

编者按 每年的10月12日为“世界关节炎日”,随着人口老龄化加剧,骨性关节炎患病人数逐年增加,不仅严重影响了老年群体的生活质量,还对社会造成严重的经济负担。据相关研究统计,十分之一中国人患有骨性关节炎。近年来,中国骨性关节炎患者约有1.33亿,女性多于男性,多为中老年人。为更好践行健康中国战略,《医学研究杂志》本期“特别关注”栏目聚焦骨性关节炎研究相关进展,旨在呼吁全社会尽早关注关节健康,做到早预防、早诊断、早治疗。力求在提升国民对骨关节科学养护意识的同时,也为行业科研诊治水平的进步提供更多洞察和前沿思考。

细胞衰老在骨关节炎中的研究进展

段 戡 戴 易 宗亿洲 延伟伟 张志敏 岳 星 袁长深 梅其杰

摘 要 细胞衰老是一种细胞永久性增殖停滞的状态。衰老细胞(senescent cells, SNCS)在各种组织中的持续存在和积累也会损害机体的功能,并与许多年龄相关疾病发病机制有关。骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种慢性损伤诱发的关节疾病,与细胞衰老密切相关;其特征多表现为软骨退化、骨硬化和关节持续性炎症。本文就相关细胞衰老过程中的生理病理变化对OA的影响,以及通过清除或减少SNCS分泌的衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)来达到缓解OA的进展进行综述,以期对OA的治疗提供新的思路和方法。

关键词 骨关节炎 细胞衰老 衰老相关分泌表型

中图分类号 R681

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.10.002

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种常见的慢性衰老性关节疾病^[1]。OA的临床特征主要表现为关节功能障碍、疼痛、僵硬,功能受限,甚至活动丧失^[2]。OA是导致人类残疾的第15大原因,全世界有超过5亿的OA患者^[3]。在OA终末期,关节置换手术是一种有效的治疗方式,但置换的假体寿命有限。因此,OA的预防和早期诊疗显得尤为重要^[4]。

细胞衰老是细胞对内源性和外源性的应激反应,这种应激反应包括端粒功能紊乱、癌基因激活和持续的DNA损伤等,其突出特点是细胞永久性的增殖停滞^[5]。细胞衰老可分为复制性衰老与应激导致的早衰,后者则可分为DNA损伤、氧化应激、表观遗传所致衰老、炎症性衰老等多种类型^[6]。而应激导致早衰的这一类细胞的典型特征包括信号通路p21、p16

和p53的表达增加,以及衰老相关 β 半乳糖苷酶(senescence-associated β -galactosidase, SA- β -Gal)活性升高和高活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平^[7]。细胞由于发生衰老现象,从而分泌一系列的细胞因子,并改变衰老细胞周边局部微环境的现象被称为衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)^[8]。此外,衰老细胞(senescent cells, SNCS)还表现出许多其他特征,包括促炎性细胞因子、趋化因子、生长因子和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)的分泌,这些细胞因子都被称为SASP。SASP可以通过增加局部促炎介质和基质降解酶的表达水平来促进OA的发生、发展^[9]。

在OA发病过程中,软骨细胞的各种衰老标志物水平异常升高(如SA- β -Gal活性和p16基因的积累),这表明关节组织内细胞衰老可能参与OA的发生、发展^[10]。探究细胞衰老在OA发生、发展中的作用机制,对于OA的治疗以及新疗法的提出具有非常重要的研究意义。因此,越来越多的临床研究开始关注细胞衰老在OA发生、发展中的作用机制。此外,

基金项目:国家自然科学基金资助项目(82160912,82060875)

作者单位:530023 南宁,广西中医药大学第一附属医院骨科(段戡、袁长深、梅其杰);530022 南宁,广西中医药大学研究生学院(戴易、宗亿洲、延伟伟、张志敏、岳星)

通信作者:梅其杰,电子邮箱:meiqijie2003@126.com

研究表明,滑膜细胞、间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCS)的衰老同样也参与OA的进展过程^[7,11]。本文将对软骨细胞衰老、滑膜细胞衰老、MSCS衰老以及SASP与OA关系的研究进展做一综述,以期对OA研究及治疗提供新思路。

