

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.08.007

前列腺素 E₂ 对滑膜细胞基质金属蛋白酶-2 活性的影响 及其信号通路研究

陈荣富¹, 黄 伟¹, 梁 熙¹, 谢 静², 宋国立³, 王春莉², 符纯锋¹(1. 重庆医科大学附属第一医院骨科, 重庆 400016; 2. 重庆大学生物工程学院与国家“111 计划”基地, 重庆 400044;
3. 美国加州大学圣迭亚哥分校骨科与生物工程系, 圣迭亚哥 CA 92093-0412)

【摘 要】目的: 观察前列腺素 E₂ (Prostaglandin E₂, PGE₂) 对滑膜细胞基质金属蛋白酶-2 (Matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 活性的影响及其信号通路的研究, 从而探讨 PGE₂ 对前交叉韧带 (Anterior cruciate ligament, ACL) 的损伤或修复可能的影响。方法: 用不同浓度的 PGE₂ 处理体外培养的滑膜细胞, 处理后 12、24、48 h 和 72 h 明胶酶谱法检测培养液中 MMP-2 的活性; 再用合适浓度的 PGE₂ 单独或分别与 7 种信号通路特异性抑制剂同时处理滑膜细胞, 明胶酶谱法检测 MMP-2 的活性, 并对其进行相对定量。结果: PGE₂ 呈浓度和时间依赖性地增高滑膜细胞 MMP-2 的活性。p38、ERK、PKA 通路抑制剂 SB203850、PD98059、KT5720 对 PGE₂ 诱导滑膜细胞 MMP-2 活性的增高无明显抑制作用; 而 JNK、AP-1 和核因子-κB (Nuclear factor-κB, NF-κB) 通路抑制剂 SP600125、姜黄素 (Curcumin) 和 Bay11-7082/7085 显著抑制了 PGE₂ 诱导 MMP-2 活性的增高, 分别使 72 h 时 MMP-2 的活性降至 43%、25% 和 16%、11% ($P < 0.01$)。结论: PGE₂ 诱导滑膜细胞 MMP-2 活性的增加可能是 ACL 损伤后难以自行修复的原因之一。JNK、AP-1 和 NF-κB 通路可能参与调控 PGE₂ 对 MMP-2 活性的诱导; 其中以 NF-κB 作用最显著, 可能为 ACL 损伤的治疗提供一种新思路。

【关键词】前列腺素 E₂; 滑膜细胞; 基质金属蛋白酶-2; 前交叉韧带**【中国图书分类法分类号】**R686.5**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2012-03-06

Effects of prostaglandin E₂ on matrix metalloproteinase-2 activity in synovial cells and its signaling pathway

CHEN Rongfu¹, HUANG Wei¹, LIANG Xi¹, XIE Jing², SONG Guoli³, WANG Chunli², FU Chunfeng¹

(1. Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

2. “111” Project Laboratory of Biomechanics and Tissue Repair, Bioengineering College, Chongqing University;

3. Department of Orthopedics and Bioengineering, College of San Diego, University of California)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of prostaglandin E₂ (PGE₂) on matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity in synovial cells and its signaling pathway so as to help discuss the possible effect of PGE₂ on the healing ability of anterior cruciate ligament (ACL) after injury. **Methods:** Cultured synovial cells were treated with different concentrations of PGE₂, and gelatin zymography assay was performed to detect MMP-2 activity at 12, 24, 48 h and 72 h after treatment. In presence of 10 ng/ml PGE₂, each of seven signal pathway-specific inhibitors was respectively used to treat the synovial cells and MMP-2 activity was detected and semi-quantified. **Results:** PGE₂ significantly elevated MMP-2 activity in synovial cells in a dose and time dependent manner. Inhibition of the p38 pathway with SB203850, ERK pathway with PD98059, and PKA pathway with KT5720 had no specific effect on PGE₂-induced MMP-2 activity. However, inhibition of the JNK pathway with SP600125, AP-1 pathway with Curcumin, and nuclear factor-κB (NF-κB) pathway with Bay11-7082 and -7085 dramatically decreased PGE₂-induced MMP-2 activity to 43%, 25%, 16% and 11%, respectively ($P < 0.01$). **Conclusions:** PGE₂-induced MMP-2 activity in synovial cells may account for ACL's poor healing ability after injury and this process might be regulated via JNK, AP-1 and NF-κB pathway. Inhibition of NF-κB pathway has the strongest decreasing effect on PGE₂-induced MMP-2 activity, which provides a novel strategy for ACL repair.

