

· 综述 ·

基质金属蛋白酶-13 的测定在骨关节炎中作用的研究进展

陈文晓¹, 单方军¹, 金红婷¹, 王萍儿¹, 肖鲁伟¹, 童培建^{1,2}

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江省中医骨伤研究所, 浙江 杭州 310053)

【摘要】 骨关节炎是在复杂的生物学和力学因素共同作用下, 软骨细胞、细胞外基质、软骨下骨三者合成与降解失衡的一种慢性、进行性疾病, 其病因和病理机制目前尚未完全明确, 但基质金属蛋白酶-13(MMP-13)对 II 型胶原所组成三螺旋结构的降解和破坏被认为是 OA 发生发展的关键环节, MMP-13 抑制剂的研究将会为 OA 的治疗提供新的思路和方法。

【关键词】 基质金属蛋白酶-13; 骨关节炎; 软骨, 关节; 胶原; 综述文献

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2014.07.020

Research on application of determination of MMP-13 in osteoarthritis CHEN Wen-xiao, SHAN Fang-jun, JIN Hong-ting, WANG Ping-er, XIAO Lu-wei, and TONG Pei-jian*. * Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

ABSTRACT Osteoarthritis (OA) is a complex chronic progressive disease attacked by biological and mechanical factors and a result from the anabolic and catabolic imbalance in chondrocyte, subchondral bone and extracellular matrix (ECM). Etiology and pathological of OA are not yet entirely clear. The degradation and destruction of collagen II caused by matrix metalloproteinase -13 (MMP-13) is considered the core factor in the occurrence and development of OA. The research of MMP-13 inhibitor provide ideas and methods for the treatment of OA. In this article, the role and determination of MMP-13 in OA and the development prospect of MMP-13 inhibitor in the treatment of OA research progress were reviewed.

KEYWORDS Matrix metalloproteinase-13; Osteoarthritis; Cartilage, articular; Collagen; Review literature

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2014, 27(7): 617-620 www.zggszz.com

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是生物力学、生物化学、代谢和遗传等因素相互作用的复杂的消耗性疾病, 年龄、性别、精神创伤、过度使用、遗传等都可导致关节不同程度的损伤成为 OA 发生的危险因素, 导致其异常的生化过程。OA 是一个多种细胞因子参与, 经过多种病理途径, 多种机制相互作用的复杂的病理过程^[1]。其发病机制尚未完全明确, 但基质金属蛋白酶-13(MMP-13)介导的 II 型胶原降解和破坏所致软骨细胞赖以发挥生物学基础功能的软骨支架的损害和崩塌是软骨细胞发生变性坏死的重要病理机制。本文就 MMP-13 对 II 型胶原的作用及其抑制剂的研究做一综述。

1 MMP-13 参与软骨基质破坏的机制

1.1 II 型胶原在关节软骨中的作用 解剖上, 关节软骨是覆盖在负重关节末端的具有吸收冲击震荡和分散载荷作用的薄层结缔组织^[2]。关节软骨是平整光滑的可逆性压缩组织, 当关节负重时可以保护负重面下的骨骼免遭生物力学损

害^[3]。组成关节软骨的软骨细胞嵌在由大量的 II 型胶原和蛋白聚糖聚集蛋白聚糖组成的大量细胞外基质中^[4]。在大型动物和人类的软骨中包含大量散在分布的活细胞(软骨细胞), 占总软骨组织的 1%~2%^[5]。大部分软骨的细胞外基质主要有 3 种分子组成: 水(70%), 胶原(20%), 蛋白聚糖(5%)。在软骨组织中的胶原主要是三维矩阵形式的三螺旋纤维。胶原主要是由 II 型胶原和 IX 及 XI 胶原组成的具有抗拉强度和加强组织的纤维网络, III 型和 VI 型胶原大量存在于周围健康的软骨组织中^[6]。在成人关节软骨的胶原纤维有 3 层结构, 一是从软骨表面到潮线的主要平行于软骨表面的薄层胶原纤维; 二是胶原纤维缺乏主要方向的较厚的过渡带; 三是胶原纤维主要垂直于潮线的深层^[7]。胶原蛋白作为动物支架有很多重要的基本特征, 这些特性包括热稳定性, 机械强度, 与其他生物分子特异性相互作用的能力^[8]。透明软骨的细胞外基质中, 包含各种各样的非胶原蛋白和胶原蛋白, II 型胶原是胶原的主要组成部分, 占胶原总量的 80%~95%, 在关节承受力和耐摩擦方面是必不可少的^[9]。II 型胶原是由 3 条完全相同的 α 链组成的胶原纤维, 是关节软骨的主要结构成分^[10], 是软骨支架的重要组成部分。

