骨性关节炎生物学标志物研究进展

宋旺胜 曹 云△ 马春辉

(上海市第一人民医院 上海 200080)

摘要:骨性关节炎(oseteoarthritis,OA)是一种随着年龄增长发病率明显升高的退行性变,常累及脊柱、髋、膝等人体负重关节,以关节缓慢发展的疼痛、肿胀,伴功能障碍为临床表现,主要有滑膜增生、软骨破坏、软骨下骨骨化及骨赘形成等一系列病理表现。OA对人类的健康和生活质量影响很大,随着老龄化社会的到来,本病的发病率日趋升高,其研究已成为医学领域中的重要课题。目前,OA的早期诊断、病变监测和有效防治仍是骨科领域亟待解决的疑难问题。随着分子生物学的发展和研究手段的提高,许多研究者都在试图寻找用于临床评价OA的生物学标志物。本文将就OA研究中所使用的主要标志物进行综述,为深入研究OA提供方便。

关键词:骨性关节炎;生物学标志物;研究进展

中图分类号:R684.3 **文献标识码**:A **文章编号**:1673-6273(2012)10-1969-03

Progress of Stdudy on Biomarkers of Osteoarthritis

SONG Wang-sheng, CAO Yun△, MA Chun-hui

(Department of orthopedics, The First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China)

ABSTRACT: Osteoarthritis is a progressive degeneration whose incidence is increased with age, often involving the vertebral column ,hip,and knee joints,characterized by chronic pains, swelling and disfunction clinically and synovial proliferation,cartilage distruction,subchondral bone ossification, osteophyte formed pathologically. OA has great effect on people's health and life quality. Along with the arrival of aging society, OA has become an important subject in medical area. Resently, early diagnosis,monitoring and prevention of OA is still a burning question in orthopedic field. With the development of molecular biology and research method,many scholars are trying to find some useful biomarkers for clinic evaluation.This review will provide convenience for further reseach of OA.

Key words: Osteoarthritis; Biomarker; Progress

Chinese Library Classification(CLC): R684.3 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2012)10-1969-03

OA的生物学标志物为关节组织基质的分子物质或片断,它们在组织合成和分解的代谢过程中被释放进入血液或尿液,可通过酶联免疫吸附法(ELISA)或放射免疫法进行测定[1]。近年来,对软骨、滑膜及骨的生物学标志物进行了大量的实验研究和临床分析,并取得了较大的进展。OA的形成中包括滑膜、软骨及骨等不同组织的代谢改变[2,3],所以为了充分全面的认识关节破坏的机制,应该选择这三种组织的标志物进行评价。

1 OA生物学标志物分类

1.1 骨源性标志物

Ⅰ型胶原是三股螺旋的骨组织主要的有机细胞外基质,在其合成和降解过程中,可产生多种肽段,通过测定这些肽段如Ⅰ型胶原氨基端肽(NTX-Ⅰ)和羧基端肽(CTX-Ⅰ)的浓度即可反映Ⅰ型胶原的代谢情况。但是他们的代谢水平受到各种不同因素的影响,比如年龄、骨质疏松、绝经后状态等。因此,最近的研究基本还是聚集在软骨及滑膜源性的标志物上。

1.2 滑膜源性标志物

尿激酶型纤溶酶源激活物(uPA,urokinase-type plasminogen activator):uPA是广泛存在于人和动物体内的一种丝氨酸蛋白水解酶。研究表明,uPA主要作用于生理、病理条件下细胞迁移和组织修复,介导细胞周围基质蛋白的降解[4]。uPA可以通过多种途径调节滑膜炎症、血管炎症和关节破坏,且uPA与炎性细胞进入滑膜组织的再循环过程有关[5]。滑膜中增高的uPA除能引起或加剧滑膜炎症外,还可直接释放如关节液,激活软骨中的纤溶酶原,引起关节软骨基质的降解。Pap[6]发现uPA和OA在关节软骨破坏严重的表浅层强烈表达,并且uPA的水平与关节软骨破坏的严重程度密切相关。Pelletier[7]等发现在OA中滑膜中uPA浓度明显增高,肌肉注射纤溶酶原激活物抑制物后关节软骨退变明显减缓,从而证明滑膜中纤溶酶原激活物对OA进展的作用。

YKL-40:又称人软骨糖蛋白39,主要由滑膜细胞、软骨细胞、巨噬细胞和中性粒细胞产生,其mRNA在软骨细胞及肝脏中表达强烈。Conrozier [8] 研究发现,髋关节OA患者血清YKL-40水平较正常人显著升高,这提示血清YKL-40可能与OA密切相关。Takahashi[9]等在对71例膝OA女性患者的研究中也发现,有症状OA患者血清YKL-40比无症状者的YKL-40水平增高更明显,并进一步观察到YKL-40水平与影像学分级有关,但与关节间隙无相关性。这提示血清的YKL-40水平可反映关节软骨降解破坏程度及局部疾病的活动

