

· 临床研究 ·

## TGF- $\beta$ 1 在膝关节骨性关节炎患者中的表达<sup>△</sup>

王聪聪<sup>1</sup>, 魏文涛<sup>2</sup>, 邵泓鑫<sup>2</sup>, 王加英<sup>1</sup>, 徐云<sup>1\*</sup>

(1. 潍坊市人民医院关节外科, 山东潍坊 261041; 2. 潍坊市第二人民医院, 山东潍坊 261041)

**摘要:** [目的] 比较膝关节骨性关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 与非 KOA 患者中血清、膝关节软骨和软骨下骨 TGF- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1) 的表达。[方法] 30 例行人工全膝关节置换的 KOA 患者 (KOA 组), 另 30 例非 KOA 患者, 包括 13 例前交叉韧带急性损伤行韧带重建及髁间窝成形术的患者为对照组。取血清和膝关节软骨、软骨下骨检测 TGF- $\beta$ 1。[结果] ELISA 法检测患者血清中 TGF- $\beta$ 1 结果, KOA 组 (1 929.1 $\pm$ 76.8) pg/ml, 对照组为 (1 611.4 $\pm$ 105.9) pg/ml, 差异存在统计学意义 ( $P=0.022$ )。软骨与骨组织 TGF- $\beta$ 1 免疫组织化学染色显示: KOA 组强阳性 24 例, 阴性 6 例, 阳性率为 80.0%; 对照组阳性 4 例, 阴性 9, 阳性率为 30.8%。KOA 组患者膝关节组织中的 TGF- $\beta$ 1 免疫组织化学染色的阳性率高于对照组, 差异存在统计学意义 ( $P=0.002$ )。[结论] 与非 KOA 的患者相比, KOA 患者的血清和膝关节相关组织中 TGF- $\beta$ 1 表达显著升高。

**关键词:** 膝关节骨性关节炎, TGF- $\beta$ 1, 软骨, 软骨下骨

**中图分类号:** R684.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2024) 03-0275-04

**Expression of TGF- $\beta$ 1 in serum and local tissues of knee osteoarthritis // WANG Cong-cong<sup>1</sup>, WEI Wen-tao<sup>2</sup>, SHAO Hong-xin<sup>2</sup>, WANG Jia-ying<sup>1</sup>, XU Yun<sup>1</sup>. 1. Department of Joint Surgery, People's Hospital of Weifang City, Weifang 261041, China; 2. The Second People's Hospital of Weifang City, Weifang 261041, China**

**Abstract:** [Objective] To compare the expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) in serum and in knee cartilage and subchondral bone in knee osteoarthritis (KOA) and non-KOA patients. [Methods] Thirty patients with KOA who underwent total knee replacement (the KOA group) and another 30 patients without KOA, including 13 patients with acute anterior cruciate ligament injury who underwent ligament reconstruction and intercondylar fossaplasty (the control group) had TGF- $\beta$ 1 detected in serum, knee cartilage and subchondral bone. [Results] The results of TGF- $\beta$ 1 in serum by ELISA were (1 929.1 $\pm$ 76.8) pg/ml in the KOA group, while (1 611.4 $\pm$ 105.9) pg/ml in the control group, with a statistically significant difference ( $P=0.022$ ). Immunohistochemical staining of TGF- $\beta$ 1 in cartilage and bone tissues showed that there were 24 strong positive cases and 6 negative cases in KOA group with a positive rate of 80.0%, whereas 4 positive cases and 9 negative cases with the positive rate of 30.8% in the control group, and the positive rate of TGF- $\beta$ 1 immunohistochemical staining in KOA group was higher than that in control group ( $P=0.002$ ). [Conclusion] Compared with non-KOA patients, TGF- $\beta$ 1 expression in serum and knee joint related tissues was significantly increased in the KOA patients.

