

## ·综述·

## 金属蛋白酶在骨关节炎表达的研究进展

阮佳莉<sup>1</sup> 田京<sup>2\*</sup>

(1. 广州市南方医科大学珠江医院, 广州 510282; 2. 广州市南方医科大学附属珠江医院骨科中心, 510282)

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2013)07-0748-07

**摘要:** 目的 探讨金属蛋白酶在骨关节炎中的作用和表达机制及其影响因素。方法 由第一作者应用计算机检索 PubMed、中国期刊全文数据库(CNKI)、维普数据库和万方数据库 1997-05/2012-08 相关文献。在标题、摘要、关键词中以“Osteoarthritis; Proteinase; Cartilage; Cartilage matrix; Metalloprotease”或“骨关节炎; 蛋白酶; 软骨; 金属蛋白酶; 软骨基质”为检索词进行检索。选择文章内容与金属蛋白酶有关者, 同一领域文献则选择近期发表在权威杂志文章进行分析。结果 初检得到 206 篇文献, 排除 134 篇不符合标准的文献, 共纳入 72 篇符合标准的文献。结论 经分析得出金属蛋白酶在骨关节炎中起着重要的作用, 其基因表达由多种因子参与转录调控, 而其酶活性由相关抑制因子或活化因子抑制或活化其活性, 此外, 机械负荷也参与调控金属蛋白酶的活性。

**关键词:** 骨关节炎; 蛋白酶; 软骨; 金属蛋白酶; 软骨基质; 综述

## Research progress of the metalloproteinase expression in osteoarthritis

RUAN Jiali<sup>1</sup>, TIAN Jing<sup>2</sup>

(Orthopedics Center, the Affiliated Zhujiang Hospital of South Medical University, Guangzhou 510282, China)

Corresponding author: TIAN Jing, Email: tian\_jing6723@yahoo.com.cn

**Abstract:** **Objective** Background Metalloproteinase, which causes the degradation of cartilage matrix, plays an important role in osteoarthritis. **Objective** To investigate the role of metalloproteinases in osteoarthritis, and to explore its expression mechanism and influencing factors. **Methods** A computer-based online search of PubMed database, CNKI database, VIP database, and Wanfang database was performed to search related articles. Osteoarthritis, Proteinase, Cartilage, Cartilage matrix, and Metalloprotease were used for word retrieval in the title, abstract, and keywords. Papers concerned with pulsed electromagnetic fields were selected. Literatures of the same fields recently published in authoritative journals were also included for analysis. **Results** At the beginning, 206 articles were included. Then 134 were excluded because of not conforming to standard literatures. **Conclusion** Metalloproteinases plays an important role in osteoarthritis, and a variety of factors are involved in transcriptional regulation of its gene expression. And its enzyme activity is inhibited or activated by inhibiting factors or activating factors. In addition, the mechanical load is also involved in the regulation of MMP activity.

**Key words:** Osteoarthritis; Proteinase; Cartilage; Metalloprotease; Cartilage matrix; Review

骨关节炎(OA)作为一种慢性关节软骨退行性疾病正危害着世界上数百万的人群<sup>[1]</sup>。这种疾病是导致老人的残疾,造成疼痛,僵硬和关节功能的丧失。OA以负重关节的解剖学变化为基础,以关节软骨退化,滑膜炎,软骨下骨改变,在关节边缘新骨和软骨(骨刺)生长为特征<sup>[2,3]</sup>。OA的病因是没有完全清楚,但机械因素,如关节损伤和肥胖被认为是疾病的主要因素,其他危险因素如年龄,性别和遗传学有助于疾病的发展和进展<sup>[3,4]</sup>。目前还没有治愈

该疾病的药物,治疗仅限于减轻症状或手术更换关节。因此越来越多的研究希望寻找有效的治疗,可以阻止或扭转这种疾病的进展。

软骨损失是OA病理改变的核心。软骨由软骨细胞构成,细胞外被大量的细胞外基质(ECM)包围。ECM可按距离软骨细胞的距离和基质组成为不同的区域<sup>[4]</sup>。紧邻细胞的基质在细胞周围形成软骨陷窝,并因富含基底膜蛋白多糖,六型胶原和各种调节分子和生长因子,调节着软骨细胞的功能。外围ECM的主要成分是胶原蛋白(collagen II)和多聚蛋白聚糖(aggrecan)。胶原蛋白提供组织抗拉伸

\*通讯作者: 田京, tian\_jing6723@yahoo.com.cn

的能力,而多聚蛋白聚糖是软骨主要的蛋白多糖,使基质具有保水性和抗压缩性。虽然其他含量较少的分子也可造成软骨基质的退化从而有助于疾病进展,但胶原蛋白的降解和聚合是 OA 主要的病理学改变,而金属蛋白酶在其中起了重要作用<sup>[4]</sup>。本文综述了目前金属蛋白酶在 OA 中的作用,讨论了参与调节金属蛋白酶的表达的因素和抑制金属蛋白酶活性的抑制因子的最新研究进展,并简述了其他蛋白酶对金属蛋白酶的作用。

## 1 资料和方法

### 1.1 资料来源

分别以“Osteoarthritis; Proteinase; Cartilage; Cartilage matrix; Metalloprotease”为英文关键词,以“骨关节炎;蛋白酶;软骨;金属蛋白酶;软骨基质”为中文关键词,检索 1997-05/2012-08 PubMed 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)、中国期刊全文数据库(CNKI)、维普数据库和万方数据库。