作者简介:宋旺胜(1987-),男,硕士研究生,主要研究方向:关节外科,电话:13585640795

△通讯作者:曹云,电话:13386259520,

E-mail: yuncao2011@hotmail. com

(收稿日期:2011-09-05 接受日期:2011-09-23)

性。

1.3 软骨源性标志物

II 型胶原羧基端肽 (CTX-II)：II 型胶原是关节软骨的主要结构成分,占胶原总量的 80%-90%。OA 发生时，II 型胶原降解代谢加快，在蛋白酶的作用下，II 型胶原首先裂解产生 C- 端肽,即为 CTX-II,以小肽形式全部进入尿液,可通过 ELISA 方法进行检测，因此具有作为 OA 候选生物学标志物基因的优势[10]。Garnero P 等[11]研究发现 CTX-II 含量与 OA 影像学进展成正相关,而 Dam EB 等[12]也借助 MRI 证实了尿液中 CTX-II 含量升高可以预测软骨破坏进展,这提示尿液中 CTX-II 越高，OA 的发病危险越大,疾病进展的可能也越大。徐守伟[13]关节软骨损伤后的早期,尿中 CTX - II 含量即显著升高，在 24 h 内达最高峰，而随着病情的康复进程，可能在软骨的修复及关节稳定性的重建及其他可能的生物学因素作用下，CTX- II 的含量呈下降趋势。

软骨寡聚基质蛋白 (COMP)：主要由软骨细胞和滑膜细胞分泌[14]。它是透明软骨的重要组成成分,其 C 端球状区可以连接 I 、II 和 IX 型胶原,提示其可能参与调节纤维结构和维持胶原蛋白网的完整性。Garnero 等[15]发现膝关节 OA 患者与年龄匹配的健康人群相比,血清中 COMP 水平明显增高,因此他们认为血清 COMP 变化代表了软骨和滑膜组织的更新情况。波士顿膝关节研究组通过分析软骨代谢标记物与膝关节 OA 患者关节软骨变化之间的关系，发现 COMP 可以预测 OA 病情进展,血清和尿液中每增加 1 U 的 COMP,软骨丢失的危险性将增高 6 倍以上[16]。Chaganti 等[17]通过对老年白人女性髋关节 OA 发生与发展进行 8 年以上随访发现，在发生髋关节 OA 影像学改变的实验组血清中,COMP 水平的平均变化率约达未发展为髋关节 OA 的对照组的 4 倍。血清中 COMP 每上升 1 U，发生髋关节 OA 的危险性将增加 58%。患有稳定性髋关节 OA 的患者血清中 COMP 平均变化率比进展期的患者高 61%,血清中 COMP 每降低 1 U,髋关节 OA 病情发生进展的可能性将降低 26%。因此,COMP 是目前所研究的生物学标记物中可以持续表达并预测进程的最佳标记物[18]。

II 型胶原羧基端前肽 (PIICP)：OA 关节软骨破坏的同时也伴随着软骨的修复。胶原纤维在形成过程中需在蛋白酶作用下在细胞外水解掉 C 端前肽变成成熟的胶原纤维，因此 PⅡCP 可以反映Ⅱ型胶原的合成情况。研究表明早期 OA 患者血清 PⅡCP 水平较对照组明显升高[19]。Kraus VB 等[20]对 OA 关节液中 PⅡCP 进行检测,发现 PⅡCP 在 OA 早、中期升高,在晚期下降，其原因可能是由于 OA 早期关节软骨破坏不明显，软骨细胞增加，合成功能增强；在晚期阶段，软骨基质严重破坏，软骨细胞减少，合成能力下降，PⅡCP 水平也随之下降。因此检测血清或关节液 PⅡCP 水平可反映 OA 中软骨细胞合成Ⅱ型胶原的情况,间接反映 OA 进展情况。