**Key words:** knee osteoarthritis, transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), cartilage, subchondral bone

膝关节骨性关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 是一种膝关节软骨退行性疾病, KOA 的主要特征包括关节软骨组织的渐进性失活, 滑膜组织炎症, 软骨下骨硬化和关节边缘的骨赘形成并最终损害关节活动性<sup>[1]</sup>。KOA 发展的危险因素有年龄、环境、关节发育不良和损伤以及遗传变异, 但目前尚未完全了解该疾病的根本病因及加速因素。目前对膝关节骨性关节

炎的治疗仍以减轻疼痛为主, 而无法根治其软骨损伤<sup>[2]</sup>。

三十多年前, 在人类血小板中发现了 TGF- $\beta$ , 并发现它在促进组织修复和再生方面具有潜在作用<sup>[3]</sup>。过去三十年的深入研究表明, TGF- $\beta$  相关细胞因子对细胞过程具有多种影响<sup>[4]</sup>。其作用是通过调节许多信号转导途径, 最终改变基因表达。然而

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2024.03.16

**△基金项目:** 山东省医药卫生科技发展计划项目 (编号: 202004070094); 华通国康医学科研专项项目 (编号: 2023HT050); 山东省医药卫生科技发展计划项目 (编号: 202204070236)

**作者简介:** 王聪聪, 主治医师, 硕士研究生, 研究方向: 骨性关节炎的综合治疗, (电话)18253165808, (电子信箱)1413138161@qq.com; 共同第 1 作者 魏文涛, 硕士研究生, 研究方向: 内分泌及再生医学相关研究, (电话)13853655689, (电子信箱)13853655689@163.com

\* 通信作者: 徐云, (电话)13515369500, (电子信箱)13515369500@163.com

TGF- $\beta$  信号通路的功能障碍与许多人类疾病相关。目前研究发现在中日两国的女性中, TGF- $\beta$ 1 信号区(T29 至 C) 的多态性和脊柱骨赘形成相关<sup>[5, 6]</sup>。在 Camuri-Engelmann 病中也发现了 6~7 个 TGF- $\beta$ 1 基因突变, 导致 TGF- $\beta$ 1 活性升高, 患者有长骨硬化<sup>[7]</sup>。作者假设 TGF- $\beta$ 1 的表达与膝关节骨性关节炎疾病存在相关性, 对 KOA 患者与非 KOA 患者膝组织和血液 TGF- $\beta$  进行检测, 现将结果报告如下。

## 1 临床资料

### 1.1 一般资料

KOA 组: 2021 年 1 月—2022 年 6 月在本院经过术前检查确诊为 KOA 并行全膝关节置换术的患者。其中, 男 16 例, 女 14 例; 年龄 59~72 岁, 平均(64.3 $\pm$ 4.1) 岁。K-L 分级 III 8 例、IV 级 22 例。

对照组: 2021 年 1 月—2022 年 6 月因非 KOA 疾病入院并住院患者共 30 例。其中, 男 18 例, 女 12 例; 年龄 22~37 岁, 平均(29.6 $\pm$ 6.8) 岁。此外, 正常软骨、软骨下骨、滑膜组织标本 13 份, 取自前交叉韧带急性损伤行韧带重建及髁间窝成形术患者。男 8 例, 女 4 例; 年龄 20~39 岁, 平均(30.4 $\pm$ 7.9) 岁。

本研究相关人体组织标本均在签订知情同意后采集, 本研究已获潍坊市人民医院伦理委员批准。

### 1.2 检测方法

血清 TGF- $\beta$ 1 检测: 所有患者空腹 12 h 后抽血 2 ml, 离心后取上层血清在-20 $^{\circ}$ C 冰箱内保存。按 ELISA 法试剂说明书标准流程进行检测。

术中获得的软骨、软骨下骨、滑膜组织, 固定、脱钙、脱水、透明、浸泡、包埋。烘烤石蜡切片 30 min 后使用二甲苯脱蜡, 蒸馏水、缓冲液清洗。在玻片上滴加 I 抗后 4 $^{\circ}$ C 孵育 12 h。用缓冲液冲洗 3 次并且每次滴加 II 抗后孵育 1 h。冲洗玻片 3 次, 每次 3 min, 经二氨基联苯胺法分别染色后显色, 观察免疫组化染色结果并记录。

