

β-连环蛋白与膝骨关节炎相关性研究

代龙金¹⁾, 邓紫玉²⁾, 尹昭²⁾, 孙翳³⁾, 林俊⁴⁾, 万美珍¹⁾

(1) 云南中医学院临床医学院, 云南昆明 650500; 2) 云南省第一人民医院干部保健科; 3) 检验科; 4) 风湿免疫科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 探讨膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 患者患侧膝关节液及血清中 β-连环蛋白 (β-catenin) 表达水平与病变程度的关系. **方法** KOA 患者 65 例作为研究对象, 其中早期组 30 例, 中晚期组 35 例, 并以 30 例健康志愿者为对照组, 用 ELISA 法检测膝关节液和血清中 β-catenin 的水平. **结果** KOA 患者关节液和血清中 β-catenin 的表达均高于对照组, 且随着病变程度的加重, 膝关节液和血清中 β-catenin 的水平显著增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$). **结论** β-catenin 表达水平在 KOA 患者关节液和血清中均升高, 且与病变程度呈正相关, 总之, β-catenin 的高表达与骨关节炎的发生发展密切相关.

[关键词] β-连环蛋白; 膝关节; 骨关节炎

[中图分类号] R684.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2015) 12-0120-03

The Relationship between β-Catenin and Knee Osteoarthritis

DAI Long-jin¹⁾, DENG Zi-yu²⁾, YIN Zhao²⁾, SUN Yi³⁾, LIN Jun⁴⁾, WAN Mei-zhen¹⁾

(1) *Clinical Medical College, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650500;*
2) *Dept. of Geriatric;* 3) *Dept. of Laboratory;* 4) *Dept. of Rheumatology and Immunology, The First Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650032, China)*

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between the levels of β-catenin in synovial fluid and knee osteoarthritis in serum as well as the degree of pathological change. **Methods** 65 cases of patients with knee osteoarthritis were chosen, 30 of those suffered from early-stage knee osteoarthritis, and 35 from medium-later-stage knee osteoarthritis. The control group was 30 healthy volunteers. The levels of β-catenin in both synovial fluid and serum were detected by ELISA. **Results** The levels of β-catenin in both synovial fluid and serum in patients with osteoarthritis were higher than those of the control group. Additionally, the levels of β-catenin became higher as the degree of pathological change increasing seriously. The differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The elevated levels of β-catenin in both synovial fluid and serum in patients with osteoarthritis was closely associated with the degrees of pathological change. In summary, higher expression of β-catenin in both synovial fluid and serum was might closely paralld with the serious degree of osteoarthritis.

[Key words] β-Catenin; Knee; Osteoarthritis

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种滑膜关节的退行性病变, 全身多个关节均可受累其中膝骨关节炎发病率最高, 严重影响中老年人的生活质量, 甚至造成生活能力丧失, 给个人、家庭及社会

带来了沉重的负担^[1]. 随着人口老龄化进程的加快, OA 已成为亟待解决的公众健康问题. 其发病机制尚未完全阐明, 近年来对 Wnt 信号通路在 OA 发病中的作用机制有了深入研究, 且表明

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目 (2014FZ067)

[作者简介] 代龙金 (1989~), 男, 云南玉溪市人, 在读硕士研究生, 主要从事中西医结合临床内科, 老年病学及风湿免疫病学工作.

[通讯作者] 邓紫玉. E-mail: ziyu-d@163.com

Wnt/ β -catenin 信号通路对关节软骨的增殖、分化及凋亡起重要调节作用, 并对软骨外基质分解代谢有重要影响^[2]. Dellaccio 等^[3]研究发现 Wnt-16 和 β -catenin 在中重度骨关节炎损伤软骨中的表达水平平均升高, 且 β -catenin 在退变的软骨细胞内也增多. 目前尚缺乏膝关节液和血清中 β -catenin 表达的报道, 本研究用 ELISA 法检测 OA 患者膝关节液和血清中 β -catenin 的水平, 以探讨其在 OA 发病中的作用.

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2014 年 6 月至 2015 年 7 月就诊于云南省第一人民医院的膝骨关节 (knee osteoarthritis, KOA) 患者 65 例, 均符合美国风湿病学会 2001 年的骨关节炎诊断标准, 其中男 25 例, 女 40 例, 年龄 41~79 岁, 平均 57.9 岁. 30 例健康志愿者为对照组.

1.2 排除标准

(1) 有炎症、创伤及手术史, 有肿瘤、结核、糖尿病等疾病的患者; (2) 诊断或疑似类风湿性关节炎等自身免疫性疾病; (3) 有感染性关节炎等关节疾病的患者; (4) 检查前 2 周内使用过糖皮质激素、非甾体抗炎药的患者; (5) 妊娠、哺乳期妇女^[4].

