

关节软骨退变相关生物学标志物研究进展

郑力铭^{1,2} 马佳凯^{1,2} 王威^{1,2△} 张志文^{1,2}

[关键词] 软骨退变;生物学标志物;综述

[中图分类号] R684.3 [文献标志码] A [文章编号] 1005-0205(2022)03-0078-07

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)是最常见的退行性关节疾病,其特征是关节软骨的进行性退化和软骨下骨的重塑以及骨赘的形成,临床上引起关节疼痛、功能障碍,甚至残疾。关节软骨细胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)分解代谢的增加是 OA 发生发展的关键因素。ECM 的主要成分是蛋白聚糖、Ⅱ型胶原和非胶原蛋白,其在合成或降解过程中一些特定的碎片得以释放到体循环中。随着分子生物学的发展,这些释放出来的可溶性物质作为生物标志物,正在被探索作为早期骨关节炎诊断、监测疾病进展、评估疗效和判断预后的非放射学选择,并越来越受到重视。OA 病理进展第一阶段的特征是软骨基质的蛋白分解,因此,为了识别早期骨关节炎患者以及了解软骨退变程度,揭示 OA 病情,近些年的研究聚焦于蛋白聚糖、Ⅱ型胶原及非胶原蛋白的可溶性代谢产物。本文对近年来研究中反映关节软骨早期退变的生物学标志物进行系统综述。

1 软骨代谢标志物

软骨稳态异常(合成代谢和分解代谢失衡)被认为是 OA 早期治疗的潜在靶点。在美国国立卫生研究院 OA 生物标志物联盟确立的 18 种标志物中^[1],属软骨稳态异常衍生而来的标志物,可分为蛋白聚糖代谢标志物(包括蛋白聚糖 ARGS 抗原表位(Aggregan ARGS Neopeptide)、透明质酸(Hyaluronic Acid, HA)、硫酸软骨素-846 表位(Chondroitin Sulfate, CS846)),Ⅱ型胶原合成代谢标志物(Ⅱ型胶原羧基前肽(Procollagen C-Terminal Propeptide, PⅡCP)和Ⅱ型原氨基端前肽(Procollagen N-Terminal Propep-

tide, PⅡNP))及分解代谢标志物(包括Ⅱ型胶原 C 端肽(C-Telopeptides of Type Ⅱ Collagen, CTX-Ⅱ)、Ⅱ型胶原蛋白裂解新表位(C2C Neopeptide of Type Ⅱ Collagen, C2C)、Ⅰ型和Ⅱ型胶原裂解产物表位(Neopeptide of Both Type I and Type Ⅱ Collagen Cleavage Products, C1, 2C)、Ⅱ型胶原 C2M 新表位(C2M Neopeptide of Type Ⅱ Collagen, C2M)、Ⅱ胶原降解片段(Type Ⅱ Collagen Degradation Fragment, Coll2-1)及其硝化型(Nitrated Type Ⅱ Collagen Degradation Fragment, Coll2-1 NO2)、Ⅱ型胶原螺旋肽(Type Ⅱ Collagen Helical Peptide, Helix-Ⅱ));此外,还包括非胶原蛋白代谢标志物(软骨寡聚基质蛋白(Cartilage Oligomeric Matrix Protein, COMP)、几丁质酶 3 样蛋白 1/人类软骨糖蛋白-39(Chitinase-3-Like Protein 1/ Human Cartilage Glycoprotein-39, CHI3L1/Hcgp39/YKL-40)、纤维蛋白-3(Fibulin-3, Fib3))。关注这些分子生物标志物,可进一步了解 OA 病理生物学机制和识别治疗靶点,具有广泛的应用前景和巨大的应用潜力。

2 蛋白聚糖代谢相关标志物

关节软骨中蛋白聚糖是一种大分子聚合蛋白多糖,由蛋白质和硫酸化的糖胺聚糖(硫酸软骨素和硫酸角质素)共价连接而成,其主要结构由一个核心蛋白和 3 个球状结构域(G1、G2、G3)组成,其中 G1 和 G2 结构间存在 TEGE³⁷³ ↓ ³⁷⁴ ARGS 球间域,为蛋白聚糖酶的切割位点,N-末端 G1 结构域又通过连接蛋白与透明质酸分子链相连。这些结构相互交织,从而保护软骨抗压、抗剪切和自我润滑能力。当软骨发生退变改变时,异常合成或降解的产物被释放入体循环,检测体液中这些产物片段可在一定程度上反映软骨退变情况。

2.1 蛋白聚糖 ARGS 抗原表位(ARGS)

血清蛋白聚糖 ARGS 抗原表位水平更能反映早期软骨退变。ARGS 表位作为一种蛋白水解产物,由

基金项目:湖北省自然科学基金(2019CFC901)

¹ 湖北省中医院骨科(武汉,430061)

