

• 临床检验研究论著 •

类风湿关节炎患者血清 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 的水平变化及意义^{*}

郑锡铭¹, 鱼云霞², 张爱君¹, 陈建³, 贾伟⁴, 徐广贤^{1,4△}

(1. 宁夏医科大学检验学院, 宁夏银川 750004; 2. 宁夏医科大学总医院风湿免疫科, 宁夏银川 750004; 3. 银川国龙医院骨科, 宁夏银川 750004; 4. 宁夏医科大学总医院医学实验中心, 宁夏银川 750004)

摘要:目的 探讨抗环瓜氨酸肽(ACCP)抗体、基质金属蛋白酶-3(MMP-3)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)在类风湿关节炎(RA)患者血清中的变化和意义。方法 酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测 80 例 RA 患者、32 例骨关节炎(OA)患者及 32 例健康对照外周血清 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 水平, 进行统计分析。结果 RA 组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 显著高于 OA 组和健康对照组; RA 低、中、高活动组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 高于稳定组, RA 组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18、疾病活动评价分数(DAS28)、C-反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)都升高; ACCP 抗体阳性组 MMP-3、IL-17、IL-18、DAS28 高于阴性组; RA 组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 之间正相关; ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 与 RA 低、中、高活动组监测指标 CRP、DAS28 呈正相关。结论 MMP-3、IL-17、IL-18 参与 RA 的发生、发展过程; ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 的检测对 RA 患者病情活动的判断和疾病的防治有一定的价值。

关键词: 类风湿关节炎; 抗环瓜氨酸肽抗体; 基质金属蛋白酶-3; 白细胞介素-17; 白细胞介素-18

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 20. 006

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)20-2734-03

Changes and significance of serum anti-CCP antibody, MMP-3, IL-17, IL-18 levels in patients with rheumatoid arthritis^{*}

Zheng Ximing¹, Yu Yunxia², Zhang Aijun¹, Chen Jian³, Jia Wei⁴, Xu Guangxian^{1,4△}

(1. Inspection College, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 2. Department of Rheumatology and Immunology, Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China;

3. Department of Orthopedics, Guolong Hospital, Yinchuan, Ningxia 750004, China;

4. Laboratory Center, Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes and significance of serum anti-CCP (ACCP) antibody, matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), interleukin-17 (IL-17), interleukin-18 (IL-18) in the patients with rheumatoid arthritis (RA). **Methods** The ELISA method was adopted to detect the in the peripheral blood serum ACCP antibody, MMP-3, IL-17 and IL-18 in 80 patients with RA, 32 patients with osteoarthritis (OA) and 32 cases of healthy controls and the detection results were performed the statistical analysis. **Results** The ACCP antibody, MMP-3, IL-17 and IL-18 levels in the RA group were significantly higher than those in the OA group and the healthy control groups; the ACCP antibody, MMP-3, IL-17 and IL-18 levels in the low, middle and high RA activity groups were higher than those in the stable group, the ACCP antibody, MMP-3, IL-17, IL-18, disease activity score (DAS28), C-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) in the RA group were increased; the MMP-3, IL-17, IL-18 and DAS28 in the ACCP antibody positive group were higher than those in the A CCP antibody negative group; the positive correlation existed among the ACCP antibody, MMP-3, IL-17 and IL-18 in the RA group ($P < 0.05$); the ACCP antibody, MMP-3, IL-17 and IL-18 were positively correlated with the monitoring indicators of CRP and DAS28 in the low, middle and high RA activity groups. **Conclusion** MMP-3, IL-17 and IL-18 participate in the occurrence and development process of RA; The detection of serum ACCP antibody, MMP-3, IL-17 and IL-18 has a certain value in the judgment of disease activity, and prevention and treatment in the patients with RA.

