

• 论 著 •

类风湿关节炎患者中 GPI、MMP-3 和抗 CCP 抗体水平的研究

吴志美¹, 袁建芬¹, 陈 均²

(江苏省南通市中医院:1. 检验科;2. 放射科 226001)

摘 要:目的 探讨葡萄糖-6-磷酸异构酶(GPI)、血清基质金属蛋白酶-3(MMP-3)、抗环瓜氨酸多肽(CCP)抗体检测在类风湿关节炎(RA)诊断中的价值。方法 采用 ELISA 法检测 109 例 RA 患者及 50 例健康对照者 GPI、MMP-3 和抗 CCP 抗体水平。结果 RA 组患者 GPI、MMP-3、抗 CCP 抗体的水平明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$)。进一步分析表明,活动期 RA 患者 GPI、MMP-3 水平明显高于静止期患者,差异有统计学意义($P<0.01$);关节 X 线改变为Ⅲ~Ⅳ期的 RA 患者 GPI、MMP-3 水平明显高于Ⅰ~Ⅱ期患者,差异有统计学意义($P<0.01$)。抗 CCP 抗体水平在活动期与静止期及关节 X 线改变Ⅰ~Ⅱ期与Ⅲ~Ⅳ期之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。同时分析 3 种检测项目之间的相关性;GPI 与 MMP-3 水平呈正相关,抗 CCP 抗体与 GPI、MMP-3 无明显相关性。结论 GPI、MMP-3 水平的变化与 RA 病情活动性及骨质破坏相关,对指导治疗和改善预后具有重要意义,而抗 CCP 抗体在 RA 的早期诊断方面更有价值。

关键词:关节炎,类风湿; 基质金属蛋白酶 3; 葡萄糖-6-磷酸异构酶; 抗环瓜氨酸多肽抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.022

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1706-02

Study of the levels of GPI, MMP-3 and anti-CCP antibody in patients with rheumatic arthritis

Wu Zhimei¹, Yuan Jianfen¹, Chen Jun²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Radiology Department, Traditional Chinese Medicine Hospital of Jiangsu Nantong, Nantong Jiangsu 226001, China)

Abstract: Objective To investigate the value of and relationship between glucose-6-phosphate isomerase(GPI), matrix metalloproteinase-3(MMP-3) and anti-CCP antibody in patients with rheumatoid arthritis(RA). **Methods** The levels of GPI, MMP-3 and anti-CCP Antibody in 109 patients with rheumatoid arthritis(patient group) and 50 healthy controls(HC) were detected by ELISA. **Results** The levels of GPI, MMP-3 and anti-CCP antibody in patients were higher than those in HC($P<0.01$). The levels of GPI and MMP-3 in patients with active stage RA were higher than those in patients with stable stage RA($P<0.01$). The levels of GPI and MMP-3 in patients with Ⅲ-Ⅳ phase(X-ray change) RA were higher than those in patients with Ⅰ-Ⅱ phase(X-ray change) RA($P<0.01$), but there was no significant difference of anti-CCP antibody($P>0.05$). There was a positive linear correlation between the levels of GPI and MMP-3. There was no correlation between the levels of anti-CCP antibody and GPI, MMP-3. **Conclusion** The change of GPI, MMP-3 and anti-CCP antibody was closely with disease severity and bone damage of RA, and it might have an important role for the diagnosis and treatment of RA, but anti-CCP antibody has more significant value in early diagnosis of RA.

Key words: arthritis, rheumatoid; matrix metalloproteinase 3; glucose-6-phosphate isomerase; CCP antibody

