

## 生物标记物在骨关节炎早期诊断中的应用分析

曾俊杰 马立峰 赵嘉铭 郭艾

首都医科大学附属北京友谊医院骨科 100050

通信作者:郭艾,Email: guoaiyouyiyuan@163.com

**【摘要】** 通过分析总结多种生物标记物生物学特性,探索不同标记物用于骨关节炎早期诊断的可靠性。软骨寡聚基质蛋白、I型胶原 N 端交联端肽及 II 型胶原 C 端交联端肽可能是骨关节炎早期诊断的有效标记物,透明质酸与 I 型胶原蛋白 C 端交联端肽更适用于评价骨关节炎的发生及发展,而长链非编码 RNA 与微小 RNA 对于骨关节炎的诊断及评估作用仍有待进一步研究。同一种标记物可能同时兼具 2 种或以上的功能,本研究旨在通过对现有生物标记物特点进行总结,寻找一种能稳定、精确反映早期骨关节炎退行性变的标记物。

**【关键词】** 生物学标记; 骨关节炎; 早期诊断

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2019.11.013

### Analysis of bio-markers in osteoarthritis early diagnosis

Zeng Junjie, Ma Lifeng, Zhao Jiaming, Guo Ai

Department of Orthopedic, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Corresponding author: Guo Ai, Email: guoaiyouyiyuan@163.com

**【Abstract】** Through analysis and summary of the biological characteristics of various biomarkers, to explore the reliability of different markers for early diagnosis of osteoarthritis. Cartilage oligomeric matrix protein, N-terminal crosslinked telopeptide of type I collagen and C-terminal crosslinked telopeptide of type II collagen are the possible effective markers in osteoarthritis early diagnosis. Hyaluronic acid and C-terminal crosslinked telopeptide of type I collagen are more suitable for evaluating the occurrence and development of osteoarthritis. The efficacy of miRNA and lncRNA in osteoarthritis diagnosis and evaluation remains to be proved. Each marker may have two or more biological effects, this paper will focus on finding out an accurate and stable marker with the analysis and summary of present bio-markers.

**【Key words】** Biological markers; Osteoarthritis; Early diagnosis

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2019.11.013

骨关节炎是造成中老年人群关节功能受限、日常活动耐力及生活质量降低的常见退行性疾病,关节软骨磨损及软骨下骨硬化是其主要病理特点。骨关节炎的诊断依靠症状、体征及影像学改变的综合评价,影像学检查是诊断骨关节炎的重要手段,但骨关节炎的退行性过程常发生于影像学改变之前,骨关节炎生物标记物可从分子甚至基因水平反映骨关节炎退行性过程,不同标记物在骨关节炎发生发展、预后评估、治疗效果评价等方面的生物学特性不完全相同。Bauer 等<sup>[1]</sup>提出“BIPED”分类法,根据生物标记物的特点将其分为 5 类: B 代表疾病严重程度标记物、I 代表研究性标记物、P 代表预后性标记物、E 代表疗效标记物、D 代表诊断性标记物。

在对骨关节炎发病机制的研究中发现,60 岁前骨关节炎的病理改变主要发生于软骨周围组织,如软骨下骨、滑膜等,难以通过 X 线检测;对于骨关节炎的早期诊断已逐渐超越关节间隙变窄或骨赘形成等

传统影像学表现的局限,应用软骨超声、关节核磁评估软骨厚度改变或骨髓水肿情况<sup>[2-3]</sup>、通过膝关节镜发现软骨损伤等手段均有助于骨关节炎早期诊断<sup>[4]</sup>,通过研究不同生物标记物的生物学特性,实现早期骨关节炎的诊断及预警仍是临床关注的热点。

骨关节炎相关生物标记物是骨关节炎发展过程中骨、软骨与滑膜等组织、细胞及分子病理性改变的产物或机体刺激性产生的具有反映骨关节炎发生、发展及监测骨关节炎治疗效果的一类物质。本文通过对近年来骨关节炎相关生物标记物文献进行总结,将标记物分为经典骨关节炎标记物及新型骨关节炎标记物。

### 1 经典骨关节炎标记物

经典骨关节炎标记物主要为骨、软骨及滑膜组织受炎症累及产生的一类反映骨吸收、骨转化、软骨细胞及软骨基质损伤或滑膜功能受损的分子。

#### 1.1 软骨寡聚基质蛋白

软骨寡聚基质蛋白 (Cartilage oligomeric matrix

protein, COMP) 是血小板反应蛋白家族的一种二硫键同聚物,其均聚体结构使其可以通过 C 端球蛋白域与其他蛋白和细胞表面相互作用<sup>[5]</sup>。COMP 经软骨细胞分泌至软骨外基质后与纤连蛋白、软骨基质蛋白、聚集蛋白聚糖、I/II 型胶原蛋白等多种分子交联共同参与软骨基质的形成<sup>[6]</sup>。COMP 的分泌可强化软骨细胞外基质产生骨髓间充质干细胞,促进软骨成分分化,诱导透明软骨的形成,提升软骨机械性能<sup>[7]</sup>。

