

雌激素与骨关节炎

卢敏强 钟庆 贾兆锋 徐晓 段莉 王大平

摘要 骨关节炎(OA)是一种严重损害中老年人健康的骨关节疾病。绝经后女性 OA 患病率远高于同龄男性及绝经前女性,表明雌激素是参与 OA 发生和发展的重要调节因子。雌激素需与雌激素受体(ER)结合后起作用,ER 包括雌激素核受体(nER)和雌激素膜受体(mER),通过不同作用机制以实现雌激素对关节软骨的保护作用。近期研究发现,OA 患者与正常人相比有多种 miRNA 存在差异性表达,表明 miRNA 有望成为早期诊治 OA 的新靶点。本文就雌激素、ER 及雌激素和 miRNA 与 OA 的研究进展作一综述。

关键词 骨关节炎;雌激素;雌激素受体;微小 RNA

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2018.01.011

骨关节炎(OA)是以关节软骨退变为特征,导致软骨结构破坏并伴有滑膜增生、无菌性炎症及软骨下骨硬化的慢性骨关节病,其发病及进展受年龄增长、机体代谢改变、激素水平变化及外伤等影响,其中年龄和性别是最为关键的两大因素^[1-2]。OA 好发于绝经后女性,流行病学调查表明在 45~64 岁人群中,女性 OA 患病率 3 倍于男性^[3-4],表明体内雌激素水平降低在 OA 发生和发展中起着重要作用。Ushiyama 等^[5]研究发现,人关节软骨细胞存在雌激素受体(ER)- α 和 ER- β ,提示关节软骨是雌激素靶组织之一。目前已有研究证实雌激素、ER 及雌激素和 miRNA 与 OA 发生、发展及转归密切相关。

1 雌激素与 OA

雌激素是一种重要类固醇性激素,人体中绝大部分由卵巢、睾丸及肾上腺皮质细胞分泌产生,主要包括雌二醇(E2)、雌酮(E1)及雌三醇(E3),其中 E2 在体内含量最高且生理活性最强^[6]。多项研究证实雌激素参与软骨代谢调节,而软骨破坏是 OA 的主要表现症状。体外实验发现,17 β -E2 通过上调尿苷二磷酸葡萄糖脱氢酶(UDPGD)表达而增加关节软骨细胞中糖胺聚糖合成^[7]。另有研究证实,在关节软骨细胞中 E2 抑制环氧酶(COX)-2 信使 RNA(mRNA)表达以避免软骨细胞受活性氧损害^[8-9]。但高浓度雌激素对软骨细胞的作用弊大于利,如高浓度雌激素(1~100 nmol/L)对于体外经肿瘤坏死

因子(TNF)- α 和制瘤素 M(OSM)共刺激培养的软骨细胞 II 型胶原 C-端肽(CTX-II)的损害程度呈剂量反应关系^[10]。也有研究证实,高浓度雌激素会抑制人软骨细胞中 DNA 合成^[11]及软骨细胞和软骨外基质中蛋白聚糖合成与细胞分裂^[12-13]。性成熟软骨细胞 ER 较性成熟前软骨细胞表现出更高的雌激素亲和力,表明雌激素年龄是影响软骨细胞对雌激素反应的主要因素之一^[14]。在动物中行卵巢切除术(OVX)去势是观察雌激素缺乏对关节组织影响的基本研究方法。大鼠及食蟹猴行 OVX 后,其关节中可观察到软骨表面破坏明显加重^[15-16]。多项研究发现,未行 OVX 组较行 OVX 组 OA 严重程度轻。Ma 等^[17]在老鼠中行 OVX 构建关节损伤模型,证实雌激素对 OA 的预防作用,这与绝经后妇女更有可能患上严重 OA 的观察结果一致。此外,缺乏雌激素可增加软骨下骨重塑,进而诱发 OA^[18]。然而,从模型上获得的结果难以说明软骨下骨丢失是由于缺乏雌激素还是其他间接原因导致。2010 年,Castañeda 等^[19]提出用兔作为研究模型,对 22 周龄兔行 OVX 后发现,兔关节结构发生较大变化并获得较高 Mankin 评分,而兔软骨下骨密度并没有明显变化,表明雌激素通过直接或间接作用保护关节软骨。

雌激素替代疗法(ERT)常用于治疗雌激素降低或缺乏引起的相关疾病,但对绝经后女性 OA 的治疗效果仍不确切。软骨细胞体外实验表明,选择性雌激素受体调节剂(SERM)雷洛昔芬等也具有软骨保护作用^[20]。体外培养人软骨细胞经白细胞介素(IL)-1 β 处理后发现,蛋白多糖水平显著降低,基质金属蛋白酶(MMP)-3 和一氧化氮(NO)则显著

