

基质金属蛋白酶3基因多态性与膝骨性关节炎的遗传易感性

https://doi.org/10.12307/2022.513

郭文¹, 高斌礼¹, 杨勇¹, 王建华¹, 李家祺¹, 温树正²

投稿日期: 2021-03-15

采用日期: 2021-06-24

修回日期: 2021-09-26

在线日期: 2021-10-28

中图分类号:

R459.9; R394.3; R684.3

文章编号:

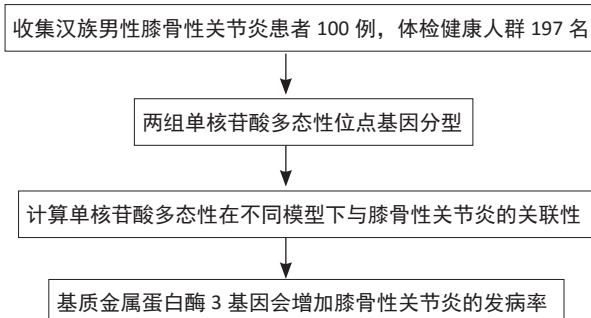
2095-4344(2022)12-01894-05

文献标识码: B

文章快速阅读:

文章特点一

△遗传因素与膝骨性关节炎的发病有着紧密的联系, 试验采用 Sequenom MassARRAY 技术平台对基质金属蛋白酶3基因的8个单核苷酸多态性位点进行单核苷酸多态性分型, 采用无条件 Logistic 回归分析计算单核苷酸多态性在不同模型下与膝骨性关节炎的关联性。



文题释义:

单核苷酸多态性: 是指在基因组水平上, DNA序列中由单个核苷酸的变异所引起的DNA序列多态性改变, 是人类可遗传变异中最常见的一种, 其发生频率很高, 现已被用作第三代遗传标记, 是目前研究最热的分子遗传标记物。

基质金属蛋白酶: 属于一类高度保守的水解酶家族, 常存在于结缔组织间隙中, 以无活性的酶原形式存在, pH值为中性时在Ca²⁺的参与下其活性中心的Zn²⁺被激活, 其中氨基端参与基质金属蛋白酶的活化, 羧基端参与底物的结合。基质金属蛋白酶3可以降解细胞外基质, 属于基质金属蛋白酶家族中基质溶解素类的一种, 主要降解的蛋白质包括层粘连蛋白、蛋白聚糖的核心蛋白、弹性蛋白、连接纤维蛋白及III、IV、V、VI、VII等多种类型胶原。

摘要

背景: 虽然近年来对膝骨性关节炎的起因、发展及防治取得了很大进展, 但是目前其具体病因及发病机制仍不明确。在致病因素中, 遗传因素占40%–60%, 与膝骨性关节炎的发病有着紧密的联系。

目的: 探索基质金属蛋白酶3基因多态性与中国北方汉族人群中膝骨性关节炎患者发病的关联性。

方法: 选择2018年10月至2020年10月在内蒙古医科大学附属医院就诊的膝骨性关节炎患者100例与健康体检者197名, 均为汉族男性, 采用试剂盒提取血液全基因组DNA后, 采用Sequenom MassARRAY技术平台对基质金属蛋白酶3基因的8个单核苷酸多态性位点(rs639752、rs650108、rs520540、rs646910、rs602128、rs679620、rs678815、rs522616)进行单核苷酸多态性分型。采用无条件Logistic回归分析计算单核苷酸多态性在5种遗传模型下(共显性、显性、隐性、超显性和加性模型)与膝骨性关节炎的关联性。

结果与结论: ①经Pearson卡方检验可知, 所有位点在等位基因模型下与膝骨性关节炎的患病风险无相关性; ②通过关联分析发现, 基质金属蛋白酶3基因4个位点(rs639752、rs520540、rs602128和rs679620)的多态性在显性和超显性模型下与膝骨性关节炎存在统计学上的相关性; ③结果表明, 基质金属蛋白酶3基因位点rs639752、rs520540、rs602128和rs679620会增加中国北方汉族人群男性膝骨性关节炎的发病率, 但该结果需要在更大的样本中进一步验证。

关键词: 膝骨性关节炎; 基质金属蛋白酶3; 单核苷酸多态性; 遗传易感性; 汉族人群; 关联性研究

Relationship between matrix metalloproteinase-3 gene polymorphism and genetic susceptibility to knee osteoarthritis

Guo Wen¹, Gao Binli¹, Yang Yong¹, Wang Jianhua¹, Li Jiaqi¹, Wen Shuzheng²

¹The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, Inner Mongolia Autonomous Region, China; ²The Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Guo Wen, Master, Attending physician, The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Corresponding author: Wen Shuzheng, Chief physician, The Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, Inner Mongolia Autonomous Region, China

¹内蒙古医科大学附属医院, 内蒙古自治区呼和浩特市 010000; ²内蒙古医科大学第二附属医院, 内蒙古自治区呼和浩特市 010000

第一作者: 郭文, 男, 1989年生, 内蒙古自治区呼和浩特市人, 汉族, 硕士, 主治医师, 主要从事膝骨性关节炎发病与诊治研究。

通讯作者: 温树正, 主任医师, 内蒙古医科大学第二附属医院, 内蒙古自治区呼和浩特市 010000

https://orcid.org/0000-0002-2241-2298 (郭文)

引用本文: 郭文, 高斌礼, 杨勇, 王建华, 李家祺, 温树正. 基质金属蛋白酶3基因多态性与膝骨性关节炎的遗传易感性 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(12):1894-1898.



