

膝关节液和血清肿瘤坏死因子与 IL-1 的临床意义

鲍亮,赵晨,刘琮,朱鹏,周涛,张兵*

(西安医学院第二附属医院骨外科,陕西 西安 710038)

摘要: 探讨膝关节骨性关节炎(KOA)患者膝关节液和血清白介素-1(IL-1)与肿瘤坏死因子(TNF- α)水平高低与病变程度的关系,选取从本院收治的130例 KOA 患者作为 KOA 组,其中 KOA 早期56例,中期42例,晚期32例;另选同期接受健康体检者50例作为对照组。ELISA 检测并比较两组膝关节液和血清中 IL-1 与 TNF- α 的水平。结果显示,KOA 患者膝关节液和血清中的 IL-1 与 TNF- α 水平明显高于正常对照组,随着病变程度的加重,膝关节液和血清中的 IL-1 与 TNF- α 水平显著增高。结果说明,骨性关节炎患者膝关节液和血清中 IL-1 与 TNF- α 均升高,且与病变程度呈正相关,联合检测这两项指标对早期诊断膝骨性关节炎有一定的指导意义。

关键词: 骨性关节炎; 膝关节; 白细胞介素-1; 肿瘤坏死因子

中图分类号:R684.3

文献标识码:A

Implication of tumor necrosis factor and interleukin-1 in knee joint fluid and serum

BAO Liang, ZHAO Chen, LIU Cong, ZHU Peng, ZHOU Tao, ZHANG Bing*

(Department of Orthopaedics, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an 710038, Shaanxi, China)

Abstract: To investigate the relationships between the levels of synovial fluid and serum interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor TNF- α (TNF- α) in patients with osteoarthritis of knee (KOA), 130 patients with KOA from our hospital were selected as KOA group, including 56 cases of early KOA, 42 cases of middle stage, 32 cases of terminal stage, and 50 cases of healthy volunteers as control group. The levels of IL-1 and TNF- α in synovial fluid and serum were detected by ELISA. Results showed, the levels of IL-1 and TNF- α of KOA patients were significantly higher than that of the control group, and which were significantly increased with the severity of the disease. In conclusion, the increasing IL-1 and TNF- α in the synovial liquid and serum of KOA patients have a positive correlation with the degree of disease. The combined detection of these two indexes could be useful for early diagnosis of the knee osteoarthritis.

Key words: osteoarthritis; knee joint; interleukin-1; tumor necrosis factor- α

随着人口老龄化进程的加剧,骨性关节炎(osteoarthritis, OA)的发病率也逐渐上升,且随着年龄的增加而不断增高,OA 是指患者关节软骨出现的退行性改变。其中,膝关节骨性关节炎(KOA)最为多见,其病理特征是膝关节软骨的不断退变,软骨下骨的病变,骨赘形成的退行性骨关节炎^[1]。临床诊断主要是依靠患者的症状、体征以及影像学检查来判断。多数患者因疼痛、活动受限来院检查时发现已经为中晚期,膝关节功能受到严重的影响,有些到了疾病的晚期,甚至致残^[2]。我们认为这主要