### 1.2 入选标准

纳入标准:文献所述内容需与金属蛋白酶和骨关节炎密切相关。

排除标准:重复研究或内容较陈旧的文献。

### 1.3 质量评估

通过计算机检索,阅读标题和摘要进行初筛,排除与本主题无关及内容重复性的研究。

### 1.4 数据的提取

初检得到文献 206 篇,阅读标题和摘要进行初筛,排除研究目的与此文无关的 145 篇,观点落后及重复性的研究 134 篇,保留 72 篇文献做进一步分析。

## 2 结果

### 2.1 金属蛋白酶(MMP)在骨关节炎中的作用

软骨 ECM 中最主要的胶原蛋白是Ⅱ型胶原,它构成一个纤维网络以提供软骨基质与足够的抗拉强度。胶原的降解是多聚蛋白聚糖降解后骨关节炎的主要特点<sup>[5]</sup>。软骨基质成分退化的确切顺序在 OA 的发展中难以确定,但一些体外关于软骨移植的研究表明,胶原蛋白降解只发生后多聚蛋白聚糖损失的组织,而且存在多聚蛋白聚糖保护胶原蛋白降解的现象<sup>[6-8]</sup>。此外,虽然多聚蛋白多糖的损失是可以扭转的,胶原的降解却是不可逆的,也就是说,胶原蛋白丢失后,软骨即不能修复。

Ehrlich 等<sup>[9]</sup>在 1977 年首先证明了软骨中金属蛋白酶的存在。胶原纤维是高度稳定的分子,只有少数哺乳动物的酶可以降解,即组织蛋白酶和金属蛋白酶:基质金属蛋白酶-1,-8,-13 和-14(MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-14)。MMP-13 被认为是在 OA 中主要的金属蛋白酶,其表达在骨关节炎软骨和啮齿动物 OA 模型中增加<sup>[10-16]</sup>。在外科骨关节炎小鼠模型中,人为促进 MMP-13 表达可以导致小鼠软骨持续性的退化<sup>[17]</sup>。MMP-1 也能有效地断裂Ⅱ型胶原,但它在骨关节炎的作用不能利用小鼠模型加以研究,因为作为小鼠 MMP-1,其与人的 MMP-1 差别很大<sup>[18]</sup>。由此,我们可以看到,MMP 可以通过降解软骨基质中的胶原,从而破坏软骨的结构并导致软骨持续性的退化,加剧骨关节炎的进程。

**2.1.1 金属蛋白酶-13(MMP-13)促进 OA:**金属蛋白酶类的作用靶点具有高度相似性,所以一直以来我们难以合成足够特异的作用于单一金属蛋白酶的选择性抑制剂。以往治疗癌症的蛋白酶抑制剂由于缺乏特异性并引起肌肉骨骼毒性等副作用而宣告失败<sup>[19]</sup>。MMP-13 是其中一个独特的金属蛋白酶,因为它有一个很深的 S1'位点。有研究利用该特点合成了高度选择性的组织抑制剂,它能够阻止软骨移植过程以及动物骨关节炎模型中胶原的降解<sup>[10,20-22]</sup>,并且该组织抑制剂不会对肌肉骨骼产生副作用<sup>[20]</sup>。对这些抑制剂的进一步评价疗效是目前研究的热点。因此,MMP-13 能降解软骨基质中的胶原成分,从而促进 OA 的发展。

**2.1.2 金属蛋白酶-3(MMP-3)促进 OA:**除了 MMP-13,其他的金属蛋白酶(如 MMP-28, MMP-3)的研究也越来越多<sup>[14]</sup>。MMP-3 在 OA 患者的软骨内为表达最多的金属蛋白酶,虽然在 OA 的后期其表达有下降趋势<sup>[13,23]</sup>。

MMP-3 基因缺失的小鼠对于骨关节炎的不易感性仍不清楚。Van Meurs<sup>[24]</sup>等研究发现 MMP-3 基因缺失的小鼠可以减少在多肽链 asn341 ~ phe342 位点发生的胶原损失,表明 MMP-3 促进金属蛋白酶活性,并能直接或间接的促进金属蛋白酶介导的多聚蛋白聚糖的断裂。而 Clements<sup>[25]</sup>等发现 MMP-3 基因缺失的小鼠会发生更严重的手术诱发关节炎,这表明在一些特殊情况下 MMP-3 还起到保护软骨的作用。因此,除外某些特例,MMP-3 可以促进其他金属蛋白酶的活化,如 MMP-1 和 MMP-13,并能激活其他金属蛋白酶,从而加剧 OA 的进程。

**2.1.3 金属蛋白酶-9(MMP-9)促进 OA:**MMP-9 基

因缺失的小鼠在传染性关节炎模型中关节软骨得到保护<sup>[26]</sup>,但在手术引起的骨关节炎模型中却诱发了更严重的骨关节炎<sup>[27]</sup>。这种差异最有可能来源于OA病因模型的差异以及小鼠的品系差异。而更多的实验则证明MMP-9能降解胶原。因此,MMP-9具有通过降解胶原从而促进OA发生的作用。

**2.1.4 膜型基质金属蛋白酶-1 (MT1-MMP) 促进OA:**有关MMP表达谱的研究表明,膜型基质金属蛋白酶-1(MT1-MMP)在正常和OA关节软骨的表达是近似的<sup>[13,14]</sup>。但虽然有研究表明,孤立的牛软骨细胞MT1-MMP可因循环加压而瞬时表达增加<sup>[28]</sup>。MT1-MMP在滑膜成纤维细胞高表达,并已经显示出具有促进这些细胞入侵软骨的作用<sup>[29]</sup>。MT1-MMP在OA的作用尚未建立小鼠手术模型,因为MT1-MMP基因缺失的小鼠表现出严重的骨骼畸形<sup>[30]</sup>。因此,MT1-MMP由滑膜成纤维细胞表达,并促进其进入软骨,从而造成软骨的破坏,加剧OA的进程。

