

关节置换与关节镜下清理术后膝骨性关节炎患者尿液EKGPDP小肽与关节软骨退变的相关性***

林奇生¹, 肖德明², 彭建强¹, 蔡汉周¹, 马树强¹, 巫卫东¹

Correlation between urinary EKGPDP peptide level and cartilage degradation in knee osteoarthritis patients following knee replacement or arthroscopic debridement

Lin Qi-sheng¹, Xiao De-ming², Peng Jian-qiang¹, Cai Han-zhou¹, Ma Shu-qiang¹, Wu Wei-dong¹

¹Department of Orthopaedics, Fourth People's Hospital of Shenzhen (Futian Hospital, Guangdong Medical University), Shenzhen 518033, Guangdong Province, China; ²Department of Orthopaedics, Second People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518035, Guangdong Province, China

Lin Qi-sheng*, Master, Attending physician, Department of Orthopaedics, Fourth People's Hospital of Shenzhen (Futian Hospital, Guangdong Medical University), Shenzhen 518033, Guangdong Province, China
Brainylin@163.com

Supported by: a Grant from Shenzhen Science and Technology Bureau, No. 200903208*; Public Welfare Program of Shenzhen Futian District, No. FTWS028*

Received: 2010-03-10
Accepted: 2010-04-12

Abstract

BACKGROUND: Current approaches for diagnosis of osteoarthritis include imaging and arthroscopy. However, both of them have some limitations. Therefore, a specific, sensitive, high diagnostic rate and operable method is needed.

OBJECTIVE: To explore the relationship between the level of EKGPDP peptide in urine and the severity of cartilage degradation in knee osteoarthritis patients.

METHODS: A total of 60 patients with knee osteoarthritis (KOA), including 45 undergoing joint debridement and 15 undergoing knee replacement, were selected from Department of Orthopaedics, Fourth People's Hospital of Shenzhen (Futian Hospital, Guangdong Medical University) between January 2006 and April 2008. In addition, 40 healthy volunteers were selected as controls. The EKGPDP peptide concentration in urine was measured with competitive enzyme-linked immunoassay (ELISA). The pathologies of the synovium and cartilage in knee osteoarthritis were observed with arthroscopy; the degree of synovitis and cartilage degradation under arthroscopy was graded with Ayrall's score system and Outerbridge's score system, respectively.

RESULTS AND CONCLUSION: EKGPDP peptide level in KOA was greater than control group ($P < 0.001$). The EKGPDP peptide level in KOA was correlated positively with Outerbridge's score and body mass index ($P < 0.001$), but had no correlation with accumulative Ayrall's score ($P > 0.05$). Half a year after total knee replacement, the level of EKGPDP peptide decreased significantly ($P < 0.05$); arthroscopic debridement remained unchanged ($P > 0.05$). The EKGPDP peptide level in urine can reflect the degree of cartilage degradation, and it is a sensitive marker for the diagnosis of KOA.

Lin QS, Xiao DM, Peng JQ, Cai HZ, Ma SQ, Wu WD. Correlation between urinary EKGPDP peptide level and cartilage degradation in knee osteoarthritis patients following knee replacement or arthroscopic debridement. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(26): 4778-4782. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 目前诊断骨性关节炎的手段主要有影像学 and 关节镜检查, 但都存在一定的局限性。寻找一种特异性、敏感性、诊断率高, 可操作性强的诊断方式是当前急需解决的问题。

目的: 探讨膝骨性关节炎患者尿液中 EKGPDP 小肽水平与关节软骨病变严重程度之间的关系。

方法: 纳入 2006-01/2008-04 在广东医学院附属深圳福田医院骨关节外科行关节镜下关节清理术治疗患者 45 例, 膝关节置换术患者 15 例。纳入同一时期性别年龄相匹配的 40 名健康志愿者为对照组。采用竞争性 ELISA 法检测受试者尿液中 EKGPDP 小肽水平并于半年后复查, 以 Ayrall 关节镜膝滑膜炎评分法和 Outerbridge 软骨损伤评分法评估膝骨性关节炎患者滑膜和关节软骨的病理变化程度。