² 湖北中医药大学附属医院骨科

△通信作者 E-mail:hbzyww@hotmail.com

郑力铭和马佳凯为共同第一作者

蛋白聚糖酶(ADAMTS-4/5)从聚集蛋白聚糖的 N-端球间域“TEGE³⁷³↓³⁷⁴ ARGS”中裂解而来,而聚集蛋白又是早期 OA 软骨中最早被消耗的蛋白,因此,ARGs 抗原表位可作为反映疾病早期活动性和对上游靶点的治疗反应的潜在标志物。Joseph 等^[2]发现 OA 患者血清 ARGs 表位水平随着膝关节影像学表现的加重呈增加趋势,且中度 OA 患者血清 ARGs 表位水平明显高于非 OA 患者。Germaschewski 等^[3]研究也印证了这一现象,他们通过比较接受全膝关节置换术的 OA(OA-TKA)患者和 OA 保守治疗患者及健康志愿者不同基质中 ARGs 表位的浓度,发现 OA-TKA 患者血清和尿液 ARGs 新表位浓度高于 OA 保守治疗患者和健康人,且 OA-TKA 患者关节液 ARGs 表位浓度与膝关节僵硬评分相关,这表明 ARGs 表位浓度与疾病的进展有关。然而 OA 保守治疗患者尿液中 ARGs 表位水平与健康人没有差,因此他们认为 ARGs 表位有望作为 OA 患者预后、分层的标志,但他们建议使用血清而不是尿液作为首选基质监测 ARGs 表位系统浓度。此外,Germaschewski 等^[3]还报道对 OA 患者采用 ADAMTS-5 抑制剂干预后,血清 ARGs 表位浓度呈剂量依赖性降低,提示血清 ARGs 表位还可能是未来 OA 靶点抑制的药效学标志。

2.2 透明质酸(HA)

血清 HA 水平反映手部关节软骨退变及手部关节 OA 特异性更高。HA 是一种高分子量的线性多糖,属于糖胺聚糖类,主要存在于 ECM 和关节液中,其在维持关节软骨细胞结构特性和细胞信号传导中发挥作用,并可通过 ECM 的变性和周转释放到全身循环中。尽管 OA 患者血清 HA 水平较高,但 OA 严重程度与血清 HA 水平升高之间的关系尚不清楚。为探究血清 HA 水平与不同部位关节 OA 的关系,Sasaki 等^[4]进行了一项研究,对膝、髋、脊柱、手腕和手指关节的 K-L(Kellgren-Lawrence)分级 ≥ 2 级的 OA 患者的血清 HA 进行调查,结果显示血清 HA 水平的升高与 OA 关节的数量增加有关,且主要与膝关节和手指关节 OA 有关。同样,Lennerová 等^[5]研究也支持这一观点,他们发现与非侵蚀性手部 OA 患者相比,侵蚀性手部 OA 患者血清 HA 浓度显著升高。为进一步明确手部放射性 OA 与关节代谢物之间的关系,Aslam 等^[6]通过测量 663 个手部放射性 OA 患者多个血清标志物,结果发现手部 OA 与血清 HA 水平正相关,即 OA 累及手指关节数量越多,或手部症状越重,血清 HA 水平越高。这些研究提示血清 HA 可能有助于诊断手部 OA 和预测进一步的放射学进展。

2.3 硫酸软骨素-846 表位(CS846)

CS846 能特异识别关节退变,可作为早期诊断

OA 和预测严重程度的独立标志物。CS846 是硫酸软骨素链上的表位,作为 ECM 中硫酸软骨素合成的标志物。为明确 CS846 在 OA 中的诊断价值,Ma 等^[7]通过建立大鼠前交叉韧带横断的 OA 模型,监测不同阶段血清 CS846 水平,结果发现大鼠膝关节滑液中 CS846 和糖胺聚糖的浓度从 OA 模型建立的第 1 周起就开始升高,至术后 10 周血清 CS846 显著升高,并且与膝关节 OARSI(Osteoarthritis Research Society International)评分正相关,因此认为血清 CS846 水平可用于早期 OA 的诊断和病情监测。Dou 等^[8]首次证实膝关节 OA 患者血清 CS846 水平较健康对照组升高,此外还发现 CS846 水平的升高与膝关节 VAS 评分和关节间隙狭窄正相关,因此进一步提出 CS846 可作为膝关节骨关节炎患者的独立生物标志物。由此可见血清 CS846 表位可反映关节软骨损伤,是潜在的关节退变诊断及预后指标。

3 II 型胶原合成代谢相关标志物

II 型胶原是软骨基质的主要成分,其合成和分解与软骨代谢密切相关。许多研究集中于 II 型胶原的合成和降解,以确定 OA 的生化标志物。通常 II 型胶原被合成为前胶原分子,包括 II 型前胶原 C-端前肽(P II CP)和 II 型前胶原 N-端前肽(P II NP)。在 II 型胶原成熟过程中,C-端和 N-端前肽被特定酶裂解并释放到生物液中,因此这些肽的水平反映了 II 型胶原合成。近年来许多研究都集中在 II 型胶原的合成和降解产物上,以作为 OA 诊断与评估的生化标志物。

