

膝骨关节炎生物标记物研究进展

黄聪琳¹ 李晓东¹ 谢兴文¹ 王晓琳¹ 郭敏¹ 姜华¹

【关键词】 椎间盘退变;软骨终板细胞凋亡;细胞凋亡途径;颈腰痛

【中图分类号】 R684.3 【文献标志码】 A 【文章编号】 1005-0205(2019)04-0081-04

膝骨关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)在中医属“痹症”范畴,其病理特征主要有软骨破坏、软骨下骨硬化和滑膜炎改变等。所谓“上医治未病”,早期诊断 KOA 对该病的治疗尤为重要。生物标记物是一类能够客观反映某一生理、病理过程或治疗效果的生理指标^[1]。近年来科研工作者在探索 KOA 早期诊断、病情预估的生物标记物中开展了大量科研工作。按照化合物性质不同,可以将这些生物标记物主要分为三大类:蛋白质、糖和核酸。本文就近年来关于 KOA 生物标记物的研究做一综述。

1 蛋白质类生物标记物

1.1 骨转换标记物

研究表明,骨基质主要成分 I 型胶原蛋白的代谢产物, I 型胶原氨基末端肽(N-terminal Telopeptide of Collagen I, NTX-I)和 I 型胶原羧基末端肽(C-terminal Telopeptide of Collagen I, CTX-I)可以很好地反映 KOA 的发生与发展。Bettica 等^[2]发现,进行性膝骨关节炎患者的尿液中,NTX-I 和 CTX-I 的含量均高于非进行性膝骨关节炎患者,NTX-I 含量虽然在 K-L 分级 3 级与 4 级膝骨关节炎患者中并无明显差异,但含量明显高于 2 级膝骨关节炎患者^[3],提示膝骨关节炎的病理发展过程中 NTX-I 和 CTX-I 含量随膝骨关节炎的分级升高有上升趋势。

其他研究表明,NTX-I 含量在骨巨细胞瘤^[4]、转移性骨肿瘤^[5]及多发性骨髓瘤^[6]等骨病中均有显著升高,因此 NTX-I 并不能单一应用于膝骨关节炎的诊断。

1.2 软骨转换标记物

1.2.1 II 型胶原羧基末端肽(C-terminal Telopeptide of Collagen II, CTX-II) 大量临床研究表明,CTX-II 含量与膝骨关节炎发生发展的正相关关系显著,并且具有一定的特异性,是非常具有参考价值的生物标记物之一。一项基于人群的研究表明,在 60 岁以上的女性人群中,尿液 CTX-II 的含量水平与膝骨关节炎的严重程度高度正相关^[7,8]。同样地,在 59~70 岁的男

性人群中,尿液 CTX-II 含量与膝骨关节炎的发生存在极显著的正相关关系。膝骨关节炎 K-L 分级等级越高、膝关节间隙狭窄越严重、骨赘评分越高,尿液 CTX-II 的含量就越高^[9]。在一项横断面研究中,结果显示不论男性或是女性,60 岁以上的膝骨关节炎患者,K-L 分级 3 和 4 级患者的 CTX-II 含量明显高于 0,1 或 2 级患者^[3]。膝骨关节炎患者行关节镜清理术治疗后,血清 CTX-II 含量于术后 1 个月和 3 个月较术前均显著降低^[10],提示血清 CTX-II 可以用于指示膝关节软骨功能回复状况。

1.2.2 软骨寡聚基质蛋白(Cartilage Oligomeric Matrix Protein, COMP) 血清 COMP 表达水平随着膝关节炎加重逐渐升高,软骨退变快速进展期达到最高^[11]。临床研究报道膝骨关节炎患者的血清 COMP 含量明显高于正常人群,检测得到的 COMP 水平与膝骨关节炎的病程严重程度存在明显的正相关关系^[12,13],COMP 在膝骨关节炎的软骨退变进程中,具有作为生物标记物的意义,可能成为早期诊断膝骨关节炎的重要指标^[14]。

1.3 滑膜转换标记物

研究发现 YKL-40 有潜力成为滑膜转换标记物,辅助诊断 KOA 的发生与进展。YKL-40 是一种分泌型的糖蛋白,是近年来发现的一种炎性标志物^[15],YKL-40 的基因在软骨表层及中层细胞中被检测到,研究证实关节液而非血清中的 YKL-40 含量与膝骨关节炎的严重程度呈现出独立的正相关,说明关节液 YKL-40 可以作为潜在的生物标记物用于评估膝骨关节炎的严重程度^[16,17]。