结果与结论: 膝骨性关节炎患者 EKGPDP 小肽水平明显高于健康人 ($P < 0.001$)。膝骨性关节炎患者的 EKGPDP 小肽水平与 Outerbridge 软骨损伤评分、体质量指数正相关; 与 Ayrall 膝滑膜炎评分无相关性 ($P > 0.05$)。全膝关节置换术者半年后 EKGPDP 小肽水平, 较置换前明显下降 ($P < 0.05$), 关节镜清理术患者 EKGPDP 小肽水平变化不明显 ($P > 0.05$)。说明膝骨性关节炎患者尿液中 EKGPDP 小肽水平可以反映膝关节软骨损伤程度, 可为膝骨性关节炎的临床诊断提供依据。

关键词: 骨性关节炎; EKGPDP 小肽; 关节镜检查; 尿液; 诊断; 骨组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.26.007

林奇生, 肖德明, 彭建强, 蔡汉周, 马树强, 巫卫东. 关节置换与关节镜下清理术后膝骨性关节炎患者尿液 EKGPDP 小肽与关节软骨退变的相关性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(26):4778-4782.

[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

膝关节骨性关节炎(osteoarthritis, OA)发病率高, 目前的诊断主要依靠临床参数、影像学资料和关节镜检查等。影像学检查中X射线片的改变是评价膝关节OA进展的常用方法, 但它的特异性和敏感性较差。研究发现, 即使X射线表现正常, 关节软骨也可能已严重受累; 而一

旦出现典型X射线改变, 疾病往往已经处于进展期^[1-2], 关节的正常功能已经受到严重的、不可逆的破坏。MRI虽然能直接显示软骨的改变情况, 有助于OA的早期诊断^[3], 但其价格昂贵, 难以用于大范围的疾病评估和普查。关节镜被认为是诊断关节软骨受损的金标准。但由于检查的有创性, 不能作为OA诊断的常规检查, 其临床应用也受到限制。由于OA是以关节软骨II型胶原破坏为主要特征, 通过检测反映OA软骨

代谢变化的生物标记物, 可能有助于OA的早期诊断、监测病情变化和进行疗效评价^[4-7]。

EKGDPDP小肽是蛋白质溶解产生的有6个氨基酸序列的线性表位, 其相对分子质量较小, 可被肾脏滤过, 在尿中聚集。EKGDPDP小肽只存在于II型胶原, 其他胶原或结构蛋白中不存在^[8]。所以EKGDPDP小肽水平可以间接反映关节软骨分解代谢状况。

实验通过测定膝关节OA患者和健康人尿液中EKGDPDP小肽的分布情况, 结合关节镜下关节软骨和滑膜的病理变化程度观察, 旨在探讨测定尿液EKGDPDP小肽对膝关节OA诊断、病情监测的意义。

1 对象和方法

设计: 开放性临床研究。

时间和地点: 实验于2006-01/2008-04在广东医学院附属深圳福田医院骨关节外科完成。

对象: 收集2006-01/2008-04于广东医学院附属深圳福田医院关节外科行关节镜诊治的膝关节OA患者及年龄和性别相匹配的健康志愿者。向患者说明研究的目的及方法, 取得受试者的书面知情同意, 符合相关医疗机构管理条例的规定。实验中膝关节OA的诊断依据Altman的诊断标准^[9]。

纳入标准: 成年男性或女性, 临床确诊膝关节OA至少3个月, 大部分时间有膝关节疼痛, 晨僵时间< 30 min; 主动运动时有骨擦音。

排除标准: ①有关节急性感染性疾病或急性严重损伤。②3个月内用了烷化剂、生长因子、免疫抑制剂。③1周内关节腔内注射了药物。④4周内口服了甾体化合物。⑤2个月内关节腔内注射了皮质激素或者透明质酸治疗。

共纳入膝关节OA患者60例(62膝), 男25例(25膝), 女35例(37膝), 年龄47~72岁, 平均58.4岁。其中行全膝关节置换术15例(15膝); 关节镜探查+清理术45例(47膝)。

同时纳入健康志愿者40名作为正常对照, 其中男16名, 女24名, 平均年龄53.5(42~73)岁。正常对照组均无关节疼痛、关节活动受限及关节肿胀; 血常规、血沉、C-反应蛋白及心肝肾功能正常。无合并感染及免疫性疾病、均无任何影响骨或者关节合成代谢的疾病或治疗, 包括绝经后妇女的激素替代治疗。

主要试剂和仪器:

试剂及仪器	来源
鼠源性 EKGDPDP 小肽单克隆抗体	Sigma
CartiLaps 酶联免疫检测试剂盒	Nordic Bioscience Diagnostics
膝关节镜系统、刨刀	Smith & Nephew
生理盐水 3 000 mL/袋	西安京西双鹤药业有限公司
Exactech 假体	美国精技亚洲有限公司
Well-scan MK3 型酶标分析仪	Labsystems Dragon

