

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.23.004

文章编号: 1005-8982(2019)23-0017-06

临床研究·论著

## TRPV4 通道在膝骨关节炎软骨细胞中的功能表达\*

张力, 王培民, 殷松江, 李晓辰, 赵凌睿, 徐波, 肖延成

(南京中医药大学附属医院 骨伤科, 江苏 南京 210000)

**摘要: 目的** 基于瞬时感受器电位离子通道家族 (TRP) 香草素受体亚家族成员 IV 型 (TRPV4) 的特点, 探讨其在人类软骨细胞中的功能性表达, 以及对于膝骨关节炎 (KOA) 的意义。**方法** 人类 KOA 软骨细胞原代培养。分别用浓度为 0、1、10 和 100 ng/ml, 以及浓度为 1 和 10  $\mu$ g/ml 的脂多糖 (LPS) 全培养 24 h, 或用浓度为 1  $\mu$ g/ml 的 LPS 全培养分别孵育 0、4、8、12、24 和 48 h, qRT-PCR 检测软骨细胞 TRPV4 的基因表达。软骨细胞分为空白组、LPS 组、LPS+TRPV4 抑制剂组, 行实时荧光钙成像观察各组钙离子内流情况, 并提取培养上清液, 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测基质金属蛋白酶 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 水平。**结果** 浓度为 1、10、100 ng/ml 和 1  $\mu$ g/ml 的 LPS 均能增加人类软骨细胞 TRPV4 通道的基因表达 ( $P < 0.05$ ); 实时荧光钙成像分别观察 20、40 和 60 s 的荧光强度发现: LPS 组荧光强度较空白组增加 ( $P < 0.05$ ), LPS+TRPV4 抑制剂组荧光强度较 LPS 组降低 ( $P < 0.05$ ); 此外, LPS 组的 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 水平高于空白组 ( $P < 0.05$ ), 而 LPS+TRPV4 抑制剂组低于 LPS 组 ( $P < 0.05$ )。**结论** 在 KOA 的炎症环境下, TRPV4 不仅存在表达量升高, 还存在功能表达增强。TRPV4 通道可能通过影响 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 的表达水平参与 KOA 软骨降解的过程。

**关键词:** 骨关节炎, 膝; 香草素受体亚家族成员 IV 型; 软骨细胞; 功能表达; 基质金属蛋白酶

**中图分类号:** R684

**文献标识码:** A

## Functional expression of TRPV4 channels in chondrocytes of knee osteoarthritis\*

Li Zhang, Pei-min Wang, Song-jiang Yin, Xiao-chen Li, Ling-ru Zhao, Bo Xu, Yan-Cheng Xiao  
(Departments of Orthopedics, The Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210000, China)

**Abstract: Objective** To explore the functional expression of transient receptor potential vanilloid receptor 4 (TRPV4) in human chondrocytes and its significance for knee osteoarthritis (KOA) based on its characteristic. **Methods** Human KOA chondrocytes were primarily cultured. Then each culture was treated with LPS in the dose of 0 ng/ml, 1 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml, 1  $\mu$ g/ml, and 10  $\mu$ g/ml for 24 h or treated with 1  $\mu$ g/ml for the time of 0, 4, 8, 12, 24 and 48 h, respectively. RT-PCR was performed to detect the gene expression of TRPV4 in chondrocytes. Chondrocytes were divided into 3 groups: control group, LPS group and LPS+TRPV4 inhibitor group. The calcium influx in each group was observed by calcium imaging and the level of matrix metalloproteinase MMP-1, MMP-3 and MMP-13 were detected by ELISA. **Results** LPS with concentrations of 1, 10, 100 ng/ml and 1  $\mu$ g/ml increased the gene expression of TRPV4 channels in human chondrocytes ( $P < 0.05$ ). Real-time fluorescence intensity observed

收稿日期: 2019-04-23

\* 基金项目: 国家自然科学基金 (No.: 81573993, 81774334); 江苏省自然科学基金 (No.: BK20171513); 江苏省领军人才培养资助项目 (No.: SLJ0207)

[通信作者] 王培民, E-mail: drwpm@163.com

in 20, 40 and 60 seconds by calcium imaging showed: the fluorescence intensity of LPS group was higher than that of control group ( $P < 0.05$ ); the fluorescence intensity of LPS+TRPV4 inhibitor group was weaker than that of LPS group ( $P < 0.05$ ); in addition, the MMP-1, MMP-3, MMP-13 in LPS group were significantly higher than those of the control group ( $P < 0.05$ ), while the LPS+TRPV4 inhibitor group showed a significant decrease compared with LPS group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** In the inflammatory environment of KOA, the expression of TRPV4 is not only a quantitative increase, but also is enhanced. TRPV4 channel may be involved in the degradation of KOA cartilage by affecting the expression level of MMP-1, MMP-3 and MMP-13.

