·论著·

膝关节骨性关节炎血液和滑液 MMP-3 水平与其病变程度的相关性

朱新辉 徐大伟 黄巍 刘巍 崔志明

中图分类号：R684.3 **文献标识码**：A **文章编号**：1006-7108(2013)03-0203-04

摘要：目的 探讨膝关节骨关节炎(osteoarthritis,OA)患者血液和滑液 MMP-3 水平与其病变严重程度的关系。**方法** 随机选取33例膝关节OA患者[男20例,女13例;年龄55~87岁,平均(65.8±6.8)岁]和15名健康对照者[男9例,女6例;年龄53~83岁,平均(62.3±7.2)岁]作为研究对象。采用 Kellgren-Lawrence 标准进行放射学分级,酶联免疫吸附法(ELISA)测定关节血液和滑液 MMP-3 水平。**结果** OA患者与对照者相比,关节血液 MMP-3 水平(178.61±83.82):(73.26±21.51)ng/ml 和滑液 MMP-3 水平(5612.31±3013.93):(782.63±426.22)ng/ml 均明显升高。关节血液和滑液 MMP-3 水平均与 OA 病变严重程度(KL 分级)呈正相关($r=0.627$,$P<0.001$;$r=0.55$,$P=0.001$)。关节血液 MMP-3 水平与滑液 MMP-3 水平呈正相关($r=0.509$,$P=0.002$)。**结论** OA患者血液和滑液 MMP-3 水平都与病变严重程度相关。因此,MMP-3 在 OA 的病理过程中起关键作用,并且可以作为 OA 病变严重程度的生物标记。

关键词：MMP-3;骨关节炎;膝;血液;滑液

Correlation between MMP-3 levels in blood and synovial fluid and the severity of knee osteoarthritis

ZHU Xinhui, XU Dawei, HUANG Wei, et al. Department of Orthopedics, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China
Corresponding author: ZHU Xinhui, Email: zxhntn@ yahoo. com. cn

Abstract: Objective To investigate the correlation between MMP-3 levels in blood and synovial fluid and the severity of primary knee osteoarthritis (OA). **Methods** A total of 33 patients with knee OA and 15 healthy controls were enrolled in this study. There were 20 men and 13 women, whose age ranged from 55 to 87 years old, with an average age of 65.8±6.8 years old, in OA group. The control group included 9 men and 6 women, whose age ranged from 53 to 83 years old, with an average age of 62.3±7.2 years old. The radiographic grading of the knee was performed according to Kellgren-Lawrence criteria. MMP-3 levels in blood and synovial fluid were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared to healthy controls, the knee OA patients had higher MMP-3 concentrations in blood (178.61±83.82 vs. 73.26±21.51 ng/ml) and synovial fluid (5612.31±3013.93 vs. 782.63±426.22 ng/ml). In addition, plasma and synovial fluid MMP-3 concentrations displayed significant and positive correlation with radiographic severity ($r=0.627$, $P<0.001$; $r=0.551$, $P=0.001$). Subsequent analysis revealed that there was a positive correlation between blood and synovial fluid IL-18 levels ($r=0.509$, $P=0.002$). **Conclusion** The data reveal that MMP-3 in both blood and synovial fluid is related to the disease severity of OA. Thus, MMP-3 plays an important role in the pathological process of OA, and it can be used as a biomarker to predict the disease severity of OA.

Key words: MMP-3; Osteoarthritis; Knee; Blood; Synovial fluid

骨性关节炎(Osteoarthritis,OA)是一种最常见的关节紊乱类型,在超过60岁的人群中,大约有65%的人遭受着OA带来的疼痛和残疾。软骨进行性破坏是OA的主要病理特征。大量研究证实[1-4],

基金项目：国家自然科学基金(81171140);南通市社会发展科技计划(BK2011013,BK2012075)
作者单位：226001 南通,南通市第一人民医院骨科
通讯作者：朱新辉,Email:zxhntn@ yahoo. com. cn

万方数据

关节软骨和滑膜细胞产生的大量的基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinases, MMPs)在关节软骨破坏过程中起关键作用,而其中 MMP-3 是关节软骨基质降解中最重要的酶。本实验对膝关节 OA 患者血液和滑液 MMP-3 水平进行检查,结合 OA 放射学分级,探讨 MMP-3 水平与其病变严重程度的相关性及意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

