

基质金属蛋白酶与骨关节疾病关系的研究进展

The relation between metalloproteinase and joint disease

王毅 刘长明

WAN G Yi, LI U Changming

【关键词】 基质金属蛋白酶; 骨关节病 【Key words】 Matrix metalloproteinase (MMPs); Osteoarthritis

基质金属蛋白酶 (Matrix metalloproteinase, MMPs) 是一族具有降解几乎所有细胞外基质为主要功能的酶, 存在于正常人体, 参与伤口愈合、软骨基质的降解、骨吸收并与细胞外基质分解的疾病有关, 诸如类风湿性关节炎、骨性关节炎、骨质疏松症、牙周病和癌肿等^[1]。近年研究发现, OA 关节软骨细胞外基质合成与降解失衡是造成变性的主要原因之一。随着检测技术的发展, 基质金属蛋白酶在这类疾病中的作用更加受到人们的重视, 现已成为研究骨关节疾病发病机制的一个热点。本文就金属蛋白酶与骨关节疾病关系作一综述。

1 基质金属蛋白酶与关节软骨

关节软骨属于透明软骨, 是一种无血管、神经及淋巴分布的结缔组织, 由软骨细胞和软骨基质组成。蛋白酶及蛋白酶抑制物在软骨细胞外基质更新过程中起着重要作用。基质主要为蛋白聚糖、水分和糖蛋白形成固相结构, 胶原纤维存在其中, 构成网架结构, 从而赋予关节软骨的力学特征^[2]。正常成年关节软骨细胞与胚胎软骨静止区软骨细胞表型相似, 特异地表达与分泌 II、XI、XII 型胶原, 其中以 II 型胶原为主, 约占胶原总量的 90% 以上。特异性胶原不仅是决定关节力学特征的主要因素, 而且还参与调节骨的生长、发育, 其复杂的胶原结构特征的任何异常, 都将导致关节软骨的功能异常及关节炎的发生。

除此之外, 关节软骨还含有非特异性胶原, 在胚胎及幼年动物的关节表面可检测到 I 型胶原。I 型胶原主要分布于骨、皮肤和肌腱等部位。在胚胎长骨的生长、发育过程中, 伴随软骨内软骨细胞的增殖、肥大与退变, 软骨细胞可由分泌 II 型胶原转化为分泌 I 型胶原; 而在生长板软骨内, I 型胶原主要由钙化区侵入的血管壁细胞所形成。体内、体外的 OA 关节软骨细胞, 尤其是在软骨的中、深层, 虽然仍表达与生成 II 型胶原为主, 但最新的研究表明, OA 关节软骨 II 型胶原表达异常和部分丧失, 主要表现为: ① II 型胶原总量丢失, 三股螺旋变性 (接链), 进而导致张力降低, 并易于被金属蛋白酶 (胶原酶、基质溶素和凝胶酶) 降解, 这种变化除发生在软骨上、中层外, 随病变进展, 深层亦呈现相似的变化。与类风湿性关节炎不同的是, OA 和老年性关节软骨的降解始于软骨表层, 属