**Keywords:** osteoarthritis, knee; TRPV4 protein; chondrocytes; functional expressions; matrix metalloproteinases

膝关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 是一种累及整个关节的退行性疾病,其主要危险因素包括年龄、遗传、肥胖及损伤。该病的病理特征是软骨退化、骨赘形成、软骨下骨改变及滑膜炎<sup>[1-2]</sup>。目前对 KOA 的病理机制尚未完全了解,研究主要集中在生物力学方向,软骨退化往往被认为是主要的发病原因<sup>[3]</sup>。关节软骨包括由蛋白多糖和胶原组成的水合细胞外基质,以及负责维持细胞外基质的软骨细胞。细胞外基质的代谢平衡受多种因素的影响,软骨细胞分泌的基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 发挥重要作用<sup>[4]</sup>。

瞬时感受器电位离子通道家族 (transient receptor potential, TRP) 香草素受体亚家族成员 IV 型 (transient receptor potential vanilloid receptor 4, TRPV4) 是位于细胞膜上的非选择性阳离子通道,可被渗透压、机械刺激、佛波酯等多种因素激活<sup>[5-7]</sup>。活化的 TRPV4 引起  $Ca^{2+}$  离子的大量涌入,随后激活细胞内信号通路<sup>[8]</sup>。近年来,大量的动物模型研究发现,TRPV4 介导软骨细胞的代谢调节<sup>[9-11]</sup>,其中涉及的具体机制却尚未明晰。

TRPV4 感受机械刺激并参与软骨降解的特点与 KOA 的病理机制十分契合。本实验提取 KOA 软骨细胞,并用脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 刺激模拟 KOA 病程中的炎症环境,观察 TRPV4 通道的功能状态,以及 TRPV4 通道与 MMP-1、MMP-3 和 MMP-13 的联系,试图阐释 TRPV4 通道参与 KOA 软骨降解的病理机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 主要试剂

DMEM 高糖培养基、胎牛血清 (美国 Gibco 公司), LPS、胶原酶 II 型 (美国 Sigma 公司), Trizol、逆转录试剂盒、实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测试

剂盒 (大连宝生生物工程有限公司),选择性 TRPV4 通道激动剂 GSK-1016790A (美国 Abcam 公司), Fluo-4 荧光染料 (HY-D0041, 美国 MCE 公司), HEPES 缓冲液、MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 酶联免疫吸附试验试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

纯水仪 (Synergy, 美国 Millipore 公司), 混合球磨仪 (MM400, 德国 Retsch 公司), 垂直流超净工作台 (ACB-4A1, 新加坡 ESCO 公司), 倒置显微镜 (德国 Leica 公司), 核酸蛋白检测仪 (Bio Photometer plus)、高速冷冻离心机 (5810R/5417R) 及逆转录 PCR 仪 (德国 Effendorf Minispin 公司), qRT-PCR 仪 (7500, 美国 Applied Biosystems 公司), 激光扫描共聚焦显微镜 (LSM710, 德国 Carl Zeiss 公司), 酶标仪 (BioTek-ELX800, 美国 Biotech 公司)。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 人类软骨细胞原代培养** 选取全膝关节置换术患者替换的软骨组织标本。患者知情同意,诊断符合美国风湿病学会分类标准,实验经南京中医药大学附属医院医学伦理委员会批准。软骨组织用含有双抗 (青霉素 100 u/ml 和链霉素 100 mg/L) 的磷酸盐缓冲液冲洗 2 或 3 次,手术刀尖削取关节表面软骨,眼科剪剪碎成小块。0.1% II 型胶原酶消化 60 min 后,全培 (20% 胎牛血清的 DMEM 培养基,含 1% 青霉素和链霉素) 终止消化。70 目筛网过滤入离心管,1 500 r/min 离心 3 min,弃上清液。全培重悬后移入培养皿,37℃、二氧化碳  $CO_2$  培养箱孵育,隔日换液。随后每 5 天换液,持续 2 周,获得人类原代软骨细胞。