3.1 II 型胶原羧基前肽(P II CP)

P II CP 是软骨细胞增加 II 型胶原合成以尝试修复受损软骨的信号,主要应用于早期 OA 诊断,并可用于 OA 临床药物治疗效果监测。P II CP 是 II 型前胶原分子的非胶原羧基肽的延伸,在 II 型胶原蛋白原纤维形成过程中,这种延伸部分将被去除并从 II 型胶原蛋白原分子中释放出来。由于 P II CP 只有在合成新分子的过程中才被释放,其产生被认为反映了 II 型胶原合成和软骨的新陈代谢速率。正常人关节软骨 P II CP 的含量较低,且半衰期很短,其含量与体外 II 型胶原蛋白合成速率成正比。Gabusi 等^[9]通过检测 OA 患者关节液中 P II CP 水平,发现 OA 患者早、中期 P II CP 水平升高,而晚期 P II CP 水平下降,其原因可能是 OA 早期关节软骨损伤不严重而软骨修复能力较强,但晚期则因软骨基质严重受损同时软骨细胞的合成能力下降所致,因此有研究者提出 P II CP 升高不一定代表软骨破坏,也有可能反映软骨合成和基质周转。Tomonaga 等^[10]开展了一项为期 4 年的前瞻性研究,发现女性 OA 患者滑液 P II CP 水平升高可预测早期疾病中关节间隙的丢失和后续进展,P II CP 水平可以

预测早期膝关节 OA 的影像学进展得到进一步证实。此外,血清 P II CP 水平也可作为 OA 治疗干预的评价指标,如 Nagaoka 等^[11]报道采用血清 P II CP 水平作为指标评价氨基葡萄糖治疗对运动员关节软骨的保护作用。Azukizwaet 等^[12]报道通过检测血清 P II CP 水平来评价参加锻炼对早期有症状的 OA 患者膝关节软骨的保护作用等。

3.2 II 型原氨基端前肽(P II NP)

血清 P II NP 水平可反映胶原合成速率和 OA 病情进展,但在实际评估中指导意义需要结合临床分析。P II NP 是 II 型前胶原分子的氨基端的延伸,分为 II A 和 II B 两种剪接变异体。由于 II A 型(P II ANP)包含外显子 2,其主要在软骨祖细胞中表达,而 II B 型(P II BNP)缺乏外显子 2,主要在分化的软骨细胞中表达。在 II 型胶原蛋白分子融入软骨 ECM 之前,P II ANP 和 P II BNP 会被特定酶清除,部分释放到滑液及血液中。由于血清中测得的 P II ANP 浓度反映了 II 型胶原的合成,其可以作为临床反映软骨基质合成的一个代谢标志物。Kraus 等^[13]研究虽然肯定了血清 P II ANP 水平可预测 OA 患者关节疼痛和关节间隙狭窄的联合进展,但他们发现血清 P II ANP 水平与 OA 病理进展负相关。此外,他们还观察到高等级(K-L 分级)OA 患者血清 P II ANP 水平降低与膝关节内侧间隙的进展相关。这些研究反映了晚期 OA 软骨破坏大于基质合成,软骨缺乏有效的修复机制。此外,为进一步明确 P II ANP 与 P II BNP 之间相互关系,Luo 等^[14]进行了一项横断面研究,通过检测膝 OA 患者和非 OA 患者血清 P II BNP 水平,结果显示在膝骨性关节炎、类风湿性关节炎和儿童血清样本中,P II ANP 和 P II BNP 水平之间没有明显的相关性。值得注意的是,血清 P II ANP 和 P II BNP 低水平并不一定都代表严重 OA。Lian 等^[15]发现大骨节病患者血清 P II ANP 和 P II BNP 水平明显低于对照组,然而这主要是由于大骨节病患者 II 型胶原合成异常所致,导致软骨修复不足,提出血清 P II ANP 和 P II BNP 也可以作为诊断大骨节病的潜在生物标志物。因此,在评估 OA 时需要仔细考虑血清 P II NP 的价值。

4 II 型胶原分解代谢相关标志物

OA 进展的主要标志之一是关节软骨的丢失,软骨降解产物水平的增加和/或软骨合成和降解标志物的失衡将预示随后的软骨丢失。II 型胶原是软骨中含量最丰富的蛋白成分,因此反映软骨丢失研究最广泛的生物标志物是位于 II 型胶原分子上的表位。本部分重点介绍与 II 型胶原分解代谢相关的衍生标志物。

4.1 II 型胶原 C 端肽(CTX-II)

血清/尿 CTX-II 水平反映软骨早期退变敏感性

和特异性更高,能反映局灶性软骨损伤和退变,并可用于预测 OA 进展。CTX-II 位于 II 型胶原的 C-端肽片段¹²³⁰EKGPDP¹²³⁵位点上,通常在软骨退变过程中被基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinase, MMPs)裂解而来,以纳米胶原片段的形式进入循环,也是 OA 研究最多的标志物之一。来自 OA 生物标志物联盟的研究显示,在初步分析 194 例膝关节 OA 患者的血清和/或尿液检测的 18 个生物标志物,其中 8 个生物标志物的 24 个月时间整合浓度(TIC)在单变量分析中可显著预测 4 年后的病例状态,其中尿 CTX-II 是预测 OA 相关性最强的标志物^[1]。Bihlet 等^[16]开展的一项人群($n=1\ 235$,年龄 >55 岁)列队研究,结果发现尿 CTX-II 浓度与膝关节和髌部放射性 OA 的流行和进展显著相关,并且这些相关性与已知的放射性 OA 的危险因素(如年龄、性别和体质量)无关。这些研究表明尿 CTX-II 在髌、膝关节 OA 组中的敏感性和特异性更高。此外,CTX-II 也被发现作为标志物在监测 OA 治疗效果和判断预后转归方面具有巨大潜力。Rotterud 等^[17]一项研究结果显示,膝关节局灶性软骨损伤患者的尿液 CTX-II 浓度高于健康人,康复治疗干预后 CTX-II 浓度呈下降趋势,该研究表明 CTX-II 水平能反映软骨局灶性损伤和退变。Bjerre-Bastos 等^[18]报道在对 640 名 OA 患者的随访分析中发现,尿 CTX-II 高水平可以预测 OA 患者 2 年内的全部髌、膝关节置换,特别是尿 CTX-II 高水平预测 4 年内膝关节 OA 临床相关(症状和放射学)进展的概率增加 3.08 倍。此外,还有研究者提出,采用 CTX-II 联合其他标志物检测可进一步提高预测 OA 的准确性和敏感性。这些研究提示 CTX-II 具备作为 OA 检测优异的生物标志物的特征。

