

# 低强度脉冲超声对膝骨关节炎患者血清 TIMP-2 和软骨 MMP-13 表达的影响

纪京博, 赵忠全, 李学福, 魏巍, 杨帆

(聊城市第三人民医院骨科, 山东 聊城 252000)

**【摘要】目的:** 探讨低强度脉冲超声 (LIPUS) 对膝骨关节炎患者血清组织金属蛋白酶抑制因子-2 (TIMP-2) 和软骨基质金属蛋白酶-13 (MMP-13) 表达的影响。**方法:** 选取 120 例膝骨关节炎患者作为研究对象, 分为 LIPUS 组和对照组, 每组各 60 例。对照组患者采用双氯芬酸钠缓释片进行治疗, LIPUS 组患者在此基础上采用 LIPUS 进行治疗。通过酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定患者在治疗前后的血清 TIMP-2 和软骨 MMP-13 表达水平, 以观察其临床治疗效果。**结果:** 治疗 6 周后, LIPUS 组患者的血清 TIMP-2 水平明显升高, 但 MMP-13 的水平明显降低 ( $P < 0.05$ ); 治疗 6 周后, LIPUS 组患者的视觉模拟评分 (VAS)、美国特种外科医院膝关节评分 (HSS) 及各项健康调查简量表评分 (SF-36) 均显著升高 ( $P < 0.05$ )。**结论:** LIPUS 有效促进膝骨关节炎患者血清 TIMP-2 的表达和抑制软骨 MMP-13 的表达, 使患者的膝关节疼痛得到有效缓解。

**【关键词】** 膝骨关节炎; 低强度脉冲超声波; 组织金属蛋白酶抑制因子-2; 基质金属蛋白酶-13

**【中图分类号】** R684.3 **【文献标志码】** A

## Effect of low intensity pulsed ultrasound on the expression of TIMP-2 in serum and MMP-13 in cartilage of patients with knee osteoarthritis

Ji Jing-bo, ZHAO Zhong-quan, LI Xue-fu, WEI Wei, YANG Fan

(Department of Orthopaedics, Liaocheng Third People's Hospital, Liaocheng 252000, Shandong, China)

**【Abstract】 Objective:** To explore the effect of low intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on the expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-2 (TIMP-2) in serum and matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) in cartilage of patients with knee osteoarthritis. **Methods:** 120 patients with knee osteoarthritis were divided into LIPUS group and control group, 60 cases in each group. The control group was treated with diclofenac sodium sustained-release tablets, and the LIPUS group was treated with LIPUS. The expression levels of TIMP-2 and MMP-13 in the patients before and after treatment were measured by Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) to observe their clinical treatment effect. **Results:** In the LIPUS group, the level of TIMP-2 was significantly increased after 6 weeks of treatment, but the MMP-13 level was significantly reduced ( $P < 0.05$ ). In addition, the visual analogue scale (VAS), the hospital for special surgery knee score (HSS) and the short-form 36 health survey scale (SF-36) in LIPUS group after 6 weeks of treatment were significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** LIPUS promoted the expression of TIMP-2 and inhibited that of MMP-13 in patients with knee osteoarthritis, which effectively relieved the knee joint pain of them.

**【Key words】** Knee osteoarthritis; Low intensity pulsed ultrasound; Tissue metalloproteinase inhibitor-2; Matrix metalloproteinase-13

膝骨关节炎是临床上常见的一种慢性膝关节疾病, 以膝关节疼痛、关节不稳及活动功能减退为主要表现<sup>[1]</sup>。膝骨关节炎始发于膝关节软骨退行性变, 并逐渐出现软骨纤维化、皲裂、脱失等, 累及整个关节, 造成滑膜增生、软骨硬化囊变、关节周围的韧带、关节囊及周围肌肉挛缩等<sup>[2]</sup>。早期诊断并给予积极干预治疗对于延缓关节软骨病变, 改善患者的生活质量都具有重要意义。

研究<sup>[3-4]</sup>表明, 低强度脉冲超声波 (low intensity pulsed ultrasound, LIPUS) 刺激能够抑制基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 的产生, 进而减缓 II 型胶原的降解, 同时还能增强软骨细胞的代谢功能, 促进软骨细胞分泌 II 型胶原和蛋白多糖, 从而达到修复关节软骨损伤、延缓关节软骨退变及保护关节软骨的目的。本研究采用低强度脉冲超声对膝骨关节炎患者进行治疗, 观察其血清组织金属蛋

