Original Article

関節リウマチ患者における血清マトリックスメタロプロテイナーゼ-3(MMP-3)の臨床的意義

長澤逸人, 亀田秀人, 天野宏一, 竹内 勤

埼玉医科大学総合医療センター第二内科

Clinical significance of serum matrix metalloproteinase-3 level in patients with rheumatoid arthritis

Matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) is a proteolytic enzyme produced by synovial cells, participating in the joint destruction.

To investigate the clinical significance of serum MMP-3 level in patients with rheumatoid arthritis (RA), we compared MMP-3 level with other clinical parameters of disease activity in 99 patients with RA. Sixty-two patients were positive for MMP-3. Both serum level of C-reactive protein (CRP) and the Lansbury articular index were significantly higher in the group of patients positive for MMP-3 compared to that of patients negative for MMP-3. Serum MMP-3 level was shown to be correlated with serum level of CRP and the Lansbury articular index, but not with tender joint count nor swollen joint count. Thus, our results strongly support the idea that serum MMP-3 level is a useful indicator of arthritic activity in patients with RA.

Rec.5/24/2004, Acc.9/6/2004, pp60-64

Hayato Nagasawa, Hideto Kameda, Koichi Amano and Tsutomu Takeuchi
Second Department of Internal Medicine, Saitama Medical Center, Saitama Medical School

Key words ACR core set, activity, CRP, Lansbury articular index

はじめに

関節リウマチ(RA)は、可動関節および付随した軟部組織を病変の主座とする慢性、炎症性、全身性疾患であり、持続性かつ進行性の滑膜炎を特徴とする。RAにおける関節破壊は炎症性細胞の浸潤と滑膜線維芽細胞の増殖が主要病態とされている¹⁾。自己抗原感作性のT細胞が炎症を惹起し、炎症過程でマクロファージ系細胞の活性化によりtumor necrosis factor- α (TNF- α)やinterleukin-1(IL-1)などの炎症性サイトカインが滑膜内に分泌され、滑膜線維芽細胞を過剰に増殖させる。その結果、滑膜細胞は腫瘍様に増殖しパルス組織となり軟骨および骨が破壊される。細胞外マトリックスの分解はRAに特徴的であり、最終的には軟骨、靱帯、骨の破壊が引き起こされる。滑膜表層細胞から産生

される血清マトリックスメタロプロテイナーゼはこの破壊に関与する蛋白分解酵素であり、組織中には前駆体酵素として存在するが、トリプシン、プラスミン、トリプターゼにより活性化される。このうち、マトリックスメタロプロテイナーゼ-3(MMP-3)はプロテオグリカン、フィブロネクチン、IV・IX型コラーゲンなど、様々な結合組織や血漿蛋白を基質とし、プロコラゲナーゼの活性化など一連の酵素カスケードに重要な役割を果たしている^{2,3)}。関節リウマチの活動性評価法として、全身性指数と関節の大きさによる重み付けを行った関節指数からなるLansburyの活動性指数⁴⁾が我が国では1990年代まで用いられてきた。しかしながら、指標が包括的でないことや、関節指数における関節ごとの重み付け(例えば膝関節は24点、手関節は8点、

手指の関節は1点)が多くの研究者に受け入れられなかったことなどから徐々に用いられなくなり、現在ではACRコアセット⁵⁾やDAS(disease activity index)⁶⁾による評価が主流になっている。これらの評価法の中で、関節リウマチの活動性の血液・血清学的指標として赤沈値やCRPが用いられている。赤沈値は関節リウマチの活動性と相関する⁴⁻⁷⁾が、貧血や高-グロブリン血症などの影響で活動性と無関係に高値が持続することもある^{8,9)}。CRPは関節リウマチの再燃や緩解をよく反映し¹⁰⁾、赤沈より活動性の良い指標となり、関節破壊とも良く相関することが報告されている^{11,12)}が、感染症や悪性腫瘍など体内で炎症が起こる他の病態でもサイトカインにより肝臓で産生誘導されるため、関節炎に特異的な指標とはならない。この点においてMMP-3は、RAの関節炎における主要な炎症性サイトカインであるTNF- α やIL-1により主に滑膜表層細胞で産生誘導される酵素であり、RAに対する特異性が高いといえる。実際にRAの診断における有用性として、変形性関節症などの非炎症性関節疾患と比較してRAでは高値を示すこと¹³⁻¹⁶⁾や、RA患者の血清MMP-3はIgMリウマトイド因子(RF)、抗ガラクトース欠損IgG抗体(CA・RF)と比較し、陽性率(疾患感受性)が高いこと¹⁷⁾が報告されている。さらに、血清MMP-3は検査後6ヵ月間、12ヵ月間の骨破壊進行と相関を示すことから、近年RAの疾患活動性や関節破壊の指標として注目されている¹⁸⁾。

