

## TWEAK 及其受体 Fn14 在大鼠骨关节炎(OA) 关节软骨和滑膜中的表达

蔡国平<sup>1</sup> 俞永林<sup>2Δ</sup> 熊敏<sup>1</sup> 张新潮<sup>1</sup> 刘德昌<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>复旦大学附属金山医院骨科 上海 201508; <sup>2</sup>复旦大学附属华山医院骨科 上海 200040)

**【摘要】** 目的 检测肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导因子(tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis, TWEAK)及其受体成纤维细胞生长因子诱导因子14(fibroblast growth factor inducible 14, Fn14) mRNA及蛋白在大鼠骨关节炎(osteoarthritis, OA)关节软骨和滑膜中的表达情况,初步了解 TWEAK 及其受体 Fn14 在 OA 发病中的作用。方法 42 只大鼠中随机选取 18 只行膝关节前交叉韧带切断(anterior cruciate ligament transection, ACLT)制作 OA 模型作为实验组,另外 18 只接受手术但不切断前交叉韧带作为假手术组,剩余 6 只作为正常对照组。饲养至 1、2、4 周时,实验组及假手术组随机各取 6 只处死,6 只正常对照组在第 4 周处死,采集所有动物关节软骨及滑膜组织,用实时定量 PCR 及 Western blot 分别检测 TWEAK 和 Fn14 在 mRNA 及蛋白水平的表达情况。结果 术后第 2 和第 4 周实验组动物关节滑膜中 TWEAK 及 Fn14 的 mRNA 及蛋白表达水平显著上调,与假手术组及正常对照组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );术后第 2 周实验组动物关节软骨中 TWEAK 及 Fn14 的 mRNA 及蛋白水平与假手术组及正常对照组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 TWEAK 及其受体 Fn14 的 mRNA 及蛋白表达水平在大鼠 OA 关节软骨及滑膜组织中的表达显著增高,它们可能是参与 OA 的重要细胞诱导因子。

**【关键词】** 骨关节炎(OA); 肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导因子(TWEAK); 成纤维细胞生长因子诱导因子 14 (Fn14)

**【中图分类号】** R 681 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2013.03.003

## The expressions of TWEAK and its receptor Fn14 in the articular cartilage and synovium of rat osteoarthritis (OA) model

CAI Guo-ping<sup>1</sup>, YU Yong-lin<sup>2Δ</sup>, XIONG Min<sup>1</sup>, ZHANG Xin-chao<sup>1</sup>, LIU De-chang<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Orthopaedics, Jinshan Hospital, Fudan University, Shanghai 201508, China;

<sup>2</sup> Department of Orthopaedics, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

**【Abstract】 Objective** To detect the expressions of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) and its receptor fibroblast growth factor inducible 14 (Fn14) mRNA and protein in the articular cartilage and synovium of rat osteoarthritis (OA) model, and to understand the preliminary role of TWEAK and its receptor Fn14 in osteoarthritis. **Methods** In the 42 rats, 18 were randomly selected to establish an OA model by the operation of anterior cruciate ligament transection (ACLT) as the experimental group, 18 received the surgery without ACLT as the sham group, and the other 6 were treated as the normal control group. At the timepoint of the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 4<sup>th</sup> week, one third of rats in every group were sacrificed and used for collecting articular cartilage and synovium tissues. The levels of TWEAK and Fn14 mRNA and protein were detected by the methods of real-time PCR and Western

blot, respectively. **Results** TWEAK and its receptor Fn14 mRNA and protein expressive levels in synovium of the model group at 2 and 4 weeks after operation were significantly increased, compared with the respective sham group and normal control group ( $P < 0.05$ ); while TWEAK and its receptor Fn14 mRNA and protein expression only in the model group cartilage 2 weeks significantly increased compared with the respective sham group and normal control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The mRNA and protein levels of TWEAK and its receptor Fn14 in articular cartilage and synovium tissue of rats with OA are significantly higher than those in the normal ones, which may be the important cell-inducible factors in the process of (OA) pathogenesis.

**【Key words】** osteoarthritis (OA); tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK); fibroblast growth factor inducible 14 (Fn14)

\* This work was supported by Shanghai Health Bureau Scientific Research Project (20114258) and Shanghai Jinshan Health Bureau Scientific Research Project (2009-22).

