

• 论 著 •

S100A8/A9、CS-846、MMP3 在膝关节骨性关节炎中的表达及临床意义*

王 腾, 丁 洪[△], 赵正明, 胡华平, 刘沪喆

(重庆两江新区第一人民医院骨科, 重庆 401121)

摘 要:目的 探讨膝关节骨性关节炎患者血清钙卫蛋白(S100A8/A9)、硫酸软骨素 846(CS-846)、基质金属蛋白酶 3(MMP3)的表达水平及临床意义。方法 选取 2013 年 1 月至 2018 年 8 月该科收治的膝关节骨性关节炎患者 176 例作为试验组,另选健康志愿者 80 例作为对照组。检测并比较两组受试者血清 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平,并比较不同 Kellgren-Lawrence(K-L)分级膝关节骨性关节炎 S100A8/A9、CS-846、MMP3 的差异;采用 Pearson 分析 S100A8/A9、CS-846、MMP3 与 K-L 分级、西安大略麦克马斯特大学骨性关节炎调查量表(WOMAC)评分的相关性;应用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 S100A8/A9、CS-846、MMP3 对膝关节骨性关节炎的预测及诊断价值。结果 试验组患者的 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平分别高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同 K-L 分级的膝关节骨性关节炎患者 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson 相关性分析显示,血清 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平与 K-L 分级及 WOMAC 评分呈正相关($P < 0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,S100A8/A9、CS-846、MMP3 联合检测曲线下面积为 0.919,灵敏度和特异度分别为 0.906 和 0.857。结论 S100A8/A9、CS-846、MMP3 在膝关节骨性关节炎患者表达水平升高,且与患者的病情严重程度有关;S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平的变化对膝关节骨性关节炎具有一定预测价值。

关键词:钙卫蛋白; 硫酸软骨素 846; 基质金属蛋白酶 3; 膝关节骨性关节炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.19.009

中图法分类号:R684.3

文章编号:1673-4130(2020)19-2337-04

文献标识码:A

Expression and clinical significance of S100A8/A9, CS-846 and MMP3 in knee osteoarthritis*

WANG Teng, DING Hong[△], ZHAO Zhengming, HU Huaping, LIU Huzhe

(Department of Orthopaedic, the First People's Hospital of Chongqing

Liangjiang New Area, Chongqing 401121, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression levels of serum calprotectin (S100A8/A9), chondroitin sulfate 846 (CS-846) and matrix metalloproteinase 3 (MMP3) and their clinical significance in patients with knee osteoarthritis. **Methods** From January 2013 to August 2018, 176 patients with knee osteoarthritis treated in a department were selected as experimental group, while 80 healthy volunteers were selected as control group. The levels of serum S100A8/A9, CS-846 and MMP3 between the two groups were detected and compared. The differences of S100A8/A9, CS-846 and MMP3 in different K-L grading of knee osteoarthritis were compared. Pearson analysis was used to analyze the correlation between S100A8/A9, CS-846, MMP3 and K-L grading, WOMAC score. The predictive and diagnostic value of S100A8/A9, CS-846 and MMP3 for knee osteoarthritis was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The levels of S100A8/A9, CS-846 and MMP3 in experimental group were higher than those in control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Patients with knee osteoarthritis of different K-L grading showed statistically significant differences in the levels of S100A8/A9, CS-846 and MMP3 ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that serum S100A8/A9, CS-846 and MMP3 levels were positively correlated with K-L grading and WOMAC score ($P < 0.05$). The ROC curve results showed that the area under the curve of S100A8/A9, CS-846 and MMP3 com-

* 基金项目:重庆市科技计划项目(2017MSXM152)。

作者简介:王腾,男,医师,主要从事关节与创伤方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:18623084336@163.com。

本文引用格式:王腾,丁洪,赵正明,等. S100A8/A9、CS-846、MMP3 在膝关节骨性关节炎中的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(19): 2337-2340.

bined detection was 0.919, and the sensitivity and specificity were 0.906 and 0.857, respectively. **Conclusion** The expression levels of S100A8/A9, CS-846 and MMP3 elevate in patients with knee osteoarthritis which are related to the severity of the disease. The changes in S100A8/A9, CS-846 and MMP3 levels have predictive value for knee osteoarthritis.