1.3 主要试剂

采用美国 R&D 公司生产的 β -catenin 活性测定试剂盒, 由云南杰美科技有限公司提供.

1.4 实验方法

采集关节液和血液, 4℃, 5 000 r/min 离心, 取上清液分装于 Eppendorf 管中, 冻存待测. 采用 ELISA 法检测样品中 β -catenin 的浓度. 待测前样品恢复至室温, 严格按照说明书进行操作.

1.5 统计学分析

采用 SPSS 统计软件分析所得数据, 以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用单因素方差分析及 q 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 表示结果有统计学意义.

2 结果

2.1 不同组别关节液中 β -catenin 的浓度

对照组关节液中 β -catenin 的浓度为 (13.28 ± 1.40) pM, 早期 OA 组为 (36.79 ± 6.36) pM, 中晚期组为 (64.89 ± 7.55) pM. 可见, 早期

OA 组和中晚期组的表达均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 2 组比较, 差异也有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1.

2.2 不同组别血清中 β -catenin 的浓度

早期 OA 组血清中 β -catenin 的浓度为 (21.22 ± 4.06) pM, 中晚期组为 (37.25 ± 4.42) pM, 正常对照组血清中大部分标本无法检测出 β -catenin 浓度, 在分析时按 < 10 pM 进行统计. 结果表明, 早期和中晚期 OA 组均高于正常对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 2 组比较, 差异也有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2.

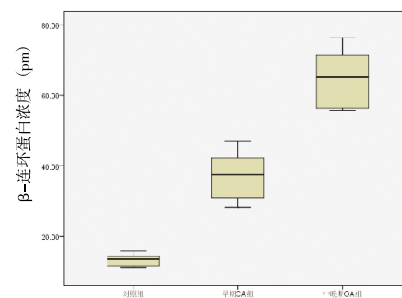


图 1 β -连环蛋白在关节液中的表达

Fig. 1 The β -catenin expression in synovial fluid

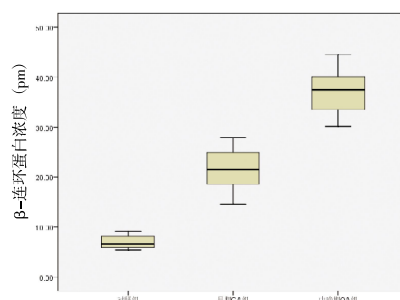


图 2 β -连环蛋白在血清中的表达

Fig. 2 The β -catenin expression in serum

3 讨论

骨关节炎是中老年人最常见的关节疾病, 其病理特点为关节软骨组织的合成与分解代谢失衡, 导致软骨细胞过度成熟、骨赘形成、关节软骨破坏及关节间隙变窄^[5]. 由于具体发病机制不明天, 故临床上治疗 OA 仍缺乏特异性手段. 目前针对 Wnt 信号通路在 OA 发病中作用机制的研究方兴未艾, 而对 β -catenin 在发病过程中作用的研究已成为热点.

β -catenin 是被 Ctnnb1 基因编码的一种多功能蛋白, 主要位于细胞膜, 少量游离存在于胞浆中. 它作为 Wnt/ β -catenin 信号通路的重要组分,

在胞质内积累后可进入细胞核与 Lef/Tcf 相互作用, 进而调节许多相关基因^[6]。正常情况下, β -catenin 经糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β) 磷酸化后经泛素-蛋白酶体途径分解, 保持其含量在较低水平。Wnt 信号系统激活后, Wnt 与 Frizzled 蛋白结合后使胞浆内的 Dishevelled (Dvl) 磷酸化而激活, 活化的 Dvl 抑制 GSK-3 β 活性, 从而阻断 β -catenin 的分解并在细胞内聚集, 然后转移至细胞核内与转录因子 (TCF) / 淋巴增强因子 (LEF) 结合, 从而调节 cyclin D1、c-myc 等数个靶基因的表达^[7]。