类风湿关节炎(RA)是一种慢性自身免疫性疾病,主要表现为对称性、慢性、进行性多关节炎。目前临床工作中判断其病情活动和提示早期关节破坏的指标缺乏特异性,未能直接反映 RA 对软骨及骨的破坏程度。2001 年 Schubert 等^[1]报道葡萄糖-6-磷酸异构酶(GPI)与 RA 有关。Hamakawa 等^[2]通过对 30 例临床患者的研究发现,患者关节液中血清基质金属蛋白酶-3(MMP-3)浓度显著增高,可以作为 RA 的早期诊断和治疗观察指标之一,尤其在血清类风湿因子(RF)阴性患者中适用。笔者拟通过研究 GPI、MMP-3、抗环瓜氨酸多肽(抗 CCP)抗体在 RA 患者各期中的水平,探讨其在 RA 诊断中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 健康对照组:随机选择来本院健康体检者 50 例为健康对照组,年龄在 28~69 岁,平均(39.37±14.19)岁,其中男 24 例,女 26 例。RA 组:患者 109 例,为 2009 年 1~11 月来本院就诊的患者,均符合 1987 年美国风湿病学会修订的诊断标准,男 51 例,女 58 例,年龄在 25~67 岁,平均(43.62±13.45)岁,其中活动期 56 例,其红细胞沉降率(ESR)、C 反应蛋白(CRP)升高;静止期 53 例,其 ESR 正常,CRP 阴性。各组间性别、年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 标本采集与保存 RA 组与健康对照组均清晨空腹抽取静脉血 5 mL,4 h 内分离血清(以 8 cm 离心半径,3 000 r/min 离心 10 min),置-20℃冰箱保存。

1.2.2 检测方法 GPI、MMP-3、抗 CCP 抗体的检测均采用 ELISA 法,GPI 试剂盒和标准品由上海北加生化试剂公司提供;MMP-3 试剂盒和标准品由 Amersham Pharmacia 公司提供;抗 CCP 抗体试剂盒和标准品由上海富纯中南生物技术有限公司提供。严格按试剂盒说明书进行操作。同时测定 ESR、CRP 水平。ESR 检测采用 DtagonMed 血沉仪,CRP 检测采用比浊法(CRP>8.0 mg/L 为阳性;男性 ESR>20 mm/h、女性 ESR>15 mm/h 为阳性)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计软件进行分析,检测结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。GPI、MMP-3、抗 CCP 抗体的相关性分析采用 Spearman 相关性分析。

2 结 果

2.1 RA 组与健康对照组以及活动期与静止期 GPI、MMP-3、抗 CCP 抗体水平的比较 RA 组 GPI、MMP-3、抗 CCP 抗体水平与健康对照组比较,差异有统计学意义($P<0.01$);活动期

RA 患者 GPI、MMP-3 的水平明显高于静止期 RA 患者, 差异有统计学意义($P<0.01$); 活动期 RA 患者抗 CCP 抗体水平与静止期 RA 患者相比, 差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 RA 组与健康对照组 GPI、MMP-3、抗 CCP 抗体水平的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	GPI($\mu\text{g/mL}$)	MMP-3(ng/mL)	抗 CCP 抗体(U/mL)
健康对照组	50	0.10 $\pm$ 0.06	12.14 $\pm$ 1.16	16.32 $\pm$ 3.26
RA 组	109	4.63 $\pm$ 3.57	58.33 $\pm$ 23.25	117.11 $\pm$ 107.16
静止期	53	2.96 $\pm$ 1.77	36.35 $\pm$ 23.78	115.08 $\pm$ 95.11
活动期	56	9.11 $\pm$ 10.02	75.23 $\pm$ 37.14	119.25 $\pm$ 89.77

2.2 不同 X 线分期 RA 患者血清 GPI、MMP-3、抗 CCP 抗体水平比较 X 线改变为Ⅲ~Ⅳ期的 RA 患者 GPI、MMP-3 水平明显高于Ⅰ~Ⅱ期的患者, 差异有统计学意义($P<0.01$); X 线改变为Ⅲ~Ⅳ期的 RA 患者抗 CCP 抗体与Ⅰ~Ⅱ期的患者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 不同 X 线分期 RA 患者血清 GPI、MMP-3、抗 CCP 抗体水平比较($\bar{x}\pm s$)

分期	<i>n</i>	GPI($\mu\text{g/mL}$)	MMP-3(ng/mL)	抗 CCP 抗体(U/mL)
Ⅰ~Ⅱ期	61	4.56 $\pm$ 4.78	45.21 $\pm$ 19.75	106.30 $\pm$ 92.47
Ⅲ~Ⅳ期	48	12.54 $\pm$ 8.41	78.42 $\pm$ 26.47	118.24 $\pm$ 98.32