Key words: calprotectin; chondroitin sulfate 846; matrix metalloproteinase 3; knee osteoarthritis

膝关节骨性关节炎(KOA)是最常见的关节炎形式之一,主要特征为软骨损伤、骨赘形成和其他关节结构改变^[1]。KOA 是关节痛和肢体残疾的主要原因之一,给家庭和社会带来严重的经济负担^[2]。KOA 具体发病机制尚不明确,但有研究认为机体的慢性炎症在骨关节炎中发生、发展中起着重要作用。血清钙卫蛋白(S100A8/A9)由单核细胞、巨噬细胞和嗜中性粒细胞分泌产生,其通过与 Toll 样受体 4(TLR4)和高级糖基化终产物受体(RAGE)受体结合来发挥其效应功能^[3]。有研究表明,S100A8/A9 在关节炎中呈现高表达,且与关节炎的放射损伤和疾病活动有关^[4]。硫酸软骨素 846(CS-846)是一种蛋白聚糖类合成相关的生物标志物,与关节代谢和损伤后的关节改变有关^[5]。有报道称,CS-846 是硫酸软骨素合成的标志物,与 KOA 患者的关节损伤程度有关^[6]。基质金属蛋白酶 3(MMP3)是由关节中的滑膜成纤维细胞和软骨细胞产生的蛋白酶。研究报道显示,类风湿关节炎患者的血清 MMP3 水平升高,疾病活动性与 MMP3 表达呈正相关^[7]。目前,关于 S100A8/A9、CS-846、MMP3 在 KOA 患者中的研究较少。因此,本研究探讨 S100A8/A9、CS-846、MMP3 在 KOA 患者血清中的表达水平,评估其对 KOA 的预测及诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2018 年 8 月本科收治的 KOA 患者 176 例作为试验组。纳入标准:(1)均符合中华医学会制定的骨关节炎诊断标准中的 KOA 诊断标准^[9];(2)均为初次诊断;(3)均未接受任何药物或手术治疗。排除标准:(1)存在膝关节创伤、手术病史;(2)存在骨肿瘤、骨结核、骨质疏松等骨病者;(3)合并类风湿性关节炎等自身免疫性疾病者;(4)存在凝血功能异常或肝肾功能异常者。采用 Kellgren-Lawrence(K-L)分级^[8]对膝骨关节炎影像学严重程度进行评估:I 级,关节间隙可疑变窄,可能唇状增生;II 级,关节软骨存在明显的骨赘,关节间隙轻度变窄;III 级,关节软骨关节间隙中度变窄,软骨下骨出现硬化;IV 级,关节软骨关节出现大量骨赘,关节间隙严重变窄,软骨下骨硬化及畸形明显。试验组中男 95 例,女 81 例;年龄 52~81 岁,平均(61.34±6.17)岁;II 级 53 例,III 级 76 例,IV 级 47 例。另选取

同期体检健康者 80 例作为对照组,其中男 48 例,女 32 例;年龄 53~78 岁,平均(62.55±4.81)岁。两组受试者年龄、性别相比,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究获医院伦理委员会批准,所有患者签署知情同意书。

1.2 方法 抽取受试者空腹外周静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,-70 ℃保存待测。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平。S100A8/A9 试剂盒购自美国 Alpco 公司,CS-846 试剂盒购自武汉优尔生生物制品公司,MMP3 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司,所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。根据西安大略麦克马斯特大学骨性关节炎调查量表(WOM-AC)评估 KOA 患者膝关节功能。WOMAC 评分包括疼痛、僵硬、日常功能活动 3 个维度,得分越高说明病情越严重^[10]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两组间比较采用 t 检验;计数资料以构成比表示,采用 χ^2 检验;采用 Pearson 法进行相关性分析;绘制 ROC 曲线并计算其灵敏度、特异度及曲线下面积(AUC)。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平比较 试验组患者的 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平比较($\bar{x}\pm s$)				
分组	<i>n</i>	S100A8/A9 (pg/mL)	CS-846 (μg/mL)	MMP3 (pg/mL)
试验组	176	264.27±31.75	514.18±76.45	233.21±86.27
对照组	80	215.93±21.82	312.52±64.73	55.26±10.68
<i>t</i>		7.52	6.26	24.87
<i>P</i>		<0.001	0.001	<0.001

2.2 试验组患者不同 K-L 分级 S100A8/A9、CS-846、MMP3 比较 试验组 K-L 分级 IV 级组患者的 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平分别高于 III 级组、II 级组,III 级组患者的 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平高于 II 级组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 试验组患者不同 K-L 分级 S100A8/A9、CS-846、MMP3 比较($\bar{x}\pm s$)

分组	<i>n</i>	S100A8/A9 (pg/mL)	CS-846 (μg/mL)	MMP3 (pg/mL)
Ⅱ级组	53	223.24±45.66	458.83±67.53	201.58±46.77
Ⅲ级组	76	261.58±71.46	516.74±85.92	228.91±74.85
Ⅳ级组	47	305.29±68.38	552.45±101.23	263.25±69.43
<i>F</i>		6.12	11.78	5.53
<i>P</i>		0.001	<0.001	0.012