白酶抑制因子-2(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-2, TIMP-2)、软骨基质金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinase-13, MMP-13)的表达水平及临床治疗效果,旨在为膝骨关节炎的临床治疗提供可靠依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2018年7月至2019年6月在聊城市第三人民医院骨科门诊及病房就诊的120例膝骨关节炎患者作为研究对象。其中,男性56例,女性64例;年龄43~69岁,平均(57.21±6.76)岁;所有患者均为单膝患病,其中左膝62例,右膝58例;病理分期:I期41例,II期46例,III期33例。

研究经本院伦理委员会审核批准,所有入选患者均对研究内容详细知情。根据治疗情况将120例患者分为LIPUS组和对照组,每组各60例。LIPUS组中,男性29例,女性31例;年龄43~68岁,平均(57.41±6.88)岁;左膝33例,右膝27例;I期20例,II期22例,III期18例。对照组中,男性27例,女性33例;年龄45~69岁,平均(57.16±6.69)岁;左膝29例,右膝31例;I期21例,II期24例,III期15例。两组患者的一般资料比较无统计学意义( $P>0.05$ )。

纳入标准:(1)符合中华医学会骨科学分会制定的《骨关节炎诊治指南(2007年版)》<sup>[5]</sup>中关于膝骨关节炎的相关诊治标准,病理分期I~III期;(2)近一个月多数时间有膝痛,膝关节活动有骨摩擦音,晨僵时间 $\leq 30$  min;(3)X线片结果显示有骨赘形成,并见关节腔积液;(4)对本研究详细知情,自愿签署知情同意书。

排除标准:(1)近4周内服用激素或止痛药物史;(2)治疗部位皮肤感染、手术或创伤瘢痕者;(3)患有恶性肿瘤、出血性疾病者;(4)患有心脑血管疾病,肺、肝、肾功能不全以及精神疾病者;(5)既往有膝关节手术史以及患有创伤性关节炎、类风湿关节炎、强直性脊柱炎等影响膝关节功能的疾病者。

### 1.2 方法

1.2.1 治疗方法 对照组患者采用双氯芬酸钠缓释片(北京诺华制药有限公司)进行治疗,用药剂量75 mg/次,1次/d,连续服用6周。LIPUS组患者在上述基础上采用LIPUS进行治疗,治疗仪器为英国BTL-5720智能双频超声波治疗仪。患者取伸膝位,充分暴露患侧膝关节,于患侧膝关节内外膝眼及内外侧关节缝隙处皮肤涂抹足量医用耦合剂,取超声治疗头分别紧密贴合并固定至患侧膝关节内外膝眼

和内外侧关节缝隙处皮肤,模式选择治疗模式(工作频率为1.0 MHz,治疗强度为100 mW/cm<sup>2</sup>),治疗时间为20 min,1次/d,5 d为1个疗程,连续治疗6周。

1.2.2 血清TIMP-2和软骨MMP-13水平测定 分别于治疗前、治疗后6周采集两组患者的空腹静脉血并抽取其关节液,将采集的血液样本和关节液样本经离心处理(3 000 rpm,10 min)后,取上清液于-80℃的低温环境下保存待测。采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)测定血清样本中TIMP-2以及关节液中的MMP-13的含量,检测仪器为美国Bio-rad公司生产的全自动酶标仪,试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司,所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.3 临床治疗效果评价 (1)采用视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)对两组患者在治疗前、治疗后6周的膝关节疼痛程度进行评价,分值0~10分,分值越高,疼痛感越强烈。具体评分可参照如下标准进行:无疼痛记为0分;有轻微疼痛,患者可耐受记为1~3分;疼痛明显且影响睡眠,患者尚能忍受记为4~6分;疼痛渐强烈且难以忍受,严重影响睡眠记为7~9分;难以忍受的最严重疼痛记为10分。(2)采用美国特种外科医院膝关节评分(hospital for special surgery knee score, HSS)对两组患者在治疗前、治疗6周后的膝关节功能进行评价。量表具体由疼痛(30分)、功能(22分)、活动度(18分)、肌力(10分)、屈曲畸形(10分)、稳定性(10分)和减分项目构成,分值100分,分值越高代表膝关节功能越好。(3)采用中文版健康调查简量表评分(short-form 36 health survey scale, SF-36)对两组患者在治疗前、治疗后6周的生活质量进行评价, SF-36量表共计8个维度,36个单项,每个维度均按照百分制进行评分。8个维度具体包括:①生理健康状况:生理机能(PF)、生理职能(RP)、躯体疼痛(BP)、一般健康状况(GH);②精神健康状况:活力(VT)、社会功能(SF)、情感职能(RE)、精神健康(MH)。各维度计分采用累加法进行,按照最后题值计算原始分数,并采用标准公式计算最终得分(最终得分=[(实际初得分-最低可能得分)/(最高可能得分-最低可能得分)]×100%),各维度最终得分越高代表健康状况越好,生活质量越高。