Abstract

BACKGROUND: Although great progress has been made in the etiology, development and treatment of knee osteoarthritis in recent years, its specific etiology and pathogenesis are still unclear. Among the pathogenic factors of knee osteoarthritis, genetic factors account for about 40%–60%, which are closely related to the incidence of knee osteoarthritis.

OBJECTIVE: To investigate the relationship between matrix metalloproteinase-3 gene polymorphism and onset of knee osteoarthritis in Han population in north China.

METHODS: We recruited 100 male patients with knee osteoarthritis and 197 healthy men admitted at the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University between October 2018 and October 2020. All the subjects were from the Han group. We used commercial kits to extract the blood genomic DNAs. Eight single nucleotide polymorphisms of matrix metalloproteinase-3 gene, including rs639752, rs650108, rs520540, rs646910, rs602128, rs679620, rs678815, and rs522616, were genotyped by using the Sequenom MassARRAY RS1000 platform. Unconditional Logistic regression analysis was used to calculate the correlation between single nucleotide polymorphisms and knee osteoarthritis under five genetic models (codominant, dominant, recessive, overdominant and additive models).

RESULTS AND CONCLUSION: (1) In the Pearson chi-square test, all loci had no correlation with the risk of knee osteoarthritis under the allelic model. (2) Through the association analysis, we identified that four single nucleotide polymorphisms (rs639752, rs520540, rs602128, and rs679620) in the matrix metalloproteinase-3 gene in the dominant and over-dominant models were associated with the increased risk of knee osteoarthritis. (3) Our study preliminarily revealed that four single nucleotide polymorphisms (rs639752, rs520540, rs602128, and rs679620) in the matrix metalloproteinase-3 gene can increase the incidence of knee osteoarthritis in men of Han ethnics in north China. However, the results we identified here need to be confirmed in further large-scale studies.

Key words: knee osteoarthritis; matrix metalloproteinase-3; single nucleotide polymorphisms; genetic susceptibility; Han population; association study

How to cite this article: GUO W, GAO BL, YANG Y, WANG JH, LI JQ, WEN SZ. Relationship between matrix metalloproteinase-3 gene polymorphism and genetic susceptibility to knee osteoarthritis. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2021;25(12):1894-1898.

0 引言 Introduction

骨性关节炎是一种慢性、退行性关节疾病，为风湿性疾病的一种，常由于力学因素和生物学因素共同作用导致软骨细胞、细胞外基质和软骨下骨三者相互的降解和合成失衡，最终引起关节软骨的退行性改变和继发性骨质增生^[1]，是骨科最常见的疾病之一。美国风湿病协会将骨性关节炎分为原发性骨性关节炎和继发性骨性关节炎两类。膝骨性关节炎高发病率、高致残率、漫长的治疗过程以及高额的治疗费用，给患者家庭及社会带来了巨大的经济负担^[2]。

虽然近年来对膝骨性关节炎的起因、发展及防治研究取得了很大进展，但是目前其具体病因及发病机制仍不明确。近年来关于膝骨性关节炎易感基因的研究有很多，并且都取得了一定的阳性结果，其中已经发现的基因包括白细胞介素 1^[3]、白细胞介素 6^[4]、白细胞介素 17^[5]、白细胞介素 24^[6]、转化生长因子 β ^[7]、生长分化因子 5^[8]、胰岛素样生长因子 1^[9]、无孢蛋白^[10]、瘦素^[11]、雌激素受体等^[12]。

尽管研究已经发现了许多易感基因与膝骨性关节炎的发病存在着关联性，但是膝骨性关节炎的遗传学研究仍然存在严重的不足。此次研究将以基质金属蛋白酶 3 作为易感基因，收集来自内蒙古呼和浩特市及周边地区的汉族男性膝骨性关节炎患者及健康男性作为研究对象，进一步研究中国北方地区汉族男性膝骨性关节炎患者的发病是否与基质金属蛋白酶 3 基因多态性存在着直接的关系，同时希望能为今后的研究及膝骨性关节炎的治疗提供必要的指导和依据。

1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 病例-对照观察性研究，组间数据比较采用 χ^2 检验和 Fisher's 精确检验。

