

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2022.03.10

基质金属蛋白酶 3 在类风湿关节炎疗效观察中的临床价值

杨平^{1a}, 张孝山², 陶月^{1a}, 宁明哲^{1a}, 徐志晔^{1a}, 朱益佳^{1a}, 梁军^{1b}, 沈瀚^{1a} (1. 南京大学医学院附属鼓楼医院 a. 检验科, b. 风湿免疫科, 南京 210008; 2. 长江大学生命科学学院, 湖北荆州 434025)

摘要:目的 探讨血清基质金属蛋白酶 3(MMP-3)在类风湿关节炎(RA)疗效观察中的临床价值。方法 选取 2020 年 5 月至 2021 年 4 月南京大学医学院附属鼓楼医院风湿免疫科确诊为 RA 的患者 81 例,同时选取体检健康者 30 名。用胶乳免疫比浊法分别检测类风湿因子(RF)、MMP-3;免疫比浊法检测 C 反应蛋白(CRP)、抗链球菌溶血素 O(ASO);吡啶酯化学发光法检测抗环瓜氨酸肽抗体(anti-CCP);ELISA 法检测抗突变型瓜氨酸化波形蛋白(anti-MCV);魏氏法检测红细胞沉降率(ESR);间接免疫荧光法检测抗角蛋白抗体(AKA)。采用 U 检验分析两组间差异, Spearman 秩相关分析 MMP-3 与 RA 疾病活动相关临床指标的相关性。入组 8 例连续口服甲氨蝶呤(MTX)稳定剂量(每周剂量 7.5~25 mg)治疗的活动性 RA 患者,观察其治疗前基线水平、第 28 天、第 57 天、第 85 天的血清 MMP-3 的变化。采用配对样本 t 检验进行差异性分析, Pearson 相关分析其相关性。结果 RA 患者血清中 MMP-3 浓度显著高于体检健康者, MMP-3 与 CRP、ESR 和 RF 呈正相关(r_s 分别为 0.700、0.522、0.262)。经 MTX 稳定剂量治疗后第 85 天的 RA 患者 MMP-3、28 处关节疾病活动度评分(DAS28)、28 处关节压痛关节数(TJC28)、28 处关节肿胀关节数(SJC28)等均显著降低,而且血清 MMP-3 水平与 DAS28-ESR 评分和患者总体评价呈正相关,相关系数 r 分别为 0.679 和 0.554。结论 动态监测血清 MMP-3 变化可以用于评估 RA 的疾病活动程度。

关键词: 类风湿关节炎; 基质金属蛋白酶 3; 甲氨蝶呤

中图分类号: R446.6

文献标志码: A

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性自身免疫性疾病,可导致关节破坏、残疾和患者过早死亡^[1-3]。在 RA 治疗中,动态监测 RA 的疾病活动度对于 RA 的预后至关重要。基质金属蛋白酶 3(matrix metalloproteinase 3, MMP-3)作为与 RA 关节滑膜炎的直接相关指标,近期逐渐受到国内外学者的关注^[4]。研究表明, MMP-3 结合 7-关节超声评分可以用于评估中度到重度 RA 的疾病活动度和治疗反应监测^[5]。Shiozawa 等^[6]研究表明, MMP-3 可以作为接受甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)单药治疗的 RA 患者结构缓解的预测因子。本研究旨在通过检测 RA 患者组与健康人对照组血清 MMP-3 水平及其临床相关指标,初步探究 MMP-3 在 RA 疗效观察中的临床价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集 2020 年 5 月至 2021 年 4 月在南京大学医学院附属鼓楼医院就诊的 RA 患者 81 例,其中,男 15 例,女 66 例,年龄范围 16~79 岁。RA 患者符合美国风湿病学会及欧洲抗风湿病