体液中 COMP 水平升高可反映软骨损伤,协助诊断骨关节炎。急性关节损伤时炎症因子如白细胞介素-1 $\beta$  是刺激滑液内 COMP 水平明显升高的因素之一。而对于慢性骨关节炎患者,由于软骨成分缺失,COMP 水平反而较急性损伤时降低<sup>[5]</sup>。Jiao 等<sup>[4]</sup> 通过对比骨关节炎患者体液中微观分子变化与宏观影像学改变的平行性,发现滑液内 COMP 水平与骨赘形成、关节间隙变窄等骨关节炎典型影像学改变具有正相关性,并且在软骨损伤早期滑液内 COMP 浓度已有所升高。Georgiev 等<sup>[8]</sup> 通过膝关节核磁共振成像技术验证了血清 COMP 的升高与膝关节软骨损伤程度的相关性。但有关 COMP 在骨关节炎早期诊断的应用前景方面,其认为骨关节炎早期 COMP 的升高可能是其他软骨转换过程而非软骨损伤所致。同时血清 COMP 水平可能受年龄、体重指数、骨关节炎病程、疼痛程度以及炎症累及的关节数等因素的影响<sup>[8-9]</sup>,COMP 反映早期骨关节炎的可靠性有待确定。同时 Verma 和 Dalal<sup>[2]</sup> 认为机体针对软骨成分的免疫反应在发生软骨破坏前已经启动。COMP 作为反映软骨损伤的指标,能否较早地反映骨关节炎的发生仍需进一步研究。

## 1.2 透明质酸

透明质酸是一种长链分子黏多糖,是由多个双糖组成,主要由滑膜细胞、软骨细胞、成纤维细胞及间充质干细胞合成<sup>[10]</sup>,在软骨细胞外基质与滑膜液中含量丰富<sup>[11]</sup>。透明质酸在关节运动时可起润滑及缓冲作用。滑膜液内高水平透明质酸可维持滑液高黏度,有助于减轻炎症及保护软骨基质,维持关节完整性<sup>[12]</sup>。透明质酸还可结合多种细胞表面受体,其中与 CD44(一种黏附性跨膜受体糖蛋白)的结合,对延缓软骨退变及软骨重塑有重要作用<sup>[13]</sup>。关节内微环境的改变、炎症所致滑膜细胞及软骨细胞功能改变可造成透明质酸水平变化。

骨关节炎患者体液透明质酸水平与影像学严重程度呈明显负相关,透明质酸水平越低,骨赘数量越多,关节间隙狭窄越重<sup>[12, 14]</sup>。Singh 等<sup>[14]</sup> 提出可根据血清透明质酸水平定义骨关节炎的进展程度:轻

度 <21.93 ng/ml, 21.93 ng/ml  $\leq$  中度 <42.01 ng/ml, 重度  $\geq$ 42.01 ng/ml。但骨关节炎患者血清透明质酸水平可受到包括肥胖、腰臀比、年龄、血脂联素及瘦素水平在内多种因素的影响<sup>[15]</sup>,滑液透明质酸水平的降低也可能与透明质酸合成方式改变或关节内积液所致其浓度稀释有关<sup>[16]</sup>。因此透明质酸可用于辅助了解骨关节炎进展情况,但作为骨关节炎诊断及分期指标的可靠性不足。在早期诊断方面,软骨损伤的早期,滑液内透明质酸水平明显升高<sup>[16]</sup>,这可能提示轻度的软骨损伤可刺激滑膜组织产生并释放更多的透明质酸以抵抗并降低炎症反应。但考虑到透明质酸降解产生的高分子(2 000 ~ 6 000 ku)及低分子碎片(<20 ku)对炎症反应的影响仍有争议<sup>[10]</sup>,所以炎症早期透明质酸的变化机制以及滑液内透明质酸由升高转变为降低的节点尚不明确,透明质酸目前在骨关节炎早期诊断方面价值有限。

## 1.3 I / II 型胶原降解产物

骨关节炎相关 I 型及 II 型胶原降解产物主要包括 I / II 型胶原蛋白 C 端交联端肽(C-terminal crosslinked telopeptide of type I / II collagen, CTX- I / II)与 I 型胶原蛋白 N 端交联端肽(N-terminal crosslinked telopeptide of type I collagen, NTX- I)。