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是最常见的关节疾病之一,在老年人中发病率较高。国际 OA 专题会议(1995年)对该病的定义为:OA 是力学和生物学因素作用下导致软骨细胞、细胞外基质和软骨下骨降解与合成耦联失衡所致。尽管 OA 的发病机制目前仍不明确,但已有研究表明,各种致病因素在炎性细胞因子参与下,促进了关节软骨和滑膜中各种蛋白酶的表达,引起关节软骨基质胶原纤维网和蛋白多糖的降解,最终导致关节软骨发生退行性改变<sup>[1]</sup>。

肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导因子(tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis, TWEAK)是一种属 TNF 配体超家族成员的细胞因子,能微弱诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[2]</sup>。研究发现,TWEAK 可在多种细胞上表达,是一种多功能的细胞因子,它们通过与细胞表面的特异性受体结合,不仅可诱导细胞凋亡,而且具有促进炎性细胞因子和趋化因子分泌以及细胞增生等生物学效应<sup>[3]</sup>。那么,在 OA 骨关节软骨基质退变降解过程中,TWEAK 是否协同其他炎性细胞因子、趋化因子和 MMPs 等共同参与了关节软骨降解的演变过程?它是否也在在 OA 形成机制中充当一定角色?本研究拟通过大鼠 OA 模型检测 TWEAK 及其受体 Fn14 mRNA 及蛋白在病变关节软骨及滑膜中的表达情况,拟对 TWEAK 在 OA 发病机制中的作用有初步的认识。

## 材料和方 法

**动物模型** 清洁级 Wistar 大鼠 42 只,8 周龄,雌雄各半,质量(200±30)g(上海斯莱克实验动物

有限公司)。随机选取 18 只作为实验组,行膝关节前交叉韧带切断(anterior cruciate ligament transection, ACLT)制作 OA 模型<sup>[4]</sup>;另取 18 只作为假手术组,动物仅做手术而不切断前交叉韧带;剩余 6 只大鼠作为正常对照组。饲养至 1、2、4 周时,分别从实验组及假手术组随机各取 6 只处死,正常对照组动物在第 4 周处死,采集所有动物关节软骨及滑膜组织。

**主要试剂及仪器** Trizol(美国 Gibco 公司),SYBRGreen PCR 试剂盒(广州达晖生物公司),低温冷冻离心机(美国 Sigma 公司),实时定量 PCR 检测仪(7500 Sequence Detection System,美国 Abi 公司),旋涡振荡器(XW-80A,上海青浦沪西仪器厂),手握式电动匀浆机(德国 Fluko 公司),PVDF 膜(美国 Millipore 公司,孔径为 0.45 μm),电泳仪(mini protean 3 cell,美国 Bio-Rad 公司),电转仪(PS-9,大连竞迈科技有限公司),扫膜仪(Odyssey,美国 Li-Cor 公司),兔抗鼠 TWEAK 抗体(美国 Santa Cruz 公司),兔抗鼠 FN14 抗体(美国 Epitomics 公司),二抗(羊抗兔,美国 Abcam 公司),GAPDH 抗体(美国 Abcam 公司)。

**组织中总 RNA 抽提** 100 mg 组织中加入 1 mL Trizol(预冷),电动匀浆器(8 000 r/min)处理 30~45 s。将匀浆液移至 1.5 mL Eppendorf 管中,加入氯仿 200 μL,振荡摇匀 15 s,4℃下 12 000 r/min 离心 15 min。小心吸出水层,加入二倍体积的异丙醇(约 600 μL)混匀,-20℃冰箱内静置 30 min。取出后于 4℃、10 000 r/min 离心 15 min,弃上清。沉淀用 650 μL 的 75%乙醇洗涤沉淀,于 4℃、8 000 r/min 离心 5 min;

将沉淀按上一步骤重复处理一次后,充分吸尽残留液,打开管盖,置干式恒温器 65℃ 烘干;加入 20  $\mu\text{L}$  DEPC 处理水溶解 RNA,经分光光度仪 280 nm 与 260 nm 测定分析并定量后,所有样品置 -20℃ 冰箱保存待用。