### 1.3 统计学分析

采用SPSS 19.0对各项数据资料进行统计学分析。计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,数据比较采用双侧 $t$ 检验进行;计数资料采用百分数表示,数据比较采用 $\chi^2$ 检验进行。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 治疗前后两组患者的血清 TIMP-2 及软骨 MMP-13 水平变化

治疗前,两组患者的血清 TIMP-2 及软骨 MMP-31 水平比较无统计学意义 ( $P > 0.05$ );治疗 6 周后,两组患者的血清 TIMP-2 水平高于治疗前, MMP-13 低于治疗前,且 LIPUS 组的血清 TIMP-2 水平高于同期对照组, MMP-13 明显低于对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 治疗前后两组患者的血清 TIMP-2 及软骨 MMP-13 水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$ )

组别	TIMP-2		MMP-13	
	治疗前	治疗 6 周后	治疗前	治疗 6 周后
LIPUS 组 ( $n=60$ )	121.45 ± 14.68	145.29 ± 21.82	252.74 ± 24.18	146.74 ± 21.25
对照组 ( $n=60$ )	122.33 ± 14.49	131.22 ± 18.95	254.28 ± 25.61	173.27 ± 30.84
$t$ 值	0.331	3.771	0.339	5.487
$P$ 值	0.742	<0.001	0.736	<0.001

### 2.2 治疗前后两组患者的膝关节疼痛程度及膝关节功能评价

治疗前,两组患者 VAS、HSS 评分比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );治疗 6 周后,两组 VAS、HSS 评分均高于治疗前,且 LIPUS 组的 VAS、HSS 评分均高于同期对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 治疗前后两组患者的 VAS 评分及 HSS 评分水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{分}$ )

组别	VAS 评分		HSS 评分	
	治疗前	治疗后 6 周	治疗前	治疗后 6 周
LIPUS 组 ( $n=60$ )	5.36 ± 1.09	3.21 ± 0.65	74.26 ± 7.39	83.26 ± 10.52
对照组 ( $n=60$ )	5.33 ± 1.12	4.19 ± 0.82	74.41 ± 7.52	78.11 ± 8.49
$t$ 值	0.149	7.255	0.110	2.951
$P$ 值	0.882	<0.001	0.912	0.004

### 2.3 治疗前后两组患者的生活质量水平评价

治疗前,两组患者的各项 SF-36 评分比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );治疗后 6 周,两组患者的各项 SF-36 评分均明显高于治疗前,且 LIPUS 组的各项 SF-36 评分均明显高于同期对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

### 2.4 不良反应发生情况

治疗期间, LIPUS 组患者中未见超声波毒性现象,仅有 2 例患者出现轻度恶心, 1 例患者出现轻微头痛,不良反应发生率为 5.00%;对照组患者中出

现 2 例轻微头痛,不良反应发生率为 3.33%,两组患者在不良反应发生率上比较,差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.2087, P = 0.6478$ ),均未见严重消化道症状。

表 3 治疗前后两组患者的各项 SF-36 评分比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{分}$ )