作者单位: 515063, 汕头大学医学院(卢敏强); 421001 衡阳, 南华大学(钟庆); 510182, 广州医科大学(贾兆锋、徐晓); 518035, 深圳市第二人民医院组织工程重点实验室(段莉、王大平)

通信作者: 王大平 E-mail: dapingwang1963@qq.com

增加。当 IL-1 β 与雷洛昔芬共同作用时,检测发现蛋白多糖表达量呈剂量依赖性显著增加,MMP-3 和 NO 呈下降趋势。诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在 IL-1 β 刺激的软骨细胞中表达明显升高,而雷洛昔芬则能迅速下调 iNOS 表达。相比之下,高剂量雌激素(10 nmol/L)可协同 IL-1 β ,使蛋白多糖降解减少和 MMP 产生增加^[21]。因此,过高或过低浓度雌激素都不利于关节腔内组织平衡,雌激素在软骨组织微环境中的浓度对软骨细胞影响较大。

2 ER 与 OA

ER 可根据分布部位不同分为雌激素核受体(nER)和雌激素膜受体(mER)。nER 是甾体激素受体,属于转录因子核受体超家族,主要存在于细胞核内,其 2 种亚型分别为 ER- α 和 ER- β ,是由其基因编码的核转录因子。ER- α 基因位于染色体 6q25.1-2,包含 8 个外显子和 7 个内含子,大小约 140 000^[22];ER- β 基因位于染色体 14q23.2-3,包含 8 个外显子,大小约 40 000^[23]。这 2 种 nER 亚型在 DNA 结构域中同源性高达 96%,但在配体结构域中同源性仅为 53%。ER- α 和 ER- β 都对雌激素具有高亲和力,能在结合雌激素后调控靶组织,由于 nER 发挥作用一般需要数小时或更长时间,因此通常被称为慢速“基因组效应”^[24]。有别于 nER,mER 主要存在于细胞膜或内质网,包括 G 蛋白偶联雌激素受体(GPER)、ER-X、Gaq-ER 及 nER 膜部分,广泛分布于乳腺、卵巢、阴道、神经、心脏、肝脏及淋巴组织细胞^[25]。雌激素与 mER 结合后,通过改变相关酶活性或离子通道开闭状态,如激活磷脂酰肌醇 3-激酶(P13K)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)及 Ca²⁺ 通道,因这一方式不依赖基因调控,作用迅速,在数秒到数分钟内即可完成,所以常被称为快速“非基因组效应”^[26]。

有研究发现,关节软骨细胞、成骨细胞及破骨细胞中均存在 ER- α 和 ER- β 表达,表明雌激素通过结合 2 种不同受体而发挥直接或间接调节骨与关节发育成熟和骨代谢功能。1999 年,Ushiyama 等^[5]将经关节置换术患者的关节软骨细胞进行逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)发现,ER- α 和 ER- β 存在显著量相关性,两者基因表达水平在男性中均高于女性,且 ER- α 和 ER- β 两种基因表达水平在正常髋关节、膝关节及 OA 患者中软骨细胞间表达无明显差异,表明雌激素水平下降是影响 OA 的关键因素,而非 ER 表达水平变化。2007 年,Oshima 等^[27]建立去

势大鼠模型,对不同周龄和性别普通大鼠及去势大鼠的软骨进行切片,运用免疫荧光法(IFA)观察发现,普通雄性大鼠 ER 表达水平与年龄无相关性,而年老普通雌性大鼠关节软骨 ER 表达水平较年幼普通雌性大鼠显著降低;在去势大鼠组中,年老雌、雄大鼠均表现出 ER- α 和 ER- β 表达水平下降,证实雌激素与 ER 表达量直接相关^[5]。Cheung 等^[28]研究发现,ER- α 影响骨细胞生长,而 ER- β 主要参与骨形成和骨吸收。2016 年,Zhang 等^[29]发现雌激素可通过结合滑膜细胞上 ER- β 抑制核因子(NF)- κ B 通路活化,发挥抗炎作用,减缓 OA 发生和发展。

