

磨损颗粒诱导的假体周围骨溶解相关免疫学研究进展

彭 锂 宋科官

摘 要 本文综述了磨损颗粒诱导的假体周围骨溶解的相关免疫学研究现状。笔者广泛查阅了近年国内外与磨损颗粒诱导的假体周围骨溶解相关免疫学研究的相关文献,进行总结分析后发现,在固有免疫应答反应和适应性免疫应答反应中,磨损颗粒可以通过 Toll 样受体途径、NALP3 途径激活和募集假体周围的巨噬细胞、破骨细胞、淋巴细胞等,并且使这些细胞释放一系列细胞因子发生从而加速骨溶解的发生。固有免疫和适应性免疫应答均在磨损颗粒诱导的假体周围骨溶解过程中发挥了重要作用,这为假体周围骨溶解的机制提供了更广泛的思路,也为今后的免疫学方面的治疗提供了依据。

关键词 固有免疫 适应性免疫 骨溶解

中图分类号 R684

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.10.004

无菌性松动引起的假体周围骨溶解是全髋关节置换术后最严重的并发症之一,因假体磨损而产生的磨损颗粒引起的骨-假体平面间的炎性反应是引起无菌性松动的主要因素^[1]。这种炎性反应是由磨损颗粒作用于固有免疫细胞即巨噬细胞所导致的。有文献表明,磨损颗粒也可以引起适应性免疫反应,有些学者将其称为“金属过敏”。但是,经大量研究证实,这种炎性反应主要是由巨噬细胞参与的固有免疫反应所导致的,在这个过程中 DAMP 和 PAMP 共同作为第一信使诱导了这种有多种细胞因子参与的炎性反应^[2]。

一、固有免疫

1. 巨噬细胞:研究表明,巨噬细胞是松动的假体周围最初聚集于有炎性反应位置的细胞之一^[3]。从髋关节翻修患者手术部位取得的假膜组织经切片观察后可以发现大量吞噬了磨损颗粒的巨噬细胞^[4]。巨噬细胞吞噬颗粒后会产生一系列促炎性因子从而影响假体周围的其他细胞^[5]。因此,由于磨损颗粒具有生物学活性并且会引起固有免疫应答,所以磨损颗粒的数量、外形、生产率 and 抗原性等都对骨溶解发生的程度和时间都有重要意义^[6,7]。这些促炎性因子包括 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-11、IL-15、TNF- α 、TGF- β 、GM-CSF、M-CSF 和 VEGF。一些更加微小的、未被报道过的细胞因子很有可能也参与了这一炎性反应过程。这些炎性因子的复杂相互作用关系至今尚未被完全阐明。M-CSF

等可以直接刺激破骨细胞形成,IL-1、IL-6、TNF- α 可以影响成骨细胞等其他细胞从而间接激活破骨细胞并且刺激巨噬细胞释放更多的细胞因子。GM-CSF 可以参与多核巨细胞的形成,多核巨细胞的功能与破骨细胞相似。

由巨噬细胞、成纤维细胞、和成骨细胞分泌的趋化因子同样是固有免疫对磨损颗粒的重要应答产物之一^[8,9]。在假体发生无菌性松动的过程中,这些由巨噬细胞和骨髓间充质干细胞分泌的趋化因子如 IL-8、MCP-1、MIP-1 α 、CCL17/TARC、CCL22/MDC 等的表达量会在磨损颗粒的刺激下增加。在这些趋化因子的作用下,巨噬细胞和破骨细胞会向假体周围迁移从而加速骨溶解的发生。MCP-1、MIP1 (CCL-2)、MIP-1 α (CCL3) 等趋化因子表达量的增加已经在从发生假体松动的患者的假体周围取得的组织中和在不同种类磨损颗粒刺激下的体外培养的巨噬细胞分子生物学分析中得到了证实^[10]。与 MIP-1 α 由巨噬细胞分泌不同,在钛颗粒和 PMMA 颗粒的刺激下成纤维细胞也会分泌更多的 MCP-1。应用 UHMWPE 和 PMMA 颗粒负荷下的小鼠模型体外实验表明,CCR2 受体基因敲除或 CCR2 受体被拮抗后,巨噬细胞迁移明显受到抑制,阻断 CCR1 或 CCR2 能抑制体外实验中骨髓间充质干细胞的迁移,阻断破骨细胞和人成骨细胞的 CCL17/TARC 和 CCL22/MDC 及其在破骨细胞前体的同源性受体 CCR4 会降低破骨细胞前体向骨-假体界面的迁移量^[11]。

