เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2557; 12(2): 131-144

บทความปริทัศน์

ลูบริซิน: บทบาทและการประยุกต์ใช้ในโรคข้อเสื่อม

วารณี ประดิษฐ์[1,*], กิตติศักดิ์ พุทธชาติ[1], ธนิตา พิทักษ์อรรณพ[2], บุรินทร์ บุญศรี[2] และ กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์[2]

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[2]ห้องปฏิบัติการวิจัยกระดูกและข้อในสัตว์ ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ โรคข้อเสื่อม (osteoarthritis) เป็นโรคข้อที่เกิดจากการสึกกร่อนของกระดูกอ่อนผิวข้อ ซึ่งส่งผลกระทบต่อการดำเนินชีวิตประจำวัน และก่อให้เกิดความเจ็บปวดแก่ผู้ป่วย การฉีดโปรตีนไฮยาลูโรแนน (hyaluronan) เข้าสู่ช่องว่างในข้อต่อเป็นวิธีการรักษาวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพมากในการรักษาโรคข้อเสื่อม แม้จะยังไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ก็ตาม ในบทความนี้จะกล่าวถึงลูบริซิน (lubricin) ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ที่พบมากบริเวณผิวของกระดูกอ่อนชั้นผิว (superficial zone) โดยถูกสังเคราะห์จากเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocytes) และเซลล์เยื่อหุ้มข้อ (synoviocytes) โปรตีนนี้มีหน้าที่สำคัญในการลดการเสียดสีระหว่างกระดูกอ่อน และช่วยป้องกันการสัมผัสกันของกระดูกอ่อนกับเนื้อเยื่อใกล้เคียงเมื่อข้อต่อได้รับแรงกระทำต่างๆในขณะที่ข้อเกิดการเคลื่อนไหว การขาดโปรตีนชนิดนี้ในมนุษย์จะก่อให้เกิดโรค camptodactyly-arthropathy-coxavarapericarditis syndrome (CACP) ส่งผลให้ผู้ป่วยเป็นโรคข้อได้ง่าย นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ของเซลล์เยื่อหุ้มข้อ (synovial hyperplasia) ทำให้ข้อต่อเกิดความเสียหายในที่สุด ลูบริซินจึงเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญต่อโรคข้อเป็นอย่างมาก อีกทั้งการรักษาโดยการฉีดลูบริซินเข้าสู่ช่องว่างในข้อต่อในสัตว์ทดลองยังช่วยชะลอการเสื่อมของกระดูกอ่อนได้ ดังนั้น การนำลูบริซินมาประยุกต์ใช้ในโรคข้อเสื่อมจึงมีความน่าสนใจ บทความนี้จึงได้รวบรวมข้อมูลที่สำคัญของโปรตีนลูบริซิน และบทบาทหน้าที่ของลูบริซินทั้งในข้อต่อปกติและโรคข้อเสื่อม รวมทั้งการศึกษาเพื่อนำลูบริซินมาใช้ในการรักษาโรคข้อเสื่อมอีกด้วย **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2557; 12(2): 131-144**

คำสำคัญ: สารหล่อลื่นบริเวณผิวกระดูกอ่อน, กระดูกอ่อนชั้นผิว, สัมประสิทธิ์ความเสียดทาน, แรงกระทำเชิงกล, โรคข้อเสื่อม

ติดต่อสำเนาบทความได้ที่ : วารณี ประดิษฐ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200 E-mail address: waraneep@yahoo.com; ได้รับบทความ วันที่ 14 ธันวาคม 2556

บทนำ

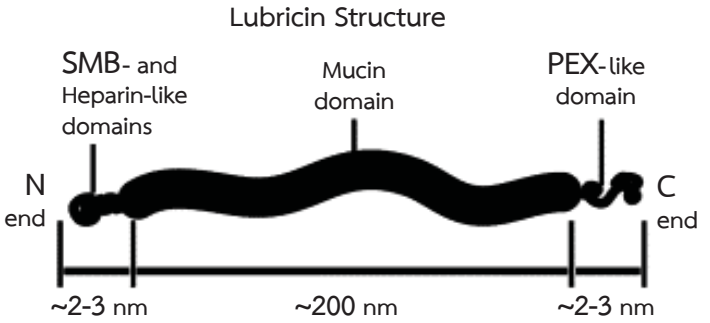
โรคข้อเสื่อมเป็นโรคข้อที่มีความสำคัญ ซึ่งพบมากที่สุดในมนุษย์และสัตว์ที่มีอายุมาก โรคนี้เกิดจากการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้ออย่างช้าๆ ทำให้ลักษณะขององค์ประกอบของกระดูกอ่อนผิวข้อเปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับความทรมานจากอาการปวดที่บริเวณข้อต่อ โดยมีปัจจัยเสี่ยงหลายประการที่มีอิทธิพลต่อการสึกกร่อนของกระดูกอ่อนผิวข้อ เช่น อายุ เพศ ความอ้วน พันธุกรรม และการบาดเจ็บของข้อต่อ เป็นต้น (วารณี และคณะ, 2556) ทำให้การรักษาโรคข้อเสื่อมให้หายขาดทำได้ยาก การรักษาในปัจจุบัน ทำได้เพียงบรรเทาอาการเจ็บปวด และส่งเสริมความแข็งแรงของกล้ามเนื้อรอบๆ ข้อต่อด้วยการกายภาพบำบัด แต่หากรักษาด้วยวิธีการข้างต้นไม่ได้ผล ในที่สุดก็ต้องเข้ารับการผ่าตัดเพื่อเปลี่ยนข้อต่อ ทำให้มีค่าใช้จ่ายในการรักษาที่สูง