方法:

研究对象分组: 先依据膝关节OA患者术前膝关节负重位正侧位X射线片Kellgren分级标准进行分级^[10]。分级标准如下: 0级: 关节间隙正常, 无骨赘。1级: 关节间隙可疑变窄, 可能有骨赘。2级: 关节间隙可疑变窄, 有明显骨赘。3级: 关节间隙变窄明确, 有硬化性改变, 中等量骨赘。4级: 关节间隙明显变窄, 严重硬化性改变, 大量骨赘。

然后按照美国膝关节协会膝关节评分的项目记录^[11], 将患者依Kellgren分级标准分组如下: A组: 一膝为2级, 另一膝为2级或2级以下。B组: 一膝为3级, 另一膝为3级或3级以下; 患者双膝关节有明确的内侧或外侧关节间隙狭窄, 但程度较轻。C组: 双膝关节为3级或4级, 内侧或外侧关节间隙狭窄程度较重, 但间隙尚未消失; 或者一膝为4级, 内侧关节间隙消失, 另一膝为3级或3级以下。D组: 双膝关节均为4级, 且双膝关节内侧间隙均消失, 或内外侧间隙均破坏。

研究指标检测:

尿液样本收集: 用试管收集所有受试者的次日凌晨第1次尿液标本2 mL。尿液样本在-70 °C冷藏条件下保存备查。

尿液中EKGDPDP小肽的检测: 采用竞争性ELISA法测定受试者尿液中EKGDPDP小肽的水平。用包被液(100 μL/孔, 1.5 μg/L)稀释生物素化的多肽, 将其移入链菌亲和素包被的微量滴定板中, 在18~22 °C下孵育(30±5) min, 分别加入EKGDPDP标准品, 对照品和未知样品(20 μL/孔), 一式二份。F2603单克隆抗体测定液中稀释至8.5 μg/L, 100 μL/孔, 在2~8 °C下孵育(120±10) min, 过氧化物酶标记的兔抗鼠抗体缓冲液中稀释(100 μL/孔), 室温孵育(60±5) min。加入TMB单成分底物(100 μL/孔), 室温孵育15 min, 加入终止液H₂SO₄(0.018 mol/L, 100 μL/孔), 50 nm测定其吸光度(A)值。通过测4量标准液

¹ 深圳市第四(福田)人民医院(广东医学院附属深圳福田医院)骨关节外科, 广东省深圳市518033; ² 深圳市第二人民医院骨科, 广东省深圳市518035

林奇生★, 男, 1973年生, 江西省南康市人, 汉族, 2008年毕业于暨南大学, 硕士, 主治医师, 主要从事关节外科, 关节微创(关节镜)外科方面的研究。Brainylin@163.com

中图分类号: R318
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225
(2010)26-04778-05

收稿日期: 2010-03-10
修回日期: 2010-04-12
(20100310018/
WLM-A)

建立标准曲线, 从中获取未知样品的浓度。

关节软骨和滑膜病理变化的关节镜评估:

滑膜炎的程度: 依据关节镜检查或者手术中所见, 采用Ayrat滑膜炎评分法对膝关节前滑膜腔9个区域的滑膜异常程度进行分类及评估, 其中正常滑膜(0分)的关节镜下表现为: 极少数细长的半透明绒毛, 伴纤细且清晰的血管网; 反应性滑膜(0.5分)为: 数量增多的不透明的绒毛(形态可正常/增厚/矮胖), 血管网不可见; 炎症性滑膜(1分)为: 过度血管生成和/或肥大充血的绒毛增生。再结合各滑膜区域所占前滑膜腔的比例, 髌上囊: 后壁(X1)占20%、前内侧壁(X2)占10%、前外侧壁(X3)占10%、髌下脂肪垫(X4)占25%; 股骨槽沟: 内侧(X5)占10%、外侧(X6)占10%; 半月板附近区域: 内侧(X7)占5%、外侧(X8)占5%; 髌间切迹(X9)占5%。按公式: Ayrat滑膜炎评分=20X1+10X2+10X3+25X4+10X5+10X6+5X7+5X8+5X9进行计算, 可得膝关节Ayrat滑膜炎评分值, 其范围为0~100分, 分值越高, 表示滑膜炎性病变更程度越严重。

