文章编号:1000-5404(2011)17-1789-05

论著

NBD多肽与OPG联合抑制聚乙烯磨损颗粒诱导的溶骨效应

汪 洋[1,2],张 健[3],周 锐[4],成名翔[5],曾 理[6],吴宁宁[2],李锐冬[1,2],牟钰钦[6],邓忠良[1] (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院:骨科[1],肝胆外科[5];400016 重庆,重庆医科大学:检验系临床检验诊断学教育部重点实验室[2],附属第一医院骨科[3],药学院[6];400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所创伤实验室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[4])

[摘要] **目的** 运用小鼠植骨气囊模型,研究NBD多肽、NBD多肽联合骨保护素(osteoprotegerin,OPG)减少骨破坏吸收防治人工关节松动的效应。**方法** 在小鼠背部注入空气形成气囊,取同源小鼠的颅骨植入气囊内。将已制成的气囊模型的小鼠分成3组:NBD多肽组(气囊内注入聚乙烯颗粒及NBD多肽);联合组(气囊内注入聚乙烯颗粒、NBD多肽及OPG);对照组(气囊注入聚乙烯颗粒及生理盐水)。3周后取囊壁和植入颅骨组织进行HE染色检测炎症反应情况及炎症细胞渗出量;取组织匀浆液应用ELISA方法检测炎性细胞因子(IL-1、TNF)浓度;抗酒石酸酸性磷酸酶染色观察破骨细胞的分化成熟情况;应用扫描电镜检测骨片吸收情况及RT-PCR检测破骨细胞骨吸收相关基因Ⅱ型碳酸酐酶(CA-Ⅱ)mRNA表达水平。**结果** ①HE染色检测炎症细胞渗出量NBD多肽组(870±236)、联合组(820±198)明显少于对照组(3 325±467)($P<0.05$)。②ELISA法检测炎性细胞因子(IL-1、TNF)浓度NBD多肽组[(138.34±2.32)、(156.14±4.17)]与联合组[(129.32±4.62)、(148.78±5.36)]均明显低于对照组[(187.56±4.78)、(179.45±8.34),$P<0.05$]。③抗酒石酸酸性磷酸酶染色阳性区域与视野面积的百分比NBD多肽组[(1.06±0.67)%]与联合组[(0.64±0.33)%]明显少于对照组[(4.12±1.09)%],且联合组较NBD多肽组染色面积也有显著减少($P<0.05$)。④应用扫描电镜检测骨片吸收陷窝面积与视野面积的百分比NBD多肽组[(4.03±0.76)%]与联合组[(2.65±0.58)%]明显低于对照组[(12.38±1.98)%];且联合组较NBD多肽组的骨片吸收面积有显著减少($P<0.05$)。⑤破骨细胞骨吸收功能相关基因CA-Ⅱ mRNA相对表达量NBD多肽组(0.254±0.048)与联合组(0.180±0.033)明显少于对照组(0.382±0.072)。且与NBD多肽组相比,联合组表达水平也有显著减少($P<0.05$)。**结论** NBD多肽能明显减轻聚乙烯磨损颗粒所致的炎症反应,从而间接抑制破骨细胞激活,有效减少聚乙烯磨损颗粒所致的骨吸收效应;NBD多肽与OPG联合应用,其抑制骨吸收效应更加明显。

[关键词] NBD多肽;骨保护素;人工关节;植骨气囊动物模型;无菌松动
[中图法分类号] R318.08; R322.71; R392.4 [文献标志码] A

NBD peptide in combination with osteoprotegerin inhibits bone destruction induced by polyethylene wear particles in mouse air pouch model

Wang Yang[1,2], Zhang Jian[3], Zhou Rui[4], Cheng Mingxiang[5], Zeng Li[6], Wu Ningning[2], Li Ruidong[1,2], Mu Yuqin[6], Deng Zhongliang[1] ([1]Department of Orthopedics, [5]Department of Hepatobiliary Surgery, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010; [2]Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnosis of Ministry of Education, Faculty of Laboratory Medicine, [3]Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital, [6]College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [4]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

