

# 基质金属蛋白酶-9在类风湿性关节炎中的诊断价值研究\*

欧水连, 潘志锋, 徐灼均, 梁映亮, 郭静怡, 莫和国

(南方医科大学附属小榄医院检验科, 广东中山 528400)

**摘要:**目的 探讨基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)在类风湿性关节炎(RA)中的诊断价值。方法 收集45例RA患者和28例健康体检者(HV)血清,采用免疫比浊法检测血清类风湿因子(RF)和超敏C反应蛋白(hs-CRP)含量,魏氏法检测红细胞沉降率(ESR),ELISA法检测MMP-9含量;Pearson相关分析MMP-9与RF,hs-CRP及ESR相关性。结果 RA患者血清RF,ESR,hs-CRP和MMP-9均显著高于HV组( $t=3.93\sim 5.96$ , $P$ 值均 $<0.001$ );RF高滴度组MMP-9显著高于低滴度组( $t=2.10$ , $P<0.05$ ),且高炎症组显著高于低炎症组( $t=2.08$ , $P<0.05$ );同时RA患者血清MMP-9与RF,ESR及hs-CRP均呈正相关( $r=0.30\sim 0.47$ , $P$ 值均 $<0.05$ )。结论 MMP-9可能在RA患者诊断治疗中具有一定价值。

**关键词:**类风湿性关节炎;基质金属蛋白酶-9;类风湿因子

中图分类号:R593.22;R446.12 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)03-081-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.03.022

## Assessing the Role of Matrix Metalloproteinase-9 in Rheumatoid Arthritis

OU Shui-lian, PAN Zhi-feng, XU Zhuo-jun, LIANG Ying-liang, WU Jing-yi, MO He-guo

(Department of Clinical Laboratory,

Xiaolan Hospital Affiliated to Southern Medical University, Guangdong Zhongshan 528400, China)

**Abstract: Objective** To assess the role of Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) in rheumatoid arthritis (RA). **Methods** Peripheral blood from 45 RA patients and 28 healthy individuals (HV) were collected to detect RF and hs-CRP by immunoturbidimetry, ESR by westergren method and MMP-9 by ELISA. The correlation was analysed between MMP-9 and RF, ESR or hs-CRP, respectively, by pearson correlation analysis. **Results** Levels of RF, ESR, hs-CRP and MMP-9 were significantly higher in RA patients than HV group ( $t=3.93\sim 5.96$ ,  $P<0.001$ ), respectively. RF high titer patients or patients with a high inflammation response showed a higher MMP-9 levels than the RF low titer or slight inflammation patients ( $P<0.05$ ). MMP-9 was positively correlated to RF, ESR and hs-CRP in RA patients ( $P<0.05$ ), respectively. **Conclusion** MMP-9 maybe a sensitive tool in the diagnosis and management of RA patients.

**Keywords:** rheumatoid arthritis(RA); matrix metalloproteinase-9(MMP-9); rheumatoid factor(RF)

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性、破坏性自身免疫性疾病,其主要病理变化是关节滑囊组织增生、炎症细胞浸润及软骨关节进行性及不可逆损害。尽管药物治疗能够改善其预后,但其造成关节软骨和骨质破坏的机制尚不清楚,仍是致残的重要因素<sup>[1]</sup>。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一类钙锌依赖的肽链内切酶,在细胞外基质降解和重塑中具有重要作用,其中MMP-2和MMP-9可破坏基底膜分子导致细胞死亡<sup>[2]</sup>。已证实MMP-9参与关节骨及软骨破坏,因此,本研究通过检测RA患者血清MMP-9含量并分析其与RA病情程度相关指标的相关性,试图探讨MMP-9在评估临床RA病情中的意义。