2. 破骨细胞:破骨细胞在骨溶解相关的固有免疫应答过程中发挥了极其重要的作用,它是主要的骨吸

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81170386)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一临床医学院骨外科

收细胞,这一作用主要是由激动 RANK - RANKL - OPG 通路实现的,RANK - RANKL - OPG 通路可以激活一系列的下级信号转导途径从而激活破骨细胞,但是无论在病理过程中还是在正常状态下,这一通路都会和其他通路相互作用从而调整骨动态平衡^[12]。研究发现 RANK/OPG 的比率与骨溶解相关,因此研究者普遍认为 RANK/OPG 比率升高可导致骨溶解的发生^[12]。同时研究表明,RANKL 于 RANK 结合后可激活该通路,但 RANKL 主要不是由破骨细胞分泌的,这个观点主要由 3 个方面证实:①对骨溶解患者假体周围界膜的组织学检测中发现 RANKL 表达升高,同时界膜组织内有大量巨噬细胞、白细胞和成纤维细胞聚集;② OPG 或 RANK 拮抗剂 RANK - Fc 与 RANKL 结合,或敲除 RANK 基因后可以阻止磨损颗粒诱导的骨溶解的发生;③利用聚乙烯或金属磨损颗粒构建小鼠骨溶解模型后发现,RANK/OPG 比率升高,磨损颗粒可促进局部成纤维细胞、成骨细胞表达 RANKL。研究结果提示,磨损颗粒通过调节 RANK/OPG 比率促进破骨细胞产生和调节破骨细胞的活性。巨噬细胞被磨损颗粒激活后可以释放一系列细胞因子,其中 TNF - α 在骨溶解过程中发挥了重要作用,有文献报道 TNF - α 可以不依赖 RANK - RANKL - OPG 途径而促进破骨细胞分化和成熟^[13]。

在磨损颗粒的刺激下,破骨细胞会表达一些标志物如抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 和玻连蛋白受体 (VNR),这些标志物会使巨噬细胞定植与骨与软组织界面上而不会在软组织与假体界面上。尽管有文献报道称巨噬细胞也可以表达这些标志物并进行骨吸收^[14]。但是因为它们数量上相对较少并且其个体发育需要破骨细胞的参与,所以巨噬细胞在对假体周围骨破坏的作用上比破骨细胞小很多,因此,破骨细胞是主要的破坏假体周围骨组织的细胞。

3. Toll 样受体通路:TLR 是一组结构上高度保守的跨膜受体,可作为信号转导受体。TLR 家族的每一个亚型都可以被不同的刺激物激动并针对这一类型的抗原激活免疫反应。例如,TRL2 可以介导被钴镍合金、聚乙烯等无机物引起的炎性反应。TLR 包含的 Toll/IL - 1 受体 (IL - 1R) (TIR) 结构域会启动炎性信号转导级联。被激活的 TLR 会募集衔接蛋白如髓样分化因子 (MyD88),Toll/IL - 1 受体结构域衔接蛋白 (TIRAP),信号分子 Trif 及 Trifold 相关衔接分子 (TRAM)。MyD88 继而募集 IL - 1R 相关激酶 (IRAK - 1) 和 IRAK - 4 从而使 IRAK - 1 发生

IRAK - 4 依赖的磷酸化。磷酸化的 IRAK - 1 将信号转导给肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF - 6) 衔接蛋白。TRAF - 6 接下来通过 TAK - 1 依赖的途径激活 IKK 复合体,后者被激活后使 I κ B 去磷酸化释放出 NF - κ B (P50/P65)。NF - κ B 由胞质进入胞核诱导一系列免疫反应相关基因表达^[15]。TRL 信号转导也可不依赖 MyD88 而通过 TRIF 进行,如 TLR3 信号转导途径就只通过 TRIF6 作为衔接蛋白进行。尽管是否依赖 MyD88 作为衔接蛋白都可以激活 NF - κ B 进行核转运,但研究表明,骨溶解过程中发挥作用的主要是 TLR4 和 TLR2,在磨损颗粒的刺激下这两个通路主要通过 MyD88 作为衔接蛋白进行信号转导^[16]。其中 TLR4 主要被 LPS 激动而 TLR2 则被不含 LPS 的磨损颗粒激动。