MMP-3が関節局所から産生されるが故に、関節炎を生じている関節の大きさが血清MMP-3の値に影響を及ぼす可能性が考えられ、実際に血清MMP-3はLansburyの関節点数と相関する^{13,14,16,19,20)}との報告が多く見られるが、否定的な報告もある²¹⁾。またこれまでに、関節の大きさを考慮しない腫脹関節数や圧痛関節数と、関節の大きさを考慮したLansburyの関節点数の各々を比較した検討はなされていない。

そこで今回我々は、RA患者の疾患活動性指標としての血清MMP-3値の意義を明確にするため、関節滑膜の面積を考慮して点数化したLansburyの関節点数を含む他の臨床、血清学的指標との比較検討を行った。

対象と方法

1) 患者内訳

アメリカリウマチ学会(ACR)の1987年改訂分類基準を満たす当科外来通院中のRA患者99例(男性20例、女性79例)を対象とした。年齢は18歳から76歳までで平均50.8歳であり、Steinbrocker分類でstage I 30例、II 17例、III 37例、IV 15例、罹病期間は2ヵ月から492ヵ月で平均82.6ヵ月であった。

2) 治療内容

RA患者のステロイドおよび抗リウマチ剤、免疫抑制剤の治療内訳は、ステロイド内服40例(2~25mg/日、平均6.6mg/日)、メトトレキサート36例、ブシラミン21例、サラゾスルファピリジン11例、アクタリット9例、金製剤4例、D-ペニシラミン3例、シクロホスファミド1例、シクロスポリン1例、FK-506 1例、治験薬TA650 1例であった。

3) 血清MMP-3値の基準範囲

血清MMP-3はSRLでELISA法により測定され、基準値は男性36.9~121ng/ml、女性17.3~59.7ng/mlである²²⁾。

4) 検討項目

各々の患者において血清MMP-3測定時には関節の圧痛・腫脹所見を記録し、血清中のCRP、抗ガラクトース欠損IgG抗体(CA・RF)、IgMリウマトイド因子(RF)、IgG、さらに白血球数(WBC)、ヘモグロビン(Hb)、血小板数(Plt)も測定した。統計学的解析として、群間比較にはMann-WhitneyのU検定を用い、患者全体にはSpearmanの順位相関を用いた検定を行った。

結 果

1) RA患者の血清MMP-3値の分布

まず、RA患者99例における血清MMP-3の分布を調べると男性平均 180.9 ± 143.4 ng/ml、女性平均 176.7 ± 209.3 ng/mlであり、基準値を越えた高値群は62例(男性11例、女性51例、血清MMP-3濃度平均 256.5 ± 215.1 ng/ml)、正常群は37例(男性9例、女性28例、血清MMP-3濃度平均 45.3 ± 22.4 ng/ml)であった(図)。

図 関節リウマチ患者男女別の血清MMP-3値分布図左は男性患者、右は女性患者の血清MMP-3値の分布を示す。血清MMP-3の正常上限値(男性121ng/ml、女性59.7ng/ml)を水平線で示した。

表1 MMP-3高値群と正常群の臨床的指標の比較

	高値群	正常群
CRP	2.4 ± 3.2***	0.7 ± 1.1
RF	275.5 ± 569.7	145.4 ± 303.2
CA・RF	263.9 ± 565.3	93.3 ± 189.0
IgG	1392.3 ± 709.8	1328.2 ± 285.3
WBC	7800.9 ± 2531.1**	6362.4 ± 2062.9
Hb	11.5 ± 1.6***	13.0 ± 1.5
Plt	323737.7 ± 89804.9***	257351.3 ± 61424.3
圧痛関節数	4.7 ± 4.9	3.5 ± 5.4
腫脹関節数	6.4 ± 5.8*	3.9 ± 4.9
関節点数	37.9 ± 33.3**	22.2 ± 31.1
腫脹関節点数	30.0 ± 30.1***	13.3 ± 24.6

CA・RF：抗ガラクトース欠損IgG抗体 p値：< 0.05 (*), < 0.01 (**), < 0.001 (***)