[**Abstract**] **Objective** To observe the effects of NF-κB essential modifier binding domain (NBD) peptide, alone or in combination with osteoprotegerin (OPG), on bone destruction reduction as well as prevention and treatment of artificial joint loosening with a mouse air pouch model. **Methods** The mouse air pouch model was constructed through injecting air into mouse back to form a pouch and implanting skull bone from homologous mouse into the air pouch. The model mice were divided into three groups: an NBD peptide group (polyethylene particles and NBD peptides were injected into the air pouch), a combination group (polyethylene particles, NBD peptides, and OPG were injected into the air pouch), and a control group (polyethylene particles and saline were injected into the air pouch). Pouch tissues and implants were collected after three weeks for detection. HE staining was used to detect inflammatory response and inflammatory cell infiltration. ELISA was used to detect cytokine (IL-1 and TNF) concentrations in tissue homogenate. Tartrate-resistant acid

[基金项目] 国家自然科学基金(81071490,30772211)
[通信作者] 邓忠良,E-mail:deng7586@gmail.com

phosphatase staining was used to observe osteoclast differentiation and maturation. Scanning electron microscopy was used to detect bone slice resorption. RT-PCR was used to detect type-Ⅱ carbonic anhydrase (CA-Ⅱ) mRNA expression. **Results** HE staining results showed that inflammatory cell amounts in the NBD peptide group (870 ± 236) and combination group (820 ± 198) were significantly smaller than that in the control group (3 325 ± 467) ($P < 0.05$). ELISA results showed that inflammatory cytokine (IL-1 and TNF) concentrations in the NBD peptide group (138.34 ± 2.32 and 156.14 ± 4.17) and combination group (129.32 ± 4.62 and 148.78 ± 5.36) were significantly lower than those in the control group (187.56 ± 4.78 and 179.45 ± 8.34) ($P < 0.05$). Tartrate-resistant acid phosphatase staining results showed that the percentages of positive area to visual field area in the NBD peptide group [(1.06 ± 0.67)%] and combination group [(0.64 ± 0.33)%] were significantly lower than that in the control group [(4.12 ± 1.09)%], with a significant difference between the NBD peptide group and the combination group ($P < 0.05$). Scanning electron microscopy showed that the percentages of bone slice resorption area to visual field area in the NBD peptide group [(4.03 ± 0.76)%] and combination group [(2.65 ± 0.58)%] were significantly lower than that in the control group [(12.38 ± 1.98)%], with a significant difference between the NBD peptide group and the combination group ($P < 0.05$). RT-PCR results showed that the expression of CA-Ⅱ mRNA in the NBD peptide group (0.254 ± 0.048) and the combination group (0.180 ± 0.033) was significantly lower than that of the control group (0.382 ± 0.072), with a significant difference between the NBD peptide group and the combination group ($P < 0.05$). **Conclusion** In a mouse air pouch model, NBD peptide can significantly reduce inflammation and thereby inhibit osteoclast activation indirectly, while OPG can inhibit osteoclast activation and maturation directly. NBD peptide in combination with OPG has more obvious inhibitory effects on bone resorption induced by polyethylene wear particles.

[**Key words**] NBD-peptide; OPG; artificial joint; air pouch model; aseptic loosening

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81071490, 30772211). Corresponding author: Deng Zhongliang, E-mail: deng7586@gmail.com

现代人工关节置换技术已经日趋成熟,而人工关节晚期松动则是人工关节置换术后严重的、具有灾难性的并发症。近年研究发现,假体在日常的使用中会产生许多磨损颗粒,它是引起巨噬细胞介导破骨细胞分化成熟的重要因素。破骨细胞(osteoclast,OC)引起的骨溶解是导致人工关节晚期松动的主要原因[1]。因此如何抑制局部破骨细胞的骨吸收效应,是防治人工关节置换术后无菌松动的重点。