**逆转录 cDNA** 按试剂盒说明将经过稀释后的 RNA 样本进行逆转录,反应体系(20  $\mu\text{L}$ ):5 $\times$  逆转录缓冲液 4  $\mu\text{L}$ ;oligo (dT) 0.5  $\mu\text{L}$ ;dNTPs 0.5  $\mu\text{L}$ ;逆转录酶 MMLV 1  $\mu\text{L}$ ;DEPC 处理水 10  $\mu\text{L}$ ;RNA 模板 4  $\mu\text{L}$ 。反应条件:37℃,1 h;95℃,5 min。

**Real-time PCR** 根据 TWEAK 及 Fn14 基因序列信息设计并合成 PCR 引物,TWEAK 引物序列:(F) 5'-AGGTGTCTGGGCTGTTGC-3',(R)5'-TAGAGGGTGGAGGAGTGGG-3';Fn14 引物序列:(F) 5'-AGCAAGCACCAGGCAACG-3',(R) 5'-CGCATCCCAGGCAGAAGT-3';GAPDH 引物序列:(F) 5'-TATCGGACGCCTGGTTAC-3',(R) 5'-CTGTGCCGTTGAACTTGC-3'。扩增体系(50  $\mu\text{L}$ ):SYBR Green Mix 32.5  $\mu\text{L}$ ;上游引物(F) 0.5  $\mu\text{L}$ ;下游引物(R) 0.5  $\mu\text{L}$ ;14.5  $\mu\text{L}$ ;ddH<sub>2</sub>O 14.5  $\mu\text{L}$ ,cDNA 模板 2  $\mu\text{L}$ 。扩增反应条件:95℃,5 min;95℃ 预变性 5 min;95℃ 变性 30 s,56℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 20 s,共进行 40 个循环;72℃,5 min;72℃ 再次延伸 5 min。数据采用仪器自带软件分析(ABI Prism 7500 SDS Software),用  $\Delta\Delta\text{Ct}$  法进行各基因表达的相对定量。

**蛋白提取** 100 mg 组织剪碎后加 1 mL RIPA 蛋白提取液,冰浴条件下制成匀浆,于 4℃、14 000 r/min 离心 15 min,弃沉淀。上清用 BCA 法测定蛋白浓度后用液氮保存待用。

**TWEAK 和 Fn14 蛋白的 Western blot 分析** 40  $\mu\text{g}$  蛋白经 12% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离

后,电转移至 PVDF 膜。将膜用 5% 脱脂奶粉(PBST 配制)室温封闭 2 h,加一抗(1:400 稀释),室温孵育 2 h;PBST 洗涤 3 次,加 HRP 标记的二抗(1:5 000 稀释),室温 2 h;PBST 洗涤 3 次,用 ECL 显色。用分析软件(GK-330C+凝胶成像分析系统)计算目的蛋白和内参 GAPDH 谱带灰度值,以目的蛋白和内参谱带灰度值的比值示目的蛋白的相对表达水平。

**数据分析** 实验数据录入 SPSS 17.0 统计软件,对计量数据进行正态性检验,以  $\bar{x} \pm s$  表示,再进行单因素方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

**OA 大鼠模型的建立** 在 OA 大鼠模型造模后 1、2 和 4 周,大鼠的膝关节均有不同程度的 OA 表现。1 周时,关节积液增多,滑膜增生水肿,关节软骨水肿增厚;2 周时,滑膜增生水肿加重,关节软骨水肿增厚,软骨面多数色泽灰暗,且有磨损及不规则,似天鹅绒;4 周时,滑膜增生严重,软骨面糜烂,部分出现溃疡。相同时间点假手术组及正常对照组大鼠无明显滑膜增生,关节软骨光泽、平整和透明。

**大鼠关节滑膜组织中 TWEAK mRNA 和蛋白的表达** 造模后 1 周,实验组大鼠滑膜组织中 TWEAK mRNA 的表达水平与正常对照组及假手术组相比,差异无统计学意义;造模后 2 周和 4 周,实验组大鼠滑膜组织中 TWEAK mRNA 的表达水平明显高于假手术组及正常对照组( $P < 0.05$ ,表 1)。不同组动物滑膜组织中 TWEAK 蛋白的 Western blot 图谱如图 1 所示,经分析计算,各组动物 TWEAK 蛋白水平与基因表达水平相仿(表 2)。

表 1 不同组大鼠滑膜组织中 TWEAK mRNA 的表达(相对表达平均水平)

