

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00672

骨关节炎患者关节软骨及滑膜中 MMP-9、IL-6 的表达

Expression of metalloproteinase-9 and interleukin-6 in articular cartilage and synovium of osteoarthritis patients

郭 静¹, 闫 冰², 李琪佳^{1*}, 甘洪全³, 王志强³

- 1. 河北联合大学医学实验研究中心, 唐山 063000
- 2. 河北联合大学附属医院血液科, 唐山 063000
- 3. 河北联合大学附属医院骨科, 唐山 063000

[摘要] **目的** 探讨骨关节炎中基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、白介素 6 (IL-6) mRNA 和蛋白的表达。**方法** 采用免疫组织化学技术检测 60 例骨关节炎病例(OA 组)及 20 例正常对照关节软骨及滑膜 MMP-9、IL-6 蛋白的表达水平;采用原位分子杂交技术检测 30 例 OA 及 10 例正常对照关节软骨及滑膜 MMP-9、IL-6 mRNA 的表达水平。**结果** MMP-9 mRNA 和蛋白在 OA 组阳性表达的积分光密度(IOD)值均高于正常对照组[(8.38±2.29) vs (3.52±1.36), $P<0.01$;(9.18±3.58) vs (3.83±1.48), $P<0.01$], OA 中二者的表达正相关性($r=0.924, P<0.01$); IL-6 mRNA 和蛋白在 OA 组阳性表达的 IOD 值均高于正常对照组[(8.74±3.62) vs (5.91±1.53), $P<0.01$;(8.96±3.57) vs (6.87±1.43), $P<0.01$], OA 中二者的表达亦正相关($r=0.917, P<0.01$); MMP-9 mRNA、IL-6 mRNA 及相应蛋白在 OA 中的表达均正相关(原位杂交 $r=0.426, P<0.05$;免疫组化 $r=0.444, P<0.01$)。**结论** MMP-9、IL-6 在 OA 关节软骨与滑膜中呈高表达,二者对 OA 的发生发展可能起促进作用。

[关键词] 骨关节炎;基质金属蛋白酶 9;白介素 6;原位杂交;免疫组织化学

[中图分类号] R 684.3 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2011)06-0672-05

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种由多种因素引起的多发于老年人的慢性退行性骨关节疾病,以缓慢进行性的关节软骨破坏为主要病理特征,是最常见的关节炎类型,是导致老年人疼痛和残疾的首要病因。主要表现为:关节软骨破坏;软骨下骨增厚和硬化,关节边缘骨赘形成;滑膜充血,炎性细胞浸润和纤维化。尽管其病因及发病机制尚未完全明确,但多年研究表明:由炎性滑膜、激活的软骨细胞和浸润的炎细胞产生的过量细胞因子以及降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的活性增加,是 OA 进展中的重要介质^[1]。

MMPs 是一种锌离子和钙离子依赖的蛋白水解酶,能够特异性降解细胞外基质、蛋白质的组成部分和裂解信号蛋白质。MMP-9 是 MMPs 超家族中相对分子质量最大的酶,属于明胶酶 B,又称 IV 型胶原酶,具有降解变性 I、II、III 型胶原的特异能力,也可切割天然细胞外基质中的 IV、V、VII、X 和 XI 型胶原,对蛋白聚糖核心蛋白、弹性蛋白、纤维连接蛋白、明胶和间质胶原等小分子细胞外基质成分也有降解作用。在已知的细胞因子中,白介素 1(IL-1)、肿瘤坏死因子 α

(TNF- α)与白介素 6(IL-6)是参与 OA 病理生理的主要炎性细胞因子,是炎症反应的重要调节剂,是调节炎症的始动因素^[2]。本研究采用免疫组织化学与原位杂交的方法观察膝关节 OA 患者关节软骨与滑膜中 MMP-9、IL-6 的表达及分布特点,从中了解二者在 OA 发生发展中的作用及相互关系,探讨骨关节炎可能的发病机制。

1 材料和方法

1.1 一般资料 收集 2005 年 4 月至 2005 年 10 月唐山市骨科医院具有完整临床资料因膝 OA 而行关节镜下清理术或全膝关节置换术中取材的关节组织(包括关节软骨与滑膜)60 例,其中男性 24 例,女性 36 例,平均(66.3±8.4)岁。同时收集无关节疾病史及肉眼病变的因外伤截肢与半月板损伤等行手术治疗的膝关节软骨与滑膜组织 20 例,其中男性 16 例,女性 4 例,平均(32.8±7.6)岁,经病理学诊断关节无病变,作为正常对照组。实验标本取材得到所有研究对象的知情同意。

