

陈爽, 闫振宇. 血友病关节软骨发病机制的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(7): 996–1002.

Chen S, Yan ZY. Research progress on the pathogenesis of articular cartilage in hemophilia [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(7): 996–1002.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.07.016

血友病关节软骨发病机制的研究进展

陈爽¹, 闫振宇^{1,2*}

(1. 华北理工大学, 河北 唐山 063000; 2. 华北理工大学附属医院, 河北 唐山 063000)

【摘要】 本文就血友病关节软骨发病机制的研究进展做一综述, 以期进一步理解血友病软骨损伤发生发展的独特机制, 旨在为修复软骨新的治疗手段提供新思路。遴选 PubMed、Web of Science、SpringerLink、Google Scholar 等英文数据库和中国知网、维普网、万方网等中文数据库, 英文检索关键词为“hemophilic、Joint bleeding、cartilage、Pathogenesis、cytokine、immunocyte、iron、synovitis、blood、plasmin、signaling pathway”, 中文检索关键词为“血友病、关节出血、软骨、发病机制、细胞因子、免疫细胞、铁、滑膜炎、血液、纤溶酶、信号通路”, 根据入选标准及排除标准, 检索自 1981 年 1 月~2022 年 3 月血友病关节软骨病理生理学相关度较高的文献, 排除内容陈旧或重复性文献, 最终纳入相关文献 60 篇。多种细胞因子、免疫细胞、铁离子沉积、慢性滑膜炎、血液、纤溶酶、信号通路等均会导致软骨细胞凋亡, 从而导致血友病软骨损伤, 其中铁离子沉积是造成血友病软骨损伤的关键; 各个影响因素在发病之间相互联系, 复杂交错, 如何调控各个影响因素对关节软骨的损害, 有望成为修复软骨的重要方法。

【关键词】 血友病; 关节出血; 软骨; 发病机制

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 07-0996-07

Research progress on the pathogenesis of articular cartilage in hemophilia

CHEN Shuang¹, YAN Zhenyu^{1,2*}

(1. North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China. 2. the Affiliated Hospital of

North China University of Science and Technology, Tangshan 063000)

Corresponding author: YAN Zhenyu. E-mail: hbyzy2011@163.com

【Abstract】 This review summarizes the research progress of joint cartilage pathogenesis in hemophilia patients to further understand the unique mechanism of the development of cartilage damage to the occurrence of blood friends, and aims to provide new ideas to repair cartilage. English language databases, such as PubMed, Web of Science, SpringerLink, Google Scholar and Chinese language databases, such as CNKI, VIP and Wanfang, were selected. The English search key words were hemophilic, Joint bleeding, cartilage, Pathogenesis, cytokine, immunocyte, iron, synovitis, blood, plasma and signaling pathway. The Chinese search key words were hemophilia, joint hemorrhage, cartilage, pathogenesis, cytokines, immune cells, iron, synovitis, blood, plasmin and signal pathway. In accordance with the inclusion and exclusion criteria, literature with a high correlation of joint soft bone pathophysiology of hemophilia from January 1981 to March 2022 were searched, older or repetitive literature was excluded, and 60 related articles were finally included. and Conclusion Various cytokines, immune cells, iron ion deposition, chronic synovitis, blood, plasmin, and signaling pathways lead to chondrocyte apoptosis, leading to hemophilia cartilage injury in which iron ion deposition is critical for hemophilic cartilage injury. Various influencing factors are interrelated and complex. How to regulate the

【基金项目】 2019 年河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目。

Funded by the Government Funded Clinical Excellence Training Program of Hebei Province in 2019.

【作者简介】 陈爽 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 血液内科学。Email: tydwly@163.com

【通信作者】 闫振宇 (1974—), 男, 主任医师, 教授, 博士, 研究方向: 止血与血栓。Email: hbyzy2011@163.com

damage of various influencing factors in articular cartilage is expected to become an important method to repair cartilage.