2.3 RA 患者血清 GPI 与 MMP-3、抗 CCP 抗体的相关性 RA 患者血清 GPI 与 MMP-3 水平呈正相关($r=0.510$, $P<0.01$); 抗 CCP 抗体与 GPI、MMP-3 无明显相关性(r 分别为 0.089、0.112, P 均大于 0.05)。

3 讨 论

RA 是一种以累及周围关节为主的多系统、非感染性炎症为主的慢性自身免疫性疾病。以往实施诊断 RA 的血清学指标主要是 RF, 但其特异性差。近年来, 研究者对 GPI、MMP-3、抗 CCP 抗体进行了广泛的研究, 并将其应用于临床诊断 RA, 大大提高了诊断的灵敏度和特异度。

GPI 是糖酵解和糖异生过程中的重要酶类, Schaller 等^[3-4]发现 RA 患者滑膜血管内皮细胞表达 GPI 明显增高, 而在 RA 患者心包、皮肤、结缔组织和子宫内膜的血管内皮细胞中 GPI 表达不增高。表明 GPI 和抗 GPI 抗体可能参与了 RA 的滑膜病变过程。本研究结果显示, RA 患者 GPI 水平明显升高, 活动期 GPI 水平比静止期显著升高, 与文献^[5-6]报道相一致。Ⅲ~Ⅳ期较Ⅰ~Ⅱ期患者 GPI 水平明显增高, 差异有统计学意义($P<0.01$)。结果说明 GPI 在 RA 患者中有高表达, 且与 RA 病情活动具有相关性, 参与 RA 的发病机制, 其表达水平高低可能与疾病的活动状况及病情轻重程度有关。

MMP-3 是最近提出的对 RA 诊断及疾病活动有重要价值的另一个血清学指标。Ishiguro 等^[7]、Klimiuk 等^[8]研究发现, 在 RA 患者滑膜组织中 MMP-3 过度表达, 且滑液中含有大量 MMP-3, 证明 MMP-3 参与了 RA 的发病。基因研究发现, MMP-3 的基因多态性与 RA 的严重性相关, 而不与是否发生 RA 相关^[9]。本研究发现, MMP-3 在 RA 患者外周血中呈高水平表达, 并与 RA 疾病活动性有关, Ⅲ~Ⅳ期较Ⅰ~Ⅱ期患者 MMP-3 水平明显增高, 提示 MMP-3 与 RA 的风湿活动及关节滑膜炎相关, 且与 RA 关节破坏密切相关。因此, MMP-3

可作为 RA 活动性的检测指标, 亦可作为评价关节损害程度的一个指标。

Schellekens 等^[10]研究了数百例有早期 RA 症状的患者, 随访发现, 有 31% 发展为 RA, 而且抗 CCP 抗体阳性患者更多发展为 X 线可见的关节损害, 表明抗 CCP 抗体可先于疾病的临床表现出现, 预测患者从一般关节炎向 RA 发展。本研究显示, RA 患者外周血中抗 CCP 抗体水平明显升高, 且活动期与静止期、Ⅰ~Ⅱ期与Ⅲ~Ⅳ期之间无显著性差异, 表明 RA 活动状况、临床分期与抗 CCP 抗体水平没有相关性。虽然抗 CCP 抗体与病情是否活动无相关性, 不能反映 RA 的严重程度, 但其被作为早期检测 RA 最为特异的抗体是无可非议的。

GPI、MMP-3 和抗 CCP 抗体三者在 RA 的诊断中均有重要价值。本研究结果显示, GPI、MMP-3 之间存在明显相关性, Yu 等^[11]研究发现, GPI 是调节 MMP-3 最重要的蛋白酶, GPI 在 RA 患者体内可通过上调 MMP-3 的产生从而促进 RA 发展和骨质破坏, 但抗 CCP 抗体与 GPI、MMP-3 之间无明显相关性。抗 CCP 抗体是早期诊断 RA 最为特异的抗体, GPI、MMP-3 是 RA 的活动性关节损害程度的检测指标。

参考文献

[1] Schubert D, Maier B, Morawietz L, et al. Immunization with glucose-6-phosphate isomerase induces T cell dependent peripheral polyarthritis in genetically unaltered mice[J]. Immunol, 2001, 172(7): 4503-4509.