1.2 主要试剂及方法 MMP-9 单克隆抗体工作液、即用型 Elivision 免疫组化两步法检测试剂盒、棕黄色 DAB 显色试

[收稿日期] 2011-03-02 **[接受日期]** 2011-04-21

[基金项目] 河北省人事厅留学归国人员科技活动基金(200911)。Supported by the Foundation for Returned Overseas Scholars of Human Resource Department of Hebei Province (200911).

[作者简介] 郭 静, 硕士, 讲师. E-mail: guojing_0304@yahoo.com.cn

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0315-3725276, E-mail: qjl1222@hotmail.com

剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司;IL-6多克隆抗体浓缩液(1:150稀释)、MMP-9原位杂交试剂盒、IL-6原位杂交试剂盒、蓝色DAB显色试剂盒、核固红溶液、水溶性封片剂均购自武汉博士德生物工程有限公司。全部新鲜标本术后1h内均用生理盐水冲洗,切成 $1.0\text{ cm}\times 0.8\text{ cm}\times 0.5\text{ cm}$ 小块,以10%中性甲醛固定48h,关节软骨以10%EDTA脱钙6、7周,每周更换脱钙液1次,脱钙满意后常规梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋,以 $4\sim 5\text{ }\mu\text{m}$ 厚度连续切片。行常规H-E染色外,按试剂盒内说明分别行MMP-9、IL-6免疫组化与原位杂交染色。其中免疫组化用棕黄色DAB显色,苏木精复染、脱水、透明、封片;原位杂交用蓝色DAB显色,核固红复染、水溶性封片剂封片。MMP-9蛋白与mRNA的表达以乳腺癌作为阳性对照,IL-6蛋白与mRNA的表达以溃疡性结肠炎作为阳性对照;以PBS代替一抗或杂交液作为阴性对照。

1.3 结果判定 MMP-9与IL-6蛋白表达以胞质内出现棕黄色颗粒为阳性,而MMP-9 mRNA、IL-6 mRNA表达以胞质内出现蓝紫色颗粒为阳性。采用CMIAS真彩色医学图像分析系统对各组免疫组化与原位杂交结果进行积分光密度(integral optical density, IOD)检测及分析。每张切片随机选取5个高倍视野($\times 200$),每个视野中选择1个具有代表性阳性细胞的棕黄色颗粒进行标记,以此标准自动检测所有视野的阳性细胞。以参数平均积分光密度值代表蛋白与mRNA的颗粒密度^[3]。

1.4 统计学处理 采用SPSS 13.0软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间均数的比较用 t 检验,原位杂交与免疫组化一致性检验用相关分析,将MMP-9、IL-6 mRNA及蛋白的平均积分光密度值进行相关性分析,检验水平(α)为0.05。

2 结果

2.1 H-E染色观察 结果(图1A、图1B)可见:早中期OA关节软骨细胞固缩、胞质浓染、数量减少、排列紊乱、有细胞成簇现象,软骨细胞外基质断裂、染色减退、红染、均质化、成纤维细胞增生、灶状炎细胞浸润;晚期OA关节软骨坏死呈片状,软骨陷窝空虚、内无软骨细胞,周围纤维结缔组织、小血管包裹(图1C);OA关节滑膜呈慢性炎症反应,有大量的淋巴细胞和单核细胞浸润,滑膜细胞肥大、增生,细胞层次增加,呈局灶性乳头状突起,其间伴有多数小血管增生(图1D)。

2.2 免疫组化检测

2.2.1 OA中MMP-9表达水平 在OA增生的滑膜衬里层细胞、炎性浸润细胞及血管内皮细胞中均强烈表达MMP-9蛋白(图2A);在OA关节软骨主要表达于软骨细胞、软骨基质内侵入的血管壁内皮细胞及增生的成纤维细胞胞质内(图2B)。而在正常对照组的表达量很低。免疫组化图像分析显示,OA组与对照组MMP-9蛋白IOD值比较差异有统计学意义($P<0.01$,表1)。