### 1 材料与方法

1.1 研究对象 采用1987年美国风湿病学会(ACR)修订的RA诊断标准,收集我院2013年11月~2015年1月风湿肾内科确诊的住院RA患者45例,其中女性28例,男性17例,年龄21~65岁,平均年龄 $46.38\pm 1.86$ 岁。对照组选取同期在我院健康体检中心体检健康的志愿者(HV)28例,其中女性20例,男性8例,年龄22岁~63岁,平均年龄 $46.21\pm 2.08$ 岁。RA患者依据RF滴度分为高滴度阳性组( $>3$ 倍正常值)和低滴度阳性组( $<3$ 倍正常值)<sup>[3]</sup>,根据红细胞沉降率(ESR)和超敏C反应蛋白(hs-CRP)水平,分为高炎症组(ESR $>40$  mm/H和hs-CRP $>5$  mg/L)和低炎症组(ESR $<40$  mm/H和/或hs-CRP $<5$  mg/L)<sup>[4]</sup>。所有研究对象均排除肿瘤、高血压、糖尿病等慢性疾病及其他免疫性疾病,且近期均无免疫抑制剂类

\* 作者简介:欧水连(1977-),女,本科,检验师,主要研究慢性炎症性疾病的病理、生理机制,E-mail:oushuilian123@126.com。

药物用药史。

1.2 试剂与仪器 RF及hs-CRP检测试剂购自日本日立公司;ESR检测相关试剂购自普利生公司;人MMP-9 ELISA检测试剂盒购于R&D公司。7600全自动生化分析仪为日立公司产品;XI-2100全自动血细胞分析仪为希森美康公司产品;LBY-XC40全自动红细胞沉降率动态分析仪为普利生公司产品。

1.3 研究方法 研究对象均清晨空腹抽取静脉血5 ml,3 000 r/min离心10 min,收集血清,免疫比浊法检测RF及hs-CRP含量;魏氏法检测ESR;ELISA法检测人MMP-9含量。以上各项目的测定严格按照试剂说明书及SOP文件规定操作。

表1 各组MMP-9,RF,hs-CRP及ESR含量检测结果

参数	RA(n=45)	HV(n=28)	t或 $\chi^2$	P值
年龄(岁)	46.38±1.86	46.21±2.08	0.06	0.95
女性/男性	28/17	20/8	0.65	>0.05
ESR(mm/H)*	39.09±4.36	14.36±1.23	4.39	<0.001
RF(U/ml)*	184.20±27.33	13.35±3.81	4.90	<0.001
Hs-CRP(mg/L)*	8.18±1.26	1.81±0.37	3.93	<0.001
ASO(IU/ml)	78.27±13.89	101.60±29.35	0.80	0.42
WBC( $10^9$ /L)	6.65±0.27	6.04±0.20	1.58	0.12
RBC( $10^{12}$ /L)	4.33±0.08	4.56±0.11	1.61	0.11
HGB(g/L)	129.20±1.93	132.70±2.29	1.17	0.25
PLT( $10^9$ /L)	236.90±9.78	219.90±11.18	1.11	0.27
MMP-9(ng/ml)*	369.00±43.36	39.86±4.41	5.96	<0.001

注:\* : $P<0.05$ ,表示RA组与HV组相比。

2.2 不同病情程度RA患者血清MMP-9含量比较 结果见表2。RF高滴度组患者血清MMP-9含量显著高于RF低滴度组,差异有统计学意义( $P$

表2 不同病情程度RA患者血清MMP-9含量比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n(%)	MMP-9(ng/ml)	r值	P值
RF滴度>3倍正常值	30(66.67)	431.10±52.12	2.10	0.04
RF滴度<3倍正常值	15(33.33)	244.70±69.41		
ESR>40 mm/h和hs-CRP>5 mg/L	13(28.9)	505.40±86.35	2.08	0.04
ESR<40 mm/h和/或hs-CRP<5 mg/L	32(71.1)	313.50±47.30		

2.3 MMP-9与RF,ESR及hs-CRP的相关性分析 结果见图1。RA患者血清MMP-9含量与RF,ESR及hs-CRP含量相关性分析显示RA患

1.4 统计学分析 所有数据均采用GraphPad Prism 5.0统计软件进行数据分析。计量数据以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间差异比较采用t检验,计数资料比较采用卡方检验,相关性分析采用Pearson相关。检验水准 $\alpha=0.05$ , $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组MMP-9,RF,hs-CRP及ESR含量检测