**1.3.2 LPS 干预软骨细胞模拟 KOA 炎症环境** 将培养的 KOA 软骨细胞接种于 24 孔板,分别用浓度为 0、1、10 和 100 ng/ml,以及浓度为 1 和 10  $\mu$ g/ml 的 LPS 全培孵育 24 h,或用浓度为 1  $\mu$ g/ml 的 LPS 全培孵育 0、

4、8、12、24 和 48 h。

**1.3.3 qRT-PCR 检测** 采用 Trizol 提取 LPS 干预后各组软骨细胞的总 RNA, 分光光度计测定 RNA 浓度和纯度, A260 nm/A280 nm 比值在 1.8 ~ 2.0 可用于逆转录。总 RNA 加入 Prime Script<sup>®</sup> RT reagent Kit 10  $\mu$ l 逆转录反应体系, 按 37 $^{\circ}$ C 预变性 15 min、85 $^{\circ}$ C 变性 5 s 的反应条件在 PCR 仪上行逆转录后, 置入 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。Oligo V7 软件设计引物并交由上海生物工程技术服务有限公司合成, 目的基因 TRPV4 正向引物序列: 5'-ACCTT CAGCACCTTCCTCCT-3', 反向引物序列: 5'-AGGGCGAT GAGCATGTTAAG-3'; 内参照基因 GAPDH 正向引物序列: 5'-ACAGCAACAGGCTGGGTGGTGGAC-3', 反向引物序列: 5'-TTTGAGGCTGCAGCGAACTT-3'。参照 SYBR Green PCR 试剂盒说明书扩增, 绘制溶解曲线。结果以 GAPDH 为内参半定量计算, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  算法 ( $\Delta Ct =$  样本 Ct 值 - 内参 Ct 值) 对目的基因的相对表达量进行数据分析。

**1.3.4 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)** 将 KOA 软骨细胞接种于 6 孔板, 分为空白组、LPS 组、LPS+TRPV4 抑制剂组。LPS+TRPV4 抑制剂组提前用 TRPV4 抑制剂孵育 1 h。LPS 组、LPS+TRPV4 抑制剂组用浓度为 1  $\mu$ g/ml 的 LPS 全培, 空白组用正常细胞培养液全培。24 h 后收集上清液。ELISA 检测 LPS 干预后各组上清液中 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 的表达水平。参照 ELISA 试剂盒说明书操作。

**1.3.5 实时荧光钙成像** KOA 软骨细胞接种于共聚焦小皿, 分为空白组、LPS 组及 LPS+TRPV4 抑制剂组, 各组干预方式如前所述。培养 24 h 后, 各组均用含 5  $\mu$ mol/L Fluo-4 的 HEPES 缓冲液孵育 30 min。随后通过激光扫描共聚焦显微镜, 实时加入工作浓度的 TRPV4 激动剂 10  $\mu$ l, 在 495/518 nm 的激发波长处记录  $Ca^{2+}$  流入胞内引起的荧光强度变化, 持续记录 2 min。各组分别观察记录。

## 1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较采用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 进一步两两比较采用 LSD- $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 LPS 的刺激增加 TRPV4 通道在人类 KOA 软骨细胞中的表达

空白组、1 ng/ml LPS 组、10 ng/ml LPS 组、100 ng/ml LPS 组、1  $\mu$ g/ml LPS 组及 10  $\mu$ g/ml LPS 组的 TRPV4 mRNA 相对表达量分别为 (0.996  $\pm$  0.065)、(1.102  $\pm$  0.093)、(1.948  $\pm$  0.060)、(2.335  $\pm$  0.147)、(3.041  $\pm$  0.195) 和 (1.745  $\pm$  0.206)。各组软骨细胞 TRPV4 mRNA 相对表达量比较, 差异有统计学意义 ( $F = 149.52$ ,  $P = 0.000$ )。空白组与 1 ng/ml LPS 组比较, 差异无统计意义 ( $t = 1.213$ ,  $P = 0.237$ ); 空白组与 10 ng/ml LPS 组比较, 10 ng/ml LPS 组升高 ( $t = 10.719$ ,  $P = 0.000$ ); 空白组与 100 ng/ml LPS 组比较, 100 ng/ml LPS 组升高 ( $t = 15.033$ ,  $P = 0.000$ ); 空白组与 1  $\mu$ g/ml LPS 组比较, 1  $\mu$ g/ml LPS 组升高 ( $t = 22.989$ ,  $P = 0.000$ ); 空白组与 10  $\mu$ g/ml LPS 组比较, 10  $\mu$ g/ml LPS 组升高 ( $t = 8.427$ ,  $P = 0.000$ ); 10  $\mu$ g/ml LPS 组与 1  $\mu$ g/ml LPS 组比较, 10  $\mu$ g/ml LPS 组降低 ( $t = 14.562$ ,  $P = 0.000$ )。软骨细胞在 1  $\mu$ g/ml LPS 的刺激下, TRPV4 mRNA 相对表达量达到峰值。