33 例膝关节原发性 OA 患者(OA 组),男 20 例,女 13 例;年龄 55 ~ 87 岁,平均(65.8 ± 6.8)岁,均符合 OA 诊断标准(1987 年美国风湿病学会标准),排除继发性 OA 和其它如类风湿关节炎的炎性关节炎。根据 Kellgren-Lawrence 分级[5]标准评价放射学 OA 的分级:KL2 级 10 例,KL3 级 12 例,KL4 级 11 例。对照组标本取自 15 例健康志愿者,男 9 例,女 6 例;年龄 53 ~ 83 岁,平均(62.3 ± 7.2)岁。OA 组与对照组年龄、性别和体重指数比较,差异无统计学意义(详见表 1,均 $P > 0.05$)。实验取样均经患者同意,无伦理学争议。

表 1 对照组和 OA 组基本资料($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Basic data in control and OA group ($\bar{x} \pm s$)

项目	OA 组($n = 33$)	对照组($n = 15$)	P 值
年龄(岁)	65.8 ± 6.8	62.3 ± 7.2	0.43
男:女	20/13	9/6	0.3
体重指数 (kg/m^2)	26.8 ± 2.6	26.2 ± 1.8	0.12

1.2 标本收集及检测

抽取对照组及 OA 组血清和滑液,离心去除细胞及关节残存物后,立即置入 -30℃冷藏保存直至检验。根据制造厂家的说明用 ELISA(R&D 公司,美国)双盲定量法检测滑液内的 MMP-3 含量。将关节液标本先用双蒸蒸馏水做 1∶100 稀释,然后用标准稀释液再做 1∶21 稀释;血清标本则直接用标本稀释液做 1∶21 稀释,将标准液、质控液、稀释后的样本分别加入 96 孔反应板中,室温孵育 60 分钟。用冲洗液洗 3 次后加入生物标记抗体,室温孵育 60 分钟。冲洗 3 次后,加入过氧化物酶,室温孵育 30 分钟。再冲洗 2 次后,加入 TMB,室温静置 10 分钟,最后加入终止液,在 450 nm 下测 OD 值。所有数据均使用美国 MRX-HD Ⅱ型全自动酶标分析仪进行。

1.3 统计学分析

应用 SPSS13.0 统计软件(SPSS 公司,美国)进行统计学分析。OA 组与对照组年龄、体重指数比较采用 Student's t 检验,性别比较采用卡方检验。OA 组血液和滑液 MMP-3 与对照组比较采用 Student's t 检验。不同 KL 分级 OA 患者血液和滑液 MMP-3 比较及与对照组的多组间比较采用单因素方差分析。血液与滑液 MMP-3 表达,血液和滑液 MMP-3 水平与 OA 病变严重程度(KL 分级)采用 Pearson 行相关分析。

2 结果

2.1 对照组和 OA 组及 KL 分级各组血液和滑液中 MMP-3 含量差异比较(表 2)

表 2 血清及滑液 MMP-3 水平($\bar{x} \pm s$)

Table 2 MMP-3 levels in serum and synovial fluid ($\bar{x} \pm s$)

	对照组	OA 组	KL2	KL3	KL4
例数	15	33	10	12	11
血液(ng/ml)	73.26 ± 21.51	178.61 ± 83.82*	113.37 ± 27.17	173.87 ± 73.94	243.09 ± 83.34
滑液(ng/ml)	782.63 ± 426.22	5612.31 ± 3013.93*	3572.62 ± 1544.08	5428.79 ± 2360.47	7666.14 ± 3457.23

注:* 与对照组相比,$P < 0.001$

表 2 显示 OA 组血液和滑液 MMP-3 水平明显高于对照组($P < 0.001$)。其中,血液 OA 组 MMP-3 水平是对照组的近 2.5 倍,滑液 OA 组 MMP-3 水平是对照组的 7 倍余。血液和滑液 KL 各组 MMP-3 水平存在明显差异($P < 0.001$),其中,血液 OA 组各 KL 分组间 MMP-3 水平差异 $F = 9.751$, $P = 0.001$ 及滑液 OA 组各 KL 分组间 MMP-3 水平差异 $F = 8.34$, $P = 0.004$。

