

骨关节炎中软骨细胞自噬的作用及其靶向治疗

<https://doi.org/10.12307/2021.301>孙明帅¹, 范重山¹, 李凯杰¹, 高瑞永¹, 王煜东¹, 申瑞雪¹, 汪利合²

投稿日期: 2020-11-07

送审日期: 2020-11-11

采用日期: 2020-12-14

在线日期: 2021-05-06

中图分类号:

R459.9; R318; R684.3

文章编号:

2095-4344(2021)35-05688-06

文献标识码: A

文章快速阅读:

文章特点—

△软骨细胞自噬在骨关节炎的发生及发展中具有重要作用, 基于软骨细胞自噬的治疗方法可能有助于改善骨关节炎的发展。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白激酶、核因子κB、p53、3-甲基腺嘌呤、胰岛素

软骨细胞自噬

治疗
改善

骨关节炎

羟基酪醇、Torin 1、二氮嗪、白藜芦醇、miRNA-335-5p、姜黄素、富血小板血浆、臭氧

文题释义:

细胞自噬: 自噬能清除细胞内老化、受损的生物大分子和细胞器, 以维持正常的细胞生物学功能。在饥饿、能量缺乏等代谢应激状态下, 细胞还通过自噬降解老化、受损的生物大分子和细胞器, 获得能量和重建物质, 以维持细胞的基本生命活动。

骨关节炎的治疗目的和总体治疗原则: 骨关节炎的治疗目的是缓解疼痛, 延缓疾病进展, 矫正畸形, 改善或恢复关节功能, 提升患者的生活质量。总体治疗原则是依据患者年龄、性别、体质量、自身危险因素、病变部位及程度等选择阶梯化及个性化治疗。

摘要

背景: 骨关节炎发生后, 软骨细胞的自噬受到抑制。而自噬是一种维持细胞稳态的重要生理机制, 可降解损伤的大分子和细胞器, 改善细胞自噬则有可能缓解骨关节炎的发展。

目的: 探索软骨细胞自噬在骨关节炎中的作用机制及基于软骨细胞自噬治疗骨关节炎的方法。

方法: 在PubMed和中国知网、万方数据库, 以“骨关节炎, 软骨细胞, 自噬, 治疗, 信号通路, 中药, miRNA, osteoarthritis, chondrocyte, autophagy, treatment, signaling pathways, traditional Chinese medicine, miRNA”为检索词, 检索2001年1月至今收录的有关骨关节炎中软骨细胞自噬作用机制的基础及临床研究。

结果与结论: ①骨关节炎的发展与软骨细胞自噬变化有关, 在软骨退行性病变的初期, 软骨细胞中的自噬被激活, 保护软骨细胞以应对各种环境变化; 而随着软骨退变, 软骨细胞无法维持自噬能力, 细胞发生损伤甚至死亡; ②哺乳动物雷帕霉素靶蛋白、核因子κB、p53等蛋白激酶和信号通路参与了自噬及其相关过程; ③雷帕霉素、二氮嗪、白藜芦醇、miRNAs等均能通过上调软骨细胞自噬活性, 进而抑制骨关节炎的发展。

关键词: 骨关节炎; 关节退变; 软骨损伤; 自噬; 细胞稳态; 凋亡; 综述

缩略语: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白: mammalian target of rapamycin, mTOR; 微管相关蛋白1轻链3: microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3; 自噬相关基因3: autophagy-related gene 3, Atg3

Role of chondrocyte autophagy in osteoarthritis and its targeted therapy

Sun Mingshuai¹, Fan Chongshan¹, Li Kaijie¹, Gao Ruiyong¹, Wang Yudong¹, Shen Ruixue¹, Wang Lihe²

¹Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 451200, Henan Province, China; ²Department of Orthopedics and Traumatology, First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Sun Mingshuai, Master candidate, Physician, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 451200, Henan Province, China

Corresponding author: Wang Lihe, Master, Chief physician, Department of Orthopedics and Traumatology, First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Abstract

BACKGROUND: After osteoarthritis, chondrocyte autophagy is inhibited. Autophagy is an important physiological mechanism to maintain cell homeostasis, which reduces injury of macromolecules and organelles. Improving autophagy may alleviate the progression of osteoarthritis.

OBJECTIVE: To explore the mechanism of chondrocyte autophagy in osteoarthritis and the regulation of related factors in chondrocyte autophagy.

¹河南中医药大学, 河南省郑州市 451200; ²河南中医药大学第一附属医院骨伤科, 河南省郑州市 450000

第一作者: 孙明帅, 男, 1991年生, 河南省商丘市人, 汉族, 医师, 河南中医药大学在读硕士, 主要从事中医药防治骨关节病方面的研究。

通讯作者: 汪利合, 硕士, 主任医师, 河南中医药大学第一附属医院骨伤科, 河南省郑州市 450000

<https://orcid.org/0000-0003-0061-2368> (孙明帅)

基金资助: 河南省中医药科学研究专项课题项目(2019ZYBJ06), 项目负责人: 汪利合; 河南省中医药科学研究专项课题项目(2017ZY2044), 项目负责人: 汪利合

引用本文: 孙明帅, 范重山, 李凯杰, 高瑞永, 王煜东, 申瑞雪, 汪利合. 骨关节炎中软骨细胞自噬的作用及其靶向治疗 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(35):5688-5693.



METHODS: Relevant literatures were searched in PubMed, CNKI, and WanFang from January 2001 to present, using the keywords of “osteoarthritis, chondrocyte, autophagy, treatment, signaling pathways, traditional Chinese medicine, miRNA.”