1.4 炎性细胞因子

1.4.1 白细胞介素(Interleukin, IL) IL 作为一类重要的细胞因子,参与了膝骨关节炎的病理生理活动,在膝骨关节炎的发生发展过程中起重要作用。其中,IL-1, IL-6, IL-15 及 IL-17 四种白介素可以较好地提示 KOA 的病理发展。

研究表明膝骨关节炎患者的 IL-1 β 和 IL-6 表达水平均显著高于对照组,并且轻度、中度、重度的 IL-1 β 和 IL-6 表达水平呈上升趋势,呈显著的正相关^[17]。细胞因子在原发性膝骨关节炎的发生发展中起重要作用

基金项目:甘肃省科技计划项目(甘财科[2017]168 号)

甘肃省卫生行业科研计划项目(GSWSKY2018-50)

¹ 甘肃省中医院(甘肃省中医药研究院)(兰州,730050)

用,其中 IL-1 β 处于核心地位。随着膝骨关节炎病程的进展,患者血浆 IL-1 β 浓度也逐渐增加,IL-1 β 基因-551C/T 的单核苷酸多态性基因 TT 可能为原发性膝骨关节炎的易感基因型之一^[18]。

IL-6 在膝骨关节炎患者血清与关节液中均有较高水平,并且与骨关节炎软骨破坏严重程度存在相关性^[17]。IL-6 水平在早、中期膝骨关节炎患者中较正常人明显升高,而晚期明显下降,可以作为临床早期诊断膝骨关节炎的参考指标之一^[19]。

IL-15 是 T 细胞生长因子,可以作用于滑膜上的 T 细胞,在膝骨关节炎的病理过程中,促进关节内 TNF- β 和 IL-6 等炎症因子的生成。在一项探讨血清 IL-15 水平与膝骨关节炎患者影像学改变程度的相关性研究中,发现膝骨关节炎患者血清 IL-15 水平与影像学改变程度(K-L 分级)呈显著正相关^[20]。

IL-17 促进关节软骨组织降解,抑制关节软骨基质合成,并且这种作用是不依赖于 IL-1 的活性的。在小鼠膝关节腔注射 IL-17,IL-17 可以直接作用于关节软骨基质,造成与膝骨关节炎相似的症状^[21]。膝骨关节炎患者的血清及滑液 IL-17 显著高于健康对照组,并且血清及滑液 IL-17 水平与 VAS 疼痛评分均呈显著正相关,但是血清及滑液 IL-17 水平与 KL 分级之间无相关性^[22],说明 IL-17 在膝骨关节炎的发生、发展中发挥重要作用,可以作为潜在的膝骨关节炎的生物标记物进行研究。

1.4.2 肿瘤坏死因子- β (Tumor Necrosis Factor Alpha, TNF- β) TNF- β 是调节膝骨关节炎疾病进程中重要的炎症递质,参与了人膝骨关节炎的发病进程,对指示膝骨关节炎的严重程度很有参考价值。TNF- β 水平在膝骨关节炎患者关节液中高水平表达,并且与膝骨关节炎的病变呈正相关^[23],TNF- β 水平的高低可在一定程度上反应膝骨关节炎的严重性。肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导因子(Tumor Necrosis Factor-like Weak Inducer of Apoptosis, TWEAK)可影响 TNF- β 的释放,研究表明膝骨关节炎患者血清和关节滑液中 TWEAK 水平与膝骨关节炎患者影像学严重程度正相关^[24]。

1.5 其他蛋白

1.5.1 吡啶啉(Pyridinoline, PYD) 骨基质中的主要成分 I 型胶原蛋白,主要通过 PYD 及脱氧吡啶啉(Deoxypyridinoline, DPD)交联组合在一起。PYD 是骨中细胞外基质成熟胶原的降解产物,不再进一步代谢成其它产物^[25]。PYD 从胶原分子中释放出来,不经过肝脏的进一步降解,直接通过尿液排出,尿液中的 PYD 含量与膝骨关节炎的严重程度显著正相关,可以作为膝骨关节炎病理进行中胶原降解的灵敏指标^[26]。

1.5.2 基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinases, MMPs) 膝骨关节炎的主要病理特征之一是软骨破坏,MMPs 在膝骨关节炎关节软骨细胞外基质的降解及重构过程中发挥重要作用,可以作为临床诊断早期膝骨关节炎的有效指标。研究表明早期膝骨关节炎患

