

· 综述 ·

细胞衰老在骨关节炎中作用的研究进展[△]

徐伟^a, 廖冬发^a, 王娟^{b*}, 吴畏^b

(西部战区总医院 a: 骨科; b: 麻醉疼痛科, 四川成都 610083)

摘要: 骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种引起关节软骨不可逆的进行性破坏的退行性疾病, 但目前尚无有效的方法来延缓 OA 的进展。近年来, 越来越多证据表明 OA 的发生、发展与关节组织中衰老细胞数量的增加相关, 衰老细胞及其衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 在软骨退变和 OA 中发挥重要作用, 靶向清除衰老细胞可以阻止关节软骨退变和 OA 进展。鉴于细胞衰老在 OA 中的重要作用, 本文就细胞衰老与 OA 的因果关系, 细胞衰老导致 OA 发生、发展的潜在细胞分子机制, 以及靶向清除衰老细胞治疗 OA 的相关进展作一综述。

关键词: 骨关节炎, 细胞衰老, 衰老相关分泌表型, 软骨细胞, 软骨干细胞

中图分类号: R684.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 15-1386-05

Research progress on the role of cellular senescence in osteoarthritis // XU Wei^a, LIAO Dong-fa^a, WANG Juan^b, WU Wei^b. a. Department of Orthopedics, b. Department of Anesthesiology, General Hospital, Western Theater Command of CPLA, Chengdu 610083, China

Abstract: Osteoarthritis (OA) is a degenerative disease caused by irreversible and progressive destruction of articular cartilage. However, there is no effective method to delay the progression of OA. In recent years, more and more evidences show that the occurrence and development of OA is correlated with the increase of senescent cells in joint tissue, and senescent cells and their senescent associated secretory phenotype (SASP) have been implicated in cartilage degeneration and OA. Targeted clearance of senescent cells can prevent articular cartilage degeneration and OA progression. In view of the important role of cell senescence in OA, this paper reviews the progress of the causal relationship between cell senescence and OA, the potential cellular and molecular mechanisms of cell senescence leading to the occurrence and development of OA, as well as targeted removal of senescent cells in OA therapy.

Key words: osteoarthritis, cellular senescence, senescent associated secretory phenotype, chondrocyte, cartilage stem cells

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种以软骨细胞肥大和凋亡、软骨细胞外基质的降解、滑膜的炎症浸润以及软骨下骨重塑作为主要病理特征的慢性致残性疾病, 病因复杂, 涉及多种因素, 包括遗传易感性、炎症、肥胖和年龄等, 其中最突出的危险因素是年龄的增长^[1, 2]。探索 OA 发生、发展的细胞分子机制, 有望为 OA 的防治提供新的策略。近年来大量研究表明细胞衰老在 OA 发生、发展中发挥重要作用, 研究人员已经开始探索通过靶向衰老的关节组织细胞作为一种治疗 OA 的新方法^[3]。鉴于细胞衰老在 OA 中的重要作用, 本文就细胞衰老与 OA 的因果关系, 细胞衰老导致 OA 发生、发展的潜在细胞分子机制, 以及靶向清除衰老细胞治疗 OA 的进展作一综述。

1 细胞衰老概述

细胞衰老是细胞不可逆地脱离细胞周期进入生长停滞的一种稳定的终末状态。端粒缩短、氧化应激、染色质结构异常等因素导致核 DNA 损伤, DNA 损伤激活 DNA 损伤修复反应 (DNA damage response, DDR) (图 1a), 通过 p53/p21/pRb/E2F 及 p16/pRb/E2F 信号转导途径引发细胞周期阻滞 (图 1b), 最终引起细胞衰老^[4]。

在细胞衰老研究中, 缺乏单一的、特异性的生物标志物来识别体外培养或组织样本中的衰老细胞。目前, 衰老细胞的识别依赖于多种标记物的组合, 当细胞同时存在多种衰老标记物时, 可以认为是衰老细