1.2 时间及地点 试验于 2018 年 10 月至 2020 年 10 月在内蒙古医科大学附属医院完成。

1.3 对象 选择 2018 年 10 月至 2020 年 10 月在内蒙古医科大学附属医院就诊的，长期居住于呼和浩特市及周边地区汉

族男性膝骨性关节炎患者，共 100 例，年龄 ≥ 18 岁，作为试验组，患者之间无亲属关系。同期来自于内蒙古医科大学附属医院体检中心健康体检者，汉族男性 197 名，年龄 ≥ 18 岁，作为健康对照组。受试者对试验知情同意。试验已通过内蒙古医科大学、内蒙古医科大学附属医院伦理委员会批准。

膝骨性关节炎诊断标准: 根据美国风湿病学会提出的膝骨性关节炎诊断标准。临床表现: ①入选前 1 个月 60% 以上时间出现膝关节疼痛; ②膝关节活动时可闻及骨擦音, 触及骨擦感; ③晨僵 < 30 min/d; ④年龄 ≥ 38 岁; ⑤膝关节出现骨性肥大。其中同时满足①、②、③、④项, ①、②、⑤项或①、④、⑤项者可确诊。临床表现 + 放射学检查 + 实验室检查: ①前 1 个月 60% 以上时间反复出现膝关节疼痛; ② X 射线片检查示膝关节间隙变窄, 软骨下骨硬化及囊性变, 关节边缘有骨赘形成; ③滑液检查符合膝骨性关节炎指标; ④年龄 ≥ 38 岁; ⑤晨僵 < 30 min/d; ⑥膝关节活动时可闻及骨擦音, 触及骨擦感。同时满足①、②项, ①、③、⑤、⑥项或①、④、⑤、⑥项者说明膝骨性关节炎存在。

试验组纳入标准: ①确诊为膝骨性关节炎患者; ②患者年龄满 18 周岁, 排除肝肾疾病、恶性肿瘤及其他系统性疾病; ③排除风湿、类风湿等关节疾病; ④抽血前 3 个月内无关节药物注射史、止痛药物服用史、糖皮质激素药物服用史等。

1.4 方法

1.4.1 单核苷酸多态性位点的选择 共选择分布于基质金属蛋白酶 3 基因上的 8 个与骨性关节炎相关的单核苷酸多态性位点。在 Hapmap 数据库 (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html>) 中查询时所有这些位点都满足了最小等位基因频率 $> 5\%$ 的标准, 这样做可以避免因等位基因频率过小而引起的统计效力过低, 进而影响实验结果。

1.4.2 样本采集与检测方法 采集所有研究对象 (空腹 8 h 以上) 静脉外周血 5 mL, 置于 EDTA 抗凝管中, 随即编号并登记姓名, 由经过培训的专业人员进行。所有标本当天采集当天送回实验室, 并存放在 -80 °C 冰箱, 以备 DNA 提取使

用。随后进行 DNA 浓度及纯度测定、引物的设计与合成、MassARRAY 基因分型 (PCR 扩增、SAP 纯化反应、单碱基延伸反应树脂纯化、上机点样、质谱检测及结果初步分析)、数据预处理、均衡性检验、位点/样本过滤、频率/频数统计、哈德-温伯格平衡检验、单个核苷酸多态性位点分析、单体型分析。

共选取了基质金属蛋白酶 3 基因上的 8 个核苷酸多态性位点, 通过 Sequenom MassARRAY Assay Design 3.0 Software 软件设计了引物, 对应的引物信息见表 1。

表 1 | 基质金属蛋白酶 3 基因上核苷酸多态性位点引物

Table 1 Primers used for this study	
位点	上游引物
rs639752	ACG TTG GAT GCA GAT AAA TTC TCC ACT TGC
rs650108	ACG TTG GAT GGT CAC TGT CTC ATT GTG TGT
rs520540	ACG TTG GAT GGC GAA AGG GCT TAA CTG TTA T
rs646910	ACG TTG GAT GCC ACT GTA AGC TGG TGA CTA
rs602128	ACG TTG GAT GCT TCG GGA TGC CAG GAA A
rs679620	ACG TTG GAT GAA CAG GAC CAC TGT CCT TTC
rs678815	ACG TTG GAT GAA TGC AAC GTA ATT TTA GC
rs522616	ACG TTG GAT GCG TAG CTG CTC CAT AAA TAG
位点	下游引物
rs639752	ACG TTG GATG GGC TGC AAT GCG GGA AAA G
rs650108	ACG TTG GAT GTC AGG TAG AGG TGA CAA GTG
rs520540	ACG TTG GAT GCC AGC TCG TAC CTC ATT TCC
rs646910	ACG TTG GAT GGT TAA GCC CTT TCG CTT TAG
rs602128	ACG TTG GAT GAA GCT GGA CTC CGA CAC TCT
rs679620	ACG TTG GAT GAG AAA TAT CTA GAA AAC TAC
rs678815	ACG TTG GAT GTG GAG TAT TTC TCT AGC TTG
rs522616	ACG TTG GAT GAC AGA GAG AAT TTC AGT CCG
位点	延伸引物 UEP 序列
rs639752	tGG GAA GAA AGA AAT AGG TGA T
rs650108	tAA GTG GGT GAG GTT AGA
rs520540	CTC GTA CCT CAT TTC CTC TGA T
rs646910	CGC TTT AGA AAT ACA CTT TAG CAT CT
rs602128	CAG GTG TGG AGT TCC TGA
rs679620	tCT CTAG AAA ACT ACT ACG ACC TC
rs678815	TCT CTA GCT TGC TGA AAT AAT G
rs522616	gaC GGT AAG CAAT GTAA TTC ATT TCA