## 2.2 金属蛋白酶类基因的转录调控因子

**2.2.1 核心结合因子1 (Cbfa1) 促进MMP基因的表达:**Cbfa1能刺激成骨细胞分化,是一个调节骨骼形成的重要的因子。Cbfa1也能通过促进相关基因的表达刺激软骨细胞的成熟和肥厚(例如COL 10A1,胶原)或者软骨基质的退化(如MMP-13)和血管化(如VEGFA),也是一个指导软骨内骨化过程的因子<sup>[31-33]</sup>。软骨细胞增生,基质降解和血管浸润是OA的特点。所以有理论认为,关节炎可能是成人软骨发生发展过程的异常重演<sup>[34]</sup>。Cbfa1在正常成人软骨并不表达,但在早期骨关节炎Cbfa1含量增加,它的几个靶基因表达也增加<sup>[35]</sup>。Cbfa1基因杂合子的小鼠在外科骨关节炎模型中软骨退化不严重,骨赘形成也不明显<sup>[36]</sup>。MMP-13基因是一个已知的Cbfa1靶基因,Cbfa1基因杂合子的小鼠表现出MMP-13含量减少<sup>[36]</sup>。促进OA的因素也可增加Cbfa1的含量,如机械刺激<sup>[37]</sup>,缺氧诱导因子(HIF-2 $\alpha$ )<sup>[38]</sup>。因此,在OA中,Cbfa1表达增加,作为其作用靶点的MMP基因表达也增加。

**2.2.2 缺氧诱导因子-2 $\alpha$  (HIF-2 $\alpha$ ) 促进MMP基因的表达:**最近的研究表明,炎症细胞因子能刺激OA关节软骨代谢,机制在于诱导核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 依赖的转录因子HIF-2 $\alpha$ 的表达通过使兔关节软骨细胞过表达HIF-2 $\alpha$ ,能增加MMP-1,MMP-3,MMP-9,MMP-12和MMP-13的含量,而减少HIF-2 $\alpha$ siRNA则恰好相反。在外科骨关节炎模型中,小鼠软骨因

HIF-2 $\alpha$ 异位基因表达异常导致自发性的软骨破坏,而HIF-2 $\alpha$ 基因缺陷的小鼠对软骨退化和骨赘发展有一定的抵抗作用<sup>[39]</sup>。

HIF-2 $\alpha$ 也能通过诱导相关基因表达,调节软骨细胞增生(如COL 10A1),软骨基质的退化(如MMP-13)和血管浸润(如VEGFA),从而调节软骨内骨化<sup>[40]</sup>。这些被称为Cbfa1的靶基因(2.2.1节),而已有研究显示HIF-2 $\alpha$ 可以增加Cbfa1的含量来诱导这些基因的表达<sup>[38]</sup>。然而,抑制Cbfa1并不能完全终止HIF-2 $\alpha$ 对于MMP-13,COL 10A1及VEGFA基因的促表达作用,这表明HIF-2 $\alpha$ 并不完全依赖于Cbfa1。因此,HIF-2 $\alpha$ 能促进MMP基因的表达,该作用部分与HIF-2 $\alpha$ 能增加Cbfa1的含量有关。

**2.2.3 组蛋白去乙酰化酶(HDAC)促进MMP基因的表达:**HDAC通过增加组蛋白与DNA的结合调节基因的表达,从而调解染色质的浓缩和抑制转录因子的结合<sup>[41]</sup>。该实验证明HDAC在许多生理和病理条件下发挥中心作用。HDAC在序列同源性的基础上可以分为3类:2类经典HDAC和第三类NAD<sup>+</sup>依赖性HDAC。已有研究证明<sup>[42]</sup>,在人类软骨细胞,HDAC抑制剂可以减少炎症细胞因子诱导表达的基质MMP-1,MMP-13;而另一牛软骨移植实验发现HDAC抑制剂可以阻止因炎症细胞因子刺激造成的蛋白多糖和胶原蛋白的降解更进一步说明其对MMPs的作用。HDAC抑制剂能阻断小鼠胶原性关节炎的发展<sup>[43]</sup>。HDAC1,HDAC2和HDAC7在人类骨关节炎软骨中含量均较多<sup>[44]</sup>。

研究表明,HDAC抑制剂可同时降低HIF-1 $\alpha$ 和HIF-2 $\alpha$ 基因的转录活性<sup>[45]</sup>;而HDAC4,HDAC6和HDAC7促进HIF-1 $\alpha$ 基因的转录活性<sup>[46]</sup>,HDAC Sirtuin1(SIRT1)促进HIF-2 $\alpha$ 基因的转录活性<sup>[47]</sup>。HDAC4已被证明能增加Cbfa1的活性<sup>[49]</sup>,HDAC4基因过度表达的小鼠表现出类似与Cbfa1基因过度表达的软骨肥大细胞表型,而HDAC4基因缺失的则抑制软骨细胞肥大。相反,具有软骨保护作用的mir140会减少HDAC4基因的表达<sup>[50]</sup>。一些研究表明极少部分HDAC还具有微弱的保护软骨能力,SIRT1抑制软骨细胞凋亡和刺激表达软骨特异性基因的表达<sup>[48]</sup>,从而维持软骨代谢的动态平衡。由此,HDAC既可通过刺激HIF-2 $\alpha$ 基因的转录活性也可通过增加炎症细胞因子来诱导MMP基因的表达,从而促进OA的进程。