I 型胶原分布于皮肤、骨、肌腱等部位,同时也广泛分布于结缔组织。骨关节炎患者可能由于疼痛所致活动量降低导致全身骨代谢增强<sup>[17]</sup>,而血、尿 I 型胶原降解产物水平可反映全身骨骼重塑或骨吸收的情况。体液内 NTX- I 水平对于骨关节炎诊治评估的意义目前仍有争议。血清 NTX- I 水平与白细胞介素-6、白细胞介素-17、肿瘤坏死因子  $\alpha$  及肿瘤坏死因子受体 1 等炎症因子水平呈正相关<sup>[18]</sup>,可反映体内炎症反应严重程度。Ren 和 Krawetz<sup>[19]</sup> 通过对多种生物标记物进行系统回顾及 Meta 分析发现 NTX- I 是唯一在骨关节炎早期升高,且在不同研究中结果无明显差异性的稳定标记物,可能是骨关节炎早期诊断的有效标志物之一。Kelman 等<sup>[20]</sup> 则发现血清 NTX- I 水平升高者发生髌关节炎的概率更高,尽管骨赘及软骨下骨硬化可能导致血清 NTX- I 升高,但并未发现其与疾病进展的相关性。Tanishi 等<sup>[17]</sup> 则认为 NTX- I 水平易受全身骨代谢的影响,同时发现早期骨关节炎与大部分进展期骨关节炎患者 NTX- I 均处于较高水平,因此 NTX- I 难以作为骨关节炎的早期诊断标记物。而血清 CTX- I 与尿 CTX- I  $\alpha$  仅在骨髓重度损伤时可出现明显升高<sup>[21]</sup>,并不具备骨关节炎早期诊断能力。

II 型胶原主要分布于软骨基质中,其降解产物

CTX- II 水平可能与骨的重塑、修复过程有关<sup>[22]</sup>,任何造成软骨损伤的因素均可使体液 CTX- II 水平升高。Deveza 等<sup>[21]</sup>发现尿 CTX- II 水平可反映骨形态的变化,其变化趋势与骨髓损伤及骨赘形成的影像学变化最为接近,基线尿 CTX- II 水平更是骨赘增多的预测性指标。Tanishi 等<sup>[17]</sup>验证了基于 Kellgren-Lawrence 分级的重度骨关节炎较轻度骨关节炎患者具有更高的尿 CTX- II 水平,其中年龄是影响因素之一,老年患者尿 CTX- II 水平更高。尿 CTX- II 水平生理性的周期变化<sup>[23]</sup>,也为制定测量标准带来了困难。尿 CTX- II 可预测和评估骨关节炎进展的有效性,且对骨关节炎的诊断也有一定意义,但由于其易受其他因素的影响,单一应用尿 CTX- II 作为骨关节炎早期诊断性标记物尚显精确性不足,联合多种标记物的变化可能更具可靠性。

#### 1.4 其他经典骨关节炎标记物

除了骨、软骨、滑膜和胶原蛋白代谢相关生物标记物,非胶原蛋白及软骨基质蛋白水解酶等同样是研究热点。基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinase, MMP)可参与软骨基质的降解,从而介导软骨退变<sup>[24]</sup>。MMP-3 与骨关节炎的影像学严重程度呈正相关,同时多发性关节炎患者 MMP-3 平均水平较单关节炎患者更高<sup>[8]</sup>,提示 MMP-3 具有反映骨关节炎广泛性的特点。但 MMP-3 可能受年龄、体重指数或疼痛程度、病程长短等因素的影响<sup>[4, 8]</sup>。软骨可聚蛋白多糖同样是软骨基质的组成成分,COMP 是其降解产物。Lohmander 等<sup>[25]</sup>发现软骨可聚蛋白多糖与 COMP 比值的变化可用于判断是否存在软骨损伤,软骨损伤后短期内即可出现该比值的升高,但这种比例升高将持续存在,同样难以特异性鉴别早期骨关节炎。