【Key word】prostaglandin E₂; synovial cell; matrix metalloproteinase-2; anterior cruciate ligament

作者介绍: 陈荣富 (1986-), 男, 硕士,

研究方向: 骨与关节疾病。

通信作者: 黄 伟, 男, 教授, Email: huangwei68@263.net。

基金项目: 重庆市卫生局资助项目 (编号: 2011-2-054)。

炎症是前交叉韧带 (Anterior cruciate ligament, ACL) 损伤后首要发生的生物学反应, 其中产生的炎性细胞因子在组织损伤或修复过程中起着至关重要的作用。已有研究^[1,2]证实, 在 ACL 急性损伤后的关节滑液中存在大量高浓度的炎性细胞因子。这些细胞因子可刺激关节内的滑膜组织合成和分泌前列腺素 E_2 (Prostaglandin E_2 , PGE_2) 和多种酶类, 进一步加重组织损伤^[3,4]。 PGE_2 是炎症反应中重要的细胞因子之一, 可调节细胞增殖、分化及凋亡过程, 并通过介导炎性细胞因子和蛋白水解酶的产生参与多种关节炎症性疾病和组织损伤的发生发展^[5]。

基质金属蛋白酶-2 (Matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 又称为明胶酶 A, 属于锌依赖性的 MMPs 家族, 通过降解细胞外基质参与组织损伤与重塑、肿瘤侵袭和转移、血管基底膜的降解等多种生理和病理过程。Tang 等^[6]研究发现, 在膝关节 ACL 损伤后的关节滑液和大多数组织包括 ACL、后交叉韧带 (Posterior cruciate ligament, PCL)、滑膜、软骨和半月板中 MMP-2 的活性明显高于正常组, 与 ACL 损伤后较差的自身修复能力密切相关; 其中, 滑膜组织是高活性 MMP-2 最主要的来源。既往研究^[7-10]表明, 有多条信号通路参与调控 MMPs 的表达和活性, 其中主要包括 p38、ERK、JNK、AP-1 和核因子- κ B (Nuclear factor- κ B, NF- κ B) 等。

但迄今为止, 有关 PGE_2 对滑膜细胞 MMP-2 活性的影响及其信号通路的研究还未见报道。本研究通过比较正常滑膜细胞、 PGE_2 处理的滑膜细胞及 PGE_2 与信号通路抑制剂同时处理的滑膜细胞中 MMP-2 的活性, 探讨 PGE_2 在 ACL 损伤或修复过程中可能的影响及机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料和试剂

滑膜组织取自 4 位器官捐献者的正常膝关节。 PGE_2 和 7 种信号通路抑制剂 (p38 抑制剂 SB203850、ERK 抑制剂 PD98059、PKA 抑制剂 KT5720、JNK 抑制剂 SP600125、AP-1 抑制剂姜黄素 (Curcumin)、NF- κ B 抑制剂 Bay11-7082 和 Bay11-7085) 均购自美国 Sigma 公司; 凝胶成像分析系统 GS-800 购自美国 Bio-Rad 公司; 胎牛血清和 0.25% 含 EDTA 的胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司。

1.2 细胞培养

细胞培养及纯化参考文献[11]。无菌条件下用 1×PBS 液反复冲洗滑膜组织, 将其剪成约 2 mm × 2 mm × 2 mm 小块。置于盛有含 10% FBS 高糖 DMEM 液的培养瓶中, 在 37 °C、5% CO_2 和饱和湿度的孵育箱内恒温培养。每 2~3 d 换液 1

次, 细胞长至 80%~85% 融合状态时, 将组织移至新培养瓶中继续培养。待原培养瓶中细胞长满时, 用 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 消化、1:3 传代; 反复贴壁传代培养以去除其中的混杂细胞。