II 型胶原螺旋体 (HELIX-II)：是人类 II 型胶原 α 链上一种特异抗原,在 II 型胶原降解时被释放。研究发现 OA 及早期 RA 患者尿中 Helix -Ⅱ含量明显高于正常年龄及性别配对的对照组，在早期 RA 患者尿中 Helix -Ⅱ水平的升高程度则提示疾病的发展程度，当联合 CTX -Ⅱ进行分析时会显著提高对疾病进展的预测能力[21]。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMPs)是一组由细胞分泌的含有锌金属离子催化中心的肽链内切酶,近年的一些研究表明其几乎能降解除多糖以外的所有 ECM (extracelluar matrix)，在正常情况下,其与金属蛋白酶组织抑制因子(tissueinhibitor of metall-oproteinas,TIMPs) 以 1∶1 不可逆结合,使 ECM 始终处于降解速度不快于更新速度的平衡过程[22]。在 OA 的病理过程中。软骨细胞与滑膜常受到累及。软骨细胞及滑膜细胞分泌过量的 MMPs，打破了 MMPs-TIMPs 的平衡。因为 MMPs 能够特异性地裂解胶原分子，导致胶原网受到破坏,原本被关节软骨外基质包埋的软骨细胞暴露于炎性因子的攻击之下,在力学负荷和炎性因子的作用下关节软骨抗应力的能力降低,软骨细胞发生凋亡,细胞外基质成分游离出软骨,最终软骨被破坏[23]。文献[24]报道在 OA 患者的滑膜中检测到 MMP-13 的高表达。也有学者[25]用酶谱分析法研究 OA 患者血清和滑液中 MMP-2 和 MMP-9 的活性,结论是 OA 患者血清和滑液标本中 MMP-2 和 MMP-9 酶活性均比正常对照组显著增强。但是 MMPs 作为一种在人体内广泛发挥作用的炎症介质,在各种炎症性病变及一些肿瘤病变中都会发生含量的异常变化,因此不能将其作为 OA 诊断的特异性标志物。

2 小结

虽然骨性关节炎生物学标志物种类繁多,但由于其表达水平容易受到年龄、性别、体重指数、其他骨病等诸多因素的影响,且单一生物学标志物的敏感性和特异性相对较差,因此目前还尚未能将其用于早期临床诊断。怎么样将这些标志物筛选出来并合理联合运用到早期临床检测诊断以及相关药物研发是目前亟待解决的问题。

参 考 文 献 (References)

[1] Anastassiades T, Rees-Milton K. Biochemical markers for osteoarthritis: from the present to the future and back to the past [J]. J Rheumatol, 2005, 32(4): 578-579

[2] Felson DT, Kim YJ. The futility of current approaches to chondroprotection[J]. Arthritis Rheum, 2007, 5: 1378-1383

[3] Tadashi H, Maureen P, Gregg A. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate1 ligament transection model [J]. Arthritis & Rheumatism, 2004, 4: 1193-1206

[4] 肖继平.尿激酶型纤溶酶原激活物在乳腺癌中表达及意义[J].中华肿瘤杂志, 1999, 21(3)：45
Xiao Ji-ping, Zhang Guang-de, Xia Wen-hua, et al. Expression and significance of urokinase-type plasminogen activator in breast cancer [J]. Chin J Oncol,1999,21(3):45

[5] 杨春花. 类风湿性关节炎中尿激酶型纤溶酶原激活剂的作用机制及其临床意义[J].中华风湿病学杂志, 1999, 3(4): 72-74
Yang Chun-hua. Mechanism of action and clinical significance of urokinase-type plasminogen activator of rheumatoid arthritis[J]. Chin J Rheumatol,1999,3(4): 72-74

[6] PapG. Eberhardt R, Rocken C. Expression of stromelysin and urokinase type plasminogen activator protein in resection specimens

and biopsies at different stages of osteoarthritis of knee[J]. Pathol Res Pract, 2000, 196: 219-226

[7] Pelletier JP. Imbalance between the mechanisms of activation and inhibition of metalloproteases in the early leasions of experimental osteoarthristis[J]. Arthritis Rheum, 1990, 33: 364-367

[8] Conrozier T, Carlier MC, Mathieu P , et al. Serum levels of YKL - 40 and C reactive protein in patients with hip osteoarthritis and healthy subjects : a cross sectional study[J] . Ann Rheum Dis , 2000 , 59 (10) : 828-831

[9] Takahashi M, Naito K, Abe M, et al. Relationship between radiographic grading of osteoarthritis and the biochemical markers for arthritis in knee osteoarthritis [J]. Arthritis Res Ther , 2004 , 6 (3) : 208-212

[10] Lonhmander LS, Atley LM, Pietks TA, et al. The release of crosslinked peptides from typeII collagen into human synovial fluid is incresed soon after joint injury and osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(11): 3130-3139

[11] Garnero P, Ayral X, Rousseau JC, Christgau S, Sandell LJ,Dougados M, et al. Uncoupling of type II collagen synthesis and degradation predicts progression of joint damage in patients with knee osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2002, 46: 2613-2624

[12] Dam EB, Byrjalsen I, Karsdal MA, Qvist P, Christiansen C.Increased urinary excretion of C-telopeptides of type II collagen (CTX-II) predicts cartilage loss over 21 months by MRI [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2009, 17: 384-389