1.2 MMP-13 对 II 型胶原蛋白的降解和破坏 OA 是一种多因素的退行性关节疾病, 其主要是关节中的关节软骨基质遭到破坏, 关节软骨合成代谢和分解代谢的失衡在 OA 的发病

基金项目: 2013 浙江省科技厅第二批重大科技专项重大社会发展项目(编号: 2012c13017-2)

Fund program: 2013 Key Sci-tech Special and Prior Subject Program Scheme of Zhejiang Provincial Sci-tech Bureau (No. 2012c13017-2)

通讯作者: 童培建 E-mail: tongpeijian@163.com

Corresponding author: TONG Pei-jian E-mail: tongpeijian@163.com

机制中起着至关重要的作用^[11],其特征是软骨的慢性进行性退变或破坏^[12]。成人的正常软骨主要通过细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中合成和分解代谢的微妙平衡的保持所形成的稳态来维持关节的完整功能^[13]。ECM 在黏附、生长、细胞凋亡和细胞间通讯中起着重要作用,这些功能的调控是细胞活力的关键, MMPs 是降解 ECM 大多数成分的 Zn²⁺蛋白酶家族,是软骨基质降解的重要介质^[14]。MMPs 包括 N 端信号肽,催化结构域, Zn²⁺结合区,铰链区, C 端跨膜区,如同其他的蛋白水解酶, MMPs 以无活性的酶原或酶前体存在^[15]。MMPs 在一个单一的位点上裂解天然胶原蛋白,尽管胶原蛋白中包含有一个以上的易切断的键^[16]。

纤维胶原类的降解退化在很多生理病理过程中扮演着重要角色,这些胶原包裹成紧密的三螺旋结构以抗拒大部分的蛋白酶,但是很容易在特殊的位点被胶原酶和特定的 MMPs 所裂解^[17]。胶原酶是唯一可以很容易地裂解 I、II、III 型胶原纤维的三螺旋结构域的内源性酶^[18]。II 型胶原是由 3 条完全相同的 α 链构成的三螺旋结构,它是软骨组织细胞外基质的主要结构成分,这些分子聚集形成胶原纤维网络,通过分子间的相互交叉连接得以稳定。最近研究表明, MMPs-13(胶原酶 3)是已知的唯一存在于结缔组织中可以裂解 II 型胶原三螺旋结构的蛋白酶^[19],其优先降解 II 型胶原,首先促进胶原三螺旋结构的裂解膨胀^[20],对 II 型胶原的降解和破坏是不可逆性的^[21],但是其如何识别和裂解胶原的三螺旋结构尚不完全清楚^[22]。II 型胶原的降解和破坏导致软骨支架结构的崩塌,软骨细胞赖以发挥功能的结构基础遭到破坏,ECM 的平衡破坏进一步加剧,激发进一步的炎症反应和软骨组织破坏,造成炎症与破坏的恶性循环。