**2.2.4 微小RNA抑制MMP基因的表达:**

MicroRNA(miRNA)是非编码 RNA 序列,作用于靶基因转录后 mRNA 的 3'非编码区,使 mRNA 降解或抑制其翻译,从而下调靶基因的表达。miRNA 在 1993 年的隐杆线虫幼虫研究中首次被发现,至此已被证明其能通过组织特异性或发展阶段特异性的方式调节许多基因的表达。miR-140 在正常软骨充分表达,该过程主要由软骨转录因子 Sox 9 调控。而在 OA 关节软骨中 miR-140 表达减少<sup>[50]</sup>。miR-140 基因缺失的小鼠自然和手术引起的关节炎发展有加速现象,而过度表达 miR-140 基因的小鼠可耐受抗原诱导的关节炎<sup>[51]</sup>。Iliopoulos<sup>[15]</sup>确定了 16 个 miRNA 会改变关节软骨有关物质的表达。MiR-9, miR-27a 和 miR-27b 已报告可抑制人类骨关节炎软骨细胞中 MMP-13 基因的表达<sup>[52]</sup>。因此,miRNA 能通过降解 MMP mRNA 或抑制其翻译,下调 MMP 基因的表达。

**2.2.5 细胞外的硫酸酯酶(Extracellular sulfatases)**抑制 MMP 基因的表达:有报道称,外硫酸酯酶-1(sulf-1)和外硫酸酯酶-2(sulf-2)可以消除硫酸乙酰肝素的氨基葡萄糖残基上的 6 位氧分子上的硫酸酯基团<sup>[53]</sup>。硫酸酯酶通过与细胞外基质的组成部分即硫酸乙酰肝素的结合调节各种肝素结合生长因子和趋化因子。OA 软骨表达 sulf-1 和 sulf-2 与年龄的增加呈正相关。sulf-1 或 sulf-2 基因缺失的小鼠能自发发展加快 OA 的进程并加重软骨的损伤,该研究表明硫酸酯酶具有软骨保护的作用<sup>[54]</sup>。Sulf 基因失效的软骨细胞比野生型细胞表现出更多的代谢表型,如 MMP-13 的增加,蛋白多糖和 II 型胶原的减少。用 sulf-1 和 sulf-2 siRNA 作用于人类软骨细胞后得到类似的效果。因此,外硫酸酯酶通过调节各种肝素结合生长因子和趋化因子抑制 MMP 基因的表达。

**2.2.6 多配体蛋白聚糖 4(Syndecan 4)促进 MMP 基因的表达:**在人类和啮齿动物 OA 模型中,关节软骨表达的跨膜硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 Syndecan 4 含量升高;Syndecan 4 基因缺失的小鼠 OA 模型软骨损伤较小,同时蛋白多糖的损失和在 Glu373 ~ Ala374 位点多聚蛋白聚糖的断裂也较轻<sup>[55]</sup>。小鼠注射 Syndecan 4 阻断抗体后可减轻软骨损伤<sup>[53]</sup>。Echtermeyer 等人<sup>[55]</sup>发现 MMP-3 基因的表达在 Syndecan 4 基因缺失的小鼠显著减少,由此, Syndecan 4 通过促进 MMP-3 基因的表达,从而造成软骨基质的损伤,加速 OA 的进程。

**2.2.7 盘状结构域受体(DDR)促进 MMP 基因的**

表达:酪氨酸激酶通过盘状结构域受体 DDR-1 和 DDR-2 结合 I, II, III, IV 和 V 型胶原<sup>[56]</sup>。与胶原结合的胞外域信息传递到胞质域,启动下游信号事件包括 MMP-1 及 MMP-13 基因的表达增加<sup>[57]</sup>。在 OA 中 DDR-2 表达增加<sup>[58]</sup>。DDR-2 基因缺失的小鼠因自然和手术引起的骨关节炎发病率下降,并且 MMP-13 基因表达的产物 MMP-13 减少。磷酸化 DDR-2 可以证明 II 型胶原为酪氨酸激酶主要结合靶点,然而,II 型胶原主要存在于外围的软骨基质中,所以在正常的软骨组织中不太可能有直接接触软骨细胞的 II 型胶原存在。徐等人<sup>[59]</sup>表明,软骨陷窝旁的 ECM 的损伤可能出现在 OA 的早期,导致软骨细胞与 II 型胶原异常的相互作用并激发软骨细胞的分解信号,进一步使 MMP-13 基因表达增加, MMP-13 降解胶原。因此,盘状结构域受体 DDR-1 和 DDR-2 作为酪氨酸激酶与胶原接触的媒介,将胞外域信息传递到胞质域,启动下游信号事件包括 MMP-1 及 MMP-13 基因的表达增加。