成骨细胞膜上的 NF-κB 受体活化因子配体(receptor activator of NF-κB ligand, RANKL)是破骨细胞分化的关键因子。它可与破骨细胞前体细胞表面的 NF-κB 受体活化因子(receptor activator of NF-κB, RANK)结合,促使破骨细胞前体细胞分化成熟为有溶骨活性的破骨细胞。骨保护素(osteoprotegerin,OPG)是一种能抑制 OC 分化和增加骨密度的分子[2],是 RANKL 的可溶性"圈套"受体,当 OPG 与 RANKL 结合后就阻断了 RANKL 与破骨细胞前体细胞表面的 RANK 结合,从而抑制 RANKL 的生物学活性。

本实验通过改良的小鼠植骨气囊模型[3],将聚乙烯颗粒注入气囊,模拟磨损颗粒诱导关节松动的病理过程。前期实验中[4],已经得出 OPG 能明显减少破骨细胞的激活与分化,然而在抑制聚乙烯颗粒诱导的炎症反应方面作用不明显。因炎症因子的大量产生对破骨细胞的激活起到明显促进作用,为更进一步的抑制破骨细胞的激活,需加强抗炎,减少炎症因子的大量产生。故加入能明显起到抗炎作用的 NBD 多肽,具有细胞穿透性的 NF-κB 必须调节蛋白结合区(NF-κB essential modifier binding domain,NBD)多肽进入细胞后,与 IKK 的调节亚基(NF-κB essential modifier,NEMO)结合,抑制 IκB 激酶(IκB kinase,IKK)激活,可以选择性抑制 NF-κB 的活性,进而调节机体的炎症反应[5],减少炎症因子的大量产生,从而抑制破骨细胞的大量激活。目前 NBD 多肽应用于人工关节松动的实验研究较少。将 NBD 多肽与 OPG 直接注入植骨气囊内,观察其减少炎症反应及炎症因子的释放,阻碍 RANKL 与 RANK 信号通路的传递,从而达到防治人工关节置换术后松动。

1 材料与方法

1.1 材料

实验选用 8~10 周近交系雌性 BALB/c 小鼠 40 只,体质量约 20 g,由重庆医科大学实验动物中心提供。OPG 购于 RND 公司。NBD 多肽购于西安美联生物公司,用 PBS 稀释成浓度为

1 μg/ml 的液体。NBD 多肽与 OPG 联合试剂用 PBS 配成浓度为(1 μg OPG + 1 μg NBD 多肽)/ml 的液体。聚乙烯微粒购于美国 Zimmer 公司,微粒直径为 2 ~ 3 μm,用 70% 的乙醇溶液反复冲洗颗粒,并浸泡 24 h 后用生理盐水洗去酒精,制成生理盐水的悬浮液,浓度为 5 mg/ml。TRAP 试剂盒购于 Sigma 公司,ELISA 试剂盒购于 RND 公司。逆转录试剂盒及 PCR 扩增试剂盒均购自 TaKaRa 公司。PCR 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 小鼠气囊植骨模型的建立 在近交系雌性 BALB/c 小鼠 40 只中,处死 10 只小鼠,取其颅骨作为其他小鼠气囊植骨的供体。将剩余 30 只小鼠通过完全随机分组的方法分为 NBD 多肽组、联合组、对照组。参照文献[6]制造小鼠气囊模型。

1.2.2 气囊模型植骨片溶骨效应观察

1.2.2.1 术后处理 在气囊模型形成 24 h 后,各组气囊内注入 1 ml 聚乙烯微粒悬浮液,术后第 2、5、8、11、14、17、20 天向对照组气囊内注入 1 ml 生理盐水;NBD 多肽组囊内注入 1 ml NBD 多肽(1 μg/ml);在联合组气囊内注入 1 ml 混合试剂[(1 μg OPG + 1 μg NBD 多肽)/ml]。在植入颗粒前 3 h 进行 1 次注射,进行预处理,更好地利用 NBD 多肽减轻炎症反应。术后第 21 天用颈椎脱位法处死小鼠,进行以下实验。