结果见表1。RA组和HV组在性别构成和年龄分布上均无显著差异。RA组血清RF,ESR,hs-CRP和MMP-9水平均显著高于健康对照组( $P$ 均<0.05),而WBC,RBC,HGB,PLT及ASO在两组间差异无统计学意义( $P$ 均>0.05)。

<0.05);高炎症组患者血清MMP-9水平显著高于低炎症组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

者血清MMP-9与RF,ESR和hs-CRP含量均呈正相关,差异有统计学意义( $P$ 均<0.05)。

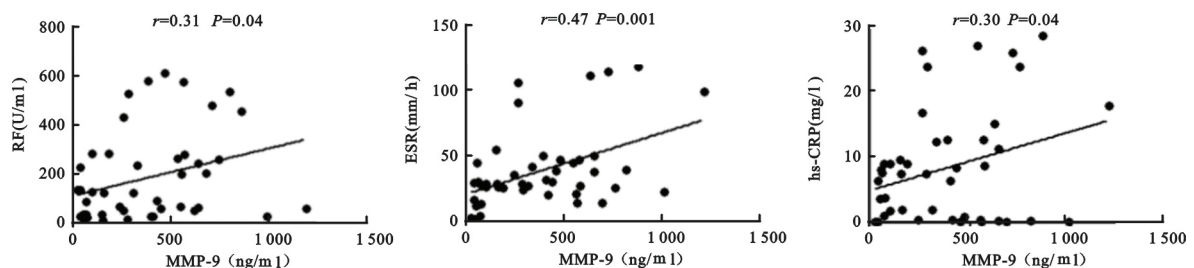


图1 MMP-9与RF,ESR及hs-CRP的相关性分析

3 讨论 RA是一种以关节滑膜炎为主的系统性

自身免疫性疾病,病理过程主要是间质大量炎性细

胞浸润、细胞增生,导致滑膜炎、微血管的新生、血管翳的形成导致软骨和骨组织的破坏,最终导致关节畸形和功能丧失<sup>[5,6]</sup>。MMPs 是一类对细胞外基质有特异性降解作用的肽链内切酶,同时参与细胞外基质的重塑、免疫应答及炎症反应等。MMPs 活化是 RA 细胞外基质降解的关节步骤,研究发现 RA 患者关节滑膜液及滑膜细胞中 MMPs 表达增高,尤其是 MMP-2 和 MMP-9<sup>[7]</sup>,最新发现 MMP-9 不仅参与滑膜细胞介导的炎症反应,还参与软骨退化,这可能是导致关节破坏的直接原因<sup>[8]</sup>。本研究发现 RA 患者血清 MMP-9 含量显著升高,与之前 Silosi 等<sup>[9]</sup>的研究较一致,可提示 RA 的发生,与类风湿因子(RF)功能相似,若将其与临床表现相结合可辅助诊断 RA。尤其是 Silosi 等<sup>[9]</sup>也发现 MMP-9 在鉴别 RA 相关慢性牙周炎中具有重要价值。

循环瓜氨酸化蛋白(CCP)抗体和 RF 是目前 RA 早期诊断的重要指标,两者抗体滴度越强,阳性预测值越高<sup>[10]</sup>,国内谢冰等<sup>[11]</sup>发现 CCP 抗体诊断 RA 的最佳临界值为 10.095 U/ml。本研究发现 RF 高滴度 RA 患者血清 MMP-9 含量显著高于低滴度组( $P < 0.05$ ),且同时发现 RA 患者血清 MMP-9 与 RF 呈正相关,但其相关度较低,二者是否有联系,目前尚未见报道,仍需进一步的实验验证。目前反映 RA 病情活动的指标很多,如 ESR, CRP, RF, 免疫学指标 IgG 及关节疼痛、关节肿胀、关节压痛和晨僵时间等,ESR 和 hs-CRP 是判断 RA 病情活动的常规检测指标,但其影响因素多,特异性差,敏感度亦不够理想。RA 患者炎症程度越高,外周血单核细胞 TLR2 表达也越高,从而激活 MMP-9 表达<sup>[12,13]</sup>。本研究亦观察到高炎症患者组(在 ESR 和 hs-CRP 均升高)血清 MMP-9 含量显著升高,且血清 MMP-9 含量与 ESR 及 hs-CRP 均呈正相关,提示血清 MMP-9 可作为一个新的判断 RA 病情活动性的指标,将对 RA 病情程度、治疗效果的评价具有临床意义。