者的血清 MMP-3 显著高于正常对照组,MMP-3 在膝骨关节炎患者血清中的表达显著增高^[27]。

1.5.3 超敏 C 反应蛋白(High-sensitivity C-reactive Protein, hs-CRP) 大量证据表明骨关节炎可能是一种炎症性疾病,hs-CRP 是一种急性期反应蛋白,是高敏感反映炎症、组织损伤的标志物,主要由肝细胞合成和分泌,并 IL-6、TNF- β 等细胞因子的调节^[28]。早期膝骨关节炎患者的血清 hs-CRP 与病情活动性呈正相关,膝骨关节炎患者有效治疗后血清中的 hs-CRP 含量较治疗前明显降低^[29],有望联合其他指标对早期膝骨关节炎进行诊断与评估。

1.5.4 结合珠蛋白(Haptoglobin, Hp) Hp 又称触珠蛋白,可作为 OA 早期诊断与疗效监测的候选标记物。膝骨关节炎滑液中 Hp 水平显著增高,并与膝关节 HSS 评分呈负相关^[30],表明滑液中 Hp 水平能在一定程度上反映膝骨关节炎的严重程度。

另外,利用双向电泳技术筛选,在膝骨关节炎患者和正常对照间有明显差异表达的蛋白质,如纤连蛋白 3(Fibulin-3, Fib3)中的两个肽段 Fib3-1 和 Fib-2,也有望成为潜在的膝骨关节炎的生物标记物^[31],尚需更多临床试验研究的验证。

2 糖类

2.1 透明质酸(Hyaluronic Acid, HA)

实验研究显示,血清 HA 水平可以预估膝骨关节炎的发病与进展。膝骨关节炎患者关节液中 HA 的浓度、分子量和黏弹性均低于正常值^[32]。关节液中的 HA 通过附近的淋巴管道进入血液循环,导致血清中 HA 的含量升高。血清中 HA 含量与膝骨关节炎病程及 X 线片膝关节间隙狭窄的程度呈正相关,并且进行性的膝骨关节炎患者血清 HA 明显高于非进行性患者的血清 HA^[33,34]。

2.2 硫酸角质素(Keratan Sulfate, KS)

膝关节细胞外基质中含有的蛋白多糖对维持组织力学特性至关重要。在膝骨关节炎的病理过程中,蛋白多糖在金属蛋白酶的作用下发生降解,KS 为降解的主要产物之一,KS 增高能够提示关节软骨的损伤严重^[35]。膝关节关节镜术后 2 周,关节液中 KS 含量显著下降^[36],血清 KS 浓度与关节软骨的损伤程度相关,即使是在外伤的初期也是这样。利用酶联免疫的方法测定血清 KS 浓度,可以指示关节软骨的损伤程度,用于辅助诊断膝骨关节炎的发生^[37]。

3 核酸类

microRNA 在软骨的发育稳态及骨性关节炎的病理发展中起到重要作用^[38],是膝骨关节炎的重要调节因子。有的 miRNA 可以加速膝骨关节炎的病程,例如在膝骨关节炎患者中,miR-223 的表达增加。过表达 miR-223 会刺激人软骨细胞的凋亡,在大鼠中诱导严重的软骨损伤^[39]。有的 miRNA 在膝骨关节炎发生、进展中发挥保护性调节作用,例如 miR-136 的表达水平与膝骨关节炎的严重程度呈负相关^[40]。miR-25 通过抑制膝骨关节炎软骨外蛋白多糖和 II 型

胶原蛋白的降解,可以减缓膝骨关节炎的进展^[41]。

近年来快速发展的基因组学、蛋白质组学、肽组学、代谢组学等组学平台为筛选膝骨关节炎生物标记物开拓了新的思路,然而通过芯片技术往往得到数据信息庞大,难以区分哪些基因或者蛋白质是上游的真正具有生物标志物价值的敏感指标,哪些只是下游因病理变化受到影响的响应物,因此通过组学研究筛选得到的膝骨关节炎患者不同于正常对照高表达或者低表达的指标,必须结合临床试验研究的观察与验证才有意义。