2.2.2 OA中IL-6表达水平 IL-6蛋白在OA关节软骨细胞、滑膜细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞等均有表达。在滑膜主要分布于滑膜衬里层的巨噬细胞样细胞、成纤维细胞样细胞及淋巴细胞等炎细胞(图2C、图2D)。IL-6蛋白在正常对照组关节软骨与滑膜的分布部位与OA相似,但数量较少,染色强度较低。免疫组化图像分析显示,OA组与对照组IL-6蛋白IOD值比较差异有统计学意义($P<0.01$,表1)。

2.3 原位杂交技术检测

2.3.1 OA中MMP-9 mRNA的表达 用原位杂交的方法从60例OA标本中随机选择MMP-9蛋白表达阳性的病例30例用以检测MMP-9 mRNA表达情况,对照组10例。结果显示:MMP-9 mRNA阳性细胞在OA关节软骨各层均有分布但以深层为著(图3A);在OA增生的滑膜组织中,主要分布于滑膜衬里细胞和滑膜下层内的成纤维细胞、血管内皮细胞等(图3B)。正常对照组的表达量很低。原位杂交图像分析显示,OA组与对照组MMP-9 mRNA的IOD值比较差异有统计学意义($P<0.01$,表1)。

2.3.2 OA中IL-6 mRNA的表达 在检测30例MMP-9 mRNA的同时检测IL-6 mRNA表达。结果显示:OA关节软骨各层内的软骨细胞均可见高表达的IL-6 mRNA(图3C);在OA滑膜组织中主要分布于滑膜衬里层的巨噬细胞样细胞、成纤维细胞样细胞及滑膜下层内的血管内皮细胞、成纤维细胞、淋巴细胞等(图3D)。原位杂交图像分析显示,OA组与对照组IL-6 mRNA的IOD值比较差异有统计学意义($P<0.01$,表1)。

2.4 相关性分析

2.4.1 OA中MMP-9 mRNA与蛋白表达的关系 实验结果显示:MMP-9 mRNA在30例OA中阳性表达的IOD值为 8.38 ± 2.29 ,而相应病例中MMP-9蛋白阳性表达的IOD值为 8.77 ± 3.31 。对MMP-9 mRNA与蛋白表达的IOD值进行相关性检验, $r=0.924$, $P<0.01$,认为OA组织中MMP-9蛋白与MMP-9 mRNA的表达正相关。

2.4.2 OA中IL-6 mRNA与蛋白表达的关系 IL-6 mRNA在30例OA中阳性表达的IOD值为 8.74 ± 3.62 ,而相应病例中IL-6蛋白阳性表达的IOD值为 9.13 ± 3.66 。对IL-6 mRNA与蛋白表达的IOD值进行相关性检验, $r=0.917$, $P<0.01$,认为OA组织中IL-6蛋白与IL-6 mRNA的表达呈极显著正相关。

2.4.3 MMP-9 mRNA与IL-6 mRNA在OA中表达的相关性 30例OA组织标本中,MMP-9 mRNA表达的IOD值 8.38 ± 2.29 ,IL-6 mRNA表达的IOD值 8.74 ± 3.62 ,相关性分析 $r=0.426$, $P<0.05$,两者呈正相关。

2.4.4 MMP-9和IL-6蛋白在OA中表达的相关性 60例OA组织标本中,IL-6阳性表达的IOD值为 8.96 ± 3.57 ,MMP-9阳性表达的IOD值为 9.18 ± 3.58 ,相关性分析 $r=0.444$, $P<0.01$,两者呈正相关。