2 MMP-13 的测定及其抑制剂的应用

2.1 MMP-13 在监测 OA 中的作用 MMP-13 的浓度变化能够及时反应 OA 的进展情况和严重程度,与其他的生物学指标的联合应用有利于 OA 的早期诊断和预防。史广强等^[23]临床观察发现 OA 患者血清中 MMP-13 水平高于正常人。于伟光等^[24]通过实验证实 4 种血清生物标志物联合检测具有早期诊断和评价骨关节炎的价值。CTX-II (C-末端的交联端肽 I 型胶原蛋白)是反映关节软骨降解的一个特殊标记,它的检测能够及时敏捷地反映软骨损伤和退化的水平,OA 诊断及预测其进程和监测药物治疗效果,因此能够间接反映骨性关节炎患者的情况,与其他生物标志物共同检测,可以反映 OA 早期的病理变化^[25];CP II (II 型前胶原的 C 端前肽)是 II 型胶原的合成标记,CTX-II 是 II 型胶原的降解标记^[26],可作为潜在的生物学标记物为膝关节 OA 的亚临床和早期患者提供新的诊断指标;血清 COMP^[27]的联合应用可以更早地诊断 OA 和预防其发展。马丽艳等^[28]通过实验证实临床上检测滑膜组织中 MMP-13 的表达有助于指导骨性关节炎的治疗及病情的评估。MMP-13 和其他因子的联合检测可以更高效率地确定 OA 的进展情况,因此其浓度的测定可以更有利地掌握病变进展和施治时机。

2.2 MMP-13 抑制剂的应用前景 基质金属蛋白酶(MMPs)与基质金属蛋白酶抑制剂(TIMPS)的失衡是导致纤维网络主要支架 II 型胶原降解的始动因素。基质金属蛋白酶和它的内源性抑制剂,以 1:1 存在于 ECM 中。ECM 中各种组分的降解在很大程度上是由可被 TIMPS 抑制的 MMPs 所介导,对

MMPs 生成和活力的严格调控是 ECM 动态平衡中必不可少的组成部分。在多种类型的关节炎中, MMPs 抑制剂可减少关节破坏和延缓疾病的进展。现今的几种 MMPs 抑制剂的最常见作用机制是结合于 MMP 上的 Zn²⁺位点,从而阻断其活性。

MMPs 是有前景的药物靶点,其作为标记预测疾病进程和治疗的结果具有重要的诊断潜力, MMPs 的结构保证了它在矫形术、风湿病学和初级保健等临床应用的药理学作用靶点, MMPs 及其相关蛋白在预测疾病康复和疾病进程结果中具有诊断价值^[29]。

几种治疗性质的 MMPIS 将 MMPs 作为治疗靶点,试图调控它们的生成、分泌、活化和蛋白水解活性, Herszényi 等^[30]指出近几年几代合成的 MMPIS 在 III 期临床的调查研究中,尽管在临床前和临床中有重要的药物靶向研究作用,但大部分由于不良反应和无效在临床应用中失败,因此它们不能作为临床常规用治疗药物。选择性 MMP 结合肽包括高度可定制的、独特的显影域,需要改进的 MMP 靶向肽包括亲和力和稳定性, Ndinguri 等^[31]研究表明新的显影技术结合生产修饰肽的方法,选择性 MMP 抑制剂在未来的发展中拥有巨大潜力。Remacle 等^[32]通过 TIMP 域结构参数的重新设计,发现选择性 MMP 拮抗剂的治疗潜力有着广阔的前景。Meszaros 等^[33]研究发现 MMP-9 在 OA 滑膜液中被发现,而作为复合物的中性粒细胞膜胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)具有保护 MMP-9 自发降解的功能,抑制 NGAL 的合成或促进 NGAL 的降解可能导致 MMP-9 活力的下降,他们提议通过酶类蛋白相互作用来抑制其他 MMP 亚型的活力,从而进一步抑制 ECM 蛋白降解的研究,其对 MMP-13 抑制剂的开发具有重要参考价值。

尽管 TIMPS 复合物的结构已经得到认识,但尚未解决的问题是在抑制剂和酶结合时结构灵活性改变的重要性,这也许将成为未来组织工程学设计特殊结构的 TIMPs 作为潜在治疗剂的关键^[34]。Li 等^[35]认为合成的 MMP 抑制剂(MMPIs)经历了快速的临床发展,试图控制 MMP 酶的活性异常生物过程,有限的临床成功限制了它的使用,但是有关药物的研究还在不断发展深入,其中高效性的和选择性的 MMPIs 可能成为这一领域的突破口。