一、细胞衰老与OA

1. 软骨细胞衰老与OA:关节软骨是一种由细胞外基质(extracellular matrix, ECM)组成的高度特异化的组织,ECM则是由稀疏分布的常驻软骨细胞合成。因此,软骨细胞的存活对于维持人体关节的软骨基质至关重要,软骨细胞功能的损害将导致关节软骨的损伤^[12]。Xu等^[13]实验表明,与注射非衰老细胞的小鼠比较,注射移植SNCS的小鼠表现出更为明显的OA症状,说明软骨细胞衰老与膝关节OA之间存在一定的因果关系。Gao等^[14]研究发现,对SA-β-Gal标志物具有阳性反应的软骨细胞比例随着膝关节病变程度和膝关节内SA-β-Gal水平的增加而增加。进一步研究发现,胰岛素样生长因子-1通过激活SA-β-Gal和上调p53、p21蛋白质表达水平促进大鼠关节软骨细胞的衰老^[15]。此外,胰岛素样生长因子-1增强了Akt磷酸化,而用Akt抑制剂MK-2206处理,结果发现显著抑制了SA-β-Gal、p53、p21 mRNA和蛋白质这些标志物的产生。

2. 滑膜细胞衰老与OA:在生理条件下,滑膜具有巨噬细胞和成纤维细胞的表型特征。在OA进程中,观察到的滑膜组织学的变化通常包括炎症性“滑膜炎”的特征:如滑膜增生、巨噬细胞和淋巴细胞的浸润、血管生成和纤维化^[16]。成纤维细胞上调分解代谢的基因(如MMP1和MMP13和凝集酶ADAMTS-4和ADAMTS-5)和促炎性细胞因子(如IL-1、IL-6、TNF-α、NO和前列腺素E₂),从而导致关节破坏和OA疼痛的发生^[17]。研究发现,将衰老滑膜成纤维细胞移植到小鼠的膝关节中可诱导软骨侵蚀和骨赘的形成^[13]。因此,衰老滑膜细胞通过改变关节内微环境,从而导致OA的发生、发展。在体外,辐照巨噬细胞表现出衰老标志物p16和p21的表达增加和促炎性细胞因子SA-β-gal、COX-2的表达水平升高以及体外氧化应激反应的发生。当把受辐射的巨噬细胞转移到小鼠体内时,其炎症反应会加剧^[18]。此外,Culemann等^[19]研究发现,常驻滑膜CX3CR1巨噬细胞形成的动态膜样结构可以物理隔离关节并限制炎症,这些滑膜CX3CR1巨噬细胞来自嵌入滑膜组织中的单核细胞,并且与浸润的单核细胞衍生巨噬细胞

具有相反的功能。因此,滑膜成纤维细胞和滑膜巨噬细胞可能通过调控炎症反应介导OA中的细胞衰老。

3. MSCS衰老与OA:MSCS具有分化潜力和旁分泌的特性,其可通过旁分泌功能分泌可溶性因子和释放细胞外囊泡(如外泌体)^[20]。旁分泌机制是MSCS的主要作用方式,MSCS的再生作用归因于其具有抗炎和软骨保护作用的旁分泌机制^[21]。巨噬细胞根据其激活状态被分为M1和M2亚型。衰老的MSCS显示细胞外囊泡和SASP的分泌增加,刺激先天免疫细胞受体或巨噬细胞从M2到M1型的极化^[22]。此外,衰老的基质细胞还可以诱导巨噬细胞亚群可逆的表达某些衰老标志物,这表明衰老和病变的组织中表达p16和SA-β-Gal阳性的细胞可能是巨噬细胞^[23]。实验表明,与未衰老的MSCS共培养的巨噬细胞表达M2型巨噬细胞标志物Arg1和IL-10,而与衰老MSCS的共培养的巨噬细胞增加了与M1型巨噬细胞相关的TNF-α^[22]。而在OA的发生过程中,炎症细胞因子TNF-α以及基质金属蛋白酶MMP13等分解代谢因子迅速上调,加速软骨细胞的凋亡和基质降解^[24]。因此,MSCS衰老对M1型巨噬细胞起促进作用,而对M2型巨噬细胞起到抑制作用。此外,在小鼠OA模型中,巨噬细胞在滑膜和关节腔中聚集,M1滑膜巨噬细胞的增加加速了OA进展^[25]。