#### 2 新型骨关节炎标记物

新型骨关节炎标记物主要包括骨关节炎相关微小 RNA (micro RNAs, miRNA) 与长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNA)。miRNA 与 lncRNA 种类繁多,其生成位点可能紧邻炎症基因或软骨生物学相关基因,炎症介质的刺激或非正常滑膜均可产生不同的 miRNA 或 lncRNA<sup>[26-27]</sup>。而不同 RNA 也具有不同生物学作用。CILinc01、CILinc02 为多种促炎因子介导产生的 lncRNA,其表达减少可能造成软骨自身处理炎症的能力降低。PACER 是一种 miRNA,其生成与环氧酶-2 的诱导有关,在骨关节炎的进展过程中具有一定的抗炎作用<sup>[27]</sup>。miR-27b-3p 可抑制滑膜 *RC3H1* 与 *QKI* 基因表达,后两者与骨关节炎的进展有关<sup>[26]</sup>。除此以外,miRNA 的表达水平可能同时影响其他生物标记物代谢,如 miR-200b-3p 可减少

MMP 的表达,同时刺激 II 型胶原的生成,增强软骨细胞活性<sup>[28]</sup>。miRNA 及 lncRNA 对于预测和了解疾病发生、发展的精确性是经典骨关节炎标记物所不具备的,但从众多的 miRNA、lncRNA 或基因中找出一种或几种可有效、稳定地反映骨关节炎发生和发展的标记物仍是一个难题。

#### 3 总结

生物标记物相较于传统影像学骨关节炎评价方式如 X 线、核磁共振成像技术等具有更客观性、预见性及可量化性的优势,较关节镜等有创检查方式创伤更小,对于实现骨关节炎的早期诊断、精准管理有重要意义。但单一标记物可能受到多种因素影响,对于骨关节炎早期诊断灵敏度及稳定性较低,多种生物标记物的联合监测已成为研究趋势。探索高灵敏度及特异性的新型骨关节炎标记物以及简便的检测手段同样是未来的研究方向。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参 考 文 献

- [1] Bauer DC, Hunter DJ, Abramson SB, et al. Classification of osteoarthritis biomarkers: a proposed approach [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006, 14(8): 723-727. DOI: 10.1016/j.joca.2006.04.001.
- [2] Verma P, Dalal K. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in knee osteoarthritis: A novel diagnostic and prognostic biomarker [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(7): 999-1006. DOI: 10.1002/jor.22324.
- [3] Sakthiswary R, Rajalingam S, Hussein H, et al. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in rheumatoid arthritis and its correlation with sonographic knee cartilage thickness and disease activity [J]. *Clin Rheumatol*, 2017, 36(12): 2683-2688. DOI: 10.1007/s10067-017-3817-0.
- [4] Jiao Q, Wei L, Chen C, et al. Cartilage oligomeric matrix protein and hyaluronic acid are sensitive serum biomarkers for early cartilage lesions in the knee joint [J]. *Biomarkers*, 2016, 21(2): 146-151. DOI: 10.3109/1354750X.2015.1118547.
- [5] Skögldebrand E, Ekman S, Mattsson Hultén L, et al. Cartilage oligomeric matrix protein neopeptide in the synovial fluid of horses with acute lameness: A new biomarker for the early stages of osteoarthritis [J]. *Equine Vet J*, 2017, 49(5): 662-667. DOI: 10.1111/evj.12666.
- [6] Flowers SA, Kalamajski S, Ali L, et al. Cartilage oligomeric matrix protein forms protein complexes with synovial lubricin via non-covalent and covalent interactions [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017, 25(9): 1496-1504. DOI: 10.1016/j.joca.2017.03.016.
- [7] Wang C, Liu G, Zhang W, et al. Cartilage oligomeric matrix protein improves in vivo cartilage regeneration and compression modulus by enhancing matrix assembly and synthesis [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 159: 518-526. DOI: 10.1016/j.