RESULTS AND CONCLUSION: The progression of osteoarthritis is related to the changes of autophagy in chondrocytes. In the early stage of cartilage degeneration, autophagy in chondrocytes is activated to protect chondrocytes against various environmental changes. However, with the aggravation of cartilage degeneration, autophagy in chondrocytes cannot maintain, resulting in cell damage and even death. Protein kinases such as mammalian target of rapamycin, nuclear factor- κ B, p53 and signaling pathways are involved in autophagy and its related processes. Rapamycin, diazoxide, resveratrol and microRNAs can increase the autophagy activity of chondrocytes, which is a feasible method to inhibit the progression of osteoarthritis.

Key words: osteoarthritis; joint degeneration; cartilage injury; autophagy; cell homeostasis; apoptosis; review

Funding: Henan Provincial Traditional Chinese Medicine Scientific Research Projects, No. 2019ZYBJ06 and 2017ZY2044 (both to WLH)

How to cite this article: SUN MS, FAN CS, LI KJ, GAO RY, WANG YD, SHEN RX, WANG LH. Role of chondrocyte autophagy in osteoarthritis and its targeted therapy. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2021;25(35):5688-5693.

0 引言 Introduction

骨关节炎是一种在老年人中常见的慢性退行性关节疾病,常导致疼痛、关节僵硬、肌肉无力和膝关节肿胀等现象,骨关节炎的主要病理变化为软骨细胞数量减少和软骨基质降解^[1-3]。2017年中国60岁以上人群骨关节炎发生率高达17.4%,影响约2.41亿人^[4],越来越多的中老年人由于骨关节炎导致的关节疼痛和功能障碍,导致其生活质量严重恶化,这也将给其家庭和社会带来巨大负担,因而探寻可能有助于治疗骨关节炎的靶点将有重要意义。

自噬是一种维持细胞稳态的重要生理机制,其通过降解功能异常细胞器和大分子维持细胞的新陈代谢^[5]。研究发现,在骨关节炎软骨细胞和软骨中自噬增加,特别是在最初阶段。自噬可通过细胞凋亡和活性氧来调节骨关节炎相关基因表达,从而使软骨适应环境变化^[6],随着骨关节炎中软骨的逐渐降解,自噬的减少与细胞死亡有关^[7-8]。既往研究发现多种药物可能通过调控软骨细胞自噬治疗骨关节炎,因此软骨细胞自噬在骨关节炎的发生及发展中具有重要作用,且基于软骨细胞自噬的治疗方法可能有助于改善骨关节炎的发展。基于此作者拟对骨关节炎中软骨细胞自噬的作用机制进行综述,并总结基于软骨细胞自噬的骨关节炎的治疗方法。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 第一作者以“骨关节炎,软骨细胞,自噬,治疗,信号通路,中药,miRNA, osteoarthritis, chondrocyte, autophagy, treatment, signaling pathways, traditional chinese medicine, miRNA”为检索词检索PubMed和中国知网、万方数据库2001年至今收录的中英文研究。

1.2 入选标准

1.2.1 纳入标准 ①软骨细胞自噬在骨关节炎中的作用;②涉及软骨细胞自噬信号通路的相关研究;③对软骨细胞自噬有促进作用的治疗研究;④实验方法和数据可靠,结果及结论具有说服力;⑤同一领域选择近期发表或在权威杂志上发表的文章。

1.2.2 排除标准 ①重复文献;②研究内容相关性差的文献;③内容陈旧的文献。

1.3 质量评估 对文献标题和摘要进行初步筛选,排除不相关及重复的文献,选取英文文献196篇,中文文献19篇,查阅全文内容,根据纳入标准,最后选择72篇文献进行综述。

筛选流程如图1所示。

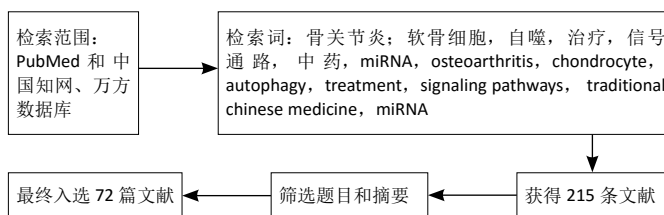


图1 | 文献检索流程

2 结果 Results

2.1 软骨细胞自噬在骨关节炎中的作用 自噬是一种自我降解的过程,是指细胞通过降解自身结构或物质使细胞存活的自我保护机制,对于维持机体新陈代谢的平衡具有重要作用,并且可调控细胞的生长、分化。虽然自噬不是细胞死亡的一种类型,但它对软骨的稳态很重要。一般来说,自噬通过使细胞适应应激条件来促进细胞存活,但这一过程也被认为是非凋亡性细胞死亡程序,参与了多种疾病的发生和发展。自噬与凋亡之间存在着复杂的交互调控——二者能被多种应激刺激共同激活、共享多个调节分子,甚至互相协调转化等。某些情况下,自噬抑制凋亡是细胞的存活途径,但自噬本身也会诱发细胞死亡,或与凋亡共同作用及在凋亡缺陷的情况下作为备份机制诱导细胞死亡,二者通路相互关联,互为调控。自噬发生最初,细胞内异常的细胞器和大分子被转运至溶酶体降解,内质网和高尔基体膜拉伸形成能包裹周围的细胞质或特定物质双层膜的自噬体。自噬体随后可与溶酶体融合形成自噬溶酶体,而其中包含的物质将被溶酶体内水解酶分解代谢,形成氨基酸、核苷酸等小分子,这些小分子物质可被细胞重复利用^[9-11]。

研究发现,骨关节炎发展与软骨细胞自噬变化有关。随着骨关节炎的发展,软骨细胞异常代谢增加,导致凋亡大量发生,同时软骨出现退化,关节功能障碍加重^[12-15]。在软骨细胞凋亡的同时,大量的基质金属蛋白酶和血小板反应蛋白分泌增加,这又会加重关节软骨的退变,加剧关节损伤。而自噬可去除这些有害物质,维持细胞的自我稳态,有利于软骨细胞生存,从而改善骨关节炎。但是在骨关节炎发生后,软骨细胞无法维持自噬能力^[16-19],最近的数据支持了这样一个观点,即骨关节炎中的自噬可以与凋亡结合发生^[19-20],实际上研究证明,在骨关节炎的早期阶段,来自浅表区的软骨