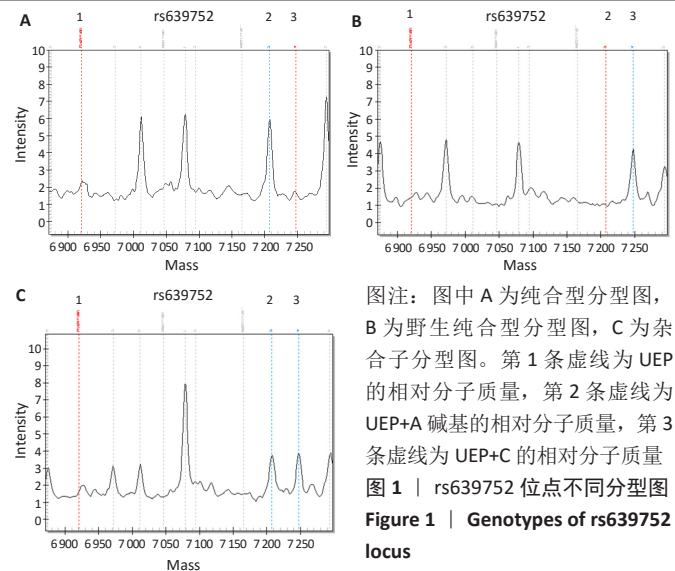
1.5 主要观察指标 两组血液样品基质金属蛋白酶 3 基因上的 8 个核苷酸多态性位点。

1.6 统计学分析 应用 SPSS 17.0 软件、Microsoft Excel2010 软件、Haploview v4.2 软件、PLINK 软件和 SNPstats 软件。分类变量用频数和百分数来表示, 主要通过 χ^2 检验和 Fisher's 精确检验来估算。连续性变量用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 主要通过 T 检验来估算。 $P < 0.05$ 为差异存在显著性意义。

2 结果 Results

2.1 样本的基本信息 两组患者的年龄分布比较差异有显著性意义 ($P < 0.01$), 在后续的统计分析过程中已对其进行矫正。两组中各种基因型的分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡 ($P > 0.05$), 说明此次研究人群具有群体代表性。

2.2 Massarray 分型结果 两组血液样本中 8 个核苷酸多态性位点的分型成功率大于 95%。以 rs639752 位点为例, 它的突变纯合型、野生纯合型及杂合型分型结果见图 1 所示。



第 1 条虚线为 UEP 的相对分子质量, 第 2 条虚线为 UEP+A 碱基的相对分子质量, 第 3 条虚线为 UEP+C 的相对分子质量。若第 3 条线处出峰, 则为 CC 型纯合子; 若第 2 条线处出峰, 则为 AA 型纯合子; 两条线处均出峰, 则为 CA 杂合子。

2.3 核苷酸多态性位点在等位基因模型下与膝骨性关节炎的相关性 表 2 显示了基质金属蛋白酶 3 基因核苷酸多态性位点的基本信息及其等位基因与膝骨性关节炎患病风险的相关性。经 Pearson 卡方检验得知, 所有位点在等位基因模型下与膝骨性关节炎的患病风险无相关性。

表 2 | 基质金属蛋白酶 3 基因核苷酸多态性位点的基本信息

Table 2 | Basic information of single nucleotide polymorphisms in matrix metalloproteinase-3 gene

位点	位置	功能	A/B	最小等位基因频率	
				试验组	对照组
rs639752	102707339	内含子	C/A	0.395	0.36
rs650108	102708787	内含子	G/A	0.48	0.449
rs520540	102709425	外显子	A/G	0.395	0.36
rs646910	102709522	内含子	A/T	0.075	0.089
rs602128	102713465	外显子	A/G	0.395	0.359
rs679620	102713620	外显子	T/C	0.395	0.363
rs678815	102713777	内含子	G/C	0.357	0.36
rs522616	102715048	启动子	C/T	0.350	0.352
位点	哈迪-温伯格平衡 P 值	等位基因模型			
		风险比 OR 值	95%CI 值	Pearson 卡方 P 值	
rs639752	1.000	1.159	0.816-1.645	0.410	
rs650108	0.474	1.132	0.805-1.592	0.477	
rs520540	1.000	1.159	0.816-1.645	0.410	
rs646910	1.000	0.832	0.443-1.562	0.566	
rs602128	1.000	1.166	0.821-1.656	0.391	
rs679620	1.000	1.146	0.808-1.626	0.445	
rs678815	1.000	0.986	0.676-1.437	0.941	
rs522616	0.756	0.991	0.694-1.416	0.961	