[2] Hamakawa H, Takemura M, Sato M, et al. Clinical significance of MMP-3 in patients with rheumatoid arthritis: comparison with other inflammatory markers(IL-6, IL-8)[J]. Rinsho Byori, 2003, 51(1): 13-18.

[3] Schaller M, Burton DR, Ditzel HJ. Autoantibodies to GPI in rheumatoid arthritis: linkage between an animal model and human disease[J]. Nat Immunol, 2001, 2(8): 746-753.

[4] Schaller M, Stohl W, Benoit V, et al. Patients with inflammatory arthritic diseases harbor elevated serum and synovial fluid levels of free and immune complexed glucose-6-phosphate isomerase (G6PI)[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 349(2): 838-845.

[5] 党小军, 吕晓莉, 任健康, 等. 血清葡萄糖 6-磷酸异构酶在类风湿关节炎活动性的价值探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(5): 105-106.

[6] 刘黎, 陈晓翔, 钱捷, 等. GPI-mRNA 在类风湿关节炎活动期和稳定期及正常人之间表达的研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2008, 15(4): 234-237.

[7] Ishiguro N, Ito T, Obata K, et al. Determination of stromelysin-1, 72 and 92 kDa type IV collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1), and TIMP-2 in synovial fluid and serum from patients with rheumatoid arthritis[J]. Rheumatol, 1996, 23(9): 1599-1604.

[8] Klimiuk PA, Sierakowski S, Latosiewicz R, et al. Serum matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in different histological variants of rheumatoid synovitis[J]. Rheumatology, 2002, 41(1): 78-87.

[9] Constantin A, Lauwers-Cancès V, Navaux F, et al. Stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3) and HLA-DRB1 gene polymorphisms: association with severity and progression of rheumatoid arthritis in a prospective study[J]. Arthritis Rheum, 2002, 46(7): 1754-1762.

(下转第 1709 页)

81.07%及 83.67%，两者差异无统计学意义($P>0.05$)。高、中、低分化者 HPV 阳性率分别为 90.00%、81.93%及 86.27%，三者差异亦无统计学意义($P>0.05$)，见表 2~3。

表 2 HPV 感染与临床分期的关系[n(%)]

临床分期	HPV 阳性	HPV 阴性
I ~ II 期($n=206$)	167(81.07)	39(18.93)
III ~ IV 期($n=98$)	82(83.67)	16(16.33)

表 3 HPV 感染与分化程度的关系[n(%)]

分化程度	HPV 阳性	HPV 阴性
高分化($n=10$)	9(90.00)	1(10.00)
中分化($n=238$)	195(81.93)	43(18.07)
低分化($n=51$)	44(86.27)	7(13.73)

3 讨 论

HPV 感染几乎是所有的宫颈鳞癌(95%~100%)的致病因素,高危型 HPV 致癌的主要机制是与细胞内肿瘤抑制物 p53 和 pRb 结合使其失活^[3-4]。HPV 感染的诊断主要依赖于临床标本中 HPV DNA 检测,进行基因分型对宫颈癌的早期防治具有重要意义^[5]。本研究采用 HPV 分型技术对诊断为宫颈病变女性进行 HPV DNA 检测,该技术不仅可同时检测高危型 HPV 和低危型 HPV,还能具体分型,判断多型感染^[6],从而指导该群体女性预防宫颈癌的发生以及早期诊断宫颈癌,达到降低发病率的目的。