【Keywords】 hemophilic; hemarthrosis; cartilage; pathogenesis

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

血友病是一类罕见的终身出血性疾病,其中 70% 左右病例表现为伴 X 染色体连锁隐性遗传的出血性疾病,另外 30% 表现为没有家族遗传病史的散发性病例。根据世界血友病联合会 (World Federation of Hemophilia, WFH) 近几年的调查报告结果显示,全球有男性血友病患者 1 255 000 人左右,其中约有 418 000 人患有重型血友病^[1]。其主要症状表现为关节骨骼肌肉长期反复出血,以及小部分表现为内脏或粘膜出血。其主要病因是凝血因子Ⅷ缺乏(血友病 A)和凝血因子Ⅸ缺乏(血友病 B)。A 型血友病占总的类型约 4/5^[2]。出血的严重程度与血浆凝血因子的浓度有一定的关联,重度(凝血因子 < 1%)血友病患者出血超过一半表现为关节内自发性出血,其中最容易累及的是膝关节、踝关节和肘关节^[3]。半年内同一关节频繁出血 3 次以上,即为靶关节形成,随后慢性滑膜炎、关节软骨及软骨下骨遭到破坏,这是因为关节积液引发的。若没有及时且有效的处理,关节活动将会受限、肌肉逐渐萎缩、骨密度下降等最终导致血友病性关节炎 (Hemophilia arthropathy, HA)^[4-5]。对于重度血友病预防性的应用重组凝血因子的长期效果来看,有显著的疗效但并不能起到完全预防关节作用^[6]。另外,对于重度血友病儿童来讲,凝血因子替代疗法主张在 2 岁以内就开始预防,但是这种治疗方法不仅价格高昂,而且容易治疗过度使患者体内产生抑制物^[7-8]。软骨再生修复是一个历史难题,软骨组织工程备受研究者的青睐,但是植入的支架材料需要较好的相容性和降解性^[9]。HA 关节软骨破坏的机制是复杂且独特的,是滑膜炎、关节出血、铁沉积和细胞因子等共同作用所导致的。因此,笔者将对血友病关节软骨病变的发病机制最新研究做出总结,旨在为治愈关节软骨病变提供新思路。

1 血友病软骨

软骨组织是一种缺乏血管的组织,由 95% 软骨基质和 5% 软骨细胞构成,起着吸收和缓冲应力的作用^[10]。关节软骨维持平衡是由于软骨细胞可以分泌多种胶原、多种酶以及黏蛋白。据相关资料显示,保持软骨细胞稳定性的关键因素是细胞外基

质。因此,维持软骨细胞的正常运行有赖于细胞外基质的功能完整^[11]。关节软骨是一种透明软骨,其中构成透明软骨的细胞外基质主要是蛋白聚糖和 II 型胶原,后者可承受一定程度的机械力,可能与免疫反应有关^[12]。

软骨损伤以关节软骨断裂、软骨细胞肥大、钙化层肥大和血管侵犯为特征。依据软骨损伤的程度可以分为 3 个等级,依次为微损伤、软骨表面破损和骨软骨骨折。微损伤是软骨基质和软骨细胞的超微结构改变,而软骨表面不受影响。软骨表面破损是软骨表面有裂缝和缺陷,但无法穿透整个软骨层。骨软骨骨折是指软骨缺损穿透最深,可达软骨下骨。有研究表明,当关节腔内出血,在显微镜下可观察到,软骨表面的番红染色逐渐缺失,软骨细胞排列呈簇状且结构混乱,提示关节软骨发生严重的软骨退化^[13-14]。另外,检查 HA 血清生物学标志物,表现为血和尿液中尿 II 型胶原 C 末端肽 (CTX-II) 的表达增加,提示该骨质标志物可作为检测血友病软骨降解的可靠指标之一^[15]。

2 血友病软骨的发病机制

2.1 细胞因子

目前,IL-1、TNF- α 和 IL-6 是参与 HA 发病机制最常用的炎性细胞因子,已被证实与软骨破坏有关。它们促进缺氧诱导因子 (HIF) 和基质金属蛋白酶 (MMPs) 的表达,从而诱导关节软骨降解,HA 反复关节内出血使这一过程更加严重^[16-19]。在 MMPs 家族中,MMP-13 是降解关节软骨的主要成员,其作用方式是激活 II 型胶原和蛋白聚糖^[20-21]。有研究证实,选择性 MMP-13 抑制剂对狗 OA 模型的软骨具有保护作用^[22]。关节软骨的功能和完整性主要取决于软骨下骨的机械和营养支持。软骨下骨的退化会影响软骨的代谢平衡,表现为 MMP-13 的表达增加和关节软骨中细胞外基质紊乱^[23-24]。

IL-1 主要产生于巨噬细胞,IL-1 分为 IL-1 α 和 IL-1 β 两种形式。其中 IL-1 β 是介导软骨损伤关键性的炎性细胞因子^[25],诱导软骨细胞中一氧化氮合酶 (iNOS) 和环氧化酶-2 (COX-2) 的表达增加,进而引起一氧化氮 (NO) 和前列腺素 E2 (PGE2) 水平的升高,最终通过上调 MMPs 导致软骨基质降解。同