4.2 II 型胶原蛋白裂解新表位(C2C)

C2C 可作为量化 II 型胶原降解标志物,对于诊断中晚期 OA 意义更大。C2C 位于 MMPs 初次裂解胶原蛋白后生成的 3/4 片段的羧基末端,又被称为 Col2-3/4C_{long mono}。C2C 仅对 II 型胶原蛋白具有特异性,可反映 II 型胶原的降解情况。Kumashashi 等^[19]为明确 C2C 反映软骨退变的时间关系,通过一项前瞻性横断面研究,收集 71 例膝关节损伤患者的关节液及血清,并与正常对照组比较,结果发现关节损伤后第 1 天至 7 年内,膝关节滑液 C2C 浓度均高于正常对照组,且滑液 C2C 浓度与血清 C2C 浓度正相关,说明急性膝关节损伤后发展成 OA 与 II 型胶原的即刻和持续的局部降解有关。然而该研究未能进一步明确 C2C 水平的变化与膝关节 OA 不同严重程度之间的关系。He 等^[20]通过不同膝关节 OA 等级(K-L 分级)患者尿 C2C 与正常对照组比较,结果发现膝关节 OA 患者尿液中

C2C 浓度明显高于对照组,且 C2C 含量随膝关节 OA 严重程度的加重而升高。此外, Poole 等^[21]也证实,与早期 MRI 能证实而放射学检测阴性的 OA 相比,放射学确诊的 OA 患者血 C2C 水平更高。这些研究提示 C2C 有助于膝关节炎的中晚期诊断和预后判断。

4.3 I 型和 II 型胶原裂解产物表位(C1,2C)

血清 C1,2C 反映软骨退变生化稳定性高,受环境因素影响小。C1,2C 主要位于 II 型胶原初次裂解后产生的 3/4 片段上,但在 I 型胶原裂解产物中也能被少量检测到,又称为 Col2-3/4_{short}。C1,2C 能被抗体识别,反映关节软骨中 II 型胶原的分解代谢情况。Kong 等^[22]发现 OA 患者血清 C1,2C 水平具有不随昼夜发生变化的特点,且 C1,2C 水平与放射性膝关节 OA 严重程度正相关。Chu 等^[23]通过纳入 16 名膝关节内侧 OA 患者,检测其机械运动后血清 C1,2C 水平变化,结果发现血清 C1,2C 水平在运动前后无明显变化,而其浓度的增加与胫骨外侧软骨变薄相关,即 C1,2C 水平升高表明软骨丢失,OA 病理状态更加活跃,该研究证实 C1,2C 的变化可以反映 OA 病理的不同阶段。此外,因其体内生化稳定,血清 C1,2C 还可以作为监测 OA 药物治疗疗效的标志物。Tomonaga 等^[10]一项随机双盲对照研究,采用血 C1,2C 水平变化来评价鲑鱼鼻蛋白多糖对膝关节 OA 患者的软骨保护作用。

4.4 II 型胶原 C2M 新表位(C2M)

血清 C2M 反映软骨退变具有人群特异性,可用于人群慢性炎症性膝关节早期 OA 筛查。C2M 来源于 II 型胶原经 MMPs 降解的 C-末端,是近年来发现的从 II 型胶原分解的新表位衍生出的一种生物标志物。Bay-Jensen 等^[24]通过免疫组化法检测到人膝关节软骨表面不规则、糜烂部位和深层钙化软骨中存在 C2M,但在骨骼中未检测到 C2M,并且发现轻度或重度 OA 患者的血清 C2M 水平显著高于无 OA 的患者,但 OA 患者之间无明显差异。Siebuhr 等^[25]发现 C2M 还具有一定特异性,他们发现膝关节慢性炎症亚群的 OA 患者血清 C2M 水平高于急性炎症亚群 OA 患者,提示 C2M 水平与关节受损和特定的软骨表型有关。此外,在牛软骨体外培养研究中,通过施加 MMPs 抑制剂可以抑制培养基中 C2M 浓度,这表明 C2M 也有可能成为早期 OA 诊断和监测药物疗效的生物标志物。