联盟(American College of Rheumatology/and the European League Against Rheumatism, ACR/EULAR) 2010 年共同修订的 RA 诊断标准。选择同期体检健康者 30 名作为对照组,其中,男 10 名,女 20 名,年龄范围 26~79 岁,无严重心、肝、肾等功能不全,无神经或精神疾病,无恶性肿瘤。两组间年龄、性别差异无统计学意义,见表 1。同时,收集 8 例严格入组的经 MTX 稳定剂量治疗的成年活动性类风湿关节炎患者,动态检测其治疗前、第 28 天、第 57 天、第 85 天的血清 MMP-3 水平。收集 28 处关节压痛关节数(tender joint count, TJC28)、28 处关节肿胀关节数(swollen joint count, SJC28)、28 处关节疾病活动度评分(disease activity score, DAS28) C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、DAS28-ESR、患者总体评价等疗效评价指标,根据 ACR 改善标准^[7]对 RA 患者治疗的临床反应进行评估。本研究得到南京大学医学院附属鼓楼医院伦理委员会审核批准(项目编号:2021-280-01)。

1.2 主要仪器与试剂 AU5400 全自动生化免疫分析仪(美国贝克曼库尔特公司), ADC ELISA 600

作者简介: 杨平, 1989 年生, 男, 主管技师, 硕士, 长期从事免疫学检验工作。

通信作者: 沈瀚, 主任技师, E-mail: shenhan10366@sina.com。

全自动酶免工作站(烟台艾德康公司), SRS100/II 全自动血液沉降检测仪(奥地利格雷那公司), iFlash3000 化学发光免疫分析仪(深圳亚辉龙公司), sprinter XL 全自动间接免疫荧光操作/酶联免疫一体机(德国欧蒙公司)。CRP 测定试剂盒、抗链球菌溶血素 O (antistreptolysin O, ASO) 测定试剂盒、类风湿因子(rheumatoid factor, RF) 测定试剂盒(四川迈克公司), 抗突变型瓜氨酸化波形蛋白抗体(anti-mutated citrullinated vimentin antibody, anti-MCV) 测定试剂盒(德国 ORGENTEC 公司), 抗角蛋白抗体(antikeratin antibody, AKA) 测定试剂盒(德国欧蒙公司), 抗环瓜氨酸肽抗体(anti-cyclic citrullinated peptide antibody, anti-CCP) 测定试剂盒(深圳亚辉龙公司), MMP-3 测定试剂盒(中国积水医疗科技公司)。

1.3 样本采集与检测方法 收集所有受试者的空腹外周血, ESR 检测用枸橼酸钠抗凝管, 其余项目用分离胶促凝管, 以 3 000×g 相对离心力的速度离心 10 min, 分离血清, 剩余标本于 -80 °C 保存待用。在 AU5400 全自动生化免疫分析仪上采用胶乳免疫比浊法分别检测 RF、MMP-3, 免疫比浊法检测 CRP、ASO; 在 iFlash3000 化学发光免疫分析仪上采用吡啶酯化学发光法检测 anti-CCP; 在 ADC ELISA 600 全自动酶免工作站采用 ELISA 法检测 anti-

MCV; 在 SRS100/II 全自动血液沉降检测仪上采用魏氏法检测 ESR; 在 sprinter XL 全自动间接免疫荧光操作/酶联免疫一体机上采用间接免疫荧光法检测 AKA, 并在欧蒙 EUROstar III plus 显微镜下进行荧光片判读。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 24.0 及 Graphpad prism8.0 软件进行统计分析。计数资料中的分类数据采用频数和百分比($n, %$)表示, 组间比较采用卡方检验或 Fisher 确切概率法; 正态分布的定量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用 t 检验, 采用 Pearson 相关检验相关性; 非正态分布的定量数据用中位数(25 分位数, 75 分位数) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验, 采用 Spearman 秩相关检验相关性; 患者治疗前后指标若服从正态分布, 治疗前后差异分析采用配对样本 t 检验, 若不服从正态分布, 则采用配对秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本资料 RA 患者 CRP 和 ASO 均较正常组差异无统计学意义, P 值分别为 0.725 和 0.074; RA 组的 AKA、RF、anti-CCP、anti-MCV、MMP-3、ESR 均较正常组差异有统计学意义, P 值均为 0.000。见表 1。