1.3 处理及分组

选取第 4、5 代生长状态良好的滑膜细胞用于实验。分别用 0 (对照组)、1、5、10、50、100 ng/ml 的 PGE_2 处理滑膜细胞, 处理后 12、24、48 h 和 72 h 用明胶酶谱法检测培养液中 MMP-2 的活性, 并筛选出 PGE_2 作用的适宜浓度。再用适宜浓度的 PGE_2 单独或分别与上述 7 种抑制剂 (3 μ mol/L SB203580、50 μ mol/L PD98069、10 μ mol/L SP600125、50 μ mol/L Curcumin、1 μ mol/L KT5720、10 μ mol/L Bay11-7082、10 μ mol/L Bay11-7085) 共同处理滑膜细胞, 处理后 12、24、48 h 和 72 h 明胶酶谱法检测各组 MMP-2 的活性。

1.4 明胶酶谱检测培养液中 MMP-2 的活性

使用 BCA 蛋白定量试剂盒检测每组样品的蛋白浓度。取相等总蛋白的每组样品与上样缓冲液以等体积混合后, 在 110 V 恒压、含 10% 明胶的 SDS-PAGE 中电泳 150 min。电泳结束后, 室温下用 2.5% TritonX-100 洗脱凝胶 1.5 h, 以尽量去除 SDS。再用蛋白裂解孵育液 (50 mmol/L $CaCl_2$ 、0.5 mol/L NaCl、50 mmol/L Tris, pH 7.8) 37 °C 下恒温孵育凝胶 15 h。孵育结束, 室温下再次用 2.5% TritonX-100 震荡洗脱凝胶 30 min, 考马斯蓝 R-250 染色 1 h。脱色液 (40% 甲醇、7.5% 冰醋酸、52.5% 水) 脱色凝胶至条带清晰。凝胶成像分析仪器 GS-800 扫描凝胶, 并用 Quantity One 4.6.3 软件测量各条带的光密度值, 进行相对定量。

1.5 统计学处理

数据采用 SPSS 17.0 统计软件处理分析; 明胶酶谱的光密度值为计量资料, 以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间经方差齐性检验均齐性, 采用多样本均数比较的方差分析, 两两比较中多个实验组均数与对照组均数的比较采用 Dunnett-*t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

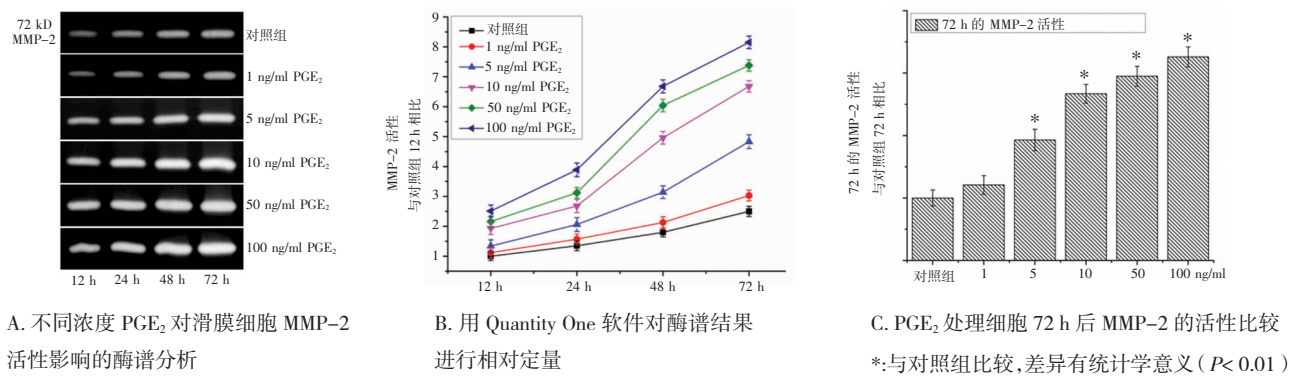
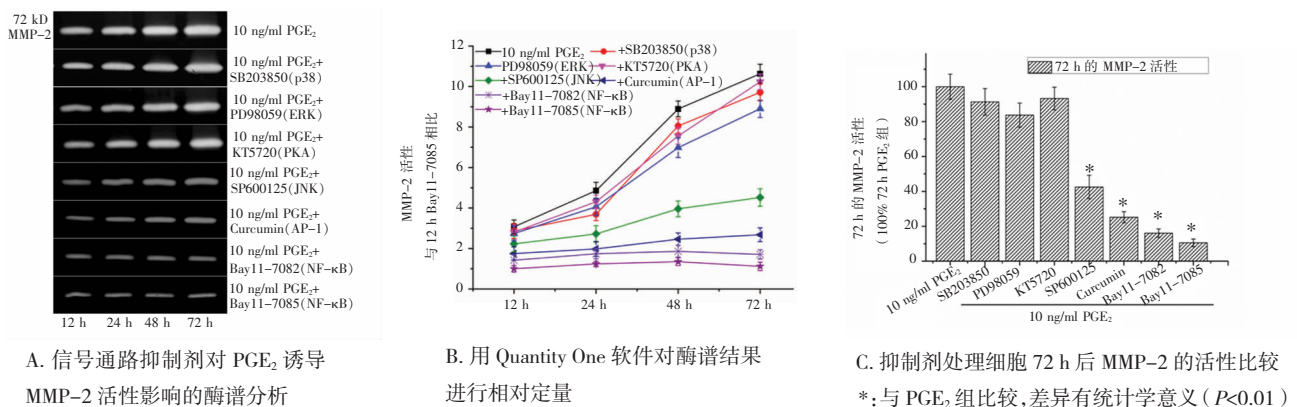
2 结果