细胞表现出凋亡和自噬标记物的表达增加,随着退化过程的进展,这些标志物在浅表区和中间区域的软骨细胞中联合表达,可能与软骨细胞修复缺陷有关。另一方面,在深部区域自噬和凋亡未增加,这可能与软骨细胞的替代有关,软骨细胞的异常钙化存在于骨关节炎晚期。因此,骨关节炎发病过程中细胞凋亡与自噬之间的功能关系是复杂的,即在骨关节炎的早期,自噬可能被激活作为一种避免细胞死亡的适应性反应;而在骨关节炎的晚期,这一过程也可能与凋亡同时激活作为细胞死亡的替代途径^[20]。上述系列研究表明软骨细胞自噬参与了骨关节炎的发病进程。

2.2 软骨细胞自噬信号通路作用机制

2.2.1 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路

mTOR 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, mTOR 信号通路具有促进物质代谢、参与细胞凋亡、自噬、在多种疾病中扮演着不可忽视的角色。mTOR 激酶是细胞自噬的负向调节因子,激活的 mTOR 可通过 Akt 和 MAPK 信号转导通路抑制自噬,而 mTOR 则通过 AMPK 和 p53 信号转导通路的负性调节促进自噬的发生, mTOR 激酶含有两种复合体,分别为 mTORC1 和 mTORC2。mTORC1 的上游调节因子是生长因子/PI3K/AKT 信号通路^[21],生长因子如胰岛素样生长因子激活其同源受体,随后激活 PI3K/AKT 信号轴,活化的 AKT 直接磷酸化并因此影响结节性硬化症蛋白,结节性硬化症 2 与结节性硬化症 1 形成的复合物能使 Rheb 由活化形式转变为非活化形式,从而抑制 mTORC1 的活性,而活化的 AKT 能够磷酸化结节性硬化症 2 从而阻止结节性硬化症复合物的形成,进一步导致 mTORC1 的激活^[22-23]。从 mTORC1 到 mTORC2 之间存在多个负反馈电路, mTORC1 可将上游信号整合后向下游 p70 核糖体蛋白 S6 激酶传递, S6K1 磷酸化 RICTOR,从而影响 mTORC2 活性,影响自噬体的形成和降解^[24]。当 mTOR 通路被激活后,软骨细胞自噬活性将会受到抑制,软骨细胞活性也会降低,而细胞凋亡则增加,这将导致存活软骨细胞减少,加速骨关节炎发展^[25-28]。

2.2.2 核因子 κB 信号通路

核因子 κB 可反式激活许多自噬相关基因(如 Beclin-1),因而核因子 κB 相关的炎症反应信号通路与自噬信号通路是有重叠的,核因子 κB 的激活除了减轻炎症、抗凋亡外,还有诱导自噬的保护机制^[29-32]。许多细胞外刺激都可以激活核因子 κB 信号通路,通常胞质中的核因子 κB 与其抑制剂 IκB 结合,当被刺激时, IKKβ 亚基被磷酸化并被激活,置换出的 IκB 会被蛋白酶体降解,从而活化核因子 κB 并使其易位进入细胞核。另外,转化生长因子活化激酶 1 和转化生长因子 β 活化激酶结合蛋白 2、转化生长因子 β 活化激酶结合蛋白 3 参与 IKK 的活化,与自噬相关基因 Beclin-1 形成复合物,即将转化生长因子 β 活化激酶结合蛋白 2/转化生长因子 β 活化激酶结合蛋白 3 激活 IKK 的同时,释放 Beclin-1 启动自噬。研究发现以 SM7368 抑制核因子 κB 通路,可激活细胞自噬,而以 p65 过表达激活核因子 κB 通路则会抑制细胞自噬。当核因子 κB 通路活化时,软骨细胞

分泌基质金属蛋白酶水平增加,继而加速软骨基质的降解^[24]。

2.2.3 p53 信号通路

活化的 P53 会抑制自噬负调节因子 mTOR,并通过形成自噬体以及微管相关蛋白 1 轻链 3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)的酯化和剪切引起自噬。P53 通过两种机制抑制 mTOR 调节自噬,一是以依赖 P53 的方式引起 AMPK 活化抑制 mTOR,一是 P53 反式激活 mTOR 的负性调节因子。骨关节炎患者关节软骨组织中 p53 表达增强,且与 Beclin-1 在软骨组织中表达呈负相关。骨关节炎中 p53 的高表达能够抑制软骨细胞自噬,从而减弱软骨细胞对凋亡的抵抗能力,促进软骨细胞凋亡^[33]。

2.3 软骨细胞自噬与骨关节炎治疗

由于软骨细胞自噬对骨关节炎有保护作用,激活/活化自噬将有益于骨关节炎的治疗,以下几种因子均对软骨细胞自噬有促进作用。

2.3.1 雷帕霉素

雷帕霉素是一种新型大环内酯类免疫抑制剂,可以抑制 mTOR 信号通路的 mTORC1 从而激活自噬。雷帕霉素能够增强软骨细胞自噬,减少软骨细胞肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 1 的表达以及抑制细胞凋亡途径进而增强细胞活性,减轻或缓解地塞米松对软骨细胞的损伤,对地塞米松诱导的细胞凋亡具有软骨保护作用。在小鼠骨关节炎模型中,雷帕霉素能在自噬过程中调节 mTOR 的信号转导,从而减轻对软骨的损伤程度。CARAMÉS 等^[34]实验结果显示雷帕霉素通过抑制核糖体蛋白 S6 磷酸化(mTOR 靶点)和激活自噬的主要标志物 LC3,影响小鼠膝关节 mTOR 信号通路;与对照组相比,雷帕霉素治疗组的软骨退化严重程度显著降低($P < 0.01$),雷帕霉素治疗也维持了软骨细胞的数量,降低了关节软骨中 ADAMTS-5 和白细胞介素 1β 的表达。这些结果表明,雷帕霉素至少部分通过自噬激活来减轻实验性骨关节炎的严重程度,药物激活自噬可能是治疗骨关节炎的有效方法。除了保护关节软骨外,雷帕霉素还可以减轻小鼠膝关节滑膜炎的严重程度^[35]。然而,长期使用雷帕霉素可能诱发其他疾病,这可能与抑制免疫功能的能力有关^[36]。最近的研究发现,在关节局部注射雷帕霉素可以延缓小鼠关节的退化,这可能是预防骨关节炎的一个潜在途径^[37]。