กระดูกอ่อนผิวข้อเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่หุ้มอยู่บริเวณปลายสุดของกระดูกแข็งที่มาประกอบกันเป็นข้อต่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ข้อต่อที่เคลื่อนไหวได้ (diathrodal joints) ซึ่งมีหน้าที่ในการรับ ลด และกระจายแรงต่างๆ ที่ส่งมาจากกระดูกแข็งในขณะที่เกิดการเคลื่อนไหว (Mow & Huiskes, 2005) โดยปกติ กระดูกอ่อนผิวข้อจะบรรจุอยู่ในถุงหุ้มข้อ (joint capsule) ซึ่งมีช่องว่างระหว่างกระดูกที่ภายในบรรจุน้ำไขข้อ (synovial fluid) อยู่ โดยน้ำไขข้อนี้ทำหน้าที่เป็นสารหล่อลื่น ลดแรงกระแทก และเป็นตัวกลางในการส่งผ่านสารต่างๆ ไปยังกระดูกอ่อนผิวข้อ ทำให้ข้อต่อเหล่านี้สามารถรองรับน้ำหนักได้เป็นล้านครั้งต่อปี (Morlock et al., 2001) โดยแรงกดเหล่านี้อาจสูงได้มากถึง 18 MPa (Hodge et al., 1989; Wong & Carter, 2003) แต่เมื่อคุณสมบัติของสารหล่อลื่นในข้อต่อเกิดการเปลี่ยนแปลงไปก็จะทำให้กระดูกอ่อนผิวข้อเกิดการเสียดสีกัน จนกระดูกอ่อนผิวข้อได้รับความเสียหายหรือเกิดการสึกกร่อน ซึ่งนับเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคข้อเสื่อมได้ มีการศึกษาโดยนำสารหล่อลื่นบริเวณผิวของกระดูกอ่อนในแกะออกไป ซึ่งพบว่าจะทำให้เกิดโรคข้อเสื่อมได้เร็วยิ่งขึ้น (Ballantine & Stachowiak, 2002) นอกจากโปรตีนไฮยาลูโรแนน (hyaluronan) ที่มีการค้นพบกันอย่างกว้างขวางว่าเป็นสารองค์ประกอบหลักในน้ำไขข้อแล้ว ยังมีโปรตีนอีกชนิดหนึ่งที่พบมากในกระดูกอ่อนชั้นผิว (superficial zone) คือ ลูบริซิน (lubricin) ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนที่มีลักษณะคล้ายเมือก ขนาด 227.5 kDa ที่พบได้ในน้ำไขข้อ (Swann et al., 1981) มีบทบาทสำคัญในการป้องกันการสัมผัสและการสึกกร่อนของกระดูกอ่อน รวมทั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อหุ้มข้อ (Rhee et al., 2005) เนื่องจากลูบริซินในข้อต่อถูกผลิตจากเซลล์กระดูกอ่อนในชั้นผิว (Schumacher et al., 1994) ทำให้ลูบริซินทำหน้าที่เป็นสารหล่อลื่นบริเวณผิวกระดูกอ่อนเช่นเดียวกันกับไฮยาลูโรแนน มีการศึกษาพบว่า ลูบริซินมีความเกี่ยวข้องกับการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อ โดยพบรายงานในผู้ป่วยสูงอายุและผู้ป่วยที่เป็นโรคข้อเสื่อมว่าเกิดการทำลายลูบริซินที่ถูกสร้างบริเวณผิวกระดูกอ่อน นอกจากนี้ระดับการแสดงออกของยีนลูบริซินก็มีความแตกต่างกันระหว่างผู้ป่วยโรคข้อเสื่อมและโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid) (Jüsten et al., 2000) ทั้งยังพบว่ารูปแบบของน้ำตาลที่มาเกาะบนโปรตีนแกน (core protein) ของลูบริซินระหว่างผู้ป่วยโรคข้อเสื่อมกับโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์มีความแตกต่างกัน (Estrellaet al., 2010) ซึ่งน่าจะสอดคล้องกับพยาธิกำเนิดของโรคที่แตกต่างกัน แสดงว่าลูบริซินมีบทบาทที่สำคัญต่อการเกิดโรคข้อ เมื่อพิจารณาร่วมกันกับหน้าที่ของลูบริซิน ทำให้มีการนำลูบริซินไปพัฒนาเป็นสารปกป้องกระดูกอ่อน โดยการสังเคราะห์ลูบริซินขึ้นเพื่อนำมาใช้ฉีดเข้าสู่ข้อต่อคล้ายกับการรักษาด้วยการฉีดไฮยาลูโรแนน (Flannery et al., 2009; Jay, 2013) ดังนั้น บทความนี้จึงได้รวบรวมผลการศึกษาต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับลูบริซิน ทั้งโครงสร้าง และหน้าที่ของโปรตีนนี้ในข้อต่อ รวมทั้งการพัฒนานำลูบริซินไปใช้ในการรักษาโรคข้อเสื่อมอีกด้วย

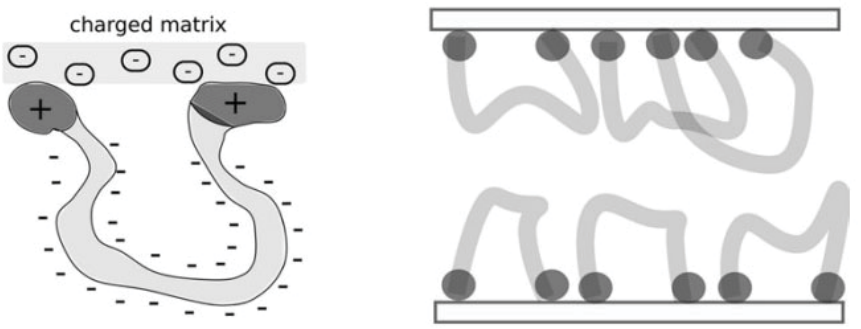
ลูบริซิน

เป็นไกลโคโปรตีนที่ถูกพบในน้ำไขข้อที่ถูกถอดรหัสมาจากยีน proteoglycan 4 (PRG4) (Ikegawa et al., 2000) ซึ่งแปลรหัสเพื่อสังเคราะห์เป็นโปรตีน megakaryocyte-stimulating factor (MSF), superficial zone protein (SZP) และ hemangiopoietin (HAPO) (Ikegawa et al., 2000; Jay et al., 2001b; Schumacher et al., 1994) ทำให้ลูบริซินกลายเป็นชื่อเรียกรวมของโปรตีนที่ถูกแปลรหัสจากยีน PRG4 โดยไม่คำนึงถึงแหล่งในการสังเคราะห์ โปรตีนลูบริซินเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นสารหล่อลื่นให้กับข้อต่อ เพื่อช่วยป้องกันการสึกกร่อนของกระดูกอ่อน การสัมผัส และการแบ่งเซลล์เยื่อหุ้มข้อ รวมทั้งการตายแบบอพอพโตซิส (apoptosis) ของเซลล์กระดูกอ่อน (Rhee et al., 2005; Waller et al., 2013) โปรตีนชนิดนี้ถูกพบครั้งแรกในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนของโคในชั้นผิว (Jay & Cha, 1999) และพบว่าโครงสร้างอื่นในข้อต่อก็สามารถสังเคราะห์โปรตีนลูบริซินได้ เช่น เซลล์เยื่อหุ้มข้อ (Flannery et al., 2009; Jay et al., 2001b; Schumacher et al., 1999) กระดูกอ่อนเมนิสคัส (meniscus) (Schumacher et al., 2005) fibrocartilagenous region of tendon (Rees et al., 2002) และนวมไขมันใต้สะบ้า (infrapatella fat pad) (Lee et al., 2008) เป็นต้น โดย Sun และคณะ (2006) ได้ค้นพบเป็นครั้งแรกว่าลูบริซินถูกสังเคราะห์จากโครงสร้างอื่นๆ ในข้อต่อ จากการเหนี่ยวนำให้สุนัขเป็นโรคข้อด้วยการตัดเอ็นไขว้หน้า (anterior cruciate ligament: ACL) และเอ็นเข่าด้านนอก (knee lateral collateral ligament: LCL) พบว่าการกระจายตัวของลูบริซินในแต่ละโครงสร้างในข้อต่อมีความแตกต่างกัน แสดงว่าโปรตีนลูบริซินแต่ละชนิด (variant) ที่มีความแตกต่างกันจากกระบวนการกำจัดอินทรอนของยีนในเอ็มอาร์เอ็นเอ (splicing) น่าจะมีหน้าที่ที่แตกต่างกันในแต่ละตำแหน่ง

โปรตีนลูบริซินเป็นไกลโคโปรตีน ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 227.5 kDa ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 1,404 กรดอะมิโน โครงสร้างโมเลกุลแบ่งออกเป็น 3 โดเมน ได้แก่ somatomedin B (SMB) และ hemopexin like (PEX) ที่ปลายด้าน N และ C ตามลำดับ และมีโดเมนที่มีคุณสมบัติคล้ายเมือกอยู่ตรงกลาง (รูปที่ 1) โดยโดเมนตรงกลางนี้เกิดจากการเกาะกันอย่างหนาแน่นของสายน้ำตาลชนิด O-link β (1-3) Gal-N-acetylgalactosamine (O-link β (1-3) Gal-GalNAc) ที่มีปลายโมเลกุลบางส่วนที่มี N-acetylneuraminic acid (NeuAc) บนโปรตีนแกน (core protein) ของลูบริซิน ซึ่งสัดส่วนของน้ำตาลที่มาเกาะโปรตีนแกนมีปริมาณมากถึง 50% (Jay et al., 2001a; Jay et al., 2001b; Swann et al., 1981) ทำให้โดเมนที่มีคุณสมบัติคล้ายเมือก ซึ่งมีประจุเป็นลบนี้สามารถเกาะหรือดูดซับโมเลกุลน้ำได้ดี (Daniel, 2013; Jay, 1992) จนเกิดแรงผลักที่เหมาะสมสำหรับการเป็นสารหล่อลื่น (Jay et al., 2001a) สำหรับโดเมน SMB และ PAX นั้น เป็นโดเมนที่มีบทบาทสำคัญในการเกาะกับผิวกระดูกอ่อน ซึ่งการเกาะกันนั้นอาจเกิดจากพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ของกรดอะมิโนซิสเตอีนที่อยู่ใกล้ปลาย C ของโปรตีนลูบริซินเอง (Jones et al., 2007) หรือจากการที่ประจุของ SMB และ PAX ที่เป็นประจุบวกเกาะกับประจุลบของผิวกระดูกอ่อน ทำให้ลูบริซินสามารถเกาะกับผิวกระดูกอ่อนได้ด้วยปลายทั้งสองด้าน จนเกิดเป็นลักษณะคล้ายห่วง ดังรูปที่ 2 ที่มีโดเมนตรงกลางโป่งออกมาจากผิวกระดูกอ่อน (Daniel, 2013) นอกจากนี้ยังพบว่าลูบริซินมีโครงสร้างใกล้เคียงกับโปรตีนไวโทรเนคติน (vitronectin) ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนที่มีหน้าที่หลากหลาย พบได้ในเลือดและสารนอกเซลล์ (extracellular matrix) (Schvartz et al., 1999) เนื่องจากมีลำดับกรดอะมิโนของโดเมน SMB และ PAX ที่คล้ายคลึงกันมากถึง 60% (Schvartz et al., 1999) อีกทั้งโดเมน PAX ยังสามารถจับกับโปรตีนไฮยาลูโรแนนได้อีกด้วย (Nugent et al., 2007a) แสดงว่าลูบริซินสามารถจับกับผิวกระดูกอ่อนและไฮยาลูโรแนนที่อยู่ใกล้เคียงหรืออยู่บริเวณผิวกระดูกอ่อนได้