### 1.3 统计学方法

使用 KS 检验检测数据正态性, 使用两独立样本 *t* 检验。使用 SPSS 软件进行统计分析。

## 2 结果

### 2.1 血清 TGF- $\beta$ 1 检测结果

ELISA 法测定 TGF- $\beta$ 1, KOA 组 (1 929.1  $\pm$  276

76.8) pg/ml, 对照组为 (1 611.4 $\pm$ 105.9) pg/ml。分析数据提示呈正态分布且方差齐, 行两独立样本 *t* 检验。两组间差异有统计学意义 ( $P=0.022$ )。KOA 组血清中 TGF- $\beta$ 1 的含量明显升高。

### 2.2 软骨组织 TGF- $\beta$ 1 免疫组织化学染色

大体形态观察见 KOA 组软骨表面粗糙, 可见软骨剥脱; 对照组软骨表面平整。

TGF- $\beta$ 1 免疫组织化学染色 TGF- $\beta$ 1 染色阳性表现软骨或骨陷窝为深棕色染色 (图 1a), 阴性则为软骨或骨陷窝无棕色着色 (图 1b)。KOA 组强阳性 24 例, 阴性 6 例, 阳性率为 80.0%; 对照组阳性 4 例, 阴性 9, 阳性率为 30.8%。KOA 组的 TGF- $\beta$ 1 免疫组织化学染色的阳性率显著高于对照组 ( $P=0.002$ )。

## 3 讨论

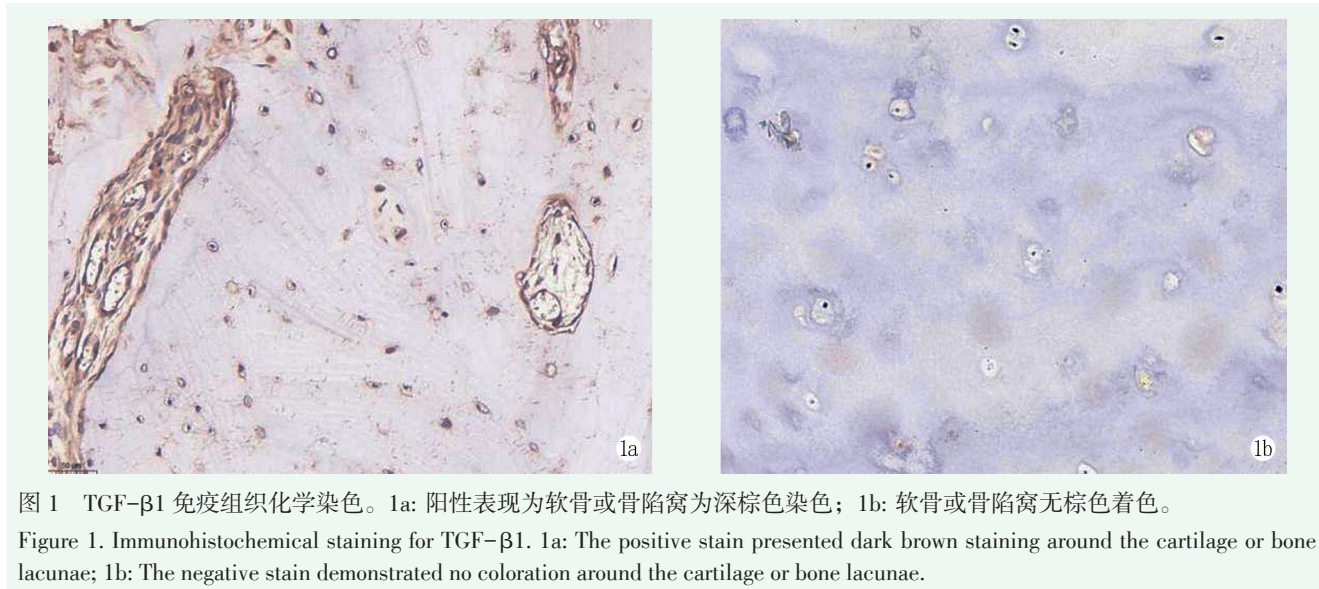
KOA 是一种以关节软骨损伤的退行性病变, 主要表现为膝关节软骨变粗糙, 部分软骨剥脱, 滑膜变性, 软骨下骨硬化<sup>[8, 9]</sup>。TGF- $\beta$  是生长因子大家族, 在早期胚胎发育和出生后生长中起关键作用, 并调节不同组织或细胞群中的细胞增殖、分化、凋亡和迁移。即使对于相同的细胞群, 在不同的微环境中, TGF- $\beta$  也可以发挥不同的功能<sup>[10, 11]</sup>。在哺乳动物细胞中, TGF- $\beta$  以生物活性形式分泌, 必须通过切割该潜伏相关肽结构域来激活 TGF- $\beta$ , 以释放成熟结构域。TGF- $\beta$ 1 通过与 TGF- $\beta$ 1R1、TGF- $\beta$ 1R2 结合并激活 Smads- (Smad2、Smad3) 蛋白最终进入细胞核, 通过 Smad4、Smad7 蛋白的调控作用, 增强或抑制相关基因转录从而发挥生物学作用<sup>[12]</sup>。