表 1 研究对象血清指标基本信息 [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	健康人对照 ($n=30$)	类风湿关节炎 ($n=81$)	Z 值	P 值
男 [$n(\%)$]	10(33.33)	15(18.52)	-1.652	0.099
年龄(岁)	39.50(34.75, 60.25)	52.00(39.00, 57.50)	-1.647	0.099
AKA 阳性 [$n(\%)$]	0(0.00)	42(59.16)	-5.292	0.000
CRP (mg/L)	10.85(10.58, 11.40)	10.50(3.85, 27.05)	-0.352	0.725
RF (IU/mL)	3.70(2.18, 6.95)	102.00(31.15, 257.00)	-7.937	0.000
ASO (IU/mL)	55.65(24.63, 103.18)	31.00(25.00, 52.00)	-1.787	0.074
anti-CCP (RU/mL)	1.00(1.00, 1.37)	138.66(39.76, 200.00)	-8.027	0.000
anti-MCV (U/mL)	1.42(0.001, 5.57)	192.50(53.45, 648.15)	-7.889	0.000
MMP-3 (ng/mL)	54.80(37.53, 62.30)	85.40(55.10, 262.45)	-4.121	0.000
ESR (mm/h)	11.00(4.75, 20.00)	24.00(12.00-51.50)	-4.059	0.000

注:与健康人对照组相比,采用 Mann-Whitney U 检验。AKA, 抗角蛋白抗体(antikeratin antibody); ASO, 抗链球菌溶血素 O (anti-streptolysin O); anti-MCV, 抗突变型瓜氨酸化波形蛋白抗体(anti-mutated citrullinated vimentin antibody); ESR, 红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate)。

2.2 MMP-3 水平与临床各项指标之间的相关性分析 经 Spearman 相关分析, RA 组患者血清 MMP-3 水平与 ESR、CRP 和 RF 呈正相关, 与 ASO、anti-CCP 及 anti-MCV 无明显相关性。见表 2。

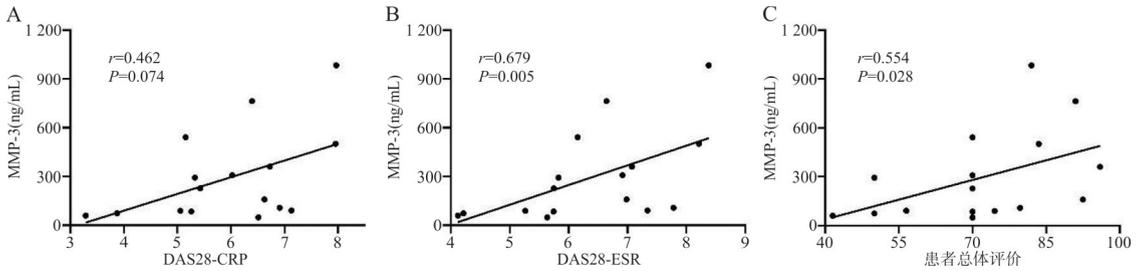
表 2 81 例 RA 患者 MMP-3 水平与其他指标的相关性分析

项目	r_s 值	P 值
年龄	0.201	0.072
CRP	0.700	0.000
RF	0.262	0.018
ASO	-0.311	0.101
CCP	-0.127	0.258
MCV	-0.135	0.259
ESR	0.522	0.000

2.3 血清 MMP-3 对经 MTX 治疗的活动性 RA 患者的疗效评估 多数患者经 MTX 治疗后 MMP-3 水平呈下降趋势。治疗前与治疗 85 d 的 MMP-3 水平差异有统计学意义,见表 3。同时,临床数据也表明,RA 活动性患者经 MTX 治疗 85 d 后的 TJC28、SJC28 和 DAS28-CRP 评分均显著降低,见表 3。进一步分析发现,MMP-3 与 DAS28-ESR 评分和患者总体评价呈正相关,相关系数分别为 0.679 和 0.554,见图 1。

表 3 8 例 RA 患者经 MTX 治疗的疗效评估($\bar{x}\pm s$)

项目	MTX 治疗前 (n=8)	MTX 治疗 85 d (n=8)	t 值	P 值
MMP-3 (ng/mL)	238.64±217.14	119.05±131.63	2.74	0.03
CRP (mg/L)	33.00±29.24	31.64±47.36	0.12	0.91
ESR (mm/h)	43.50±13.09	36.75±21.13	1.88	0.10
TJC28	18.38±8.55	11.63±7.82	2.68	0.03
SJC28	14.88±7.90	8.63±5.63	3.35	0.01
DAS28-CRP	6.51±0.94	5.45±1.48	3.51	0.01
DAS28-ESR	6.84±0.98	5.91±1.41	2.04	0.08
患者总体评价	76.90±12.85	66.50±17.82	2.35	0.05



