到峰值,两组组内不同月龄 DH 豚鼠 MMP13 mRNA 水平存在明显差异(股骨侧: $F=9.658、12.698,P<0.001$;胫骨侧: $F=13.547、10.258,P<0.001$),见表 3。

2.5 减压与非减压组 DH 豚鼠胫股关节 2 型胶原表达水平比较

减压组 6、9、12、18 月龄 DH 豚鼠胫股关节 2 型胶原表达水平均明显高于非减压组($P<0.05$);随月龄增长,两组 2 型胶原表达水平逐渐降低,至 18 月龄时,2 型胶原表达水平达到最低值,两组组内不同月龄 DH 豚鼠 2 型胶原表达水平存在明显差异(股骨侧: $F=6.998、12.547,P<0.001$;胫骨侧: $F=8.992、$

10.548, $P<0.001$), 见表 4、图 2~3。



A、C、E、G:6、9、12、18 月龄非减压组 DH 豚鼠膝关节;B、D、F、H:6、9、12、18 月龄减压组 DH 豚鼠膝关节。

图 1 两组不同月龄 DH 豚鼠膝关节形态学改变

表 2 两组 DH 豚鼠膝关节 2 型胶原 mRNA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	股骨侧				胫骨侧			
	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄
非减压组	2.98±0.23	2.54±0.21	2.03±0.24	1.86±0.26	2.85±0.21	2.55±0.26	2.15±0.27	1.75±0.28
减压组	5.63±0.24	5.24±0.29	5.07±0.24	4.78±0.28	6.41±0.32	6.13±0.29	5.79±0.26	5.45±0.28
<i>t</i>	9.549	8.529	11.259	8.559	11.201	8.475	9.542	10.294
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 两组 DH 豚鼠膝关节 MMP13 mRNA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	股骨侧				胫骨侧			
	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄
非减压组	6.41±0.29	6.69±0.27	7.28±0.32	7.56±0.27	5.98±0.26	6.32±0.24	6.87±0.21	6.95±0.19
减压组	3.24±0.28	3.64±0.25	4.06±0.24	4.36±0.24	2.95±0.23	3.35±0.25	3.97±0.24	4.43±0.25
<i>t</i>	10.547	13.587	9.998	11.698	12.698	13.547	10.598	14.658
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 两组 DH 豚鼠膝关节 2 型胶原表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

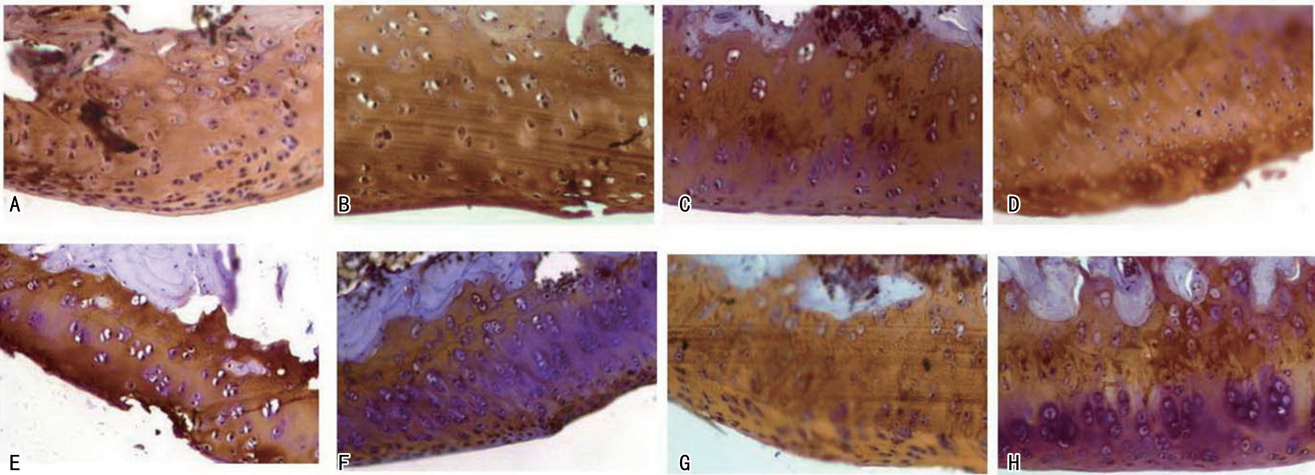
组别	股骨侧				胫骨侧			
	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄
非减压组	2.36±0.23	2.21±0.21	2.20±0.24	2.03±0.26	2.85±0.21	2.75±0.26	2.65±0.27	2.38±0.28
减压组	5.63±0.24	5.54±0.29	5.47±0.24	5.26±0.28	6.41±0.32	6.23±0.29	5.89±0.26	5.63±0.28
<i>t</i>	10.998	12.654	10.864	10.254	6.989	7.549	7.549	8.365
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.6 减压与非减压组 DH 豚鼠膝关节 MMP13 表达水平比较