参考文献

- [1] ISSAQ,HALEEM J. Proteomic and metabolomic approaches to biomarker discovery[M]. New York:Elsevier Academic Press,2013:245-258.
- [2] BETTICA P,CLINE G,HART D J,et al. Evidence for increased bone resorption in patients with progressive knee osteoarthritis;longitudinal results from the Chingford study[J]. Arthritis & Rheumatology,2002,46(12):3178-3184.
- [3] CHENG H,HAO B,SUN J,et al. C-Terminal Cross-Linked telopeptides of type II collagen as biomarker for radiological knee osteoarthritis;a meta-analysis[J]. Cartilage,2018;1947603518798884.
- [4] 陈江涛,艾克拜尔·尤努斯,徐磊磊,等. 血清 NTx 和 TRACP5b 在骨巨细胞瘤中的表达及临床意义[J]. 临床和实验医学杂志,2016,15(8):724-726.
- [5] 张红,苏成海. I 型胶原交联氨基末端肽(NTX)在转移性骨肿瘤中的表达和临床价值[J]. 放射免疫学杂志,2011,24(2):150-153.
- [6] 潘凌凌,金璐,李奕,等. 尿 NTx 在多发性骨髓瘤骨病监测及疗效判断中的临床意义[J]. 浙江实用医学,2017,24(2):95-98.
- [7] TANISHI N,YAMAGIWA H,HAYAMI T,et al. Usefulness of urinary CTX-II and NTX-I in evaluating radiological knee osteoarthritis;the Matsudai knee osteoarthritis survey[J]. Journal of Orthopaedic Science,2014,19(3):429-436.
- [8] KALAA E BA,BOUZID K,LAADHAR L,et al. The role of type II collagen fragments and X-ray progression of knee osteoarthritis[J]. Annales de Biologie Clinique,2014,72(6):715-721.
- [9] XIN L,WU Z,QU Q,et al. Comparative study of CTX-II,Zn²⁺,and Ca²⁺ from the urine for knee osteoarthritis patients and healthy individuals[J]. Medicine(Baltimore),2017,96(32):e7593.
- [10] 邹信明,占卫兵,范乃人. 血清 CTX-II、COMP 在关节镜清理术治疗膝骨关节炎前后变化及临床意义[J]. 中国医学创新,2016,13(9):13-17.
- [11] 常保磊,史冬泉,陈东阳,等. 血清 II 型胶原交联 C-末端肽和软骨寡聚基质蛋白在老年膝关节炎中的表达及意义[J]. 中国临床医生杂志,2015,43(9):58-60.
- [12] KLUZEK S,BAY-JENSEN AC,JUDGE A,et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein and development of radiographic and painful knee osteoarthritis;a community-based cohort of middle-aged women [J]. Biomarkers,2015,20(8):557-564.
- [13] GEORGIEV T,IVANOVA M,KOPCHEV A,et al. Cartilage oligomeric protein, matrix metalloproteinase-3, and Coll2-1 as serum biomarkers in knee osteoarthritis: a cross-sectional study [J]. Rheumatology International,2018,38(5):821-830.
- [14] PRIYANKA V,KRISHNA D. Serum cartilage oligomeric matrix protein(COMP)in knee osteoarthritis;a novel diagnostic and prognostic biomarker[J]. Journal of Orthopaedic Research,2013,31(7):999-1006.
- [15] VÄÄNÄNEN T,KOSKINEN A,PAUKKERI EL,et al. YKL-40 as a novel factor associated with inflammation and catabolic mechanisms in osteoarthritic Joints[J]. Mediators of Inflammation,2014:215140.
- [16] GUAN J,LIU Z,LI F,et al. Increased synovial fluid YKL-40 levels are linked with symptomatic severity in knee osteoarthritis patients[J]. Clinical Laboratory,2015,61(8):991-997.
- [17] 苏晓恩,孔志强,朱娟,等. 膝关节骨关节炎软骨中 YKL-40、IL-1 β 的表达及相关性探讨[J]. 重庆医学,2017,46(4):480-482.
- [18] 陈宇. 血浆白细胞介素 1 β 基因多态性与原发性膝骨关节炎的相关性[J]. 中国老年学杂志,2012,32(16):3425-3426.
- [19] 查振刚,黄良任,姚平,等. 膝骨关节炎患者血清 TNF- α 与 IL-6 水平及其临床意义[J]. 广东医学,2005,26(2):191-193.
- [20] 俞叶军,骆幸才,毕丽娜. 血清白介素-15 水平与膝骨关节炎患者影像学改变程度的相关性[J]. 健康研究,2015,35(2):164-165.
- [21] CAI L,YIN J,STAROVASNIK M,et al. Pathways by which interleukin 17 induces articular cartilage breakdown in vitro and in vivo[J]. Cytokine,2001,16(1):10-21.
- [22] 张海森,白玉明,刘畅,等. 血清及滑液白介素-17 水平与膝骨关节炎退变及膝痛程度的相关性研究[J]. 中国医药导报,2016,13(33):84-87.
- [23] 任海亮,马剑雄,马信龙. 膝骨关节炎时关节滑液中炎症相关物质的表达[J]. 中国组织工程研究,2015,19(15):2336-2340.
- [24] 刘冰,高兆宾,赵亮亮. 膝骨关节炎患者血清和关节滑液 TWEAK 水平与影像学严重程度相关性[J]. 中国中医骨伤科杂志,2017,25(4):18-21.
- [25] 贾成瑶,李萍. 尿吡啶啉和脱氧吡啶啉是骨吸收特异性生化标志物[J]. 中国临床康复,2002,6(15):2256-2257.
- [26] JORDAN K M,SYDDALL H E,GARNERO P,et al. Urinary CTX-II and glucosyl-galactosyl-pyridinoline are associated with the presence and severity of radiographic knee osteoarthritis in men[J]. Annals of the Rheumatic Diseases,2006,65(7):871-877.
- [27] LOHMENDER L S,BRANDT K D,MAZZUCA S A,et al. Use of the plasma stromelysin(matrix metalloproteinase 3) concentration to predict joint space narrowing in knee osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum,2005,52(10):3160-3167.
- [28] PEARLE A D,SCANZELLO CR,GEORGE S,et al. Elevated high-sensitivity C-reactive protein levels are associated with local inflammatory findings in patients with osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage,2007,15(5):516-