关节软骨损伤程度: 采用Outerbridge软骨损伤评分法对髌骨、股骨髌面、股骨内侧髌、股骨外侧髌、胫骨内侧髌和胫骨外侧髌共6个区域的关节软骨损伤情况进行评分, 每一区域评分为0~4分。0级: 关节软骨正常(0分); I级: 关节软骨变软或者起泡(1分); II级: 关节软骨表面出现裂纹, 裂纹直径小于1 cm(2分); III级: 关节表面的裂纹或裂隙直径大于1 cm(3分); IV级: 关节软骨糜烂, 软骨下骨暴露(4分)。膝关节Outerbridge软骨损伤累计评分值是上述6个区域的分值之和, 范围0~24分, 分值越高, 表示软骨病变程度越严重。

主要观察指标: 受试者尿液EKGPDP小肽水平及其与病情分级、不同手术方式、软骨损伤程度的关系。

设计、实施、评估者: 实验由第一作者设计, 第一、二、三作者实施, 其他作者进行实验数据的整理及评估。

统计学分析: 所有数据均采用SPSS 13.0统计软件包分析, 多组间比较采用方差分析及两组间q检验, 两组间比较采用t检验, 手术前后的比较采用配对t检验, 两因素间相关性采用Pearson相关分析, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。所有数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 参与者数量分析 实验纳入膝关节OA患者60例, 健康对照40名, 均进入结果分析。

2.2 受试者术前尿液EKGPDP小肽水平比较 ELISA检测结果显示, 正常对照组、膝关节OA组术前尿液EKGPDP小肽水平分别为(6.5±1.1) $\mu\text{mol/mol}$, (11.5±2.1) $\mu\text{mol/mol}$, 两者比较差异有显著性意义($t=2.176$,

$P=0.016$)。

2.3 膝关节OA组尿液EKGPDP小肽水平与病情分级情况 用方差分析方法比较不同严重程度膝关节OA组术前尿液EKGPDP小肽水平。分析结果显示: B组尿液中EKGPDP小肽水平显著高于其他各组($P < 0.05$), C组尿液中EKGPDP小肽高于正常对照组 [(9.7±2.2) $\mu\text{mol/mol}$ vs. (6.5±1.1) $\mu\text{mol/mol}$, $P < 0.05$], 其他各组间差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表1。

表1 膝关节OA组EKGPDP小肽水平与病情分级情况比较
Table 1 Comparisons of EKGPDP peptide and patient condition in knee osteoarthritis spatients (x±s)

Patient condition	n	Age (yr)	EKGPDP peptide ($\mu\text{mol/mol}$)
A	25	54.5±1.2	6.6±2.2
B	20	58.9±2.1	11.0±2.8 ^a
C	10	63.3±2.5	9.7±2.2
D	5	65.5±3.1	6.1±2.2

A, B, C, D: patient condition concerning to Kellgren standard; ^a $P < 0.05$, vs. the other groups

2.4 膝关节OA组尿液EKGPDP小肽水平与不同手术方式的关系 依据膝关节OA患者病情, 分别采用关节镜清理术和全膝关节表面置换治疗, 并分别在术前、术后半年测定尿液EKGPDP小肽水平。结果显示: 全膝关节表面置换后, 患者尿液中EKGPDP小肽水平较术前显著下降[(12.3±2.3) $\mu\text{mol/mol}$ vs. (8.5±2.1) $\mu\text{mol/mol}$, $t=2.646$, $P < 0.05$]。而在关节镜清理术组, 手术前后尿液中EKGPDP小肽水平差异无显著性意义[(11.3±3.3) $\mu\text{mol/mol}$ vs. (11.2±2.5) $\mu\text{mol/mol}$, $t=0.750$, $P > 0.05$]。

2.5 膝关节OA患者尿液中EKGPDP小肽水平与软骨损伤程度的关系 检测结果发现Outerbridge软骨损伤评分 ≥ 10 分组尿液中EKGPDP小肽水平高于Outerbridge软骨损伤评分 < 10 分组 [(12.9±2.7) $\mu\text{mol/mol}$ vs. (7.4±1.6) $\mu\text{mol/mol}$, $t=-6.241$, $P < 0.05$]。