3 展望

综上,OA 的发病机制虽未明确,但 MMP-13 特异性地降解 II 型胶原,导致关节软骨胶原纤维三层结构的破坏和 II 型胶原三螺旋结构的裂解,导致软骨细胞赖以发挥其生物学功能的结构基础遭到破坏,进而 ECM 失衡、产生关节软骨进行性变性与破坏,同时并伴有滑膜和关节腔连续的一系列生理生化和形态学改变的 OA 病理变化,故被认为是 OA 发生发展中的核心因素之一。近年来,随着对 OA 与 MMP-13 关系研究的深入,许多临床试验将 MMP-13 作为预测和监测 OA 进程和严重程度的指标。由于 MMP-13 抑制剂能特异性地结合 MMP-13,抑制其活性,对 OA 关节具有保护和治疗作用,因此近年来许多临床试验正将 MMP-13 作为预防和治疗 OA 的靶点,成为预防和早期治疗 OA 的有效方法,成为近年来的研究热点。Xu 等^[36]研究证实 SMF 治疗能显著抑制软骨基质的降解,同时增加蛋白聚糖和胶原的含量,特别是 II 型胶原在关节软骨中的表达在循环中减少 CTX-II 和增加 CP II,此外, SMF 能干扰(MMPs) -3, -13 过表达的同时增强(TIMPS)-1, -3 的

表达,能够显著降低(MMPs)-3,-13 和升高(TIMPS)-1,-3 在软骨细胞中的 mRNA 和蛋白水平,可以有效抑制 OA 软骨基质的降解^[36],这为中医药在 OA 中的积极作用提供了分子基础。但是,更进一步的了解 MMP-13 在 OA 中的作用机制和开发更加高效性和高选择性的 MMP-13 抑制剂有待持续的研究和跟进,最终可能为 OA 的治疗开辟一条新的途径。