2.3.2 氨基葡萄糖

正常情况下,关节软骨细胞能够合成足够的蛋白多糖等软骨基质,保持软骨正常的生化环境。骨关节炎初期,软骨基质合成代偿性增加,随着疾病的进展,基质合成代谢降低,导致基质流失,其中蛋白多糖代谢失衡较为严重,氨基葡萄糖在治疗骨关节炎时可缓解关节疾病、肿胀,提高关节活动性,具有良好的安全性^[38-40]。CARAMÉS 等^[34]研究表明葡萄糖胺可在体内外调节自噬途径的分子靶点,其增强作用主要依赖于 Akt/FoxO/mTOR 途径,具有抗炎作用,促进软骨细胞代谢,这些研究结果表明,氨基葡萄糖是一种有效的自噬激活剂,并将推动未来关于氨基葡萄糖在改善衰老相关细胞变化和支持关节健康方面的功效的研究。另外, SIMON 等^[41]研究认为长期使用葡萄糖胺对糖耐量受损的人没有危害。

2.3.3 羟基酪醇

羟基酪醇(hydroxytyrosol)作为一种天然抗

氧化剂,广泛存在于橄榄科橄榄属植物的枝叶及果实中^[42],具有很强的清除自由基能力,可预防自由基引起的直接损伤以及紫外线诱导的氧化应激等,已应用于炎症性疾病的治疗。ZHI等^[43]研究旨在确定羟基酪醇对软骨细胞自噬和炎症的影响,并阐明羟基酪醇是否通过SIRT6介导的自噬调节炎症反应。结果表明,羟基酪醇以浓度依赖的方式抑制肿瘤坏死因子 α 刺激的软骨细胞中白细胞介素 1β 和白细胞介素6水平;此外,羟基酪醇促进细胞自噬,增加肿瘤坏死因子 α 刺激的软骨细胞SIRT6的mRNA和蛋白表达水平。自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤或抑制SIRT6表达可降低羟基酪醇对软骨细胞炎症反应的抑制作用。总的来说,这些发现表明羟基酪醇通过SIRT6介导的自噬抑制软骨细胞的炎症反应。CETRULLO等^[44]发现,羟基酪醇可增加自噬相关蛋白的表达,在发生氧化应激反应时保护软骨细胞,减少软骨细胞DNA损伤及死亡。孙天^[45]发现可有效缓解软骨细胞晚期氧化蛋白产物氧化应激损伤,其作用是通过上调SIRT1信号通路而实现的;使用Sirt-1 siRNA特异性干扰后,羟基酪醇对自噬的作用消失。目前对于羟基酪醇的研究尚处于起步阶段,对于其应用研究也较少,但是其具有广阔的应用前景。

2.3.4 Torin 1 与雷帕霉素类似,Torin 1是mTOR的一种特异性抑制剂。CHENG等^[46]研究旨在探讨关节内注射Torin 1对兔骨关节炎模型关节软骨退变的影响,结果表明,关节内注射Torin 1可减少胶原酶诱导的骨关节炎关节软骨退变,为预防软骨退变和治疗骨关节炎提供了新的治疗途径,但是关节内注射Torin 1对关节软骨退变的影响尚不清楚。CHENG等^[46]使用自噬诱导剂Torin 1干预骨关节炎经典的细胞模型和动物模型,分别以定量实时PCR、组织学、透射电镜、蛋白印迹和免疫荧光进行评价,结果说明模型中软骨和软骨细胞的变性与自噬的缺失有关,Torin 1可通过激活自噬降低了软骨和软骨细胞损伤程度,并认为其具有成为骨关节炎治疗药物的潜力。

2.3.5 二氮嗪 二氮嗪作为一种线粒体ATP敏感性钾通道开放剂,可开放线粒体膜上的钾通道,使钾离子内流增加,线粒体膜去极化,从而导致钙离子内流减少,提高细胞的存活率^[47];此外,二氮嗪可提高细胞对病理性活性氧的耐受性,从而对抗细胞的氧化损伤^[48]。顾运涛等^[47]研究表明二氮嗪对双氧水诱导的软骨细胞具有保护作用,可以改善细胞形态、提高软骨细胞生存率;同时具有保护大鼠膝关节软骨,减轻关节及滑膜炎的作用。陈康等^[49]研究表明二氮嗪对兔膝关节骨性关节炎的进展有一定的对抗作用。MENG等^[50]在前交叉韧带并半月板内侧横断大鼠模型以及白细胞介素刺激的SW1353细胞模型中,证实了二氮嗪治疗可显著减轻关节软骨变性和SW1353细胞死亡,且细胞自噬明显恢复,同时可调节骨关节炎标志物II型胶原A1、基质金属蛋白酶13、基质金属蛋白酶1以及解聚蛋白样金属蛋白酶5的表达;但其作用可被自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤阻断,表明线粒体膜K⁺ATP开放剂二氮嗪可通过促进自噬起到骨关节保护作用。