本研究发现 TGF- $\beta$ 1 在 KOA 患者中高表达, 患者血清及膝关节相关组织中 TGF- $\beta$ 1 均增加, 说明可能与关节软骨的破坏相关。最近的动物实验研究结果提供了部分证据, TGF- $\beta$  信号通路与 KOA 的发生和发展有一定的相关性。在天然小鼠膝关节中, 注射低剂量 TGF- $\beta$ 1 可增加关节软骨的蛋白多糖含量<sup>[13]</sup>; 然而, 小鼠膝关节中 TGF- $\beta$ 1 的过度表达会导致 OA 样改变<sup>[14]</sup>。在转基因小鼠中, 过度表达 TGF- $\beta$ 1 导致软骨下骨结构异常和关节软骨退变<sup>[15]</sup>。

有证据支持 TGF- $\beta$  信号通路在早期软骨发育和维持后期软骨内环境稳定中起着关键作用<sup>[16]</sup>。虽然 BMP/SMAD1/5/8 途径可能对软骨具有有害作用, 但 TGF- $\beta$ /SMAD2/3 途径对软骨具有双重作用。故笔者在此提出一个假设, 即维持一定的 TGF- $\beta$  水平可以维持软骨健康, 低于或高于该范围的任何浓度都可能

导致 TGF- $\beta$  途径的异常改变，导致软骨功能异常。本研究发现人体内高水平的 TGF- $\beta$ 1 表达与 KOA 具有相关性，下一步将对过低水平的 TGF- $\beta$ 1 表达与 KOA 的相关性进行研究。同时检测参与 TGF- $\beta$  信号