1.2.2.2 HE 染色 将气囊完整摘除,原位采集气囊和颅骨组织,保护软组织和颅骨界面不受破坏。HE 染色组织切片观察囊壁炎性反应和植入颅骨的表面侵蚀情况,每组选用 3 个标本进行观察,每个标本采集 5 个不同的视野,采用图像分析软件测量小鼠囊壁炎性细胞渗出数,主要是通过计数炎性细胞核的数量来明确炎性细胞的数量。

1.2.2.3 ELISA 测量炎性细胞因子的含量 将气囊壁和骨组织制成组织匀浆,提取其上清液,应用 ELISA 的方法测量 IL-1、TNF-α 的含量。

1.2.2.4 抗酒石酸酸性磷酸酶染色(TRAP) 将取下的囊壁和颅骨组织脱钙后做石蜡切片,切片厚度为 6 ~ 8 μm,按照试剂盒说明书进行染色。TRAP 染色后,破骨样细胞呈棕红色。由于光镜下观察计数单个 TRAP 阳性细胞比较困难,因此破骨细胞计数是采用图像分析软件,测量棕红色细胞质在每个高倍镜视野下所占的累计面积,每组分别采集 3 个标本,每个标本采集 5 个不同的视野,取平均值,计算其占视野面积的百分数。

1.2.2.5 骨片扫描电镜检查 从气囊中取出骨片,用生理盐水冲洗 3 遍,4% 戊二醛固定 2 h 以上,再用 OsO_4 固定 1 h,生理盐水冲洗 3 遍,单柠酸固定 2 h 以上,生理盐水冲洗 3 遍,依次 10%、30%、50%、70%、90%、100% 酒精分别脱水 15 min,再在 30%、50%、70%、90%、100% 叔丁醇分别浸泡 15 min 以保护骨组织,最后放入液氮冷冻干燥后真空喷吐金粉,在日立-3000B 扫描电镜下检查骨片表面的骨质吸收情况。采用图像分析软件对各组吸收陷窝面积进行计算分析,统计各组 3 个标本,每个标本在 500 倍视野下取 5 个不同视野进行陷窝面积计算,取平均值,计算其占视野面积的百分数。

1.2.2.6 RT-PCR 测量骨吸收功能相关基因 CA-Ⅱ mRNA 表达

总 RNA 提取:术后第 21 天用颈椎脱位法处死小鼠,无菌下取出骨片及其周围囊壁,放入预先用 DEPC 处理过的研钵中,倒入少许液氮,把骨片及囊壁研碎,并加入 Trizol,注意 1 ml Trizol 只能处理 100 g 左右的组织,再常规提取总 RNA。RNA 溶解于 DEPC 水,-70℃保存。鉴定 RNA 的纯度及完整性。再进行 RNA 逆转录反应。PCR 引物序列通过 GenBank 和 Primer5.0 设计,由上海生工生物工程技术有限公司合成。GAPDH 上游:5′-GGCTGCCCAGAACATCAT-3′;下游:5′-CGGACACATTGGGGGTAG-3′。CA-Ⅱ 上游:5′-GGTCAACTTAGGGCATCT-3′;下游:5′-TCTTGGAAGGGTGAACAT-3′。

PCR 反应在 25 μl 体系中进行,体系含有 2.5 μl PCR 10 × buffer(mg^{2+} free), 1.5 μl Mg^{2+}, 2.5 mmol/L 核苷酸磷酸(dNTP)2 μl,上下游引物各 1 μl,cDNA 1 μl,*Taq*DNA 聚合酶 0.3 μl。ddH_2O 补充至 25 μl。PCR 反应首先 95 ℃ 预变性 5 min 后开始循环,循环条件 95 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,30 个循环,最后 72 ℃延伸 10 min。产物电泳分离,测量灰度,目的基因与内参 GAPDH 的灰度比值为目的基因的相对表达量。