II 型胶原、蛋白多糖的非自身免疫性降解^[3]。② 关节软骨细胞可因伤害性刺激, 其 II 型胶原 mRNA 表达及蛋白分泌量增加, 但 II 型胶原的形成量明显高于蛋白多糖核心蛋白; 同时, 单位数量内的软骨细胞 DNA 含量增加不明显, 提示软骨细胞 II 型胶原 mRNA 的增加由 DNA 被活化所致。II 型胶原与蛋白多糖核心蛋白表达及形成的失调, 可能是早期 OA 病变的特征。③ 对有遗传倾向的 OA 及转基因动物模型的研究表明, 突变的 COL2A1 产生变性的 II 型胶原蛋白, 是 OA 形成与发展的重要病因。OA 早期即有 XI 型胶原的降解现象。OA 关节软骨胶原可溶性增加, 可能与 OA 软骨 XI 型胶原浓度升高有关, XI 型胶原含量的增加可降低原纤维交叉链连接或改变原纤维的拱型结构, 并发现金属蛋白酶中的凝胶酶对 OA 关节软骨 XI 型胶原裂解活性高于正常^[4]。OA 关节软骨基质中的 VI 型胶原含量高于正常, 其浓度与 OA 关节软骨胶原的可溶性呈正相关。在 OA 时, X 型胶原不仅存在于 OA 骨赘软骨内成骨区即软骨下骨囊性变处, 而且病理性刺激因素可促使关节软骨细胞的增殖, 而增殖的软骨细胞逐渐分化为肥大软骨细胞, 并失去其 II 型胶原表型, 合成大量的 X 型胶原, 这种现象可见于 OA 关节软骨的全层。进而导致软骨基质的损害及表面结构的不完整。胶原酶-3 在软骨退化和 OA 的形成中起到非常重要的作用。通过转录酶-PCR 分析表明在关节组织中, 胶原酶-3 由软骨细胞而不是滑液细胞表达的。与正常人相比, OA 患者胶原酶-3 mRNA 的表达水平显著增高, 胶原酶-3 比 II 型胶原酶-1 具有较高的催化速率。它的合成与表达也可由蛋白免疫因子 IL-β 和 TNFα 调节。因此, 在整个基质降解酶家族中, 基质金属蛋白酶的作用非常重要。软骨细胞、滑膜细胞及炎症细胞均能合成蛋白酶, MMPs 以无活性酶原形式出现, 因此酶原激活成为组织中酶活性调节的重要环节^[5]。Yoshihara 等^[6] 试图对 RA 和 OA 患者的 MMP-3 和 TIMP-1 作为关节炎的血清标记物的水平进行评价, 使用酶免疫分析法测定了 97 例健康者和 109 例 RA 患者及 47 例 OA 患者血清及关节液中的水平, 结果表明: RA 患者 MMP-3 和 TIMP-1 的血清水平与疾病的活性相关。另外, 还测定了个体病人血清和关节液中 MMP-3 和 TIMP-1 的水平及配对关系, RA 患者血清中的水平均显著高于 OA 和正常对照组。其 MMP-3 水平在血清中和关节

液中相一致,而 TIMP-1 不一致。表明其二者的增高均与炎症有关。用免疫组化方法在鼠和兔关节组织中发现间质明胶酶在破骨细胞和骨吸收旋涡内均呈阳性,说明破骨细胞能够合成该酶并分泌到胞外,参与骨基质的降解。目前认为该酶直接参与了骨基质 I 型胶原的降解^[7]。

2 基质金属蛋白酶与骨性关节炎

骨性关节炎的发病机制十分复杂,一般认为 MMPs 对关节软骨细胞外基质有降解作用,是关节软骨肿胀,抗外力作用下,最终导致对关节软骨造成进行性破坏。研究发现^[8],骨性关节炎患者滑膜和软骨细胞都有高表达的 MMP-1 和 MMP-3,而 TIMP 增加甚少,呈现 MMPs/TIMPs 的失衡,从而导致软骨降解增加,以及软骨破坏的严重程度与 MMPs/TIMPs 的失衡之比呈正相关。由于 MMP-3 对蛋白聚糖 (PG) 有高度的裂解活性,在实验性骨关节炎的早期, MMP-3 可降解 XI 型胶原,可能与骨关节炎早期胶原网络水肿有关。MMP-3 除了自身的作用直接降解蛋白多糖的核心外,另一更重要的作用途径是激活 MMP-1,加速胶原的病理性降解,也使与透明质酸相连的可聚蛋白多糖由于网络的松解而丢失。在膝关节炎与全身骨关节炎病人血清中, MMP-3 浓度均较正常组明显升高,且在全身骨关节炎中升高幅度比膝关节炎大,在膝关节炎中不受病期影响^[9],由于在血清中就能检测到 MMP-3 明显升高,因此,它在骨关节疾病中的作用特别重要。基质溶解素在 pH 5.5 的环境下能自发性活化,并对 TIMPs 的抑制作用敏感性下降,从而加强对蛋白聚糖的降解^[10]。MMP-7 在骨关节炎软骨中有过度表达,对软骨蛋白聚糖等多种细胞外基质成分具有高度的独特活性。MMP-13 能降解 II 型胶原,在骨性关节炎病人的滑液中可见增高,在成骨细胞、软骨细胞和成纤维细胞中已经鉴定出一种特殊受体,这种受体可结合 MMP-13,并通过与低密度脂蛋白受体相关蛋白的相互作用,介导其内在转化和降解。研究表明^[11], MMP-13 受体系统在骨性关节炎中的功能失调导致了基质金属蛋白酶 13 水平增高和基质破坏。骨性关节炎患者膝关节滑液中基质溶解素增高 15~45 倍,它与 TIMPs 的比率在正常人为 0.5,而在患者中高达 1.6~5.3。基质溶解素作为骨性关节炎标志物,其敏感性和特异性分别为 84% 和 90%^[12]。在 OA 关节软骨纤维化严重的区域发现有 MMP-9 mRNA 高度表达,因此,认为 MMP-9 则可能是软骨进行性破坏的标志物之一。