Key words: rheumatoid arthritis; anti-cyclic citrullinated peptide antibody; matrix metalloproteinase -3; interleukin-17; interleukin-18

类风湿关节炎(RA)是一种以关节滑膜炎为特征的慢性全身性自身免疫性疾病,主要表现为关节滑膜炎性反应、关节内软骨和骨的退变。其发病机制尚未完全明了,各种炎症因子的异常表达在 RA 的发生、发展过程中具有重要作用^[1]。研究发现,软骨和骨退变的重要原因是软骨细胞赖以生存的细胞外基质发生异常降解,基质金属蛋白酶(MMPs)几乎可以降解所有的细胞外基质,并可以直接降解软骨和骨质产生关节破坏,其

中基质金属蛋白酶-3(MMP-3)是导致软骨降解最重要的蛋白酶^[2]。ACCP 抗体在 RA 的诊断中具有很高的特异度(94%~98%),并可在 60%~70%的患者中出现^[3]。本研究通过检测 RA 患者及对照组血清中抗环瓜氨酸肽(ACCP)抗体、MMP-3、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)的表达水平,分析其与 ACCP 抗体及相关临床指标之间的关系,探讨其在 RA 发生、发展过程中的变化及意义。

^{*} 基金项目:教育部“新世纪优秀人才支持计划”项目(No. NCET11-11023)。 作者简介:郑锡铭,男,检验技师,主要从事临床病原微生物与免疫学检验工作。△ 通讯作者, E-mail: 599040064@qq.com。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 RA 患者 28 关节肿胀数(SW28)、28 关节压痛数(T28)、总体健康评定(GH),RA 疾病活动性评分系统(DAS28)分组,DAS28<2.6 为稳定组,DAS28≥2.6 为活动组,其中 2.6≤DAS28<3.2 为低活动组,3.2≤DAS28<5.1 为中活动组,5.1≤DAS28 为高活动组。(1)RA 组:临床确诊 RA 患者 80 例(男性 20 例,女性 60 例),年龄 21~71 岁,平均(46.6±11.5)岁。病例均符合美国风湿病学会(ACR)1987 年 RA 的分类标准。(2)骨关节炎(OA)组:临床确诊 OA 患者 32 例(男性 12 例,女性 20 例),年龄 26~75 岁,平均(47.41±12.74)岁,符合相应的诊断标准。(3)对照组:为本院同期健康体检者 32 例(男性 10 例,女性 22 例),年龄 23~70 岁,平均(41.56±13.39)岁。

1.2 仪器与试剂 ACCP 抗体使用欧蒙公司提供的试剂盒进行检测,MMP-3、IL-17、IL-18 使用 Bio-Swamp 公司试剂盒进行检测。

1.3 方法 清晨空腹抽取静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液。ACCP 抗体采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测,结果大于 5 RU/mL 判为阳性。CRP 采用乳胶凝集法检测,CRP 大于 5 g/mL 判为阳性。ESR 检测采用魏氏法,女性大于 15 mm/h 判为阳性,男性大于 20 mm/h 判为阳性。以上检测严格按说明书操作。

1.4 统计学处理 数据采用 SPSS17.0 统计软件处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均数比较采用独立样本 t 检验,计数资料的组间比较采用 χ^2 检验,各检测指标之间采用 Spearman 法和 Pearson 法分析相关性, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RA 组、OA 组及对照组 ACCP 抗体、IL-17、IL-18、MMP-3 的比较 RA 组、OA 组、对照组组间 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17 和 IL-18 的表达量差异均具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 RA 组、OA 组及对照组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组($n=32$)	OA 组($n=32$)	RA 组($n=80$)
ACCP 抗体(RU/mL)	2.16±1.50	3.31±4.11	84.28±51.7 ^{bc}
MMP-3(pg/mL)	34.09±11.36	179.52±29.27 ^a	324.99±51.58 ^{bc}
IL-17(pg/mL)	64.02±12.28	191.81±38.59 ^a	327.41±48.70 ^{bc}
IL-18(pg/mL)	32.92±4.46	91.15±21.69 ^a	167.20±43.90 ^{bc}

^a: $P<0.05$,与对照组比较;^b: $P<0.05$,与 RA 组比较;^c: $P<0.05$,对照组比较。

2.2 RA 稳定组与 RA 活动组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 的比较 RA 活动组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 高于 RA 稳定组,差异具有统计学意义($P<0.05$),详见表 2。