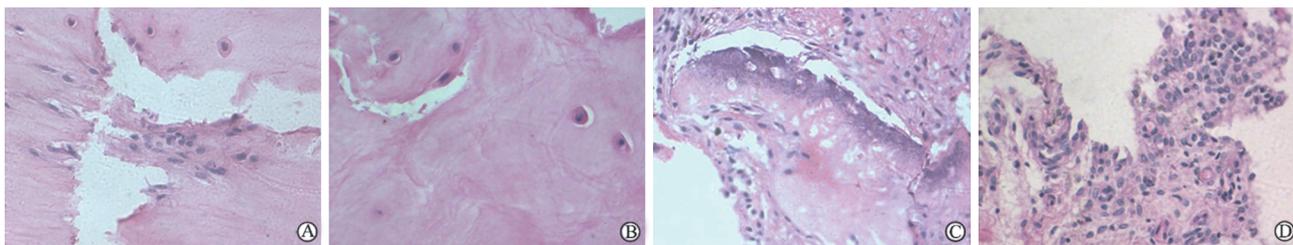


图1 骨关节炎(OA)关节软骨与滑膜 H-E 染色观察

A~C: 关节软骨; D: 滑膜. Original magnification: ×200

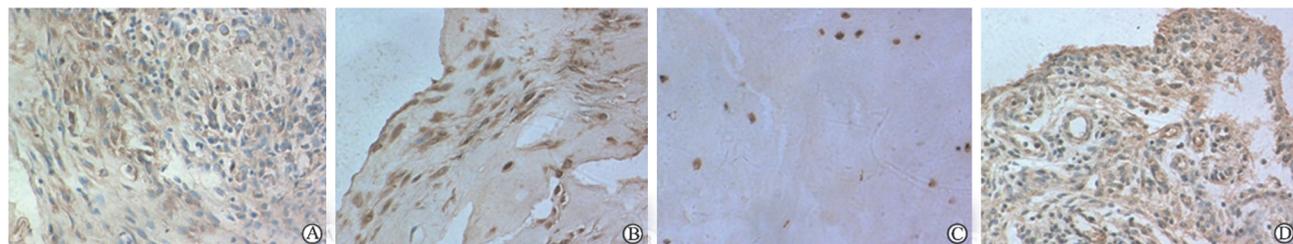


图2 骨关节炎(OA)关节软骨与滑膜中 MMP-9、IL-6 蛋白免疫组织化学染色观察

A: 关节软骨 MMP-9; B: 滑膜 MMP-9; C: 关节软骨 IL-6; D: 滑膜 IL-6. Original magnification: ×200

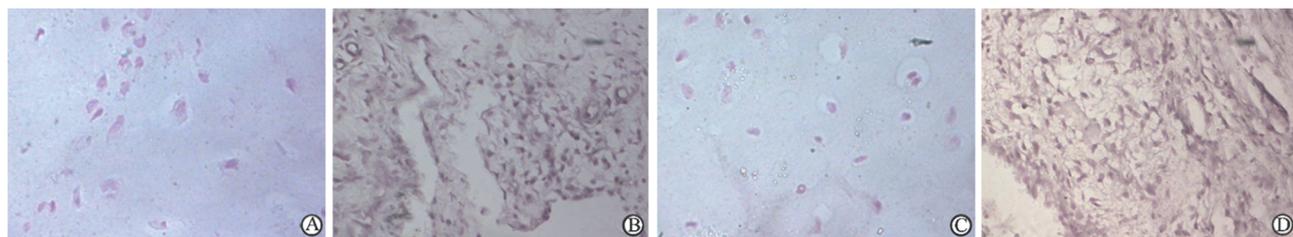


图3 骨关节炎(OA)关节软骨与滑膜中 MMP-9 mRNA、IL-6 mRNA 原位杂交技术染色观察

A: 关节软骨 MMP-9; B: 滑膜 MMP-9; C: 关节软骨 IL-6; D: 滑膜 IL-6. Original magnification: ×200

表1 MMP-9、IL-6 蛋白及基因在骨关节炎(OA)组与对照组中的表达

(IOD, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-9	IL-6
蛋白			
OA	60	9.18±3.58**	8.96±3.57**
正常对照	20	3.83±1.48	6.87±1.43
基因(mRNA)			
OA	30	8.38±2.29**	8.74±3.62**
正常对照	10	3.52±1.36	5.91±1.53

** $P < 0.01$ 与正常对照相比

3 讨论

在 OA 的病理过程中,关节软骨细胞及滑膜细胞分泌过量的 MMPs,打破了 MMP-TIMP(组织金属蛋白酶抑制剂)的平衡,造成对关节软骨细胞外基质的过度降解,是软骨逐渐出现糜烂、溃疡、缺失等一系列退行性变的重要原因。MMP-9 是与 OA 关系密切的 MMPs 成员之一,在 OA 病变