2.3.6 白藜芦醇 白藜芦醇是一种对健康有益天然多酚。大量的研究已经明白藜芦醇能减轻炎症反应以及诱导癌细胞死亡,这些作用与它诱导细胞自噬有关^[51]。季丹等^[52]研究表明,白藜芦醇可抑制氧化应激状态下佐剂性关节炎大鼠软骨细胞增生,其作用机制可能与白藜芦醇诱导的软骨细胞自噬改变有关。QIN等^[53]研究表明,Sirt1激动剂白藜芦醇能显著提高骨关节炎软骨细胞自噬水平,并上调Beclin-1及LC3蛋白及基因的表达,抑制软骨细胞凋亡,下调Bax表达,上调Bcl-2表达,降低半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3活性,进而阻断mTOR信号通路,抑制关节软骨细胞自噬和凋亡,结果表明白藜芦醇关节内注射延缓关节软骨退变,促进软骨细胞自噬,可能是通过调节AMPK/mTOR信号通路来实现的。YI等^[54]的研究表明,白藜芦醇可调控核因子 κ B信号通路,从而抑制软骨细胞的炎症和基质降解。

2.3.7 其他 姜黄素不仅可通过阻断炎症因子介导的NLRP3信号通路抑制炎症,改善氧化还原体系,通过上调整合素促进软骨基质修复,同时其也可通过促进自噬和增加抗凋亡蛋白活性来抑制软骨细胞凋亡促进软骨细胞增殖^[55]。MOUSSA等^[56]的研究显示,富血小板血浆可明显增加软骨细胞的增殖,减少细胞凋亡,并增加自噬,此外还可导致基质金属蛋白酶3、基质金属蛋白酶13、解聚蛋白样金属蛋白酶5、白细胞介素6和环氧化酶2呈剂量依赖性下调,同时上调转化生长因子 β 、蛋白聚糖、II型胶原、白细胞介素4、白细胞介素10以及白细胞介素13的表达。经白细胞介素 1β 刺激构建大鼠骨关节炎软骨细胞模型中,以30 mg/L臭氧干预后,软骨细胞活性增强,细胞中PPAR γ 及自噬相关蛋白LC3 II及Beclin-1的表达水平增加,而P62蛋白表达受到抑制,表明臭氧可促进骨关节炎软骨细胞自噬,且PPAR γ 在这一过程中起重要作用^[57-58]。

2.4 中药复方制剂对软骨细胞自噬的影响 在临床上多种中药复方制剂被用于治疗骨关节炎,其中右归饮、透骨消痛胶囊、桃仁膝康丸、五味温通除痹胶囊等的作用机制与自噬相关。右归饮治疗骨性关节炎模型大鼠后,发现Beclin-1表达升高,mTOR蛋白表达降低,同时凋亡蛋白Bax、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3含量降低,说明右归饮治疗可诱导大鼠膝关节滑膜自噬表达上调,减少细胞凋亡^[59]。以氯化钴诱导的原代软骨细胞作为体外骨关节炎模型,以200 mg/L透骨消痛胶囊溶液干预可使软骨细胞中Beclin-1、自噬相关基因3(atophagy-related gene 3, Atg3)、Atg5、Atg7、Atg10、Atg12和LC3 II/LC3 I表达增加,同时促进自噬的发生,提示其可能用于减少骨关节炎软骨降解^[60]。秦娜等^[61]以改良Hulth法制备了大鼠膝关节骨性关节炎模型,2周起给予桃仁膝康丸1.25 g/(kg·d)灌胃,连续用药12周后,发现桃仁膝康丸能明显降低膝关节骨性关节炎大鼠的Mankin评分,上调软骨组织中II型胶原A1和聚集蛋白聚糖的表达,降低基质金属蛋白酶13和解聚蛋白样金属蛋白酶5 mRNA的表达,还能增加ULK1、Beclin-1和LC3-II蛋白的表达;表明其可通过延缓软骨细胞自噬缓解膝关节骨性关节炎大鼠软骨的退变,但

其激活软骨细胞自噬的机制还需进一步研究。五味温通除痹胶囊由桂枝、茯苓、淫羊藿等制备,姜辉等^[62]以五味温通除痹胶囊治疗弗氏完全佐剂诱导佐剂性关节炎大鼠,结果显示,五味温通除痹胶囊不仅可减轻关节炎模型大鼠关节病理损伤,还可增加自噬相关因子 Beclin-1 和 LC3- II 的 mRNA 和蛋白水平,这说明五味温通除痹胶囊对骨关节炎的治疗作用与促进细胞自噬有关。

2.5 微小 RNA(miRNA) 许多研究探索了 miRNAs 在骨关节炎中的功能和机制^[62-64]。通过深入的研究,越来越多的 miRNA 被证实能调节骨关节炎软骨细胞的自噬。由于软骨细胞丢失是不可逆的,因此研究 miRNAs 在维持稳定自噬中的机制尤为重要。根据基因组学分析,miR-155 在骨关节炎软骨中高度上调^[65]。WAN 等^[66]研究表明 miR-155 的过表达增加了人鼻咽癌和宫颈癌细胞的自噬活性,敲除内源性 miR-155 能抑制缺氧诱导的自噬;此外,通过下调 mTOR 信号转导,miR-155 还可抑制细胞增殖,诱导 G1/S 细胞周期阻滞。总的来说,这些数据表明 miR-155 通过 mTOR 信号诱导自噬的发生。miR-30 家族成员中,miR-30b 对软骨细胞自噬的调节作用最为突出。CHEN 等^[67]的研究表明 miR-30b 是维持肿瘤坏死因子 α 诱导的自噬和凋亡之间平衡的关键因素。抗 miR-30b 增强了 ATDC5 细胞的自噬作用,减轻软骨的降解,对肿瘤坏死因子 α 诱导的 ATDC5 细胞凋亡具有保护作用。因此,抗 miR-30b 可提高炎症期间的细胞存活率,并对骨关节炎等炎症性疾病具有治疗潜力。根据 miR-146a 通过 Bcl-2 诱导软骨细胞自噬的基本实验结果以及 miR-146a 与 Bcl-2 mRNA 的错配^[68],大量研究证实,TRAF6 和 IRAK1 是 miR-146a 的直接靶点,是缺氧诱导软骨细胞自噬中 Bcl-2 调控的中间因子^[69]。考虑到这些结果,缺氧诱导因子 1α 的诱导作用值得重视。在骨关节炎和正常软骨中均可检测到缺氧诱导因子 1α ^[70],其表达水平可能受到炎症细胞因子或生长因子的影响^[71]。一般来说,缺氧诱导因子 1α 作为一个上游位点,直接作用于 miR-146a,调节下游基因,诱导软骨细胞自噬。用双链 miRNA-335-5p 模拟物/抑制剂转染人骨关节炎软骨细胞后,细胞中 miRNA-335-5p 表达明显降低,细胞存活以及自噬相关因子的表达显著增加,且炎症递质表达减少,3-甲基腺嘌呤可以抑制过表达 miRNA-335-5p 的作用,说明 miRNA-335-5p 可通过激活自噬来减轻人骨关节炎软骨细胞的炎症反应^[72]。以 miRNA-335-5p 作为骨关节炎诊断和治疗的靶点在未来临床研究中具有重要意义。