2.2 参考 Honsawek 等[6-7]研究 OA 炎症分子水平与 OA 严重度 KL 分级关系的统计分析方法,对 OA 组血液和滑液 MMP-3 水平与 OA 严重度 KL 分级之间进行相关性分析。结果提示:OA 组血液 MMP-3 水平与 KL 分级呈正相关(图 1, $r = 0.627$, $P < 0.001$)和 OA 组滑液 MMP-3 水平亦与 KL 分级呈正相关(图 2, $r = 0.551$, $P = 0.001$)。接着分析 OA 组血液与滑液组 MMP-3 水平之间的相关性。结果提

万方数据

示:OA 组血液 MMP-3 水平与滑液 MMP-3 水平呈正相关(图 3, $r = 0.509$, $P = 0.002$)。

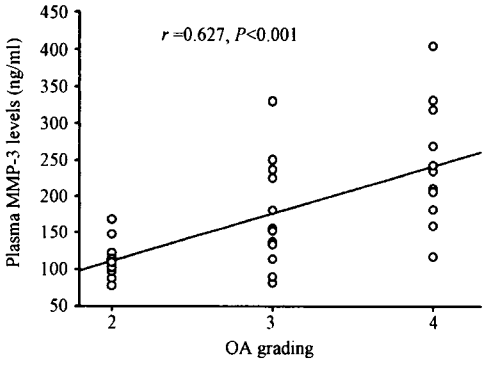

图 1 OA 组血液 MMP-3 水平与 KL 分级正相关

Fig. 1 Positive correlation between blood MMP-3 level and KL grading in OA group

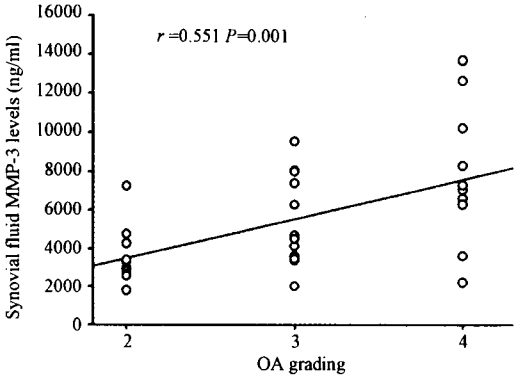

图 2 OA 组滑液 MMP-3 水平与 KL 分级正相关

Fig. 2 Positive correlation between synovial fluid MMP-3 level and KL grading in OA group

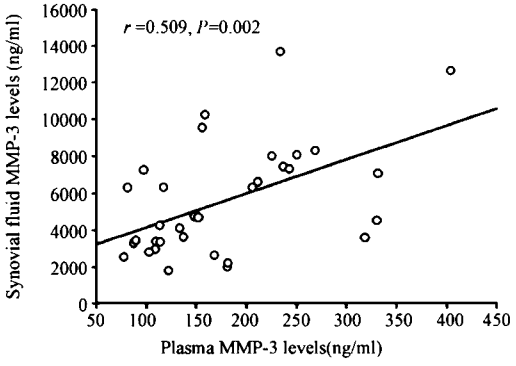

图 3 OA 组血液 MMP-3 水平与滑液 MMP-3 水平正相关

Fig. 3 Positive correlation between blood and synovial fluid MMP-3 level in OA group

3 讨论

OA 是中老年常见的关节疾患,主要累及负重的大关节。软骨进行性破坏是 OA 的主要病理特征,也是导致关节功能障碍,生活质量降低的主要原因。关节软骨破坏有两种途径:一种是内在途径,即软骨细胞自身降解软骨细胞外基质;另一种途径是外在途径,即组织或细胞如炎症滑膜、血管翳组织、浸润的炎症细胞,通过滑液破坏软骨细胞外基质。两种途径中蛋白酶降解细胞外基质是软骨破坏的主要原因[8],其中 MMPs 在关节软骨破坏中起重要作用[9]。

