

强直性脊柱炎患者血清 MMP-9、DKK-1 水平与疾病活动度的关系*

焦阿金,何川疆,许爱敏[△]

(新疆喀什地区第一人民医院检验科,新疆喀什 844000)

摘要:目的 探讨强直性脊柱炎(AS)患者血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、Dickopff 相关蛋白-1(DKK-1)水平与疾病活动度的关系。方法 将该院风湿免疫科接诊的 145 例 AS 患者纳入 AS 组,并根据疾病活动指数(BASDAI)评分,分为非活动期组(<4 分)48 例、活动期组(≥4 分)97 例,给予肿瘤坏死因子-α(TNF-α)拮抗剂治疗 24 周;另选取年龄、性别相匹配的健康体检者 62 例为对照组;测定血沉(ESR)、C 反应蛋白(CRP)、MMP-9、DKK-1 水平和疾病活动度[BASDAI、AS 功能指数(BASFI)、AS 病情活动度评分(ASDAS)],并分析 DKK-1、MMP-9 与 BASDAI、BASFI、ASDAS 评分的关系。结果 AS 组 ESR 和血清 CRP、MMP-9 水平均高于对照组($P<0.05$),血清 DKK-1 水平低于对照组($P<0.05$);活动期组血清 DKK-1 低于非活动期组($P<0.05$),血清 MMP-9 水平高于非活动期组($P<0.05$);AS 患者治疗后血清 DKK-1、AS 脊柱评分(mSASSS)评分均无明显变化($P>0.05$),MMP-9 和 BASDAI、BASFI、ASDAS 评分均明显下降($P<0.05$);相关性分析显示,DKK-1 与 BASDAI、BASFI、ASDAS 评分无明显相关性($P>0.05$);MMP-9 与 BASFI 评分不相关($P>0.05$),与 BASDAI、ASDAS 评分呈正相关($P<0.05$)。结论 AS 患者血清 DKK-1 呈低表达,MMP-9 呈高表达,TNF-α 拮抗剂能明显下调 MMP-9 水平,对 DKK-1 无明显影响,MMP-9 可反映 AS 的疾病活动度,DKK-1 与疾病活动度无明显相关。

关键词:强直性脊柱炎; 基质金属蛋白酶-9; Dickopff 相关蛋白-1; 疾病活动度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.08.011

中图法分类号:R446.11

文章编号:1673-4130(2019)08-0935-04

文献标识码:A

Relationship between serum levels of MMP-9 and DKK-1 and disease activity in patients with ankylosing spondylitis*

JIAO Ajin, HE Chuanjiang, XU Aimin[△]

(Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Kashgar Region in Xinjiang, Kashgar, Xinjiang 844000, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between serum levels matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and Dickopff-related protein-1 (DKK-1) and disease activity in patients with ankylosing spondylitis (AS). **Methods** 145 cases of patients with AS admitted to rheumatology and immunology department of our hospital were included in AS group. According to the disease activity index Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) score, they were divided into inactive phase group (<4 points, 48 cases) and active phase group (≥4 points, 97 cases). The two group were treated with antagonist of tumor necrosis factor-α (TNF-α) for 24 weeks. Another 62 healthy examiners with matched age and gender were selected as control group. The levels of erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), MMP-9 and DKK-1 and disease activity (BASDAI, BASFI, ASDAS) were measured, and the relationship between DKK-1, MMP-9 and BASDAI, BASFI, ASDAS scores were analyzed. **Results** The levels of ESR and serum CRP and MMP-9 in AS group were higher than those in control group ($P<0.05$) while serum DKK-1 level was lower than that in control group ($P<0.05$). Serum DKK-1 level in active phase group was lower than that in inactive phase group ($P<0.05$) while serum MMP-9 level was higher than that in inactive phase group ($P<0.05$). There was no significant change in serum DKK-1 level, mSASSS score after treatment in AS patients ($P>0.05$), and the MMP-9 level and scores of BASDAI, BASFI and ASDAS were significantly decreased ($P<0.05$). Correlation analysis