Tab1 The expressions of TWEAK mRNA in synovium tissues of rats in different groups (average level of relative expression)

Group	The 1 <sup>st</sup> week	The 2 <sup>nd</sup> week	The 4 <sup>th</sup> week
Model	0.034 2 $\pm$ 0.008 7	0.053 1 $\pm$ 0.006 8	0.046 5 $\pm$ 0.012 1
Normal	0.017 4 $\pm$ 0.003 9	0.030 8 $\pm$ 0.014 6 <sup>(1)</sup>	0.027 6 $\pm$ 0.017 2 <sup>(1)</sup>
Sham	0.025 1 $\pm$ 0.017 8	0.028 5 $\pm$ 0.020 8 <sup>(1)</sup>	0.024 3 $\pm$ 0.012 3 <sup>(1)</sup>
F	3.159	4.788	4.315
P	0.072	0.025	0.033

vs. the model group,<sup>(1)</sup>  $P < 0.05$ .

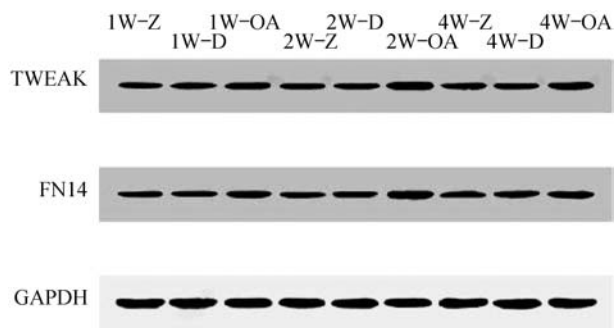


图1 不同大鼠滑膜组织中 TWEAK 及 Fn14 蛋白表达的 Western blot 图谱

Fig 1 The expressions of TWEAK and Fn14 protein in synovium tissues of rats in different groups detected by Western blot

Z: Normal group; D: Sham group; OA: Model group.

表2 不同组大鼠滑膜组织中 TWEAK 蛋白的表达  
Tab 2 The expressions of TWEAK protein in synovium tissues of rats in different group ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	The 1 <sup>st</sup> week	The 2 <sup>nd</sup> week	The 4 <sup>th</sup> week
Model	0.64 ± 0.13	0.83 ± 0.14	0.69 ± 0.20
Normal	0.59 ± 0.12	0.64 ± 0.18 <sup>(2)</sup>	0.58 ± 0.11 <sup>(2)</sup>
Sham	0.59 ± 0.22	0.63 ± 0.20 <sup>(2)</sup>	0.59 ± 0.13 <sup>(1)</sup>
F	4.643	200.972	21.901
P	0.097 4	0.003 4	0.009 4

vs. the model group, <sup>(1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>(2)</sup>  $P < 0.01$ .

大鼠关节软骨组织中 TWEAK mRNA 和蛋白的表达 实验组大鼠 OA 关节软骨组织中 TWEAK mRNA 的表达水平仅造模后第 2 周高于相应假手术组及正常对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 表 3), 造模后第 1 及第 4 周的表达与相应假手术组及正常对照组差异无统计学意义。

表3 不同组大鼠软骨组织中 TWEAK mRNA 的表达(相对表达平均水平)

Tab 3 The expressions of TWEAK mRNA in cartilage tissues of rats in different groups (average level of relative expression) ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	The 1 <sup>st</sup> week	The 2 <sup>nd</sup> week	The 4 <sup>th</sup> week
Model	0.000 37 ± 0.000 13	0.000 77 ± 0.000 44	0.000 61 ± 0.000 30
Normal	0.000 31 ± 0.000 27	0.000 41 ± 0.000 07 <sup>(1)</sup>	0.000 36 ± 0.000 12
Sham	0.000 49 ± 0.000 36	0.000 32 ± 0.000 10 <sup>(1)</sup>	0.000 34 ± 0.000 19
F	0.645	4.662	2.948
P	0.539	0.027	0.083

vs. the model group, <sup>(1)</sup>  $P < 0.05$ .