2.6 膝关节OA患者尿液EKGPDP小肽水平与Outerbridge软骨损伤评分、Ayrat滑膜炎评分值相关性分析结果 将膝关节OA患者尿液EKGPDP小肽水平与Outerbridge软骨损伤评分、Ayrat滑膜炎评分值分别作Pearson相关分析。结果显示: EKGPDP小肽水平与Outerbridge软骨损伤评分呈正相关(相关系数 $r=0.526$, $P=0.016$)。

经方差分析, 回归系数t检验: $t=2.490$, $P=0.016$, 直线回归方程为: EKGPDP小肽水平=7.3+0.22×Outerbridge软骨损伤评分。

EKGPDP小肽水平与Ayrat滑膜炎评分值无相关性($F=0.668$, $P=0.419$)。

2.7 膝关节OA患者尿液EKGPDP小肽水平的多元线

性回归分析结果 将膝关节OA患者尿液EKGDPDP小肽水平与患者性别、年龄、体质量指数、Outerbridge软骨损伤评分、Ayrat滑膜炎评分作多元线性回归分析,用逐步引入-剔除法筛选变量,按 $\alpha=0.05$ 水准,体质量指数、Outerbridge软骨损伤评分被引入,性别、年龄、Ayrat滑膜炎评分值被剔除。

方差分析结果显示, EKGDPDP小肽水平与Outerbridge软骨损伤评分、体质量指数有直线关系($F=11.450$, $P=0.000$)。建立的多元线性回归方程为: EKGDPDP小肽水平 $=-8.74+0.33\times$ Outerbridge软骨损伤评分 $+0.67\times$ 体质量指数。

3 讨论

目前OA的早期诊断、病变监测和有效防治仍是骨科领域亟待解决的疑难问题,是当今学者研究的焦点^[12]。

II型胶原是关节软骨中的主要成分,占关节软骨中胶原总量的80%~85%^[13],是软骨细胞的特征性表型,均匀分布于整个软骨层。正常情况下软骨细胞中II型胶原的代谢较弱^[14],在软骨组织发生变性、破坏时,可导致II型胶原解螺旋,暴露抗原决定簇^[15]。这种破坏是由基质金属蛋白酶家族中的特定成员所启动的。在蛋白酶作用下,II型胶原首先裂解产生C-端肽、N-端肽,随后进一步产生II型胶原羧基末端3/4片断和螺旋肽。C-端肽是II型胶原的裂解产物,完全来自成熟的结构性胶原,具有作为系统标志物的优势^[16]。EKGDPDP小肽即为源自C-端肽的中间区域的氨基酸序列(¹⁰⁴⁹EKGDPDP¹⁰⁵⁴)。

目前,一些能够反映软骨破坏的生物标记物,如软骨代谢产物透明质酸、聚合素已成为研究热点^[17-18],但其临床价值未得到证实。软骨细胞、滑膜细胞释放的小分子糖蛋白YKL-40、GP-39,仅能够反映关节的代谢活动;软骨低聚基质蛋白,虽是软骨退变的特异性标记物^[19-20],由于滑膜细胞和成纤维细胞也能合成^[21],因此也不能真实反映关节软骨的破坏情况。而EKGDPDP小肽只存在于II型胶原,同时,研究者发现尿液中EKGDPDP小肽在常温、稀释及反复冻融的情况下长时间保持稳定^[22],并且尿常规检查属于无创伤检查,为临床检测提供了很大便利。

正常生理情况下,胶原酶生物活性受体激动剂和受体抑制剂的共同调节,II型胶原的合成与降解之间处于动态平衡。软骨变性最初发生在关节表层,随着病情进行性加重,胶原变性逐渐向深层蔓延。实验结果显示,膝关节OA患者尿液中EKGDPDP小肽水平明显高于正常对照组。将EKGDPDP小肽水平与病情严重程度作方差分析,发现病情处于疾病中期的患者水平较高,提示

EKGDPDP小肽水平与关节软骨破坏的严重程度、软骨细胞的合成反应以及软骨的总量有关。结合X射线分析发现在有骨质增生,但关节间隙无明显改变时, EKGDPDP小肽水平开始升高。表明在膝关节OA早期,软骨细胞代谢活跃,II型胶原的合成和分解代谢均增加,关节软骨的破坏还不明显。当病情发展至疾病中期,关节间隙明显狭窄时, EKGDPDP小肽水平升至最高,表明此期关节软骨基质破坏明显,同时软骨细胞的合成作用也相应的增加,膝关节软骨剩余总量还较多,但II型胶原的变性及溶解也明显增加,因而尿液中EKGDPDP小肽水平明显升高。在病变晚期,关节间隙严重狭窄甚至消失时,关节软骨基质破坏殆尽,软骨细胞合成能力下降, EKGDPDP小肽水平明显下降。此结果与Reijman等^[23]的研究结果相似。