3 金属蛋白酶的抑制物与骨性关节炎的治疗

正常机体内存在几种自发的 MMPs 抑制物,其中重要的为 $\alpha 2$ -巨球蛋白,它是一种重要的金属蛋白酶清除剂,可非特异性地抑制 MMP-1 及 MMP-3。另外,组织中还存在着特异性的金属蛋白酶抑制物 (Tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMPs) 它们由滑膜及软骨细胞合成。TIMPs 可与活化的 MMPs 形成不可逆的 1:1 非共价键结合,抑制 MMP 对基质蛋白质的降解^[13]。目前发现至少三种 TIMPs。近年来,随着对金属蛋白酶及其抑制物的深入研究,针对 MMPs 在关节软骨中的破坏作用,发现并应用了一些 MMPs 的抑制物,并经动物实验证实确有抑制软骨破坏和缓解病情的作用^[14]。其中作用比较明显的有:① 3-羟-3-甲基戊二酰辅酶 A 还

原酶抑制剂。实验表明,使用 3-羟-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂将通过提高 LRP(低密度脂蛋白受体相关蛋白)的含量增加基质金属蛋白酶的降解。在从首次进行髌、膝关节成形术的骨性关节炎病人的软骨细胞和滑膜细胞与无关节炎的尸体标本比较 MMP-13 的含量有显著差异。用 3-羟-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂对患者进行治疗可增加 MMP-13 降解达 324%^[15]。② 四环素族抗生素。四环素族抗生素具有拮抗 MMPs 的作用,在体外四环素能抑制骨性关节炎患者关节软骨匀浆对外源性 XI 型胶原的消化,使 XI 型胶原裂解减少。临床研究发现^[16] 50 mmol 多西环素可在 mRNA 和蛋白质两个水平下调滑膜细胞 MMP-8 表达,并可完全抑制 MMP-8 对 II 型胶原的降解,因此,多西环素对 MMP-8 的合成及活性的双重阻断作用为骨性关节炎临床治疗提供了有力的依据。③ 多硫酸氨基葡聚糖酯和氨基葡聚糖-多肽复合物。动物实验表明,二者均能使病变软骨中 MMPs 显著减少。多硫酸氨基葡聚糖酯能直接阻断 MMPs 活性,并显著减轻骨性关节炎软骨水肿和改善组织病理学指标;氨基葡聚糖-多肽复合物在缓解疼痛和减轻软骨病变方面显著优于对照药物。④ 其它抑制因子。血浆中的 $\alpha 2$ 巨球蛋白是一种非特异性蛋白酶抑制因子,同金属蛋白酶抑制剂族 (TIMPs) 一样能抑制 MMPs 的活性。此外,某些人工合成的含硫多肽衍生物,甚至半胱氨酸的非肽衍生物也能与 MMPs 的锌离子活性中心结合,抑制 MMPs 的活性。

