

- fected embryos on pregnancy outcome[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2014, 172:10-14.
- [7] Cui AM, Cheng XY, Shao JG, et al. Maternal hepatitis B virus carrier status and pregnancy outcomes: a prospective cohort study[J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2016, 16: 87.
- [8] Hu Y, Ding YL, Yu L. The impact of intrahepatic cholestasis of pregnancy with hepatitis B virus infection on perinatal outcomes[J]. Ther Clin Risk Manag, 2014, 10: 381-385.
- [9] 李飞凤, 黄启涛, 马思原, 等. 慢性乙型肝炎孕妇 HBeAg 阳性与不良妊娠结局关系研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2016, 32(7): 680-684.
- [10] 宁琴. 乙型肝炎重症化研究现状和发展趋势[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(2): 81-84.
- [11] Lammert F, Marschall H, Glantz A, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: molecular pathogenesis, diagnosis and management[J]. J Hepatol, 2000, 33(6): 1012-1021.
- [12] Glantz A, Marschall HU, Mattsson LA. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: relationships between bile acid levels and fetal complication rates[J]. Hepatology, 2004, 40(2): 467-474.
- [13] Geenes V, Chappell LC, Seed PT, et al. Association of severe intrahepatic cholestasis of pregnancy with adverse pregnancy outcomes: a prospective population-based case-control study[J]. Hepatology, 2014, 59(4): 1482-1491.
- [14] 高岁, 梁红, 陈颖, 等. 不同临床分度妊娠期肝内胆汁淤积症对围产儿结局及分娩方式的影响[J]. 实用医院临床杂志, 2011, 3(2): 147-148.
- [15] 顾莲萍. 275 例妊娠期肝内胆汁淤积症孕妇羊水性状与妊娠结局的研究[J]. 陕西医学杂志, 2014, 43(4): 438-449.
- [16] Ambros-Rudolph CM, Glatz M, Trauner MA, et al. The importance of serum bile acid level analysis and treatment with ursodeoxycholic acid in intrahepatic cholestasis of pregnancy—a case series from central Europe[J]. Arch Dermatol, 2007, 143(6): 757-762.
- [17] Wikstrom SE, Marschall HU, Ludvigsson JF, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy and associated adverse pregnancy and fetal outcomes: a 12-year population-based cohort study[J]. BJOG, 2013, 120(6): 717-723.
- [18] Ekiz A, Kaya B, Avci ME, et al. Alanine aminotransferase as a predictor of adverse perinatal outcomes in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Pak J Med Sci, 2016, 32(2): 418-422.
- [19] Lao TT, Sahota DS, Cheng Y, et al. Maternal hepatitis B surface antigen status and incidence of preeclampsia[J]. J Viral Hepat, 2013, 20(5): 343-349.

(收稿日期: 2017-03-21 修回日期: 2017-05-25)

• 临床研究 •

膝骨关节炎患者滑膜组织中 β -catenin 及 MMP-3 表达水平研究

桂向洪, 陈 晔

(黄梅县人民医院骨科, 湖北黄冈 435500)

摘要:目的 探讨膝骨关节炎(KOA)患者滑膜组织中 β -连环蛋白(β -catenin)及基质金属蛋白酶-3(MMP-3)表达水平与疾病严重程度的相关性。方法 选取 2014 年 1 月到 2015 年 6 月接受治疗的 100 例 KOA 患者作为观察组, 依据关节镜下软骨 Outerbridge 分级标准, 分为轻度组 52 例及重度组 48 例, 另选取同期健康体检者 40 例作为对照组。采集滑膜组织标本进行处理, 采用免疫组织化学染色与 Western blot 法检测 β -catenin, 采用 Envision 二步法检测 MMP-3, 采用 HSS 评分评估患者膝关节功能。结果 对照组 β -catenin 检测结果呈阴性, 重度 KOA 患者 β -catenin 表达水平低于轻度 KOA 患者, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。观察组 MMP-3 表达水平高于对照组, 且重度组高于轻度组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组 HSS 评分低于对照组, 且重度 KOA 患者 HSS 评分明显低于轻度 KOA 患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 β -catenin 及 MMP-3 与膝骨关节炎的发病机制及患者病程进展紧密相关, 且滑膜组织中 β -catenin 及 MMP-3 表达升高与 KOA 患者病情的加剧呈正相关。