3 雌激素和 miRNA 与 OA

Iliopoulos 等^[30]采用高通量筛选技术(HTS)检测软骨组织中 365 个相关 miRNA 表达,发现与正常人软骨组织相比,OA 患者软骨组织中有 16 个 miRNA 表达量存在统计学差异,即这 16 个 miRNA 可区分 OA 患者和正常人。另有研究发现,miRNA-27a 可间接下调 MMP-13 表达,而 MMP-13 在 OA 发病机制中起重要促进作用,miRNA-27a 在 OA 软骨细胞中表达减少会诱发 OA^[31],表明 miRNA-27a 可成为治疗 OA 的新靶向治疗基因。此外,miRNA-675 能正向调控 II 型胶原表达,对治疗 OA 及修复关节软骨起着一定积极作用^[32]。Liang 等^[33]研究发现,E2 与 ER 结合后可使 miR-140、基质金属蛋白酶抑制因子(TIMP)-1 表达升高,MMP-13 表达下降,从而抑制软骨细胞外基质蛋白分解代谢以起到保护软骨的作用。

总而言之,miRNA 在血液、尿液、关节液及唾液等人体液中可稳定存在,有望成为诊断多种疾病并判断其预后的生物学标志物^[34-35]。在治疗方面,miRNA 与 OA 联系紧密,可作为治疗 OA 的新靶点。

4 结语

雌激素与 OA 关系密切,通过调控软骨细胞、软骨下骨、滑膜组织、细胞因子、ER 及 miRNA 等影响 OA 发生、发展及转归。目前,研究者在 OA 软骨中已鉴定出许多特异性 miRNA,且已证实其中部分 miRNA 在 OA 发病机制中的重要性,可为诊治 OA 开拓新领域。因此,雌激素、ER 及 miRNA 在 OA 发生中的分子调控机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] Prieto-Alhambra D, Judge A, Javaid MK, et al. Incidence and risk factors for clinically diagnosed knee, hip and hand

- osteoarthritis: influences of age, gender and osteoarthritis affecting other joints[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(9): 1659-1664.
- [2] Yu D, Peat G, Bedson J, et al. Annual consultation incidence of osteoarthritis estimated from population-based health care data in England[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2015, 54(11): 2051-2060.
- [3] Plotnikoff R, Karunamuni N, Lytvyak E, et al. Osteoarthritis prevalence and modifiable factors: a population study[J]. *BMC Public Health*, 2015, 15: 1195-1205.
- [4] Roos EM, Arden NK. Strategies for the prevention of knee osteoarthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(2): 92-101.
- [5] Ushiyama T, Ueyama H, Inoue K, et al. Expression of genes for estrogen receptors alpha and beta in human articular chondrocytes[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 1999, 7(6): 560-566.
- [6] Caiazza F, Ryan EJ, Doherty G, et al. Estrogen receptors and their implications in colorectal carcinogenesis[J]. *Front Oncol*, 2015, 5: 19-28.
- [7] Wen Y, Li J, Wang L, et al. UDP-glucose dehydrogenase modulates proteoglycan synthesis in articular chondrocytes: its possible involvement and regulation in osteoarthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(6): 484-495.
- [8] Rasheed Z, Rasheed N, Al-Shobaili HA. Epigallocatechin-3-O-gallate up-regulates microRNA-199a-3p expression by down-regulating the expression of cyclooxygenase-2 in stimulated human osteoarthritis chondrocytes[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(12): 2241-2248.
- [9] Frederick ED, Hausburg MA, Thomas GW, et al. The low molecular weight fraction of human serum albumin upregulates COX2, prostaglandin E2, and prostaglandin D2 under inflammatory conditions in osteoarthritic knee synovial fibroblasts[J]. *Biochem Biophys Rep*, 2016, 8: 68-74.
- [10] Oestergaard S, Sondergaard BC, Hoegh-Andersen P, et al. Effects of ovariectomy and estrogen therapy on type II collagen degradation and structural integrity of articular cartilage in rats: implications of the time of initiation[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(8): 2441-2451.
- [11] Maneix L, Servent A, Porée B, et al. Up-regulation of type II collagen gene by 17 β -estradiol in articular chondrocytes involves Sp1/3, Sox-9, and estrogen receptor α [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92(11): 1179-1200.
- [12] Medaniel JS, Akula Suresh Babu R, Navarro MM, et al. Transcriptional regulation of proteoglycan 4 by 17 β -estradiol in immortalized baboon temporomandibular joint disc cells[J]. *Eur J Oral Sci*, 2014, 122(2): 100-108.
- [13] Polur I, Kamiya Y, Xu M, et al. Oestrogen receptor beta mediates decreased occlusal loading induced inhibition of chondrocyte maturation in female mice[J]. *Arch Oral Biol*, 2015, 60(6): 818-824.
- [14] Shi S, Zheng S, Li XF, et al. The effect of estradiol on the growth plate chondrocytes of limb and spine from postnatal mice in vitro: the role of estrogen-receptor and estradiol concentration[J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(1): 100-109.
- [15] Lampropoulou-Adamidou K, Lelovas P, Karadimas EV, et al. Useful animal models for the research of osteoarthritis[J]. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2014, 24(3): 263-271.
- [16] Ham KD, Loeser RF, Lindgren BR, et al. Effects of long-term estrogen replacement therapy on osteoarthritis severity in cynomolgus monkeys[J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(7): 1956-1964.
- [17] Ma HL, Blanchet TJ, Peluso D, et al. Osteoarthritis severity is sex dependent in a surgical mouse model[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2007, 15(6): 695-700.
- [18] Yan JY, Tian FM, Wang WY, et al. Age dependent changes in cartilage matrix, subchondral bone mass, and estradiol levels in blood serum, in naturally occurring osteoarthritis in Guinea pigs[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(8): 13578-13595.
- [19] Castañeda S, Largo R, Calvo E, et al. Effects of estrogen deficiency and low bone mineral density on healthy knee cartilage in rabbits[J]. *J Orthop Res*, 2010, 28(6): 812-818.
- [20] Xiao YP, Tian FM, Dai MW, et al. Are estrogen-related drugs new alternatives for the management of osteoarthritis? [J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18: 151.
- [21] Richette P, Dumontier MF, Francois M, et al. Dual effects of 17 β -oestradiol on interleukin 1 β -induced proteoglycan degradation in chondrocytes[J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63(2): 191-199.
- [22] Sharma D, Liu Y, Uht RM. Estradiol (E2)- and tamoxifen (Tmx)-bound ER- α (ER α) interact differentially with histone deacetylases 1 and 3 (HDACs 1 and 3)[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2017, 174: 128-132.
- [23] Zeng K, Zhang HQ, Chen Y, et al. Estradiol via estrogen receptor beta inhibits chondrogenesis of mouse vertebral growth plate in vitro[J]. *Childs Nerv Syst*, 2016, 32(3): 461-465.
- [24] Kim KH, Young BD, Bender JR. Endothelial estrogen receptor isoforms and cardiovascular disease[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 389(1/2): 65-70.
- [25] Wu Q, Chambliss K, Umetani M, et al. Non-nuclear estrogen receptor signaling in the endothelium[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(17): 14737-14743.
- [26] 闫懿, 敖锋, 宋健. 雌激素及雌激素受体信号转导途径的研究进展[J]. *山西医药杂志*, 2016, 45(9): 1032-1034.
- [27] Oshima Y, Matsuda K, Yoshida A, et al. Localization of estrogen receptors alpha and beta in the articular surface of the rat femur[J]. *Acta Histochem Cytochem*, 2007, 40(1): 27-34.
- [28] Cheung E, Schwabish MA, Kraus WL. Chromatin exposes intrinsic differences in the transcriptional activities of estrogen