2.3 相关性分析 Pearson 相关性分析显示,KOA 患者的 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平与 K-L 分级呈正相关($P<0.05$),与 WOMAC 评分呈正相关

表 4 S100A8/A9、CS-846、MMP3 对 KOA 的预测价值分析

指标	AUC	SE	<i>P</i>	95%CI	灵敏度	特异度	cut-off 值
S100A8/A9	0.808	0.060	0.001	0.688~0.928	0.826	0.757	251.76 pg/mL
CS-846	0.755	0.076	0.005	0.606~0.904	0.743	0.628	496.49 mg/mL
MMP3	0.779	0.078	0.002	0.627~0.931	0.784	0.643	217.18 pg/mL
联合检测	0.919	0.038	0.000	0.844~0.944	0.906	0.857	—

注:—表此项无数据。

3 讨 论

KOA 作为中老年常见的关节疾病之一,可能是因长期活动、慢性劳损、肥胖导致的软骨损伤退变^[11]。KOA 特征为关节软骨破坏、骨代谢和滑膜炎症的改变。KOA 最常见的症状是关节疼痛、僵硬和身体机能障碍,严重影响了患者的生活质量。因此,及时、有效地诊断和对症治疗对提高 KOA 患者的生存质量至关重要。

S100A8/A9 作为一种蛋白质,主要在循环系统和存在炎症组织中的中性粒细胞和单核细胞、巨噬细胞中表达^[12]。S100A8/A9 不仅可通过结合 TLR4 和 RAGE 加速软骨基质的钙化和骨小梁的构建,调节钙离子吸收过程中的氧化还原反应,也可直接刺激破骨细胞活性^[13]。S100A8/A9 也通过刺激来自关节炎软骨细胞上调分解代谢标志物(如 MMP1、MMP3、MMP9、MMP13,白细胞介素 6、白细胞介素 8 和单核细胞趋化蛋白 1),并下调合成代谢标志物(聚集蛋白聚糖和Ⅱ型胶原蛋白),从而有利于软骨分解^[14],促进关节炎的进展。有研究报道显示,血清 S100A8/A9 在骨关节炎中呈现高表达^[15]。RUAN 等^[16]研究发现,S100A8/A9 的血清水平变化与 KOA 患者的膝关节症状、软骨缺损和血清软骨降解酶升高呈正相关,S100A8/A9 水平变化可能在 KOA 发生、发展中起作用。本研究结果发现,血清 S100A8/A9 在 KOA 患者

($P<0.05$),见表 3。

表 3 S100A8/A9、CS-846、MMP3 与 K-L 分级、WOMAC 评分的相关性分析

指标	S100A8/A9		CS-846		MMP3	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
K-L 分级	0.376	0.028	0.465	0.015	0.391	0.021
WOMAC 评分	0.546	0.001	0.441	0.016	0.497	0.001

2.4 KOA 患者 S100A8/A9、CS-846、MMP3 的 ROC 曲线分析 ROC 曲线结果显示,S100A8/A9、CS-846、MMP3 联合检测 KOA 的 AUC 为 0.919,灵敏度和特异度分别为 0.906 和 0.857。见表 4。

表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

CS-846 是硫酸软骨素合成的标志物,与骨关节炎患者关节损伤的程度密切相关^[17]。DOU 等^[18]研究显示,KOA 患者血清 CS-846 表达水平明显高于健康对照组,CS-846 水平变化与 KOA 患者病情严重程度有关,可作为诊断 KOA 的预测指标之一。张军峰等^[17]报道发现,血清 CS-846 与 KOA 患者的视觉模拟评分法(VAS)评分、关节间隙狭窄的严重程度有关,对早期 KOA 患者的诊断有预测价值。本研究 ROC 曲线分析结果表明,S100A8/A9、CS-846、MMP3 的 AUC 均大于 0.500,说明 S100A8/A9、CS-846、MMP3 对 KOA 的诊断具有一定预测价值。基质金属蛋白酶(MMP)由炎症细胞因子激活的软骨细胞和滑膜细胞分泌,并密切参与软骨破坏;MMP3 除具有破坏软骨的作用外,还通过激活其他 MMP,如 MMP2 和 MMP9,促进关节软骨的降解^[19]。在骨关节炎患者血清中,MMP3 水平明显升高,MMP3 可通过调控细胞生长因子,对关节中骨与软骨组织吸收破坏和修复生长具有促进作用。同时,MMP3 作为软骨代谢和软骨下骨代谢的共同因子对 KOA 的发生、发展具有重要作用。有研究指出,MMP3 在骨关节的炎症性和退行性病变中起重要作用^[20]。崔国峰等^[21]研究发现,骨关节炎早期患者的血清 MMP3 明显高于对照组,提示晚期骨关节炎患者更为明显。