关键词: β -catenin; 基质金属蛋白酶-3; 膝骨关节炎

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 20. 054

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)20-2931-03

膝骨关节炎(KOA)作为常见疾病之一, 具有发展缓慢的特点, 它可导致患者滑膜组织与韧带产生病变^[1]。该病主要发生于中老年患者, 高达 11% 的中老年人伴有 KOA 症状, 患者临床表现因疾病程度有所差异, 轻者出现关节疼痛与僵硬, 重者关节持续性深部胀痛, 甚至导致患者丧失活动能力^[2]。滑膜组织中 β -连环蛋白(β -catenin)主要分布于细胞质、细胞核与细胞膜等部位, 它是 Wnt 信号通路的枢纽力量, 其实质是一条多肽链, 氨基端有利于细胞形成稳定复合物, 羧基端则能够活化相应的 Wnt 靶基因转录。基质金属蛋白酶-3(MMP-3)可导致软骨基质与 II、IX、XI 型胶原的降解, 并调节 MMPs 的活性。在社会人口老龄化的环境下, KOA 在中老年人群中的发病率

逐年增高, 研究 KOA 的发病过程已经引起社会关注。本文研究了 KOA 患者 β -catenin 及 MMP-3 水平对病情的影响, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1 月到 2015 年 6 月于本院接受治疗的 100 例 KOA 患者作为观察组, 根据 Outerbridge 分级标准, 轻度组包括 I、II 级 KOA 患者 52 例, 重度组包括 III、IV 级 KOA 患者 48 例, 同期选取 40 例健康体检志愿者作为对照组, 在本院进行体检与相关膝骨关节检查, 取滑膜组织前均进行伦理学审查, 所有志愿者均符合实验要求。观察组男 41 例, 女 59 例, 平均(54.3±6.4)岁, 对照组男 23 例, 女 17 例, 平均

(52.7±5.7)岁。两组一般临床资料差异无统计学意义($P>0.05$)。所有纳入患者均符合如下标准:患者符合 Outerbridge 分级标准;近 3 个月膝关节反复疼痛;晨僵低于 30 min 且活动时伴有骨摩擦音;所有患者及家属均愿意配合此次实验。

1.2 方法 采集观察组与对照组滑膜组织标本,采用免疫组织化学染色法与 Western blot 法检测 β -catenin,采用 Envision 二步法对 MMP-3 进行检测,最后对患者进行 HSS 评分。

1.2.1 标本处理 使用生理盐水反复冲洗滑膜组织标本,待血迹及表面杂质处理干净后放入 EP 管中,先进行 1 min 的液氮速冻,随后置于 -80 °C 低温放置^[3]。收集时,滑膜组织用石蜡包埋切片与染色处理。

1.2.2 β -catenin 检测 取切片进行免疫组织化学染色,随后在 400 倍镜下观察颜色变化情况,在随机选取的 3~5 个视野下采用 Image ProPlus 6.0 来进一步处理图像,分析 β -catenin 表达量^[4]。Western blot 检测 β -catenin,需要分析区带感光密度数值,最终结果以目标条带和 β -actin 条带的灰度对比为准。