### 2.3 抑制 MMP 酶活性

金属蛋白酶抑制酶(TIMPs)是 MMP 内源性的抑制剂。注射外源性的 TIMP-3,能阻断外植体培养和大鼠 OA 模型中出现的软骨退化进程<sup>[60]</sup>。TIMP-3 基因缺失的小鼠随年龄增长软骨退化的进程加快以及该小鼠制作而成的抗原诱导关节炎模型软骨损伤增加<sup>[61]</sup>,该研究更加证实了 TIMPs 的软骨保护作用。在 OA 关节软骨中,TIMP-3 mRNA 水平没有明显改变,而 TIMP-3 蛋白则减少<sup>[16]</sup>。软骨细胞可以吞噬和退化 TIMP-3,这表明 TIMP-3 对软骨的作用机制在于调节其自身的翻译而不是转录过程;药物如戊聚糖硫酸酯酶能抑制软骨细胞对 TIMP-3 的内吞作用,从而增加软骨中 TIMP-3 的含量,抑制软骨退化;戊聚糖能使 TIMP-3 的亲合力增加 100 倍,进一步保护软骨<sup>[62]</sup>。

TIMP-2 不影响猪或人类软骨移植体中糖胺多糖的释放,而 TIMP-1 已被证明能部分抑制人类软骨组织中糖胺多糖的释放<sup>[8]</sup>。在 OA 关节软骨中 TIMP-4 表达减少<sup>[14]</sup>,该现象与 TIMP-4 基因 3'非编码区的一个单核苷酸的多态性有关<sup>[63]</sup>。

因此,除 TIMP-1 抑制一些膜型金属蛋白酶能力较差,哺乳动物体内的四种 TIMPs(TIMP-1,-2,-3,-4)均能强烈抑制金属蛋白酶类的活性。除此之外,TIMPs 也能抑制其他酶类的活性,如多聚葡萄糖(ADAMTSs),所以它是抑制软骨退化的关键因素。

## 2.4 增加 MMP 酶活性

**2.4.1 活化蛋白 C (APC):** APC 是已知的凝血级联反应中的一种丝氨酸蛋白酶,但 Jackson<sup>[64]</sup>表明,在关节炎软骨区域也有 APC 的表达,而在正常软骨则没有;在羊软骨外植体注入外源性的 APC 能增加细胞因子刺激的蛋白多糖和胶原的退化。广谱 MMP 抑制剂可以部分抑制 APC 的代谢作用。因此,APC 的作用是通过增加 MMP 的活性实现的,但 APC 并不能作用于所有的金属蛋白酶类,APC 只能作用于 MMP-2 和 MMP-9。

**2.4.2 丝氨酸蛋白酶纤溶酶 (the serine proteinase plasmin):** 众所周知,其他一些蛋白酶可以激活金属蛋白酶 MMP -1 及 MMP -13,这些蛋白酶包括基质 MMP-3 和丝氨酸蛋白酶纤溶酶,后者由尿激酶型纤溶酶原激活物 (uPA) 和组织型纤溶酶原激活剂 (tPA) 产生<sup>[65]</sup>。已有报道证实在 OA 关节软骨中 MMP-3 和 uPA 和 tPA 含量均有增加<sup>[13]</sup>。在牛和猪软骨外植体模型系统中蛋白聚糖的降解发生在第一周内,而胶原的降解随后发生<sup>[6-8]</sup>。通过添加 MMP 的激活剂如丝氨酸蛋白酶纤溶酶可以使 MMP 催化的软骨胶原的降解在第一周发生<sup>[66]</sup>,说明在该过程中金属蛋白酶有表达,但他们基本上是作为无效酶原形式存在,其激活是软骨胶原降解的限速步骤。丝氨酸蛋白酶纤溶酶抑制剂可以抑制 MMP 的活性<sup>[66]</sup>。因此,丝氨酸蛋白酶纤溶酶的主要作用为激活 MMP 在软骨中的活性,使作为无效酶原形式存在的 MMP -1 及 MMP -13 得以活化。

## 3 机械刺激对 MMP 的作用

机械负荷对维持软骨稳态十分重要。最近的研究确定了机械反应通过 cAMP 反应元件结合蛋白 (CITED2) 作用于软骨,从而起到调节软骨的作用<sup>[69]</sup>。实验已经证明施加适度的机械负荷能通过提高 CITED2 的水平抑制 MMP-1 和 MMP-13 的表达,而固定大鼠后肢,CITED2 表达减少,导致 MMP-1 和 MMP-13 表达增加,最终加剧软骨退化。另有实验表明细胞外基质的机械反应作用于软骨细胞的过程中,成纤维细胞生长因-2 (FGF-2) 作为保护性的传感器<sup>[70]</sup>,自然和手术引起的关节炎在成纤维细胞生长因子基因缺失的小鼠有发展加速的现象;而也有报道称 FGF-2 可以刺激 MMP-1, MMP-3<sup>[71]</sup> 和 MMP-13<sup>[72]</sup> 的表达。FGF-2 对软骨细胞起的传输保护或分解信号取决于机械负荷的力量与作用时间。

总之,不用和过度使用关节都可以启动软骨退

化<sup>[67]</sup>,机械刺激 (这里指不用和过度使用关节) 能增加 Cbfa1<sup>[32,37]</sup>, MMP-1, MMP-3, MMP-13<sup>[68]</sup> 的表达,而适度的机械负荷能通过抑制这些酶的表达保持关节功能和保护软骨。

## 4 展望

随着人口老龄化的进程,OA 的发病率越来越高,但 OA 仍缺乏有效的治疗措施,目前对于 OA 的靶分子治疗成为研究的热点。诸多的研究已经表明金属蛋白酶在 OA 软骨的退化过程中起了重要的作用,理解其作用机理及其在体内的表达和活化抑制过程能更好的帮助我们寻找以金属蛋白酶为靶点的治疗方案,从而为 OA 的治愈带来新的方向。