MMPs 是一组锌离子依赖的蛋自酶超家族,在细胞外基质中的代谢中起着非常重要的作用。MMPs 主要降解软骨细胞外基质的蛋白多糖和Ⅱ型胶原,可直接导致细胞外基质过度降解,造成关节软骨破坏从而引发 OA[10]。其中,其中 MMP-3 是关节软骨基质降解中最重要的酶,又称基质溶解素-1[11],可降解Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅸ、Ⅺ型胶原以及基质中的蛋白多糖、层粘连蛋白等多种基质蛋白,破坏关节软骨,激活其他蛋白酶原,加速软骨破坏[9]。TIMP 可抑制 MMP 对基质蛋白的降解。有研究发现,OA 患者血清和滑液中 IL-1、MMP-3 及 TIMP-1 水平升高[10, 12],且 MMP-3 水平增加的幅度比 TIMP-1 大,由于二者间的相对平衡破坏而促进了关节软骨的降解,导致关节软骨进行性破坏[13]。本研究发现,OA 组血液和滑液 MMP-3 水平明显高于照组。其中,血液 OA 组 MMP-3 水平是对照组的近 2.5 倍,滑液 OA 组 MMP-3 水平是对照组的 7 倍余。有意思的是,MMP-3 在滑液表达增加,其可能是由于关节周围组织(炎症滑膜、软骨和软骨下骨)释放所致。接着研究发现,血液和滑液 KL 各组 MMP-3 水平存在明显差异,提示随着疾病的进展,血液和滑液 MMP-3 表达越来越高,从而验证了 MMP-3 参与 OA 的病理过程。软骨损伤时 OA 最主要的病理改变之一,软骨退变引发继发性滑膜炎,滑膜炎和关节软骨的退变可促进 MMP-3 释放入滑液,所以滑液 MMP-3 表达与血液 MMP-3 表达相差数十倍。OA 滑液中 MMP-3 高表达,可造成软骨退变和滑膜炎症加速,从而再促 MMP-3 表达的正反馈。

接下来,实验重点研究了 OA 患者血液和滑液 MMP-3 水平与其病变严重程度的关系。目前 OA 的诊断主要依据影像学检查和临床症状,但由于 OA 发展缓慢,病程长,早期往往不引起临床症状,且往

万方数据

往X线改变与临床症状无一一对应关系,故传统的诊断方法难以早期诊断关节组织病变的早期生化改变[14]。有学者提出对可疑OA的患者可用关节镜检查做出早期诊断,此为理想的方法,但具有一定的创伤性,这不仅人为增加患者的痛苦,且增加患者的经济负担,尤其大部分患者不愿接受此种检查,使其在临床的应用受到很大程度的限制。毫无疑问,病变组织的生化改变要早于形态学改变,且这个改变较X线变化早3-5年甚至更早。这就需要检测一种物质能及时反映关节炎的早期生化改变,而且此物质具有检测性、可靠性和敏感性高的特点[15]。本实验研究发现,血液和滑液MMP-3水平与OA病变严重程度(KL分级)呈正相关且血液MMP-3水平与滑液MMP-3水平呈正相关,提示通过检测血液中MMP-3水平就可以判断滑液MMP-3水平及OA病变程度。血液MMP-3检测,简单易操作,有很强的实用价值。

总之,本研究发现OA患者血液和滑液MMP-3水平都与病变严重程度相关。因此,MMP-3在OA的病理过程中起关键作用,并且可以作为OA病变严重程度的生物标记,为临床诊断和评价膝关节OA病理和进展,提供了有效的指标。

【参考文献】

[1] Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases: role in arthritis. Front Biosci, 2006, 11: 539-543.

[2] Fernandes JC, Martel-Pelletier J, Lascau-Coman V, et al. Collagenase-1 and collagenase-3 synthesis in normal and early experimental osteoarthritic canine cartilage: an immunohistochemical study. J Rheumatol, 1998, 25(8):1585-1594.

[3] Flannery CR. MMPs and ADAMTSs: functional studies. Front Biosci, 2006, 11:544-569.

[4] Rengel Y, Ospelt C, Gay S. Proteinases in the joint: clinical relevance of proteinases in joint destruction. Arthritis Res Ther, 2007, 9(5):221.

[5] KELLGREN JH, LAWRENCE JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. Ann Rheum Dis, 1957, 16:494-502.

[6] Honsawek S, Yuktanandana P, Tanavalee A, et al. Correlation between plasma and synovial fluid basic fibroblast growth factor with radiographic severity in primary knee osteoarthritis. Int Orthop, 2012, 36(5):981-985.

[7] Honsawek, S Tanavalee, A Yuktanandana, PS. Dickkopf-1 (Dkk-1) in plasma and synovial fluid is inversely correlated with radiographic severity of knee osteoarthritis patients. BMC Musculoskelet Disord, 2010, 11:257.

[8] Kanyama M, Kuboki T, Kojima S, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids of patients with temporomandibular joint osteoarthritis. J Orofac Pain, 2000, 14:20-30.