1.2.3 MMP-3 检测 严格依照试剂盒内要求对切片采取实验操作,应用 Envision 二步法对 MMP-3 表达进行定位检测,最终运用半定量积分分析对结果进行判断^[5],以此来表达 MMP-3 的阳性细胞状况。

1.3 评价指标 免疫组织化学染色检测 β -catenin:切片细胞染色呈棕色、棕黄色则为阳性细胞,阴性则为正常。Western blot 检测结果为阴性为正常。Envision 二步法检测 MMP-3:阳性细胞数<10%(0分),10%~25%(1分),25%~50%(2分),50%~70%(3分),70%~100%(4分);阳性细胞着色强度-、+、++、+++分别记为 0、1、2、3 分,最后统计 2 项得分之和。1~3 分为 MMP-3 低表达,4~7 分为高表达^[6]。HSS 评分系统分为 6 项,包括:疼痛 0~30 分,功能 0~22 分,活动度 0~18 分,肌力 0~10 分,屈曲畸形 0~10 分,稳定性 0~10 分。HSS 评分系统中,包含 5 个加分项目和 1 个减分项目,HSS 总分高于 85 分为优,70~84 分为良,60~69 分为中,低于 59 分为差。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件对研究中得到数据进行统计学分析。两组计量结果比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 轻、重度 KOA 与对照组 β -catenin 表达水平比较 对照组 β -catenin 表达呈阴性,重度 KOA 患者 β -catenin 表达水平低于轻度 KOA 患者,见表 1。

表 1 轻、重度 KOA 与对照组 β -catenin 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	免疫组织化学染色	Western blot
轻度组	52	156.76±8.37	0.24±0.04
重度组	48	113.23±11.79	0.45±0.02
对照组	40	阴性	阴性
<i>t</i>		2.114	2.247
<i>P</i>		0.037	0.031

2.2 轻、重度 KOA 与对照组 MMP-3 表达水平比较 观察组 MMP-3 表达水平高于对照组,且重度组高于轻度组,见表 2。

2.3 轻、重度 KOA 与对照组 HSS 评分比较 观察组 HSS 评分低于对照组,且重度 KOA 患者 HSS 评分明显低于轻度 KOA 患者,见表 3。

表 2 轻、重度 KOA 与对照组 MMP-3 表达水平比较(分, $\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	阳性细胞数得分	阳性细胞着色强度得分	总分
轻度	52	2.89±0.32	1.54±0.59	4.43±0.91
重度	48	3.97±0.42	2.41±0.32	6.38±0.74
对照组	40	1.25±0.23	1.56±0.32	2.81±0.57
<i>F</i>		4.476	5.011	4.512
<i>P</i>		0.039	0.033	0.037

表 3 轻、重度 KOA 与对照组 HSS 评分比较(分, $\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	加分项目得分	减分项目得分	HSS 总分
轻度	52	72.54±8.35	5.12±7.46	67.46±7.98
重度	48	60.41±7.92	13.99±8.53	46.48±9.76
对照组	40	89.72±6.47	4.05±7.48	85.67±8.45
<i>F</i>		4.902	4.214	5.802
<i>P</i>		0.027	0.042	0.018

3 讨 论

KOA 作为一种常见的慢性关节炎性疾病,其发病机制复杂多样,且受患者自身体质与生活环境的影响。患者最初的病理改变出现于关节软骨,基质蛋白酶作用于软骨进一步加剧降解作用,此时软骨细胞缓慢死亡导致关节软骨丢失^[6]。关节软骨的进一步退化性病变与滑膜组织的无菌性炎症是 KOA 患者的主要病变,本研究将 β -catenin 的研究转入滑膜组织方面,探讨了 β -catenin 表达对 KOA 患者病情的影响。