[13] **徐守伟, 王永会, 孙占胜. 尿液** CTX-II **降解物对创伤性关节炎的早期诊断价值**[J].**中国骨与关节损伤杂志,**2007, 22 (10) :873-874
Xu Shou-wei, Wang Yong-hui, Sun Zhan-sheng. Early diagnosis value of urine CTX- Ⅱ degradants for traumatic arthritis [J]. The journal of bone and trauma,2007,22 (10) :873-874

[14] Oldberg A, Antonsson P, Lindblom K, et al. COMP (cartilage ol igomeric matrix protein) is structurally related to the thrombospondins[J]. Biol Chem, 1992, 267(31): 22346-22350

[15] Garnero P, Piperno M, Gineyts E, et al. Cross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: relations with disease activity and joint damage[J]. Ann Rheum Dis, 2001, 60(6): 619-626

[16] Hunter DJ, Li J, LaValley M, et al. Cartilage markers and their association with cartilage loss on magnetic resonance imaging in knee osteoarthritis:the Boston Osteoarthritis Knee Study [J]. Arthritis Res Ther, 2007, 9(5): 108

[17] Chaganti RK, Kelman A, Lui L, et al. Change in serum measurements of cartilage oligomeric matrix protein and association with the development and worsening of radiographic hip osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2008, 16(5): 566-571

[18] Williams FM, Spector TD. Biomarkers in osteoarthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2008, 10(1): 101

[19] Sharif M, Kirwan J, Charni N, et al. A 5-yr longitudinal study of type IIA collagen synthesis and total type II collagen degradation in patients with knee osteoarthritis--association with disease progression [J]. Rheumatology (Oxford), 2007, 46(6): 938-943

[20] Kraus VB. Assessment of the utility of biomarkers of osteoarthritis in the guinea pig[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2006, 14(9): 923-930

[21] Charni N, Juillet F, Garnero P. Urinary type II collagen helical peptide(HELIX-II) as a new biochemical marker of cartilage degradation in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2005, 52: 1081-1090

[22] Van der Kraan PM, Buma P, Van Kuppevelt T, et a1. Interaction of chondrocytes,extracellular matrix and growth factors: relevance for articular cartilage tissue engineering[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2002, 10: 631-637

[23] Docherty A J, Crabbe T, Angal S, et a1. The matrix metalloproteinases and their natural inhibitors: Prospects for treating degenerative tissue disease[J]. Trends Biotechnol, 2002, 10(8):200-207

[24] Yoshihara Y, Nakamura H, Obata K, et a1. Matrix metalloproteineses and tissue inhibitors of metalloproteinazes in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis [J]. Ann Rheum-Dis, 2004, 59(12): 455-461

[25] Ho L J, Lin L C, Hung L F, et a1. Retinoiec acid blocks proinflammaory cytokine-induced matrix metalloproteinase production by down-regulating JNK-AP-l signaling in human chondrocytes [J]. Biochem Pharmacol, 2005, 70(5): 200-208

(上接第 1875 页)

[14] **辅皋鸣. 常压氧与高压氧的区别**[J]. **中国医学装备,**2005,2 (11) :32
Fu Gao-ming. Diference between atmospheric pressure oxygen and high pressure oxygen[J]. China medical equipmen, 2005, 2(11):32

[15] Yang J, Zhong CH, Zhao ZH, et al. Vasoactive intestinal peptide in rats with focal cerebral ischemia enhance angiogenesis [J]. Neuroscience,2009, 161:413-421

[16] **马向阳 ,贾子善,槐雅萍,等. 丰富环境对大鼠局灶性脑梗死后微血管新生的影响**[J]. **国际内科学杂志,**2008,35 (11) :629-632
Ma Xiang-yang, Jia Zi-shan, Huai Ya-ping, et al. Effect of enriched environment on VEGF expression and angiogenesis in rats after unilateral local cerebral infarctio [J]. International Internal Medicine, 2008, 35(11):629-632

[17] Ferrara N, Gerber HP, Le Couter J. The biology of VEGF and its receptors[J]. Nat Med . 2003, 9:669-676

[18] Kirmaz C, Ozbilgin K, Yuksel H, et al. Increased expression of angiogenic markers in patients with seasonal allergic rhinitis [J]. Eur Cytokine Netw, 2004, 15(4):317-322

[19] **任素萍,奚永志**. CD34 **分子及其单克隆抗体应用**[J]. **中国输血杂志,**2003,16(5) :350-354
Ren Su-ping, Xi Yong-zhi. The application of CD34molecular and its Monoclonal antibodies [J]. China journal blood transfusion, 2003, 16 (5):350-354

[20] **张炜沂**. CD34 **分子介导黏附作用的研究进展**[J]. **新乡医学院学报,**2008,5(25) :533-535
Zhang Wei-yi. The research progress of CD34 molecular in Mediated adhesion[J]. Journal of Xinxiang Medical Colleg, 2008,5(25):533-535