- colsurfb. 2017. 08. 008.
- [8] Georgiev T, Ivanova M, Kopchev A, et al. Cartilage oligomeric protein, matrix metalloproteinase-3, and Coll2-1 as serum biomarkers in knee osteoarthritis: a cross-sectional study [J]. *Rheumatol Int*, 2018, 38(5): 821-830. DOI: 10.1007/s00296-017-3887-y.
- [9] Fernandes FA, Pucinelli ML, da Silva NP, et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) levels in knee osteoarthritis in a Brazilian population: clinical and radiological correlation [J]. *Scand J Rheumatol*, 2007, 36(3): 211-215. DOI: 10.1080/03009740601154186.
- [10] Reitingger S, Lepperding G. Hyaluronan, a Ready Choice to Fuel Regeneration; A Mini-Review [J]. *Gerontology*, 2013, 59(1): 71-76. DOI: 10.1159/000342200.
- [11] Avenoso A, D'Ascola A, Scuruchi M, et al. Hyaluronan in experimental injured/inflamed cartilage: In vivo studies [J]. *Life Sci*, 2018, 193: 132-140. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.11.006.
- [12] Vincent HK, Percival SS, Conrad BP, et al. Hyaluronic Acid (HA) Viscosupplementation on Synovial Fluid Inflammation in Knee Osteoarthritis: A Pilot Study [J]. *Open Orthop J*, 2013, 7(1): 378-384. DOI: 10.2174/1874325001307010378.
- [13] Li J, Gorski DJ, Anemaet W, et al. Hyaluronan injection in murine osteoarthritis prevents TGFbeta 1-induced synovial neovascularization and fibrosis and maintains articular cartilage integrity by a CD44-dependent mechanism [J]. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(3): R151. DOI: 10.1186/ar3887.
- [14] Singh S, Kumar D, Sharma NR. Role of Hyaluronic Acid in Early Diagnosis of Knee Osteoarthritis [J]. *J Clin Diagn Res*, 2014, 8(12): 4-7. DOI: 10.7860/JCDR/2014/11732.5342.
- [15] Prakash J, Gabdulina G, Trofimov S, et al. Quantitative Genetics of Circulating Hyaluronic Acid (HA) and its Correlation with Hand Osteoarthritis and Obesity-Related Phenotypes in a Community-Based Sample [J]. *Ann Hum Biol*, 2017, 44(6): 522-530. DOI: 10.1080/03014460.2017.1334822.
- [16] Plickert HD, Bondzio A, Einspanier R, et al. Hyaluronic acid concentrations in synovial fluid of dogs with different stages of osteoarthritis [J]. *Res Vet Sci*, 2013, 94(3): 728-734. DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.11.007.
- [17] Tanishi N, Yamagiwa H, Mera H, et al. Usefulness of urinary CTX-II and NTX-I in evaluating radiological knee osteoarthritis: the Matsudai knee osteoarthritis survey [J]. *J Orthop Sci*, 2014, 19(3): 429-436. DOI: 10.1007/s00776-014-0535-1.
- [18] Korczowska I, Lacki JK, Hrycaj P. Influence of Infliximab on Cytokines Network and Markers of Bone Remodeling in Rheumatoid Arthritis Patients [J]. *Yonsei Med J*, 2013, 54(1): 183. DOI: 10.3349/ymj.2013.54.1.183.
- [19] Ren G, Krawetz RJ. Biochemical Markers for the Early Identification of Osteoarthritis: Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Mol Diagn Ther*, 2018, 22(6): 671-682. DOI: 10.1007/s40291-018-0362-8.
- [20] Kelman A, Lui L, Yao W, et al. Association of higher levels of serum cartilage oligomeric matrix protein and N-telopeptide crosslinks with the development of radiographic hip osteoarthritis in elderly women [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(1): 236-243. DOI: 10.1002/art.21527.
- [21] Deveza LA, Kraus VB, Collins JE, et al. Association Between Biochemical Markers of Bone Turnover and Bone Changes on Imaging: Data From the Osteoarthritis Initiative [J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2017, 69(8): 1179-1191. DOI: 10.1002/acr.23121.
- [22] Chiu LH, Lai WF, Chang SF, et al. The effect of type II collagen on MSC osteogenic differentiation and bone defect repair [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(9): 2680-2691. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.005.
- [23] Kong SY, Stabler TV, Criscione LG, et al. Diurnal variation of serum and urine biomarkers in patients with radiographic knee osteoarthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(8): 2496-2504. DOI: 10.1002/art.21977.
- [24] Ravindra KC, Ahrens CC, Wang Y, et al. Chemoproteomics of matrix metalloproteases in a model of cartilage degeneration suggests functional biomarkers associated with posttraumatic osteoarthritis [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(29): 11459-11469. DOI: 10.1074/jbc.M117.818542.
- [25] Lohmander LS, Saxne T, Heinegård DK, et al. Release of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) into joint fluid after knee injury and in osteoarthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 1994, 53(1): 8-13. DOI: 10.1136/ard.53.1.8.
- [26] Li YH, Tavallae G, Tokar T, et al. Identification of synovial fluid microRNA signature in knee osteoarthritis: differentiating early- and late-stage knee osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(9): 1577-1586. DOI: 10.1016/j.joca.2016.04.019.
- [27] Pearson MJ, Philp AM, Heward JA, et al. Long Intergenic Noncoding RNAs Mediate the Human Chondrocyte Inflammatory Response and Are Differentially Expressed in Osteoarthritis Cartilage [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(4): 845-856. DOI: 10.1002/art.39520.
- [28] Jeffries MA. Osteoarthritis year in review 2018: genetics and epigenetics [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27(3): 371-377. DOI: 10.1016/j.joca.2018.10.004.

(收稿日期:2019-09-18)