参考文献

- [1] 任宏革,崔逢德. 细胞因子在骨性关节炎的表达与应用[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(52):9828-9835.
Ren HG, Cui FD. Expression and application of cytokines in osteoarthritis[J]. Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu, 2012, 16(52):9828-9835. Chinese.
- [2] Xia Y. MRI of articular cartilage at microscopic resolution[J]. Bone Joint Res, 2013, 2(1):9-17.
- [3] Wang M, Shen J, Jin H, et al. Recent progress in understanding molecular mechanisms of cartilage degeneration during osteoarthritis[J]. Ann N Y Acad Sci, 2011, 1240:61-69.
- [4] Leong DJ, Gu XI, Li Y, et al. Matrix metalloproteinase-3 in articular cartilage is upregulated by joint immobilization and suppressed by passive joint motion[J]. Matrix Biol, 2010, 29(5):420-426.
- [5] Hunziker EB, Quinn TM, Häuselmann HJ. Quantitative structural organization of normal adult human articular cartilage[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2002, 10(7):564-572.
- [6] Eyre DR. Collagens and cartilage matrix homeostasis[J]. Clin Orthop Relat Res, 2004, 427(Suppl):S118-122.
- [7] Van Turnhout MC, Schipper H, Engel B, et al. Postnatal development of collagen structure in ovine articular cartilage[J]. BMC Dev Biol, 2010, 10:62.
- [8] Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability[J]. Annu Rev Biochem, 2009, 78:929-958.
- [9] Jansen ID, Hollander AP, Buttle DJ, et al. Type II and VI collagen in nasal and articular cartilage and the effect of IL-1 α on the distribution of these collagens[J]. J Mol Histol, 2010, 41(1):9-17.
- [10] Dejica VM, Mort JS, Laverty S, et al. Increased type II collagen cleavage by cathepsin K and collagenase activities with aging and osteoarthritis in human articular cartilage[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(3):R113.
- [11] Huh JE, Seo BK, Baek YH, et al. Standardized butanol fraction of WIN-34B suppresses cartilage destruction via inhibited production of matrix metalloproteinase and inflammatory mediator in osteoarthritis human cartilage explants culture and chondrocytes[J]. BMC Complement Altern Med, 2012, 12:256.
- [12] Mitani G, Sato M, Lee JI, et al. The properties of bioengineered chondrocyte sheets for cartilage regeneration[J]. BMC Biotechnology, 2009, 9:1-17.
- [13] Ströbel S, Loparic M, Wendt D, et al. Anabolic and catabolic responses of human articular chondrocytes to varying oxygen percentages[J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(2):34.
- [14] Jackson BC, Nebert DW, Vasilou V. Update of human and mouse matrix metalloproteinase families[J]. Hum Genomics, 2010, 4(3):194-201.
- [15] Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinase regulate cell behavior[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2001, 17:463-516.
- [16] Salsas-Escat R, Stultz CM. Conformational selection and collagenolysis in type III collagen[J]. Proteins, 2010, 78(2):325-335.
- [17] Yu Z, Visse R, Inouye M, et al. Defining requirements for collagenase cleavage in collagen type III using a bacterial collagen system[J]. J Biol Chem, 2012, 287(27):22988-22997.
- [18] Kalva S, Vadivelan S, Sanam R, et al. Lead identification and optimization of novel collagenase inhibitors; pharmacophore and structure based studies[J]. Bioinformation, 2012, 8(7):301-308.
- [19] Dejica VM, Mort JS, Laverty S, et al. Cleavage of type II collagen by cathepsin K in human osteoarthritic cartilage[J]. Am J Pathol, 2008, 173(1):161-169.
- [20] Klein T, Bischoff R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteinase[J]. Amino Acids, 2011, 41(2):271-290.
- [21] Jean-Gilles D, Li L, Vaidyanathan VG, et al. Inhibitory effects of polyphenol punicalagin on type-II collagen degradation in vitro and inflammation in vivo[J]. Chem Biol Interact, 2013, 205(2):90-99.
- [22] Manka SW, Carafoli F, Visse R, et al. Structural insights into triple-helical collagen cleavage by matrix metalloproteinase 1[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2012, 109(31):12461-12466.
- [23] 史广强, 金日龙, 佟志慧, 等. 骨性关节炎人群血清基质金属蛋白酶-13 水平临床观察[J]. 中国现代医生, 2010, 48(1):113-115.
Shi GQ, Jin RL, Tong ZH, et al. Serum levels of matrix metalloproteinase-13 of clinical observation in OA patients[J]. Zhongguo Xian Dai Yi Sheng, 2010, 48(1):113-115. Chinese.
- [24] 于伟光, 张新潮, 朱行飞, 等. 四种血清生物标志物联合检测早期诊断和评价骨关节炎的价值[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(15):2685-2692.
Yu WG, Zhang XC, Zhu XF, et al. Early diagnosis value of combination detection of four serum biomarkers for osteoarthritis[J]. Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu, 2013, 17(15):2685-2692. Chinese.
- [25] 王学宗, 高宁阳, 刘婷, 等. 软骨标志物 CTX-II 在骨关节炎中的应用[J]. 中国骨伤, 2013, 26(3):260-263.
Wang XZ, Gao NY, Liu T, et al. Application of biomarker CTX-II in osteoarthritis[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(3):260-263. Chinese with abstract in English.
- [26] Watari T, Naito K, Sakamoto K, et al. Evaluation of the effect of oxidative stress on articular cartilage in spontaneously osteoarthritic STR/OrtCrj mice by measuring the biomarkers for oxidative stress and type II collagen degradation/synthesis[J]. Exp Ther Med, 2011, 2(2):245-250.
- [27] 李恒, 王丹, 武中庆, 等. 血清 COMP 在骨关节炎早期诊断中的作用[J]. 中国骨伤, 2012, 25(5):380-383.
Li H, Wang D, Wu ZQ, et al. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein in the diagnosis of knee osteoarthritis[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2012, 25(5):380-383. Chinese with abstract in English.
- [28] 马丽艳, 宋旭动, 张德新, 等. MMP-13 和 Galectin-3 在骨性关节炎滑膜组织中的临床意义[J]. 中国骨与关节杂志, 2013, 2(5):280-284.
Ma LY, Song XD, Zhang DX, et al. The clinical significance of Matrix Metalloproteinase-13 and Galectin-3 in synovial tissue of osteoarthritis[J]. Zhongguo Gu Yu Guan Jie Za Zhi, 2013, 2(5):280-284. Chinese.
- [29] Pasternak B, Aspenberg. Metalloproteinases and their inhibitors-