膝关节表面置换半年,患者尿液中EKGDPDP小肽水平明显下降,这是因为切除了病变关节的关节软骨,残存软骨完全消失,引起软骨破坏的因素已经消除;但尿液中仍然能够检测出EKGDPDP小肽,可能是因为合并有其他关节软骨病变所致。在关节镜探查清理术组,尿液中EKGDPDP小肽水平手术前后变化不明显,可能是因为关节镜清理术中,主要是以关节腔内冲洗、游离体摘除、切除骨赘和撕裂半月板为主;虽然可以暂时清除脱落的软骨、坏死组织碎片和炎性递质,但是导致关节软骨破坏的因素仍然存在,病情仍在继续发展所致。

实验发现,尿液中EKGDPDP小肽水平与体质量指数正相关。提示超重的人更易患膝关节OA,肥胖可能是膝关节OA的病因之一^[24-25]。肥胖导致OA的确切机制还不清楚,可能是运动时由于骨血液动力学的改变,引起骨内压力增高,使软骨下骨发生骨坏死,软骨受力不均,局部压力变大,导致或加重软骨的损伤;同时骨血液动力学的改变使滑液pH值下降,成分改变,干扰并破坏软骨细胞的正常代谢,导致细胞变性坏死,胶原纤维解聚,蛋白多糖分解,最终产生骨性关节炎。也有人认为肥胖可限制日常的关节活动,减少了主动关节运动,因此也减少了退行性骨关节炎的发生机会。此外,肥胖与关节退行性变化之间的相互关系还可能被各种内分泌和代谢因素参与而复杂化。

实验针对尿液中EKGDPDP小肽水平与年龄、性别、体质量指数、Outerbridge软骨评分、Ayrat滑膜炎评分等临床因素之间的相关性作了分析。显示小肽水平与体质量指数、Outerbridge软骨评分正相关,表明II型胶原分解代谢增加引起尿液中EKGDPDP小肽水平增加;测定尿液EKGDPDP小肽水平可以为膝关节OA早期诊断、监测病情变化提供依据。但是,由于膝关节OA的病因复杂,各种能够影响软骨合成与降解的因素在疾病的发展进程起综合作用,其临床诊断意义还需要进一步研究。