รูปที่ 1 โครงสร้างของโปรตีนลูบริซิน (Zappone et al., 2007)



รูปที่ 2 แสดงลักษณะการเกาะของลูบริซินบนผิวกระดูกอ่อน (Daniel, 2013)

บทบาทและการควบคุมการสังเคราะห์ลูบริซิน

หากกล่าวถึงหน้าที่ของลูบริซินตามโครงสร้างโมเลกุล พบว่า โปรตีนลูบริซินเป็นโปรตีนที่มีหน้าที่ที่หลากหลาย เช่น การจับกับแมทริกซ์ การเป็นสารหล่อลื่น เป็นสารป้องกันเซลล์ ป้องกันการเพิ่มจำนวนของเซลล์และการตายแบบอพอพโตซิสของเซลล์กระดูกอ่อนในชั้นผิว เป็นต้น (Rhee et al., 2005; Waller et al., 2013) จากการศึกษาการแสดงออกของยีน PRG4 ในหนูทดลอง พบว่า ยีนนี้มีการแสดงออกที่สูงขึ้นในกระบวนการ ectopic ossification (Ikegawa et al., 2000) นอกจากนี้ การขาดยีน PRG4 ($PRG4^{-/-}$) ในหนูทดลองก็นำไปสู่การสูญเสียการทำงานของข้อต่อเช่นกัน โดยทำให้เกิดการสะสมที่ผิดปกติของโปรตีนบนผิวกระดูกอ่อน การหายไปของเซลล์กระดูกอ่อนในชั้นผิวและการสึกกร่อนของกระดูกอ่อน (Rhee et al., 2005) นอกจากนี้ การกลายพันธุ์ของยีน PRG4 ในมนุษย์บนโครโมโซม 1q25 ส่งผลให้เกิดโรค Camptodactyly-Arthropathy-Coxavara-Pericarditis (CACP) (Marcelino et al., 1999) ซึ่งเป็นโรคทางพันธุกรรม (autosome recessive disease) ที่ทำให้เซลล์เยื่อหุ้มข้อเกิดการแบ่งตัวชนิดไม่มีการอักเสบร่วมด้วย และนำไปสู่การเกิดโรคข้อในที่สุด (Bahabri et al., 1998) เมื่อยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์และการเกิดโรคข้อต่างๆ ด้วยโปรตีนลูบริซิน พบว่า ลูบริซินสามารถยับยั้งเหตุการณ์ต่างๆ ที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อข้อต่อได้ (Rhee et al., 2005) นอกจากนี้โปรตีน HAPO ซึ่งเป็นโปรตีนลูบริซินชนิดหนึ่งมีคุณสมบัติเป็น growth factor ให้กับเซลล์ต้นกำเนิดทั้งแบบ hematopoitic และ endothelial ได้ (Liu et al., 2004)

การสังเคราะห์ลูบริซินถูกควบคุมด้วยตัวกระตุ้นที่ซับซ้อนมากมายทั้งทางชีวเคมีและทางกายภาพ โดย Schmidt และคณะ (2007) พบระดับของโปรตีนลูบริซินที่เพิ่มมากขึ้นในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เติม fetal bovine serum (FBS) และกรดแอสคอบิค ต่อมาในปี 2008 พวกเขาก็พบระดับการแสดงออกที่สูงขึ้นของลูบริซินบริเวณผิวกระดูกอ่อนในชั้นผิว เมื่อกระตุ้นด้วย transforming growth factor beta 1 (TGF-β1) และการแสดงออกที่ลดลงเมื่อเติม interleukin 1 beta (IL-1β) ในขณะที่ insulin like growth factor 1 (IGF-1) ไม่สามารถกระตุ้นการแสดงออกได้ (Schmidt et al., 2008) ซึ่งผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Khalafi และคณะ (2007) กับ Darling และ Athanasiou (2005) ซึ่งศึกษาพบว่า growth factor อื่น ยกเว้น IGF-1 สามารถเพิ่มระดับการแสดงออกของลูบริซินได้ รวมทั้ง Niikura และ Reddi (2007) รายงานว่า TGF/bone morphogenic protein (BMP) superfamily ควบคุมการแสดงออกและการสะสมของลูบริซินบนผิวกระดูกอ่อนแตกต่างกันระหว่างเซลล์กระดูกอ่อนในชั้นผิวและเซลล์เยื่อหุ้มข้อ โดย TGF-β1 มีความสำคัญต่อการแสดงออกของลูบริซินต่อเซลล์ทั้งสองชนิด ในขณะที่ BMP มีอิทธิพลต่อเซลล์เยื่อหุ้มข้อมากกว่าเซลล์กระดูกอ่อน นอกจาก TGF-β และ BMP ยังพบว่ามี cytokine และ growth factor อื่น เช่น oncostatin (OSM), fibroblast growth factor 2 (FGF-2) และ platelet-derived growth factor (PDGF) ที่ช่วยส่งเสริมการสังเคราะห์ลูบริซิน ในขณะที่สารกระตุ้นการอักเสบ เช่น IL-1β และ TNF-β ยับยั้งการแสดงออกของลูบริซิน (Jones & Flannery, 2007; Khalafi et al., 2007) นอกจากตัวกระตุ้นทางชีวเคมี ยังพบว่าแรงเชิงกลก็สามารถกระตุ้นหรือยับยั้งการสังเคราะห์ลูบริซินได้ โดยในระหว่างกระบวนการพัฒนาตัวอ่อนบริเวณข้อศอกในหนูทดลองพบว่าการแสดงออกของลูบริซินจะเริ่มหลังจากการสร้างโพรงในข้อต่อ (cavitation) แสดงว่าการเคลื่อนที่ของเซลล์ต่างๆ สามารถกระตุ้นการแสดงออกของลูบริซินได้ (Rhee et al., 2005) แรงกลในรูปแบบต่างๆที่ส่งเสริมการแสดงออกของลูบริซินบริเวณข้อต่อมีหลายชนิด เช่น แรงดึงซ้ำๆ (cyclic tension) ซึ่งเป็นแรงที่เกิดจากการดึงวัตถุจากปลายทั้งสองด้านหลายๆ ครั้ง (Wong et al., 2003) การสัมผัสกันของผิวกระดูกอ่อน (Grad et al., 2005; Nugentet al., 2007b) การเคลื่อนที่ของเซลล์กระดูกอ่อนบริเวณผิวกระดูก (Grad et al., 2006; Li et al, 2007) และแรงกดซ้ำๆ (แรงกดที่กระทำต่อวัตถุในแนวตั้งฉากกับผิววัตถุหลายๆ ครั้ง) (Buschmann et al., 1999; Drewniak et al., 2012) เป็นต้น โดย Nugent และคณะ (Nugent et al., 2006a; Nugent et al., 2006b) พบว่าแรงเฉือน (แรงที่กระทำกับผิวกระดูกอ่อนในทิศทางขนานกับผิวกระดูกอ่อน) ทั้งแบบหยุดนิ่งและแบบเคลื่อนที่ (dynamic) ล้วนส่งผลกระทบให้ลูบริซินถูกหลั่งออกมาจากกระดูกอ่อนมากขึ้น และกระดูกอ่อนกลุ่มที่ได้รับแรงเฉือนแบบเคลื่อนที่จะหลั่งโปรตีนลูบริซินมากกกว่ากระดูกอ่อนกลุ่มที่ไม่ได้รับแรง และกลุ่มที่รับแรงกดแบบหยุดนิ่งมากถึง 3-4 เท่า ทำให้เซลล์บนกระดูกอ่อนที่ได้รับแรงเฉือนแบบเคลื่อนที่หลั่งลูบริซินมีจำนวนมากขึ้น ทั้งยังพบว่าเซลล์ที่อยู่ลึกลงไปจากผิวกระดูกอ่อน 200-400 μm เกิดการหลั่งลูบริซินซึ่งแตกต่างจากเซลล์ในกระดูกอ่อนปกติที่ไม่หลั่งลูบริซินในบริเวณนี้ โดยน่าจะเป็นผลมาจากกลไกการควบคุมย้อนกลับที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยแรงกล คือ เมื่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ได้รับการกระตุ้นด้วยแรงกลจะทำให้สารหล่อลื่นที่เคลือบผิวกระดูกอ่อนหายไป ซึ่งสารหล่อลื่นที่หลุดอยู่บริเวณผิวเซลล์จะส่งสัญญาณต่อไปยังเซลล์กระดูกอ่อนข้างเคียง เพื่อให้หลั่งลูบริซินออกมาให้มากขึ้น รวมทั้งผลการศึกษาของ Das และคณะ (2008) ที่แสดงให้เห็นว่าการยืดสามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีนลูบริซินได้ในเซลล์ปฐมภูมิกระดูกอ่อนเช่นกัน