通路的下游基因，并设法阐明它们在维持软骨内环境稳定和 KOA 发展中的作用，为开发 KOA 治疗的新治疗靶点提供参考。



### 参考文献

- [1] Tan J, Tikoft E, O'Sullivan P, et al. The Relationship between changes in movement and activity limitation or pain in people with knee osteoarthritis: a systematic review [J]. *J Orthop Sports Phy Ther*, 2021, 51 (10): 492-502. DOI: 10.2519/jospt.2021.10418.
- [2] Wild L, Dimitriou D, Radzanowski S, et al. Surgical outcomes and analysis of quality of life following knee arthroplasty in very elderly patients [J]. *J Knee Surg*, 2023, 36 (9): 933-940. DOI: 10.1055/s-0042-1747946.
- [3] Shi YG, Massagué J. Mechanisms of TGF- $\beta$  signaling from cell membrane to the nucleus [J]. *Cell*, 2003, 113 (6): 685-700. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00432-X.
- [4] Maizels RM. The multi-faceted roles of TGF- $\beta$  in regulation of immunity to infection [J]. *Adv Immunol*, 2021, 150: 1-42. DOI: 10.1016/bs.ai.2021.05.001.
- [5] Yamada Y, Okuizumi H, Miyauchi A, et al. Association of transforming growth factor beta1 genotype with spinal osteophytosis in Japanese women [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2000, 43 (2): 452-460. DOI: 10.1002/1529-0131(200002)43:2<452::AID-ANR28>3.0.CO;2-C.
- [6] Lau HHL, Ho AYY, Luk KDK, et al. Transforming growth factor- $\beta$  1 gene polymorphisms and bone turnover, bone mineral density and fracture risk in southern Chinese women [J]. *Cal Tiss Int*, 2004, 74 (6): 516-521. DOI: 10.1007/s00223-004-0163-4.
- [7] Kinoshita A, Saito T, Tomita HA, et al. Domain-specific mutations in TGFBI result in Camurati-Engelmann disease [J]. *Nat Genet*, 2000, 26 (1): 19-20. DOI: 10.1038/79128.
- [8] 宋伟, 朱振国, 徐进, 等. 单髁置换术与胫骨高位截骨术治疗膝关节炎性关节炎的荟萃分析 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2018, 26 (21): 1962-1968. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.21.09.
- [9] 尤从新, 骆文生, 陈威, 等. NF- $\kappa$ B 信号通道在膝骨关节炎的作用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2023, 31 (15): 1397-1400. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.15.10.
- [10] Stephen-Victor E, Cui Y, Wang Z, et al. Essential functions of regulatory T cell TGF- $\beta$ 1 revealed by differential gene-targeting approaches [J]. *Immunity*, 2021, 54 (3): 397-398. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.02.005.
- [11] Dijke TP, Hill CS. New insights into TGF- $\beta$ -Smad signalling [J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29 (5): 265-273. DOI: 10.1016/j.tibs.2004.03.008.
- [12] Xuhui C, Lingli S, Dongli L, et al. Green tea peptides ameliorate diabetic nephropathy by inhibiting the TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway in mice [J]. *Food Function*, 2022 (6): 13. DOI: 10.1039/d1fo03615g.
- [13] van Beuningen HM, Pm VDK, Arntz OJ, et al. Transforming growth factor-beta 1 stimulates articular chondrocyte proteoglycan synthesis and induces osteophyte formation in the murine knee joint [J]. *Lab Invest*, 1994, 71 (2): 279-290.
- [14] Tang Y, Wu X, Lei W, et al. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with forma-



- tion [J]. Nat Med, 2009, 15 (7): 757-765. DOI: 10.1038/nm.1979.
- [15] Bakker AC, van de Loo FA, van Beuningen HM, et al. Overexpression of active TGF- $\beta$ 1 in the murine knee joint: evidence for synovial-layer-dependent chondro-osteophyte formation [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2001, 9 (2): 128-136. DOI: 10.1053/joca.2000.0368.
- [16] 石林, 逢铭源, 陈丽倩, 等. 转化生长因子- $\beta$ 1 在踝骨性关节炎软骨和血清中的表达 [J]. 中国矫形外科杂志, 2021, 29 (23): 2194-2196. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.23.18.
- Lin S, Pang MY, Chen LQ, et al. Expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 in serum and osteochondral tissue in ankle osteoarthritis [J]. Orthopedic Journal of China, 2021, 29 (23): 2194-2196. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.23.18.
- (收稿:2023-09-07 修回:2023-11-24)  
(同行评议专家: 张力, 韩国胜)  
(本文编辑: 郭秀婷)

· 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别真伪, 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: 山东省泰安市泰山区(城区)环山路 217-1 号泰安八十八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