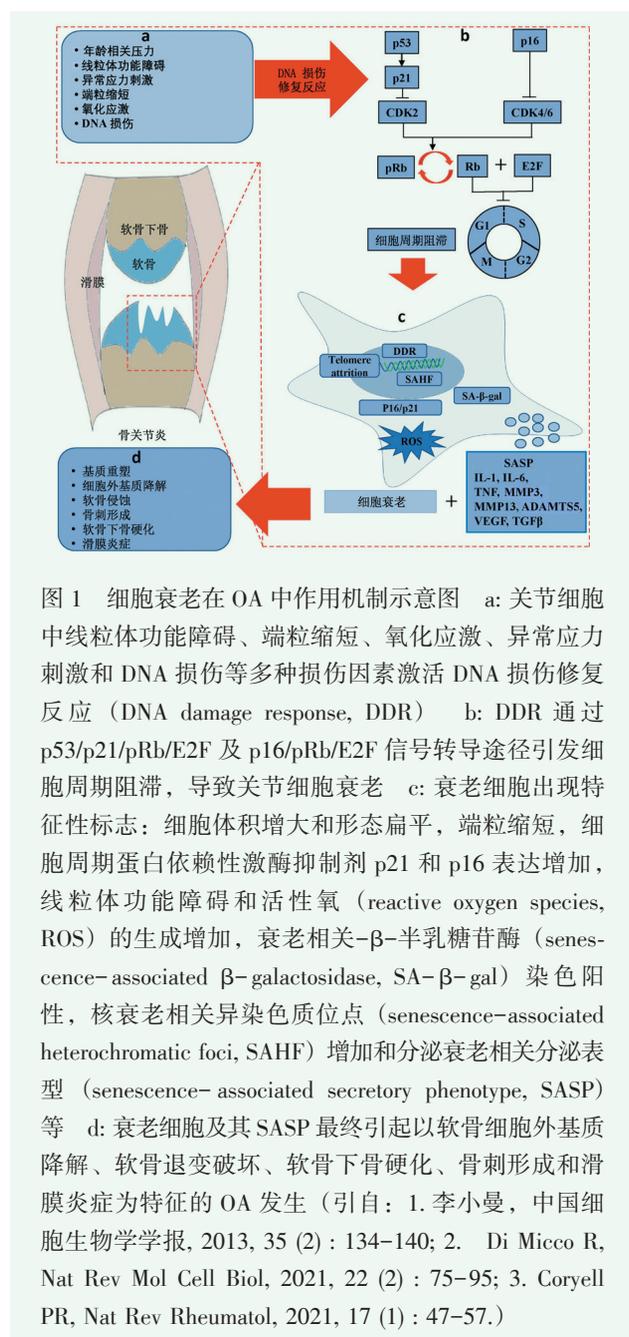
DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.15.09

[△]基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 81802206); 军队保健专项课题面上项目 (编号: 19BJZ11)

作者简介: 徐伟, 医学博士, 主治医师, 研究方向: 骨关节炎与骨质疏松, (电话) 18716370609, (电子信箱) xuwei8716@163.com

* 通信作者: 王娟, (电话) 18716654192, (电子信箱) wangjuanxbzqzy@163.com

胞^[5]。这些衰老细胞的特征包括：(1) 衰老相关-β-半乳糖苷酶 (senescence-associated β-galactosidase, SA-β-gal)；(2) p21 和 p16 表达增加；(3) 核衰老相关异染色质位点 (senescence-associated heterochromatic foci, SAHF)；(4) 衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP)；(5) 细胞体积异常增大和形态变为扁平 (图 1c)。



2 细胞衰老和 OA

2.1 衰老细胞在 OA 组织中积聚

大量研究发现, OA 中的组织细胞表现出多种衰老相关的表型, 细胞衰老可能在 OA 的发生、发展中

起重要作用。和其他器官一样, 关节组织随着时间的推移也会出现衰老和退变, 衰老细胞的数量随着年龄增加而增加^[6, 7]。这些衰老细胞表现出常见的衰老相关特征, 如端粒缩短, 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 p21、p16 和 p53 表达增加, 线粒体功能障碍和活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的生成增加, SAHF 增加和 SASP 增加等^[6-8]。这些衰老细胞在 OA 的多个组织细胞中 (包括软骨、软骨下骨、滑膜和髌下脂肪垫等) 被发现^[9]。Gao 等^[10]发现 SA-β-gal 表达与 OA 严重程度具有相关性。他们研究了 SA-β-gal 在正常软骨和不同严重程度 (轻度、中度和重度) OA 软骨中的表达水平, 发现 SA-β-gal 阳性细胞主要存在于 OA 病变部位的软骨细胞中, 且 SA-β-gal 阳性细胞数与 OA 退变程度呈正相关。炎症和基质降解是 OA 的重要病理性特征, 而在衰老的软骨细胞中可以检测到多种与 OA 炎症相关的 SASP 因子, 如白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1)、IL-6 和 MMP-3 等, 更进一步表明了细胞衰老在 OA 中的重要作用^[5, 9]。