通过将 β -catenin 条件活化性基因导入转基因小鼠中, Zhu 等^[8]发现成年小鼠 β -catenin 的活化会引起软骨细胞出现提前分化, 并产生骨关节炎样改变; 而通过特异性的抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路, 也可以使小鼠产生类似于骨关节炎的症状^[9]。王哲彦等^[10]检测骨关节炎模型小鼠, 发现其软骨组织中的 β -catenin 表达水平明显升高。Nicholas 等^[11]研究发现 β -catenin 和 COX-2 在骨关节炎关节软骨中表达水平上调, 并指出高水平的 β -catenin 可能通过上调 COX-2 的表达, 继而调控下游的 OPG/RANKL/RANK 等信号通路。此外, 郝建彬等^[12]通过检测不同退变程度软骨组织中 β -catenin 的表达水平, 发现其在不同退变程度软骨组织中的表达存在显著差异, 且与病变程度相关。修磊等^[13]比较正常人与原发性骨关节炎患者的关节软骨组织中 β -catenin 和 TCF-4 的表达, 发现 β -catenin 及 TCF-4 的表达水平随软骨组织损伤程度的加重而升高。上述研究结果表明, β -catenin 的过度表达在某种程度上参与了 OA 的病变过程。

本组研究资料中, KOA 患者膝关节液和血清中 β -catenin 的表达均高于对照组, 且随着病变程度的加重, 膝关节液和血清中 β -catenin 的表达水平显著增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。可见 β -catenin 的表达水平在 KOA 患者膝关节液和血清中均升高, 且与病变程度呈正相关。结合本实验结果及已有的文献报道, 笔者认为 β -catenin 的高表达与 OA 的发生发展密切相关。其机制可能是 Wnt 信号系统激活后 β -catenin 的分解受抑制而在胞质内聚集, 高水平的 β -catenin 通过激活靶基因的转录, 进而引发下游某些因子含量变化, 最终导致软骨细胞代谢异常, 引起 OA 的发生。

综上所述, OA 患者关节液和血清中 β -catenin 的过度表达可能在一定程度上参与了 OA 的发生发展, 这对 OA 发病机制研究及临床诊治提供了新的思路。但鉴于 OA 发病机制复杂, 早

期存在多种因子、多条通路间的相互作用, 同时因研究条件限制, 本研究样本量偏小、仅对 β -catenin 进行检测分析, 其与 OA 的相关性及其程度有待进一步证实。

[参考文献]

- [1] 唐芳, 马武开, 姚血明. Wnt/ β -catenin 信号通路与骨关节炎[J]. 风湿病与关节炎, 2014, 3(2):70-73.
- [2] YUASA T, OTANI T, KOIKE T, et al. Wnt/ β -catenin signaling stimulates matrix catabolic genes and activity in articular chondrocytes; its possible role in joint degeneration [J]. Lab Invest, 2008, 88(3):264-274.
- [3] DELLACCIO F, DE BARI C, ELTAWIL N M, et al. Identification of the molecular response of articular cartilage to injury, by microarray screening: Wnt-16 expression and signaling after injury and in osteoarthritis [J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(5):1410-1421.
- [4] 邓紫玉, 孙鹭, 林俊, 等. 聚蛋白多糖酶与膝骨关节炎相关性研究[J]. 中国实用医药, 2011, 6(24):13-14.
- [5] 王超华, 张子博, 朱梅, 等. Wnt/ β -catenin 信号通路与骨关节炎发病机制的研究[J]. 天津医药, 2011, 39(6):483-486.
- [6] 周炎, 刘世清. Wnt/ β -catenin 信号通路对骨关节炎软骨的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2015, 23(1):72-75.
- [7] CHUN J S, YANG S, PARK M, et al. Wnt signaling in cartilage development and degeneration [J]. BMB Rep, 2008, 41(7):485-494.
- [8] ZHU M, TANG D, WU Q, et al. Activation of β -catenin signaling in articular chondrocytes leads to osteoarthritis-like phenotype in adult β -catenin conditional activation mice [J]. J Bone Miner Res, 2009, 24(1):12-21.
- [9] ZHU M, CHEN M, ZUSCIK M, et al. Inhibition of β -catenin signaling in articular chondrocytes results in articular cartilage destruction [J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(7):2053-2064.
- [10] 王哲彦, 王文雅, 张柳, 等. 阿仑膦酸钠对 IL-1 β 体外诱导培养的大鼠膝关节软骨细胞影响的实验研究 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2011, 25(16):50-55.
- [11] NICHOLAS L, JOANNE L, ROBERT LG, et al. Cost effectiveness of COX-2 selective inhibitors and traditional NSAIDs alone or in combination with a proton pump inhibitor for people with osteoarthritis [J]. BMJ, 2009, 339:b2538.
- [12] 郝建彬, 关敬之. β -catenin、TCF-4 和 ADAMTS-4 在人不同退变程度软骨组织中表达的相关性研究 [J]. 内蒙古医学杂志, 2014, 47(2):151-153.
- [13] 修磊, 方晓敏, 李楠, 等. β -catenin 和 TCF-4 在人不同退变程度软骨组织中的表达及意义 [J]. 宁夏医科大学学报, 2014, 36(7):759-762.

(2015-09-21 收稿)