减压组 6、9、12、18 月龄 DH 豚鼠膝关节 MMP13 表达水平均明显低于非减压组 ($P<0.05$);

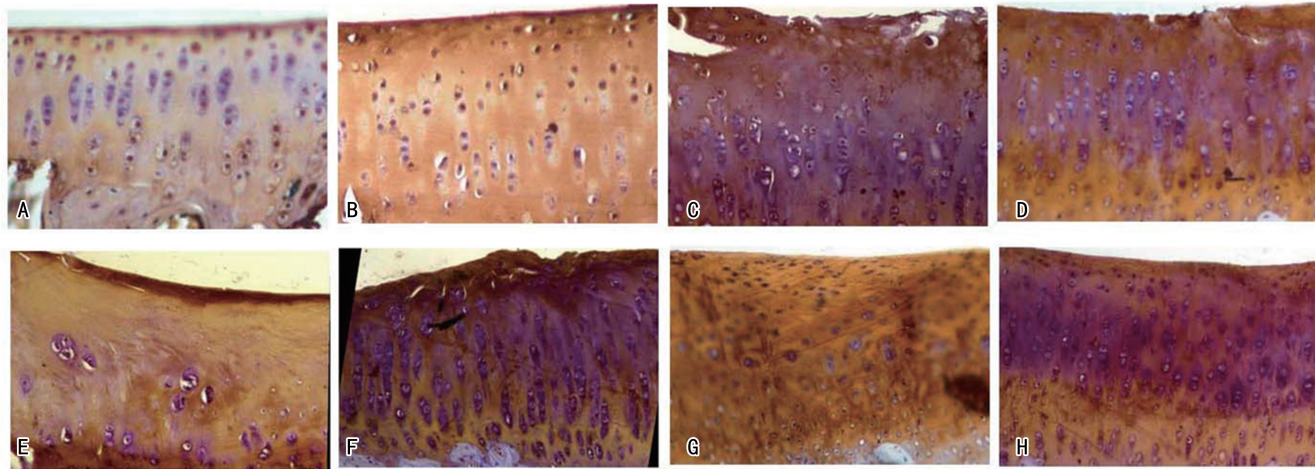
随月龄增长,两组 MMP13 表达水平逐渐升高,至 18 月龄时,MMP13 表达水平达到峰值,两组组内不同月龄 DH 豚鼠 MMP13 表达水平存在明显差异(股骨