2.3 RA 低、中、高活动组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18、DAS28、CRP、ESR 的比较 在 RA 中,低活动组、中活动组和高活动组的各项检测指标都升高,差异具有统计学意义($P<0.05$),详见表 3。

2.4 ACCP 抗体阴性组与 ACCP 抗体阳性组 MMP-3、IL-17、IL-18、DAS28 的比较 ACCP 抗体阳性组 MMP-3、IL-17、IL-18、DAS28 高于 ACCP 抗体阴性组,差异具有统计学意义($P<0.05$),详见表 4。

2.5 RA 组患者 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 之间的相关性分析 RA 组患者 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 指标之间呈正相关,见表 5。

表 2 RA 稳定组与 RA 活动组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	RA 稳定组($n=20$)	RA 活动组($n=60$)
ACCP 抗体(RU/mL)	65.99±57.80	90.38±48.55 ^a
MMP-3(pg/mL)	277.72±25.96	340.74±48.33 ^a
IL-17(pg/mL)	282.77±31.34	342.29±44.26 ^a
IL-18(pg/mL)	107.27±5.57	187.17±30.78 ^a

^a: $P<0.05$,与 RA 稳定组比较。

表 3 RA 低、中、高活动组 ACCP 抗体、IL-17、IL-18、MMP-3、DAS28、CRP、ESR 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	低活动组($n=20$)	中活动组($n=16$)	高活动组($n=24$)
ACCP 抗体(RU/mL)	65.63±57.75	96.72±46.15 ^a	106.78±32.55 ^b
MMP-3(pg/mL)	295.15±25.53	326.21±24.43 ^a	388.42±27.19 ^{bc}
IL-17(pg/mL)	303.29±26.96	332.11±30.39 ^a	381.58±28.57 ^{bc}
IL-18(pg/mL)	152.53±13.00	180.88±7.16 ^a	220.24±6.72 ^{bc}
DAS28	3.07±0.09	4.65±0.41 ^a	5.98±0.45 ^{bc}
CRP(g/mL)	13.92±10.13	30.28±14.14 ^a	47.50±12.96 ^{bc}
ESR(g/mL)	23.65±17.88	43.00±13.39 ^a	55.63±22.36 ^{bc}

^a: $P<0.05$,与低活动组比较;^b: $P<0.05$,与低活动组比较;^c: $P<0.05$,与中活动组比较。

表 4 ACCP 抗体阴性组与阳性组 MMP-3、IL-17、IL-18、DAS28 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	ACCP 抗体阴性组($n=23$)	ACCP 抗体阳性组($n=57$)
MMP-3(pg/mL)	291.33±41.40	338.57±49.27 ^a
IL-17(pg/mL)	296.54±32.70	339.87±48.75 ^a
IL-18(pg/mL)	142.83±36.90	177.03±42.91 ^a
DAS28	3.34±1.14	4.43±1.48 ^a

^a: $P<0.05$,与 ACCP 抗体阴性组比较。

表 5 RA 组患者各项指标之间的相关性分析

组别	相关系数(r)	P 值
ACCP 抗体/IL-17	0.42	<0.05
ACCP 抗体/IL-18	0.36	<0.05
ACCP 抗体/MMP-3	0.35	<0.05
IL-17/IL-18	0.74	<0.05
IL-17/MMP-3	0.70	<0.05
IL-18/MMP-3	0.82	<0.05

表 6 各项检测指标与 RA 活动组监测指标 CRP、DAS28 的相关性分析

项目	相关系数(r)	P 值
ACCP 抗体/CRP	0.33	<0.05
ACCP 抗体/DAS28	0.36	<0.05
MMP-3/CRP	0.71	<0.05
MMP-3/DAS28	0.77	<0.05
IL-17/CRP	0.69	<0.05
IL-17/DAS28	0.73	<0.05
IL-18/CRP	0.70	<0.05
IL-18/DAS28	0.91	<0.05