4.5 II 胶原降解片段(Coll2-1)及其硝化型(Col2-1 NO₂)

血清 Coll2-1 和 Col2-1 NO₂ 反映炎症性胶原降解,并可能参与炎症诱导的关节的退变病理机制,更适合炎症性关节退变的诊断及预后评估。Coll2-1 是位于 II 型胶原分子三螺旋区 α1 链 NH₂-末端的序列,当

II 型胶原降解,三螺旋变性后该表位暴露并裂解,经过体液循环释放至血液和尿液中,Col2-1 NO₂ 则是其硝化形式。Coll2-1 和 Col2-1 NO₂ 是 OA 独特的生物标志物,许多临床前和临床研究支持它们的实用性。最近研究发现,膝关节 OA 患者血 Coll2-1 明显升高,且 Coll2-1 的测定不受采样条件、时间、昼夜节律或季节和体力活动的影响,表明血 Coll2-1 的变化与研究环境无关,而与 OA 的软骨退化有关,这表明 Coll2-1 检测足够可靠,在临床研究中具有独特的优势^[26]。Joseph 等^[2]研究发现 OA 和 RA 患者 Coll2-1 和 Col2-1 NO₂ 水平明显高于同龄对照组,且 RA 患者 Col2-1 NO₂ 水平明显高于同期严重程度配对的 OA 患者。此外,得出 RA 患者的 Col2-1 NO₂/Coll2-1 比值是 OA 患者的 1.6 倍。有趣的是,OA 和 RA 患者血清中 Col2-1 NO₂ 与 CRP 显著相关,但与 Coll2-1 无关。这些研究表明 Coll2-1 肽硝化与滑膜炎直接相关,且 Coll2-1 NO₂ 可能是关节炎疾病活动的一个有前景的标志物。因此,Coll2-1 被认为是软骨降解的生物标志物,而 COL2-1 NO₂ 被认为是炎症相关软骨降解的生物标志物。此外,Stancker 等^[27]研究发现当皮下或关节内注射 Coll2-1 时,能诱发大鼠发生关节炎,认为其机制可能是关节细胞通过 Toll 样受体的结合和激活 NF-κB 信号通路来刺激 IL-8 的产生。该研究表明 Coll2-1 不仅是一种 OA 生物标志物,而且是该病的积极参与者,并可能成为今后 OA 治疗的靶点。

4.6 II 型胶原螺旋肽(Helix-II)

尿 Helix-II 可检测早期软骨退变,其水平与软骨退变程度正相关,联合 CTX-II 检测可提高对 OA 病理进展预测能力。Helix-II 是 II 型胶原螺旋区的降解产物,在 II 型胶原的降解过程中被释放出来,反映了关节软骨的部分代谢情况。虽然近来多项研究表明血清或尿样中 Helix-II 的存在与软骨损伤正相关,而关节液中 Helix-II 浓度与膝关节软骨损伤或 OA 严重程度之间关系尚不明确。为此 Wei 等^[28]通过检测 83 例膝关节 OA 患者(接受关节镜或 TKA 手术治疗)关节液中 Helix-II 水平,结果认为 Helix-II 水平可作为关节软骨损伤早期的生物标志物,但不能用于评价膝关节软骨损伤或 OA 的程度和进展。相反,Kalai 等^[29]通过对 125 例 OA 患者尿 Helix-II 进行 2 年随访检测,结果发现膝关节 OA 患者尿 Helix-II 浓度的纵向变化与关节间隙变窄显著相关,认为尿 Helix-II 水平能在一定程度上反映 OA 的影像学进展。此外,Song 等^[30]首次报道发现大骨节病患者尿液中 Helix-II 也升高,考虑这与大骨节病患者 II 型胶原分解代谢异常有关,因此提出尿 Helix-II 也可有助于大骨节病的诊断。然而,更多的研究认为采用 Helix-II 联合其他标

志物检测可提高预测 OA 的准确性和敏感性。Boeth 等^[31]发现 Helix-Ⅱ 和 CTX-Ⅱ 通过不同的酶促途径被释放,若单独检测 Helix-Ⅱ 或 CTX-Ⅱ 仅部分反映软骨胶原蛋白降解的情况,而将这两种生物学标志物联合检测,相互补充可以提供有关 OA 疾病进展的更多信息。

5 非胶原糖蛋白代谢产物

ECM 中非胶原蛋白大多由 180~200 个不同的分子组成,这些糖蛋白在维持软骨结构、信号传导或机械强度等方面发挥不同作用。近年来研究发现,随着软骨退变和胶原结构分解,这些非胶原糖蛋白被逐渐丢失和修改,释放出来作为反映软骨退变的标志物。

5.1 软骨寡聚基质蛋白(COMP)

