

周围神经系统与骨关节炎

朱健 孙凯强 史建刚

摘要 肌肉骨骼系统中不同类型的细胞均表达感觉和交感神经递质受体,如肾上腺素受体(AR)以及血管活性肠肽(VIP)、P 物质(SP)和降钙素基因相关肽(CGRP)受体等。感觉和交感神经及其递质对骨与关节组织具有重要调节作用。该文将从正常关节、骨关节炎(OA)关节、OA 软骨、OA 软骨下骨等方面分别描述感觉和交感神经及其递质的特征,以综合归纳周围神经系统与 OA 研究进展。

关键词 骨关节炎;周围神经系统;神经递质;受体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2019.04.007

骨关节炎(OA)是一种与年龄相关或由创伤引发的进程缓慢的滑膜关节原发性非炎症性退行性病变,致病因素较多,晚期可造成关节软骨不可逆性损伤。OA 确切发病机制尚不明确,其中与年龄相关的磨损、过度使用、遗传病变及代谢性问题(包括肥胖、免疫应答、糖尿病、脂肪因子等)在 OA 发生发展中发挥重要作用^[1]。近年来,感觉和交感神经纤维及其神经递质在 OA 中的作用愈发受到关注。在胚胎肢体发育过程中,骨骼生长及基质分化等均需要血管形成,而这都依赖外周神经系统的支配,因此外周神经系统在骨骼生长和肢体形成中发挥重要作用。近期研究表明,缺乏 P 物质(SP)并切断交感神经的小鼠股骨机械强度变差、骨骼质量减轻、骨小梁数目减少^[2]。尽管正常软骨不受神经支配,但软骨代谢仍受神经递质调节和影响,这些神经递质由邻近组织神经纤维或软骨直接释放^[3-4]。

1 正常关节中感觉和交感神经纤维

生长软骨的软骨亚群和关节软骨表面均有感觉神经纤维分布。在大鼠膝关节中,降钙素基因相关肽(CGRP)阳性的神经纤维在关节软骨和半月板的分布达 25 μm 。这些神经纤维存在于独立的软骨细胞间,提示其除经典功能外,还具有局部营养功能。然而,在软骨骨膜及骨膜中检测到的 SP 阳性的轴突亚群被证实并不支配软骨。目前支配软骨的神经纤维在结构或分子方面的差异仍未被完全阐明。软骨管中有感觉神经纤维通过,且软骨管的形成早于

次级骨化中心,这些神经纤维可能是通过释放营养因子调节滑膜关节形成,并在胚胎发育中调控肢体软骨分化过程。

此外,骨和关节组织(如滑膜)也密集分布大量交感神经纤维。酪氨酸羟化酶(TH)阳性的肾上腺素能神经纤维主要与血管伴行,但在骨膜和邻近骨的韧带中也存在游离的神经纤维末梢。这些神经纤维与骨细胞、骨髓细胞密切联系,表明在机体生长发育过程中交感神经纤维对骨细胞代谢具有调节作用。

2 OA 关节中感觉和交感神经纤维

2.1 感觉神经纤维与神经肽

在关节软骨表层,神经仅存在于血管周围,表明血管生成成为神经支配提供了基本营养条件,如果无血管形成,则无神经纤维可以在软骨内生长,因此神经支配评分和软骨血管化程度可作为衡量 OA 严重程度及进展分期的指标。

目前 OA 的疼痛来源还未被完全阐明,其本质是伤害性疼痛还是神经性疼痛仍存在争议。血管周围生长的神经可能暴露于化学刺激和机械应激,进而导致疼痛。因此,伴随新生血管化生长的感觉神经可能会导致 OA 患者疼痛。Murakami 等^[5]报道,在大鼠体内注射胶原酶 1 周后,滑膜组织中蛋白基因产物(PGP)9.5 和 CGRP 阳性的神经纤维密度大幅减少。亦有研究发现,在膝关节炎患者滑液中 CGRP 浓度增高,且与表示 OA 严重程度的 Kellgren-Lawrence 分数提高明显相关^[6-8]。以上研究明 CGRP 与疼痛具有一定相关性,推测 CGRP 可能在 OA 进展中具有时间依赖性,在 OA 早期伴随