β -catenin 在 Wnt 信号通路转导中发挥重要作用,关系到细胞的生长、分化和增殖等^[7]。 β -catenin 在 Wnt 信号通路未激活状态下,在胞浆中被磷酸化并与阻遏蛋白结合,接着蛋白酶体在泛素修饰情况下将其分解^[8],但在 Wnt 信号通路成功激活状态下,细胞表层的跨膜受体 Frizzled 便会激活胞质中的卷曲蛋白,对 GSK-3 β 产生阻碍从而降低 β -catenin 的磷酸化分解, β -catenin 逐渐由细胞质向细胞核转移,并与 T 细胞/淋巴样增强因子结合,激活下游靶基因转录^[9]。本研究过程中,采用免疫组织化学染色与 Western-blot 这 2 种方法检测滑膜组织中 β -catenin 的表达量,结果发现对照组呈阴性表达,KOA 患者 β -catenin 的高表达成功激活 Wnt 信号通路,转录的大量下游靶基因加剧了软骨基质的分解,加重 KOA 病情,说明 β -catenin 表达的显著上调加剧患者的发病及病情程度。MMP-3 是 MMPs 成员中重要的一员,属于基质分解素类,可以有效降解蛋白多糖、层粘连蛋白、纤维连接蛋白、IV 型胶原^[10]。KOA 患者疼痛的主要原因是滑膜炎所致,它导致关节软骨与软骨下骨的破坏,且滑膜炎性反应自始至终参与了整个过程,崩解后的软骨碎屑会引发后续反应,此时 KOA 患者滑膜组织便会分泌软骨溶解酶(MMP-3 等)或者代偿性增生、肥厚,以此在关节腔内吸收分解已被磨损的关节软骨碎屑,但与此同时,正常的关节软骨卷入其中^[11]。同时,KOA 患者 MMP-3 的表达升高破坏了关节软骨与滑膜炎性反应过程,进一步刺激人体的伤害性感受系统,此时不仅让患者感受到了主观痛感,并且一部分炎性反应物质进入关节腔内,导致患者外周伤害性感器的阈值降低,此时 KOA 患者便会痛感更加敏感^[12]。本研究中,重度 KOA 患者 MMP-3 表达高于轻度 KOA 患(下转第 2940 页)

床意义、多抗体组合结果的解释,前后两次结果不一致时的解释,检验结果与临床预期诊断不符的解释以及不同医疗结构检查结果互认中出现的问题^[9]。对患者的咨询服务主要包括如何看懂检验报告单,即检验结果的解释;告知某检验项目的参考区间;检验结果正常还是异常;临床意义等。除诊断性报告外,由于对患者临床情况了解不足,不能轻易做出患病、治疗方面的答复。结果解释时特别注意参考区间、敏感度、特异度、医学决定水平、检验组合结果的解释等^[7]。

3.3 检查阶段 检验报告直接关系到患者能否得到准确和及时地诊断和治疗,保证检验报告的准确和及时,是检验后阶段质量保证工作的核心。检验阶段告一段落后,必须对检测系统是否完整、有效和检测过程是否在控情况下进行评审,结合患者有关信息,保证发出的检验结果的准确,同时保证检验结果发放的及时性。为使检验信息在诊断治疗中得到正确应用和发挥更大作用,临床实验室还必须做好咨询服务工作,通过不同方法和途径向患者、临床医生解决检验项目的选择、检验结果的解释等问题。

3.4 总结及持续改进 将 PDCA 循环管理应用于自身抗体检验后阶段质量保证工作中后,自身抗体检验后阶段质量控制进一步规范化,患者满意度由 95% 提升至 98%,报告差错率低于 0.01%,临床服务的综合质量得以提升,通过严把检验报告审核发放关,提高了检测结果的可信度,减少了医疗投诉事件。无针对性的检验是无效检验,检验项目对该患者疾病的针对性提高,防止了“过度检查”和“漏检”,虽然正确选择检验项目主要是临床医生的职责,但临床实验室也有责任建议或帮助选择。

4 应用 PDCA 循环提高自身抗体检验后阶段质量控制的体会

PDCA 循环是环环相扣,互相促进,阶梯式上升的动态管理过程^[10]。推动循环的关键在于“处理”阶段。首先要提出目标,然后制订计划,该计划包括目标以及实现目标需要采取的

措施;之后再进行检查,判断是否实现了预期效果及达到预期的目标,找出问题和原因后就要进行处理,将经验和教训制订成标准、形成制度予以落实^[3]。研究者运用 PDCA 循环管理后,自身抗体检测的质量意识进一步加强,自身抗体检测能力和实验室管理水平进一步提升,质量持续改进效果显著。

参考文献

- [1] 潘沼山,孙方敏,黄始振. 现代管理学[M]. 北京:科学出版社,2011:213-215.
- [2] 吴世木. PDCA 循环在检验与临床沟通中的应用体会[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(16):2044.
- [3] 黄学忠. PDCA 循环在检验科规范化管理中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(15):2117.
- [4] 李永哲. 自身抗体检测技术临床推广应用和质量保证工作中应重视的问题[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(9):769-773.
- [5] 王兰兰. 自身抗体检测的应用与质量保障原则[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(10):987-990.
- [6] 闫惠平. 自身免疫性肝病的自身抗体检测及报告规范[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(6):595-597.
- [7] 申子瑜,李萍. 临床实验室管理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:107-112.
- [8] 黄华翠. 检验报告审核中的问题及应对策略[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(18):2572.
- [9] 邱梅婷. 对 1 852 例检验科门诊咨询的调查分析[J]. 中国实用医药,2009,4(26):235-236.
- [10] 潘小梁,宋朝辉,梁巧米. PDCA 循环在临床输血管理中的应用[J]. 医院管理论坛,2012,29(8):34.