采用血清 COMP 对 OA 患者进行诊断及和病情评估应排除心血管及肾功能的异常。COMP 是一种 ECM 非胶原糖蛋白,由五个相同的二硫键连接的亚基组成,具有稳定软骨胶原网络、增加基质形成的作用。COMP 最初被认为是软骨细胞外基质周转的一个特异性指标。Kumm 等^[32]一项为期 6 年的纵向研究,发现膝关节 OA 病理发展可分为进展期和稳定期,而血清 COMP 水平在进展期中起着重要作用,并且 COMP 浓度可预测随后的进行性骨赘形成。Kluzek 等^[33]发现,在膝关节 K-L 等级为零的中年女性中,血清 COMP 水平与放射性膝关节 OA 和膝部疼痛的发生显著相关。随着近年来对 COMP 研究越来越深入,发现健康人血 COMP 水平受年龄、体质量、机械负荷、运动等因素影响。因此有研究者提出利用 COMP 对机械负荷的敏感性,采用机械刺激的 COMP 水平预测无症状的高危人群发生早期软骨退变和膝关节 OA 的风险。Riegger 等^[34]报道在对 COMP 进行系统研究后,认为 COMP 是一个比之前认为的更复杂的生物标志物,通过分析 754 名接受(全膝、髌)关节置换的患者血 COMP、健康状况和功能结果,发现与髌关节 OA 相比,血 COMP 与进展性膝关节 OA 的临床特征和 WOMAC 评分相关性更强。此外还发现血清 COMP 浓度受肾功能、心血管疾病以及其他混杂因素影响,因此该研究提醒这一影响在未来的生物标记物研究中应该被考虑。

5.2 几丁质酶 3 样蛋白 1/人类软骨糖蛋白-39 (CHI3L1/HC-gp39/YKL-40)

YKL-40 能够反映关节软骨降解破坏和滑膜炎程度,联合其他标志物诊断的灵敏性和特异性更高。YKL-40,又称几丁质酶 3 样蛋白 1(Chi3-l1)或人软骨糖蛋白 39(HC-gp39),是一种由软骨细胞和滑膜细胞分泌的 40 kDa 糖蛋白,又因其肽链起始氨基酸为酪氨酸(Y)、赖氨酸(K)和亮氨酸(L),故称 YKL-40,主要

参与 ECM 中非胶原糖蛋白的合成。在正常人中 YKL-40 水平较低,但在 OA 患者体内 YKL-40 浓度明显升高,且已证实与 OA 的疾病严重程度相关。Väänänen 等^[35]研究发现,OA 患者血清 YKL-40 与 MMP-1 和 MMP-3 水平相关,且炎症因子会刺激 YKL-40 的形成,这表明 YKL-40 是 OA 炎症分解代谢过程的相关因素。此外,还有研究者发现血浆 YKL-40 水平与类风湿性关节炎治疗期间的疾病活动性有关,认为血浆 YKL-40 是预测类风湿性关节炎疾病活动性的生物标志物,可用于指导类风湿性关节炎的缓解治疗。这些研究表明 YKL-40 可用于 OA 的早期诊断和判断关节滑膜的炎症程度。值得一提的是,Wang 等^[36]报道单独检测 YKL-40 诊断 OA 的敏感性为 82%,特异性为 80%,而联合 CTX-Ⅱ 诊断 OA 的敏感性为提升至 90%,特异性为 78%。

5.3 纤维蛋白-3(Fib3)

Fib3 可用于预测 OA 患者软骨退变程度及药物治疗效果监测。Fib3 是一种细胞外基质糖蛋白,其特征是表皮生长因子样结构域与 C 端纤维蛋白模块串联,包括 3 个亚型表位(Fib3-1、Fib3-2 和 Fib3-3),目前研究已证实其具有抑制血管生成和软骨细胞分化功能。Henrotin 等^[37]最先通过对 OA 患者和正常人尿液进行蛋白质组学分析,发现 Fib3 的 2 个亚型肽段 Fib3-1 和 Fib3-2,并提出 Fib3-1 和 Fib3-2 是诊断 OA 的潜在生化标志物。随后 Visser 等^[38]首次对 Fib3-3 在 OA 病理过程中作用进行研究,在高脂饮食诱导的大鼠软骨代谢紊乱模型中,发现血清 Fib3-3 水平升高与局部关节退变的增加正相关,认为 Fib3-3 的增加与局部软骨损伤有关,提出 Fib3-3 也是 OA 的一个潜在的生物标志物,可用以检测有发生 OA 风险的关节早期退行性改变。Runhaar 等^[39]进一步探讨 3 种 Fib3 亚型表位与膝关节 OA 发病的关系,发现所有 3 个 Fib3 表位都与膝关节 OA 临床和美国风湿病学会(ACR)放射学标准的发生率有关,且 Fib3-1 和 Fib3-3 在随访时还与关节慢性疼痛有关,并且高血清 Fib3-1、Fib3-2 和 Fib3-3 水平与 2.5 年后出现症状性膝关节 OA 的风险增加显著相关。他们认为 Fib3 符合 OA 预后生物标志物标准,可以用于临床前早期识别人群中具有膝关节 OA 高风险的亚群。此外,最近还有研究报道采用 Fib3 作为检测指标评价肿瘤坏死因子治疗膝关节 RA 疗效^[40]。

6 总结

到目前为止,使用生物标志物识别早期软骨退变和区分 OA 患者的特殊疾病亚群的尝试取得了不同程度的成功,但尚未有任何标志物应用临床常规的诊断或预后评价,大多数标志物仍仅限于临床和实验研究。