表注: A/B 代表对照组中最小等位基因/参考等位基因

2.4 遗传模型的分析结果 表 3 显示了核苷酸多态性位点在 5 种不同遗传模型 (共显性、显性、隐性、超显性和加性模型) 下与膝骨性关节炎患病风险的相关性。对年龄进行矫正后可知, rs639752 在显性模型 (“C/A-C/C”, $OR=2.03$,

95%CI 为 1.03-4.01, $P=0.038$) 和超显性模型 (“C/A”, $OR=2.00$, 95%CI 为 1.03-3.88, $P=0.037$) 下可以增加膝骨性关节炎的患病风险。Rs520540 在显性和超显性模型下增加了膝骨性关节炎的患病风险 (显性, “A/G-A/A”, $OR=2.03$, 95%CI 为 1.03-4.01, $P=0.038$; 超显性, “A/G”, $OR=2.00$, 95%CI 为 1.03-3.88, $P=0.037$)。Rs602128 在显性 (“G/A-A/A”, $OR=2.03$, 95%CI 为 1.03-4.01, $P=0.038$) 和最佳模型 (赤池信息准则与贝叶斯信息准则最小时) 超显性 (“G/A”, $OR=2.01$, 95%CI 为 1.03-3.89, $P=0.037$) 模型下增加了膝骨性关节炎的患病风险。Rs679620 同样在显性 (“T/C-T/T”, $OR=2.03$, 95%CI 为 1.03-4.01, $P=0.038$) 和最佳模型 - 超显性 (“T/C”, $OR=2.04$, 95%CI 为 1.05-3.96, $P=0.033$) 模型下增加了膝骨性关节炎的发病率。

表 3 | 单核苷酸多态性在各模型下与膝骨性关节炎的发病风险相关性
Table 3 | Association between single nucleotide polymorphisms and the risk for knee osteoarthritis

位点	基因模型	基因型	对照组 (n%)	试验组 (n%)	OR 值 (95%CI 值)	P 值	赤池信息准则	贝叶斯信息准则
rs639752	共显性	A/A	80/40.6	34/34	1[Ref]			
		C/A	92/46.7	53/53	2.23(1.08-4.59)	0.085	236.4	251.2
		C/C	25/12.7	13/13	1.50(0.54-4.13)			
	显性	A/A	80/40.6	34/34	1[Ref]			
		C/A-C/C	117/59.4	66/66	2.03(1.03-4.01)	0.038	235	246.1
	隐性	A/A-C/A	172/87.3	87/87	1[Ref]			
		C/C	25/12.7	13/13	0.96(0.38-2.43)	0.940	239.3	250.4
	超显性	A/A-C/C	105/53.3	47/47	1[Ref]			
		C/A	92/46.7	53/53	2.00(1.03-3.88)	0.037	235	246.1
	加性	-	-	-	1.41(0.88-2.26)	0.150	237.3	248.4
rs520540	共显性	G/G	80/40.6	34/34	1[Ref]			
		A/G	92/46.7	53/53	2.23(1.08-4.59)	0.085	236.4	251.2
		A/A	25/12.7	13/13	1.50(0.54-4.13)			
	显性	G/G	80/40.6	34/34	1[Ref]			
		A/G-A/A	117/59.4	66/66	2.03(1.03-4.01)	0.038	235	246.1
	隐性	G/G-A/G	172/87.3	87/87	1[Ref]			
		A/A	25/12.7	13/13	0.96(0.38-2.43)	0.940	239.3	250.4
	超显性	G/G-A/A	105/53.3	47/47	1[Ref]			
		A/G	92/46.7	53/53	2.00(1.03-3.88)	0.037	235	246.1
	加性	-	-	-	1.41(0.88-2.26)	0.150	237.3	248.4
rs602128	共显性	G/G	80/41.0	34/34	1[Ref]			
		G/A	90/46.1	53/53	2.24(1.09-4.60)	0.084	236.3	251
		A/A	25/12.8	13/13	1.49(0.54-4.12)			
	显性	G/G	80/41.0	34/34	1[Ref]			
		G/A-A/A	115/59.0	66/66	2.03(1.03-4.01)	0.038	234.9	246
	隐性	G/G-G/A	170/87.2	87/87	1[Ref]			
		A/A	25/12.8	13/13	0.96(0.38-2.42)	0.940	239.2	250.3
	超显性	G/G-A/A	105/53.9	47/47	1[Ref]			
		G/A	90/46.1	53/53	2.01(1.03-3.89)	0.037	234.9	245.9
	加性	-	-	-	1.41(0.88-2.26)	0.150	237.2	248.3
rs679620	共显性	C/C	80/40.6	34/34	1[Ref]			
		T/C	91/46.2	53/53	2.26(1.10-4.66)	0.078	236.2	251
		T/T	26/13.2	13/13	1.45(0.53-3.98)			
	显性	C/C	80/40.6	34/34	1[Ref]			
		T/C-T/T	117/59.4	66/66	2.03(1.03-4.01)	0.038	235	246.1
	隐性	C/C-T/C	171/86.8	87/87	1[Ref]			
		T/T	26/13.2	13/13	0.93(0.37-2.32)	0.880	239.3	250.4
	超显性	C/C-T/T	106/53.8	47/47	1[Ref]			
		T/C	91/46.2	53/53	2.04(1.05-3.96)	0.033	234.8	245.8
	加性	-	-	-	1.39(0.87-2.22)	0.170	237.4	248.5