侧: $F = 6.878、10.369, P < 0.001$;胫骨侧: $F = 10.636、9.635, P < 0.001$),见表 5、图 4~5。



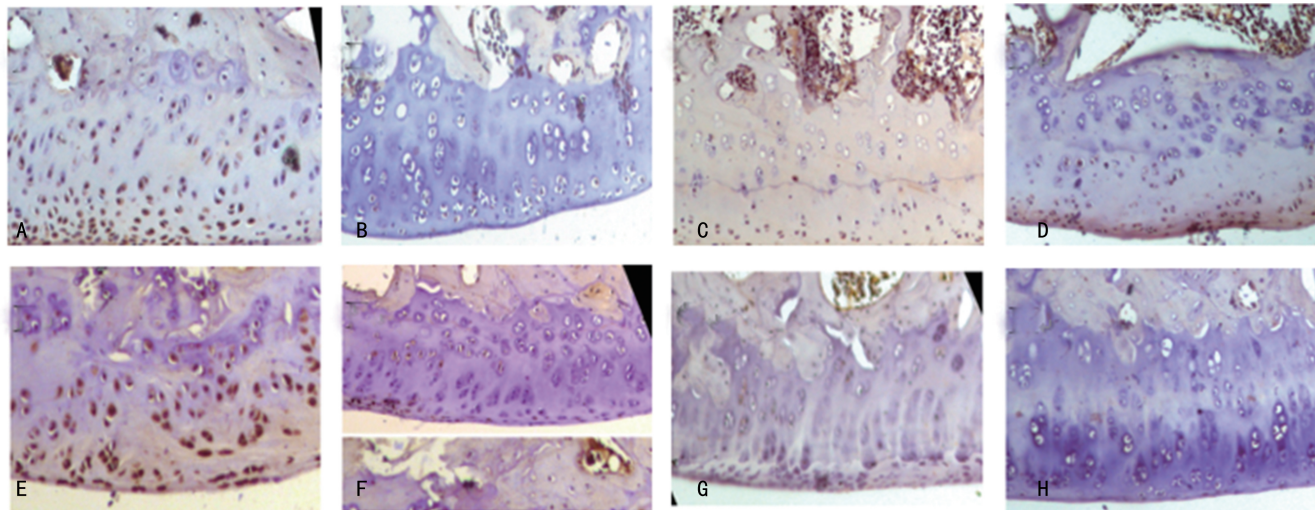
A、C、E、G:6、9、12、18 月龄非减压组 DH 豚鼠膝关节股骨侧;B、D、F、H:6、9、12、18 月龄减压组 DH 豚鼠膝关节股骨侧。

图 2 两组 DH 豚鼠膝关节股骨侧 2 型胶原表达水平(免疫组织化学染色,×200)



A、C、E、G:6、9、12、18 月龄非减压组 DH 豚鼠膝关节胫骨侧;B、D、F、H:6、9、12、18 月龄减压组 DH 豚鼠膝关节胫骨侧。

图 3 两组 DH 豚鼠膝关节胫骨侧 2 型胶原表达水平(免疫组织化学染色,×200)

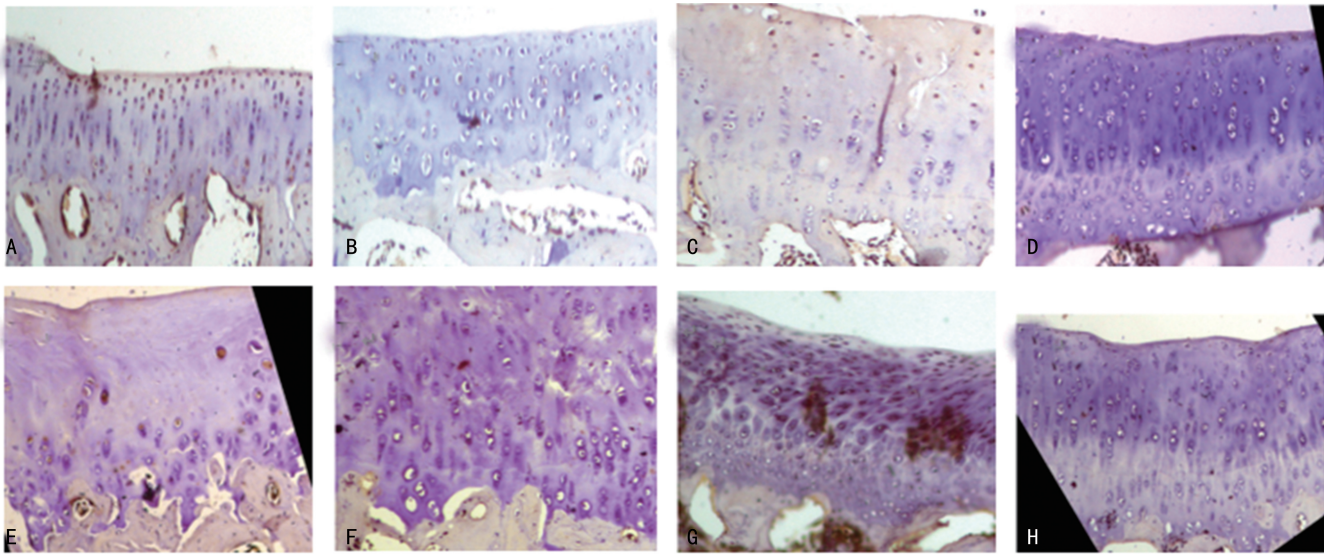


A、C、E、G:6、9、12、18 月龄非减压组 DH 豚鼠膝关节股骨侧;B、D、F、H:6、9、12、18 月龄减压组 DH 豚鼠膝关节股骨侧。

图 4 两组 DH 豚鼠膝关节股骨侧 MMP13 表达水平(免疫组织化学染色,×200)