1.3 统计学分析

采集图像利用 Image Pro Plus 6.0(IPP)软件分析;RT-PCR 条带利用 Quantity one 软件分析;数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件,组间比较应用方差分析。

2 结果

2.1 HE 染色

NBD 多肽组的气囊囊壁炎性细胞渗出较少,颅骨表面无明显溶骨反应;联合组可见少量炎性细胞,无明显溶骨表现。对照组炎性细胞渗出较多,溶骨反应明显(图 1)。经过图像分析统计,小鼠囊壁炎性细胞渗出数结果(个/视野)如下:NBD 多肽组(870 ± 236)、联合组(820 ± 198)较对照组(3 325 ± 467),炎性细胞数量明显减少,差异显著($P < 0.05$);联合组与 NBD 多肽组炎性细胞渗出数量无明显差异($P > 0.05$)。NBD 多肽在抗炎症细胞的渗出方面作用明显。

2.2 ELISA 测量炎性细胞因子

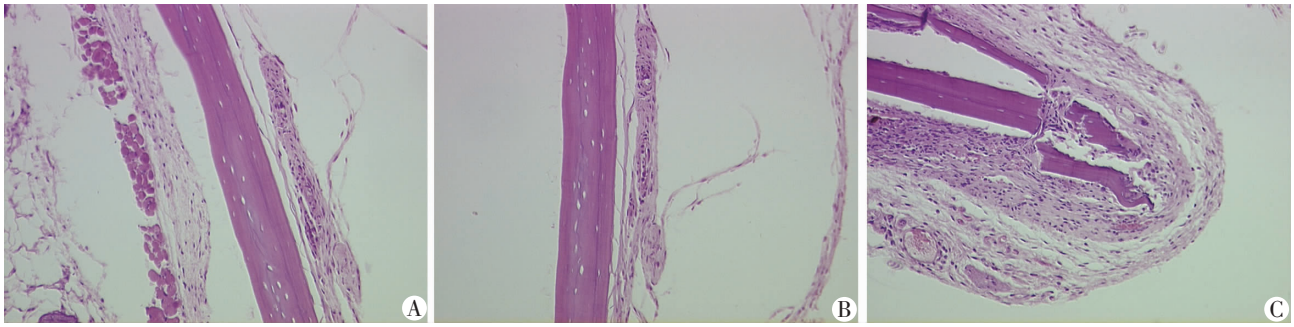
ELISA 结果(表 1)。NBD 多肽组与联合组炎症细胞因子(IL-1、TNF)的数量明显少于对照组($P < 0.05$)。这说明 NBD 多肽抗炎症因子释放的作用明显。

表 1 ELISA 检测各组组织匀浆液 IL-1 和 TNF 的浓度(pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-1	TNF
NBD 组	5	138.34 ± 2.32	156.14 ± 4.17
联合组	5	129.32 ± 4.62	148.78 ± 5.36
对照组	5	187.56 ± 4.78	179.45 ± 8.34

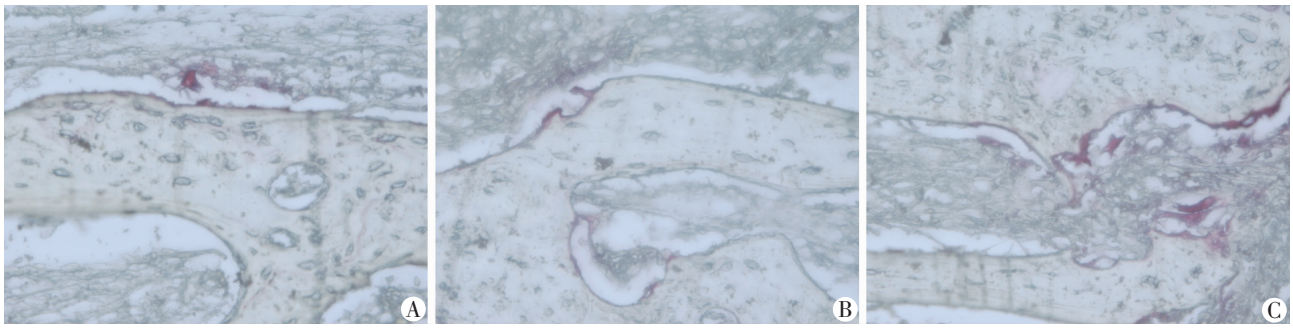
2.3 抗酒石酸酸性磷酸酶染色(TRAP)