(收稿日期:2017-03-12 修回日期:2017-05-16)

(上接第 2932 页)

者,而 MMP-3 的高表达状态激活了其他 MMPs 成员,加重炎症反应,共同降解关节软骨。医护人员对 2 组 KOA 患者进行 HSS 评分考察,通过用户加分项目与减分项目的测评,评价 β -catenin 及 MMP-3 对患者病情的状况,发现在 KOA 患者的滑膜组织当中, β -catenin 及 MMP-3 的表达水平与疾病的严重程度呈正相关,且随着疾病的加剧观察组患者的 HSS 评分下降,生活质量受到影响。

综上所述, β -catenin 及 MMP-3 与膝骨关节炎的发病机制及患者病程紧密相关,且滑膜组织中 β -catenin 及 MMP-3 表达量升高与 KOA 患者病情的加剧呈正相关。

参考文献

- [1] 魏国,梁杰,许维亚,等. β -连环蛋白和基质金属蛋白酶-3 在膝骨关节炎滑膜组织的表达及意义[J]. 中华实验外科杂志,2016,33(11):2481-2484.
- [2] 马喜喜,徐胜前,沈晓濛,等. 外周血 β -连环蛋白和 Dickkopf 1 水平与类风湿关节炎骨与关节损伤的相关性研究[J]. 中华风湿病学杂志,2013,17(7):468-473.
- [3] 代龙金,邓紫玉,尹昭,等. β -连环蛋白与膝骨关节炎相关性研究[J]. 昆明医科大学学报,2015,36(12):120-122.
- [4] 向珍蛹,茅建春,曲环汝,等. 浦东上钢社区中老年人群膝骨关节炎危险因素流行病学研究[J]. 上海交通大学学报(医学版),2013,33(3):318-322.

- [5] 艾倩,杨会明. 骨性关节炎关节液中白细胞介素 6 和基质金属蛋白酶 3 的表达[J]. 中国组织工程研究,2015,19(33):5259-5263.
- [6] 黄捷,冯艳,韩凌,等. 核糖核酸干扰基质金属蛋白酶-3 基因对大鼠血管平滑肌细胞增殖的影响[J]. 中国循环杂志,2015,30(2):159-163.
- [7] 耿学丽,武英伟,孙常铭,等. 类风湿关节炎患者基质金属蛋白酶-3 的检测[J]. 广东医学,2016,37(4):555-557.
- [8] 马剑达,王晓莹,莫颖倩,等. 血清基质金属蛋白酶 3 评价类风湿关节炎患者病情活动的价值[J]. 中华医学杂志,2015,95(47):3823-3828.
- [9] 殷寒秋,马华,刘春梅,等. 瘦素和基质金属蛋白酶-3 与类风湿关节炎骨破坏相关性研究[J]. 中国免疫学杂志,2013,29(12):1285-1287.
- [10] 赵金芝. 中老年膝骨关节炎发病因素及相关危险因素分析[J]. 山西医药杂志,2016,45(3):250-252.
- [11] 周凌,宋婧,陈凌,等. 血清基质金属蛋白酶-3 和 7 个关节超声评分在类风湿关节炎病情活动性评估中的应用[J]. 中华内科杂志,2016,55(7):531-534.
- [12] 马静,郭雄,史晓薇,等. 大骨节病患者关节软骨基质金属蛋白酶和基质金属蛋白酶组织抑制剂的变化[J]. 中华地方病学杂志,2015,34(5):344-348.

(收稿日期:2017-04-07 修回日期:2017-06-06)