血管化共同导致疼痛,而在 OA 后期 CGRP 浓度下降,可能存在其他因子代偿,但具体机制还需进一步研究。

2.2 交感神经纤维和神经递质

研究发现,在颞下颌关节炎大鼠模型中,髁软骨下骨室中 TH 阳性神经纤维表达和去甲肾上腺素(NE)水平均较高^[9]。大鼠膝关节炎模型中软骨下骨表达 CGRP 和原肌球蛋白受体激酶(TrKA)阳性的神经纤维明显增加,与疼痛加重相关^[10]。对于交感神经纤维在 OA 不同关节腔室的进一步分析可能有助于理解疼痛行为,同时关于交感神经递质活动的研究也有助于理解 OA 代谢改变。

Eitner 等^[11]在正常大鼠和羊的关节滑液中发现与交感、感觉神经纤维相伴行的密集毛细血管网。有研究将 OA 软骨细胞和 NE 进行 3D 共培养(软骨区分为表层、中层和深层)后进行免疫荧光检查,结果发现 OA 软骨细胞在所有 3 个软骨区均表达 TH,而在深部区域的二甲基亚甲蓝染色强度最弱^[12]。研究表明,血管活性肠肽(VIP)含量与关节疾病进展及严重程度呈负相关,推测 VIP 可能在 OA 中具有保护作用^[13]。神经肽 Y(NPY)阳性的交感神经纤维在 OA 软骨下骨和关节软骨血管腔内均有分布,且其数量同感觉神经纤维一致。Wang 等^[14]对 NPY 浓度和疼痛严重程度进行研究,结果显示 OA 患者滑液中 NPY 浓度升高与 Watanabe 疼痛分数增加呈正相关。因此,NPY 或许为 OA 提供了基本的保护措施,甚至在一定程度上可逆转 OA 对骨与软组织的破坏。

3 软骨细胞中感觉和交感神经递质及其受体

3.1 感觉神经递质及其受体

正常人体和 OA 患者的关节软骨细胞均可产生 SP 及 CGRP,且表达两者的受体,即 NK-1 受体和降钙素受体样受体(CRLR)。低强度运动后,软骨细胞及其细胞外基质中 SP 及其受体表达均有升高。应用 NK-1 受体拮抗剂后,SP 信号通路被阻断,软骨细胞无法对机械刺激做出反应,提示软骨细胞具有应对机械刺激的信号通路。与机械刺激相伴随的是 SP 基因表达改变,表明 SP 可在机械应激后维持关节软骨基质完整和功能。正常软骨细胞和 OA 软骨细胞对机械刺激反应并不相同。与正常软骨细胞相比,OA 软骨细胞上调了 SP 编码基因速激肽 A(TAC1)表达。作为 TAC1 基因表达的两大主要调节物质,转录因子神经元限制性沉默因子

(NRSF)和截短剪接变体(sNRSF)只在 OA 软骨细胞中接受机械刺激后才发生上调^[15],表明 TAC1 和 sNRSF 与 OA 存在一定联系。OA 软骨细胞接受机械刺激后,sNRSF 和 TAC1 的 mRNA 表达发生改变,提示 sNRSF 可能参与调节 OA 软骨中 SP 生成,因此 sNRSF 或许可作为预测软骨疾病的标志物。