由国际癌症研究机构(IARC)报道的全球 25 个国家的 3 607例宫颈癌患者的研究中,16 型在所有 HPV 阳性的宫颈癌患者中平均感染率为 57.4%,18 型次之^[7]。而在国内的报道中,各亚型感染率不尽相同,在北京,HPV 感染者中有 33.9%存在 HPV16、66 型^[8]。海南省人民医院报告的 HPV 感染率由高到低为 HPV16、18、33、45 和 58 型^[9]。本文结果亦显示 16 型感染最常见,在宫颈病变患者中的平均感染率为 17.0%,58 型次之,占 10.8%,18 型为 10.3%,这与国内的一些报道不完全相符^[10-11],体现了 HPV 感染类型的独特性。HPV 亚型分析显示,68.6%的标本为单一亚型感染,25.5%的标本同时感染了 2 种亚型,5.9%的标本感染 3~4 种亚型,未发现四重以上亚型感染。说明单一的亚型感染是引起宫颈病变的主要原因,而多种亚型混合感染在宫颈病变中的作用也不可忽视。本研究中,宫颈病变的各临床分期 HPV 阳性率无统计学意义差异($P>0.05$),其分化程度与 HPV 阳性率差异亦无统计学意义($P>0.05$),可见 HPV 感染与宫颈病变临床分

期及分化程度无关。

从致病机制上说,宫颈癌是一种性传播疾病,多数 HPV 感染者是短暂无症状,并且自身能够把病毒清除掉,只有持续高危 HPV 感染才会增加。宫颈癌的风险性^[12]。了解 HPV 各亚型的分布情况和特点,是预防宫颈癌的迫切需要。

参考文献

[1] Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries[J]. Vaccine, 2008, 26(52): 6743-6744.

[2] Gudleviciene Z, Sepetiene A, Didziapetriene J, et al. Prevalence of human papillomavirus types in cervical intraepithelial lesions[J]. Medicina (Kaunas), 2010, 46(9): 616-623.

[3] Sun CA, Lai HC, Chang CC. The significance of human Papilloma-virus viral load in prediction of histologic severity and size of squa-mous intraepithelial lesion of uterine cervix[J]. Gynecol Oncol, 2001, 83(1): 95-99.

[4] 夏小艳, 玛依努尔·尼亚孜. HPV 及 HLA 与宫颈癌关系研究进展[J]. 现代生物医学进展杂志, 2010, 10(8): 1566-1569.

[5] 郭俭, 沈海静. HPV 基因分型、宫颈刮片及阴道镜检查在宫颈病变筛查中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 797-798.

[6] Maumoto N, Fujii T, Ishikawa M, et al. Dominant human papillo-mavirus 16 infection in cervical neoplasia in young Japanese women; study of 881 outpatients[J]. Gyneecol Oncol, 2004, 94(2): 509-514.

[7] Siriaunkgul S, Suwiwat S, Settakorn J, et al. HPV genotyping in cer-cical cancer in Northern Thailand: adapting the linear array HPV assay for use on paraffin-embedded tissue[J]. Gynecol On-col, 2008, 108(3): 555-560.

[8] 伍星蓉, 朱威, 张海萍, 等. 400 例健康体检妇女宫颈感染人乳头瘤状病毒基因亚型的检测与分析[J]. 首都医科大学学报, 2009, 30(4): 560-562.

[9] 贺国丽, 吴秀荣, 杨舒盈, 等. 海南地区宫颈癌的 HPV 基因型检测及其临床意义[J]. 实用妇产科杂志, 2009, 25(1): 407-409.

[10] 陈忠领, 魏新燕, 范美珍, 等. 女性感染人乳头瘤病毒基因分型结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 944-945.

[11] 张晓静, 袁瑞, 代红莹. 重庆永川地区妇科门诊人乳头瘤病毒亚型分布的研究[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(9): 1407-1410.

[12] 周莉, 陈姗, 张帝开. 持续性人乳头瘤病毒感染与宫颈癌的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(12): 2482-2486.

(收稿日期: 2011-02-12)

(上接第 1707 页)

[10] Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies[J]. J Clin Invest, 2002, 101(1): 273-281.

[11] Yu FL, Liao MH, Lee JW, et al. Induction of hepatoma cells mi-

gration by phosphoglucose isomerase/autocrine motility factor through the upregulation of matrix metalloproteinase-3[J]. Bio-chem Biophys Res Commun, 2004, 314(1): 76-82.

(收稿日期: 2011-02-21)