2.1 PGE_2 呈浓度和时间依赖性地增高滑膜细胞 MMP-2 的活性

不同浓度的 PGE_2 处理滑膜细胞后, 明胶酶谱法检测培养液中 MMP-2 活性的变化, 并进行相对定量。结果见图 1, 方差分析结果示 $F=455.71$, $P=0.000$ 。1 ng/ml 的 PGE_2 使滑膜细胞 MMP-2 的活性较对照组轻度增高, 但差异没有统计学意义 ($t=1.83$, $P=0.064$); 而 5、10、50、100 ng/ml 的 PGE_2 处理滑膜细胞后均显著增加 MMP-2 的活性, 其中分别使 72 h 的 MMP-2 活性增高 93%、167%、195% 和 226%, 差异均具有统计学意义 ($t_5=13.62$, $t_{10}=24.46$, $t_{50}=28.49$, $t_{100}=33.11$; P 均=0.000)。另外, 如图 1A 和 B, 5、10、50、100 ng/ml 的 PGE_2 诱导滑膜细胞 MMP-2 活性的增高还呈现时间依赖性。

2.2 多条信号通路参与调控滑膜细胞 MMP-2 的活性

因 50 ng/ml 和 100 ng/ml PGE_2 处理后的滑膜细胞生长状态欠佳, 该研究选用 10 ng/ml PGE_2 进行实验。在 10 ng/ml

图 1 不同浓度的 PGE₂ 随时间点对滑膜细胞 MMP-2 活性的影响Fig.1 Effects of PGE₂ with different dosages and at different time points on MMP-2 activities in synovial cells图 2 不同信号通路抑制剂对 PGE₂ 诱导的 MMP-2 活性的影响Fig.2 Effects of signal pathway-specific inhibitors on PGE₂-induced MMP-2 activities

PGE₂ 作用于滑膜细胞的基础上,实验组再分别用不同信号通路抑制剂处理,观察其对 MMP-2 活性的影响。结果如图 2,方差分析结果示 $F=797.49, P=0.000$ 。p38 信号通路抑制剂 SB203850、ERK 抑制剂 PD98059 和 PKA 抑制剂 KT5720 对 PGE₂ 诱导 MMP-2 活性的增高无明显的影响,差异没有统计学意义 ($t_{SB203850}=1.91, P=0.058; t_{PD98059}=1.95, P=0.053; t_{KT5720}=1.88, P=0.063$)。而 JNK 抑制剂 SP600125、AP-1 抑制剂 Curcumin 和 NF- κ B 抑制剂 Bay11-7082/7085 明显抑制了 PGE₂ 诱导的 MMP-2 活性的增高,分别使处理后 72 h 时 MMP-2 的活性降至 43%、25%、16% 和 11%,与 PGE₂ 单独处理的对照组比较差异均具有统计学意义 ($t_{SP600125}=27.34, t_{Curcumin}=35.78, t_{Bay11-7082}=40.08, t_{Bay11-7085}=42.27; P$ 均=0.000)。