* 基金项目:喀什地区科学技术局科学研究与技术开发计划项目(KS2017032)。

作者简介:焦阿金,女,主管技师,主要从事骨髓形态学研究工作。△ 通信作者,E-mail:4143464336@qq.com。

本文引用格式:焦阿金,何川疆,许爱敏.强直性脊柱炎患者血清 MMP-9、DKK-1 水平与疾病活动度的关系[J].国际检验医学杂志,2019,40(8):935-938.

showed that there was no significant correlation between DKK-1 and BASDAI, BASFI, ASDAS scores ($P > 0.05$). MMP-9 was not correlated with BASFI score ($P > 0.05$), and was positively correlated with BASDAI and ASDAS scores ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum DKK-1 is lowly expressed in AS patients, and MMP-9 is highly expressed. TNF- α antagonist can significantly down-regulate MMP-9 level, but has no significant effects on DKK-1. MMP-9 can reflect the disease activity of AS, and DKK-1 is not significantly corrected with disease activity.

Key words: ankylosing spondylitis; matrix metalloproteinase-9; Dickopff-related protein-1; disease activity

强直性脊柱炎(AS)是以中轴脊柱关节为主要病变部位,并累及脊椎关节、外周关节、骶髂关节及其邻近肌腱、韧带等部位的慢性系统性炎性疾病^[1]。该病主要的病理特征为肌腱附着点炎和韧带骨赘形成,好发于 20~30 岁的青年,发病隐匿,早期仅表现为外周或骶髂部关节不适,往往被忽视,且易与其他脊柱或外周关节疾病相混淆,导致延误诊治,致使病情持续进展,甚至出现劳动力丧失,严重影响患者的生活质量,还给患者和社会带来巨大的经济压力^[2]。最新的研究发现,基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、Dickopff 相关蛋白-1(DKK-1)在 AS 的疾病发生和发展中具有重要的作用,但对于两者与 AS 疾病活动度的关系尚不清楚^[3]。本研究对本院接诊的 145 例 AS 患者进行了研究,旨在探讨 MMP-9、DKK-1 与该病疾病活动度的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2015 年 1 月至 2017 年 1 月本院风湿免疫科接诊的 145 例 AS 患者纳入 AS 组,纳入标准:(1)符合 AS 的诊断标准^[4];(2)年龄 20~70 岁;(3)病程超过半年;(4)经本院医学伦理委员会批准;(5)签署知情同意书。排除标准:(1)合并累及关节或脊柱的其他疾病;(2)合并自身免疫性疾病;(3)既往有恶性肿瘤史;(4)哺乳期或妊娠期妇女;(5)合并甲状腺等内分泌系统疾病;(6)合并感染性疾病;(7)合并严重心、肝、肺等重要脏器疾病。其中男性 127 例,女性 18 例;平均年龄(37.26±4.85)岁;平均病程(4.15±1.03)年;平均体质量指数(BMI)(25.78±4.07)kg/m²。另选择同期性别、年龄、BMI 相匹配的 62 例体检健康者为对照组,年龄 21~69 岁,平均(37.08±4.81)岁;男性 51 例,女性 11 例;平均 BMI(25.35±4.02)kg/m²;经体检确认各项常规检查结果均正常,排除风湿性疾病、感染性疾病、感染性疾病及明显器质性疾病者。

1.2 方法 根据 AS 疾病活动指数(BASDAI)评分,将 145 例 AS 患者进一步分为非活动期组(BASDAI 评分<4 分)48 例,活动期组(BASDAI 评分≥4 分)97 例。所有患者均给予 24 周的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)拮抗剂益赛普(上海中信国健药业股份有限公司,国药准字 S20050059,25 mg/瓶)25 mg/次,2 次/周。用非抗凝管采集对照组和 AS 组治疗前后的外周静脉血 4 mL,静置后 35 r/min 离心 15 min,取上清液,存于-80℃冰箱待测。