时间	LIPUS 组 ( $n=60$ )	对照组 ( $n=60$ )	$t$ 值	$P$ 值
治疗前				
PF	63.48 ± 5.26	62.89 ± 5.31	0.611	0.542
RP	47.61 ± 3.79	47.94 ± 3.93	0.468	0.641
BP	42.29 ± 3.58	42.61 ± 3.74	0.479	0.633
GH	49.55 ± 3.81	49.41 ± 3.92	0.198	0.843
VT	43.66 ± 5.51	44.23 ± 5.74	0.555	0.580
SF	58.74 ± 5.23	57.92 ± 5.35	0.849	0.398
RE	47.28 ± 4.21	47.51 ± 4.36	0.294	0.749
MH	49.27 ± 3.28	49.36 ± 3.41	0.147	0.883
治疗后 6 周				
PF	86.69 ± 7.03	75.21 ± 6.14	9.481	<0.001
RP	81.26 ± 6.26	72.23 ± 5.69	8.268	<0.001
BP	72.57 ± 5.51	67.48 ± 4.66	5.464	<0.001
GH	78.25 ± 6.06	71.33 ± 5.24	6.691	<0.001
VT	80.63 ± 7.26	74.25 ± 6.11	5.208	<0.001
SF	82.14 ± 6.23	76.03 ± 5.72	5.596	<0.001
RE	84.25 ± 6.12	77.61 ± 5.03	6.493	<0.001
MH	83.16 ± 6.54	75.82 ± 5.29	6.759	<0.001

## 3 讨论

膝骨关节炎的发生主要是由于软骨基质的降解和合成明显失衡引起的,主要病理改变是关节软骨基质中胶原的破坏,软骨细胞的进行性破坏<sup>[6]</sup>。相关研究<sup>[7]</sup>表明, MMPs 在膝骨关节炎的发病过程中发挥关键作用, MMP-13 作为 MMPs 家族成员中最有效的 II 型胶原降解酶,可通过降解细胞外蛋白多糖、II 型胶原等多种基底蛋白底物。而软骨细胞分泌过量的 MMPs 破坏了 MMPs 及其特异性抑制剂—TIMPs 的平衡,从而导致软骨的过度降解、退变,引起软骨破坏和缺损<sup>[8]</sup>,引发骨关节炎 (osteoarthritis, OA)。因此, MMPs-TIMPs 的平衡调节在 OA 的发生发展中发挥了重要的作用,软骨基质中 II 型胶原及蛋白多糖的代谢变化可以通过 TIMP-2 以及 MMP-13 的表达水平反映出来<sup>[9-10]</sup>。

目前,治疗膝骨关节炎的常用方法主要有药物治疗和物理治疗,药物治疗主要是依靠口服或外用非甾体类消炎镇痛药物来控制炎症反应<sup>[11]</sup>,以减轻疼痛症状。而以超声波为主要手段的物理治疗则利

用其机械弹性振动产生的物理学效应对组织产生微型压力,目前已广泛应用于治疗神经、肌肉、骨骼等疾病和创伤<sup>[12]</sup>。LIPUS 作为近年来兴起的一种物理治疗方法,通过机械、空化、热和化学效应作用于关节软骨、关节囊和滑膜,纠正细胞缺氧和组织缺血状态<sup>[13-14]</sup>,对局部细胞代谢产生影响,促进各种代谢产物的排出,提高细胞组织的再生能力,从而达到治疗目的。

OA 动物模型研究<sup>[15]</sup>表明,低强度脉冲超声治疗能够促进透明软骨细胞合成蛋白多糖和 II 型胶原的合成,对关节软骨修复有积极作用,可以明显减轻实验动物的软骨损伤程度。本研究结果显示,两组患者在治疗 6 周后的血清 TIMP-2 水平高于治疗前,MMP-13 明显低于治疗前,但行 LIPUS 治疗的患者在治疗后 6 周的血清 TIMP-2 水平高于同期行药物治疗的患者,MMP-13 低于同期行药物治疗的患者。由此可见,行低强度脉冲超声治疗后,软骨中的 MMP-13 表达量下降,血清中 TIMP-2 水平表达明显下降,II 型胶原的降解速度延缓,促进了蛋白多糖和 II 型胶原的合成,从而促进关节软骨的修复<sup>[16]</sup>。

另外,本研究采用 VAS 评分、HSS 评分以及 SF-36 评分对两组患者的治疗效果进行评价。结果显示,两组患者在治疗 6 周后的 VAS 评分、HSS 评分及各项 SF-36 评分均明显高于治疗前,进行 LIPUS 治疗的患者在治疗 6 周后的 VAS、HSS 评分以及各项 SF-36 评分均明显高于同期行药物治疗的患者。治疗安全方面,进行 LIPUS 治疗的患者的不良反应发生率为 5.00%,与药物治疗的患者(3.33%)相比无明显差异,两组患者在治疗期间均未见明显不良反应,治疗过程较为安全。

综上,LIPUS 通过促进软骨细胞合成蛋白多糖和 II 型胶原,刺激软骨细胞增生,进而促使关节软骨缺损进行自我修复<sup>[17]</sup>,治疗过程相对安全可靠,使膝骨关节炎患者的膝关节疼痛得到明显好转,膝关节功能得以恢复,有一定的临床意义。

#### 参考文献

[1] 钟传棋,杨功旭,戴政文,等. 健骨方对早中期膝骨关节炎 MMP-13、TIMP1 及 IL-1 $\beta$  的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018,24(12):1727-1729.