外泌体是已知最小的膜结合纳米囊泡。而外泌体是旁分泌递质的重要载体,并促进细胞之间的交流。MSCS衍生的外泌体可以延缓OA的进展。外泌体可以减轻软骨的损伤,减少骨质增生的形成和滑膜巨噬细胞的浸润,从而抑制M1样巨噬细胞的产生,促进M2样巨噬细胞的生成。在体外,用外泌体处理的巨噬细胞能保持软骨细胞的软骨特性并抑制肥大,骨髓MSCS衍生的外泌体通过促进滑膜巨噬细胞从M1到M2的表型转化而缓解OA^[24]。因此,骨髓MSCS衍生的外泌体可能通过介导巨噬细胞极化过程影响细胞衰老,从而改变疾病OA的转归。

二、细胞衰老在治疗OA中的应用

目前,OA的常见治疗方案是首先使用非甾体抗炎药,主要用于缓解疼痛症状,但是非甾体类抗炎药具有一定的不良反应,包括胃肠道刺激、消化道溃疡和肾血流量减少并伴氮质血症^[26]。其次,OA患者可以尝试关节内注射皮质激素来缓解OA的症状。然而,在关节内注射皮质激素后的患者,在临床上观察到4个主要的不良影响,即OA的进展加速、软骨下

不全骨折、并发骨头坏死和骨质流失^[27]。此外,关节内黏滞剂(将透明质酸钠注射到关节内)是一种适用于治疗慢性中度症状性 OA 的有效措施,但是 OA 伴有关节肿胀的情况并不适用^[28]。然而,这些措施都不能完全有效阻止或延缓 OA 患者的疾病进展。近年来,越来越多的关于细胞衰老对于 OA 作用机制的研究为其治疗提供了一个新的思路与方法。选择性清除 SNCS 与抑制 SASP、使用 MMP 抑制剂成为研究治疗 OA 的新热点。

1. 选择性清除 SNCS: Senolytics 是一类能够通过细胞凋亡选择性杀死 SNCS 的小分子物质^[29]。UBX0101 是一种抗衰老的化合物抑制剂。UBX0101 最初被证明可以减轻小鼠模型中的 OA 表型。当 UBX0101 注射到老年小鼠的关节软骨中时,SNCS 通过细胞凋亡而被消除,同时疼痛减轻,软骨部分恢复。此外,当把 UBX0101 被添加到 OA 患者中分离出的软骨细胞中,可以观察到 SNCS 被选择性清除。消除 SNCS 后,衰老和炎症标志物的表达减少,而软骨组织 ECM 蛋白的表达增加。由此可知,UBX0101 是清除了 SNCS 而不是阻断其 SASP 分泌^[30]。Navitoclax 是一种 Senolytic 药物,可以选择性地清除 SNCS,其具有很强的亲和力并靶向与抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-xL 结合,从而诱导细胞凋亡^[31]。研究表明,Navitoclax 可促进软骨细胞的生成,并在单层和三维细胞培养的 OA 软骨细胞中减少炎症,以及在大鼠模型中消灭衰老的 OA 软骨细胞^[32]。总之,通过不同途径去除 SNCS,可以有效地干预 OA 的发生、发展。

2. 抑制 SASP: SNCS 和 SASP 的发生可能导致炎症介质(包括细胞因子和趋化因子以及在关节组织破坏中重要的基质降解酶)的产生增加^[9]。近年来研究发现,IL-17 是 SNCS 和免疫系统之间的关键因素^[33]。在小鼠创伤后 OA 模型中,关节内注射中和 IL-17 的抗体可以减少关节退化和 SNCS 的负担。目前还没有进行临床试验验证膝关节 OA 患者使用 IL-17 抗体司库奇尤单抗的疗效。这种方法的缺点是需要持续的、甚至可能是终身的治疗来对抗 SASP 中的因素。因为这种方法并不能消除产生这些因素的 SNCS 产生。此外,在一系列的体内和体外实验中发现,ROF(Rhoifolin)抑制软骨细胞中 SASP 因子的表达和衰老表型,并通过 Nrf2/NF- κ B 轴改善 OA 的进展^[34]。因此,我们推测抑制 SNCS 中 SASP 可以有效延缓 OA 的发展进程。