这其中仍然面临着很多挑战:第一,目前的生物学标志物缺乏对特定关节和疾病的特异性识别;第二,软骨退变生物标志物水平易受环境因素影响,其测量的准确性、重复性有待进一步提高;第三,对生物学标志物的使用(单用、联合使用或结合影像学表现)缺乏统一的标准。值得一提的是,国内有研究者通过检测 OA 不同中医证候患者血清生物标志物水平,发现在肝肾亏虚、痰瘀交阻证和脾肾两虚、湿注骨节证患者生物标志物水平明显高于肝肾不足、筋脉瘀滞证患者,且膝关节活动及功能低于后者^[41],该研究也为中医“膝痹病”的证候学研究提供了新方向。今后进一步深入对软骨退变生物学标志物的研究,丰富标志物与临床结果相关的信息,将有望从根本上改变 OA 的预测、疾病管理、药物开发及治疗现状。

参考文献

- [1] KRAUS V B, HARGROVE D E, HUNTER D J, et al. Establishment of reference intervals for osteoarthritis-related soluble biomarkers: the FNIH/OARSI OA Biomarkers Consortium[J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(1): 179-185.
- [2] JOSEPH G B, NEVITT M C, MCCULLOCH C E, et al. Associations between molecular biomarkers and MR-based cartilage composition and knee joint morphology: data from the osteoarthritis initiative[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2018, 26(8): 1070-1077.
- [3] GERMASCHEWSKI F M, MATHENY C J, LARKIN J, et al. Quantitation of ARGS aggrecan fragments in synovial fluid, serum and urine from osteoarthritis patients[J]. *Osteoarthritis and Cartilage* 2014, 22(5): 690-697.
- [4] 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 Res Ther*, 2015, 17(1): 1-10.
- [5] LENNEROVÁ T, KAREL PAVELKA K, ŠENOLT L. Biomarkers of hand osteoarthritis [J]. *Rheumatol Int*, 2018, 38(5): 725-735.
- [6] ASLAM I, PERJAR I, SHI X A, et al. Associations between biomarkers of joint metabolism, hand osteoarthritis, and hand pain and function: the johnston county osteoarthritis project[J]. *J Rheumatol*, 2014, 41(5): 938-944.
- [7] MA T, ZHANG Z, SONG X, et al. Combined detection of COMP and CS846 biomarkers in experimental rat osteoarthritis: a potential approach for assessment and diagnosis of osteoarthritis[J]. *J Orthop Surg Res*, 2018, 13(1): 1-9.
- [8] DOU X, ZHANG Z, WANG S, et al. Combined use of serum miR-338-3p, cartilage oligomeric matrix protein and chondroitin sulfate-846 in the early diagnosis of knee osteoarthritis[J]. *Clin Lab*, 2019, 65(3): 319-324.
- [9] GABUSI E, PAOLELLA F, MANFREDINI C, et al. Cartilage and bone serum biomarkers as novel tools for monitoring knee osteochondritis dissecans treated with osteochondral scaffold[J]. *Biomed Res Int*, 2018: 9275102.
- [10] TOMONAGA A, TAKAHASHI T, TANAKA Y T, et al. Evaluation of the effect of salmon nasal proteoglycan on biomarkers for cartilage metabolism in individuals with knee joint discomfort: a randomized double-blind placebo-controlled clinical study[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(1): 115-126.
- [11] NAGAOKA I, TSURUTA A, YOSHIMUR M. Chondroprotective action of glucosamine, a chitosan monomer, on the joint health of athletes[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 132: 795-800.
- [12] AZUKIZAWA M, ITO H, HAMAMOTO Y, et al. The effects of well-rounded exercise program on systemic biomarkers related to cartilage metabolism [J]. *Cartilage*, 2018, 10(4): 451-458.
- [13] KRAUS V B, COLLINS J E, HARGROVE D, et al. Predictive validity of biochemical biomarkers in knee osteoarthritis: data from the FNIH OA biomarkers consortium [J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(1): 186-195.
- [14] LUO Y, HE Y, REKER D, et al. A novel high sensitivity type II collagen blood-based biomarker, PRO-C2, for assessment of cartilage formation[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3485.
- [15] LIAN W, LIU H, SUN L Y, et al. Serum levels of P II CP, P II ANP, and P II BNP are decreased in patients with an endemic osteochondropathy, Kashin-Beck disease [J]. *J Orthop Surg Res*, 2018, 13(1): 128.
- [16] BIHLET A R, BYRJALSEN I, BAY-JENSEN A C, et al. Associations between biomarkers of bone and cartilage turnover, gender, pain categories and radiographic severity in knee osteoarthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21(1): 203.
- [17] ROTTERUD J H, REINHOLT F P, BECKSTROM K J, et al. Relationship between CTX-II and patient characteristics, patient-reported outcome, muscle strength, and rehabilitation in patients with a focal artilage lesion of the knee: A prospective exploratory cohort study of 48 patients[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014, 15: 99.
- [18] BJERRE-BASTOS J, BAY-JENSEN A C, KARSDAL M, et al. Biomarkers of bone and cartilage turnover CTX-I and CTX-II predict total joint replacements in osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27(S31): 12-19.
- [19] KUMAHASHI N, SWARD P, LARSSON S, et al. Type II collagen C2C epitope in human synovial fluid and serum after knee injury — associations with molecular and structural markers of injury [J]. *Osteoarthritis Cartilage*,