本研究结果表明,KOA 患者的 K-L 分级越高,血清 S100A8/A9、CS-846、MMP3 表达水平越高,说明 S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平变化与 KOA 的严重程度有关。Pearson 相关性分析结果显示,血清 S100A8/A9、CS-846、MMP3 与 KOA 患者 WOMAC 评分呈正相关,与 RUAN 等^[16]研究报道一致。

4 结 论

综上所述,S100A8/A9、CS-846、MMP3 在 KOA 患者表达水平升高,且与患者的病情严重程度有关。S100A8/A9、CS-846、MMP3 水平变化对 KOA 的具有预测价值。

参考文献

[1] CAI J, XU J, WANG K, et al. Association between 336 infrapatellar fat pad volume and knee structural changes in patients with knee osteoarthritis[J]. J Rheumatol, 2015, 42(10):1878-1884.

[2] WU J, WANG K, XU J, et al. Associations between serum ghrelin and knee symptoms, joint structures and cartilage or bone biomarkers in patients with knee osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2017, 25(9):1428-1435.

[3] PRUENSTER M, VOGL T, ROTH J, et al. S100A8/S100A9: from basic science to clinical application[J]. Pharmacol Ther, 2016, 167:120-131.

[4] HAMMER H B, ODEGARD S, SYVERSEN S W, et al. Calprotectin (a major S100 leucocyte protein) predicts 10-year radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(1):150-154.

[5] 陈则亦, 康翼, 付维力. 骨关节炎相关生物标志物[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(11):1175-1184.

[6] ZIVANOVIC S, RACKOV L P, ZIVANOVIC A, et al. Cartilage oligomeric matrix protein-inflammation biomarker in knee osteoarthritis[J]. Bosn J Basic Med Sci, 2011, 11(1):27-32.

[7] MA J D, ZHOU J J, ZHENG D H, et al. Serum matrix metalloproteinase-3 as a noninvasive biomarker of histological synovitis for diagnosis of rheumatoid arthritis[J]. Mediators Inflamm, 2014, 2014:179284.

[8] 赵娜, 康利宝. 创伤性膝骨关节炎患者血清 IL-6、TNF-α、瘦素水平表达与影像学 K-L 分级的相关性[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(5):139-142.

[9] 中华医学会风湿病学分会. 骨关节炎诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(6):416-419.

[10] 曹淑华, 曾华武, 梁结玲. 调神止痛针法治疗膝关节骨性关节炎患者的疗效及对 IL-1、hs-CRP 的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(7):688-691.

[11] 王华, 姜未, 周天健, 等. 膝骨性关节炎患者中低密度脂蛋白与氧化应激的关系及意义[J]. 广东医学, 2018, 39(21):3207-3210.

[12] NORDAL H H, FAGERHOL M K, HALSE A K, et al. Calprotectin (S100A8/A9) should preferably be measured in EDTA-plasma; results from a longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2018, 78(1/2):102-108.

[13] 陶李, 杜明, 李光迪. S100A8/A9 蛋白在类风湿关节炎中的研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2018, 41(6):695-699.

[14] SCHELBERGEN R F, BLOM A B, VAN DEN BOSCH M H, et al. Alarmins S100A8 and S100A9 elicit a catabolic effect in human osteoarthritic chondrocytes that is dependent on Toll-like receptor 4[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(5):1477-1487.

[15] ADDIMANDA O, PULSATELLI L, VOGL T, et al. Elevated serum levels of alarmin S100A8/A9 in patients with hand osteoarthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2019, 37(5):885.

[16] RUAN G, XU J, WANG K, et al. Associations between serum S100A8/S100A9 and knee symptoms: joint structures and cartilage enzymes in patients with knee osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2019, 27(1):99-105.

[17] 张军锋, 宋玲花, 魏俊妮, 等. 联合检测血清软骨寡聚基质蛋白和硫酸软骨素-846 在膝骨关节炎早期诊断中的作用研究[J]. 中国药物与临床, 2014, 14(4):416-419.

[18] 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.

[19] TOKAI N, YOSHIDA S, KOTANI T, et al. 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, 2018, 13(8):e0202601.

[20] RYU J H, LEE A, HUH M S, et al. Measurement of MMP activity in synovial fluid in cases of osteoarthritis and acute inflammatory conditions of the knee joints using a fluorogenic peptide probe-immobilized diagnostic kit[J]. Theranostics, 2012, 2(2):198-206.

[21] 崔国峰, 武军龙, 魏戎, 等. 骨关节炎患者血清中 1-磷酸鞘氨醇和基质金属蛋白酶 3 水平变化及临床意义[J]. 陕西医学杂志, 2019, 48(5):547-549.