NBD 多肽组上部有少许红色区域,染色面积少;联合组未见明显阳性染色区域;对照组阳性红染组明显(图 2)。图像软件分析显示,NBD 多肽组与联合组抗酒石酸酸性磷酸酶染色阳性区域与视野面积的百分比分别是(1.06 ± 0.67)%、(0.64 ± 0.33)%,均明显低于对照组(4.12 ± 1.09)%、($P < 0.05$)。同时联合组较 NBD 多肽组染色面积显著减少($P < 0.05$)。



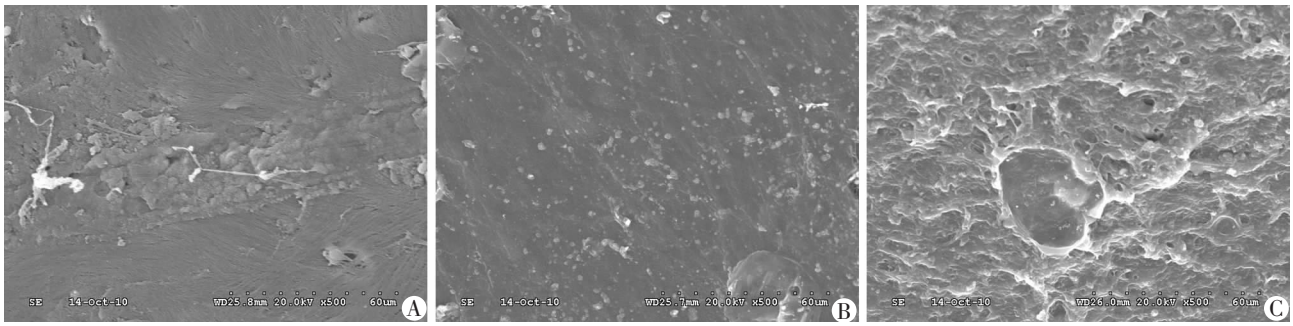
A:NBD多肽组;B:联合组;C:对照组

图1 各组气囊组织HE染色观察炎症细胞渗出量及骨表面侵蚀情况 (×200)



A:NBD多肽组;B:联合组;C:对照组

图2 各组抗酒石酸酸性磷酸酶染色观察破骨细胞分化成熟情况 (TRAP ×400)



A:NBD多肽组;B:联合组;C:对照组

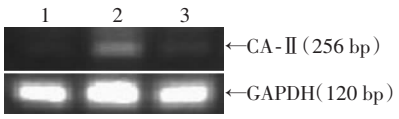
图3 电镜扫描观察各组骨片骨吸收情况 (×500)

2.4 骨片扫描电镜检查

将各组小鼠气囊内的骨片取出行电镜检查,可见骨吸收陷窝呈圆形、椭圆形、腊肠形或不规则形等多种形态,边界较清晰,可见周围及底部纤维纹路。NBD多肽组可见较小的吸收陷窝,未见明显成块状较大的吸收区域。联合组骨片上的钙丢失较少,纤维组织紧密,未见明显较多较大的吸收陷窝。对照组骨吸收隐窝明显,钙丢失明显(图3)。图像软件分析结果,NBD多肽组与联合组骨吸收区域与视野面积的百分比分别(4.03±0.76)%、(2.65±0.58)%均明显低于对照组(12.38±1.98)%($P<0.05$);且联合组较NBD多肽组的骨片吸收面积有显著减少($P<0.05$)。