3 讨论

ACL 损伤是临床上常见的一种运动相关性疾病,主要表现为膝关节不稳和疼痛,严重者可导致关节内其它组织结构的损害,最终发展为骨性关节炎^[12]。但是,ACL 损伤后自我修复能力较差,即使行韧带修补术都难以实现持久而有效的愈合。ACL 损伤后难以自身修复的原因目前尚未完全清楚,多

数学者认为可能的主要因素包括 ACL 血供较差、特殊的生物力学特征、韧带细胞自身的特性及 ACL 损伤后关节腔内连锁生化反应导致的关节内微环境的改变等。其中,关节内微环境的改变主要表现为大量炎性细胞因子和蛋白水解酶类的积累或激活,并被认为是导致 ACL 损伤后难以自身修复的主要原因之一^[1,2,6,13]。

MMPs 及其抑制剂在组织损伤和修复过程中起着重要的作用;其中,MMP-2 表达或活性的增高与 ACL 损伤后难以自身修复关系密切^[6,14]。MMP-2 能广泛降解细胞外基质的主要成分,包括 I、II、III、IV、V、XI 型和变性的胶原,还能降解明胶、层粘连蛋白和蛋白聚糖核心蛋白等^[15]。其中,I 型胶原是 ACL 细胞外基质 (Extracellular matrix, ECM) 中最主要的组成成分,III 型胶原是 ACL 修复过程中新合成基质的主要胶原类型^[16]。因此,ACL 损伤后关节滑液中大量积累的 MMP-2 可通过增加 ACL 细胞外基质的降解,妨碍其愈合。

另外,ACL 损伤后局部的炎症反应也是影响其自身修复的因素之一。已有多项研究^[1-5]表明,ACL

急性损伤后的关节滑液中存在大量炎症细胞因子,如白介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等,这些细胞因子可进一步刺激滑膜组织合成和分泌 PGE₂ 和多种 MMPs。本研究清楚地揭示,PGE₂ 能显著增加滑膜细胞 MMP-2 的活性,并随作用浓度及时间逐渐增高。该结果提示,PGE₂ 和滑膜组织的相互作用促进了关节滑液中 MMP-2 的积累,从而可能阻碍了 ACL 损伤后的修复。除此之外,其他细胞因子如 TNF- α 也可作用于滑膜细胞^[11],还能与 IL-1 β 协同刺激 ACL 成纤维细胞,诱导 MMP-2 活性的增加^[17]。而且,IL-1 β 还通过 PGE₂ 依赖性的形式增加软骨细胞中 MMP-2 的表达和活性^[18]。这些结果表明,ACL 损伤后产生的炎症细胞因子可作用于关节内的多种组织,使其共同参与关节滑液中 MMP-2 的堆积。另一方面,有研究^[18,19]报道,IL-1 β 和 PGE₂ 还能显著降低 ECM 中胶原的合成。提示这些细胞因子可能通过增加 ACL 中 ECM 的降解,和减少 ECM 的合成两方面使其修复过程受阻。

相关研究证实,AP-1、PKA、p38、ERK、JNK 和 NF- κ B 等多条信号通路参与调控生理或病理状态下 MMPs 的表达和活性;其中 NF- κ B 信号通路特异性抑制剂 Bay11-7082 和 AP-1 抑制剂 Curcumin 能显著抑制 ACL 成纤维细胞中机械应力诱导的 MMP-2 活性的增加^[13]。但是,这些信号通路在 PGE₂ 诱导滑膜细胞 MMP-2 活性增加过程中发挥何种作用并不清楚。本研究使用信号通路特异性抑制剂处理预先用 PGE₂ 刺激的滑膜细胞,结果显示 p38 抑制剂 SB203850、PKA 抑制剂 KT5720 和 ERK 抑制剂 PD98059 对 PGE₂ 诱导 MMP-2 活性增加的影响不具有统计学意义;而 JNK 抑制剂 SP600125、AP-1 抑制剂 Curcumin 和 NF- κ B 抑制剂 Bay11-7082、Bay11-7085 明显抑制了 PGE₂ 诱导的 MMP-2 活性的增加,分别使 72 h 时 MMP-2 的活性降至 43%、25%、16% 和 11% ($P < 0.01$)。该结果提示,JNK、AP-1 和 NF- κ B 可能在 PGE₂ 诱导滑膜细胞 MMP-2 活性的增加过程中起重要作用,并可能为 ACL 损伤后的修复提供一条新思路。但是,有研究^[13]报道 AP-1 通路抑制剂可能抑制 ACL 成纤维细胞的存活率、增殖和迁移,从而阻碍了 ACL 的修复;而 NF- κ B 抑制剂 Bay11-7082 却无类似的抑制作用。且本研究发现 Bay11-7082 和 Bay11-7085 对 PGE₂ 诱导 MMP-2 活性的增加具有最强的抑制效果,因此笔者认为 NF- κ B 可能是 ACL 损伤治疗的新方向。