衰老细胞同样存在于创伤后 OA (Post-Traumatic OA, PTOA) 组织中。Jeon 等^[3]采用前交叉韧带横断所致 PTOA 小鼠模型发现, 关节软骨急性创伤后, 关节软骨和滑膜中可以检测到大量衰老细胞。PTOA 中异常的剪切应力, 通过增加 ROS 的释放和氧化应激诱导软骨细胞衰老^[11]。

2.2 衰老细胞导致 OA 发生

尽管既往大量研究已经发现衰老细胞在 OA 组织中积聚, 但细胞衰老与 OA 发生、发展具有因果关系的观点直到 2017 年才得到证实。Xu 等^[12]将小鼠耳软骨的衰老细胞注射到小鼠膝关节腔内, 发现衰老细胞可以诱导小鼠 OA 的发生。这一研究首次证明了细胞衰老可以导致 OA 的发生。

Jeon 等^[3]采用可在体内可视化观察和清除衰老细胞的转基因小鼠模型更进一步证实了上述观点。他们发现, 在 OA 小鼠模型中, 2 周内衰老细胞在关节组织的积聚达到高峰, 随后逐渐下降达到稳定状态, 同时关节腔内的 SASP 因子 MMP-13、IL-6 和 IL-1β 也出现类似的变化。而关节内注射药物选择性地清除软骨和滑膜中的衰老细胞, 可以明显减少 SASP 因子分泌, 减轻关节软骨退变和缓解小鼠疼痛。

2.3 SASP 与 OA

衰老细胞通过分泌具有生物活性的 SASP, 包括炎症因子、趋化因子、生长因子和蛋白酶等, 影响自身和周围组织细胞生长和功能^[13]。IL-6、IL-1β 和

肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 等是重要的 SASP 炎症因子成员, 可诱导 OA 相关病理改变, 包括炎症和细胞外基质的降解等^[9, 14, 15] (图 1c, 1d)。可引起细胞外基质降解酶表达增加, 如 MMP-13 和蛋白聚糖酶-5 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-5, ADAMTS-5)^[16, 17]。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 也是 SASP 的一个重要成员, 可促进血管的形成。VEGF 及其同源受体在 OA 软骨中大量表达, 可导致 OA 病理中骨赘的形成, 在 OA 发生、发展中发挥重要作用^[18]。这些结果提示细胞衰老后通过 SASP 参与了 OA 的发生。

2.4 软骨细胞衰老与 OA

尽管多种组织细胞参与 OA 的病理过程, 但软骨细胞被认为是 OA 发生、发展的关键因素。关节软骨细胞衰老后 II 型胶原和蛋白聚糖合成和分泌障碍, 胞外基质分解代谢和合成代谢过程失衡, 导致软骨的降解和破坏, 最终导致 OA 的发生^[5, 9, 19, 20]。

衰老的软骨细胞随着年龄的增长而积累, 同时 OA 软骨中衰老软骨细胞数量显著多于年龄相同的健康对照软骨^[8, 19, 21]。衰老的软骨细胞主要位于 OA 中损伤的软骨周围, 而在完整的软骨中很少检测到, 进一步表明了软骨细胞衰老与 OA 的内在联系^[10, 19]。当软骨细胞衰老后分泌 SASP 因子, 阻断细胞外基质合成以及激活基质蛋白水解酶, 促进 OA 发生发展^[22]。