2.5 破骨细胞功能基因的表达

破骨细胞骨吸收功能相关基因CA-Ⅱ在不同组的表达不一致,见图4。NBD多肽组(0.254±0.048)与联合组(0.180±0.033)目的基因的相对表达量明显少于对照组(0.382±0.072)。联合组与NBD多肽组相比,其目的基因的相对表达量显著减少($P<0.05$)。



1:联合组;2:对照组;3:NBD多肽组

图4 各组破骨细胞功能基因CA-Ⅱ的表达情况

3 讨论

人工关节置换术后,磨损颗粒引起的溶骨效应主要有以下3个过程:磨损颗粒诱发炎症反应释放细胞因子,细胞因子激活破骨细胞"OPG/RNAKL/RANK"信号传导途径,破骨细胞溶骨。成骨细胞和骨髓基质细胞表达的RANKL和OPG在正常生理状态下保持平衡状态,使成骨作用与破骨作用趋于稳定。在人工关

节患者中其假体周围的磨损颗粒使这一平衡被打破，其促使产生的炎症因子可增多 RANKL，使 RANKL/OPG 比例失调，引起了骨溶解[7]。

本实验的处理因素是针对颗粒刺激引起溶骨过程中的第 1 和第 2 个过程，也就是通过注射 NBD 多肽降低颗粒所引起的炎症反应，减少炎症因子的数量；加入 OPG 以阻碍“RNAKL/RANK”信号传导途径，最终减少破骨细胞的激活与分化，从而减轻溶骨反应。NF-κB 在病原微生物感染机体中作用已经得到肯定。研究表明，通过应用 NBD 多肽选择性地抑制 NF-κB 的激活，从而为感染性疾病提供有力的治疗[8-9]。NF-κB 的活化需要激活 IKK，IKK 复合体是有催化亚基 IKKα 和 IKKβ 和调节亚基 NEMO 组成的三聚体。细胞在静息状态下，NF-κB 在细胞质内与其抑制物 IKB 结合，NF-κB 处于无活性状态；当细胞受到各种“应急”刺激时，经过一系列对 IKK 复合体的调节最终使受抑制的 NF-κB 得以释放，进一步启动多种炎症因子基因的转录[10]。针对 IKK-NEMO 相互作用这一靶点设计新的药物如小分子 NBD 多肽可以选择性抑制 NF-κB 的活性[11]，NBD 多肽可以与 NEMO 结合，从而抑制其和 IKK 催化亚基的相互作用，使 IKB 的降解受到影响，进而 NF-κB 的活性被选择性抑制，负性调节多种炎症因子的表达[12]。而对其基础生理功能无影响，在临床疾病治疗方面有着广阔的应用前景。

本实验构想将 NBD 多肽、OPG 直接注入植骨气囊内，观察其降低破骨细胞的分化成熟，从而达到防治人工关节置换术后松动。前期实验结果[4]表明，OPG 抑制破骨细胞的激活与分化作用明显，可起到防治溶骨的作用。本次实验结果：NBD 多肽组、联合组与对照组比较，小鼠囊壁和颅骨组织炎性细胞渗出数量、组织匀浆炎症因子浓度明显减少，由此可见加入了 NBD 多肽后，由磨损颗粒诱发的炎症反应明显减轻，炎症因子释放明显减少。NBD 多肽组与联合组 TRAP 阳性染色区面积、骨吸收陷窝面积及破骨细胞骨吸收功能相关基因 CA-Ⅱ相对表达量均明显少于对照组，并且联合组抑制作用更加明显。由上可知，在注入 NBD 多肽后，磨损颗粒刺激所引起的炎症反应有明显减轻，炎症因子量的减少可影响破骨细胞的激活及分化，并且联合组中结合应用了 OPG，在抑制溶骨作用方面更加明显。