是因为临床检查在时间上滞后于膝关节炎病变的发展。所以,早诊断、早治疗对于 KOA 的预防和治疗意义尤为重要。近年来,随着对 OA 发病机制的深入研究,发现对关节液、血液等体液中一些生化指标的检测可以反应关节腔内微环境的变化,这些指标可以反映出 OA 的发生发展,并对判断疾病的进程具有指导意义。经过前期指标筛选后,本研究拟选择 KOA 患者关节液和血清中的白细胞介素-1(IL-1)以及肿瘤坏死因子(TNF- α)这两种炎症因子,作为评估骨性关节炎进展的关键指标,系统地分析其与关节炎的关联性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院 2017 年 3 月至 2018 年 3 月收治的 130 例 KOA 患者作为观察组,其中男 52 例,女性 78 例,年龄 45~78 岁,平均(54.4±9.2)岁,病程(6.4±4)年。患者诊断符合 2003 年中华医学会风湿病学会所推荐的美国风湿病学会 1995 年诊断标准^[3],均排除慢性感染者、肝肾疾病、免疫系统疾病、结缔组织疾病、内分泌系统疾病及重要脏器严重功能障碍者。130 例患者分成 3 组:早期 KOA 56 例,中期 42 例,晚期 32 例。临床分期严格根据中国中西医结合研究会风湿类疾病专业委员会(1988 年 4 月,昆明)提出的标准^[4],即早期:受累关节肿胀以及活动受限,但 X 线仅提示存在骨质疏松和软组织肿胀;中期:受累关节活动明显受限制,X 线显示不同程度的骨腐蚀以及关节间隙变窄;晚期:受累关节活动困难,出现畸形、强直,X 线显示关节骨质严重破坏,脱位或融合。同期选择来我院进行体检者 50 例作为对照组,无 KOA 病史,膝关节影像学检查正常,与入选的 KOA 患者从性别、年龄上分析,一般资料比较无差异,具有可比性。

所有患者及家属对此检测化验均知情同意,对膝关节正常人群的检测化验也进行相关说明获得知情同意,且得到医院伦理委员会的批准。

1.2 样本采集与保存方法

(1)膝关节液:患者采取仰卧位,护士采用常规方法局部消毒,用 2% 的利多卡因 2~3 mL 进行局部麻醉,从股四头肌外侧缘与髌骨上缘连线交汇处作为穿刺点,进入关节腔后,抽取关节液 1~3 mL (正常对照组抽取 0.5 mL),注入含有肝素的试管

内,于 4℃ 条件下 3 500 r/min 离心 10 min,取上清液,置于-80℃ 保存备用。(2)血液:嘱病人空腹,早上 8 点采集肘静脉血 2 mL,在 4℃ 条件下 2 500 r/min 离心 10 min,取上清液,至于-80℃ 保存备用。

1.3 检测指标及方法

ELISA 法测定膝关节液及血清中 IL-1 和 TNF-α。所用的试剂盒购买自武汉博士德生物工程有限公司,相对应实验步骤严格遵照试剂盒说明进行。采用双抗体夹心 ELISA 法,在微孔反应板上分别包被抗人 IL-1 单克隆抗体和抗人 TNF-α 单克隆抗体,加入待测标本,经过温浴使抗原抗体结合,洗去无关游离成分,加辣根过氧化物酶标记的特异性抗体,与在单克隆抗体上的人 IL-1 和 TNF-α 结合形成免疫复合物,洗去未结合的酶标抗体。加入显色剂,若反应孔中有 IL-1 和 TNF-α 会使五色的显色剂呈现蓝色,加终止液变黄色。在波长为 450 nm 处测 OD 值,通过绘制标准曲线求出标本中 IL-1 和 TNF-α 的浓度。

1.4 统计学方法

采用统计学软件 SPSS16.0 对实验数据进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间均数比较用 t 检验,相关性分析采用 Spearman 相关分析法,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组膝关节液及血清中 IL-1 和 TNF-α 含量

经过统计学分析,KOA 患者膝关节液和血清中的 IL-1 和 TNF-α 明显高于对照组($P < 0.01$);在疾病的早、中、晚期,IL-1 和 TNF-α 含量均呈上升趋势,组间两两比较,差异具有统计学意义($P < 0.01$,见表 1)。

表 1 各组膝关节液和血清 IL-1、TNF-α 水平检测结果

(pg/mL)

组别	n	膝关节液		血清	
		IL-1	TNF-α	IL-1	TNF-α
对照组	50	3.37±1.12	1.45±0.85	1.67±0.26	1.87±0.79
KOA 早期	56	47.1±5.13 ^a	21.5±4.12 ^a	23.67±3.56 ^a	19.78±3.45 ^a
KOA 中期	42	88.23±2.29 ^{ab}	50.3±7.24 ^{ab}	38.33±4.12 ^{ab}	33.67±2.35 ^{ab}
KOA 晚期	32	109.24±7.18 ^{abc}	97.8±8.97 ^{abc}	59.23±3.25 ^{abc}	53.89±4.67 ^{abc}