表 5 两组 DH 豚鼠膝关节 MMP13 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	股骨侧				胫骨侧			
	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄	6 月龄	9 月龄	12 月龄	18 月龄
非减压组	6.41±0.29	6.49±0.27	6.54±0.32	6.59±0.27	5.98±0.16	6.22±0.19	6.87±0.21	7.12±0.18
减压组	3.24±0.28	3.34±0.25	3.41±0.24	3.56±0.24	2.95±0.26	3.24±0.32	3.84±0.29	4.03±0.24
<i>t</i>	12.694	11.542	13.658	12.698	13.665	12.548	13.669	12.746
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001



A、C、E、G:6、9、12、18 月龄非减压组 DH 豚鼠膝关节胫骨侧;B、D、F、H:6、9、12、18 月龄减压组 DH 豚鼠膝关节胫骨侧。

图 5 两组 DH 豚鼠膝关节胫骨侧 MMP13 表达水平(免疫组织化学染色,×200)

3 讨 论

退行性膝骨关节炎的主要特征是软骨损伤、软骨下骨重塑、关节间隙变窄、滑膜炎及关节边缘骨赘形成。无论最初的触发因素如何,关节软骨损伤都是退行性膝骨关节炎的主要病理改变。目前的临床治疗主要包括非甾体类抗炎药(NSAIDs)、关节内注射透明质酸结合物,以及最终的关节置换术等。关节软骨营养补充剂如葡萄糖胺和硫酸软骨素的功效尚存争议,且目前尚无可延迟或逆转与疾病相关的软骨逐渐破坏的治疗方法。由于这些方法不能保护关节软骨或延缓疾病的发展,从而使该病发展为不可逆的 ECM 丧失和慢性残疾,因此,开发新型治疗手段对保护退行性膝骨关节炎中的关节软骨具有重要意义^[10]。

骨内减压的理论基础为病变局部的骨内压增高及血液循环瘀滞,因其可有效缓解退行性膝骨关节炎的静息痛,临床上已应用于股骨头坏死、顽固性跟痛症、冻结肩等疾病的除痛治疗^[11]。DH 豚鼠膝关节软骨病变最早可见于 3 月龄,表现为内侧胫骨平台软骨细胞局灶性死亡;6 月龄表现为中层甚至深层软骨细胞出现克隆性增殖;9 月龄表现为胫骨骨赘、软骨下骨硬化;12 月龄表现为整个内侧间室软骨退变。随月龄增长,软骨下骨板及松质骨小梁的厚度及密度逐渐增

加,弹性逐渐降低,其髓内空间存在逐渐降低的趋势。在灌注量和流出量不变的情况下,骨内压会逐渐升高,当空间减小超过其对灌注量的缓冲范围时,升高的幅度会显著增加;若软骨下骨增生或塌陷,使髓腔容积进一步减少到某一程度时,骨内血流灌注亦可发生障碍,致使骨内压降低。本研究结果显示,减压组 6、9、12、18 月龄 DH 豚鼠膝关节骨内压均明显低于非减压组;随月龄增长,非减压组、减压组均呈现出先增加后降低的趋势,在 12 月龄时,骨内压达到峰值。结合 DH 豚鼠膝关节形态学改变的大体结果,6、9、12、18 月龄 DH 豚鼠膝关节均表现了软骨退变,如胫骨近端内外侧边缘可见明显流水样软骨样或骨样增生、明显软骨缺损等,但与非减压组相比,减压组退变程度更轻。骨内减压对于退变程度不同的胫股关节软骨均展现了明显的保护作用。这与上述讨论一致,同时说明,骨内减压能够通过明显降低 DH 豚鼠胫股关节骨内压,发挥对 DH 豚鼠退变胫股关节软骨的保护作用。

MMPs 是生长发育、伤口愈合和疾病病理生理过程中参与 ECM 重塑的酶。MMP13 在生理 pH 值环境下调节原纤维胶原蛋白(I、II 和 III 型)和聚集蛋白聚糖 7 水平。MMP13 对胶原蛋白的切割发生在内部