值得注意的是, 虽然衰老软骨细胞积累 (慢性细胞衰老) 可以导致关节组织功能障碍和 OA 发生, 但是急性细胞衰老在胚胎发育、组织再生中发挥积极作用^[13]。例如, 衰老细胞释放的 IL-6 促进骨骼肌损伤后的体内修复过程^[23]。同样, 在伤口愈合过程中产生的衰老细胞, 可以释放血小板衍生生长因子 AA (release platelet-derived growth factor AA, PDGF-AA) 促进伤口愈合^[24]。有研究显示 PDGF-AA 可以促进软骨细胞蛋白聚糖分泌和软骨修复, 软骨下骨来源的 PDGF-AA 可以缓解小鼠 OA 模型软骨退变^[25]。

2.5 软骨干细胞衰老与 OA

干细胞在维持正常组织结构与功能以及组织器官的再生和自我修复等方面发挥重要作用, 成体干细胞衰老是机体衰老和组织器官功能障碍的重要原因^[26]。关节软骨中除了软骨细胞外, 最近研究发现关节软骨中存在具有长期自我更新能力、克隆形成能力和多向分化潜能的软骨干细胞 (cartilage stem/progenitor cells, CSPCs)^[2]。鉴于成体干细胞衰老是机体

衰老和组织器官功能障碍的重要原因, 因此 OA 的发生发展可能跟 CSPCs 衰老有关。Jeon 等^[3]研究发现, 创伤性 OA 小鼠模型中, p16 阳性的衰老细胞主要局限于关节软骨表层 (软骨表层细胞为 CSPCs), 清除 p16 阳性衰老细胞可以显著缓解小鼠关节软骨退变。Tan 等^[27]发现 CSPCs 中特异性敲除 Alk5 基因的小鼠软骨退变加速, CSPCs 表现出衰老相关表型, 而采用药物拮抗 SASP 后可以明显缓解关节软骨退变。上述结果提示 CSPCs 衰老可能是 OA 发生发展的重要原因。

3 靶向衰老细胞治疗 OA

细胞衰老在 OA 发生、发展中的重要作用, 为研发靶向衰老细胞治疗 OA 的药物提供了理论依据。根据作用方式的不同, 这些药物分为靶向清除衰老细胞药物和靶向拮抗 SASP 因子药物。

3.1 靶向清除衰老细胞治疗 OA

直接靶向清除衰老细胞为治疗 OA 提供了可能。Zhu 等^[28]研究发现衰老细胞中抗凋亡相关蛋白基因表达上调, 如 B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, BCL-2) 家族成员和磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K) -AKT (蛋白激酶 B) 信号通路成员。所以可以通过靶向凋亡信号通路 (如 BCL-2 蛋白家族), 促进衰老细胞凋亡达到清除衰老细胞的目的。例如 ABT-263 可以抑制 BCL-2, 清除衰老的造血干细胞和肌肉干细胞, 促进组织再生^[29]。Baar 等^[30]发现衰老细胞中转录调控因子叉头框蛋白 O4 (forkhead-box class O4, FOXO4) 的表达增加, 而 FOXO4 可以与 p53 结合并阻止 p53 介导的凋亡, 一种干扰 FOXO4-p53 相互结合作用的多肽可以诱导衰老细胞的凋亡。虽然这几种化合物或者多肽尚未在动物或人类体内进行 OA 治疗试验, 但其为 OA 的治疗提供了新的思路和可能。

3.2 靶向拮抗 SASP 治疗 OA

抗衰老治疗的另一种方法是靶向拮抗衰老细胞的 SASP, 因为 SASP 中包含炎症因子、趋化因子、生长因子、基质金属蛋白酶和其他与衰老疾病有关的生物活性分子^[13]。目前已发现多种化合物可以抑制与 SASP 相关的通路而不诱导细胞凋亡^[5, 13]。如抗 IL-1 β 抗体卡纳单抗可以显著降低心血管事件高风险人群膝关节和髋关节置换率^[31]。IL-6 受体抑制剂托珠单抗在类风湿性 OA 的临床治疗中有效, 目前托珠单抗用于治疗指关节 OA 已进入 III 期临床试验

中^[15, 32]。MMP-13抑制剂CL82198可以明显缓解小鼠半月板韧带损伤OA模型中的软骨退变,提高关节软骨中II型胶原水平,同时抑制软骨细胞死亡^[33]。然而,MMP-13抑制剂(PG-116800)和IL-1受体拮抗剂(kineret, orthokin和AMG 108)治疗OA的临床研究因无明显效果已经终止^[9]。