总之, MMPs 在骨关节疾病的重要作用已被人们所肯定,但有些问题有待进一步深入研究。首先, MMPs 为中性蛋白酶,它如何在酸性的骨吸收旋窝中发挥作用,有待进一步研究。目前推测,随着骨矿物质溶解和骨基质降解,骨吸收旋窝内的 pH 值得到缓冲,从而有利于 MMPs 发挥作用^[17]。其次,破骨细胞中 MMPs 的基因及蛋白表达调控研究还有待进一步深入。如能对骨吸收进行调控,那么在临床上必有非常重要的使用价值。最后, TIMPs 对 MMPs 的拮抗作用及与相应的细胞因子的关系的研究必将对骨关节疾病的诊断和治疗提供可靠的依据。尽管临床前期研究逐步深入,临床应用基质金属蛋白酶抑制剂治疗骨关节炎仍有一定的难度^[18],其难点在于设计有高度亲和力的特异性抑制物以及如何将它们送到关节局部。金属蛋白酶及其抑制剂的研究丰富了人们对骨关节疾病的认识。可以预见,随着研究的深入,人们可以通过调控酶蛋白的合成和抑制来控制软骨的破坏并使用相应的抑制剂来对骨关节疾病进行治疗。

参考文献

- 1 刘荣坤,曹采方.快速进展性牙周炎患者龈沟液中的弹性蛋白酶活性.中华口腔医学杂志,1999,34(1):46-48.
- 2 Osch GJ, Kraan PM, Valburg AA, et al. The relation between cartilage damage and osteophyte size in a murine model for osteoarthritis in the knee. Rheumatol Int, 1996, 16(3): 115-119.
- 3 Muir H. Articular cartilage biochemistry. Raven Press New, 1986.
- 4 Martel PJ, McCollum R, Fujimoto N, et al. Excess of metalloproteinases over tissue inhibitor of metalloproteinase may contribute to cartilage degradation in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. Lab Invest, 1994, 70: 807-815.

5 Bian J, Sun Y. Transcriptional activation by p53 of the human type IV collagenase (gelatinase A or matrix metalloproteinase 2) promoter. Mol Cell Biol, 1997, 17: 6330-6338.

6 Yoshihara Y, Obata K, Fujimoto N, et al. Serum and synovial fluid levels of matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of metalloproteinases in patients with osteoarthritis. Arthritis Rheum, 1995, 38(7): 969-975.

7 Ohta S, Imai K, Yamashita K, et al. Expression of matrix metalloproteinase 7 (matrilysin) in human osteoarthritic cartilage. Lab Invest, 1998, 78: 79-87.

8 Flannery CR, Little CB, Caterson B, et al. Effects of culture conditions and exposure to catabolic stimulators (IL-1 and retinoic acid) on the expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and disintegrin metalloproteinases (ADAMs) by articular cartilage chondrocytes. Matrix Biol, 1999, 18(3): 225-237.

9 Wu CW, Tchetina EV, Mwale F, et al. Proteolysis involving matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3) is required for chondrocyte differentiation that is associated with matrix mineralization. J Bone Miner Res, 2002, 17(4): 639-651.

10 Kubota T, Kubota E, Matsumoto A, et al. Identification of matrix metalloproteinases (MMPs) in synovial fluid from patients with temporomandibular disorder. Eur J Oral Sci, 1998, 106(6): 992-998.

11 Lohmander LS, Hoerrner LA, Lark MW, et al. Metalloproteinases, tissue inhibitor, and proteoglycan fragments in knee synovial fluid in human osteoarthritis. Arthritis Rheum, 1993, 36: 181-189.

12 Wang L, Almqvist KF, Veys EM, et al. Control of extracellular matrix homeostasis of normal cartilage by a TGFbeta autocrine pathway. Validation of flow cytometry as a tool to study chondrocyte metabolism in vitro. Osteoarthritis Cartilage, 2002, 10(3): 188-198.