3.2 交感神经递质及其受体

除关节软骨和半月板无血管区外的关节组织细胞均可产生交感神经纤维和神经递质。新生小鼠胫骨软骨细胞中可检测到 β 2-肾上腺素受体(AR)和 α 2A-AR mRNA 表达,新生小鼠肋软骨培养基中可检测到 α 1B-AR 和 α 1D-AR 存在^[16]。亦有研究认为,在 OA 患者软骨组织移植体及其内部的软骨源性细胞中,均存在 β 2-AR 和 α 2-AR^[17]。由于在 OA 病程中多种生物力学信号通路发生改变,且 β 2-肾上腺素能药物已被证明可以影响骨组织的机械活动,故 β 2-AR 可能影响软骨负荷^[18]。遗传学研究也表明, β 2-AR 信号通路在骨重塑的调节中具有生物相关性^[19]。由交感神经元或免疫细胞释放的儿茶酚胺可影响骨髓间充质干细胞(BMSC)从骨髓迁移到邻近组织的过程。因此,在压力或炎症状态下交感神经递质浓度的提高可能在很大程度上影响骨髓祖细胞迁移和分化。NE 可抑制 BMSC 和 OA 软骨源性祖细胞软骨分化^[17]。OA 的重要标志是炎症反应和固有免疫启动。Wang 等^[14]研究发现,NE 可刺激形成早期 OA 的病理微环境。因此,交感神经及其递质可能在 OA 中起促进作用。

4 软骨下骨中感觉和交感神经递质及其受体

4.1 感觉神经递质及其受体

SP 在骨与关节组织中广泛分布,对其生理活动具有重要的调节作用。如广泛表达于骨细胞的 NK-1 受体揭示了 SP 在骨质重建过程中的调节作用。Xiao 等^[19]研究认为,与骨质疏松标本相比,SP 及 CGRP 和 VIP 免疫阳性的 OA 股骨头松质骨平均光密度较高,其与疼痛视觉模拟评分(VAS)和骨结构参数均呈正相关,推测 SP 可能导致和促进疼痛发生发展。Zhen 等^[20]研究发现,在 OA 小鼠模型中,前交叉韧带横断导致骨重建时间和空间脱耦联,且成骨细胞和破骨细胞活性均有所增加。作为成骨细胞、破骨细胞的刺激剂,SP 可能是治疗 OA 的重要靶点。CGRP 可促进成骨基因如 Runx2、碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素和 COL1A1 基因增殖和表

达。成骨细胞中环腺苷酸(cAMP)可导致 CGRP 刺激和诱发,进而影响细胞内 Ca^{2+} 水平^[21]。此外, CGRP 诱发转录激活因子(ATF)-4 和骨保护素(OPG)表达,两者均有成骨作用。同时, CGRP 抑制 Rankl 的表达,而 OPG/Rankl 比值升高有利于成骨细胞分化,因此 CGRP 具有促进成骨细胞分化的作用。MC3T3-E1 前破骨细胞系受机械刺激后,下调 Rankl,上调 OPG,证实 CGRP 具有抑制破骨细胞生成的效应^[22]。

4.2 交感神经递质及其受体

交感神经递质(如 NE、VIP 和 NPY)对骨细胞生成和分化具有复杂的调节功能。应用免疫荧光技术可在 OA 患者成骨细胞中检测到 $\alpha 2\text{A-AR}$ 的存在^[23]。 $\alpha\text{-AR}$ 激动剂和 $\beta\text{-AR}$ 拮抗剂联合使用可诱发人成骨细胞增殖,而单独应用 $\beta 2\text{-AR}$ 激动剂则可抑制成骨细胞增殖。这两种激动剂可随使用剂量增加而增加 Rankl 和 OPG 的表达,对破骨细胞产生间接调节作用。Tanaka 等^[24]研究发现, $\alpha\text{-AR}$ 激动剂具有成骨细胞前体效应,表明经 $\alpha\text{-AR}$ 激活的去甲肾上腺素能信号通路可正向调节成骨细胞分化。