1.3 观察指标 (1)生物学指标:采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清 C 反应蛋白(CRP)、MMP-9、DKK-1 水平,试剂盒均购于美国 R&D 公司,严格按照说明书步骤进行操作;采用普朗 PUC-2068 全自动动态血沉仪测定红细胞沉降率(ESR);比较 AS 组治疗前与对照组各临床指标,比较活动期组与非活动期组血清 MMP-9、DKK-1 水平,比较 AS 组治疗前后血清 MMP-9、DKK-1 水平。(2)疾病活动度:采用 BASDAI、AS 功能指数(BASFI)、AS 病情活动度评分(ASDAS)观察 AS 组治疗前后的疾病活动度,采用修改后的 AS 脊柱评分(mSASSS)评估 AS 组治疗前后病情改善情况,由颈椎和腰椎评分共同组成,总分 0~72 分,评分越高表示脊柱损伤越严重^[5]。(3)相关性分析:采用 Pearson 相关系数分析 MMP-9、DKK-1 与 BASDAI、BASFI、ASDAS 评分间的关系。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行 t 检验,计数资料以率或百分比表示,行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AS 组与对照组各临床指标比较 AS 组 ESR 和血清 CRP、MMP-9 水平均高于对照组,血清 DKK-1 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 AS 组与对照组各临床指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	性别(男/女,n/n)	BMI(kg/m ²)	CRP(mg/L)	ESR(mm/h)	DKK-1(pg/mL)	MMP-9(ng/mL)
AS 组	145	37.26±4.85	127/18	25.78±4.07	26.07±4.19	34.59±5.63	72.07±7.29	96.48±7.36
对照组	62	37.08±4.81	51/11	25.35±4.02	3.15±0.82	8.96±2.78	98.19±8.73	66.62±5.73
t/χ^2		0.245	1.023	0.699	42.667	34.079	22.221	28.456
P		0.807	0.312	0.486	0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 活动期组与非活动期组血清 DKK-1、MMP-9 水平比较 活动期组血清 DKK-1 低于非活动期组,血清 MMP-9 水平高于非活动期组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 AS 组治疗前后各指标比较 AS 患者治疗后血清 DKK-1、mSASSS 评分均无明显变化($P > 0.05$),MMP-9 和 BASDAI、BASFI、ASDAS 评分均明显下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 活动期组与非活动期组血清 DKK-1、MMP-9 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	DKK-1(pg/mL)	MMP-9(ng/mL)
活动期组	97	69.85±7.03	102.37±10.59
非活动期组	48	76.56±7.74	84.57±7.06
t		5.229	7.576
P		0.000	0.000

表 3 AS 组治疗前后各指标比较($\bar{x} \pm s$)

时间	n	DKK-1(pg/mL)	MMP-9(ng/mL)	BASDAI(分)	BASFI(分)	ASDAS(分)	mSASSS(分)
治疗前	145	72.07±7.29	96.48±7.36	5.07±1.43	4.05±1.21	3.69±1.14	45.78±7.23
治疗后	145	73.18±7.42	81.09±6.23	1.74±0.54	1.86±0.59	1.85±0.57	46.25±7.49
t		1.285	19.219	26.233	19.590	17.384	2.895
P		0.200	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004

2.4 DKK-1、MMP-9 与 AS 疾病活动度的相关性分析 相关性分析显示,DKK-1 与 BASDAI、BASFI、ASDAS 评分无明显相关性($P > 0.05$);MMP-9 与 BASFI 评分不相关($P > 0.05$),与 BASDAI、ASDAS 评分呈正相关($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 DKK-1、MMP-9 与 AS 疾病活动度的相关性分析

项目	BASDAI	BASFI	ASDAS
DKK-1			
r	-0.319	-0.148	-0.215
P	0.067	0.263	0.327
MMP-9			
r	0.489	0.288	0.453
P	0.031	0.075	0.038

3 讨 论

目前,AS 的临床诊断主要依赖骶髂关节 X 线检查和患者临床表现,但 AS 发病早期不易察觉,部分患者临床表现较轻微,如低热、消瘦、轻度贫血、乏力等,X 线检查也无明确的骶髂关节炎表现,极易被忽视,延误病情,关节炎症反应后出现纤维化和钙化,形成骨赘,脊椎的柔软度进行性下降,严重者甚至出现竹节状脊柱,伸展或弯曲困难^[6]。过往 AS 疾病活动度的预测主要以 BASDAI 为主,但 BASDAI 主观性较强,常用的生物学指标(ESR、CRP)虽能在一定程度上反映 AS 的疾病进展,但灵敏度和特异度均较低,因此,临床工作中,寻找能准确预测 AS 疾病进展和疾病活动度的生物标记物已迫在眉睫^[7]。本研究对本院接诊的 145 例 AS 患者进行了研究,发现 AS 患者血清 DKK-1 呈低表达,MMP-9 呈高表达。