必须指出,本研究仅在一定程度上部分模拟了 ACL 损伤后膝关节内 MMP-2 活性的变化,并不能完全反应体内整个病理过程。众所周知,ACL 损伤的同时滑膜细胞和 ACL 细胞都将遭受拉伸应力的损伤,并可能和其他细胞因子共同调节 MMP-2 或 MMP 家族其他成员的表达及活性^[11,17]。另外,对滑膜细胞较短的干预时间也是本研究的不足之处,仅能反应 ACL 损伤后较有限的时间内关节滑液或组织中微环境的变化。因此,更多因素参与的、更长干预时间的进一步研究对 ACL 损伤后修复机制的理解是必需的。

综上所述,本研究证实 PGE₂ 呈浓度和时间依赖性地增加滑膜细胞 MMP-2 的活性,因此 PGE₂ 和滑膜细胞的相互作用可能导致 ECM 合成和降解之间失平衡,从而影响 ACL 损伤后的自身修复。而 JNK、AP-1 和 NF- κ B 信号通路可能参与调控 PGE₂ 诱导 MMP-2 活性的增加;其中抑制 NF- κ B 通路后,MMP-2 活性的抵制效果最为显著,可能为 ACL 损伤的治疗提供新的思路和理论依据。

参 考 文 献

- [1] Irie K, Uchiyama E, Iwaso H. Intraarticular inflammatory cytokines in acute anterior cruciate ligament injured knee[J]. *Knee*, 2003, 10(1): 93-96.
- [2] Cuellar V G, Cuellar J M, Golish S R, et al. Cytokine profiling in acute anterior cruciate ligament injury[J]. *Arthroscopy*, 2010, 26(10): 1296-1301.
- [3] De Mattei M, Varani K, Masieri F F, et al. Adenosine analogs and electromagnetic fields inhibit prostaglandin E₂ release in bovine synovial fibroblasts[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(2): 252-262.
- [4] Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2010, 6(4): 232-241.
- [5] Kojima F, Kato S, Kawai S. Prostaglandin E synthase in the pathophysiology of arthritis[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2005, 19(3): 255-261.
- [6] Tang Z, Yang L, Wang Y, et al. Contributions of different intraarticular tissues to the acute phase elevation of synovial fluid MMP-2 following rat ACL rupture[J]. *J Orthop Res*, 2009, 27(2): 243-248.
- [7] Karin M, Liu Z, Zandi E. AP-1 function and regulation[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1997, 9(2): 240-246.
- [8] Wang X, Mori T, Jung J C, et al. Secretion of matrix metalloproteinase-2 and -9 after mechanical trauma injury in rat cortical cultures and involvement of MAP kinase[J]. *J Neurotrauma*, 2002, 19(5): 615-625.
- [9] Jackson C, Nguyen M, Arkell J, et al. Selective matrix metalloproteinase (MMP) inhibition in rheumatoid arthritis—targeting gelatinase A activation[J]. *Inflamm Res*, 2001, 50(4): 183-186.
- [10] Tagoe C E, Marjanovic N, Park J Y, et al. Annexin-1 mediates TNF- α -stimulated matrix metalloproteinase secretion from rheumatoid arthritis synovial fibroblasts[J]. *J Immunol*, 2008, 181(4): 2813-2820.