交感神经紧张时分泌的 NE 可促进废用性骨质流失^[25],增强 MLO-Y4 骨细胞系中 Rankl 表达,也可在骨细胞 RAW264.7 联合培养基中诱导破骨细胞生成^[26],表明交感神经支配改变可为局部神经递质改变提供微环境。研究证明,成熟破骨细胞中存在肾上腺素受体 $\alpha 1\text{D}$ 、 $\alpha 2\text{B}$ 和 $\beta 2$ 蛋白表达^[27]。Juhász 等^[28]研究证实, VIP 可上调转化生长因子(TGF)- β /骨形态发生蛋白(BMP)信号通路和细胞外调节蛋白激酶(ERK)1/2 信号通路,提高 Rankl/OPG 比值,进而促进骨生成。VIP 在骨骼系统中具有促进骨质合成代谢的功能,且可防止骨和软骨破坏。NPY 具有成骨细胞作用^[29]。在成骨状态下分离的间充质干细胞中 NPY 通过上调 Runx2 及提高 ALP 活性直接促进骨生成。研究表明,在小鼠 NPY 受体 y6R 表达缺乏的骨髓源性巨噬细胞培养基中,由巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)/Rankl 诱导的破骨细胞生成能力得到提高,说明 NPY 对成骨细胞具有保护作用^[30]。

5 结语

感觉和交感神经纤维及其神经递质可影响软骨、软骨下骨及其他关节组织的功能和稳态。外周神经系统很大程度上参与了 OA 病理过程,但其确切的分子机制还需进一步的研究。随着分子生物学

和现代医学的进步,感觉和交感神经纤维及其神经递质对 OA 病理生理过程的影响将被进一步阐明。

参 考 文 献

- [1] Collins KH, Reimer RA, Seerattan RA, et al. Using diet-induced obesity to understand a metabolic subtype of osteoarthritis in rats[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(6): 957-965.
- [2] Niedermair T, Kuhn V, Doranegard F, et al. Absence of substance P and the sympathetic nervous system impact on bone structure and chondrocyte differentiation in an adult model of endochondral ossification[J]. *Matrix Biol*, 2014, 38: 22-35.
- [3] Grässel S, Muschter D. Peripheral nerve fibers and their neurotransmitters in osteoarthritis pathology[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5): 931.
- [4] Grässel SG. The role of peripheral nerve fibers and their neurotransmitters in cartilage and bone physiology and pathophysiology[J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(6): 485.
- [5] Murakami K, Nakagawa H, Nishimura K, et al. Changes in peptidergic fiber density in the synovium of mice with collagenase-induced acute arthritis [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2015, 93(6): 435-441.
- [6] Dong T, Chang H, Zhang F, et al. Calcitonin gene-related peptide can be selected as a predictive biomarker on progression and prognosis of knee osteoarthritis [J]. *Int Orthop*, 2015, 39(6): 1237-1243.
- [7] Wang H, Zhang X, He JY, et al. Increasing expression of substance P and calcitonin gene-related peptide in synovial tissue and fluid contribute to the progress of arthritis in developmental dysplasia of the hip[J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17(1): 4.
- [8] Li W, Long X, Jiang S, et al. Histamine and substance P in synovial fluid of patients with temporomandibular disorders [J]. *J Oral Rehabil*, 2015, 42(5): 363-369.
- [9] Jiao K, Niu LN, Li QH, et al. $\beta 2\text{-Adrenergic}$ signal transduction plays a detrimental role in subchondral bone loss of temporomandibular joint in osteoarthritis [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12593.
- [10] Aso K, Izumi M, Sugimura N, et al. Nociceptive phenotype alterations of dorsal root ganglia neurons innervating the subchondral bone in osteoarthritic rat knee joints [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(9): 1596-1603.
- [11] Eitner A, Pester J, Nietzsche S, et al. The innervation of synovium of human osteoarthritic joints in comparison with normal rat and sheep synovium[J]. *Osteoarthr Cartil*, 2013, 21(9): 1383-1391.
- [12] Lorenz J, Schäfer N, Bauer R, et al. Norepinephrine modulates osteoarthritic chondrocyte metabolism and inflammatory responses[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(2): 325-334