2) MMP-3 高値群と正常群の臨床的指標の比較

次に、血清 MMP-3 が基準値の正常上限を越えた高値群とそれ以下であった正常群で臨床的指標を比較した（表1）。Mann-Whitney の U 検定を行うと、CRP は、正常群の平均 0.7mg/dl に対し高値群では 2.4mg/dl と有意に高値であったが、RF、CA・RF は MMP-3 高値群で高い傾向にあるものの有意差を認めなかった。IgG は両群間で差はなかった。白血球数は正常群平均 6362/μl に対し高値群では 7800/μl と高く、ヘモグロビンは 13.0g/dl に対し 11.5g/dl と低く、血小板数は 25.7 万/μl に対し 32.3 万/μl と高く、それぞれ有意差を認めた。圧痛関節数で両群間に有意差はなかったが、腫脹関節数は正常群の平均 3.9 に対し高値群では 6.4 と有意に多かった ($p < 0.05$)。関節滑膜の大きさによる重み付けをした Lansbury の関節点数でも、正常群の 22.2 に対し高値群では 37.9 で有意差を認めた ($p < 0.01$)。さらに、腫脹関節に同様の重み付けをして点数化した腫脹関節点数を両者で比較すると、正常群 13.3 に対し高値群 30.0 と 2 倍以上となっており、さらに強い有意差を認めた ($p < 0.001$)。なお、ステロイド投与量についてはプレドニゾン換算で正常群平均 0.9mg/日 に対し高値群平均 4.0mg/日 と有意差を認めた。

3) RA 患者の MMP-3 と臨床的指標との Spearman 順位相関

こうした血清 MMP-3 濃度と他の臨床的指標との関連をさらに Spearman の順位相関を用いて検討し、それらを血清 CRP 値と比較した（表2）。ここでは相関係数 0.4 以上のものを相関ありとした。血清 MMP-3 と CRP は 0.635 と強く相関し、血小板数とも相関係数 0.441 で相関を認めた。しかし、CA・RF、RF、IgG、白血球数、ヘモグロビンとは相関が見られなかった。ACR のコアセットに使われてい

る圧痛関節数と腫脹関節数には相関が見られなかったが、Lansbury の関節点数は相関係数 0.400 とわずかな相関が認められ、腫脹関節点数では 0.459 とより強く相関が認められた。一方、RA の活動性の代表的血清指標である CRP は、血小板数と相関を認め、Lansbury の関節点数、腫脹関節数のみならず、白血球数、腫脹関節数とも相関した。なお、MMP-3 と CRP の強い相関の通り、51 人 (52%) の患者は MMP-3、CRP のいずれも陽性であり、活動性関節炎を示す患者の多くがここに含まれた。しかし、11 人 (11%) の患者は MMP-3 のみ陽性、19 人 (19%) の患者は CRP のみ陽性であり、両者の間に少々乖離が見られた。

考 察

本研究で RA 患者における血清 MMP-3 濃度を従来から使われている活動性指標と同時に測定すると、血清 MMP-3 は CRP と強く相関し、さらに関節の腫脹とも相関を示したことから RA 活動性の指標となると考えられた。

CRP は鋭敏な炎症マーカーであり、RA の再燃や緩解がよく反映し、関節破壊とも相関するため活動性の良い指標となるが、感染症や悪性腫瘍など体内で炎症が起こる他の病態でサイトカインにより肝臓で産生誘導されるため、関節炎に特異的な指標とはならない欠点がある。一方、MMP-3 は、RA の炎症に主要な役割を持つ TNF- α や IL-1 により主に滑膜表層細胞で産生誘導されることから滑膜局所の炎症を直接反映していると考えられる。実際、関節リウマチ患者の関節液中の MMP-3 濃度は変形性関節症や外傷性関節炎に比べて著しく高く、さらに血清 MMP-3 濃度は関節液濃度に比較して低い。関節リウマチは変形性関節症に比べて高く、疾患の違いによる傾向はほぼ関節液と

表2 RA患者のMMP-3, CRPと臨床的指標とのSpearman順位相関

	MMP-3		CRP	
	相関係数	P-value	相関係数	P-value
CRP	0.635	< 0.001		
CA・RF	0.230	0.026	0.145	0.167
RF	0.197	0.059	0.110	0.299
IgG	0.251	0.029	0.264	0.022
WBC	0.364	< 0.001	0.432	< 0.001
Hb	-0.397	< 0.001	-0.417	< 0.001
Plt	0.441	< 0.001	0.532	< 0.001
圧縮関節数	0.261	0.010	0.358	0.005
腫脹関節数	0.345	0.006	0.438	< 0.001
関節点数	0.400	< 0.001	0.499	< 0.001
腫脹関節点数	0.459	< 0.001	0.498	< 0.001