的软骨、滑膜、软骨下骨及半月板上均表达增加,是 OA 关节滑膜炎和软骨基质降解中最重要的酶之一^[4-5]。RT-PCR 方法同样检测到膝关节 OA 软骨、滑膜及半月板中 MMP-9 mRNA 的表达活性较正常人明显增强^[6]。本研究结果显示, MMP-9 蛋白及 mRNA 在 OA 组表达的 IOD 值分别为 9.18 ± 3.58 、 8.38 ± 2.29 ,正常对照组的 IOD 值分别为 3.83 ± 1.48 、 3.52 ± 1.36 ,OA 组与正常对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$);并且,我们还发现 MMP-9 蛋白和 mRNA 在 OA 关节软骨基质纤维化严重的区域无论是退变的软骨细胞,还是增生的成纤维细胞胞质内均呈强表达。结合本研究结果认为, MMP-9 在 OA 中被激活呈现高表达状态,可能促进了 OA 关节软骨的进行性破坏,或许可以作为 OA 关节软骨破坏的重要标志性诊断指标。

MMP-9 可由 OA 软骨下成骨细胞及活化的破骨细胞产生,通过消化骨基质而增强破骨细胞性骨吸收,导致骨破坏。因此, MMP-9 是参与 OA 软骨下骨重建及引起骨囊变的重要因素^[7-8]。MMP-9 作为 IV 型胶原酶,可降解多种细胞外基质成分,从而为血管内皮细胞迁移和血管腔形成创造适宜的外部环境。另外 MMP-9 还可参与血管形成的信号转导途

径,作用于血管生长调节因子,并能促进内皮细胞上调血管内皮生长因子(VEGF),使VEGF更有效地作用于其受体。有文献报道:关节炎患者滑液中MMP-9的表达水平与VEGF及关节滑膜新生血管的分布显著正相关,提示MMP-9可能在关节炎病变的血管生成过程中发挥重要作用^[9-10]。Mapp等^[11]在大鼠膝关节半月板横切OA模型的研究中,通过给予一种能够等效拮抗MMP-9、MMP-13等多个MMPs的抑制剂治疗后,导致了骨软骨内血管生成和疼痛行为减少,表明MMPs在OA骨软骨内血管生成中发挥了极其重要的作用,而骨软骨内血管生成则可能是引起OA疼痛的关键结构改变。本研究结果对此也提供了进一步的证据:本实验的重度OA病例,光镜下可见到毛细血管侵入软骨钙化层和潮线;而在OA关节软骨基质内侵入的血管及增生的滑膜血管翳血管壁内皮细胞均能检测到MMP-9蛋白及mRNA的高表达。以上结果表明在OA发生发展过程中,MMP-9可能促进关节组织新生血管形成,甚至产生肉眼可见的血管翳。由于钙化层中TIMP等抗血管形成物质的丢失,而MMP-9等促血管生成因子的产生大量增加,使得TIMP对MMPs的拮抗作用减弱而不能抵抗血管对软骨的侵蚀,最后导致软骨被吸收,由骨组织取代而形成骨质增生。因此,抗血管生成药物的治疗可有助于减少OA的疼痛症状。

IL-6又称B细胞分化因子,OA滑膜衬里细胞及浸润的单核巨噬细胞中可以检测到其存在,从正常及OA软骨中分离的软骨细胞都能自发分泌IL-6,并且OA中晚期的病变软骨中IL-6在全层均有过量表达。最新研究表明:由膝关节OA患者的髌下脂肪垫产生的高水平IL-6推动了OA的病理生理进程^[12]。前列腺素E₂可通过依赖于cAMP/PKG与PI3K的NF- κ B的激活而诱导人软骨细胞产生IL-6^[13],IL-1、TNF- α 也能诱导OA软骨细胞、成骨细胞和滑膜细胞产生IL-6,并且3种细胞因子的存在部位相同。因此认为IL-6可能是IL-1和TNF- α 作用于其他细胞的重要中介物质,IL-1和TNF- α 通过IL-6的产生将OA的疾病进程放大和延续,三者的协同作用可加速OA的进展。Sakao等^[14]发现IL-6在OA软骨下骨成骨细胞中表达增高,并与OA软骨破坏密切相关。本研究结果显示IL-6 mRNA及蛋白在OA关节组织中的阳性表达均高于正常对照组,IL-6阳性细胞分散位于关节软骨各层及滑膜衬里细胞层、滑膜下层,提示IL-6在OA的发生发展过程中可能发挥了重要作用。