4. NALP3 通路:NALP3 是一种存在于巨噬细胞浆中的受体蛋白,其主要功能是介导促炎性因子前体裂解为可从巨噬细胞分泌出的成熟体。近几年有文献报道了 NALP3 炎性体参与了在磨损颗粒诱导的假体周围骨溶解过程。NALP3 被磨损颗粒激活后发生构象改变而后通过和 PYD 的相互作用与其衔接蛋白 ASC16 结合,由此形成的复合体通过 CARD 结构域募集 caspase - 1 前体^[17,18]。然后 caspase - 1 前体裂解成为具有活性的 caspase - 1,caspase - 1 可以使促炎性因子如 IL - 1 β 、IL - 18 前体等成熟从而发挥促炎性作用,加快骨溶解过程。已有文献证实抑制 caspase 功能后骨溶解显著受到抑制^[19]。

二、适应性免疫

淋巴细胞在“金属过敏”的过程中发挥了重要作用。许多研究在假体周围的组织中发现了 T 型和 B 型淋巴细胞。与磨损颗粒诱导的免疫反应相关的 T 细胞亚型主要是辅助 T 细胞 (TH) 而不是 Tc 或 Ts 细胞。在参与适应性免疫的 TH 细胞中,TH1 细胞占主导地位,因为研究发现了大量由 TH1 诱导的细胞因子如 IFN - γ 和 IL - 2,此外,相对少量的 IL - 17、fractalkine 趋化因子和 CD40 也说明 TH17 可能参与其中。有研究者认为,TH 细胞可以募集巨噬细胞,所以如 IFN - γ 、IL - 2 和 TNF - α 表达量的增加并不能说明 TH1 细胞参与了骨溶解相关的适应性免疫过程。但是经过对组织学的 mRNA 检测后确定这些由 TH1 细胞分泌的细胞因子的表达量的确增加了^[20]。进一步研究表明,巨噬细胞和淋巴细胞可以通过共同的受体和细胞因子如 IL - 15、IL - 15R 和 IL - 2、IL - 2R 而相互作用。这些 TH 细胞参与的反应被认为是

IV型迟发型超敏反应(DTH)。对磨损颗粒的迟发型超敏反应是一种由细胞介导的慢速适应性免疫应答。金属抗原敏感化并激活 DTH 相关的 T 细胞,使其释放多种细胞因子而募集激活的巨噬细胞,如释放 MCAF 促进单核细胞趋化向发生 DTH 的部位,IFN- γ 和 TNF- β 作用于内皮细胞而促进巨噬细胞等迁移,MIF 使巨噬细胞定殖在发生 DTH 的部位。被激活的巨噬细胞会表达更多的第 2 型主要组织相容性复合体(class II MHC)和 IL-2,从而激活更多的 DTH 相关 T 细胞,这些 DTH 反应相关 T 细胞又会激活和募集更多的巨噬细胞,这样就使得假体周围的炎症反应愈加严重。这种不间断的 DTH 反应会造成广泛的组织损伤从而导致假体的提前松动,淋巴细胞转化试验和皮肤过敏试验是唯一可以预测和诊断个体是否会发生针对磨损颗粒的广泛免疫反应的途径。

三、展 望

综上所述,固有免疫和适应性免疫均在磨损颗粒诱导的假体周围骨溶解过程中起到了重要作用,Toll 样受体通路和 NALP3 通路均参与了相关的信号转导,巨噬细胞、破骨细胞、淋巴细胞等及其释放的粗言行因子和趋化因子缩短了关节假体的使用年限。近年来虽然有研究通过抑制免疫反应过程中的重要因子、蛋白,如 TLR 拮抗剂及 MyDD8 基因敲除等在抑制骨溶解方面取得了一定效果,但具体机制有待于进一步研究,这也会成为未来的一个主要研究方向。