使用浓度为 1  $\mu$ g/ml LPS 分别刺激人类 KOA 软骨细胞 0、4、8、12、24 和 48 h, TRPV4 mRNA 相对表达量分别为 (0.980  $\pm$  0.053)、(1.060  $\pm$  0.029)、(1.984  $\pm$  0.084)、(2.610  $\pm$  0.074)、(3.931  $\pm$  0.073) 和 (2.383  $\pm$  0.075)。各组软骨细胞 TRPV4 mRNA 相对表达量比较, 差异有统计学意义 ( $F = 1325.846$ ,  $P = 0.000$ )。0 h 组与 4 h 组比较, 差异无统计意义 ( $t = 1.878$ ,  $P = 0.073$ ); 0 h 组与 8 h 组比较, 8 h 组升高 ( $t = 23.568$ ,  $P = 0.000$ ); 0 h 组与 12 h 组比较, 12 h 组升高 ( $t = 38.263$ ,  $P = 0.000$ ); 0 h 组与 24 h 组比较, 24 h 组升高 ( $t = 69.249$ ,  $P = 0.000$ ); 0 h 组与 48 h 组比较, 48 h 组升高 ( $t = 32.864$ ,  $P = 0.000$ ); 48 h 组与 24 h 组比较, 48 h 组降低 ( $t = 36.385$ ,  $P = 0.000$ )。LPS 孵育 24 h 后, TRPV4 mRNA 相对表达量达到峰值。

### 2.2 TRPV4 通道在人类 KOA 软骨细胞中功能性表达

使用实时荧光钙成像来观察 TRPV4 通道在人类 KOA 软骨细胞中的功能性表达。3 组软骨细胞在 20、40 和 60 s 的荧光强度经重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点间的荧光强度有差异 ( $F = 147.001$ ,  $P = 0.000$ ); ②3 组的荧光强度有差异 ( $F = 36.337$ ,  $P = 0.000$ ); ③3 组的荧光强度变化趋势有差异 ( $F = 262.411$ ,  $P = 0.000$ )。20 s 时, LPS 组与空白组比较, LPS 组升高; LPS+ 抑制剂组与 LPS 组比较,

LPS+ 抑制剂组降低。40 s 时, LPS 组与空白组比较, LPS 组升高; LPS+ 抑制剂组与 LPS 组比较, LPS+ 抑制剂组降低。60 s 时, LPS 组与空白组比较, LPS 组升高; LPS+ 抑制剂组与 LPS 组比较, LPS+ 抑制剂组降低。见表 1 和图 1。