บทบาทของลูบริซินในกระดูกอ่อนปกติ

ลูบริซินที่ถูกหลั่งจากกระดูกอ่อนจะพบมากที่สุดในชั้นผิว ในขณะที่เซลล์ในชั้นกลาง (intermediate zone) และชั้นลึก (deep zone) จะหลั่งลูบริซินน้อยมาก ทำให้

การสังเคราะห์ลูบริซินสามารถนำมาใช้กำหนดเพื่อบอกขอบเขตของกระดูกอ่อนในชั้นผิวได้ (Schumacher et al., 1994) เนื่องจากลูบริซินเป็นไกลโคโปรตีนที่มีคุณสมบัติคล้ายเมือกที่เคลือบอยู่บริเวณผิวกระดูกอ่อน ทำให้ลูบริซินมีหน้าที่เป็นสารหล่อลื่นของข้อต่อ ป้องกันการสัมผัสกันของกระดูกอ่อน และป้องกันการสึกกร่อนของผิวกระดูกอ่อน (Rhee et al., 2005) ส่งผลให้ลูบริซินกลายเป็นโปรตีนที่สำคัญชนิดหนึ่งในกลุ่มสารหล่อลื่นในข้อต่อ โดยลูบริซินจะช่วยลดการเสียดสี โดยลดค่าสัมประสิทธิ์ความเสียดทานระหว่างกระดูกอ่อนกับกระดูกอ่อน และกระดูกอ่อนกับโครงสร้างอื่นในข้อต่อ มีการค้นพบว่าขนาดของแรงเสียดทานมีความสัมพันธ์กับการสึกกร่อนของกระดูกอ่อนในหนูที่ขาดยีน PRG4 เมื่อนำลูบริซินที่ความเข้มข้นต่างๆ (10, 50 และ 300 µg/ml) ไปเคลือบบนผิวกราไฟต์ highly ordered pyrolytic graphite (HOPG) แล้วนำไปศึกษาการเกาะติดด้วยกล้อง atomic force microscope (AFM) พบว่า ค่าการเกาะติดที่มากที่สุด พบในวัสดุที่เคลือบด้วยลูบริซินที่ความเข้มข้น 10 µg/ml และพบน้อยที่สุดในวัสดุที่เคลือบด้วยลูบริซินที่ความเข้มข้น 300 µg/ml (Jay et al., 2007a) นอกจากนี้ลูบริซินยังช่วยลดค่าการเกาะติดได้มากกว่ากลุ่มควบคุม 10 เท่า เมื่อศึกษาด้วยแผ่นกระดูกอ่อนวัวที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งเมื่อเลี้ยงกระดูกอ่อนด้วยลูบริซินในปริมาณที่เพียงพอก็จะสามารถลดการเกาะกันระหว่างกระดูกอ่อนได้ (Schaefer et al., 2004) และหลังจากกดกระดูกอ่อนด้วยแรงขนาด 100 kPa24 ชั่วโมง พบว่าลูบริซินมีระดับแสดงออกมากขึ้นจนเทียบเท่ากับกลุ่มควบคุม และการแสดงออกยังเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมถึง 46% เมื่อได้รับแรงกดแบบเคลื่อนที่ขนาด 300 kPa หลังจากนั้น 2-3 วัน การแสดงออกของลูบริซินจะลดลงเหลือเพียง 50% ของปริมาณที่เพิ่มขึ้นในแต่ละการทดลอง (Nugent et al., 2006b) การศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นบทบาทที่สำคัญของลูบริซิน ซึ่งมีหน้าที่ในการปกป้องกระดูกอ่อน เป็นสารหล่อลื่นและป้องกันการสัมผัสกันของกระดูกอ่อนกับเนื้อเยื่ออื่นๆ (Flannery et al., 1999) ทำให้การสูญเสียโปรตีนส่งผลกระทบต่อการทำงานของข้อต่อ ทำให้ข้อต่อทำงานผิดปกติ และก่อให้เกิดโรคข้อต่างๆ ตามมา (Young et al., 2006) นอกจากนี้โปรตีนลูบริซินยังทำงานร่วมกันกับโปรตีนไฮยาลูโรแนนในการป้องกันกระดูกอ่อนโดยช่วยกระจายแรงกดต่างๆ อีกด้วย (Elsaid et al., 2008; Jay et al., 2007b) แต่การมีสารหรือโปรตีนมาเคลือบผิวกระดูกอ่อนก็ส่งผลเสียต่อกระดูกอ่อนที่ได้รับความเสียหาย เนื่องจากโปรตีนที่เคลือบผิวกระดูกอ่อนจะไปบดบังกระบวนการซ่อมแซมผิวกระดูกอ่อนที่ได้รับความเสียหายนั้น (Englert et al., 2005)