同様で、血清と関節液濃度との間に正相関が認められることから、血清MMP-3は主として関節由来と推定されている¹⁸⁾。

変形性関節症に比べ、RAのMMP-3が非常に高値である理由の一つとしてTNF- α やIL-1はMMP-3のインヒビターであるTIMP-1(tissue inhibitor of metalloproteinases)を産生誘導しないことや²³⁾、変形性関節症とRAのTIMP-1レベルが近似していること²⁴⁾が挙げられ、このこともRAに対する疾患特異性が高い根拠になると考えられる。

Sasakiら¹⁹⁾は関節液および血清中のMMP-3濃度をRA、変形性関節症、痛風、骨粗鬆症の患者で測定すると血清中MMP-3濃度はRA患者において最も高く、この濃度は関節破壊度(Steinbrockerの病期分類)とともに上昇しており、関節腔内に分泌されたMMP-3は血液滑膜関節を通過し血液へ流出するが、関節炎による血液滑膜関節の透過性の亢進によりMMP-3濃度の上昇をもたらす、Lansbury指数や腫脹関節数と相関したと推測している。Yoshiharaら¹³⁾もRA患者において、MMP-3とLansbury指数は相関を認めたと報告している。Thompsonら²⁵⁾は、CRPとLansbury指数は相関したと報告している。

現在、RA活動性評価法として主流であるACRコアセットでは圧痛関節数、腫脹関節数を評価項目の中に用い、圧痛関節数、腫脹関節数の20%以上の改善を必須条件としており、RA治療における改善基準として有用性が確認されている。また、単純に関節数をカウントするため簡便であるという利点がある。

しかし、手指・足趾などの小関節(Lansburyの関節点数が1)が腫脹している患者と膝・足関節などの大関節(Lansburyの関節点数が24と8)が腫脹している患者を比

較した場合、関節数だけで見れば同等であっても、疾患活動性として同等とするのは問題があると思われ、日常生活への影響も異なるであろう。こうした点で関節滑膜の面積を考慮して点数化したLansbury方式の(腫脹)関節点数は、個々の患者の活動性をより患者側の立場に立って評価できる可能性が考えられた。

今回の検討からMMP-3はACRのコアセットに使われている圧痛関節数と腫脹関節数とは相関が見られなかったのに対し、Lansburyの関節点数および腫脹関節点数とは相関していることが明らかになり、血清MMP-3が関節由来であることに合致していた。したがって、今後Lansburyの関節点数8以上の末梢大関節の炎症が主体の患者と、Lansburyの関節点数4以下の小関節のみに炎症のある患者との血清MMP-3値の比較を症例を集積して行ったり、QOLや患者全般評価などのACRコアセットの評価項目との関連をMMP-3とCRPで比較することにより、MMP-3の意義がより一層明確になると考えられた。

さらに今回の検討で活動性患者の大部分はMMP-3とCRPともに陽性となった。しかし、約1割の患者はMMP-3のみ陽性、約2割の患者はCRPのみ陽性であった。今後、これらの症例の変動を追うことによりMMP-3とCRPの乖離が臨床経過の中で一時的に見られる現象なのか、それとも持続的に見られ、特定の病型を反映するものなのかを検討することが重要と考えられた。

文 献

- 1) Firestein GS: Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, eds. Kelley's textbook of rheumatology. 6th ed., WB Saunders, Philadelphia,