时, IL-6 的协同作用增强了这种损伤作用^[16]。Hooiveld 等^[26]在模拟关节内出血的模型上, IL-1 β 对关节软骨的影响得到了证实, 并报告了 IL-1 β 对软骨细胞减少和关节软骨细胞外基质蛋白聚糖合成的影响。Sambrano 等^[27]证实红细胞被破坏溶解, 并刺激单核细胞/巨噬细胞分泌炎性细胞因子, 而炎性因子主要是由 IL-1 β 介导的。由此可以得出结论, IL-1 β 可能在血友病引起的软骨破坏过程中起关键性作用。

IL-6 由两种糖蛋白链组成(即 α 链、 β 链), 形成一种复合物, 能迅速与 β 链结合, 并通过 β 链将信息传递给细胞。Narkbunnam 等^[28]应用 IL-6 受体拮抗剂作为凝血因子替代物治疗血友病关节出血是否有效的实验中发现, 接受抗 IL-6R 作为 FVIII 替代物治疗的动物较对照组表现出最佳的存活率和最轻的急性关节肿胀, 对软骨检查发现仅有少量的含铁血黄素沉积和巨噬细胞浸润, 这说明抗 IL-6R 可以减缓血友病软骨退化, 而 IL-6 对其有破坏作用。

TNF- α 是另一种与关节软骨分解代谢密切相关的炎性细胞因子^[29]。它的生物学功能与软骨细胞抑制蛋白聚糖和 II 型胶原的合成有关^[30]。此外, Henderson 等^[31]通过动物实验发现, TNF- α 和 IL-1 β 在关节炎发病机制中具有显著的协同作用。Roosendaal 等^[32]研究证实, HA 患者滑膜组织细胞培养上清液中 TNF- α 水平高于 OA 和 RA 研究组及对照组。与 IL-1 β 不同的是, TNF- α 表达仅在滑膜组织而不是在关节软骨中发生。

2.2 免疫细胞

关节出血导致的铁沉积激活局部免疫系统, 促进血管结节的形成, 并通过招募更多单核细胞/巨噬细胞、中性粒细胞和活化 T 细胞, 促进大量损伤软骨的炎性因子释放^[27]。在软骨损伤过程中, 首先被招募过来的是中性粒细胞, 它能够分泌炎性介质和弹性蛋白酶。此外, 这个过程破坏软骨细胞基质, 导致软骨细胞凋亡。干扰素- γ 在激活 NK 细胞和辅助 T 细胞后释放, 将浸润性巨噬细胞转化为 M1 巨噬细胞。随后, M1 巨噬细胞分泌促炎因子干预骨髓间充质干细胞向软骨分化。树突状细胞诱导 Th1 和 Th17 活化, 导致软骨变性, 肥大细胞则促进细胞外基质降解^[33]。免疫机制在血友病软骨发病过程中不容小觑, 但由于免疫微环境的复杂性, 值得引起研究者的重视。

2.3 铁离子

血友病滑膜炎含铁血黄素沉积是 HA 的标志之一, 代表铁在关节的累积程度^[34-35]。有研究证实, 关节软骨中也含有铁离子沉积^[36-37]。Zhou 等^[38]发现血友病患者的核磁共振成像结果显示软骨下囊肿中存在含铁血黄素, 进一步证实了铁离子不仅存在于滑膜中, 而且存在于临近的软骨组织中。含铁血黄素引发多种炎性介质, 如 TNF- α 、血管内皮生长因子- α (VEGF- α)、基质细胞衍生因子 1- α (SDF1- α)、缺氧诱导因子 1- α (HIF-1 α) 和 MMP-9, 加剧滑膜增生和新生血管, 导致不可逆转的软骨损伤^[39]。Camacho 等^[40]研究人员将 WT 和 Hfe-KO 细胞分别暴露于 50 μ mol/L 浓度的柠檬酸铁中, 发现铁离子显著促进 MMP3、MMP13、聚糖酶的表达, 并与软骨细胞外基质 (EMC) 显著减少有关。有研究发现, 铁超载可导致软骨细胞因铁死亡而凋亡, 进一步引起关节软骨退化, 在体内观察到骨赘形成和软骨下骨硬化的增加^[41-42]。此外, 暴露于铁的原代软骨细胞培养显示软骨细胞肥大标记物(如骨钙素和胶原 1A1)上调和 Sox9 下调, Sox9 是一种与软骨发育至关重要的转录因子, 结果提示关节软骨倾向于肥大方向分化^[43]。在血友病患者中, 凝血因子的表达缺陷可会加剧与输血相关的铁超载^[35, 44-45], 进而影响关节软骨。