- 2015,23(9):1506-1512.
- [20] HE G, CHEN X, ZHANG G, et al. Detection of urine C2C and trace element level in patients with knee osteoarthritis[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 70(1): 475-479.
 - [21] POOLE A R, HA N, BOURDON S, et al. Ability of a urine assay of type II collagen cleavage by collagenases to detect early onset and progression of articular cartilage degeneration; results from a population-based cohort study[J]. *J Rheumatol*, 2016, 43(10): 1864-1870.
 - [22] KONG S Y, STABLER T V, CRISCIONE L G, et al. Diurnal variation of serum and urine biomarkers in patients with radiographic knee osteoarthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(8): 2496-2504.
 - [23] CHU C R, SHETH S, ERHART-HLEDIK J C, et al. Mechanically stimulated biomarkers signal cartilage changes over 5 years consistent with disease progression in medial knee osteoarthritis patients[J]. *J Orthop Res*, 2018, 36(3): 891-897.
 - [24] BAY-JENSEN A C, LIU Q, BYRJALSEN I, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISAs) for metalloproteinase derived type II collagen neoepitope, C II M-increased serum C II M in subjects with severe radiographic osteoarthritis[J]. *Clin Biochem*, 2011, 44(5/6): 423-429.
 - [25] SIEBUHR A S, PETERSEN K K, ARENDT-NIELSEN L, et al. Identification and characterisation of osteoarthritis patients with inflammation derived tissue turnover[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2014, 22(1): 44-50.
 - [26] HICK A C, FONCK M, COSTES B, et al. Serum levels of Coll2-1, a specific biomarker of cartilage degradation, are not affected by sampling conditions, circadian rhythm, seasonality and physical activity[J]. *Cartilage*, 2021, 13(1): 540-549.
 - [27] STANCKER T G, VIEIRA S S, SERRA A J, et al. Can photobiomodulation associated with implantation of mesenchymal adipose-derived stem cells attenuate the expression of MMPs and decrease degradation of type II collagen in an experimental model of osteoarthritis? [J]. *Lasers Med Sci*, 2018, 33(5): 1073-1084.
 - [28] WEI X, YIN K, LI P, et al. Type II collagen fragment HELIX-II is a marker for early cartilage lesions but does not predict the progression of cartilage destruction in human knee joint synovial fluid[J]. *Rheumatol Int*, 2013, 33(7): 1895-1899.
 - [29] KALAI E, BAHLOUS A, BOUZID K, et al. The role of type II collagen fragments and X-ray progression of knee osteoarthritis[J]. *Ann Bio Clin*, 2014, 72(6): 715-721.
 - [30] SONG Q Q, SUN L Y, LI C H, et al. The urinary levels of CTX-II, C2C, PYD, and Helix-II increased among adults with KBD; a cross-sectional study[J]. *J Orthop Surg Res*, 2019, 14(1): 328.
 - [31] BOETH H, RAFFALT P C, MACMAHON A, et al. Association between changes in molecular biomarkers of cartilage matrix turnover and changes in knee articular cartilage: a longitudinal pilot study[J]. *J Exp Orthop*, 2019, 6(1): 19.
 - [32] KUMM J, TAMM A, LINTROP M, et al. The value of cartilage biomarkers in progressive knee osteoarthritis: cross-sectional and 6-year follow-up study in middle-aged subjects[J]. *Rheumatol Int*, 2013, 33(4): 903-911.
 - [33] KLUZEK S, BAY-JENSEN A C, 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.
 - [34] RIEGGER J, REHM M, BÜCHELE G, et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein in late-stage osteoarthritis: association with clinical features, renal function, and cardiovascular biomarkers[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(1): 268.
 - [35] VÄÄNÄNEN T, VUOLTEENAHONEN K, KAUTIAINEN H, et al. NEORACo Study Group; Glycoprotein YKL40: a potential biomarker of disease activity in rheumatoid arthritis during intensive treatment with csDMARDs and infliximab. Evidence from the randomised controlled NEORACo trial[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0183294.
 - [36] WANG P, SONG J, QIAN D. CTX-II and YKL-40 in early diagnosis and treatment evaluation of osteoarthritis[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1): 423-431.
 - [37] HENROTIN Y, GHARBI M, MAZZUCHELLI G, et al. Fibulin 3 peptides Fib3-1 and Fib3-2 are potential biomarkers of osteoarthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(7): 2260-2267.
 - [38] DE VISSER H M, SANCHEZ C, MASTBERGEN S C, et al. Fib3-3 as a biomarker for osteoarthritis in a rat model with metabolic dysregulation[J]. *Cartilage*, 2019, 10(3): 329-334.
 - [39] RUNHAAR J, SANCHEZ C, TARALLA S, et al. Fibulin-3 fragments are prognostic biomarkers of osteoarthritis incidence in overweight and obese women[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(4): 672-678.
 - [40] KOPEC-MEDREK M, KUCHARZ E J. Fibulin-3 and other cartilage metabolism biomarkers in relationship to calprotectin (MRP8/14) and disease activity in rheumatoid arthritis patients treated with anti-TNF therapy[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2018, 27(3): 383-389.
 - [41] 韩煜, 张志星, 边青山, 等. 膝骨关节炎中医证候血清生物标志物研究[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2014, 22(12): 8-12.

(收稿日期: 2021-11-08)