### 2.3 抑制 TRPV4 通道可以降低细胞培养上清中 MMPs 的表达

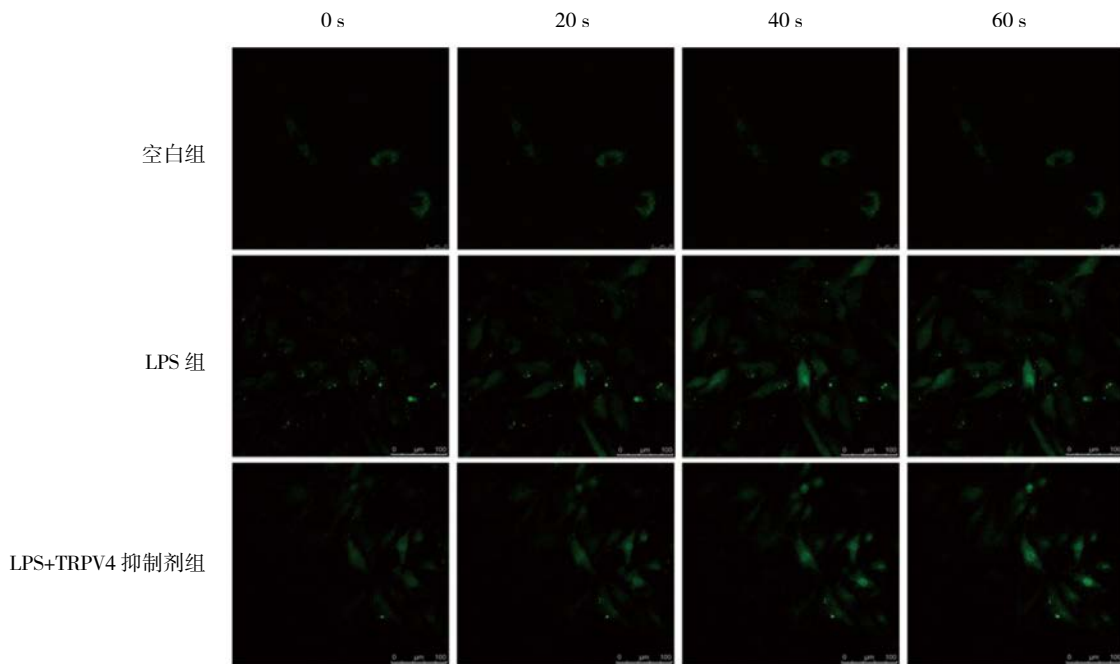
3 组软骨细胞 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 的表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。LPS 组的 MMP-1 与空白组比较, LPS 组升高 ( $t = 9.306, P = 0.000$ ); LPS+TRPV4 抑制剂组的 MMP-1 与 LPS 组比较, LPS+TRPV4 抑制剂组降低 ( $t = 4.234, P = 0.001$ )。LPS 组的 MMP-3 与空白组比较, LPS 组升高 ( $t = 13.962, P = 0.000$ ); LPS+TRPV4 抑制剂组的 MMP-3 与 LPS 组比较,

LPS+TRPV4 抑制剂组降低 ( $t = 8.690, P = 0.000$ )。LPS 组的 MMP-13 与空白组比较, LPS 组升高 ( $t = 19.108, P = 0.000$ ); LPS+TRPV4 抑制剂组的 MMP-13 与 LPS 组比较, LPS+TRPV4 抑制剂组降低 ( $t = 10.620, P = 0.000$ )。见表 2。

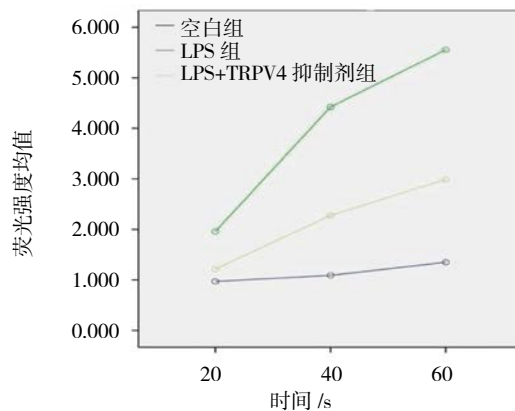
表 1 各组软骨细胞 20、40 和 60 s 实时荧光强度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	20 s	40 s	60 s
空白组	0.942 ± 0.109	1.094 ± 0.559	1.350 ± 0.059
LPS 组	1.958 ± 0.267 <sup>①</sup>	4.412 ± 0.354 <sup>①</sup>	5.556 ± 0.101 <sup>①</sup>
LPS+TRPV4 抑制剂组	1.220 ± 0.172 <sup>②</sup>	2.278 ± 0.318 <sup>②</sup>	2.988 ± 0.088 <sup>②</sup>
F 值	36.747	185.501	3 143.136
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与空白组比较,  $P < 0.05$ ; ②与 LPS 组比较,  $P < 0.05$ 。



各组细胞代表性实时荧光钙成像



各组细胞荧光强度不同时间点变化趋势

图 1 TRPV4 通道在人类 KOA 软骨细胞中的功能性表达



表 2 各组软骨细胞 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 水平比较 (ng/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	MMP-1	MMP-3	MMP-13
空白组	27.996 ± 4.726	47.332 ± 3.169	5.952 ± 1.742
LPS 组	60.468 ± 7.186 <sup>①</sup>	73.134 ± 2.507 <sup>①</sup>	28.434 ± 2.461 <sup>①</sup>
LPS+TRPV4 抑制剂组	45.694 ± 4.162 <sup>②</sup>	57.074 ± 3.047 <sup>②</sup>	15.938 ± 1.137 <sup>②</sup>
F 值	43.418	99.405	183.283
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与空白组比较,  $P < 0.05$ ; ②与 LPS 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