2.4 滑膜炎

滑膜炎的病理特征是含铁血黄素沉积、滑膜增生肥大、炎性细胞浸润以及血管增生^[5, 39]。当血友病患者有出血倾向后, 滑膜细胞会将血液从关节腔慢慢吸收, 参与这一过程的还有巨噬细胞以及其他的炎性细胞。然而, 若出现持续或反复出血, 这些细胞来不及吸收多余的血液, 就会触发慢性滑膜炎。血友病软骨改变主要与慢性滑膜炎有关, 因为增生的血管会在软骨表面形成, 并分泌大量组织破坏性介质(如细胞因子和酶), 它们对血友病软骨具有较强的破坏作用^[34]。慢性滑膜炎介导血友病软骨的大部分长期损害。

2.5 血液

van Meegeren 等^[46]在犬实验中发现, 首先, 关节内注射凝固血液比注射抗凝血液相比, 会导致更严重的软骨损伤。将软骨暴露于没有滑膜参与的血液中的体外实验表明, 至少有一些凝血作用是直接作用于软骨的, 且与炎症无关。关节内注射凝固血液导致蛋白聚糖减少 6%。其次, 为了研究抗凝

剂肝素对软骨损害的影响,还进行了膝关节一侧注射抗凝剂和对侧注射等量生理盐水的研究,发现注射肝素化盐水的膝关节比对照组释放更多的蛋白聚糖,这说明肝素导致软骨中蛋白聚糖增多。抗凝血液比凝固血液造成的血液诱导的关节损伤更小,是因为肝素抗凝通过激活抗凝血酶来抑制凝血酶的形成^[47]。凝血酶本身会直接损害软骨,因为在体外培养时发现凝血酶会促进人和牛软骨外植体中蛋白聚糖的释放^[48]。最后,在比较血清和血浆对软骨损害的影响时发现,来自健康对照组的血清中含有较低水平的多种细胞因子,如 IL-1 和 TNF- α ,而与软骨破坏有关的 MMP-1 和 MMP-13 的水平在血清和血浆中没有差异^[49]。研究表明,暴露于 50% 的血清和血浆中的软骨不会造成长期的、不可逆转的软骨损伤,尽管暴露在血浆的蛋白聚糖释放水平高于暴露在血清。这表明了血清和血浆中均含有导致暂时性软骨损伤的不同成分。

人或犬软骨在体外短时间接触全血后,糖胺聚糖(GAG)的合成受到 98% 以上的抑制,并持续约 10 周^[36],这种影响是不可逆转的,不依赖于 IL-1 的产生,这可能会影响血友病关节软骨的 GAG 代谢。软骨细胞受到刺激生成过氧化氢与红细胞相互作用,在软骨细胞周围形成羟基自由基。软骨细胞凋亡,由半胱天冬酶介导,然后不可逆地降解软骨基质和形成功能失调基质,导致关节软骨损伤,提示细胞毒性氧化代谢产物对软骨的损害作用。Pulles 等^[50]研究发现在血友病动物模型中应用³⁵SO₄²⁻定量检测蛋白聚糖发现血液诱导的早期软骨损伤,当单侧膝关节血液暴露后第 4 天、第 16 天检测蛋白聚糖合成受到抑制,另外,第 16 天检测发现对侧膝关节的蛋白聚糖合成也受到抑制。这说明,蛋白聚糖是检测早期软骨损伤的敏感指标。关节软骨是早期血友病人关节内出血的靶点。当反复发生关节内出血,如果血液成分没有及时清除并积聚在关节中,软骨的破坏会更快更严重。Jansen 等^[51]通过将血液注入到犬的膝关节实验发现,血液在 48 h 内被迅速清除,关节腔内的红细胞浓度降低到 5% 以下,尽管清除得很快,但仍对软骨的损害是不可逆的,然而遗憾的是目前这种清除机制尚不明确。另外,关节急剧出血会使关节腔机械压力骤升,损害关节内部的纤维结构,导致软骨损伤。