บทบาทของลูบริซินในโรคข้อเสื่อม

ในปี 2000 Jüsten และคณะได้ศึกษาพบระดับการแสดงออกของยีน PRG4 ในเซลล์เยื่อหุ้มข้อที่แตกต่างกันระหว่างโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์และโรคข้อเสื่อม แสดงว่าโปรตีนลูบริซินมีความสัมพันธ์กับการเป็นโรคข้อเสื่อม โดยเมื่อระดับของโปรตีนลูบริซินลดลงจะทำให้เกิดความเสียหายต่อกระดูกอ่อนผิวข้อ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเกิดความเสียหายขึ้นกับข้อต่อ ระดับการแสดงออกของลูบริซินก็ลดลงเช่นกัน เช่น การลดลงของระดับการแสดงออกของยีน PRG4 ในแกะที่ถูกตัดกระดูกอ่อนเมนิสคัส (meniscus) เพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นโรคข้อเสื่อมในระยะแรก (Young et al., 2006) และเมื่อเหนี่ยวนำให้กระต่ายเป็นโรคข้อด้วยวิธีตัดเอ็นไขว้หน้า (anterior cruciate ligament transection: ACLT) ค่าสัมประสิทธิ์ความเสียดทานของน้ำไขข้อเพิ่มขึ้น รวมทั้งความเข้มข้นของโปรตีนคอลลาเจนชนิดที่ 2 (collagen type II) ในน้ำไขข้อก็เพิ่มขึ้นด้วย (Elsaid et al., 2005) ซึ่งแสดงว่ากระดูกอ่อนในข้อต่อมีความเสี่ยงที่จะเกิดความเสียหายสูง โดยน่าจะมีสาเหตุมาจากการขาดสารหล่อลื่น เช่นเดียวกันกับผู้ป่วยที่ได้รับบาดเจ็บที่เอ็นไขว้หน้าที่พบระดับของโปรตีนลูบริซินในน้ำไขข้อที่เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ (Elsaid et al., 2008) รวมทั้งในหนูตะเภาที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยการตัดเอ็นไขว้หน้า (Teeple et al., 2008) นอกจากนี้เมื่อเหนี่ยวนำด้วยการฉีดโปรตีน

bovine serum albumin (BSA) และ complete freund adjuvant (CFA) ก็พบว่ามีการสลายของโปรตีนลูบริซิน เนื่องจากพบการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ cathepsin B ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม cysteine protease สามารถย่อยโปรตีนลูบริซินได้ (Elsaid et al., 2008) โดยจะย่อยบริเวณโดเมนกลางที่มีคุณสมบัติคล้ายเมือก นอกจากนี้ค่าสัมประสิทธิ์ความเสียดทาน ระดับเอนไซม์ cathepsin B และ IL-1β ในข้อต่อมีค่าสูงขึ้นอีกด้วย (Jay et al., 2007b) ดังนั้น การเติมโปรตีนลูบริซินเข้าไปในข้อต่อน่าจะเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยปกป้องเซลล์กระดูกอ่อนและป้องกันการสึกกร่อนของกระดูกอ่อนได้

การประยุกต์ใช้โปรตีนลูบริซินในการรักษาโรคข้อเสื่อม

การรักษาโรคข้อเสื่อมโดยใช้ยาบรรเทาอาการเจ็บปวด โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs) ซึ่งเป็นยาที่ได้รับความนิยม แต่พบว่าการใช้ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ในระยะเวลานานก่อให้เกิดผลข้างเคียงตามมา ทำให้การรักษาโดยการฉีดโปรตีนไฮยาลูโรแนนเข้าสู่ช่องว่างของข้อต่อ เพื่อช่วยรักษาโครงสร้างและการทำงานของข้อต่อ ลดระดับสาร prostaglandin เพิ่มระดับสารโปรตีโอไกลแคน และลดอาการต่างๆ ที่มาจากการอักเสบของข้อต่อได้รับความนิยมมากขึ้นในปัจจุบันทั้งยังไม่ปรากฏผลข้างเคียงอีกด้วย แต่ผลการศึกษาของ Rhee และคณะ (2005) ที่ศึกษาพบว่าการขาดยีน PRG4(PRG4$^{-/-}$) ในหนูทดลองทำให้เกิดโรค CACP ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาสู่โรคข้อและสูญเสียการทำงานของข้อต่อ (Bahabri et al., 1998) แม้จะมีปริมาณไฮยาลูโรแนนในน้ำไขข้อมากก็ตาม สอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบว่าระดับของลูบริซินมีค่าลดลงเมื่อเกิดโรคข้อเสื่อม (Jüsten et al., 2000) เมื่อพิจารณาบทบาทของโปรตีนลูบริซินในข้อต่อ ทำให้ลูบริซินน่าจะมีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการรักษาโรคข้อเสื่อมได้ เนื่องจากเมื่อทำการเหนี่ยวนำหนู กระต่าย แกะ และหนูตะเภาให้เป็นโรคข้อเสื่อมด้วยวิธีการต่างๆ ระดับการแสดงออกของลูบริซินจะลดลงตามไปด้วย (Elsaid et al., 2005; Elsaid et al., 2012; Teeple et al., 2008; Young et al., 2006) นอกจากนี้การกระตุ้นให้เซลล์กระดูกอ่อนในชั้นผิวสังเคราะห์ลูบริซินมากขึ้นจะเป็นประโยชน์ต่องานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนซึ่งเป็นกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนขึ้นมาใหม่ภายนอกร่างกาย เพื่อนำมาใช้ทดแทนและซ่อมแซมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนที่ได้รับความเสียหายหรือได้รับบาดเจ็บ (Klein et al., 2003) เนื่องจากจะช่วยเพิ่มสารหล่อลื่นให้กับวัสดุที่สังเคราะห์ขึ้นมา ปัจจุบันมีการสังเคราะห์รีคอมบิแนนท์ลูบริซินเพื่อนำมารักษาโดยการฉีดเข้าช่องว่างในข้อต่อ โดยมีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นประสิทธิภาพของลูบริซินในการป้องกันการสึกกร่อนของกระดูกอ่อนมากมาย เช่น การสังเคราะห์รีคอมบิแนนท์ลูบริซินที่ชื่อ LUB:1 ซึ่งสังเคราะห์จากเซลล์รังไข่ของหนูแฮมสเตอร์จีน LUB:1 เป็นลูบริซินที่โครงสร้างคล้ายกับลูบริซินในธรรมชาติ แต่มีลำดับเบสของยีนที่จะแปลรหัสให้โดเมนกลางที่ถูกดัดแปลงไป โดย LUB:1 มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกับลูบริซินของหนู 70% และการฉีด LUB:1 เข้าข้อต่อของหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคข้อเสื่อมสามารถป้องกันการสึกกร่อนของกระดูกอ่อนได้ โดย LUB:1 ช่วยเพิ่มความสามารถในการลดแรงเสียดทานของผิวกระดูกอ่อน ยับยั้งการสัมผัสกันของ synovial sarcoma cell หลังจากการฉีด LUB:1 เข้าข้อต่อหนูทั้งแบบ 3 และ 1 ครั้ง ต่อสัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยค่าคะแนนการสึกกร่อนของกระดูกอ่อนข้อต่อ และค่าการสึกกร่อนของกระดูกอ่อน รวมทั้งความกว้างของบริเวณที่สึกกร่อนมีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำเกลือ (Flannery et al., 2009) และในปี 2012 Jay และคณะ ได้ฉีดลูบริซินเข้าข้อต่อหนูทดลองที่ถูกตัดเอ็นไขว้หน้า โดยพบว่าบริเวณชั้นผิวของกระดูกอ่อนมีปริมาณลูบริซินเพิ่มมากขึ้น ในวันที่ 35 และ 70 วันหลังจากเหนี่ยวนำ รวมทั้งปริมาณสาร C-telopeptide of type II collagen (CTX-II) ลดลง และการกระจายแรงในการลงน้ำหนักเท้าหลังของหนูทดลองมีความสม่ำเสมอมากกว่ากลุ่มควบคุม ทำให้การฉีดลูบริซินเข้าข้อต่อ