螺旋位点,产生 1/4 和 3/4 片段,并且在氨基端肽位点发生原纤维解聚^[12]。MMP13 未在健康成人组织中发现,但在骨关节炎患者的关节液及关节软骨中显著表达。此外,有研究表明,优先抑制 MMP13 的 MMPs 抑制剂可阻止骨关节炎中软骨的降解^[13]。人类膝退变关节软骨细胞结合 MMP13 的能力增加,因此其损伤程度增加。膝退变关节软骨中的软骨细胞过表达 MMP13,2 型胶原是其底物^[14]。基于这些发现,MMP13 可能是治疗退行性膝骨关节炎的靶点^[15-17]。本次研究结果显示,减压组 6、9、12、18 月龄 DH 豚鼠胫股关节 2 型胶原 mRNA 和蛋白表达水平均明显高于非减压组;随月龄增长,非减压组、减压组呈现出降低趋势,至 18 月龄时,2 型胶原 mRNA 和蛋白表达水平达到最低值。减压组 6、9、12、18 月龄 DH 豚鼠胫股关节 MMP13 mRNA 和蛋白表达水平均明显低于非减压组;随月龄增长,非减压组、减压组呈现出上升趋势,至 18 月龄时,MMP13 mRNA 和蛋白表达水平达到峰值。以上说明,骨内减压能促进 DH 豚鼠退变胫股关节软骨 2 型胶原 mRNA 和蛋白表达,抑制 MMP13 mRNA 和蛋白表达。

综上所述,骨内压干预能够明显降低 DH 豚鼠退行性胫股关节骨内压,对退变关节软骨具有明显的保护作用;其机制与骨内减压后在促进 DH 豚鼠退变胫股关节软骨 2 型胶原 mRNA 和蛋白表达的同时,抑制 MMP13 mRNA 和蛋白表达相关。

参考文献

- [1] AL-AFIFY A S A, EL-AKABAWY G, EL-SHERIF N M, et al. Avocado soybean unsaponifiables ameliorates cartilage and subchondral bone degeneration in mono-iodoacetate-induced knee osteoarthritis in rats [J]. *Tissue Cell*, 2018, 52: 108-115.
- [2] SIEMIENIUK R A C, HARRIS I A, AGORITAS T, et al. Arthroscopic surgery for degenerative knee arthritis and meniscal tears: a clinical practice guideline [J]. *Br J Sports Med*, 2018, 52 (5): 313.
- [3] BRIGNARDELLO-PETERSEN R, GUYATT G H, BUCHBINDER R, et al. Knee arthroscopy versus conservative management in patients with degenerative knee disease: a systematic review [J]. *BMJ Open*, 2017, 7(5): e016114.
- [4] BARBOZA E, HUDSON J, CHANG W P, et al. Profibrotic infrapatellar fat pad remodeling without M1 macrophage polarization precedes knee osteoarthritis in mice with diet-induced obesity [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69 (6): 1221-1232.
- [5] 彭锦辉, 陆骅, 钱齐荣, 等. 胶原蛋白海绵控制髌关节置换术后出血的应用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2017, 25(5): 395-398.
- [6] WANG G, BU X, ZHANG Y, et al. LncRNA-UCA1 enhances MMP-13 expression by inhibiting miR-204-5p in human chondrocytes [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(53): 91281-91290.
- [7] 李宏宇, 安洪, 金先跃, 等. 骨水泥阻塞髓腔后钻孔减压对远侧骨干骨内压的影响 [J]. *中国组织工程研究*, 2008, 12(39): 7669-7672.
- [8] 唐毓金, 陆敏安, 潘生才. 钻孔减压术后骨内高压兔骨内压和骨髓血液流变学变化 (英文) [J]. *中国组织工程研究*, 2006, 10(36): 188-190.
- [9] 马信龙, 马剑雄, 徐卫国, 等. 骨科生物力学研究的测量方法学专家共识 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(9): 1039-1054.
- [10] 刘俊才, 陈友霞, 李忠, 等. 整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 在膝骨关节炎不同退变程度关节软骨中的差异性表达 [J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21 (8): 1155-1160.
- [11] 侯洪涛, 陈柯, 刘又文, 等. 经颈囊内减压空心钉内固定治疗低龄老年股骨颈 Garden III 型骨折 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2017, 25(6): 492-497.
- [12] YUAN Y, TAN H, DAI P. Krüppel-like factor 2 regulates degradation of type II collagen by suppressing the expression of matrix metalloproteinase (MMP)-13 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(6): 2159-2168.
- [13] BO W, ZHOU J, WANG K. Sodium butyrate abolishes the degradation of type II collagen in human chondrocytes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 102: 1099-1104.
- [14] SATO K, MERA H, WAKITANI S, et al. Effect of epigallocatechin-3-gallate on the increase in type II collagen accumulation in cartilage-like MSC sheets [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2017, 81(6): 1241-1245. (下转第 192 页)