本研究首次证实, TRPV4 机械敏感离子通道在人类软骨细胞的表达。此外, 用 LPS 持续刺激以模拟 KOA 的炎症环境, 观察 TRPV4 的功能性表达, 以及是否与 MMPs 家族存在联系。结果发现, 在 LPS 的刺激下, TRPV4 的基因表达增加, 浓度为 1  $\mu$ g/ml 的 LPS 能最大限度增加 TRPV4 的表达, 同时, TRPV4 的表达随刺激时间的增多而增加, 在 24 h 达到最高值, 随后出现降低, 据猜测, 这种降低有可能是 LPS 毒性对细胞活性存在影响。实时荧光钙成像分别观察 20、40 和 60 s 的荧光强度: LPS 组荧光强度增加, 与空白组比较, 差异有统计学意义; LPS+TRPV4 抑制剂组荧光强度弱于 LPS 组, 差异有统计学意义。结果证明, 骨性关节炎的炎症环境在细胞层面上可能会导致  $Ca^{2+}$  内流的强度变化。伴随着 TRPV4 表达变化, 相应细胞培养上清液中 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 存在变化。LPS 组 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 较空白组升高; 而 LPS+TRPV4 抑制剂组较 LPS 组表达降低。由此可知, KOA 软骨细胞中的 TRPV4 可能通过影响 MMPs 的表达水平参与软骨降解的过程。

TRPV4 通道最早是从大鼠的肾脏中分离出来的, 并在软骨、骨、滑膜等多种肌肉骨骼组织中广泛表达, 目前的研究主要聚焦于不同的传入感觉神经元, 如伤害感受神经纤维和背根神经节<sup>[12]</sup>。KOCHUKOV 等<sup>[13]</sup>证实, TRPV4 在人类的滑膜细胞存在表达, 并且该通道的功能表达可以被肿瘤坏死因子- $\alpha$  增强, 因此将滑膜细胞的病理反应与炎症状态联系起来。本研究首先发现, TRPV4 在人类 KOA 软骨细胞中表达, 同时, 软骨细胞在 LPS, 一种革兰阴性菌细胞壁中的内毒素, 可引起炎症。有证据表明 LPS 可能在关节炎的发病机制中起着重要的作用<sup>[14]</sup>, 并被单独或与胶原蛋白联合

应用于关节炎模型的诱导刺激, TRPV4 的表达随 LPS 浓度和刺激时间的增加而增加。据此推测, TRPV4 在 KOA 中的表达可能与炎症程度的轻重有关。

与 TRP 家族的其他成员相比, TRPV4 具有机械刺激激活的特点, 被认为是介导机械痛觉过敏的媒介。例如, 在慢性压迫大鼠背根神经节后, TRPV4 通道开放介导 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活, 并最终参与机械痛敏的形成<sup>[15]</sup>。众所周知, NF- $\kappa$ B 信号通路是参与 KOA 的主要信号通路之一, 在 MMPs 的调控中起重要作用。TRPV4 介导的  $Ca^{2+}$  内流激活细胞内信号通路, 对维持骨稳态至关重要<sup>[16]</sup>。学者 TORZILLI 等<sup>[17]</sup>发现, 在体外软骨负荷模型中, 机械负荷能增加 MMPs 的表达。上述研究提示, 无论是机械刺激这样的病理因素, 还是软骨降解破坏这样的病理过程, TRPV4 均与 KOA 十分契合。本实验通过测量  $Ca^{2+}$  内流验证 KOA 软骨细胞 TRPV4 通道的功能性表达。结果显示: 空白组的荧光强度变化并不显著; LPS 组明显增加; LPS+TRPV4 抑制剂组稍有增加, 但增加的强度弱于 LPS 组。该差异证明 KOA 软骨细胞中存在着 TRPV4 的功能变化。