เพียงครั้งเดียวสามารถช่วยรักษาความเจ็บปวดได้ และในปีเดียวกัน Elsaid และคณะ (2012) ก็ได้ทำการศึกษาผลของการฉีดลูบริซินเข้าสู่ข้อต่อหนูทดลองที่ถูกตัดเอ็นไขว้หน้าและถูกนำไปออกกำลังกายหลังจากถูกเหนี่ยวนำ ซึ่งพบว่าลูบริซินสามารถลดความเสียหายของกระดูกอ่อนได้ โดยลดคะแนนความสึกกร่อนของกระดูกอ่อน (OARSI modified Mankin score) และปริมาณสาร CTX-II รวมทั้งเพิ่มระดับการแสดงออกของลูบริซินในเซลล์กระดูกอ่อน และปริมาณลูบริซินในน้ำไขข้อด้วย นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Schmidt และคณะ (2007) ที่แสดงว่าการทำงานร่วมกันของโปรตีนไฮยาลูโรแนนและลูบริซินบนผิวกระดูกอ่อนช่วยลดค่าสัมประสิทธิ์ความเสียดทานได้ดีกว่าไฮยาลูโรแนนหรือลูบริซินเพียงชนิดเดียว แต่จากผลการศึกษาของ Teeple และคณะ (2008) ซึ่งศึกษาการฉีดลูบริซินเข้าไปในข้อต่อร่วมกับไฮยาลูโรแนนในหนูทดลองที่ถูกตัดเอ็นไขว้หน้า ผลการศึกษาพบว่าการเพิ่มไฮยาลูโรแนนเข้าไปร่วมกับลูบริซินให้ผลการปกป้องกระดูกอ่อนได้ไม่แตกต่างกับการฉีดลูบริซินเพียงชนิดเดียวที่สามารถปกป้องกระดูกอ่อนได้ดีกว่าไฮยาลูโรแนน แม้ว่าผลการปกป้องกระดูกอ่อนที่ได้ยังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทดสอบทั้งทางชีวเคมี ได้แก่ ปริมาณไกลโคซามิโนกลัยแคน, CTX-II, TNF-α, IL-1β และผลทางเนื้อเยื่อวิทยา ในปีเดียวกัน Chang และคณะ (2009) ได้รายงานหน้าที่ในการลดแรงเสียดสีของผิวกระดูกอ่อนของลูบริซินที่เด่นชัดกว่าไฮยาลูโรแนน เมื่อทดสอบการเสียดสีระหว่างพื้นผิวที่เคลือบด้วยสารละลายที่มีและไม่มีขั้ว พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความเสียดทานของพื้นผิวที่เคลือบด้วยสารที่ไม่มีขั้วมีค่าสูง (μ = 1.1) ในขณะที่พื้นผิวที่เคลือบด้วยสารที่มีขั้วมีค่าต่ำ (μ = 0.1) และเมื่อเติมลูบริซินเข้าไประหว่างพื้นผิวทั้งสอง พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ของพื้นผิวทั้งสองมีค่าเท่ากัน คือ 0.2 (μ = 0.2) แต่เมื่อใช้เติมไฮยาลูโรแนนแทนลูบริซินกลับไม่พบปรากฏการณ์นี้ รวมทั้งเมื่อใช้ไฮยาลูโรแนนร่วมกับลูบริซินก็ไม่พบปรากฏการณ์นี้เช่นกัน และในปี 2013 Das และคณะ ได้รายงานว่าค่าสัมประสิทธิ์ความเสียดทานที่มีค่าสูงไม่จำเป็นต้องสัมพันธ์กับระดับความเสียหายของกระดูกอ่อน และไฮยาลูโรแนนที่อยู่เกาะอยู่กับลูบริซินมีหน้าที่ช่วยลดการเสียดสีและปกป้องกระดูกอ่อน โดยการเพิ่มความเข้มข้นของลูบริซินจะช่วยเพิ่มความสามารถในการรับแรงกดของกระดูกอ่อน เช่นเดียวกับ ไฮยาลูโรแนนที่เกาะอยู่บนผิวกระดูกอ่อน แต่การเติมลูบริซินเข้าไปจะไม่ก่อให้เกิดประโยชน์ ถ้าไม่มีไฮยาลูโรแนนที่เกาะอยู่บนผิวกระดูกอ่อนหรือวัสดุ เนื่องจากลูบริซินจะเข้าไปแทรกกับโครงสร้างของไฮยาลูโรแนนที่ติดอยู่บนผิวกระดูกอ่อนและเกาะกันจนเกิดเป็นเจลหนืด (visco-elastic gel) บนพื้นผิวนั้น ซึ่งสามารถลดการเสียดสีและป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับพื้นผิวนั้นได้ จากรายงานวิจัยที่ได้กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการนำลูบริซินและไฮยาลูโรแนนมาใช้ร่วมกันในการรักษาโรคข้อเสื่อมยังต้องได้รับการศึกษาต่อไป

สรุป

บทความนี้ได้รวบรวมบทบาทและหน้าที่ของโปรตีนลูบริซินในข้อต่อปกติและโรคข้อเสื่อม โดยพบว่าลูบริซินมีโครงสร้างที่เหมาะสมต่อการทำหน้าที่เป็นสารหล่อลื่นบริเวณผิวกระดูกอ่อนในข้อต่อ เนื่องจากมีโดเมนที่มีคุณสมบัติคล้ายเมือกที่ช่วยลดแรงกระทำต่างๆ ที่มากระทบกระดูกอ่อนได้ นอกจากนี้โปรตีนชนิดนี้ยังถูกควบคุมการแสดงออกด้วยสารชีวเคมี รวมทั้งแรงเชิงกลต่างๆ อีกด้วย และมีงานวิจัยหลายงานที่แสดงว่าลูบริซินมีศักยภาพที่จะนำมาใช้เป็นสารปกป้องกระดูกอ่อนในการรักษาโรคข้อเสื่อมได้ จากผลการทดลองที่ได้จากสัตว์ทดลองหลายชนิด แม้ว่าการนำลูบริซินมารักษาโรคข้อเสื่อมร่วมกับโปรตีนไฮยาลูโรแนน ที่ได้รับความนิยมแพร่หลายจะเห็นผลที่ไม่ชัดเจนก็ตาม อย่างไรก็ตาม การศึกษาพัฒนาลูบริซินเพื่อนำมาใช้ในการรักษาโรคข้อเสื่อมก็ควรดำเนินต่อไป รวมทั้งการศึกษาผลกระทบและผลข้างเคียงต่างๆ ของการฉีดลูบริซินในระยะยาว อีกทั้งการศึกษาความคงทนของโปรตีนลูบริซินเมื่อถูกฉีดเข้าสู่ข้อต่อในแต่ละครั้ง และการพัฒนาโมเลกุลสังเคราะห์

อื่นที่มีคุณสมบัติคล้ายลูบริซิน เพื่อเพิ่มความชัดเจนและความเข้าใจในการนำโปรตีนลูบริซินมารักษาโรคข้อเสื่อมต่อไป

References

Pradit, W., Chomdej, S. & Nganvongpanit, K. (2013). Molecular pathology of inflammation in osteoarthritis. *Chiang Mai Veterinary Journal*, 11(2), 189-202. (in Thai)

Bahabri, S. A., Suwairi, W. M., Laxer, R. M., Polinkovsky, A., Dalaan, A. A., & Warman, M. L. (1998). The camptodactyly-arthropathy-coxa vara-pericarditis syndrome: clinical features and genetic mapping to human chromosome 1. *Arthritis & Rheumatism*, 41(4), 730-735.

Ballantine, G. C., & Stachowiak, G. W. (2002). The effects of lipid depletion on osteoarthritic wear. *Wear*, 253(3–4), 385-393.

Buschmann, M. D., Kim, Y. J., Wong, M., Frank, E., Hunziker, E. B., & Grodzinsky, A. J. (1999). Stimulation of aggrecan synthesis in cartilage explants by cyclic loading is localized to regions of high interstitial fluid flow. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 366(1), 1-7.

Chang, D. P., Abu-Lail, N. I., Coles, J. M., Guilak, F., Jay, G. D., & Zauscher, S. (2009). Friction Force Microscopy of Lubricin and Hyaluronic Acid between Hydrophobic and Hydrophilic Surfaces. *Journal of Soft Matter*, 5(18), 3438-3445.

Daniel, M. (2013). Boundary cartilage lubrication: review of current concepts. Wien *Med Wochenschr*.

Darling, E. M., & Athanasiou, K. A. (2005). Growth factor impact on articular cartilage subpopulations. *Cell and tissue research,* 322(3), 463-473.

Das, R. H. J., Jahr, H., Verhaar, J. A. N., van der Linden, J. C., van Osch, G. J. V. M., & Weinans, H. (2008). In vitro expansion affects the response of chondrocytes to mechanical stimulation. *Osteoarthritis Cartilage*, 16(3), 385-391.