4 参考文献

- [1] Jung M, Christgau S, Lukoschek M, et al. Increased urinary concentration of collagen type II C-telopeptide fragments in patients with osteoarthritis. *Pathobiology*. 2004;71(2):70-76.
- [2] Bruyere O, Collette JH, Ethgen O, et al. Biochemical markers of bone and cartilage remodeling in prediction of longterm progression of knee osteoarthritis. *J Rheumatol*. 2003;30(5):1043-1050.
- [3] Bashir A, Gray ML, Burstein D. Gd-DTPA2- as a measure of cartilage degradation. *Magn Reson Med*. 1996;36(5):665-673.
- [4] Otterness IG, Swindell AC, Zimmerer RO, et al. An analysis of 14 molecular markers for monitoring osteoarthritis: segregation of the markers into clusters and distinguishing osteoarthritis at baseline. *Osteoarthritis Cartilage*. 2000;8(3):180-185.
- [5] Matyas JR, Atley L, Ionescu M, et al. Analysis of cartilage biomarkers in the early phases of canine experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50(2):543-552.
- [6] Squires GR, Okouneff A, Ionescu M, et al. The pathobiology of focal lesion development in aging human articular cartilage and molecular matrix changes characteristic of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48(5):1261-1270.
- [7] Kraus VB. Biomarkers in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2005;17(5):641-646.
- [8] Garnero P, Gineyts E, Christgau S, et al. Association of baseline levels of urinary glucosyl-galactosyl-pyridinoline and type II collagen C-telopeptide with progression of joint destruction in patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002;46(1):21-30.
- [9] Altman RD. Criteria for classification of clinical osteoarthritis. *J Rheumatol Suppl*. 1991;27:10-12.
- [10] Kellgren JH, Lawrence JS, Bier F, et al. Genetic factors in generalized osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 1963;22:237-255.
- [11] Canale ST. *Campbell operative orthopaedics*. 9th ed. St. Louis: Mos-by year Book Inc. 1998:251.
- [12] Li R, Xiao D, Zhou J. *Zhongguo Kangfu Yixue Zazhi*. 2007;22(5):475-477.
李蕊,肖迪,周军.骨性关节炎软骨生物学标志物的国外研究进展[J].中国康复医学杂志,2007,22(5):475-477.
- [13] Cremer MA, Rosloniec EF, Kang AH. The cartilage collagens: a review of their structure, organization, and role in the pathogenesis of experimental arthritis in animals and in human rheumatic disease. *J Mol Med*. 1998;76(3-4):275-288.
- [14] Aigner T, Stöss H, Weseloh G, et al. Activation of collagen type II expression in osteoarthritic and rheumatoid cartilage. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 1992;62(6):337-345.
- [15] Downs JT, Lane CL, Nestor NB, et al. Analysis of collagenase-cleavage of type II collagen using a neoepitope ELISA. *J Immunol Methods*. 2001;247(1-2):25-34.
- [16] Rebuck N, Croucher LJ, Hollander AP, et al. Distribution of two alternatively spliced variants of the type II collagen N-propeptide compared with the C-propeptide in bovine chondrocyte pellet cultures. *J Cell Biochem*. 1999;75(1):13-21.
- [17] Møller HJ. Connective tissue markers of rheumatoid arthritis. *Scand J Clin Lab Invest*. 1998;58(4):269-278.
- [18] Wollheim FA. Predictors of joint damage in rheumatoid arthritis. *APMIS*. 1996;104(2):81-93.
- [19] Neidhart M, Hauser N, Paulsson M, et al. Small fragments of cartilage oligomeric matrix protein in synovial fluid and serum as markers for cartilage degradation. *Br J Rheumatol*. 1997;36(11):1151-1160.
- [20] Saxne T, Heinegård D. Cartilage oligomeric matrix protein: a novel marker of cartilage turnover detectable in synovial fluid and blood. *Br J Rheumatol*. 1992;31(9):583-591.
- [21] Hummel KM, Neidhart M, Vilim V, et al. Analysis of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in synovial fibroblasts and synovial fluids. *Br J Rheumatol*. 1998;37(7):721-728.
- [22] Charni N, Juillet F, Garnero P. Urinary type II collagen helical peptide (HELIX-II) as a new biochemical marker of cartilage degradation in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2005;52(4):1081-1090.
- [23] Reijman M, Hazes JM, Bierma-Zeinstra SM, et al. A new marker for osteoarthritis: cross-sectional and longitudinal approach. *Arthritis Rheum*. 2004;50(8):2471-2478.
- [24] Spector TD, Hart DJ, Doyle DV. Incidence and progression of osteoarthritis in women with unilateral knee disease in the general population: the effect of obesity. *Ann Rheum Dis*. 1994;53(9):565-568.
- [25] Felson DT, Zhang Y, Anthony JM, et al. Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women. The Framingham Study. *Ann Intern Med*. 1992;116(7):535-539.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 深圳市科技局项目(200903208);深圳市福田区公益项目(FTWS028)。

致谢: 感谢广东省深圳市第四(福田)人民医院骨科全体同仁的大力支持。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

课题的意义: 实验以II型胶原的代谢产物 EKGDPD 小肽作为检测对象, 由于该小肽只存在于II型胶原, 因此具有良好的准确性, 该小肽的相对分子量较小可被肾脏滤过在尿中聚集, 因此具有科学性, 同时尿液的采集为无创性操作, 在临床上具有很好的可行性和实用性。

课题评估的“金标准”: 膝关节骨性关节炎的诊断主要依靠影像学以及关节镜检查, 实验中采用了这两种诊断方法进行诊断。

设计或课题的偏倚与不足: 其他部位的骨性关节炎的发生也会引起II型胶原的代谢产物 EKGDPD 小肽的变化, 在尿液中会出现该产物的升高, 从而对膝关节骨性关节炎的影响, 因此对同时存在全身多发骨性关节炎的患者, 该指标不能反映某一关节的软骨损伤情况, 需要结合其他的诊断措施综合分析。

提供临床借鉴的价值: 实验对骨性关节炎的早期诊断具有重要意义, 尤其是在出现影像学表现之前的骨性关节炎的诊断, 而且该方法具有较高的准确性和敏感性, 操作上有更佳的依从性和实用性, 因此在临床上具有良好的应用前景。