3 结论与展望 Conclusions and prospects

软骨细胞自噬减少是骨关节炎的重要病理变化过程,自噬可通过去除有害物质和损伤细胞器维持细胞稳态,从而减缓骨性关节炎的发生与发展。但是骨关节炎发生后,软骨细胞将不能有效维持正常的自噬能力,这将降低细胞的存活能力,加剧细胞凋亡,因而通过上述提及的多种治疗方法调节软骨细胞自噬活性可能成为一种治疗骨关节炎的有效途径。

多种中药复方制剂也被认为其治疗骨关节炎的机制与干预软骨细胞自噬有关,但具体机制还有待进一步分析。未来可通过生物信息学筛选自噬相关的靶点,并通过调节这些靶点抑制骨关节炎的进展。

作者贡献:汪利合、孙明帅负责综述构思设计,孙明帅、范重山、李凯杰、汪利合负责文章写作校对,高端永、王煜东、申瑞雪参与文献收集、分析总结,汪利合负责项目指导。

经费支持:该文章接受了“河南省中医药科学研究专项课题项目(2019ZYBJ06, 2017ZY2044)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突:文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南:该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重:文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审:文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权:文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明:这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- ASHFORD S, WILLIARD J. Osteoarthritis: A review. *Nurse Pract.* 2014;39(5):1-8.
- TARUC-UY RL, LYNCH SA. Diagnosis and treatment of osteoarthritis. *Prim Care.* 2013;40(4):821-836, vii.
- XIA B, DI C, ZHANG J, et al. Osteoarthritis pathogenesis: a review of molecular mechanisms. *Calcif Tissue Int.* 2014;95(6):495-505.
- LONG H, ZENG X, LIU Q, et al. Burden of osteoarthritis in China, 1990–2017: findings from the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Rheumatol.* 2020;2(3):e164-e172.
- PARZYCH KR, KLIONSKY DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(3):460-473.
- LOTZ MK, CARAMÉS B. Autophagy and cartilage homeostasis mechanisms in joint health, aging and OA. *Nat Rev Rheumatol.* 2011;7(10):579-587.
- KARAMI J, MASOUMI M, KHORRAMDELAZAD H, et al. Role of autophagy in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: Latest evidence and therapeutic approaches. *Life Sci.* 2020;254:117734.
- BARBATI C, VOMERO M, COLASANTI T, et al. Microparticles and autophagy: a new frontier in the understanding of atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Immunol Res.* 2018;66(6):655-662.
- GLICK D, BARTH S, MACLEOD KF. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J Pathol.* 2010;221(1):3-12.
- MIZUSHIMA N, KOMATSU M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell.* 2011;147(4):728-741.
- KIM KH, LEE MS. Autophagy--a key player in cellular and body metabolism. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(6):322-337.
- GOLDRING MB, GOLDRING SR. Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1192:230-237.
- SACITHARAN PK. Ageing and Osteoarthritis. *Subcell Biochem.* 2019;91:123-159.
- ULRICH-VINTHER M, MALONEY MD, SCHWARZ EM, et al. Articular cartilage biology. *J Am Acad Orthop Surg.* 2003;11(6):421-430.
- BUCKWALTER JA, MANKIN HJ, GRODZINSKY AJ. Articular cartilage and osteoarthritis. *Instr Course Lect.* 2005;54:465-480.
- FERNANDES JC, MARTEL-PELLETIER J, PELLETIER JP. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorh.* 2002;39(1-2):237-246.
- JEON H, IM GI. Autophagy in osteoarthritis. *Connect Tissue Res.* 2017;58(6):497-508.
- MUSUMECI G, CASTROGIOVANNI P, TROVATO FM, et al. Biomarkers of Chondrocyte Apoptosis and Autophagy in Osteoarthritis. *Int J Mol Sci.* 2015;16(9):20560-20575.