Das, S., Banquy, X., Zappone, B., Greene, G. W., Jay, G. D., & Israelachvili, J. N. (2013). Synergistic interactions between grafted hyaluronic acid and lubricin provide enhanced wear protection and lubrication. *Biomacromolecules*, 14(5), 1669-1677.

Drewniak, E. I., Jay, G. D., Fleming, B. C., Zhang, L., Warman, M. L., & Crisco, J. J. (2012). Cyclic loading increases friction and changes cartilage surface integrity in lubricin-mutant mouse knees. *Arthritis & Rheumatism*, 64(2), 465-473.

Elsaid, K. A., Fleming, B. C., Oksendahl, H. L., Machan, J. T., Fadale, P. D., Hulstyn, M. J., . . . Jay, G. D. (2008). Decreased lubricin concentrations and markers of joint inflammation in the synovial fluid of patients with anterior cruciate ligament injury. *Arthritis & Rheumatism*, 58(6), 1707-1715.

Elsaid, K. A., Jay, G. D., Warman, M. L., Rhee, D. K., & Chichester, C. O. (2005). Association of articular cartilage degradation and loss of boundary-lubricating ability of synovial fluid following injury and inflammatory arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 52(6), 1746-1755.

Elsaid, K. A., Zhang, L., Waller, K., Tofte, J., Teeple, E., Fleming, B. C., & Jay, G. D. (2012). The impact of forced joint exercise on lubricin biosynthesis from articular cartilage following ACL transection and intra-articular lubricin's effect in exercised joints following ACL transection.

Osteoarthritis Cartilage, 20(8), 940-948.

Englert, C., McGowan, K. B., Klein, T. J., Giurea, A., Schumacher, B. L., & Sah, R. L. (2005). Inhibition of integrative cartilage repair by proteoglycan 4 in synovial fluid. Arthritis & Rheumatism, 52(4), 1091-1099.

Estrella, R. P., Whitelock, J. M., Packer, N. H.,& Karlsson, N. G. (2010). The glycosylation of human synovial lubricin: implications for its role in inflammation. *The Biochemical Journal*,29(2), 359-367.

Flannery, C. R., Hughes, C. E., Schumacher, B. L., Tudor, D., Aydelotte, M. B., Kuettner, K. E., & Caterson, B. (1999). Articular cartilage superficial zone protein (SZP) is homologous to megakaryocyte stimulating factor precursor and is a multifunctional proteoglycan with potential growth-promoting, cytoprotective, and lubricating properties in cartilage metabolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 254(3), 535-541.

Flannery, C. R., Zollner, R., Corcoran, C., Jones, A. R., Root, A., Rivera-Bermúdez, M. A., . . . Glasson, S. S. (2009). Prevention of cartilage degeneration in a rat model of osteoarthritis by intraarticular treatment with recombinant lubricin. *Arthritis & Rheumatism*, 60(3), 840-847.

Grad, S., Lee, C. R., Gorna, K., Gogolewski, S., Wimmer, M. A., & Alini, M. (2005). Surface motion upregulates superficial zone protein and hyaluronan production in chondrocyte-seeded three-dimensional scaffolds. *Journal of Tissue Engineering*, 11(1-2), 249-256.

Grad, S., Lee, C. R., Wimmer, M. A., & Alini, M. (2006). Chondrocyte gene expression under applied surface motion. *Journal of Biorheology*, 43(3-4), 259-269.

Hodge, W. A., Carlson, K. L., Fijan, R. S., Burgess, R. G., Riley, P. O., Harris, W. H., & Mann, R. W. (1989). Contact pressures from an instrumented hip endoprosthesis. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 71(9), 1378-1386.

Ikegawa, S., Sano, M., Koshizuka, Y., & Nakamura, Y. (2000). Isolation, characterization and mapping of the mouse and human PRG4 (proteoglycan 4) genes. *Cytogenetics and cell genetics*, 90(3-4), 291-297.

Jay, G. (2013). USA Patent No. 2013/0116186 A1

Jay, G. D. (1992). Characterization of a bovine sy novial fluid lubricating factor. I. Chemical, surface activity and lubricating properties. *Connective Tissue Research*, 28(1-2), 71-88.

Jay, G. D., & Cha, C. J. (1999). The effect of phos pholipase digestion upon the boundary lubricating ability of synovial fluid. *The Journal of Rheumatology*, 26(11), 2454-2457.

Jay, G. D., Elsaid, K. A., Kelly, K. A., Anderson, S. C., Zhang, L., Teeple, E., . . . Fleming, B. C. (2012). Prevention of cartilage degeneration and gait asymmetry by lubricin tribosupplementation in the rat following anterior cruciate ligament transection. *Arthritis & Rheumatism*, 64(4), 1162-1171.

Jay, G. D., Harris, D. A., & Cha, C. J. (2001). Boundary lubrication by lubricin is mediated by O-linked beta(1-3)Gal-GalNAc oligosaccharides. *Glycoconjugate Journal*, 18(10), 807-815.

Jay, G. D., Tantravahi, U., Britt, D. E., Barrach, H. J., & Cha, C. J. (2001). Homology of lubricin and superficial zone protein (SZP): products of megakaryocyte stimulating factor (MSF) gene expression

by human synovial fibroblasts and articular chondrocytes localized to chromosome 1q25. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 19(4), 677-687.

Jay, G. D., Torres, J. R., Rhee, D. K., Helminen, H. J., Hytinnen, M. M., Cha, C.-J., . . . Warman, M. L. (2007). Association between friction and wear in diarthrodial joints lacking lubricin. *Arthritis & Rheumatism*, 56(11), 3662-3669.

Jay, G. D., Torres, J. R., Warman, M. L., Laderer, M. C., & Breuer, K. S. (2007). The role of lubricin in the mechanical behavior of synovial fluid. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, 104(15), 6194-6199.

Jones, A. R. C., & Flannery, C. R. (2007). Bioregulation of lubricin expression by growth factors and cytokines. *European cells & materials*, 13, 40-45; discussion 45.

Jones, A. R. C., Gleghorn, J. P., Hughes, C. E., Fitz, L. J., Zollner, R., Wainwright, S. D., . . . Flannery, C. R. (2007). Binding and localization of recombinant lubricin to articular cartilage surfaces. *Journal of Orthopaedic Research*, 25(3), 283-292.

Jüsten, H. P., Grünewald, E., Totzke, G., Gouni-Berthold, I., Sachinidis, A., Wessinghage, D., . . . Ko, Y. (2000). Differential gene expression in synovium of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Molecular Cell Biology Research Communications*, 3(3), 165-172.

Khalafi, A., Schmid, T. M., Neu, C., & Reddi, A. H. (2007). Increased accumulation of super ficial zone protein (SZP) in articular cartilage in response to bone morphogenetic protein-7 and growth factors. *Journal of Orthopaedic Research,* 25(3), 293-303.

Klein, T. J., Schumacher, B. L., Schmidt, T. A., Li, K. W., Voegtline, M. S., Masuda, K., . . . Sah, R. L. (2003). Tissue engineering of stratified articular cartilage from chondrocyte subpopulations. *Osteoarthritis Cartilage*, 11(8), 595-602.

Lee, S. Y., Nakagawa, T., & Reddi, A. H. (2008). Induction of chondrogenesis and expression of superficial zone protein (SZP)/lubricin by mesenchymal progenitors in the infrapatellar fat pad of the knee joint treated with TGF-beta1 and BMP-7. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 376(1), 148-153.

Li, Z., Yao, S., Alini, M., & Grad, S. (2007). Different response of articular chondrocyte subpopulations to surface motion. *Osteoarthritis Cartilage*, 15(9), 1034-1041.

Liu, Y. J., Lu, S. H., Xu, B., Yang, R. C., Ren, Q., Liu, B., . . . Han, Z. C. (2004). Hemangiopoietin, a novel human growth factor for the primitive cells of both hematopoietic and endothelial cell lineages. *Blood*, 103(12), 4449-4456.