2.6 纤溶酶

纤溶酶是指能专一降解纤维蛋白凝胶的蛋白

水解酶,在出血性关节疾病起关键作用,尤其是软骨损伤的发生。关节血肿导致滑膜纤维蛋白溶解系统的激活,纤溶酶可以通过释放蛋白聚糖直接作用于软骨,也可以通过活化 MMPs 而间接造成软骨损害。Nieuwenhuizen 等^[52]在一项评估血友病小鼠和人类关节出血中蛋白酶激活受体(PARs)表达,以及评估针对受体的 siRNA 治疗是否能减轻滑膜炎和软骨损伤的实验中,观察到在小鼠滑膜 PAR1、PAR-2 和 PAR-4 表达增加,在软骨细胞 PAR2 和 PAR-3 表达增加,PAR1-4 siRNA 通过沉默带有互补序列的信使 RNA 可抑制 PAR1-4 的表达,用 PAR1-4 siRNA 治疗血友病小鼠关节出血可减轻滑膜炎和软骨损伤,其作用机制可能是纤溶酶能够通过激活 PARs 介导各种细胞效应,或对 PAR 进行负向调节^[53],进一步表明纤溶酶可诱发软骨损伤。

2.7 信号通路

Hu 等^[54]最近研究发现,软骨下骨血管内皮生长因子(VEGF)和血小板衍生生长因子 β (PDGF- β) 高表达,从而促进了血管生成,这些在病理下生成的血管会进一步破坏软骨,软骨细胞会在数小时内对损伤作出反应,早期损伤的特点是激活与成骨和关节的形成有关的信号通路。研究表明,受损的软骨可以释放成纤维细胞生长因子 2(FGF-2),从而诱导细胞外信号调节激酶(ERK)的磷酸化,从而保护软骨。此外,转化生长因子- β (TGF- β) 和骨形态发生蛋白(BMPs)信号通路迅速激活。TGF- β 信号通路在调节关节内环境平衡中起重要作用,通过细胞内介质 SMAD-2 或 SMAD-3 转导其信号,这可以促进软骨细胞相对稳态的维持,并诱导蛋白聚糖和 II 型胶原的产生^[55]。BMPs 在软骨形成和修复中具有重要的作用,BMPs 信号通路上调,作用机制是经丝氨酸/苏氨酸激酶受体转导,磷酸化 R-Smad 蛋白,调节靶基因的转录^[56]。因此,应用 BMP 抑制剂阻断 BMP 信号通路可以抑制软骨的生长板修复。

众所周知,Wnt 信号分子调节各种细胞的增殖、分化和生长。Wnt 途径通过调节软骨下骨的结构间接影响软骨,主要是通过影响软骨细胞中 MMPs 的表达^[57]。研究显示,Wnt/ β -连环蛋白信号通路与软骨损伤后的炎症有关,在软骨损伤期间异常激活,从而导致软骨损害^[58]。另一研究显示,抑制软骨细胞中的 β -连环蛋白信号可导致软骨细胞凋亡,这也会导致软骨破坏^[59]。两项研究结果显示相反的结论,由此可以推断适合的 Wnt 蛋白浓度对于软骨的

生理维持是非常关键的, Wnt 通路可能与血友病软骨损伤有关。Sen 等^[60]实验发现, 在关节血友病急性损伤模型中, 损伤 3 h 后分离出的关节特异性 RNA 的全球基因表达序列显示, NF- κ B 是触发炎症的一种重要转录因子。随后, 为进一步证实, 在多次性损伤模型后 1 h ~ 90 d, 筛选了 NF- κ B 相关通路, 发现 NF- κ B 相关因子显著上调, 导致损伤关节内缺氧, 血管生成和软骨细胞凋亡, 表明 NF- κ B 相关通路可能与血友病软骨损伤有关。

3 总结与展望

近年来, 国内外学者 HA 的发病机制引起了足够的重视, 对其发病机制有了一定的认识, 但对于其复杂的发病机制尚不完全清楚, 尤其是血友病关节软骨的修复一直是一个无法攻克的难题。目前认为, 多种细胞因子、免疫细胞、铁离子沉积、慢性滑膜炎、血液、纤溶酶、多条信号通路等可能与血友病软骨细胞凋亡有关, 从而导致软骨受损。对于其复杂的发病机制的研究和认识还有待提高。软骨的修复软骨组织工程备受研究者的青睐, 软骨组织工程指的是向关节腔内植入支架材料, 由于需要良好的相容性和降解性, 考虑成本 and 安全性实施较为困难。另外, 移植具有软骨分化向的干细胞似乎可行, 但需要特定的条件刺激, 如缺氧、机械负荷、软骨生长因子等。随着临床和动物体内实验研究的深入展开, 研发新的药物和新的治疗技术策略应用于血友病软骨的修复指日可待。

参 考 文 献 (References)