总之，在联合运用 NBD 多肽、OPG 后，NBD 多肽主要是减轻炎症反应，减少炎症因子的大量产生，起到了间接抑制破骨细胞的激活、分化作用；OPG 主要是直接影响破骨细胞激活与分化，两者的联合应用使抑制溶骨的作用得以加强，起到了高效协同作用。在磨损颗粒所致的人工关节松动的研究领域中，主要是通过使用抗生素、白介素拮抗剂、肿瘤坏死因子拮抗剂等进行抗炎作用[13]，应用 NBD 多肽减少局部炎症反应，从而间接抑制破骨细胞激活与分化的实验研究较少。

在进一步的实验中，我们构想导入更多的有利于保护骨组织、抑制骨破坏吸收的细胞因子或者药物，如 IL-10、白介素受体拮抗剂（IL-1Ra）、肿瘤坏死因子拮抗剂（sTNFR）、CD147 等[14]。使其发挥更高效的协同效应，或通过病毒作为载体将一些促进成骨、抑制破骨作用的基因进行过表达，进一步降低磨损颗粒所致的关节松动效应。

参考文献：

[1] Harris W H. Wear and periprosthetic osteolysis: the problem[J]. Clin Orthop Relat Res, 2001, (393): 66-70.
[2] Simonet W S, Lacey D L, Dunstan C R, *et al*. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density[J]. Cell, 1997, 89(2): 309-319.
[3] Epstein N J, Warme B A, Spanogle J, *et al*. Interleukin-1 modulates periprosthetic tissue formation in an intramedullary model of particle-induced inflammation[J]. J Orthop Res, 2005, 23(3): 501-510.
[4] 汪洋，王信，周锐，等. 骨保护素抑制小鼠植骨气囊模型中聚乙烯磨损颗粒诱导的溶骨效应[J]. 第三军医大学学报，2011，33(14)：1446-1450.
[5] Chen X, Ji B, Han B, *et al*. NF-kappaB activation in pancreas induces pancreatic and systemic inflammatory response[J]. Gastroenterology, 2002, 122(2): 448-457.
[6] 陶崑，沈灏，张先龙，等. 红霉素和阿伦磷酸钠防治人工关节松动动物实验研究[J]. 中国矫形外科杂志，2008，16(17)：1343-1346.
[7] 王文良，姜文学，杨柳，等. 人工关节松动的生物学因素：细胞因子和人工关节骨溶解[J]. 中国临床康复，2004，8(26)：5632-5634.
[8] Haeberle H A, Casola A, Gatalica Z, *et al*. IkappaB kinase is a critical regulator of chemokine expression and lung inflammation in respiratory syncytial virus infection[J]. J Virl, 2004, 78(5): 2232-2241.
[9] Heussler V T, Rottenberg S, Schwab R, *et al*. Hijacking of host cell IKK signalosomes by the transforming parasite theileria[J]. Science, 2002, 298(5595): 1033-1036.
[10] 刘学进，陈垦. NBD 多肽的临床应用研究进展[J]. 国外医学：生理、病理科学与临床分册，2004，24(6)：527-530.
[11] Choi M, Rolle S, Wellner M, *et al*. Inhibition of NF-kappaB by a TAT-NEMO-binding domain peptide accelerates constitutive apoptosis and abrogates LPS-delayed neutrophil apoptosis[J]. Blood, 2003, 102(6): 2259-2267.
[12] Carter R S, Pennington K N, Ungurait B J, *et al*. *In vivo* identification of inducible phosphoacceptors in the IKKgamma/NEMO subunit of human IkappaB kinase[J]. J Biol Chem, 2003, 278(22): 19642-19648.
[13] 陶崑，张先龙，沈灏，等. 人工关节松动的药物和基因治疗进展[J]. 中国矫形外科杂志，2009，17(4)：278-281.
[14] 廖通权，刘玉刚，胡旭，等. CD147 对体外破骨细胞分化成熟的影响[J]. 第三军医大学报，2010，32(24)：2623-2626.

（**收稿**：2011-03-05；**修回**：2011-04-25）
（编辑 王 红）