- [19] LI YS, ZHANG FJ, ZENG C, et al. Autophagy in osteoarthritis. *Joint Bone Spine*. 2016;83(2):143-148.
- [20] ZHANG Y, VASHEGHANI F, LI YH, et al. Cartilage-specific deletion of mTOR upregulates autophagy and protects mice from osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(7):1432-1440.
- [21] WU J, KUANG L, CHEN C, et al. miR-100-5p-abundant exosomes derived from infrapatellar fat pad MSCs protect articular cartilage and ameliorate gait abnormalities via inhibition of mTOR in osteoarthritis. *Biomaterials*. 2019;206:87-100.
- [22] CAI C, MIN S, YAN B, et al. MiR-27a promotes the autophagy and apoptosis of IL-1 β treated-articular chondrocytes in osteoarthritis through PI3K/AKT/mTOR signaling. *Aging (Albany NY)*. 2019;11(16):6371-6384.
- [23] KONG C, WANG C, SHI Y, et al. Active vitamin D activates chondrocyte autophagy to reduce osteoarthritis via mediating the AMPK-mTOR signaling pathway. *Biochem Cell Biol*. 2020;98(3):434-442.
- [24] JIANG LB, MENG DH, LEE SM, et al. Dihydroartemisinin inhibits catabolism in rat chondrocytes by activating autophagy via inhibition of the NF- κ B pathway. *Sci Rep*. 2016;6:38979.
- [25] LÓPEZ DE FIGUEROA P, LOTZ MK, et al. Autophagy activation and protection from mitochondrial dysfunction in human chondrocytes. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(4):966-976.
- [26] TANG Q, ZHENG G, FENG Z, et al. Trehalose ameliorates oxidative stress-mediated mitochondrial dysfunction and ER stress via selective autophagy stimulation and autophagic flux restoration in osteoarthritis development. *Cell Death Dis*. 2017;8(10):e3081.
- [27] CHEN SY, LIU ST, LIN WR, et al. The Mechanisms Underlying the Cytotoxic Effects of Copper Via Differentiated Embryonic Chondrocyte Gene 1. *Int J Mol Sci*. 2019;20(20):5225.
- [28] HE Y, WU Z, XU L, et al. The role of SIRT3-mediated mitochondrial homeostasis in osteoarthritis. *Cell Mol Life Sci*. 2020;77(19):3729-3743.
- [29] 杜汉承. 雷诺嗉联合血栓栓胶囊对糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤过程中细胞自噬及心肌核因子- κ B、人磷酸化 Akt 蛋白、IP7 水平的影响 [J]. *中国药物经济学*, 2020,15(9):39-43.
- [30] 王志明, 赵嫦清, 杨丽霞. 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子在动脉粥样硬化核因子 κ B 信号通路交叉调控中的研究进展 [J]. *安徽医药*, 2020, 24(1):65-68, 214.
- [31] 姜一弘, 张丹, 张天择, 等. 核因子 κ B(NF- κ B) 信号通路在炎症与肿瘤中作用的研究进展 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2018,34(12):1130-1135.
- [32] 唐琴, 朱海鹏, 郭卫中, 等. 针对 THP-1 细胞自噬、NF- κ B 通路活化及产生白细胞介素 23 的影响 [J]. *免疫学杂志*, 2018,34(4):319-325.
- [33] 胡祥华, 郑瑞武. 自噬基因 Beclin1 过表达骨肉瘤中 Ki-67 和 P53 的表达及相关性 [J]. *解剖学研究*, 2020,42(1):72-75.
- [34] CARAMÉS B, KIOSSSES WB, AKASAKI Y, et al. Glucosamine activates autophagy in vitro and in vivo. *Arthritis Rheum*. 2013;65(7):1843-1852.
- [35] CARAMÉS B, HASEGAWA A, TANIGUCHI N, et al. Autophagy activation by rapamycin reduces severity of experimental osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(4):575-581.
- [36] SILLS AM, ARTAVIA JM, DEROSA BD, et al. Long-term treatment with the mTOR inhibitor rapamycin has minor effect on clinical laboratory markers in middle-aged marmosets. *Am J Primatol*. 2019;81(2):e22927.
- [37] TAKAYAMA K, KAWAKAMI Y, KOBAYASHI M, et al. Local intra-articular injection of rapamycin delays articular cartilage degeneration in a murine model of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(6):482.
- [38] 王关杰, 潘燕, 王馨悦. 硫酸氨基葡萄糖联合下肢不稳定闭链运动治疗早期创伤性膝骨关节炎的临床观察 [J]. *按摩与康复医学*, 2020,11(20):47-48, 71.
- [39] 陶玉红. 硫酸氨基葡萄糖胶囊治疗膝骨关节炎的疗效分析 [J]. *中国冶金工业医学杂志*, 2020,37(4):463.
- [40] 宋宏伟. 硫酸氨基葡萄糖联合唑来膦酸治疗绝经后骨质疏松合并膝骨关节炎的疗效 [J]. *慢性病学杂志*, 2020,21(7):1101-1102, 1105.
- [41] SIMON RR, MARKS V, LEEDS AR, et al. A comprehensive review of oral glucosamine use and effects on glucose metabolism in normal and diabetic individuals. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011;27(1):14-27.
- [42] ROBLES-ALMAZAN M, PULIDO-MORAN M, MORENO-FERNANDEZ J, et al. Hydroxytyrosol: Bioavailability, toxicity, and clinical applications. *Food Res Int*. 2018;105:654-667.
- [43] ZHI LQ, YAO SX, LIU HL, et al. Hydroxytyrosol inhibits the inflammatory response of osteoarthritis chondrocytes via SIRT6-mediated autophagy. *Mol Med Rep*. 2018;17(3):4035-4042.
- [44] CETRULLO S, D'ADAMO S, GUIDOTTI S, et al. Hydroxytyrosol prevents chondrocyte death under oxidative stress by inducing autophagy through sirtuin 1-dependent and -independent mechanisms. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1860(6):1181-1191.