- [1] Iorio A, Stonebraker JS, Chambost H, et al. Establishing the prevalence and prevalence at birth of hemophilia in males: a meta-analytic approach using national registries [J]. *Ann Intern Med*, 2019, 171(8): 540-546.
- [2] Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH guidelines for the management of hemophilia panelists and co-authors. WFH guidelines for the management of hemophilia, 3rd edition [J]. *Haemophilia*, 2020, 26(6): 1-158.
- [3] Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, et al. Treatment guidelines working group on behalf of the world federation of hemophilia. guidelines for the management of hemophilia [J]. *Haemophilia*, 2013, 19(1): e1-e47.
- [4] Blanchette VS, Key NS, Ljung LR, et al. Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH [J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12(11): 1935-1939.
- [5] Melchiorre D, Manetti M, Matucci-Cerinic M. Pathophysiology of hemophilic arthropathy [J]. *J Clin Med*, 2017, 6(7): 63.
- [6] Kenet G, Chen YC, Lowe G, et al. Real-World rates of bleeding, factor VIII use, and quality of life in individuals with severe haemophilia a receiving prophylaxis in a prospective, noninterventional study [J]. *J Clin Med*, 2021, 10(24): 5959.
- [7] Pratt KP, Arruda VR, Lacroix-Desmazes S. Inhibitors-recent insights [J]. *Haemophilia*, 2021, 27(3): 28-36.
- [8] 王天有, 吴润晖. 迈进儿童血友病关怀新时代 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2017, 32(1): 18-22.
Wang TY, Wu RH. Entry into the new era of care for children with hemophilia [J]. *Chin J Practical Pediatr*, 2017, 32(1): 18-22.
- [9] Zhao X, Hu DA, Wu D, et al. Applications of biocompatible scaffold materials in stem cell-based cartilage tissue engineering [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 603444.
- [10] 史冬泉, 李嘉威. 软骨修复临床转化的挑战与机遇 [J]. *医学研究生学报*, 2019, 32(9): 897-903.
Shi DQ, Li JW. Clinical transformation of cartilage tissue engineering: challenges and opportunities [J]. *J Med Postgrad*, 2019, 32(9): 897-903.
- [11] Hou M, Zhang Y, Zhou X, et al. Kartogenin prevents cartilage degradation and alleviates osteoarthritis progression in mice via the miR-146a/NRF2 axis [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(5): 483.
- [12] Street M, Thambyah A, Dray M, et al. Augmentation with an ovine forestomach matrix scaffold improves histological outcomes of rotator cuff repair in a rat model [J]. *J Orthop Surg Res*, 2015, 10(1): 1-11.
- [13] 郭文娟, 赵永强. 血友病关节病的发病机制及危险因素 [J]. *血栓与止血学*, 2012, 18(1): 42-44.
Guo WJ, Zhao YQ. Haemophilic arthropathy: pathogenesis and risk factors [J]. *Chin J Thrombosis Hemostasis*, 2012, 18(1): 42-44.
- [14] 黄云梅, 陈文列, 黄美雅, 等. 多种特殊染色法在骨关节炎组织形态学研究中的应用比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2011, 21(5): 45-49.
Huang YM, Chen WL, Huang MY, et al. Comparison of several special stainings on osteoarthritis morphology [J]. *Chin J Comp Med*, 2011, 21(5): 45-49.
- [15] Hua B, Olsen EHN, Sun S, et al. Serological biomarkers detect active joint destruction and inflammation in patients with haemophilic arthropathy [J]. *Haemophilia*, 2017, 23(4): e294-e300.
- [16] Hashizume M, Hayakawa N, Mihara M. IL-6 trans-signalling directly induces RANKL on fibroblast-like synovial cells and is involved in RANKL induction by TNF-alpha and IL-17 [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2008, 47(11): 1635-1640.
- [17] Niki Y, Yamada H, Kikuchi T, et al. Membrane-associated IL-1 contributes to chronic synovitis and cartilage destruction in human IL-1 alpha transgenic mice [J]. *J Immunol*, 2004, 172(1): 577-584.
- [18] Srivastava A. Inflammation is key to hemophilic arthropathy [J]. *Blood*, 2015, 126(19): 2175-2176.
- [19] Wojdasiewicz P, Poniatowski ŁA, Nauman P, et al. Cytokines