- receptors alpha and beta[J]. EMBO J, 2003, 22(3): 600-611.
- [29] Zhang E, Zhang H, Liu F, et al. Estrogen exerts anti-inflammatory effects by inhibiting NF- κ B pathway through binding with estrogen receptor β on synovocytes of osteoarthritis[J]. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi, 2016, 32(12): 1605-1609.
- [30] Iliopoulos D, Malizos KN, Oikonomou P, et al. Integrative microRNA and proteomic approaches identify novel osteoarthritis genes and their collaborative metabolic and inflammatory networks[J]. PLoS One, 2008, 3(11): e3740.
- [31] Li HR, Cui Q, Dong ZY, et al. Downregulation of miR-27b is Involved in Loss of Type II Collagen by Directly Targeting Matrix Metalloproteinase 13 (MMP13) in Human Intervertebral Disc Degeneration[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2016, 41(3): E116-E123.
- [32] Dudek KA, Lafont JE, Martinez-Sanchez A, et al. Type II collagen expression is regulated by tissue-specific miR-675 in human articular chondrocytes[J]. J Biol Chem, 2010, 285(32): 24381-24387.
- [33] Liang Y, Duan L, Xiong J, et al. E2 regulates MMP-13 via targeting miR-140 in IL-1 β -induced extracellular matrix degradation in human chondrocytes[J]. Arthritis Res Ther, 2016, 18(1): 105-114.
- [34] Nonaka R, Miyake Y, Hata T, et al. Circulating miR-103 and miR-720 as novel serum biomarkers for patients with colorectal cancer[J]. Int J Oncol, 2015, 47(3): 1097-1102.
- [35] Toiyama Y, Okugawa Y, Tanaka K, et al. A panel of methylated microRNA biomarkers for identifying high-risk patients with ulcerative colitis-associated colorectal cancer [J]. Gastroenterology, 2017, 153(6): 1634-1646. e8.

(初稿:2017-10-10)

(本文编辑:王妮)