

Abstract

Osteoarthritis (OA) is the most frequent joint disease and the eleventh leading cause of disability worldwide, affecting approximately 300 million people. The impact on patients is initially symptomatic, starting with persistent joint pain that gradually leads to function loss. To date, no disease-modifying treatment has been developed to stop tissue deterioration and well-established therapeutics to treat OA are being questioned due to their long-term side effects and their lack of effectivity when compared to placebo. Recent studies deepened our understanding of the tissues of synovial joints revealing a new population of yolk-sac-derived macrophages that form a tight barrier isolating the articulations from blood-circulating immune cells and improved our understanding of the role of the stroma in joint pathogenesis. Furthermore, it was proven that synovial fibroblasts can be activated and imprinted in rheumatoid arthritis to recruit immune cells and produce enzymes that destroy the synovial membrane and articular cartilage. Here, we part from these findings to study post-traumatic OA (PTOA).

Using whole-joint histological evaluation, we confirmed that synovial membrane hypertrophy is commonly found in murine PTOA and age-associated osteoarthritis (AOA), as reported in recent human OA studies. To better characterize the cells leading to synovial inflammation, we developed a synovial micro-dissection and enzymatic digestion method to phenotype the immune and stromal cell populations by flow cytometry and single-cell transcriptomics.

We found that after trauma, the joint is infiltrated by neutrophils and monocytes, and there is an increase of lining and sublining synovial fibroblasts. Cell counts of these populations strongly correlated to articular cartilage damage and synovitis evaluated by histology. Single-cell transcriptomics revealed a functional transition of both the synovial membrane and the articular cartilage during PTOA. Converging transcriptional profiles were found in chondrocytes and fibroblasts during PTOA, which produce enzymes that degrade the extra-cellular matrix and promote calcification and vascularization of the articular cartilage. Synovial fibroblasts displayed transcription of chemokines and pro-inflammatory cytokines, showing expression patterns similar to murine RA models and human RA. Blood-derived monocytes were increased in the synovium of PTOA mice exhibiting the expression of chemokine receptors, complement factors and pro-inflammatory cytokines while immune-regulatory macrophage populations decreased. Adaptive immune populations showed an increase of cytotoxic CD8⁺ T and Th17 T lymphocytes in PTOA joints. Surprisingly, regulatory T cells were increased in PTOA joints, suggesting an effort to suppress further inflammation and promote tissue repair.

Our findings support the conceptualization of osteoarthritis as a whole-joint disease in which all tissues are affected and contribute to tissular pathology. We describe here for the first time the transcriptional phenotyping of both cartilage and synovial cells in PTOA and find a remarkable correlation with the pro-inflammatory immune cell infiltration and stromal activation found in human RA and murine RA models, pointing towards potential converging mechanisms in these diseases. Our study brings novel information on osteoarthritis pathogenesis to improve our understanding of this disease and identify key cell players of the disease and their signalling pathways.

Zusammenfassung

Osteoarthritis (OA) ist die häufigste Gelenkerkrankung und die elftgrößte Ursache für Behinderungen weltweit, etwa 300 Millionen Menschen sind betroffen. Die Patienten leiden zunächst unter Symptomen, beginnend mit ständigen Gelenkschmerzen, die langsam zu Funktionseinbußen führen. Bislang wurde noch keine Behandlung entwickelt, die die Verschlechterung des Gewebes aufhalten könnte, und etablierte Therapeutika zur Behandlung der OA werden aufgrund ihrer langfristigen Nebenwirkungen und ihrer fehlenden Effektivität im Vergleich zu Placebo in Frage gestellt. Neue Studien haben unser Verständnis des Gewebes der Synovialgelenke vertieft und eine neue Population von Makrophagen aus dem Dottersack ans Licht befördert, die eine dichte Barriere bilden, die die Gelenke von den Immunzellen im Blutkreislauf isoliert. Es wurde auch nachgewiesen, dass synoviale Fibroblasten bei rheumatoider Arthritis aktiviert und geprägt werden können, um Immunzellen zu rekrutieren und Enzyme zu produzieren, die die Synovialmembran und den Gelenkknorpel zerstören. Wir haben diese Erkenntnisse zum Anlass genommen, die posttraumatische OA (PTOA) zu untersuchen. Anhand einer histologischen Untersuchung des gesamten Gelenks bestätigten wir, dass eine Hypertrophie der Synovialmembran bei der PTOA der Maus und der altersbedingten Osteoarthritis (AOA) häufig vorkommt, wie dies auch in neuen Studien zur OA beim Menschen berichtet wurde. Für eine bessere Charakterisierung der Zellen, die zur Entzündung der Synovialmembran führen, entwickelten wir eine Methode zur synovialen Mikrodissektion und enzymatischen Verdauung, um die Immun- und Stromazellpopulationen mittels Durchflusszytometrie und Einzelzell-Transkriptomik zu phänotypisieren.

Wir zeigten, dass das Gelenk nach einem Trauma von Neutrophilen und Monozyten infiltriert wird und dass die Zahl der synovialen Fibroblasten, zunimmt. Die Zellzahlen dieser Populationen korrelierten deutlich mit den histologisch ermittelten Gelenkknorpelschäden und der Synovitis. Die Transkriptionsprofile von Chondrozyten und Fibroblasten während der PTOA konvergieren. Diese produzieren Enzyme, die die extrazelluläre Matrix abbauen und die Kalzifizierung und Vaskularisierung des Gelenkknorpels fördern. Synoviale Fibroblasten zeigten eine Transkription von Chemokinen und proinflammatorischen Zytokinen, die ähnliche Expressionsprofile wie bei murinen RA-Modellen und menschlicher RA aufweisen. Monozyten aus dem Blut waren in der Synovialis von PTOA-Mäusen erhöht und wiesen die Expression von Chemokinrezeptoren, Komplementfaktoren und proinflammatorischen Zytokinen auf, während immunregulierende Makrophagenpopulationen abnahmen. Adaptive Immunpopulationen zeigten eine erhöhte Zahl von zytotoxischen CD8⁺ T- und Th17 T-Lymphozyten in PTOA-Gelenken. Überraschenderweise war die Zahl der regulatorischen T-Zellen in PTOA-Gelenken erhöht, was darauf hindeutet, dass sie versuchen, weitere Entzündungen zu unterdrücken und die Gewebereparatur zu fördern.

Unsere Ergebnisse unterstützen die Konzeptualisierung der Osteoarthritis als Ganzgelenkserkrankung, bei der alle Gewebe betroffen sind und zur Pathologie des Gewebes beitragen. Wir beschreiben hier zum ersten Mal die transkriptionelle Phänotypisierung von Knorpel- und Synovialzellen bei PTOA. Wir finden eine bemerkenswerte Korrelation mit der pro-inflammatorischen Immunzellinfiltration und Stroma-Aktivierung, die bei menschlicher RA und RA-Modellen bei Mäusen zu beobachten ist, was auf mögliche konvergierende Mechanismen bei diesen Erkrankungen hinweist. Unsere Studie bringt neue Informationen über die Pathogenese der Osteoarthritis, um unser Verständnis dieser Krankheit zu verbessern und wichtige Zellakteure der Krankheit und ihre Signalisierungswege zu identifizieren.