Wnt 信号通路在骨平衡和成骨细胞分化过程中极为关键, β -catenin 能正向调节 Wnt 信号通路,增加骨密度,而 DKK-1 是 Wnt 信号通路的抑制因子,能拮抗 β -catenin 的稳定表达,降低骨密度,抑制骨形成^[8]。刘亚等^[9]研究表明,DKK-1 能明显抑制骨细胞的存活,对于关节炎大鼠,阻断 DKK-1 能显著降低骨细胞数量,减少骨吸收,下调骶髂关节融合。本研究中,AS 组 ESR、CRP 水平明显高于对照组,说明 AS 患者体内存在明显的炎症反应,而 AS 组血清 DKK-1 明显低于对照组,提示 DKK-1 在 AS 疾病进展中发挥重要作用。

AS 的病理改变如滑膜炎、附着点炎,其实是细胞外基质(ECM)被蛋白水解酶不断消化的过程,MMPs 是细胞生长、迁移和 ECM 重塑的调节剂,在 ECM 的降解和重塑中具有重要作用,与 AS 的炎症和骨质破坏病理过程关系密切^[10]。MMP-9 是 MMPs 家族中以酶原形式分泌的一员,主要由中性粒细胞、巨噬细胞、结缔组织细胞、小胶质细胞和部分肿瘤细胞分泌,可破坏 ECM 中的 IV、V、IX、XI 型胶原蛋白,破坏细胞屏障的完整性,增加血管通透性,激发炎症反应,在关节炎、血管形成等多种病理过程中呈高表达^[11]。本研究结果显示,AS 组血清 MMP-9 明显高于对照组,提示 MMP-9 在 AS 的发生、发展中发挥重要作用。经 TNF- α 拮抗剂治疗 24 周后,AS 组患者血清 DKK-1、mSASSS 评分无明显变化,MMP-9 和 BASDAI、BASFI、ASDAS 评分均明显下降,提示 TNF- α 拮抗剂可能缓解病情,降低疾病活动度,但对 AS 骨化进程无明显阻止作用。相关性分析显示,DKK-1 与 BASDAI、BASFI、ASDAS 评分无明显相关性;MMP-9 与

BASFI 评分不相关 ($P > 0.05$), 与 BASDAI、ASDAS 评分呈正相关; 进一步说明 MMP-9 与 AS 疾病活动度有着良好的相关性, 对疾病的好转起预示作用。

4 结 论

综上所述, AS 患者血清 DKK-1 呈低表达, MMP-9 呈高表达, TNF- α 拮抗剂能明显下调 MMP-9 水平, 对 DKK-1 无明显影响, MMP-9 可反映 AS 的疾病活动度, DKK-1 与疾病活动度无明显相关, 但 DKK-1 能在一定程度上反映 AS 的骨化进程。

参考文献

[1] 路海平. 强直性脊柱炎患者心脏受累的患病率及危险因素研究[J]. 河北医学, 2017, 23(8): 1358-1362.
 [2] 黄勤, 毛慧慧. 不同免疫疗法对强直性脊柱炎患者疗效及骨代谢指标的影响[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(12): 1396-1398.
 [3] 田丽贞, 杜红卫, 童爱飞, 等. DKK-1 在强直性脊柱炎患者外周血中的表达及临床意义研究[J]. 中国全科医学, 2017, 20(z1): 131-133.
 [4] 中华医学会风湿病学分会. 强直性脊柱炎诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(8): 557-559.
 [5] 李爱国, 彭兴梅, 董玉珍, 等. 血清瘦素水平与强直性脊柱

炎男性患者韧带骨赘形成之间的关联性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(24): 31-36.