基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.08.008

布地奈德在 TGF- β 1 诱导肺成纤维细胞生成 VEGF 中的调节作用

陈亚娟¹, 文富强², 汪 涛², 郭述良¹

(1. 重庆医科大学附属第一医院呼吸内科, 重庆 400016;

2. 四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室呼吸病学研究室, 成都 610100)

【摘要】目的:研究糖皮质激素布地奈德对转化生长因子- β 1(Transform growth factor- β 1,TGF- β 1)诱导人胎肺成纤维细胞(Human fetal lung fibroblasts-1,HFL-1)分泌血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor,VEGF)的影响及作用机制。方法:体外培养 HFL,以不同浓度布地奈德预处理,再予以 TGF- β 1 刺激,实验结束时收集细胞上清液经酶联免疫法(Enzyme-linked immunosorbent,ELISA)检测 VEGF 含量,收集细胞裂解液经 Western blot 法分别测定磷酸化 ERK MAPK(p-ERK MAPK)、磷酸化 Smad3(p-Smad3)蛋白表达。结果:TGF- β 1 能够刺激 HFL-1 分泌 VEGF,且具有时间和浓度依赖效应($P<0.05$)。高浓度布地奈德对 TGF- β 1 诱导的 VEGF 分泌具有抑制作用($P<0.05$),同时,布地奈德预处理后 p-Smad3 及 p-ERK MAPK 蛋白表达亦明显下调($P<0.05$)。结论:布地奈德可能通过阻止 Smad3/ERK MAPK 信号级联磷酸化从而抑制 TGF- β 1 诱导的 VEGF 分泌,揭示了糖皮质激素在气道炎症疾病中新作用机制。

【关键词】气道重构;布地奈德;转化生长因子- β 1;血管内皮生长因子

【中国图书分类法分类号】R363.2+1

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-04-05

Effect of Budesonide on transform growth factor- β 1 induced vascular endothelial growth factor release by lung fibroblasts

CHEN Yajuan¹, WEN Fuqiang², WANG Tao², GUO Shuliang¹

(1. Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

2. Department of Respiratory Medicine, State Key Laboratory of Biological Treatment, West China Hospital of Sichuan University)

【Abstract】Objective: To observe the effect of glucocorticoid(Budesonide) on TGF- β 1 induced human fetal lung fibroblasts-1(HFL-1)

作者介绍:陈亚娟(1980-),女,讲师,博士,

研究方向:气道炎症性疾病发病机制研究。

通信作者:郭述良,男,教授,Email:GUOSL999@sina.com。

secretion and vascular endothelial growth factor(VEGF) production and to discuss its mechanism. **Methods:** HFL-1 were cultured in vitro and were treated with various concentrations

[11] Wang Y, Yang L, Zhang J, et al. Differential MMP-2 activity induced by mechanical compression and inflammatory factors in human synoviocytes[J]. Mol Cell Biomech, 2010, 7(2): 105-114.

[12] Øiestad B E, Engbretsen L, Storheim K, et al. Knee osteoarthritis after anterior cruciate ligament injury: a systematic review[J]. Am J Sports Med, 2009, 37(7): 1434-1443.

[13] Tang Z, Yang L, Xue R, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in anterior cruciate ligament and medial collateral ligament fibroblasts after a mechanical injury: involvement of the p65 subunit of NF- κ B[J]. Wound Repair Regen, 2009, 17(5): 709-716.

[14] Zhou D, Lee H S, Villarreal F, et al. Differential MMP-2 activity of ligament cells under mechanical stretch injury: an in vitro study on human ACL and MCL fibroblasts[J]. J Orthop Res, 2005, 23(4): 949-957.

[15] Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase re-

search[J]. Mol Aspects Med, 2008, 29(5): 290-308.

[16] Kim S G, Akaike T, Sasagawa T, et al. Gene expression of type I and type III collagen by mechanical stretch in anterior cruciate ligament cells[J]. Cell Struct Funct, 2002, 27(3): 139-144.

[17] Wang Y, Tang Z, Xue R, et al. Combined effects of TNF- α , IL-1 β , and HIF-1 α on MMP-2 production in ACL fibroblasts under mechanical stretch: an in vitro study[J]. J Orthop Res, 2011, 29(7): 1008-1014.

[18] Choi Y A, Lee D J, Lim H K, et al. Interleukin-1 β stimulates matrix metalloproteinase-2 expression via a prostaglandin E2-dependent mechanism in human chondrocytes[J]. Exp Mol Med, 2004, 36(3): 226-232.

[19] Cilli F, Khan M, Fu F, et al. Prostaglandin E2 affects proliferation and collagen synthesis by human patellar tendon fibroblasts[J]. Clin J Sport Med, 2004, 14(4): 232-236.

(责任编辑:冉明会)