众多研究表明在可溶性IL-6受体(sIL-6R)的存在下,IL-6在退行性关节疾病中具有促炎症和分解代谢的作用,而sIL-6R在OA患者关节滑液与血清中同样是表达上调。Kusano等^[7]研究发现IL-6与sIL-6R可通过上调MMPs增强骨基质的降解而诱导骨吸收,引起软骨下骨囊变。IL-6又可以刺激成骨细胞产生破骨细胞分化因子如NF- κ B受体活化因子配体(RANKL),直接诱导破骨细胞成熟而参与骨吸收^[15]。文献报道在OA关节软骨中,IL-6/sIL-6R联合能通过激活信号转导与转录活化因子(STAT)以及细胞外信号转导激酶(ERK),进而促进MMP-1、MMP-3、MMP-13的基因表达。由此表明:IL-6/sIL-6R的软骨降解特性是由诱导MMPs的表达而介导的^[16]。另外,机械性损伤可增强TNF- α

与IL-6/sIL-6R的促分解代谢作用而引起成年人和幼牛关节软骨蛋白多糖的降解^[17],IL-6和(或)sIL-6R能够通过编码II型胶原的基因COL2A1的转录调控而抑制兔关节软骨细胞II型胶原表达^[18]。

研究表明IL-6在OA的发病过程中似乎起了双重作用,其能够促进OA软骨细胞产生IL-1受体拮抗剂(IL-1R α)、可溶性TNF受体及MMPs组织抑制剂(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs),从而下调OA关节组织的炎症反应。但最新研究证明:高体质指数和IL-6循环水平的增加与X线膝关节OA发展的风险性相关,IL-6作为一个潜在的新生物指标可对OA病程进展的预测提供有益的信息^[19]。在一项膝OA患者的临床试验中发现,血清IL-6与C反应蛋白(CRP)水平的提高能更好地预测软骨破坏的风险性^[20]。另一项研究则表明血清IL-6和TNF- α 的水平与X线膝关节OA患者的关节软骨缺损密切相关^[21]。本研究分别应用免疫组化与原位杂交技术对OA关节组织MMP-9与IL-6的表达进行了相关性分析,结果显示:在OA中MMP-9与IL-6无论是在蛋白水平,还是在mRNA水平上均正相关。因此我们推测,在OA病程中二者可能相互作用,相互影响,共同促进了OA的发生发展。

一般认为,组织中多种蛋白的表达与mRNA的表达水平具有一致性。我们的实验采用免疫组化与原位杂交两种方法分别从MMP-9、IL-6蛋白水平及其mRNA水平的检测结果发现,二者在OA中蛋白与mRNA的表达具有一致性的统计学意义,表明MMP-9、IL-6二者在OA中蛋白与mRNA水平的表达存在着正向依赖关系,二者在mRNA转录水平和蛋白翻译水平是相对稳定的。但二者在OA关节软骨与滑膜中发挥作用的详细上游或下游信号转导通路的研究有待于进一步开展。

综上所述,MMP-9是与OA关系密切的MMPs,其通过降解胶原加速软骨破坏,促进OA关节组织新生血管形成而诱发血管翳,并通过消化骨基质参与OA软骨下骨重建。IL-6作为一种多功能细胞因子在OA免疫、炎症、软骨破坏及软骨下骨重建中发挥了重要作用,而IL-6通过抑制分解代谢对OA软骨所产生的保护作用远不及本身与其他细胞因子的破坏作用,所以表现为OA关节组织的进行性损害。

[参考文献]

- [1] Fuchs S, Skwara A, Bloch M, Dankbar B. Differential induction and regulation of matrix metalloproteinases in osteoarthritic tissue and fluid synovial fibroblasts[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2004, 12: 409-418.
- [2] Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier J P, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2011, 7: 33-42.
- [3] 于萍,步宏,王华,赵高平,张景丽,周桥.免疫组化结果的图像分析与人工计数方法的对比研究[J]. *生物医学工程学杂志*, 2003, 20: 288-290.
- [4] Bao J P, Chen W P, Feng J, Hu P F, Shi Z L, Wu L D. Leptin plays a catabolic role on articular cartilage[J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37: 3265-3272.