- in the pathogenesis of hemophilic arthropathy [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2018, 39: 71–91.
- [20] Mehana EE, Khafaga AF, El-Blehi SS. The role of matrix metalloproteinases in osteoarthritis pathogenesis: An updated review [J]. Life Sci, 2019, 234: 116786.
- [21] Ma CH, Wu CH, Jou IM, et al. PKR activation causes inflammation and MMP-13 secretion in human degenerated articular chondrocytes [J]. Redox Biol, 2018, 14: 72–81.
- [22] Settle S, Vickery L, Nemirovskiy O, et al. Cartilage degradation biomarkers predict efficacy of a novel, highly selective matrix metalloproteinase 13 inhibitor in a dog model of osteoarthritis: confirmation by multivariate analysis that modulation of type II collagen and aggrecan degradation peptides parallels pathologic changes [J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(10): 3006–3015.
- [23] Mahmoudian A, Lohmander LS, Mobasheri A, et al. Early-stage symptomatic osteoarthritis of the knee-time for action [J]. Nat Rev Rheumatol, 2021, 17(10): 621–632.
- [24] Yu D, Xu J, Liu F, et al. Subchondral bone changes and the impacts on joint pain and articular cartilage degeneration in osteoarthritis [J]. Clin Exp Rheumatol, 2016, 34(5): 929–934.
- [25] van Vulpen LF, Schutgens RE, Coelevelt K, et al. IL-1 β , in contrast to TNF α , is pivotal in blood-induced cartilage damage and is a potential target for therapy [J]. Blood, 2015, 126(19): 2239–2246.
- [26] Hooiveld MJ, Roosendaal G, van den Berg HM, et al. Haemoglobin-derived iron-dependent hydroxyl radical formation in blood-induced joint damage: an *in vitro* study [J]. Rheumatology (Oxford), 2003, 42(6): 784–790.
- [27] Sambrano GR, Terpstra V, Steinberg D. Independent mechanisms for macrophage binding and macrophage phagocytosis of damaged erythrocytes. Evidence of receptor cooperativity [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997, 17(12): 3442–3448.
- [28] Narkbunnam N, Sun J, Hu G, et al. IL-6 receptor antagonist as adjunctive therapy with clotting factor replacement to protect against bleeding-induced arthropathy in hemophilia [J]. J Thromb Haemost, 2013, 11(5): 881–893.
- [29] Park J, Park H, Lee YL, et al. Blocking TNF α attenuates progressive cartilage matrix degradation in inflammatory arthritis [J]. Exp Ther Med, 2021, 22(2): 808.
- [30] Kobayashi M, Squires GR, Mousa A, et al. Role of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in matrix degradation of human osteoarthritic cartilage [J]. Arthritis Rheum, 2005, 52(1): 128–135.
- [31] Henderson B, Pettipher ER. Arthritogenic actions of recombinant IL-1 and tumour necrosis factor alpha in the rabbit: evidence for synergistic interactions between cytokines *in vivo* [J]. Clin Exp Immunol, 1989, 75(2): 306–310.
- [32] Roosendaal G, van Rinsum AC, Vianen ME, et al. Haemophilic arthropathy resembles degenerative rather than inflammatory joint disease [J]. Histopathology, 1999, 34(2): 144–153.
- [33] Li M, Yin H, Yan Z, et al. The immune microenvironment in cartilage injury and repair [J]. Acta Biomater, 2022, 140: 23–42.
- [34] Calcaterra I, Iannuzzo G, Dell'Aquila F, et al. Pathophysiological role of synovitis in hemophilic arthropathy development: a two-hit hypothesis [J]. Front Physiol, 2020, 11: 541.
- [35] van Vulpen LF, Roosendaal G, van Asbeck BS, et al. The detrimental effects of iron on the joint: a comparison between haemochromatosis and haemophilia [J]. J Clin Pathol, 2015, 68(8): 592–600.
- [36] Hooiveld M, Roosendaal G, Vianen M, et al. Blood-induced joint damage: longterm effects *in vitro* and *in vivo* [J]. J Rheumatol, 2003, 30(2): 339–344.
- [37] Cooke EJ, Zhou JY, Wyseure T, et al. Vascular permeability and remodelling coincide with inflammatory and reparative processes after joint bleeding in factor VIII-deficient mice [J]. Thromb Haemost, 2018, 118(6): 1036–1047.
- [38] Zhou JY, Wong JH, Berman ZT, et al. Bleeding with iron deposition and vascular remodelling in subchondral cysts: a newly discovered feature unique to hemophilic arthropathy [J]. Haemophilia, 2021, 27(6): e730–e738.
- [39] Acharya SS, Kaplan RN, Macdonald D, et al. Neoangiogenesis contributes to the development of hemophilic synovitis [J]. Blood, 2011, 117(8): 2484–2493.
- [40] Camacho A, Simão M, Ea HK, et al. Iron overload in a murine model of hereditary hemochromatosis is associated with accelerated progression of osteoarthritis under mechanical stress [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2016, 24(3): 494–502.
- [41] Burton LH, Radakovich LB, Marolf AJ, et al. Systemic iron overload exacerbates osteoarthritis in the strain 13 guinea pig [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2020, 28(9): 1265–1275.
- [42] Jing X, Lin J, Du T, et al. Iron Overload is associated with accelerated progression of osteoarthritis: the role of DMT1 mediated iron homeostasis [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 8: 1–15.
- [43] Simão M, Gavaia PJ, Camacho A, et al. Intracellular iron uptake is favored in Hfe-KO mouse primary chondrocytes mimicking an osteoarthritis-related phenotype [J]. Biofactors, 2019, 45(4): 583–597.
- [44] Choi YC, Hough AJ, Morris GM, et al. Experimental siderosis of articular chondrocytes cultured *in vitro* [J]. Arthritis Rheum, 1981, 24(6): 809–823.
- [45] Hakobyan N, Enockson C, Cole AA, et al. Experimental hemophilic arthropathy in a mouse model of a massive haemarthrosis: gross, radiological and histological changes [J]. Haemophilia, 2008, 14(4): 804–809.
- [46] van Meegeren ME, Roosendaal G, Barten-van Rijbroek AD, et al. Coagulation aggravates blood-induced joint damage in dogs [J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(10): 3231–3239.
- [47] Mourier PA, Guichard OY, Herman F, et al. New Insights in thrombin inhibition structure-activity relationships by characterization of octadecasaccharides from low molecular weight