- [45] 孙天. 羟苯酪醇调控软骨细胞自噬缓解晚期氧化蛋白损伤机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2019.
- [46] CHENG NT, GUO A, MENG H. The protective role of autophagy in experimental osteoarthritis, and the therapeutic effects of Torin 1 on osteoarthritis by activating autophagy. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016;17:150.
- [47] 顾运涛, 陈克伟, 卞阳阳, 等. 二氮嗉通过抑制内质网应激作用降低软骨细胞凋亡的研究 [J]. *中华全科医学*, 2018,16(1):14-18, 37.
- [48] 彭磊, 程少文, 沈跃, 等. 二氮嗉对软骨细胞氧化损伤的影响 [J]. *中医正骨*, 2014,26(5):3-8.
- [49] 陈康, 符红娜, 段招财, 等. 二氮嗉对兔膝关节骨关节炎进展的影响的研究 [J]. *实验动物科学*, 2017,34(3):6-9.
- [50] MENG Z, SHEN B, GU Y, et al. Diazoxide ameliorates severity of experimental osteoarthritis by activating autophagy via modulation of the osteoarthritis-related biomarkers. *J Cell Biochem*. 2018;119(11):8922-8936.
- [51] MALAGUARNERA L. Influence of Resveratrol on the Immune Response. *Nutrients*. 2019;11(5):946.
- [52] 季丹, 黄大可, 周瑾, 等. 白藜芦醇对 H2O2 处理的佐剂性关节炎大鼠软骨细胞增生的影响及与自噬的关系 [J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2020,13(3):236-242.
- [53] QIN N, WEI L, LI W, et al. Local intra-articular injection of resveratrol delays cartilage degeneration in C57BL/6 mice by inducing autophagy via AMPK/mTOR pathway. *J Pharmacol Sci*. 2017;134(3):166-174.
- [54] YI H, ZHANG W, CUI ZM, et al. Resveratrol alleviates the interleukin-1 β -induced chondrocytes injury through the NF- κ B signaling pathway. *J Orthop Surg Res*. 2020;15(1):424.
- [55] 夏天卫, 刘金柱, 崔婧娴, 等. 姜黄素治疗骨性关节炎药理的研究进展 [J]. *世界科学技术 - 中医药现代化*, 2020,21(9):1889-1895.
- [56] MOUSSA M, LAJEUNESSE D, HILAL G, et al. Platelet rich plasma (PRP) induces chondroprotection via increasing autophagy, anti-inflammatory markers, and decreasing apoptosis in human osteoarthritic cartilage. *Exp Cell Res*. 2017;352(1):146-156.
- [57] XU W, ZHAO X, SUN P, et al. The effect of medical ozone treatment on cartilage chondrocyte autophagy in a rat model of osteoarthritis. *Am J Transl Res*. 2020;12(9):5967-5976.
- [58] ZHAO X, LI Y, LIN X, et al. Ozone induces autophagy in rat chondrocytes stimulated with IL-1 β through the AMPK/mTOR signaling pathway. *J Pain Res*. 2018;11:3003-3017.
- [59] 黄杨, 江浪清, 孔劲松, 等. 右归饮对骨性关节炎模型大鼠膝关节滑膜细胞自噬和凋亡相关蛋白及血清炎症因子的影响 [J]. *浙江中西医结合杂志*, 2018,28(9):739-742.
- [60] LI X, LIU F, LIANG W, et al. Tougu Xiaotong capsule promotes chondrocyte autophagy by regulating the Atg12/LC3 conjugation systems. *Int J Mol Med*. 2014;34(2):545-552.
- [61] 秦娜, 郭艳幸, 魏立伟, 等. 桃仁膝康丸激活软骨细胞自噬延缓骨关节炎软骨退变的研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2018,29(5):575-580.
- [62] 姜辉, 秦秀娟, 万磊, 等. 五味通除痹胶囊对佐剂性关节炎大鼠自噬蛋白 Beclin-1、LC3-II 表达的影响 [J]. *中成药*, 2017,39(8):1566-1572.
- [63] SWINGLER TE, NIU L, SMITH P, et al. The function of microRNAs in cartilage and osteoarthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2019;37 Suppl 120(5):40-47.
- [64] BOEHME KA, ROLAUFFS B. Onset and Progression of Human Osteoarthritis-Can Growth Factors, Inflammatory Cytokines, or Differential miRNA Expression Concomitantly Induce Proliferation, ECM Degradation, and Inflammation in Articular Cartilage? *Int J Mol Sci*. 2018;19(8):2282.
- [65] 于萍, 龙丽, 王世瑶, 等. MiR-155 在类风湿关节炎滑膜成纤维细胞中的表达及功能研究 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2010,14(7):460-463.
- [66] WAN J, XIA L, XU W, et al. Expression and Function of miR-155 in Diseases of the Gastrointestinal Tract. *Int J Mol Sci*. 2016;17(5):709.
- [67] CHEN Z, JIN T, LU Y. AntimiR-30b Inhibits TNF- α Mediated Apoptosis and Attenuated Cartilage Degradation through Enhancing Autophagy. *Cell Physiol Biochem*. 2016;40(5):883-894.
- [68] CHEN G, GAO X, WANG J, et al. Hypoxia-induced microRNA-146a represses Bcl-2 through Traf6/IRAK1 but not Smad4 to promote chondrocyte autophagy. *Biol Chem*. 2017;398(4):499-507.
- [69] AN R, FENG J, XI C, et al. miR-146a Attenuates Sepsis-Induced Myocardial Dysfunction by Suppressing IRAK1 and TRAF6 via Targeting ErbB4 Expression. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:7163057.
- [70] ZHANG FJ, LUO W, LEI GH. Role of HIF-1 α and HIF-2 α in osteoarthritis. *Joint Bone Spine*. 2015;82(3):144-147.
- [71] FERNÁNDEZ-TORRES J, MARTÍNEZ-NAVA GA, GUTIÉRREZ-RUÍZ MC, et al. Role of HIF-1 α signaling pathway in osteoarthritis: a systematic review. *Rev Bras Reumatol Engl Ed*. 2017;57(2):162-173.
- [72] ZHONG G, LONG H, MA S, et al. miRNA-335-5p relieves chondrocyte inflammation by activating autophagy in osteoarthritis. *Life Sci*. 2019;226:164-172.

(责任编辑: GD, ZN, SX)