注:A,治疗前后血清 MMP-3 与 DAS28-CRP 评分的相关性分析;B,治疗前后血清 MMP-3 与 DAS28-ESR 评分的相关性分析;C,治疗前后血清 MMP-3 与患者总体评价的相关性分析。

图 1 治疗前与治疗后 85 d 血清 MMP-3 与 DAS28-CRP 评分、DAS28-ESR 评分以及患者总体评价的相关性分析

3 讨论

RA 主要临床表现为侵蚀性关节炎,可发生于任何年龄^[8]。目前,RA 的发病机制尚不明确,以滑膜炎、血管翳形成为基本病理表现,最终导致关节畸形和功能丧失^[9]。当前 RA 临床治疗重点在于寻求有效指标来预测疾病活动性,以便于评估疾病的进展和选择合适的治疗方案。MMP-3 产生于滑膜细胞和软骨细胞,其基质特异性是构成软骨的蛋白多糖。通常情况下伴随 RA 的发展,滑膜呈现炎症反应而引起增生。随着滑膜增生,MMP-3 在滑膜表层细胞上大量产生。滑膜表层细胞上产生的 MMP-3 存储在关节液中,关节液中的 MMP-3 经由血管和淋巴管转移到血液中循环。MMP-3 由软骨细胞和滑膜细胞被炎症细胞因子刺激而分泌,并密切参与软骨破坏。除了软骨破坏作用外,MMP-3 还可以激活其他 MMP,包括 MMP-2 和 MMP-9,这是导致软骨降解的重要原因^[10]。RA 患者的滑膜液含有丰富的 MMP-3,在滑膜液的 MMP-3 敏感区域切割蛋白多糖核心蛋白。血清 MMP-3 水平是滑膜炎与 RA 疾病活动相关的直接指标^[11]。RA 患者血清、关节滑膜及滑液均有 MMP 的高表达,MMP-3 水平可以作为 RA 诊疗观察的标志物^[12-13]。

本研究表明,RA 组患者的 MMP-3 水平显著高于健康人对照组,差异有统计学意义。同时在与临

床指标的相关性分析中,发现血清 MMP-3 与 ESR、CRP、RF 具有一定的相关性,其中与 CRP 的相关性最好($r_s = 0.700, P < 0.000$),ESR 次之($r_s = 0.522, P < 0.000$)。血清 MMP-3 与 ESR、CRP 以及 RF 水平呈正相关,这与孙艳艳等^[14]研究结果一致,这可能是由于 RA 患者处于炎症状态时,会释放出大量细胞因子,导致 CRP 和 ESR 升高的同时也刺激 MMP-3 的高表达,所以 MMP-3 可作为反映 RA 疾病炎症状态严重程度的标志物。同时,血清 MMP-3 与 CCP 相关性分析结果与王晓霞等^[15]研究结果一致,MMP-3 与 CCP 并未见相关性,即阳性或高滴度的 RF、APF、AKA、anti-CCP 存在时,MMP-3 水平不一定同时增高。

MTX 是目前治疗 RA 的一线药物,各国指南中均建议,一经确诊 RA,推荐首选单用 MTX 作为治疗药物。本研究对 8 例经 MTX 稳定剂量治疗过程中的成年活动性 RA 患者的血清样本进行治疗前、后血清 MMP-3 的动态监测。研究发现,血清 MMP-3 整体水平随着治疗周期的不断推进而逐渐下降。与基线水平相比,在治疗后 85 d TJC28、SJC28、DAS28-CRP、DAS28-ESR、患者总体评价等疗效评价指标均呈下降趋势,表明 RA 患者经 MTX 治疗临床症状整体得到改善,其中,治疗前后血清 MMP-3、TJC28、SJC28、DAS-CRP 均差异显著,这与 Lerner 等^[4]报道的 MMP-3 可以作为 RA 患者活动