## 【参考文献】

- [1] H. A. Wieland, M. Michaelis, B. J. Kirschbaum et al. Rudolphi Osteoarthritis — an untreatable disease?. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2005(4): 331-344.
- [2] M. B. Goldring, S. R. Goldring. Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2010(1192): 220-237.
- [3] D. T. Felson. Developments in the clinical understanding of osteoarthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2009(11): 203.
- [4] D. Heinegård, T. Saxne. The role of the cartilage matrix in osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2011(7): 50-56.
- [5] L. S. Lohmander, L. M. Atley, T. A. Pietka et al. The release of crosslinked peptides from type II collagen into human synovial fluid is increased soon after joint injury and in osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2003(48): 3130-3139.
- [6] M. A. Pratta, W. Yao, C. Decicco et al. Aggrecan protects cartilage collagen from proteolytic cleavage. *J. Biol. Chem.* 2003(278): 45539-45545.
- [7] M. A. Karsdal, S. H. Madsen, C. Christiansen et al. Cartilage degradation is fully reversible in the presence of aggrecanase but not matrix metalloproteinase activity. *Arthritis Res. Ther.* 2008(10): 63.
- [8] N. H. Lim, M. Kashiwagi, R. Visse et al. Reactive-site mutants of N-TIMP-3 that selectively inhibit ADAMTS-4 and ADAMTS-5: biological and structural implications. *Biochem. J.* 2010(431): 113-122.
- [9] M. G. Ehrlich, H. J. Mankin, H. Jones et al. Collagenase and collagenase inhibitors in osteoarthritic and normal cartilage. *J. Clin. Invest.* 1977(59): 226-233.
- [10] R. C. Billingham, L. Dahlberg, M. Ionescu et al. Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage. *J. Clin. Invest.* 1997(99): 1534-1545.
- [11] P. Reboul, J. P. Pelletier, G. Tardif et al. The new collagenase, collagenase-3, is expressed and synthesized by human chondrocytes but not by synoviocytes. A role in osteoarthritis. *J. Clin. Invest.* 1996(97): 2011-2019.
- [12] P. G. Mitchell, H. A. Magna, L. M. Reeves et al. Cloning,

- expression, and type II collagenolytic activity of matrix metalloproteinase-13 from human osteoarthritic cartilage. *J. Clin. Invest.* 1996(97): 761-768.
- [13] B. Bau, P. M. Gebhard, J. Haaget al. Relative messenger RNA expression profiling of collagenases and aggrecanases in human articular chondrocytes in vivo and in vitro. *Arthritis Rheum.* 2002(46): 2648-2657.
- [14] L. Kevorkian, D. A. Young, C. Darrahet al. Expression profiling of metalloproteinases and their inhibitors in cartilage. *Arthritis Rheum.* 2004(50): 131-141.
- [15] D. Iliopoulos, K. N. Malizos, P. Oikonomouet al. Integrative microRNA and proteomic approaches identify novel osteoarthritis genes and their collaborative metabolic and inflammatory networks. *PLoS One.* 2008(3): 3740.
- [16] S. Chia, Y. Sawaji, A. Burleighet al. Fibroblast growth factor 2 is an intrinsic chondroprotective agent that suppresses ADAMTS-5 and delays cartilage degradation in murine osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2009(60): 2019-2027.
- [17] L. A. Neuhold, L. Killar, W. Zhaoet al. Postnatal expression in hyaline cartilage of constitutively active human collagenase-3 (MMP-13) induces osteoarthritis in mice. *J. Clin. Invest.* 2001(107): 35-44.
- [18] M. Balbín, A. Fueyo, V. Knäuperet al. Identification and enzymatic characterization of two diverging murine counterparts of human interstitial collagenase (MMP-1) expressed at sites of embryo implantation. *J. Biol. Chem.* 2002(276): 10253-10262.
- [19] L. M. Coussens, B. Fingleton, L. M. Matrisian. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science.* 2002(295): 2387-2392.
- [20] A. R. Johnson, A. G. Pavlovsky, D. F. Ortwineet al. Discovery and characterization of a novel inhibitor of matrix metalloproteinase-13 that reduces cartilage damage in vivo without joint fibroplasia side effects. *J. Biol. Chem.* 2007(282): 27781-27791.
- [21] D. Piecha, J. Weik, H. Kheilet al. Novel selective MMP-13 inhibitors reduce collagen degradation in bovine articular and human osteoarthritis cartilage explants. *Inflamm. Res.* 2010(59): 379-389.