2.6 各项检测指标与 RA 活动组监测指标的相关性分析
ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 与 RA 活动监测指标 CRP、DAS28 呈正相关,见表 6。

3 讨 论

RA 是一种病因尚未阐明的慢性炎症性疾病,主要表现为滑膜增生、关节内软骨和骨的退变,伴随大量激活的 T、B 淋巴细胞,单核巨噬细胞及成纤维样炎性细胞浸润,并分泌 IL-8、IL-15、IL-18 等大量的细胞因子,这些细胞因子之间形成作用网络,其中任何一个环节都可能对 RA 的病理过程产生重要的影响^[4]。

MMPs 是钙、锌离子依赖的蛋白酶超家族,能降解多种细胞外基质成分的酶,可直接降解基质和软骨介导 RA 关节损伤,尤以 MMP-3 为最重要。RA 早期滑膜增生形成血管翳,其中含有大量成纤维细胞,释放胶原蛋白酶、MMP-3 等引起骨组织破坏,同时软骨细胞和滑膜细胞也可分泌 MMP-3^[5]。梁柳琴等^[6]研究报道,RA 患者滑膜中 MMP-3 呈过表达状态,且滑液中含有大量的 MMP-3。研究认为,MMP-3 参与了 RA 的发病,并认为 MMP-3 是降解关节软骨最重要的酶,是系统性的炎症标志物,可作为 RA 患者滑膜损害和预后的指标。IL-17 作为一种强大的前炎症细胞因子,目前认为在 RA 中作用可能涉及以下几点:(1)IL-17 协同 IL-1,注射用重组改构人肿瘤坏死因子(TNF- α)等诱导软骨、滑膜细胞、巨噬细胞分泌 IL-6、IL-8、MMPs 等,增加软骨诱导型一氧化氮合酶表达^[7]。(2)IL-17 刺激滑膜、巨噬细胞,诱导破骨细胞分化因子表达,诱导破骨细胞分化^[8]。(3)IL-17 通过环氧化酶-2(COX-2)诱导前列腺素 E2(PGE2)合成,PGE2 扩张血管促进炎症细胞进入炎症部位,介导关节软骨及滑膜表面损伤^[9]。(4)IL-17 刺激多种趋化因子的产生,将粒细胞、巨噬细胞及淋巴细胞招募到滑膜从而加重炎症^[9]。(5)IL-17 增强软骨细胞及滑膜成纤维细胞 MMP-1、2、3、9、13 的表达,促进软骨蛋白多糖及胶原降解,抑制软骨细胞蛋白多糖的合成^[10-11]。(6)IL-17 可诱导核刺激因子受体配体(RANKL)表达,破坏 RANKL/骨保护素(OPG)平衡,促使破骨细胞分化,破骨增加而成骨减少^[12]。在 CIA 模型小鼠中通过敲除 IL-17 相关基因或用 IL-17 相关抗体阻断达到了良好的治疗效果^[13]。表明 IL-17 可作为治疗 RA 的临床疗效和预后判断的重要指标。

IL-18 作为一种前炎症细胞因子主要由巨噬细胞和树突状细胞分泌,通过与其特异受体复合物结合发挥生物学功能^[14],在系统性或局部炎症中起重要作用。在 RA 中,IL-18 可直接作用于关节滑膜单核-巨噬细胞,促进单核因子的产生^[15],直接刺激滑膜细胞产生 TNF- α 和 IL-6, TNF- α 诱导内皮细胞表达黏附分子,促进白细胞与血管内皮黏附、渗透,导致局部炎症, TNF- α 也能增加滑膜及内皮细胞成纤维细胞生长因子的释放,从而促使血管翳的形成。在体外 TNF- α 可增加滑液 IL-18 的表达。有文献报道,IL-18 单克隆抗体及其结合蛋白等可显著改善 RA 病情,缓解炎症的进一步发展,表明 IL-18 可作为治疗 RA 的临床疗效和预后判断的重要指标。

本研究结果显示,ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 在 RA 患者显著高于 OA 患者和对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。研究者进一步分析了各项指标在 RA 不同组间的表达情况,发现 RA 活动组 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 高于 RA 稳定组,且在 RA 低、中、高活动组中,ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18、DAS28、CRP、ESR 都有所升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。以 ACCP 抗体为依据,对 RA 患者