Marcelino, J., Carpten, J. D., Suwairi, W. M., Gutierrez, O. M., Schwartz, S., Robbins, C., . . . Warman, M. L. (1999). CACP, encoding a secreted proteoglycan, is mutated in camptodactyly -arthropathy-coxa vara-pericarditis syndrome. *Nature Genetics*, 23(3), 319-322.

Morlock, M., Schneider, E., Bluhm, A., Vollmer, M., Bergmann, G., Müller, V., & Honl, M. (2001). Duration and frequency of every day activities in total hip patients. *Journal of Biomechanics*, 34(7), 873-881.

Mow, V. C., & Huiskes, R. (2005). *Basic Orthopaedic Biomechanics & Mechano-biology*: Lippincott Williams & Wilkins.

Niikura, T., & Reddi, A. H. (2007). Differential regulation of lubricin/superficial zone protein by transforming growth factor beta/bone morphogenetic protein superfamily members in articular chondrocytes and synoviocytes. *Arthritis & Rheumatism*, 56(7), 2312-2321.

Nugent, G. E., Chan, A. H., Schumacher, B. L., & Sah, R. L. (2007). PRG4 exchange between the articular cartilage surface and synovial fluid. *Journal of Orthopaedic Research*, 25(10), 1269-1276.

Nugent, G. E., Takara, T., O'neill, J. K., Cahill, S. B., Görtz, S., Pong, T., . . . Sah, R. L. (2007). Continuous passive motion applied to whole joints stimulates chondrocyte biosynthesis of PRG4. *Osteoarthritis Cartilage*, 15(5), 566-574.

Nugent, G. E., Aneloski, N. M., Schmidt, T. A., Schumacher, B. L., Voegtline, M. S., & Sah, R. L. (2006). Dynamic shear stimulation of bovine cartilage biosynthesis of proteoglycan 4. *Arthritis & Rheumatism*, 54(6), 1888-1896.

Nugent, G. E., Schmidt, T. A., Schumacher, B. L., Voegtline, M. S., Bae, W. C., Jadin, K. D., & Sah, R. L. (2006). Static and dynamic compression regulate cartilage metabolism of PRoteoGlycan 4 (PRG4). *Biorheology*, 43(3-4), 191-200.

Rees, S. G., Davies, J. R., Tudor, D., Flannery, C. R., Hughes, C. E., Dent, C. M., & Caterson, B. (2002). Immunolocalisation and expression of proteoglycan 4 (cartilage superficial zone proteoglycan) in tendon. *Matrix Biology*, 21(7), 593-602.

Rhee, D. K., Marcelino, J., Baker, M., Gong, Y., Smits, P., Lefebvre, V., . . . Carpten, J. D. (2005). The secreted glycoprotein lubricin protects cartilage surfaces and inhibits synovial cell overgrowth. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(3), 622-631.

Schaefer, D. B., Wendt, D., Moretti, M., Jakob, M., Jay, G. D., Heberer, M., & Martin, I. (2004). Lubricin reduces cartilage--cartilage integration. *Biorheology*, 41(3-4), 503-508.

Schmidt, T. A., Gastelum, N. S., Han, E. H., Nugent-Derfus, G. E., Schumacher, B. L., & Sah, R. L. (2008). Differential regulation of proteoglycan 4 metabolism in cartilage by IL-1alpha, IGF-I, and TGF-beta1. *Osteoarthritis Cartilage*, 16(1), 90-97.

Schmidt, T. A., Gastelum, N. S., Nguyen, Q. T., Schumacher, B. L., & Sah, R. L. (2007). Boundary lubrication of articular cartilage: role of synovial fluid constituents. *Arthritis & Rheumatism*, 56(3), 882-891.

Schumacher, B. L., Block, J. A., Schmid, T. M., Aydelotte, M. B., & Kuettner, K. E. (1994). A novel proteoglycan synthesized and secreted by chondrocytes of the superficial zone of articular cartilage. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 311(1), 144-152.

Schumacher, B. L., Hughes, C. E., Kuettner, K. E., Caterson, B., & Aydelotte, M. B. (1999). Immunodetection and partial cDNA sequence of the proteoglycan, superficial zone protein, synthesized by cells lining synovial joints. *Journal of Orthopaedic Research*, 17(1), 110-120.

Schumacher, B. L., Schmidt, T. A., Voegtline, M. S., Chen, A. C., & Sah, R. L. (2005). Proteoglycan 4 (PRG4) synthesis and immunolocalization in bovine meniscus. *Journal of Orthopaedic Research*, 23(3),

562-568.

Schvartz, I., Seger, D., & Shaltiel, S. (1999). Vitronectin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 31(5), 539-544.

Sun, Y., Berger, E. J., Zhao, C., An, K.-N., Amadio, P. C., & Jay, G. (2006). Mapping lubricin in canine musculoskeletal tissues. *Connective Tissue Research*, 47(4), 215-221.

Swann, D. A., Slayter, H. S., & Silver, F. H. (1981). The molecular structure of lubricating glycoprotein-I, the boundary lubricant for articular cartilage. *Journal of Biological Chemistry*, 256(11), 5921-5925.

Teeple, E., Elsaid, K. A., Fleming, B. C., Jay, G. D., Aslani, K., Crisco, J. J., & Mechrefe, A. P. (2008). Coefficients of friction, lubricin, and cartilage damage in the anterior cruciate ligament-deficient guinea pig knee. *Journal of Orthopaedic Research*, 26(2), 231-237.

Waller, K. A., Zhang, L. X., Elsaid, K. A., Fleming, B. C., Warman, M. L., & Jay, G. D. (2013). Role of lubricin and boundary lubrication in the prevention of chondrocyte apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, 110(15), 5852-5857.

Wong, M., & Carter, D. R. (2003). Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. *Bone*, 33(1), 1-13.

Wong, M., Siegrist, M., & Goodwin, K. (2003). Cyclic tensile strain and cyclic hydrostatic pressure differentially regulate expression of hypertrophic markers in primary chondrocytes. *Bone*, 33(4), 685-693.

Young, A. A., McLennan, S., Smith, M. M., Smith, S. M., Cake, M. A., Read, R. A., . . . Little, C. B. (2006). Proteoglycan 4 downregulation in a sheep meniscectomy model of early osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 8(2), R41.

Zappone, B., Ruths, M., Greene, G. W., Jay, G. D., & Israelachvili, J. N. (2007). Adsorption, lubrication, and wear of lubricin on model surfaces: polymer brush-like behavior of a glycoprotein. *Biophysical Journal*, 92(5), 1693-1708.

Lubricin: Roles and applications in osteoarthritis

Waranee Pradit[1,*], Kittisak Buddhachat[1], Tanita Pitakarnnop[2], Burin Boonsri[2] and Korakot Nganvongpanit[2]

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University
[2]Bone and Joint Research Laboratory, Department of Veterinary Biosciences and Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University

Abstract Osteoarthritis is joint disease caused by articular cartilage degeneration. This disease lead pain and suffering in daily life. Although completely cure of this disease is not determined, intra-articular injection of hyarulonan protein is an efficient treatment for osteoarthritis. In this case, lubricin which is glycoproteins located at superficial zone of cartilage or cartilage surface that secreted by chondrocytes andsynoviocytes was unveiled. Boundary lubrication is the main function of this protein following with anti-cell adhesion under various mechanical forces when moving joints. In human, mutations or lacking of this gene have been reported to link with camptodactyly -arthropathy-coxavarapericarditis syndrome (CACP) that leads high risks of arthritis occurrence. Synovial hyperplasia and joint failure will be occurred also. This could be suggesting the important roles of lubricin in joint diseases with the application of articular injection of lubricin that exhibited effective restoration of joint in animal models. Therefore, lubricin could be the new interesting substance to be applied in osteoarthritis treatment. This review article is gathered, unveiled and discussed the important structure, functions of lubricin both in normal and arthritic joints and the approaches using lubricin as the new protein to cure osteoarthritis.

Keywords: boundary lubricant, superficial zone, coefficient of friction, mechanical forces, osteoarthritis