综上所述,RA 患者血清 MMP-9 含量升高与疾病的炎症程度有关,其结合临床表现可辅助诊断 RA,同时也在评估 RA 病情及治疗效果等方面具有重要参考价值。

#### 参考文献:

- [1] Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis[J]. Lancet, 2010, 376(9746): 1094-1108.
- [2] Singh D, Srivastava SK, Chaudhuri TK, et al. Multifaceted role of matrix metalloproteinases(MMPs)[J]. Front Mol Biosci, 2015(2): 19.
- [3] Chatterjee Adhikari M, Guin A, Chakraborty S, et al. Subclinical atherosclerosis and endothelial dysfunction in patients with early rheumatoid arthritis as evidenced by measurement of carotid intima-media thickness and flow-mediated vasodilatation: an observational study[J]. Semin Arthritis Rheum, 2012, 41(5): 669-675.
- [4] Lee WS, Kim TY. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in rheumatoid arthritis[J]. Arch Pathol Lab Med, 2010, 134(4): 505-506.
- [5] Lee HS, Woo SJ, Koh HW, et al. Regulation of apoptosis and inflammatory responses by insulin-like growth factor binding protein 3 in fibroblast-like synoviocytes and experimental animal models of rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(4): 863-873.
- [6] Yilmaz-Oner S, Ozen G, Can M, et al. Biomarkers in remission according to different criteria in patients with rheumatoid arthritis [J]. J Rheumatol, 2015, 42(11): 2066-2070.
- [7] Zhou M, Qin S, Chu Y, et al. Immunolocalization of MMP-2 and MMP-9 in human rheumatoid synovium [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(6): 3048-3056.
- [8] Metzger IF, Sandrim VC, Tanus-Santos JE. Endogenous nitric oxide formation correlates negatively with circulating matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 levels in black subjects [J]. Mol Cell Biochem, 2012, 360(1/2): 393-399.
- [9] Silosi I, Cojocaru M, Foia L, et al. Significance of circulating and crevicular matrix metalloproteinase-9 in rheumatoid arthritis-chronic periodontitis association [J]. J Immunol Res, 2015(2015): 218060.
- [10] Shen R, Ren X, Jing R, et al. Rheumatoid factor, anti-cyclic citrullinated peptide antibody, C-reactive protein, and erythrocyte sedimentation rate for the clinical diagnosis of rheumatoid arthritis [J]. Lab Med, 2015, 46(3): 226-229.
- [11] 谢冰, 钟树奇. 抗 CCP 抗体诊断类风湿性关节炎的最佳临界值[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(4): 101-103.  
Xie B, Zhong SQ. Reference range of anti-CCP concentration in rheumatoid arthritis [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2012, 27(4): 101-103.
- [12] 邹皓琳, 祝峰, 王新元. 类风湿性关节炎患者外周血单核细胞 TLR2 的表达及意义[J]. 现代检验医学杂志, 2014(5): 112-113, 116.  
Zou HL, Zhu F, Wang XY. Expression of TLR2 on the surface of monocyte in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis as well as its clinical significance [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014(5): 112-113, 116.
- [13] Chen Z, Su L, Xu Q, et al. IL-1R/TLR2 through MyD88 divergently modulates osteoclastogenesis through regulation of nuclear factor of activated T cells c1(NFATc1) and B lymphocyte-induced maturation protein-1(Blimp1)[J]. J Biol Chem, 2015, 290(50): 30163-30174.