- [22] S. Settle, L. Vickery, O. Nemirovskiyet al. Cartilage degradation biomarkers predict efficacy of a novel, highly selective matrix metalloproteinase 13 inhibitor in a dog model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2010(62): 3006-3015.
- [23] T. E. Swingle, J. G. Waters, R. K. Davidsonet al. Degradome expression profiling in human articular cartilage. *Arthritis Res. Ther.* 2009(11): 96.
- [24] J. van Meurs, P. van Lent, R. Stoopet al. Cleavage of aggrecan at the Asn341-Phe342 site coincides with the initiation of collagen damage in murine antigen-induced arthritis: a pivotal role for stromelysin 1 in matrix metalloproteinase activity. *Arthritis Rheum.* 1999(42): 2074-2084.
- [25] K. M. Clements, J. S. Price, M. G. Chamberset al. Gene deletion of either interleukin-1 $\beta$ , interleukin-1 $\beta$ -converting enzyme, inducible nitric oxide synthase, or stromelysin 1 accelerates the development of knee osteoarthritis in mice after surgical transection of the medial collateral ligament and partial medial meniscectomy. *Arthritis Rheum.* 2003(48): 3452-3463.
- [26] A. J. Heilpern, W. Wertheim, J. Heet al. Matrix metalloproteinase 9 plays a key role in lyme arthritis but not in dissemination of *Borrelia burgdorferi*. *Infect. Immun.* 2009(77): 2643-2649.
- [27] S. S. Glasson. In vivo osteoarthritis target validation utilizing genetically-modified mice. *Curr. Drug Targets.* 2007(8): 367-376.
- [28] J. N. De Croos, B. Jang, S. S. Dhaliwalet al. Membrane type-1 matrix metalloproteinase is induced following cyclic compression of in vitro grown bovine chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007(15): 1301-1310.
- [29] M. Miller, H. Manning, A. Jainet al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase is a crucial promoter of synovial invasion in human rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009(60): 686-697.
- [30] K. Holmbeck, P. Bianco, J. Caterinaet al. MT1-MMP-deficient mice develop dwarfism, osteopenia, arthritis, and connective tissue disease due to inadequate collagen turnover. *Cell.* 1999(99): 81-92.
- [31] Q. Zheng, G. Zhou, R. Morelloet al. Type X collagen gene regulation by Runx2 contributes directly to its hypertrophic chondrocyte-specific expression in vivo. *J. Cell Biol.* 2003(162): 833-842.
- [32] T. Tetsunaga, K. Nishida, T. Furumatsuet al. Regulation of mechanical stress-induced MMP-13 and ADAMTS-5 expression by RUNX-2 transcriptional factor in SW1353 chondrocyte-like cells. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010. 1-42.
- [33] E. Zelzer, D. J. Grotzer, C. Hartmannet al. Tissue specific regulation of VEGF expression during bone development requires Cbfa1/Runx2. *Mech. Dev.* 2002(106): 97-106.
- [34] M. Husa, R. Liu-Bryan, R. Terkeltaub. Shifting HIFs in osteoarthritis. *Nat. Med.* 2010(16): 641-644.
- [35] X. Wang, P. A. Manner, A. Horneret al. Regulation of MMP-13 expression by RUNX2 and FGF2 in osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis Cartilage.* 2004(12): 963-973.
- [36] S. Kamekura, Y. Kawasaki, K. Hoshiet al. Contribution of runt-related transcription factor 2 to the pathogenesis of osteoarthritis in mice after induction of knee joint instability. *Arthritis Rheum.* 2006(54): 2462-2470.
- [37] M. Wong, M. Siegrist, K. Goodwin. Cyclic tensile strain and cyclic hydrostatic pressure differentially regulate expression of hypertrophic markers in primary chondrocytes. *Bone.* 2003(33): 685-693.
- [38] T. Saito, H. Kawaguchi. HIF-2 $\alpha$  as a possible therapeutic target of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010(18): 1552-1556.
- [39] S. Yang, J. Kim, J. H. Ryuet al. Hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  is a catabolic regulator of osteoarthritic cartilage destruction. *Nat. Med.* 2010(16): 687-693.
- [40] T. Saito, A. Fukai, A. Mabuchi et al. Transcriptional regulation of endochondral ossification by HIF-2 $\alpha$  during skeletal growth and osteoarthritis development. *Nat. Med.* 2010(16): 678-686.
- [41] A. J. de Ruijter, A. H. van Gennip, H. N. Caronet al. Histone

- deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem. J.* 2003(370): 737-749.
- [42] D. A. Young, R. L. Lakey, C. J. Pennington et al. Histone deacetylase inhibitors modulate metalloproteinase gene expression in chondrocytes and block cartilage resorption. *Arthritis Res. Ther.* 2005(7): R503-R512.
- [43] H. S. Lin, C. Y. Hu, H. Y. Chan et al. Anti-rheumatic activities of histone deacetylase (HDAC) inhibitors in vivo in collagen-induced arthritis in rodents. *Br. J. Pharmacol.* 2007(150): 862-872.
- [44] R. Higashiyama, S. S. Miyaki, Yamashita et al. Correlation between MMP-13 and HDAC7 expression in human knee osteoarthritis. *Mod. Rheumatol.* 2010(20): 11-17.
- [45] D. M. Fath, X. Kong, D. Liang et al. Histone deacetylase inhibitors repress the transactivation potential of hypoxia-inducible factors independently of direct acetylation of HIF- $\alpha$ . *J. Biol. Chem.* 2006(281): 13612-13619.
- [46] D. Z. Qian, S. K. Kachhap, S. J. Collis et al. Class II histone deacetylases are associated with VHL-independent regulation of hypoxia-inducible factor 1  $\alpha$ . *Cancer Res.* 2006(66): 8814-8821.
- [47] E. M. Dioum, R. Chen, M. S. Alexander et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 2 $\alpha$  signaling by the stress-responsive deacetylase sirtuin 1. *Science.* 2009(324): 1289-1293.
- [48] K. Takayama, K. Ishida, T. Matsushita et al. SIRT1 regulation of apoptosis of human chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 2009(60): 2731-2740.
- [49] R. B. Vega, K. Matsuda, A. C. Barbosa J. Ohet et al. Histone deacetylase 4 controls chondrocyte hypertrophy during skeletogenesis. *cell.* 2004(199): 555-566.
- [50] L. Tuddenham, G. Wheeler, S. Ntounia-Fousara et al. The cartilage specific microRNA-140 targets histone deacetylase 4 in mouse cells. *FEBS Lett.* 2002(580): 4214-4217.
- [51] S. Miyaki, T. Sato, A. Inoue et al. MicroRNA-140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis. *Genes Dev.* 2010(24): 1173-1185.
- [52] N. Akhtar, Z. Rasheed, S. Ramamurthy et al. MicroRNA-27b regulates the expression of MMP-13 in human osteoarthritis chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 2010(62): 1361-1371.
- [53] M. Morimoto-Tomita, K. Uchimura, Z. Werb et al. Cloning and characterization of two extracellular heparin-degrading endosulfatases in mice and humans. *J. Biol. Chem.* 2002(277): 49175-49185.
- [54] S. Otsuki, S. R. Hanson, S. Miyaki et al. Extracellular sulfatases support cartilage homeostasis by regulating BMP and FGF signaling pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2010(107): 10202-10207.
- [55] F. Echtermeier, J. Bertrand, R. Dreier et al. Syndecan-4 regulates ADAMTS-5 activation and cartilage breakdown in osteoarthritis. *Nat. Med.* 2009(15): 1072-1076.
- [56] B. Leitinger. Molecular analysis of collagen binding by the human discoidin domain receptors, DDR1 and DDR2. Identification of collagen binding sites in DDR2. *J. Biol. Chem.* 2003(278): 16761-16769.
- [57] L. Xu, H. Peng, D. Wu et al. Activation of the discoidin domain receptor 2 induces expression of matrix metalloproteinase 13 associated with osteoarthritis in mice. *J. Biol. Chem.* 2005(280): 548-555.
- [58] I. G. Sunk, K. Bobacz, J. G. Hofstaetter et al. Increased expression of discoidin domain receptor 2 is linked to the degree of cartilage damage in human knee joints; a potential role in osteoarthritis pathogenesis. *Arthritis Rheum.* 2007(56): 3685-3692.
- [59] L. Xu, J. Servais, I. Poluret et al. Attenuation of osteoarthritis progression by reduction of the discoidin domain receptor 2 in mice. *Arthritis Rheum.* 2010(62): 2736-2744.
- [60] R. Black, B. Castner, J. Slackett et al. Injected TIMP-3 protects cartilage in a rat meniscal tear model. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006(14): S23-S24.
- [61] S. Sahebham, R. Khokha, J. S. Mort. Increased collagen and aggrecan degradation with age in the joints of Timp3 -/- mice. *Arthritis Rheum.* 2007(57): 905-909.
- [62] L. Troeberg, K. Fushim, R. Khokha et al. Calcium pentosan polysulfate is a multifaceted exosite inhibitor of aggrecanases. *FASEB J.* 2008(22): 3515-3524.
- [63] H. J. Lee, G. H. Lee, S. Nahet et al. Association of TIMP-4 gene polymorphism with the risk of osteoarthritis in the Korean population. *Rheumatol. Int.* 2008(28): 845-850.
- [64] E. R. Garvican, A. Vaughan-Thomas, C. Redmond et al. MMP-mediated collagen breakdown induced by activated protein C in equine cartilage is reduced by corticosteroids. *J. Orthop. Res.* 2010(28): 370-378.
- [65] H. J. Ra, W. C. Parks. Control of matrix metalloproteinase catalytic activity. *Matrix Biol.* 2007(26): 587-596.
- [66] J. M. Milner, S. F. Elliott T. Activation of procollagenases is a key control point in cartilage collagen degradation: interaction of serine and metalloproteinase pathways. *Arthritis Rheum.* 2001(44): 2084-2096.
- [67] J. A. Buckwalter, J. A. Martin, T. D. Brown. Perspectives on chondrocyte mechanobiology and osteoarthritis. *Biorheology.* 2006(43): 603-609.
- [68] J. H. Lee, J. B. Fitzgerald, M. A. DiMicco et al. Co-culture of mechanically injured cartilage with joint capsule tissue alters chondrocyte expression patterns and increases ADAMTS5 production. *Arch. Biochem. Biophys.* 2009(489): 118-126.
- [69] D. J. Leong, Y. H. Li, X. I. Guet et al. Physiological loading of joints prevents cartilage degradation through CITED2. *FASEB J.* 2011(25): 182-191.
- [70] T. L. Vincent, C. J. McLean, L. E. Fullet et al. FGF-2 is bound to perlecan in the pericellular matrix of articular cartilage, where it acts as a chondrocyte mechanotransducer. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007(25): 752-763.
- [71] M. B. Ellman, H. S. An, P. Muddasani et al. Biological impact of the fibroblast growth factor family on articular cartilage and intervertebral disc homeostasis. *Genes Dev.* 2008(420): 82-89.
- [72] X. Wang, Y. Song, J. L. Jacobiet et al. Inhibition of histone deacetylases antagonized FGF2 and IL-1 $\beta$  effects on MMP expression in human articular chondrocytes. *Growth Factors.* 2009(47): 40-49

(收稿日期: 2012-09-08)

# 金属蛋白酶在骨关节炎表达的研究进展

作者: [阮佳莉](#), [田京](#), [RUAN Jiali](#), [TIAN Jing](#)  
作者单位: [阮佳莉, RUAN Jiali \(广州市南方医科大学珠江医院, 广州, 510282\)](#), [田京, TIAN Jing \(广州市南方医科大学  
附属珠江医院骨科中心, 510282\)](#)  
刊名: [中国骨质疏松杂志](#)   
英文刊名: [Chinese Journal of Osteoporosis](#)  
年, 卷(期): 2013, 19(7)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zggzsszz201307023.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201307023.aspx)