13 Close DR. Matrix metalloproteinase inhibitors in rheumatic diseases. Ann Rheum Dis, 2001, 60(Suppl 3): ii62-67.

14 Homandberg GA, Kang Y, Zhang J, et al. A single injection of fibronectin fragments into rabbit knee joints enhances catabolism in the articular cartilage followed by reparative responses but also induces systemic effects in the non-injected knee joints. Osteoarthritis Cartilage, 2001, 9(8): 673-683.

15 Smith GN, Yu LP, Brandt KD, et al. Oral administration of doxycycline reduces collagenase and gelatinase activities in extracts of human osteoarthritic cartilage. J Rheumatol, 1998, 25: 532-535.

16 Altman RD, Dean DD, Muniz OE, et al. Therapeutic treatment of canine osteoarthritis with glycosaminoglycan polysulfuric acid ester. Arthritis Rheum, 1989, 32: 1300-1307.

17 Mort JS, Billington CJ. Articular cartilage and changes in arthritis: matrix degradation. Arthritis Res, 2001, 3(6): 337-341.

18 Bigg HF, Rowan AD. The inhibition of metalloproteinases as a therapeutic target in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Curr Opin Pharmacol, 2001, 1(3): 314-320.

(收稿: 2002-07-11 编辑: 李为农)

北京市京华行科贸有限责任公司

生产研制产品报价单

京药管械经营许 20000737 号 国医械广审(文) 020129

一、牵引康复设备 (D)代表全电脑控制

1. JKF 系列多功能脊柱牵引康复床: 电脑程控, 腰椎、颈椎、全身静止、间歇牵引, 侧扳, 腰部热疗按摩, 下肢摇摆

II 型: 16900 元/台 III 型: 19800 元/台 IIIA 型: 26500 元/台 IIIA(D) 型: 38000 元/台

IB 型: 8800 元/台 IB(D) 型: 19800 元/台 IC 型: 13000 元/台 IC(D) 型: 23900 元/台

2. FYC 系列俯卧式多功能腰椎治疗床: 屈膝俯卧位牵引、捶击、热疗一体化, 颈牵、下肢摇摆

II 型: 7660 元/台 IIIA 型: 9850 元/台 IIIA 电动型: 13900 元/台 IIIA(D) 型: 29000 元/台

3. JQY 系列多功能颈椎牵引治疗仪: 颈牵、电针、热疗一体化

I 型: 5200 元/台 I(B) 型: 12600 元/台 I(A) 型: 8800 元/台 IC 家用型: 520 元/台

二、RLY-A 系列 BH 型中频热场针灸按摩仪

该系列产品均为电脑程控, I 型产品具有人工针灸的各种针法及按摩手法, 手法逼真、柔和、深沉, 力度等同人工。中频波渗透性强, 可调节至较深层次的穴位及病灶处。III 型和 VI 型增设远红外线热疗、药物离子导入, 配有与人体各部位相吻合的药物模具。主治: 风湿病、腰椎间盘突出症、颈椎病、骨质增生、关节炎、急慢性扭拉伤、偏瘫肢体恢复等。

I 型: 6000 元/台 III 型: 9000 元/台(双功能型) VI 型: 12000 元/台(双功能智能型)

三、其它设备

1. XN 心脑检查治疗仪 IIIA 型 2960 元/台 2. GZ 骨质增生药物电泳治疗仪 IIIA 型 3260 元/台

3. FD 风湿治疗仪 IIIA 型 2880 元/台 4. DJS 胆结石治疗仪 IIIA 型 3380 元/台

邮购办法: (1) 邮局, 银行汇款均可, 款到后立即发货。(2) 厂家销售, 所售产品保修 1 年, 长期维修。运费保险费由我方负责。(3) 面向全国常年办理邮购, 欢迎来函来电索取资料。公司地址: 北京广外大街荣丰 2008-B2 楼 22 层 F02 通信及邮局汇款地址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号 128 信箱京华行公司 邮编: 100081 联系人: 徐照 电话: 010-66031777 手机: 13901040602, 13910097637 银行汇款户名: 北京市京华行科贸有限责任公司 开户行: 北京建行玉泉路分理处 帐号: 2630017010