不同组大鼠软骨组织 TWEAK 蛋白的 Western blot 图谱如图 2 所示, 经分析计算, 各组大鼠 TWEAK 蛋白水平与基因表达水平相仿(表 4)。

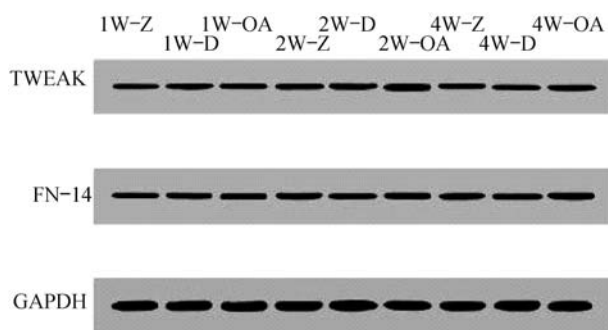


图2 不同组大鼠软骨组织中 TWEAK 及 Fn14 蛋白的 Western blot 图谱

Fig 2 The expressions of TWEAK and Fn14 protein in cartilage tissues of rats in different groups detected by Western blot

Z: Normal group; D: Sham group; OA: Model group.

表4 不同组大鼠软骨组织中 TWEAK 蛋白的表达

Tab 4 The expression of TWEAK protein in cartilage tissues rats in different groups ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	The 1 <sup>st</sup> week	The 2 <sup>nd</sup> week	The 4 <sup>th</sup> week
Model	0.60 ± 0.18	0.72 ± 0.21	0.63 ± 0.21
Normal	0.61 ± 0.12	0.59 ± 0.17 <sup>(2)</sup>	0.62 ± 0.11
Sham	0.61 ± 0.12	0.57 ± 0.19 <sup>(2)</sup>	0.60 ± 0.17
F	2.228	52.960	0.502
P	0.204 9	0.004 8	0.517 8

vs. the model group, <sup>(1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>(2)</sup>  $P < 0.01$ .

大鼠滑膜组织中 Fn14 mRNA 和蛋白的表达 造模后 1 周, 实验组 Fn14 mRNA 的表达与正常对照组及假手术组相比, 差异无统计学意义。造模后 2 周和 4 周, 实验组 Fn14 mRNA 的表达分别高于相应的假手术组及正常对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 表 5)。图 1 和表 6 分别为不同组大鼠滑膜组织中 Fn14 蛋白的 Western blot 图谱和表达水平, 各组动物的 Fn14 蛋白表达情况与基因表达情况相似。

表 5 不同组大鼠滑膜组织中 Fn14 mRNA 的表达(相对表达平均水平)

Tab5 The expression of Fn14 mRNA in synovium tissues of rats in different groups (average level of relative expression) ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	The 1 <sup>st</sup> week	The 2 <sup>nd</sup> week	The 4 <sup>th</sup> week
Model	0.014 1 ± 0.006 3	0.023 4 ± 0.008 2	0.021 6 ± 0.006 4
Normal	0.008 1 ± 0.003 0	0.011 2 ± 0.006 3 <sup>(1)</sup>	0.009 4 ± 0.008 1 <sup>(2)</sup>
Sham	0.009 3 ± 0.006 0	0.010 8 ± 0.008 4 <sup>(1)</sup>	0.011 7 ± 0.003 7 <sup>(1)</sup>
F	2.121	5.169	6.253
P	0.154	0.020	0.011

vs. the model group, <sup>(1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>(2)</sup>  $P < 0.01$ .

表 6 不同组大鼠滑膜组织中 Fn14 蛋白的表达

Tab 6 The expression of Fn14 protein in synovium tissues of rats in different groups ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	The 1 <sup>st</sup> week	The 2 <sup>nd</sup> week	The 4 <sup>th</sup> week
Model	0.66 ± 0.14	0.84 ± 0.14	0.80 ± 0.16
Normal	0.69 ± 0.13	0.61 ± 0.15 <sup>(2)</sup>	0.58 ± 0.13 <sup>(2)</sup>
Sham	0.68 ± 0.13	0.65 ± 0.11 <sup>(1)</sup>	0.62 ± 0.14 <sup>(1)</sup>
F	5.168	94.302	24.701
P	0.085 4	0.006 2	0.007 6

vs. the model group, <sup>(1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>(2)</sup>  $P < 0.01$ .