- heparin [J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 428.
- [48] Furmaniak-Kazmierczak E, Cooke TD, Manuel R, et al. Studies of thrombin-induced proteoglycan release in the degradation of human and bovine cartilage [J]. *J Clin Invest*, 1994, 94(2): 472–480.
- [49] Stroncek D, Slezak S, Khuu H, et al. Proteomic signature of myeloproliferation and neutrophilia: analysis of serum and plasma from healthy subjects given granulocyte colony-stimulating factor [J]. *Exp Hematol*, 2005, 33(10): 1109–1117.
- [50] Pulles AE, Vøls KK, Christensen KR, et al. Proteoglycan synthesis rate as a novel method to measure blood-induced cartilage degeneration in non-haemophilic and haemophilic rats [J]. *Haemophilia*, 2020, 26(3): e88–e96.
- [51] Jansen NW, Roosendaal G, Wenting MJ, et al. Very rapid clearance after a joint bleed in the canine knee cannot prevent adverse effects on cartilage and synovial tissue [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(4): 433–440.
- [52] Nieuwenhuizen L, Schutgens RE, Coeleveld K, et al. Silencing of protease-activated receptors attenuates synovitis and cartilage damage following a joint bleed in haemophilic mice [J]. *Haemophilia*, 2016, 22(1): 152–159.
- [53] Adams MN, Ramachandran R, Yau MK, et al. Structure, function and pathophysiology of protease activated receptors [J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 130(3): 248–282.
- [54] Hu W, Chen Y, Dou C, et al. Microenvironment in subchondral bone: predominant regulator for the treatment of osteoarthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2021, 80(4): 413–422.
- [55] van der Kraan PM. Inhibition of transforming growth factor- β in osteoarthritis discrepancy with reduced TGF- β signaling in normal joints [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 4(1): 100238.
- [56] Thielen NGM, van der Kraan PM, van Caam APM. TGF β /BMP signaling pathway in cartilage homeostasis [J]. *Cells*, 2019, 8(9): 969.
- [57] Claudel M, Jouzeau JY, Cailotto F. Secreted Frizzled-related proteins (sFRPs) in osteo-articular diseases: much more than simple antagonists of Wnt signaling? [J]. *FEBS J*, 2019, 286(24): 4832–4851.
- [58] Chung R, Wong D, Macsai C, et al. Roles of Wnt/ β -catenin signalling pathway in the bony repair of injured growth plate cartilage in young rats [J]. *Bone*, 2013, 52(2): 651–658.
- [59] Shi T, Fu X, Wang F, et al. The WNT/ β -catenin signalling pathway induces chondrocyte apoptosis in the cartilage injury caused by T-2 toxin in rats [J]. *Toxicol*, 2021, 204: 14–20.
- [60] Sen D, Chapla A, Walter N, et al. Nuclear factor (NF)- κ B and its associated pathways are major molecular regulators of blood-induced joint damage in a murine model of hemophilia [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11(2): 293–306.

[收稿日期] 2022-03-12