本研究试图探讨在 KOA 的炎症环境中 TRPV4 的激活是否能调节 MMPs 的表达。MMPs 是一族肽链内切酶, 能降解 ECM 中的多种底物。大量的研究表明, MMPs 在关节软骨破坏中起着关键作用。在各种 MMPs 中, MMP-1 和 MMP-13 是胶原酶, MMP-3 是基质降解酶, MMP-1 和 MMP-13 是导致胶原蛋白整体降解的主要因素。在本研究中, TRPV4 的抑制可下调 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 的表达, 提示 KOA 病程中 TRPV4 与 MMPs 有关, 抑制 TRPV4 可能是抑制软骨降解的有效方法。

本研究展示 TRPV4 通道在人类 KOA 软骨细胞中的功能变化并参与调控 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 的表达, 为 KOA 因生物力学因素导致软骨破坏降解提供了新的解释, 为抑制 KOA 病程中软骨破坏提供了新的靶点。尽管如此, 本研究仍有不足。首先, 实验未能在动物模型上加以验证; 其次, TRPV4 介导软骨降解的具体机制缺乏探究。今后进一步的研究将围绕 TRPV4 通道开放后下游信号通路的传导展开。

#### 参 考 文 献:

- [1] JOHNSON V L, HUNTER D J. The epidemiology of osteoarthritis[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2014, 28(1): 5-15.
- [2] FILARDO G, KON E, LONGO U G, et al. Non-surgical treatments for the management of early osteoarthritis[J]. Knee Surg Sports

- Traumatol Arthrosc, 2016, 24(6): 1775-1785.
- [3] HEIJINK A, GOMOLL A H, MADRY H, et al. Biomechanical considerations in the pathogenesis of osteoarthritis of the knee[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2012, 20(3): 423-435.
- [4] MAN G S, MOLOGHIANU G. Osteoarthritis pathogenesis - a complex process that involves the entire joint[J]. J Med Life, 2014, 7(1): 37-41.
- [5] LIEDTKE W. TRPV4 as osmosensor: a transgenic approach[J]. Pflugers Arch, 2005, 451(1): 176-180.
- [6] LIEDTKE W. TRPV4 plays an evolutionary conserved role in the transduction of osmotic and mechanical stimuli in live animals[J]. J Physiol, 2005, 567(Pt 1): 53-58.
- [7] NILIUS B, WATANABE H, VRIENS J. The TRPV4 channel: structure function relationship and promiscuous gating behaviour[J]. Pflugers Arch, 2003, 446(3): 298-303.
- [8] LIEDTKE W, CHOE Y, MARTÍ-RENOM M A, et al. Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor[J]. Cell, 2000, 103(3): 525-535.
- [9] O'CONNOR C J, LEDDY H A, BENEFIELD H C, et al. TRPV4-mediated mechanotransduction regulates the metabolic response of chondrocytes to dynamic loading[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(4): 1316-1321.
- [10] HU F, ZHU W, WANG L. MicroRNA-203 up-regulates nitric oxide expression in temporomandibular joint chondrocytes via targeting TRPV4[J]. Arch Oral Biol, 2013, 58(2): 192-199.
- [11] O'CONNOR C J, RAMALINGAM S, ZELENSKI N A, et al. Cartilage-specific knockout of the mechanosensory ion channel TRPV4 decreases age-related osteoarthritis[J]. Sci Rep, 2016, 8(6): 29053.
- [12] QU Y J, ZHANG X, FAN Z Z, et al. Effect of TRPV4-p38 MAPK pathway on neuropathic pain in rats with chronic compression of the dorsal root ganglion[J]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 6978923.
- [13] KOCHUKOV M Y, MCNEARNEY T A, YIN H, et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) enhances functional thermal and chemical responses of TRP cation channels in human synoviocytes[J]. Mol Pain, 2009, 20(5): 49.
- [14] HUANG Z Y, STABLER T, PEI F X, et al. Both systemic and local lipopolysaccharide (LPS) burden are associated with knee OA severity and inflammation[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2016, 24(10): 1769-1775.
- [15] SEGOND von BANCHET G, BOETTGER M K, KÖNIG C, et al. Neuronal IL-17 receptor upregulates TRPV4 but not TRPV1 receptors in DRG neurons and mediates mechanical but not thermal hyperalgesia[J]. Mol Cell Neurosci, 2013, 52: 152-60.
- [16] LIEBEN L, CARMELIET G. The Involvement of TRP channels in bone homeostasis[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2012, 20(3): 99.
- [17] TORZILLI P A, BHARGAVA M, PARK S. Mechanical load inhibits IL-1 induced matrix degradation in articular cartilage[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2010, 18(1): 97-105.

(张西倩 编辑)