性和治疗效果评估的可靠标志物的结论相一致。然而,个别患者血清 MMP-3 出现先升后降的趋势且其关节痛症状仍在持续,可能是由于个体差异性,部分患者对 MTX 单药治疗不敏感,疗效进展比较慢,建议需要更换治疗方案或者采取联合用药^[16]。相关性分析发现,血清 MMP-3 与 DAS28-ESR 评分和患者总体评价呈正相关,相关系数分别为 0.679 和 0.554,以上结果均表明血清 MMP-3 对 RA 的疗效评估具有一定的价值。

综上所述,本研究提示血清 MMP-3 可以用于动态监测 RA 的治疗效果。但本次研究没有对全部 RA 患者进行 DAS28 评分以及相关影像学的跟踪,因此在后续的研究中将完善 DAS28 评分和关节超声、影像学检查,以便更精准地评估 RA 患者的活动性。本研究的局限性还在于单中心临床数据研究,可能存在选择性、地域性偏倚。在后续的研究中将扩大样本量及进行多区域、多中心合作,建立 MMP-3 在其他 RA 治疗方案中的疗效评估模型,更好地应用于 RA 患者的预后评估。

4 参考文献

- [1] Rheumatoid arthritis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4: 18002.
- [2] McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. N Engl J Med, 2011, 365(23): 2205-2219.
- [3] Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis[J]. Nature, 2003, 423(6937): 356-361.
- [4] Lerner A, Neidhöfer S, Reuter S, et al. MMP3 is a reliable marker for disease activity, radiological monitoring, disease outcome predictability, and therapeutic response in rheumatoid arthritis[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2018, 32(4): 550-562.
- [5] Zhou L, Wang G, Liu X, et al. Matrix metalloproteinase-3 and the 7-joint ultrasound score in the assessment of disease activity and therapeutic efficacy in patients with moderate to severe rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2017, 19: 250.
- [6] Shiozawa K, Yamane T, Murata M, et al. MMP-3 as a predictor for

structural remission in RA patients treated with MTX monotherapy [J]. Arthritis Res Ther, 2016, 18: 55.

- [7] Felson DT, Anderson JJ, Boers M, et al. American College of Rheumatology. Preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 1995, 38(6): 727-735.
- [8] 中华医学会风湿病学分会. 2018 中国类风湿关节炎诊疗指南 [J]. 中华内科杂志, 2018, 57(4): 242-251.
- [9] Burmester GR, Pope JE. Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis[J]. Lancet, 2017, 389(10086): 2338-2348.
- [10] Tokai N, Yoshida S, Kotani T, et al. Correction: Serum matrix metalloproteinase 3 levels are associated with an effect of iguratimod as add-on therapy to biological DMARDs in patients with rheumatoid arthritis[J]. PLoS One, 2019, 14(1): e0211750.
- [11] Galil SMA, El-Shafey AM, Hagrass HA, et al. Baseline serum level of matrix metalloproteinase-3 as a biomarker of progressive joint damage in rheumatoid arthritis patients[J]. Int J Rheum Dis, 2016, 19(4): 377-384.
- [12] Takeshita M, Kuno A, Suzuki K, et al. Alteration of matrix metalloproteinase-3 O-glycan structure as a biomarker for disease activity of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2016, 18(1): 112.
- [13] Houseman M, Potter C, Marshall N, et al. Baseline serum MMP-3 levels in patients with Rheumatoid Arthritis are still independently predictive of radiographic progression in a longitudinal observational cohort at 8 years follow up[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(1): R30.
- [14] 孙艳艳, 刘丽, 李晔, 等. 血清基质金属蛋白酶 3 在类风湿关节炎中的临床研究[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(6): 666-669.
- [15] 王晓霞, 李小峰, 王来远, 等. 类风湿关节炎血清基质金属蛋白酶-3 水平及其影响因素的探讨[J]. 中华风湿病学杂志, 2004, 8(1): 16-19.
- [16] 王丽杰. 来氟米特与甲氨蝶呤联合用药方案治疗类风湿关节炎患者的临床效果[J]. 中国医药指南, 2022, 20(1): 76-79.

(收稿日期:2021-07-28)

(本文编辑:刘群)