4 总结与展望

本综述中,作者探讨了细胞衰老导致OA发生、发展的可能机制,并探讨了使用抗衰老药物靶向关节衰老细胞治疗OA的潜力。鉴于衰老细胞及其SASP在OA发病中的重要作用,靶向衰老细胞和SASP为OA治疗提供了新的方向。值得注意的是,尽管衰老细胞在机体的过度积累可以导致多种疾病的发生,但是衰老细胞也具有有益的生理功能,如衰老细胞可以通过招募巨噬细胞促进伤口愈合和组织再生^[24, 34, 35]。同时,关节组织中负责OA发生、发展的特异衰老细胞和特异SASP因子尚未完全阐明。因此,未来需进一步研究区分有益的衰老细胞和有害的衰老细胞,进一步探索关节组织细胞衰老发生的分子机制,阻止关节组织细胞衰老,促进其年轻化,为软骨损伤和OA治疗提供新的策略。

参考文献

- [1] 刘帅,白伦浩.转化生长因子超家族在骨性关节炎软骨细胞退变中的作用[J].中国矫形外科杂志,2021,29(2):140-144.
- [2] 徐伟,廖冬发,夏宁,等.关节表层软骨干细胞在骨关节炎中的作用研究进展[J].解放军医学杂志,2021,46(10):1045-1050.
- [3] 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.
- [4] 李小曼,徐红德,蔺美娜,等. DNA损伤修复反应的双刃剑效应在肿瘤与衰老发生发展中的作用[J].中国细胞生物学学报,2013,35(2):134-140.
- [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] Diekmann BO, Sessions GA, Collins JA, et al. Expression of p16 (INK) (4a) is a biomarker of chondrocyte aging but does not cause osteoarthritis [J]. *Aging Cell*, 2018, 17(4): e12771.
- [7] Del Rey MJ, Valin A, Usategui A, et al. Senescent synovial fibroblasts accumulate prematurely in rheumatoid arthritis tissues and display an enhanced inflammatory phenotype [J]. *Immun Ageing*, 2019, 16(1): 1-9.
- [8] Loeser RF. Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(8): 971-979.
- [9] Jeon OH, David N, Campisi J, et al. Senescent cells and osteoarthritis: a painful connection [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(4): 1229-1237.
- [10] 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.
- [11] Martin JA, Brown T, Heiner A, et al. Post-traumatic osteoarthritis: the role of accelerated chondrocyte senescence [J]. *Biorheology*, 2004, 41(3-4): 479-491.
- [12] 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.
- [13] Childs BG, Gluscevic M, Baker DJ, et al. Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(10): 718-735.
- [14] Basisty N, Kale A, Jeon OH, et al. A proteomic atlas of senescence-associated secretomes for aging biomarker development [J]. *PLoS Biol*, 2020, 18(1): e3000599.
- [15] Coryell PR, Diekmann BO, Loeser RF. Mechanisms and therapeutic implications of cellular senescence in osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2021, 17(1): 47-57.
- [16] Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, et al. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ [J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(6): 1697-1707.
- [17] 黄威,尹宗生.炎症与骨关节炎软骨退变[J].中国矫形外科杂志,2019,27(5):448-452.
- [18] Hamilton JL, Nagao M, Levine BR, et al. Targeting VEGF and its receptors for the treatment of osteoarthritis and associated pain [J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31(5): 911-924.
- [19] Price JS, Waters JG, Darrah C, et al. The role of chondrocyte senescence in osteoarthritis [J]. *Aging Cell*, 2002, 1(1): 57-65.
- [20] McCulloch K, Litherland GJ, Rai TS. Cellular senescence in osteoarthritis pathology [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(2): 210-218.
- [21] Martin JA, Buckwalter JA. Human chondrocyte senescence and osteoarthritis [J]. *Biorheology*, 2002, 39(1-2): 145-152.
- [22] 李兰,梁明玮,陆燕蓉,等. miR-140对早期骨关节炎软骨细胞衰老的调控作用及机制[J].中国矫形外科杂志,2020,28(3):252-259.
- [23] Chiche A, Le Roux I, von Joest M, et al. Injury-induced senescence enables in vivo reprogramming in skeletal muscle [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(3): 407-414.
- [24] Demaria M, Ohtani N, Youssef SA, et al. An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA [J]. *Dev Cell*, 2014, 31(6): 722-733.
- [25] Yao ZL, Chen PS, Wang SN, et al. Reduced PDGF-AA in subchondral bone leads to articular cartilage degeneration after strenuous running [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 17946-17958.
- [26] Goodell MA, Rando TA. Stem cells and healthy aging [J]. *Science*,