表 7 不同组大鼠软骨组织中 Fn14 mRNA 的表达(相对表达平均水平)

Tab 7 The expression of Fn14 mRNA in cartilage tissues of rats in different groups (average level of relative expression) ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	The 1 <sup>st</sup> week	The 2 <sup>nd</sup> week	The 4 <sup>th</sup> week
Model	0.003 1 ± 0.002 1	0.003 7 ± 0.002 1	0.003 1 ± 0.001 5
Normal	0.001 8 ± 0.000 8	0.001 6 ± 0.000 5 <sup>(1)</sup>	0.002 5 ± 0.002 1
Sham	0.002 8 ± 0.004 0	0.001 8 ± 0.001 0 <sup>(1)</sup>	0.002 9 ± 0.003 2
F	0.413	4.003	0.103
P	0.669	0.040	0.902

vs. the model group, <sup>(1)</sup>  $P < 0.05$ .

表 8 不同组大鼠软骨组织中 Fn14 蛋白的表达

Tab 8 The expression of Fn14 protein in cartilage tissues of rats in different groups ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	The 1 <sup>st</sup> week	The 2 <sup>nd</sup> week	The 4 <sup>th</sup> week
Model	0.63 ± 0.12	0.86 ± 0.14	0.62 ± 0.11
Normal	0.62 ± 0.14	0.60 ± 0.15 <sup>(1)</sup>	0.61 ± 0.13
Sham	0.61 ± 0.16	0.59 ± 0.18 <sup>(1)</sup>	0.60 ± 0.12
F	1.223	151.622	2.658
P	0.3291	0.0084	0.2614

vs. the model group, <sup>(1)</sup>  $P < 0.05$ .

## 讨 论

OA 是最常见的关节疾病之一,主要特征是关节软骨的组成、结构和功能发生改变,表现为关节软骨变性、萎缩,软骨下骨硬化、囊性变、关节边缘骨赘形

大鼠关节软骨组织中 Fn14 mRNA 和蛋白的表达大鼠 OA 关节软骨组织中 Fn14 mRNA 的表达仅在造模后第 2 周高于假手术组及正常对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,表 7),造模后第 1 及第 4 周的表达与相应假手术组及正常对照组相比,差异无统计学意义。图 2 和表 8 分别为不同组动物软骨组织 Fn14 蛋白的 Western blot 图谱和表达水平,各组动物的 Fn14 蛋白表达情况与基因表达情况相似。

成等<sup>[5-6]</sup>,病情严重可致残<sup>[7-8]</sup>。既往对 OA 的病理研究集中在异常关节生物力学的影响,近几年主要侧重于探讨软骨细胞的病理生物学机制。目前认为,在各种致病因素作用下,炎性细胞因子介导的关节软骨和滑膜中各种蛋白酶表达增高所引起的关节软骨基质胶原纤维网和蛋白多糖的降解,是导致关节软骨退变的主要原因之一<sup>[9]</sup>。在 OA 的发展病程中,各种细胞因子相互协同,相互调节,最终主要刺激基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的合成与分泌,促进 MMPs 的表达增高,从而促进软骨的降解。其中白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )是参与 OA 病理过程最主要的细胞因子<sup>[10-11]</sup>。

TWEAK 是一个多功能细胞因子。Kamijo 等<sup>[12]</sup>将 rTWEAK 与 RA、OA 患者滑膜细胞共孵育后,发

现培养液中 MMP-1 和 RANTES 等细胞因子显著增高。Perper 等<sup>[13]</sup>研究表明, TWEAK 能特异性抑制软骨形成, 从而阻碍软骨的内源性修复。既然在 OA 骨关节软骨基质退变降解过程中, MMPs、细胞因子和趋化因子等共同参与了关节软骨降解的演变过程, 上述诸因素通过协同作用或相互调节促使或加速 MMPs 在 OA 软骨降解中的产生, 那么, TWEAK 及其受体 Fn14 是否也是参与的因素之一?