参考文献

- Cordova LA, Stresing V, Gobin B, *et al.* Orthopaedic implant failure: aseptic implant loosening - the contribution and future challenges of mouse models in translational research [J]. Clin Sci, 2014, 127(5): 277-293
- Gordon A, Greenfield EM, Eastell R, *et al.* Individual susceptibility to periprosthetic osteolysis is associated with altered patterns of innate immune gene expression in response to pro-inflammatory stimuli [J]. J Orthop Res, 2010, 28(9): 1127-1135
- Zhang K, Jia TH, McQueen D, *et al.* Circulating blood monocytes traffic to and participate in the periprosthetic tissue inflammation [J]. Inflamm Res, 2009, 58(12): 837-844
- Krueger AP, Singh G, Beil FT, *et al.* Ceramic femoral component fracture in total knee arthroplasty: an analysis using fractography, fourier-transform infrared microscopy, contact radiography and histology [J]. J Arthroplasty, 2014, 29(5): 1001-1004
- Rao AJ, Gibon E, Ma T, *et al.* Revision joint replacement, wear particles, and macrophage polarization [J]. Acta biomaterialia, 2012, 8(7): 2815-2823
- Nine MJ, Choudhury D, Hee AC, *et al.* Wear debris characterization and corresponding biological response: artificial hip and knee joints [J]. Materials, 2014, 7(2): 980-1016
- Grosse S, Höfl PJ, Lilleng PK, *et al.* Comparison of wear particle exposure and tissue reactions in patients with cemented and uncemented titanium hip prostheses that failed due to osteolysis [J]. Bone Joint J Orthop: Proceedings Supplement, 2014, 96(Supplement 11): 41
- Tsutsumi R, Xie C, Wei X, *et al.* PGE2 signaling through the EP4 receptor on fibroblasts upregulates RANKL and stimulates osteolysis [J]. J Bone Miner Res, 2009, 24(10): 1753-1762
- Irani A, Huang Z, Ma T, *et al.* Continuous infusion of UHMWPE particles induces increased bone macrophages and osteolysis [J]. Clin Orthop Relat R, 2011, 469(1): 113-122
- VanOs R, Lildhar LL, Lehoux EA, *et al.* In vitro macrophage response to nanometer-size chromium oxide particles [J]. J Biomed Mater Res B, 2014, 102(1): 149-159
- Huang Z, Ma T, Ren PG, *et al.* Effects of orthopedic polymer particles on chemotaxis of macrophages and mesenchymal stem cells [J]. J Biomed Mater Res A, 2010, 94(4): 1264-1269
- Park SJ, Lee EJ, Kim YH, *et al.* Inhibitory effects of gossypin on RANKL-induced osteoclast differentiation and bone resorption in murine macrophages (LB364) [J]. Faseb J, 2014, 28(Supplement 1): LB364
- Jin S, Park JY, Hong JM, *et al.* Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin gallate on titanium particle-induced TNF- α release and in vivo osteolysis [J]. Exp Mol Med, 2011, 43(7): 411-418
- Ross RD, Virdi AS, Liu S, *et al.* Particle-induced osteolysis is not accompanied by systemic remodeling but is reflected by systemic bone biomarkers [J]. J Orthop Res, 2014, 32(7): 967-973
- Pearl JI, Ma T, Irani AR, *et al.* Role of the Toll-like receptor pathway in the recognition of orthopedic implant wear-debris particles [J]. Biomaterials, 2011, 32(24): 5535-5542
- Nakao J, Fujii Y, Kusuyama J, *et al.* Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) inhibits LPS-induced inflammatory responses of osteoblasts through TLR4-MyD88 dissociation [J]. Bone, 2014, 58: 17-25
- Gomes MTR, Campos PC, Oliveira FS, *et al.* Critical role of ASC inflammasomes and bacterial type IV secretion system in caspase-1 activation and host innate resistance to Brucella abortus infection [J]. J Immunol, 2013, 190(7): 3629-3638
- Mankan AK, Dau T, Jenne D, *et al.* The NLRP3/ASC/Caspase-1 axis regulates IL-1 β processing in neutrophils [J]. Eur J Immunol, 2012, 42(3): 710-715
- Smith RL, Schwarz EM. Are biologic treatments a potential approach to wear-and corrosion-related problems? [J]. Clin Orthop Relat R, 2014, 472(12): 3740-3746
- Soong L, Wang H, Shelite TR, *et al.* Strong type 1, but impaired type 2, immune responses contribute to orientia tsutsugamushi-induced pathology in mice [J]. Plos Neglect Trop D, 2014, 8(9): e3191

(收稿日期:2014-12-22)

(修回日期:2015-02-20)