- [13] Jiang W, Wang H, Li YS, et al. Role of vasoactive intestinal peptide in osteoarthritis[J]. J Biomed Sci, 2016, 23(1): 63.
- [14] Wang L, Zhang L, Pan H, et al. Levels of neuropeptide Y in synovial fluid relate to pain in patients with knee osteoarthritis[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2014, 15: 319.
- [15] Muschter D, Schäfer N, Stangl H, et al. Sympathetic neurotransmitters modulate osteoclastogenesis and osteoclast activity in the context of collagen-induced arthritis[J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0139726.
- [16] Nakasa T, Ishikawa M, Takada T, et al. Attenuation of cartilage degeneration by calcitonin gene-related peptide receptor antagonist via inhibition of subchondral bone sclerosis in osteoarthritis mice[J]. J Orthop Res, 2016, 34(7): 1177-1184.
- [17] Jenei-Lanzl Z, Grässel S, Pongratz G, et al. Norepinephrine inhibition of mesenchymal stem cell and chondrogenic progenitor cell chondrogenesis and acceleration of chondrogenic hypertrophy[J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(9): 2472-2481.
- [18] Eleftheriou F, Campbell P, Ma Y. Control of bone remodeling by the peripheral sympathetic nervous system[J]. Calcif Tissue Int, 2014, 94(1): 140-151.
- [19] Xiao J, Yu W, Wang X, et al. Correlation between neuropeptide distribution, cancellous bone microstructure and joint pain in postmenopausal women with osteoarthritis and osteoporosis[J]. Neuropeptides, 2016, 56: 97-104.
- [20] Zhen G, Wen C, Jia X, et al. Inhibition of TGF- β signaling in mesenchymal stem cells of subchondral bone attenuates osteoarthritis[J]. Nat Med, 2013, 19(6): 704-712.
- [21] He H, Chai J, Zhang S, et al. CGRP may regulate bone metabolism through stimulating osteoblast differentiation and inhibiting osteoclast formation[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(5): 3977-3984.
- [22] Yoo YM, Kwag JH, Kim KH, et al. Effects of neuropeptides and mechanical loading on bone cell resorption in vitro[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(4): 5874-5883.
- [23] Mlakar V, Jurkovic Mlakar S, Zupan J, et al. ADRA2A is involved in neuro-endocrine regulation of bone resorption[J]. J Cell Mol Med, 2015, 19(7): 1520-1529.
- [24] Tanaka K, Hirai T, Kodama D, et al. α 1B -Adrenoceptor signalling regulates bone formation through the up-regulation of CCAAT/enhancer-binding protein δ expression in osteoblasts[J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(6): 1058-1069.
- [25] Katsumura S, Ezura Y, Izu Y, et al. Beta Adrenergic receptor stimulation suppresses cell migration in association with cell cycle transition in osteoblasts: live imaging analyses based on FUCCI system[J]. J Cell Physiol, 2016, 231(2): 496-504.
- [26] Yao Q, Liang H, Huang B, et al. Beta-adrenergic signaling affect osteoclastogenesis via osteocytic MLO-Y4 cells ' RANKL production [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 488(4): 634-640.
- [27] Muschter D, Göttl C, Vogel M, et al. Reactivity of rat bone marrow-derived macrophages to neurotransmitter stimulation in the context of collagen II-induced arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2015, 17(1): 169.
- [28] Juhász T, Helgadóttir SL, Tamás A, et al. PACAP and VIP signaling in chondrogenesis and osteogenesis[J]. Peptides, 2015, 66: 51-57.
- [29] Horsnell H, Baldock PA. Osteoblastic actions of the neuropeptide Y system to regulate bone and energy homeostasis[J]. Curr Osteoporos Rep, 2016, 14(1): 26-31.
- [30] Khor EC, Yulyaningsih E, Driessler F, et al. The y_6 receptor suppresses bone resorption and stimulates bone formation in mice via a suprachiasmatic nucleus relay[J]. Bone, 2016, 84: 139-147.

(收稿:2019-04-10)

(本文编辑:李圆圆)