本研究的结果显示: 在 OA 大鼠模型造模后第 1、2 和 4 周, 大鼠膝关节都有不同程度的 OA 表现。虽然实验组动物滑膜组织中 TWEAK 及其受体 Fn14 的 mRNA 和蛋白表达水平在造模后第 1 周与假手术组及正常对照组比较, 差异无统计学意义, 但在造模后的第 2 周及第 4 周均高于假手术组及正常对照组。该结果与实验组动物造模后不同时间点的骨关节损伤情况一致, 即随造模后时程的延长, 滑膜增生加重。

从软骨的表达情况来看, 3 组动物 TWEAK 及 Fn14 的 mRNA 和蛋白表达水平均较低, 仅在造模后第 2 周, 实验组 TWEAK 及 Fn14 的 mRNA 和蛋白表达高于假手术组及正常对照组, 第 1 及 4 周与假手术组及正常对照组比较, 差异无统计学意义。我们认为, 实验组动物造模后第 4 周时软骨 TWEAK 及 Fn14 的 mRNA 和蛋白表达水平与软骨的实际情况相符, 因为任何物质的合成均与细胞活动能力有关, 实验组动物造模后第 4 周时软骨面糜烂, 部分出现溃疡, 软骨下骨质裸露, 说明软骨受损严重, 甚至大量死亡, 以致于影响到 DNA 和蛋白的合成。

鉴于 TWEAK 具有促进炎性细胞因子、趋化因子分泌以及细胞增生等生物学效应<sup>[3]</sup>, 因此, 我们认为实验组动物关节滑膜组织中 TWEAK 及其受体 Fn14 的 mRNA 和蛋白表达的增加可能是 OA 疾病启动因素之一, 当同属细胞诱导因子的 TWEAK 与其受体 Fn14 表达增加及相互作用后, 有可能诱导滑膜炎性介质或炎性细胞因子大量生成, 进而促进 MMPs 合成与分泌, 从而导致软骨降解。此外, 实验组动物造模后第 4 周时滑膜组织与软骨的受损也间接地反映了关节滑膜组织中 TWEAK 及其受体 Fn14 的 mRNA 和蛋白表达增加可能是 OA 疾病启动因素, 因为滑膜组织在造模后第 4 周主要表现为增生而非崩溃, 软骨则表现为糜烂和溃疡。

需要说明的是本研究仅对关节滑膜及软骨中 TWEAK 及其受体 Fn14 的 mRNA 和蛋白表达与

OA 疾病初步探讨, 尚有许多问题有待解决。例如, 为何动物 ACTL 术后滑膜与软骨内 TWEAK 及其受体 Fn14 的 mRNA 和蛋白表达会增加, TWEAK 其受体水平增加后促进软骨降解究竟与哪些物质有关联, 或者通过其他哪种途径促进 OA 发展等。

### 参 考 文 献

- [1] Iannone F, Lapadula G. The pathophysiology of osteoarthritis [J]. *Aging Clin Exp Res*, 2003, 15(5): 364-372.
- [2] Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, et al. TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(51): 32401-32410.
- [3] Burkly LC, Michaelson JS, Hahm K, et al. TWEAKing tissue remodeling by a multifunctional cytokine: role of TWEAK/Fn14 pathway in health and disease [J]. *Cytokine*, 2007, 40(1): 1-16.
- [4] 刘建湘, 杜靖远, 杨述华. 大鼠实验性骨关节炎模型的建立及病理特征 [J]. *华中科技大学学报: 医学版*, 2009, 38(1): 98-102.
- [5] Guccione AA, Felson DT, Anderson JJ, et al. The effects of specific medical conditions on the functional limitations of elders in the Framingham Study [J]. *Am J Public Health*, 1994, 84(3): 351-358.
- [6] Michaud CM, McKenna MT, Begg S, et al. The burden of disease and injury in the United States 1996 [J]. *Popul Health Metr*, 2006, 4: 11.
- [7] Baker-LePain JC, Lane NE. Role of bone architecture and anatomy in osteoarthritis [J]. *Bone*, 2012, 51(2): 197-203.
- [8] Baker-LePain JC, Lane NE. Relationship between joint shape and the development of osteoarthritis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2010, 22(5): 538-543.
- [9] Loeser RF. Aging and osteoarthritis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2011, 23(5): 492-496.
- [10] Goldring MB, Otero M. Inflammation in osteoarthritis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2011, 23(5): 471-478.
- [11] Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2011, 7(1): 33-42.
- [12] Kamijo S, Nakajima A, Kamata K, et al. Involvement of TWEAK/Fn14 interaction in the synovium inflammation of RA [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2008, 47(4): 442-450.
- [13] Perper SJ, Browning B, Burkly LC, et al. TWEAK is a novel arthritogenic mediator [J]. *J Immunol*, 2006, 177(4): 2610-2620.

(收稿日期: 2012-09-15; 编辑: 王蔚)