表注: “-” 代表无相关数据; 1[Ref] 指 $OR=1$, 作为参考标准

3 讨论 Discussion

膝骨性关节炎的发病过程非常复杂, 但目前其发病机制仍不清楚。膝骨性关节炎的发生会受到多种细胞因子的共同

调控作用, 而基质金属蛋白酶家族与骨性关节炎的关系日益受到人们的重视。基质金属蛋白酶对细胞内外蛋白成分的降解和重塑发挥着重要作用, 而金属蛋白酶组织抑制因子对基质金属蛋白酶起抑制作用, 如果二者的平衡一旦被破坏将会导致细胞外基质的合成和降解失衡, 这成为了膝骨性关节炎软骨变性的主要原因^[13]。基质金属蛋白酶 3 是由滑膜细胞、成纤维细胞等产生, 可以降解细胞外基质多种蛋白底物^[14], 基质金属蛋白酶 3 还可以通过激活其他基质金属蛋白酶间接破坏 II 型胶原, 成为基质降解的关键因素, 被认为是导致软骨退变的基本因子^[15]。截至目前, 虽然关于基质金属蛋白酶 3 与膝骨性关节炎的报道很多, 但大部分都是在蛋白表达层面上分析基质金属蛋白酶 3 与膝骨性关节炎的关系。部分研究显示, 膝骨性关节炎患者膝关节滑膜中基质金属蛋白酶 3 蛋白表达量显著高于健康对照组^[16]。贺占坤等^[17]对膝骨性关节炎患者关节液的研究发现, 实验组基质金属蛋白酶 3 的含量显著高于健康对照组 ($P < 0.01$), 同时随着病情的好转基质金属蛋白酶 3 的含量也随之降低, 可知基质金属蛋白酶 3 与膝关节软骨的损伤呈正相关。王维山等^[18]对 308 例膝骨性关节炎患者和 36 例健康体检者的静脉血和膝关节液进行分析得出相同的结论。由此可知, 基质金属蛋白酶 3 在膝骨性关节炎的发生发展中起着重要的作用, 其含量与膝骨性关节炎的严重程度呈正比。

类似的研究仍有许多, 但都仅局限于蛋白质层面。基质金属蛋白酶 3 基因以等位基因的差异化方式调节基质金属蛋白酶 3 的转录活性。就基因层面而言, 虽然 2013 年泰国学者 HONSAWEK 等^[19]并未发现基质金属蛋白酶 3 基因与泰国人口膝骨性关节炎的发生具有相关性, 但 ABD-ALLAH 等^[20]研究显示基质金属蛋白酶 3 基因 1171(5A/6A) 与埃及人骨性关节炎的发生具有显著相关性; 此外, 研究还表明, 基质金属蛋白酶 3 基因启动子区域 5A/6A 的多态性同样会增加北欧白种人类风湿性关节炎的遗传易感性^[21]。HAYAMI 等^[22]利用免疫组化技术检测到晚期膝骨性关节炎患者软骨下骨基质金属蛋白酶 3 基因高表达, 但目前基质金属蛋白酶 3 基因的表达及蛋白是如何调控仍需进一步研究。此次试验收集了中国北方汉族膝骨性关节炎患者作为研究对象, 并对基质金属蛋白酶 3 基因的 8 个单核苷酸多态性位点 (rs639752、rs650108、rs520540、rs646910、rs602128、rs679620、rs678815 和 rs522616) 进行分型研究, 结果发现位点 rs639752、rs520540、rs602128 和 rs679620 与膝骨性关节炎的发病存在显著相关性。在基因层面上关于基质金属蛋白酶 3 基因与膝骨性关节炎的相关性研究报道并不多, 但与其他疾病关联性的报道却很多。MENEZESSILVA 等^[23]研究发现在患有深龋病变但未经治疗的患者中, 基质金属蛋白酶 3 基因位点 rs639752($P=0.030$) 和 rs679620($P=0.004$) 与牙根尖周病变的形成存在着显著的相关性。LETRA 等^[24]研究表明, 基质金属蛋白酶 3 基因位点与美国人群 (rs679620, $P=0.0003$) 和巴西人群 (rs639752, $P=0.005$) 慢性牙周炎的易感性有着显著的相关性, 这可能是由于基质