进行分组,发现 ACCP 抗体阳性组 MMP-3、IL-17、IL-18、DAS28 水平高于 ACCP 抗体阴性组,与陈浩全等^[16]报道的一致,提示 ACCP 抗体阳性 RA 患者具有较高的疾病活动性。然后对 RA 组患者 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 进行相关性分析,发现它们均呈正相关。研究者进一步分析 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 水平与 RA 活动组监测指标 CRP、DAS28 的相关性,结果显示它们均呈正相关,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。综上所述,提示 RA 患者血清中 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 的测定对 RA 患者病情活动性的判断以及疾病的治疗、预后有一定的临床价值,对于 ACCP 抗体、MMP-3、IL-17、IL-18 显著升高的 RA 患者应给予更为积极的抗风湿治疗,减轻患者关节损伤。

参考文献

- [1] 曾颖瑜,陶怡. 类风湿关节炎早期诊断的血清学检查研究进展[J]. 广东医学,2008,29(3):518-520.
- [2] 周涛. 类风湿关节炎滑液 MMPs 表达与血清免疫球蛋白的相关性研究[J]. 吉林医学,2013,34(14):2661-2662.
- [3] 刘学政,张家均,雷选斌. CCP 与 AKA 联合检测在类风湿关节炎诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(8):987-988.
- [4] Liew FY, McInnes IB. Role of interleukin 15 and interleukin 18 in inflammatory response[J]. Ann Rheum Dis, 2002, 61(2): 100-102.
- [5] 米存东,张素洁. 基质金属蛋白酶与类风湿性关节炎骨侵蚀关系的研究进展[J]. 内科,2011,6(4):342-345.
- [6] 梁柳琴,詹钟平,邱茜,等. 类风湿关节炎治疗前后血清基质金属蛋白酶-3 的变化[J]. 实用医学杂志,2008,24(11):1901-1903.
- [7] Bush KA, Walker JS, Lee CS, et al. Cytokine expression and synovial pathology in the initiation and spontaneous resolution phases of adjuvant arthritis: interleukin-17 expression is upregulated in early disease[J]. Clin Exp Immunol, 2001, 123(3): 487-495.
- [8] Bush KA, Farmer KM, Walker JS, et al. Reduction of joint inflammation and bone erosion in rat adjuvant arthritis by treatment with interleukin-17 receptor IgG1 Fc fusion protein[J]. Arthritis Rheum, 2002, 46(3): 802-805.
- [9] 施沛青,朱书,钱友存. IL-17 的信号传导及功能研究[J]. 中国细胞生物学报,2011,33(4):345-357.
- [10] Dudler J, Renggli-Zulliger N, Busso N, et al. Effect of interleukin 17 on proteoglycan degradation in murine knee joints[J]. Ann Rheum Dis, 2000, 59(7): 529-532.
- [11] 陈颖,陈曲波. Th17 细胞在炎症疾病中的作用[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(12):1176-1177.
- [12] Numasaki M, Fukushi J, Ono M, et al. Interleukin-17 promotes angiogenesis and tumor growth[J]. Blood, 2003, 101(7): 2620-2627.
- [13] 陈良东,林洁,周剑波,等. 类风湿关节炎患者 IL-17、IL-18、IL-6 和 TNF- α 检测的意义[J]. 当代医学,2010,16(7):13-14.
- [14] Dinarello CA. Interleukin-18 and the pathogenesis of inflammatory diseases[J]. Semin Nephrol, 2007, 27(1): 98-114.
- [15] 荆炳霞,朱静,张晓懿. RA 患者血清 TGF- β 1、MMP-3、IL-18 和 CRP 测定的临床意义[J]. 放射免疫学杂志,2013,26(2): 137-140.
- [16] 陈浩全,曾嫒妮. 类风湿关节炎患者 IL-18 检测的影响因素分析[J]. 检验医学与临床,2013,10(6): 652-653.