- 921-966, 2001
- 2) Okada Y: Matrix-degrading metalloproteinases and their roles in joint destruction. *Mod Rheumatol*, 10: 121-128, 2000.
- 3) 岡田保典: MMP研究の動向. *リウマチ科*, 20: 527-534, 1998.
- 4) Lansbury J: Method for evaluating rheumatoid arthritis. Hollander JL ed. *Arthritis and allied conditions*, Lea & Febiger, Philadelphia, 269-291, 1966.
- 5) Felson DT, Anderson JJ, Boers M, Bombardier C, Chernoff M, Fried B, Furst D, Goldsmith C, Kieszak S, Lightfoot R: The American College of Rheumatology preliminary core set of disease activity measures for rheumatoid arthritis clinical trials. *Arthritis Rheum*, 36: 729-740, 1993.
- 6) van Gestel AM, Prevoo MLL, van't Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LBA, van Riel PLCM: Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 39: 34-40, 1996.
- 7) Komatsubara Y, Hiramatsu S, Hongo J: Multi-variate analysis of serum protein in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 5: 97-102, 1976.
- 8) Glynn LE: Symposium on inflammation and role of fibrin in the rheumatic disease. *Bull Rheum Dis*, 14: 323-326, 1963.
- 9) Hardwicke H, Squire JR: The basis of the erythrocyte sedimentation rate. *Clin Sci*, 11: 333-335, 1952.
- 10) McConkey B, Crockson RA, Crockson AP: The assessment of rheumatoid arthritis. A study based on measurements of the serum acute -phase reactants. *QJM*, 41: 115-125, 1972.
- 11) Mallya RK, de Beer FC, Berry H, Hamilton ED, Mace BE, Pepys MB: Correlation of clinical parameters of disease activity in rheumatoid arthritis with serum concentrations of C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate. *J Rheumatol*, 9: 224-228, 1982.
- 12) 篠澤妙子, 亀田秀人, 浜 信昭, 吉田 正, 大曾根康夫, 市川陽一: 慢性関節リウマチにおけるメトトレキサートとステロイド薬併用療法による関節破壊抑制効果の検討. *リウマチ*, 38: 14-22, 1998.
- 13) Yoshihara Y, Obata K, Fujimoto N, Yamashita K, Hayakawa T, Shimmei M: Increased levels of stromelysin-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in sera from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 38: 969-975, 1995.
- 14) 吉原愛雄, 新名正由: 炎症マーカーとしての MMP, TIMP. *炎症と免疫*, 2: 177-185, 1994.
- 15) 斉藤聖二, 桃原茂樹, 堀内富雄, 榎本宏之, 小幡賢一: 慢性関節リウマチ患者血清中の MMP-3 について. *リウマチ科*, 18: 305-310, 1997.
- 16) 杉山英二: 慢性関節リウマチにおける血清IL-6および MMP-3濃度の臨床的有用性について. *リウマチ科*, 20: 575-580, 1998.
- 17) 藤井猛士, 田村直人, 池田 真, 栗山磨紀代, 海老塚岳彦, 田嶋美智子, 金中彬彬, 秋元智博, 春田和彦, 小林茂人, 橋本博史, 他: 慢性関節リウマチにおける血清中マトリックスメタロプロテアーゼ-3(MMP-3)測定の診断的有用性に関する検討. *リウマチ科*, 26: 97-104, 2001.
- 18) Yamanaka H, Matsuda Y, Tanaka M, Sendo W, Nakajima H, Taniguchi A, Kamatani N: Serum matrix metalloproteinase 3 as a predictor of the degree of joint destruction during the six months after measurement, in patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 43: 852-858, 2000.
- 19) Sasaki S, Iwata H, Ishiguro N, Obata K, Miura T: Detection of stromelysin in synovial fluid and serum from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clin Rheumatol*, 13: 228-233, 1994.
- 20) Ichikawa Y, Yamada C, Horiki T, Hoshina Y, Uchiyama M: Serum matrix metalloproteinase-3 and fibrin degradation product levels correlate with clinical disease activity in rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 16: 533-540, 1998.
- 21) 神宮政男, 小幡賢一, 江崎一子, 泊 一秀, 藤川陽祐, 和田哲也, 野中史郎, 末永康夫, 岩田和士, 延永 正: 早期慢性関節リウマチ診断における血清 MMP-3 濃度測定の臨床的意義. *リウマチ*, 35: 15-24, 1995.
- 22) 横内敬二, 光島 徹, 原 均, 為井弘範: パナクリア MMP-3「プレート」キットの自動化および基準範囲設定に関する検討. *新薬と臨床*, 50: 215-221, 2001.
- 23) MacNaul KL, Chartrain N, Lark M, Tocci MJ, Hutchinson NI: Discoordinate expression of stromelysin, collagenase, and, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in rheumatoid synovial fibroblasts: synergistic effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor- on stromelysin expression. *J Biol Chem*, 265: 17238-17245, 1990.
- 24) Firestein GS, Paine MM, Littman: Gene expression (collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinases, complement, and HLA-DR) in rheumatoid arthritis and osteoarthritis synovium. *Arthritis Rheum*, 34: 1094-1105, 1991.
- 25) Thompson PW, Silman AJ, Kirwan JR, Currey HL: Articular indices of joint inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 30: 618-623, 1987.