金属蛋白酶 3 基因的变异导致牙齿深龋病变不同程度的骨骼重塑、再生及炎症反应的发生 [23], rs679620 位点的错义突变改变了野生型基因功能, 最终导致了蛋白质氨基酸由赖氨酸变为谷氨酰胺。有学者报道, 基质金属蛋白酶 3 基因位点 (rs520540、rs602128 和 rs679620) 会增加韩国人口的缺血性脑卒中的发病概率 [25]。虽然英国学者 FOSTER 等 [26] 并未发现基质金属蛋白酶 3 基因位点 rs67962 与英国无症状白种人群髌腱的结构与力学属性具有相关性, 但早在 2009 年同样是英国学者 RALEIGH 等 [27] 发现基质金属蛋白酶 3 基因与生活在南非白种人群慢性跟腱病的发生有关。

此次试验首次报道以上 4 个位点与膝骨性关节炎的关联性, 这可能为膝骨性关节炎基因的研究提供了一些新线索。试验利用分子生物学技术进行基因分型, 结合严谨的统计学方法进行深入分析, 探讨了呼和浩特市及周边地区汉族人群中基因多态性与膝骨性关节炎遗传易感性的相关性, 虽然从试验设计、选择研究对象、采集样本信息、录入数据与操作到统计分析每一步都十分严谨, 但仍然存在一定的局限性。膝骨性关节炎的发生、发展是多基因、多因素参与, 在多阶段进行的连续进程, 且不同研究者对同一基因相同位点研究可能产生不同的结果, 此次试验只选择了其中一个基因的多个位点进行的研究, 因而在后续研究中需要选择更多更全面的基因位点, 且获得的结果需要在更大的样本中行进进一步的验证。

试验采用候选基因研究策略, 挑选出易感基因基质金属蛋白酶 3 的 8 个单核苷酸多态性位点, 研究其与呼和浩特市及周边地区汉族膝骨性关节炎患者遗传易感性的相关性。研究结果显示 rs639752 位点 C/A-C/C 和 C/A 基因型, rs520540 位点 A/G-A/A 和 A/G 基因型, rs602128 位点 G/A-A/A 和 G/A 基因型, rs679620 位点 T/C-T/T 和 T/C 基因型, 都会增加中国北方汉族人群男性膝骨性关节炎患者的遗传易感性。

作者贡献: 温树正主任医师提出此次研究题目。郭文主治医师进行试验设计, 高斌礼、杨勇、王建华、李家祺等多位医师进行了大量资料收集, 郭文住院医师进行试验评估、资料收集及数据分析, 最终成文, 温树正主任医师审核, 郭文主治医师对文章负责。

经费支持: 该文章未接受任何经费支持。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

机构伦理问题: 试验已通过内蒙古医科大学、内蒙古医科大学附属医院伦理委员会批准。

知情同意问题: 受试者对试验知情同意。

写作指南: 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

生物统计学声明: 该文统计学方法已经由内蒙古医科大学生物统计学专家审核。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容进行编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

[1] SHOWERY JE, KUSNEZOV NA, DUNN JC, et al. The Rising Incidence of Degenerative and Posttraumatic Osteoarthritis of the Knee in the United States Military. *J Arthroplasty*. 2016;31(10):2108-2114.

[2] 吕苏梅, 张瑞丽. 中老年膝骨性关节炎的流行病学研究进展 [J]. *中国老年学*, 2016,36(16):4133-4135.

[3] YANG Y, WANG Y, WANG Y, et al. Tormentone Acid Inhibits IL-1 β -Induced Inflammatory Response in Human Osteoarthritic Chondrocytes. *Inflammation*. 2016;(3):1-9.

[4] NEUNABER C, WYPIOR H, WESTPHAL R, et al. Repetitive reduction lead to significant elevated IL-6 and decreased IL-10 levels in femoral osteotomies: a quantitative analysis of a robot-assisted reduction process in a rat model. *Injury*. 2016;47(8):1669-1675.

[5] LIU Y, HAO P, ZHAO M, et al. Correlation of IL-17 Level in Synovia and Severity of Knee Osteoarthritis. *Med Sci Monit*. 2015;21:1732-1736.

[6] 刘扬. 白细胞介素-24 基因在膝关节骨性关节炎发病中的作用及意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2016,26(13):63-67.