- 523.
- [29] 韩文萍. 益气健脾活血通络方对膝骨关节炎患者超敏 C 反应蛋白的影响[J]. 中国中医药科技, 2014, 21(3): 299-300.
- [30] 廖伟雄, 李众利, 王杰, 等. 骨性关节炎患者关节滑液中结合珠蛋白水平与病情严重程度的相关性[J]. 解放军医学院学报, 2013, 34(8): 820-822.
- [31] HENROTIN Y, GHARBI M, MAZZUCHELLI G, et al. Fibulin 3 peptides Fib3-1 and Fib3-2 are potential biomarkers of osteoarthritis[J]. Arthritis & Rheumatism, 2012, 64(7): 2260-2267.
- [32] 周星彤, 刘恒, 孟志超, 等. 代表性生物标记物及 MicroRNAs 在骨关节炎诊断及病情评估中的意义[J]. 中国矫形外科杂志, 2017, 25(15): 1409-1415.
- [33] SASAKI E, TSUDA E, YAMAMOTO Y, et al. Serum hyaluronic acid concentration predicts the progression of joint space narrowing in normal knees and established knee osteoarthritis-a five-year prospective cohort study[J]. Arthritis Research & Therapy, 2015, 17(1): 283-288.
- [34] SHARIF M, GEORGE E, SHEPSTONE L, et al. Serum hyaluronic acid level as a predictor of disease progression in osteoarthritis of the knee[J]. Arthritis & Rheumatology, 2010, 38(6): 760-767.
- [35] 韩煜, 荆秦, 李春日. 湿注骨节膝骨关节炎关节液 CS 和 KS 分析及临床意义[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(9): 11-13.
- [36] NAKAJIMA A, NAKAGAWA K, AOKI Y, et al. Changes in synovial fluid biochemical markers following arthroscopic surgery in patients with knee osteoarthritis[J]. Rheumatology International, 2013, 33(1): 209-214.
- [37] WAKITANI S, NAWATA M, KAWAGUCHI A, et al. Serum keratan sulfate is a promising marker of early articular cartilage breakdown[J]. Rheumatology, 2007, 46(11): 1652-1656.
- [38] MIYAKI S, ASAHARA H. Macro view of microRNA function in osteoarthritis[J]. Nature Reviews Rheumatology, 2012, 8(9): 543-552.
- [39] KIM D, SONG J, AHN C, et al. Peroxisomal dysfunction is associated with up-regulation of apoptotic cell death via miR-223 induction in knee osteoarthritis patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Bone, 2014, 64(1): 124-131.
- [40] WAN L, ZHAO Q, NIU G, et al. Plasma miR-136 can be used to screen patients with knee osteoarthritis from healthy controls by targeting IL-17[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 16(4): 3419-3424.
- [41] 吴寒松, 黄世福, 孙阔, 等. microRNA-25 促进骨关节炎软骨细胞外蛋白多糖和 II 型胶原蛋白合成作用[J]. 科学技术与工程, 2016, 16(16): 143-148.
- [42] 陈蓟, 雷鸣, 刘弼, 等. MicroRNA 与骨关节炎[J]. 中国矫形外科杂志, 2017, 25(19): 1783-1787.

(收稿日期: 2018-09-06)