- [2] 李跃军,朱卫国,方钦正,等. 骨关节炎滑膜组织中  $\beta$ -catenin 和基质金属蛋白酶 13 的临床意义[J]. 中国组织工程研究, 2018,22(16):2472-2477.
- [3] 杜登理,易刚,唐赢,等. 低强度脉冲超声对人骨性关节炎软骨细胞的影响[J]. 第三军医大学学报,2016,38(21):2320-2325.
- [4] Rothenberg JB, Jayaram P, Naqvi U, et al. The Role of Low-Intensity Pulsed Ultrasound on Cartilage Healing in Knee Osteoarthritis: A Review[J]. PMR,2017,9(12):1268-1277.
- [5] 中华医学会骨科学分会. 骨关节炎诊治指南(2007 年版)[J]. 中华骨科杂志,2007,27(10):793-796.
- [6] 王雷,苏露霞,肖刚,等. 运动手法配合疏肝补肾中药对膝关节炎患者关节功能及关节液中基质金属蛋白酶 13 的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2017,26(16):1738-1740.
- [7] 柏小金,何颖异,王知,等. 关节镜清术联合艾瑞昔布对膝骨性关节炎的疗效及对 MMP-2、MMP-13 水平的影响[J]. 中国现代医学杂志,2018,28(33):107-111.
- [8] 刘娣,李春,马晓秀,等. 温针灸对不同时间点 KOA 模型兔关节软骨中 MMP-1、MMP-13 表达的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2017,44(12):2652-2655,2706.
- [9] 刘搏宇,李宏宇,金先跃,等. 体外冲击波对早中期膝关节炎患者关节液中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 MMP-13 表达的影响[J]. 中国矫形外科杂志,2016,24(19):1807-1810.
- [10] 吴建萍,王志刚,王黎明. 低强度脉冲超声干预膝关节炎模型兔软骨细胞 II 型胶原和基质金属蛋白酶 13 的表达[J]. 中国组织工程研究,2016,20(18):2596-2602.
- [11] 高明霞,林强,陈安亮,等. 低强度脉冲超声联合药物治疗创伤性膝关节炎的临床研究[J]. 中国康复医学杂志, 2016,31(8):862-867.
- [12] Paolillo FR, Paolillo AR, João JP, et al. Ultrasound plus low-level laser therapy for knee osteoarthritis rehabilitation: a randomized, placebo-controlled trial[J]. Rheumatol Int,2018,38(5):785-793.
- [13] 沈士浩,程凯,林强,等. 低强度脉冲超声波对兔膝骨性关节炎软骨整合素-FAK-MAPKs 信号通路蛋白表达的影响[J]. 中国康复医学杂志,2016,31(2):160-166.
- [14] 谭显春,李智,李欣,等. 低强度脉冲聚焦超声治疗对膝骨关节炎患者疼痛和关节功能的改善作用及其安全性[J]. 临床和实验医学杂志,2020,19(5):541-544.
- [15] Hsieh YL, Chen HY, Yang CC. Early Intervention with Therapeutic Low-Intensity Pulsed Ultrasound in Halting the Progression of Post-traumatic Osteoarthritis in a Rat Model[J]. Ultrasound Med Biol, 2018,44(12):2637-2645.
- [16] 刘伟,杨惠咏,薛海英,等. 低强度脉冲超声对兔膝骨关节炎软骨细胞外基质修复的影响及作用机制[J]. 江苏预防医学, 2018,29(2):162-164.
- [17] 罗显文,李明星. 低强度脉冲超声可缓解膝骨关节炎疼痛与修复关节软骨损伤[J]. 中国组织工程研究,2019,23(3):348-353.

(收稿日期:2020-04-16)

学术编辑:贺军)