diagnostic and therapeutic opportunities in orthopedics[J]. Acta Orthopa, 2009, 80(6):693-703.

[30] Herszényi L, Hritz I, Lakatos G, et al. The behavior of matrix metalloproteinases and their inhibitors in colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(10):13240-13263.

[31] Ndinguri MW, Bhowmick M, Tokmina-Roszyk D, et al. Peptide-based selective inhibitors of matrix metalloproteinase-mediated Activities[J]. Molecules, 2012, 17(12):14230-14248.

[32] Remeale AG, Shiryayev SA, Radichev IA, et al. Dynamic interdomain interactions contribute to the inhibition of matrix metalloproteinases by tissue inhibitors of metalloproteinases[J]. J Biol Chem, 2011, 286(23):21002-21012.

[33] Meszaros E, Malemud C. Prospects for treating osteoarthritis; enzyme-protein interactions regulating matrix metalloproteinase activity[J]. Ther Adv Chronic Dis, 2012, 3(5):219-229.

[34] Murphy G. Tissue inhibitors of metalloproteinases[J]. Genome Biol, 2011, 12(11):233.

[35] Li W, Saji S, Sato F, et al. Potential clinical applications of matrix metalloproteinase inhibitors and their future prospects[J]. Int J Biol Markers, 2013, 28(2):117-130.

[36] Xu Y, Liu Q, Liu ZL, et al. Treatment with SiMiaoFang, an anti-arthritis chinese herbal formula, inhibits the cartilage matrix degradation in osteoarthritis rat model[J]. Rejuvenation Res, 2013, 16(5):364-376.

(收稿日期:2013-12-20 本文编辑:李宜)

脊柱外科基础与临床研究新技术学习班通知

由浙江省宁波市第六医院主办的国家继续教育项目“脊柱外科基础与临床研究新技术学习班”[项目编号:2014-04-07-007(国)],将于2014年9月25日至27日在宁波举行。我院已成功举办九届脊柱外科学习班,并不断总结往届学习班存在问题,借鉴国内、外学术会议的经验,努力打造品牌学术会议。

本次学习班内容包含近年脊柱外科的热点话题,将对以脊柱微创专题、腰椎退变性疾病专题、胸腰椎创伤专题等进行分类交流。内容包括:新型经皮椎弓根螺钉固定技术、MISS-TLIF技术、经皮椎体后凸成型技术、脊柱内镜技术(MED)、脊柱矢状位平衡参数在成人脊柱畸形中的应用、修订版胸腰椎骨折AO分型等,分为专家理论授课和与会代表学术病例讨论两大部分。会议最后将安排新型经皮椎弓根螺钉在标本上操作演示。欢迎广大骨科、脊柱外科医师参加与交流。

报名时间:2014年9月10日前。会议时间:2014年9月25日下午14-19时报到,26日8时起正式会议。授予学分:国家级I类医学继续教育学分10分。费用:500元/人(包括注册、饮食、资料费等),住宿统一安排费用自理。地址:宁波汉雅晶都酒店,宁波市江东区百丈东路1088号(百丈东路与福明路交叉口)。联系方式:蒋伟宇(13205747589,0574-87996113),谢辉(0574-87996165)。通讯地址:浙江省宁波市中山东路1059号脊柱外科,邮编315040。