3. MMP 抑制剂: 早期 OA 涉及关节软骨变性的

各种蛋白酶被认为是 OA 诊断和治疗的靶标。关节软骨是由软骨细胞和 ECM 组成的没有血管的薄层结缔组织。它有 4 层结构,包括浅层、中层、深层和钙化软骨区。软骨细胞稀疏地分布在各个区域的 ECM 中。关节软骨中合成代谢和分解代谢之间的平衡受复杂因子网络的调节,但主要由 MMP 及其内源性金属蛋白酶(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPS)组织抑制剂维持^[35]。MMP 是锌依赖性内肽酶家族,参与 ECM 中各种蛋白质的降解。此外,MMP13 是参与软骨降解的主要 MMP 亚型,具有降解 II 型胶原蛋白的特殊能力^[36]。姜黄素是一种具有生物活性的植物化学物质,其最活跃的主要成分是类姜黄素,其可以通过抗炎、抗氧化应激和抗分解代谢活性等作用发挥对软骨的保护作用。姜黄素可以通过抑制激活蛋白 1(activator protein 1, AP-1)途径和核因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)的活性来抑制 MMP 的基因表达,从而调控 OA 的转归。因此,可以开发与姜黄素有关的制剂抑制 MMP 的表达,从而延缓 OA 的进展^[37]。

三、展 望

OA 的发生、发展过程中涉及到各种不同的细胞分泌因子。细胞衰老在 OA 病理中起到至关重要作用,其表现出各种与衰老相关的表型。近年来有关细胞衰老的研究有较大进展,但目前细胞衰老与 OA 的具体发病机制仍未完全阐明。

本文分别从软骨细胞衰老、滑膜细胞衰老、MSCS 衰老及相关 SASP 的角度阐述其与 OA 作用机制,但目前抑制细胞衰老的相关药物具有一定不良反应的难题亟需解决,因此我们需要更深入研究细胞衰老如何诱导获得这些特定表型的确切机制,一旦能够确定导致 OA 的主要危险因素的相关衰老细胞,那么使用消除这些 SNCS 的特定药物将有望成为治疗 OA 的新方法,并有可能在不久的将来成为预防和治疗 OA 的新热点。

参考文献

- 1 Jang S, Lee K, Ju JH. Recent updates of diagnosis, pathophysiology, and treatment on osteoarthritis of the knee[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2619
- 2 Katz JN, Arant KR, Loeser RF. Diagnosis and treatment of hip and knee osteoarthritis: a review[J]. *JAMA*, 2021, 325(6): 568-578
- 3 Hunter DJ, March L, Chew M. Osteoarthritis in 2020 and beyond: a lancet commission[J]. *Lancet*, 2020, 396(10264): 1711-1712
- 4 Glyn-Jones S, Palmer AJ, Agricola R, et al. osteoarthritis[J]. *Lancet*, 2015, 386(9991): 376-387
- 5 Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D, et al. Cellular senescence in

- ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(2): 75–95
- 6 Hernandez – Segura A, Nehme J, Demaria M. Hallmarks of cellular senescence[J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(6): 436–453
 - 7 Wu CJ, Liu RX, Huan SW, *et al.* Senescent skeletal cells cross – talk with synovial cells plays a key role in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2022, 24(1): 59
 - 8 Ohtani N. The roles and mechanisms of senescence – associated secretory phenotype (SASP): can it be controlled by senolysis? [J]. *Inflamm Regen*, 2022, 42(1): 11
 - 9 Greene MA, Loeser RF. Aging – related inflammation in osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(11): 1966–1971
 - 10 McCulloch K, Litherland GJ, Rai TS. Cellular senescence in osteoarthritis pathology[J]. *Aging Cell*, 2017, 16(2): 210–218
 - 11 Li Y, Wu Q, Wang Y, *et al.* Senescence of mesenchymal stem cells (review)[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(4): 775–782
 - 12 Hwang HS, Kim HA. Chondrocyte apoptosis in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11): 26035–26054
 - 13 Xu M, Bradley EW, Weivoda MM, *et al.* Transplanted senescent cells induce an osteoarthritis – like condition in mice[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2017, 72(6): 780–785
 - 14 Gao SG, Zeng C, Li LJ, *et al.* Correlation between senescence – associated beta – galactosidase expression in articular cartilage and disease severity of patients with knee osteoarthritis[J]. *Int J Rheum Dis*, 2016, 19(3): 226–232
 - 15 Zhao LD, Bie LY, Hu L, *et al.* IGF – 1 induces cellular senescence in rat articular chondrocytes via Akt pathway activation[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(5): 49
 - 16 Scanzello CR, Goldring SR. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis[J]. *Bone*, 2012, 51(2): 249–257
 - 17 Jeon OH, David N, Campisi J, *et al.* Senescent cells and osteoarthritis: a painful connection[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(4): 1229–1237
 - 18 Sadhu S, Decker C, Sansbury BE, *et al.* Radiation – induced macrophage senescence impairs resolution programs and drives cardiovascular inflammation[J]. *J Immunol*, 2021, 207(7): 1812–1823
 - 19 Culemann S, Grüneboom A, Nicolás – ávila Já, *et al.* Locally renewing resident synovial macrophages provide a protective barrier for the joint[J]. *Nature*, 2019, 572(7771): 670–675
 - 20 Keshthkar S, Azarpira N, Ghahremani MH. Mesenchymal stem cell – derived extracellular vesicles; novel frontiers in regenerative medicine [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 63
 - 21 He L, He T, Xing J, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cell – derived exosomes protect cartilage damage and relieve knee osteoarthritis pain in a rat model of osteoarthritis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 276
 - 22 Lee BC, Yu KR. Impact of mesenchymal stem cell senescence on inflammation[J]. *BMB Rep*, 2020, 53(2): 65–73
 - 23 Hall BM, Balan V, Gleiberman AS, *et al.* p16(Ink4a) and senescence – associated β – galactosidase can be induced in macrophages as part of a reversible response to physiological stimuli[J]. *Aging (Albany NY)*, 2017, 9(8): 1867–1884
 - 24 Zhang J, Rong Y, Luo C, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cell – derived exosomes prevent osteoarthritis by regulating synovial macrophage polarization[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(24): 25138–25152
 - 25 Zhang H, Lin C, Zeng C, *et al.* Synovial macrophage M1 polarisation exacerbates experimental osteoarthritis partially through R – spondin – 2[J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 77(10): 1524–1534
 - 26 Katz JN, Arant KR, Loeser RF. Diagnosis and treatment of hip and knee osteoarthritis: a review[J]. *JAMA*, 2021, 325(6): 568–578
 - 27 Kompel AJ, Roemer FW, Murakami AM, *et al.* Intra – articular corticosteroid injections in the hip and knee: perhaps not as safe as we thought? [J]. *Radiology*, 2019, 293(3): 656–663
 - 28 Legré – Boyer V. Viscosupplementation: techniques, indications, results [J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2015, 101(1 Suppl): S101–S108
 - 29 Kirkland JL, Tchkonina T. Senolytic drugs: from discovery to translation[J]. *J Intern Med*, 2020, 288(5): 518–536
 - 30 Jeon OH, Kim C, Laberge RM, *et al.* Local clearance of senescent cells attenuates the development of post – traumatic osteoarthritis and creates a pro – regenerative environment[J]. *Nat Med*, 2017, 23(6): 775–781
 - 31 Jia K, Dai Y, Liu A, *et al.* Senolytic agent navitoclax inhibits angiotensin II – Induced heart failure in mice[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2020, 76(4): 452–460
 - 32 Yang H, Chen C, Chen H, *et al.* Navitoclax (ABT263) reduces inflammation and promotes chondrogenic phenotype by clearing senescent osteoarthritic chondrocytes in osteoarthritis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(13): 12750–12770
 - 33 Faust HJ, Zhang H, Han J, *et al.* IL – 17 and immunologically induced senescence regulate response to injury in osteoarthritis[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(10): 5493–5507
 - 34 Chen H, Qin J, Shi H, *et al.* Rhoifolin ameliorates osteoarthritis via the Nrf2/NF – κ B axis: in vitro and in vivo experiments[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30(5): 735–745
 - 35 Zhang FJ, Yu WB, Luo W, *et al.* Effect of osteopontin on TIMP – 1 and TIMP – 2 mRNA in chondrocytes of human knee osteoarthritis in vitro[J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8(2): 391–394
 - 36 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
 - 37 Zhang Z, Leong DJ, Xu L, *et al.* Curcumin slows osteoarthritis progression and relieves osteoarthritis – associated pain symptoms in a post – traumatic osteoarthritis mouse model[J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(1): 128

(收稿日期: 2022 – 09 – 25)

(修回日期: 2022 – 10 – 17)