[9] Murphy G, Lee MH. What are the roles of metalloproteinases in cartilage and bone damage? Ann Rheum Dis 64 Suppl, 2005, 4: 44-47.

[10] 赵敬河, 杨秋云, 李卓. IL-1β、MMP-3在骨关节病中的表达及临床意义. 中国伤残医学, 2011, 19:27-29.

[11] Haeusler G, Walter I, Helmreich M, et al. Localization of matrix metalloproteinases, (MMPs) their tissue inhibitors, and vascular endothelial growth factor (VEGF) in growth plates of children and adolescents indicates a role for MMPs in human postnatal growth and skeletal maturation. Calcif Tissue Int, 2005, 76:326-335.

[12] 王维山, 董金波, 何斌, 等. OA患者血液及关节液中MMP-3、uPA水平检测及临床意义. 山东医药, 2011, 51:63-64.

[13] 李德达, 张凯, 王毅, 等. OA患者关节液与血清中金属蛋白酶及其抑制剂的检测及临床意义. 中国骨伤, 2001, 15:580-583.

[14] Van de Sompel D, Garai E, Zavaleta C, et al. Are any imaging techniques— magnetic resonance imaging (MRI), X-ray, computed tomography (CT) scan, or ultrasound—used to diagnose osteoarthritis (OA)? Duke Med Health News, 2010, 16:8.

[15] DeGroot J, Bank RA, Tchetverikov I, et al. Molecular markers for osteoarthritis: the road ahead. Curr Opin Rheumatol, 2001, 14:585-589.

(收稿日期:2012-07-17)

万方数据

膝关节骨性关节炎血液和滑液MMP-3水平与其病变程度的相关性

万方数据 WANFANG DATA 文献链接

作者： 朱新辉， 徐大伟， 黄巍， 刘巍， 崔志明
作者单位： 南通市第一人民医院骨科，南通,226001
刊名： 中国骨质疏松杂志 ISTIC
英文刊名： Chinese Journal of Osteoporosis
年，卷(期)： 2013,19(3)

参考文献(15条)

1. Burrage PS;Mix KS;Brinckerhoff CE Matrix metalloproteinases:role in arthritis 2006

2. Fernandes JC;Martel-Pelletier J;Lascau-Coman V Collagenase-1 and collagenase-3 synthesis in normal and early experimental osteoarthritic canine cartilage:an immunohistochemical study 1998(08)

3. Flannery CR MMPs and ADAMTSs:functional studies 2006

4. Rengel Y;Ospelt C;Gay S Proteinases in the joint:clinical relevance of proteinases in joint destruction 2007(05)

5. KELLGREN JH;LAWRENCE JS Radiological assessment of osteo-arthrosis 1957

6. Honsawek S;Yuktanandana P;Tanavalee A Correlation between plasma and synovial fluid basic fibroblast growth factor with radiographic severity in primary knee osteoarthritis 2012(05)

7. Honsawek S;Tanavalee A;Yuktanandana PS Dickkopf-1 (Dkk-1) in plasma and synovial fluid is inversely correlated with radiographic severity of knee osteoarthritis patients 2010

8. Kanyama M;Kuboki T;Kojima S Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids of patients with temporomandibular joint osteoarthritis 2000

9. Murphy G;Lee MH What are the roles of metalloproteinases in cartilage and bone damage 2005(64 Suppl)

10. 赵敬河;杨秋云;李卓 IL-1β、MMP-3在骨关节病中的表达及临床意义 2011

11. Haeusler G;Walter I;Helmreich M Localization of matrix metalloproteinases,(MMPs) their tissue inhibitors,and vascular endothelial growth factor (VEGF) in growth plates of children and adolescents indicates a role for MMPs in human postnatal growth and skeletal maturation 2005

12. 王维山;董金波;何斌 OA患者血液及关节液中MMP-3、uPA水平检测及临床意义 2011

13. 李德达;张凯;王毅 OA患者关节液与血清中金属蛋白酶及其抑制剂的检测及临床意义 2001

14. Van de Sompel D;Garai E;Zavaleta C Are any imaging techniques-magnetic resonance imaging (MRI),X-ray,computed tomography (CT) scan,or ultrasound-used to diagnose osteoarthritis (OA) 2010

15. DeGroot J;Bank RA;Tchetverikov I Molecular markers for osteoarthritis:the road ahead 2001

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201303002.aspx