- [5] Hulejová H, Baresová V, Klézl Z, Polanská M, Adam M, Senolt L. Increased level of cytokines and matrix metalloproteinases in osteoarthritic subchondral bone[J]. *Cytokine*, 2007, 38: 151-156.
- [6] Hsieh Y S, Yang S F, Chu S C, Chen P N, Chou M C, Hsu M C, et al. Expression changes of gelatinases in human osteoarthritic knees and arthroscopic debridement[J]. *Arthroscopy*, 2004, 20: 482-488.
- [7] Kusano K, Miyaura C, Inada M, Tamura T, Ito A, Nagase H, et al. Regulation of matrix metalloproteinases (MMP-2, -3, -9, and -13) by interleukin-1 and interleukin-6 in mouse calvaria: association of MMP induction with bone resorption[J]. *Endocrinology*, 1998, 139: 1338-1345.
- [8] Amiable N, Tat S K, Lajeunesse D, Duval N, Pelletier J P, Martel-Pelletier J, et al. Proteinase-activated receptor (PAR)-2 activation impacts bone resorptive properties of human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts[J]. *Bone*, 2009, 44: 1143-1150.
- [9] Kim K S, Choi H M, Lee Y A, Choi I A, Lee S H, Hong S J, et al. Expression levels and association of gelatinases MMP-2 and MMP-9 and collagenases MMP-1 and MMP-13 with VEGF in synovial fluid of patients with arthritis [J]. *Rheumatol Int*, 2011, 31: 543-547.
- [10] Fraser A, Fearon U, Reece R, Emery P, Veale D J. Matrix metalloproteinase 9, apoptosis, and vascular morphology in early arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2001, 44: 2024-2028.
- [11] Mapp P I, Walsh D A, Bowyer J, Maciewicz R A. Effects of a metalloproteinase inhibitor on osteochondral angiogenesis, chondropathy and pain behavior in a rat model of osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18: 593-600.
- [12] Klein-Wieringa I R, Kloppenburg M, Bastiaansen-Jenniskens Y M, Yusuf E, Kwekkeboom J C, El-Bannoudi H, et al. The infrapatellar fat pad of patients with osteoarthritis has an inflammatory phenotype[J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70: 851-857.
- [13] Wang P, Zhu F, Konstantopoulos K. Prostaglandin E₂ induces interleukin-6 expression in human chondrocytes via cAMP/protein kinase A- and phosphatidylinositol 3-kinase-dependent NF-kappaB activation[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 298: C1445-C1456.
- [14] Sakao K, Takahashi K A, Mazda O, Arai Y, Tonomura H, Inoue A, et al. Enhanced expression of interleukin-6, matrix metalloproteinase-13, and receptor activator of NF-kappaB ligand in cells derived from osteoarthritic subchondral bone[J]. *J Orthop Sci*, 2008, 13: 202-210.
- [15] Kwan Tat S, Padrines M, Théoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004, 15: 49-60.
- [16] Legendre F, Bogdanowicz P, Boumediene K, Pujol J P. Role of interleukin 6 (IL-6)/IL-6R-induced signal transducers and activators of transcription and mitogen-activated protein kinase/extracellular[J]. *J Rheumatol*, 2005, 32: 1307-1316.
- [17] Sui Y, Lee J H, DiMicco M A, Vanderploeg E J, Blake S M, Hung H H, et al. Mechanical injury potentiates proteoglycan catabolism induced by interleukin-6 with soluble interleukin-6 receptor and tumor necrosis factor alpha in immature bovine and adult human articular cartilage[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60: 2985-2996.
- [18] Porée B, Kyriou M, Chadjichristos C, Beauchef G, Renard E, Legendre F, et al. Interleukin-6 (IL-6) and/or soluble IL-6 receptor down-regulation of human type II collagen gene expression in articular chondrocytes requires a decrease of Sp1, Sp3 ratio and of the binding activity of both factors to the COL2A1 promoter[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 4850-4865.
- [19] Livshits G, Zhai G, Hart D J, Kato B S, Wang H, Williams F M, et al. Interleukin-6 is a significant predictor of radiographic knee osteoarthritis; The Chingford Study[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60: 2037-2045.
- [20] Pelletier J P, Raynauld J P, Caron J, Mineau F, Abram F, Dorais M, et al. Decrease in serum level of matrix metalloproteinases is predictive of the disease-modifying effect of osteoarthritis drugs assessed by quantitative MRI in patients with knee osteoarthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69: 2095-2101.
- [21] Stannus O, Jones G, Cicuttini F, Parameswaran V, Quinn S, Burgess J, et al. Circulating levels of IL-6 and TNF- α are associated with knee radiographic osteoarthritis and knee cartilage loss in older adults[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18: 1441-1447.

[本文编辑] 贾泽军