- 2015, 350 (6265): 1199-1204.
- [27] Tan QY, Wang Q, Kuang L, et al. TGF- β /Alk5 signaling prevents osteoarthritis initiation via regulating the senescence of articular cartilage stem cells [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236 (7): 5278-5292.
- [28] Zhu Y, Tchkonja T, Pirtskhalava T, et al. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs [J]. *Aging Cell*, 2015, 14 (4): 644-658.
- [29] Chang J, Wang Y, Shao L, et al. Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice [J]. *Nat Med*, 2016, 22 (1): 78-83.
- [30] Baar MP, Brandt RMC, Putavet DA, et al. Targeted apoptosis of senescent cells restores tissue homeostasis in response to chemotoxicity and aging [J]. *Cell*, 2017, 169 (1): 132-147.
- [31] Schieker M, Conaghan PG, Mindeholm L, et al. Effects of interleukin-1 β inhibition on incident hip and knee replacement: exploratory analyses from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Ann Intern Med*, 2020, 173 (7): 509-515.
- [32] Smolen JS, Beaulieu A, Rubbert-Roth A, et al. Effect of interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis (OPTION study): a double-blind, placebo-controlled, randomised trial [J]. *Lancet*, 2008, 371 (9617): 987-997.
- [33] Wang M, Sampson ER, Jin H, et al. MMP13 is a critical target gene during the progression of osteoarthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2013, 15 (1): R5.
- [34] Yun MH, Davaapil H, Brookes JP. Recurrent turnover of senescent cells during regeneration of a complex structure [J]. *Elife*, 2015, 4: e05505.
- [35] Godwin JW, Pinto AR, Rosenthal NA. Macrophages are required for adult salamander limb regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110 (23): 9415-9420.
- (收稿:2021-10-01 修回:2022-03-14)
(同行评议专家:袁普卫)
(本文编辑:宁桦)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

郑重声明

——《中国矫形外科杂志》编辑部将依法追究
冒充编辑部开设网站、征集稿件、乱收费的相关机构和个人

近期,《中国矫形外科杂志》编辑部多次接到读作者的电话和 Email,发现有多个网站利用《中国矫形外科杂志》名义非法征稿及骗取有关费用,要求作者将费用汇入指定账户等方式骗取作者钱财,侵犯了广大作者的合法权益。《中国矫形外科杂志》编辑部在此提醒广大读作者,本刊编辑部从未委托任何代理机构为《中国矫形外科杂志》征稿。

为了确保作者的合法权益不受侵害,请广大读作者注意辨明真伪,谨防上当受骗。《中国矫形外科杂志》编辑部将依法追究冒充编辑部开设网站、征集稿件、乱收费的相关机构和个人。

请作者注意:

(1)《中国矫形外科杂志》网址: ZJXS.chinajournal.net.cn; Http://jxwk.ijournal.cn 为本刊唯一在线投稿系统,其他均为冒充者,稿件上传后自动生成编号,稿号为: 2021-xxxx。其他冒充者的稿件编号五花八门,多很繁琐,请广大作者注意辨别。

(2)稿件上传后需邮寄审稿费 100 元整,本刊不收复审费和中国知网论文查重检测费等。

(3)有关版面费和审稿费均需通过邮局汇款至:山东省泰安市泰山大街 366 号山东第一医科大学第二附属医院中国矫形外科杂志编辑部,邮局汇款为本刊唯一收取款项的方式,其他支付方式如网上支付、支付宝、网银转账、微信、汇款至个人账户等均为诈骗行为,请广大作者严防上当。

(4)本刊办公电话: 0538-6213228。专用电子信箱: jiaoxingtougao@163.com; jxwk1994@126.com; 财务专用信箱: jiaoxingwaikecaiwu@163.com; 邮编: 271000

特此公告!

《中国矫形外科杂志》编辑部