[7] TAO K, REY-RICO A, FRISCH J, et al. rAAV-mediated combined gene transfer and overexpression of TGF- β and SOX9 remodels human osteoarthritic articular cartilage. *J Orthop Res*. 2016;24:S397-S398.

[8] DONG J, HAO Z, FAN D, et al. Association between GDF5 +104T/C polymorphism and knee osteoarthritis in Caucasian and Asian populations: a meta-analysis based on case-control studies. *J Orthop Surg Res*. 2016;11(1):104.

[9] SHAH SS, MITHOEFER K. Current Applications of Growth Factors for Knee Cartilage Repair and Osteoarthritis Treatment. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2020;13(6):641-650.

[10] XING D, MA XL, MA JX, et al. Association between aspartic acid repeat polymorphism of the asporin gene and susceptibility to knee osteoarthritis: a genetic meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013;21(11):1700-1706.

[11] KOSKINEN A, VUOLTEENAHO K, NIEMINEN H, et al. Leptin enhances MMP-1, MMP-3 and MMP-13 production in human osteoarthritic cartilage and correlates with MMP-1 and MMP-3 in synovial fluid from OA patients. *Clin. Exp. Rheumatol*. 2011;29(1):57-64.

[12] BERGINK AP, VAN MEURS JB, LOUGHLIN J, et al. Estrogen receptor alpha gene haplotype is associated with radiographic osteoarthritis of the knee in elderly men and women. *Arthritis Rheum*. 2003;48(7):1913-1922.

[13] 祁雷, 姚运峰, 荆玉华. 基质金属蛋白酶抑制剂在骨关节炎治疗中的应用的研究进展 [J]. *齐鲁医学杂志*, 2017,32(1):111-113.

[14] BJÖRN PASTERNAK PA. Metalloproteinases and their inhibitors—diagnostic and therapeutic opportunities in orthopedics. *Acta Orthop*. 2009;80(6):693-703.

[15] KAPOOR M, MARTELPelletier J, LAJUNESSE D, et al. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(1):33.

[16] 李守龙, 艾依热提·买买提, 潘海涛, 曾峥. 膝骨关节炎滑膜不同部位基质金属蛋白酶 3 的表达及临床意义 [J]. *首都医科大学学报*, 2013, 34(3):411-415.

[17] 贺占坤, 沈杰威. MMP-2、MMP-3、MMP-9 和 TIMP-1 评价膝骨性关节炎的临床研究 [J]. *重庆医学*, 2013(32):3872-3874.

[18] 王维山, 董金波, 何斌, 等. OA 患者血液及关节液中 MMP-3、uPA 水平检测及临床意义 [J]. *山东医药*, 2011,51(3):63-64.

[19] HONSAWEK S, MALILA S, YUKTANANDANA P, et al. Association of MMP-3 (-1612 5A/6A) polymorphism with knee osteoarthritis in Thai population. *Rheumatol Int*. 2013;33(2):435-439.

[20] ABD-ALLAH SH, SHALABY SM, PASHA HF, et al. Variation of matrix metalloproteinase 1 and 3 haplotypes and their serum levels in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012;16(1):15-20.

[21] MATTEY DL, NIXON NB, DAWES PT, et al. Association of matrix metalloproteinase 3 promoter genotype with disease outcome in rheumatoid arthritis. *Genes Immun*. 2004;5(2):147-149.

[22] HAYAMI T, PICKARSKI M, WESOLOWSKI GA, et al. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis: reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model. *Arthritis Rheum*. 2004;50(4):1193-1206.

[23] MENEZESSILVA R, KHALIQ S, DEELEY K, et al. Genetic Susceptibility to Periapical Disease: Conditional Contribution of MMP2 and MMP3 Genes to the Development of Periapical Lesions and Healing Response. *J Endod*. 2012;38(5):604-607.

[24] LETRA A, SILVA RM, RYLANDS RJ, et al. MMP3 and TIMP1 variants contribute to chronic periodontitis and may be implicated in disease progression. *J Clin Periodontol*. 2012;39(8):707-716.

[25] CUGINO D, GIANFAGNA F, AHRENS W, et al. Polymorphisms of matrix metalloproteinase gene and adiposity indices in European children: results of the IDEFICS study. *Int J Obes*. 2013;37(12):1539-1544.

[26] FOSTER BP, MORSE CI, ONAMBELE GL, et al. Variants within the MMP3 gene and patellar tendon properties in vivo in an asymptomatic population. *Eur J Appl Physiol*. 2014;114(12):2625-2634.

[27] RALEIGH SM, VAN DML, RIBBANS WJ, et al. Variants within the MMP3 gene are associated with Achilles tendinopathy: possible interaction with the COL5A1 gene. *Br J Sports Med*. 2009;43(7):514-520.

(责任编辑: GW, ZN, SX)