[6] SIEPER J, LISTING J, PODDUBNYY D, et al. Effect of continuous versus on-demand treatment of ankylosing spondylitis with diclofenac over 2 years on radiographic progression of the spine: results from a randomised multicentre trial (ENRADAS) [J]. Ann Rheum Dis, 2016, 75(8): 1438-1443.
 [7] 冯雪琴, 侯志铎, 林玲. 评价强直性脊柱炎病情活动度的生物标志物研究进展[J]. 山西医药杂志, 2016, 45(11): 1288-1291.
 [8] LIAO H T, LIN Y F, TSAI C Y, et al. Bone morphogenetic proteins and Dickkopf-1 in ankylosing spondylitis [J]. Scand J Rheumatol, 2018, 47(1): 56-61.
 [9] 刘亚, 张晓军. 外源性骨强化蛋白对强直性脊柱炎小鼠的疗效研究[J]. 西北药学杂志, 2016, 31(6): 597-599.
 [10] 黎旭军, 何晖, 黄健林, 等. 强直性脊柱炎早中期腰背痛的中医疗干预研究[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(4): 786-789.
 [11] 李远峰, 宋寒冰, 徐伟明, 等. 补肾强督祛湿法治疗肾虚督寒型强直性脊柱炎疗效及对 MMP-9, TIMP-1 水平的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(13): 1385-1388.

(收稿日期: 2018-09-24 修回日期: 2019-01-12)

(上接第 934 页)

Tyr]; Hb Rhode Island[beta116(G18)His-->Tyr]; and Hb Inglewood[beta142(H20)Ala-->Thr][J]. Hemoglobin, 2002, 26(3): 299-303.
 [8] 赵颖, 商璇, 熊符, 等. 异常血红蛋白(Hb J-Bangkok)合并 β -地中海贫血的临床表型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2013, 30(2): 148-151.
 [9] 张强, 范歆, 何升, 等. Hb New York 病 ARMS-PCR 检测及临床表型分析[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(9): 706-707.
 [10] ZHANG J, HE J, MAO X, et al. Haematological and electrophoretic characterisation of β -thalassaemia in Yunnan province of Southwestern China[J]. BMJ Open, 2017, 7(1): e013367.
 [11] 赖兆新, 严伟玲. 血红蛋白 G 病检验结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(18): 2755-2757.
 [12] 王妍, 林敏, 韩志君, 等. 江苏省无锡地区异常血红蛋白病的流行病学调查[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(2): 316-318.
 [13] 莫桂玲, 胡朝晖, 张玲, 等. 我国罕见异常血红蛋白突变型 [β 43(CD2)Glu->Lys] 分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 918-919.
 [14] 葛世军. 不稳定血红蛋白 Hb Rush 的血液学表型和基因型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2017, 34(1): 15-20.

[15] LAI K, HUANG G, SU L, et al. The prevalence of thalassemia in mainland China: evidence from epidemiological surveys[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 920.
 [16] DE LA FUENTE-GONZALO F, NIETO J M, VELASCO D, et al. HB Puerta del Sol[HBA1:c. 148A>C], HB Valdecilla[HBA2:c. 3G>T], HB Gran Via[HBA2:c. 98T>G], HB Macarena[HBA2:c. 358C>T] and HB El Retiro[HBA2:c. 364_366dupGTG]; description of five new hemoglobinopathies[J]. Clin Chem Lab Med, 2016, 54(4): 553-560.
 [17] XU A, CHEN W, XIA Y, et al. Effects of common hemoglobin variants on HbA1c measurements in China: results for alpha- and beta-globin variants measured by six methods[J]. Clin Chem Lab Med, 2018, 56(8): 1353-1361.
 [18] ZHANG X M, WEN D M, XU S N, et al. Effects of hemoglobin variants HbJ Bangkok, HbE, HbG Taipei, and HbH on analysis of glycated hemoglobin via ion-exchange high-performance liquid chromatography[J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32(1): e22214
 [19] 索明环, 温冬梅, 王伟佳, 等. 5 个糖化血红蛋白检测系统对 Hb New York 合并 β 地中海贫血标本异常结果预警能力比较[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(9): 649-653.

(收稿日期: 2018-09-25 修回日期: 2018-12-31)