- 对慢性宫颈炎伴高危型人乳头瘤病毒感染患者的疗效分析[J]. 药物评价研究, 2017, 40(2): 225-228.
- [4] 郑欣雨, 苏芮, 刘月, 等. 血小板在系统性硬化病中自身免疫作用的研究进展[J]. 中华风湿病学杂志, 2019, 23(7): 492-496.
- [5] 侯晓媛, 鲁严. 富血小板血浆在皮肤科中的应用进展[J]. 中华皮肤科杂志, 2019, 67(4): 279-282.
- [6] SHARMA V K, BHARI N, PATRA S, et al. Platelet-rich plasma therapy for androgenetic alopecia[J]. Indian J Dermatol, 2019, 64(5): 417-419.
- [7] 张烨, 李绮玲, 韩霞. 白及胶对宫颈糜烂大鼠免疫功能的影响[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(2): 338-340.
- [8] CHAI J, GE J, ZOU J. Effect of Autologous platelet-rich plasma gel on skin flap survival [J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 1611-1620.
- [9] MARTÍNEZ-GIRÓN R, MARTÍNEZ-TORRE S, MARTÍNEZ-TON RRE C. Tuberculous cervicitis; a brief report with cytohistological correlation and differential diagnosis [J]. Diagn Cytopathol, 2017, 45(12): 1153-1155.
- [10] PARIDA S, MANDAL M. Inflammation induced by human papillomavirus in cervical cancer and its implication in prevention[J]. Eur J Cancer Prev, 2014, 23(5): 432-448.
- [11] WANG Y, ZHANG Y, ZHANG Q, et al. Characterization of pelvic and cervical microbiotas from patients with pelvic inflammatory disease [J]. J Med Microbiol, 2018, 67(10): 1519-1526.
- [12] 王英, 朱峰, 王家美, 等. 保妇康对宫颈糜烂患者 ICMI-1 及炎性细胞因子表达的影响[J]. 河北医药, 2016, 38(11): 1621-1624.
- [13] 黄益于, 郭芙蓉. 宫颈炎症患者阴道局部免疫状态与疾病发生的相关性[J]. 中国医药科学, 2015, 5(16): 82-84, 115.
- [14] BABAEI V, AFRADI H, GOHARDANI H Z, et al. Management of chronic diabetic foot ulcers using platelet-rich plasma [J]. J Wound Care, 2017, 26(12): 784-787.
- [15] DA SILVA F A, RODRIGUES B L, HUBER S C, et al. The use of platelet rich plasma in the treatment of refractory Crohn's disease[J]. Int J Clin Exp Med, 2017, 10(5): 7533-7542.
- [16] MAO G, ZHANG G, FAN W. Platelet-rich plasma for treating androgenic alopecia: a systematic review[J]. Aesthetic Plast Surg, 2019, 43(5): 1326-1336.
- (收稿日期: 2020-05-13 修回日期: 2020-10-03)
- (上接第 187 页)
- [15] YANG Q, DING W, CAO Y, et al. Interferon-regulatory factor-8 (IRF-8) regulates the expression of matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) in chondrocytes [J]. Cell Stress Chaperones, 2018, 23(3): 393-398.
- [16] 薛太阳, 曾娟, 刘士嘉. 抑制 Notch 信号通路减少大鼠膝骨关节炎关节软骨内 MMP-13 的上调和 Col II 的降低[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2018, 27(3): 214-220.
- [17] LIANG H, RUSSELL S J, WOOD D J, et al. A hydroxamic acid-methacrylated collagen conjugate for the modulation of inflammation-related MMP upregulation[J]. J Mater Chem B, 2018, 6(22): 3703-3715.
- (收稿日期: 2020-06-02 修回日期: 2020-10-03)