与对照组比较,^a $P < 0.01$;与 KOA 早期比较,^b $P < 0.01$;与 KOA 组中期比较,^c $P < 0.01$

2.2 KOA 患者膝关节液和血清中 IL-1 和 TNF-α 水平相关性分析

膝骨性关节炎严重程度与膝关节液中 IL-1 和

TNF-α 水平存在线性关系,相关系数 r 分别为 0.726、0.795($P < 0.05$)。膝骨性关节炎严重程度也与血清中 IL-1 和 TNF-α 水平存在线性关系,相关系

数 r 分别为 0.709、0.818 ($P < 0.05$, 见表 2)。同时, 我们对 KOA 患者膝关节液和血清中 IL-1 和 TNF- α 分别进行相关分析, 发现 IL-1 与 TNF- α 存在正相关。见图 1。

表 2 KOA 患者膝关节液和血清中 IL-1 和 TNF- α 水平相关性分析

r/P	IL-1	TNF- α
膝关节液	0.726/0.016	0.795/0.019
血清	0.709/0.023	0.818/0.031

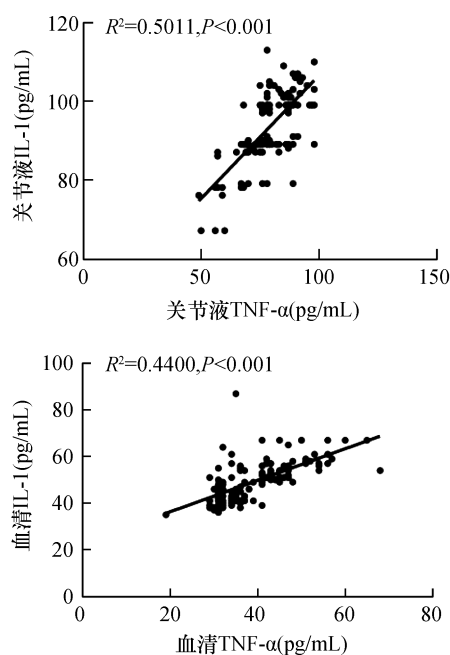


图 1 KOA 患者膝关节液和血清中 IL-1 和 TNF- α 水平相关性分析

3 讨 论

骨关节疾病中以骨性关节炎最为常见, 是一种致残率较高的慢性退行性疾病, 主要累及膝关节、髋关节、腰部等承重部位, 其中, 膝关节炎占全身骨性关节炎的 31%。KOA 的致病因素多样, 如年龄、遗传因素、肥胖、不合理的运动方式、内分泌系统疾病及其它器官脏器障碍等^[5]。KOA 患者普遍存在滑膜炎症状, 细胞因子是参与炎症进程的重要介质之一, IL-1、IL-6 和 TNF- α 等炎性因子均参与其中。IL-1 主要是由活化的单核巨噬细胞合成与分泌, 是典型的致炎细胞因子。文献报道, 人的病变关节可以促进 IL-1 的产生^[6]。IL-1 可以通过刺激滑膜细胞产生胶原酶和酪蛋白酶, 进而刺激软骨细胞产生

间质金属蛋白酶 (MMP), 抑制金属蛋白酶的抑制剂的产生, 加速软骨基质分解代谢。IL-1 还可通过介导人软骨细胞中的 IL-6 从而抑制蛋白聚糖 (PG) 的合成, 并可通过内源性 NO 介导抑制蛋白聚糖的合成以及软骨细胞的生成^[7]。IL-1 可作为评价臭氧联合关节腔内注射玻璃酸钠对膝骨性关节炎治疗效果及患者预后的参考指标^[8]。文献报道, 用 IL-1 受体拮抗剂 (IL-1 Ra) 或 hIL-1Ra 基因转入兔或者狗的膝关节内, 可有效减轻关节软骨的损伤, 证明 IL-1 在 KOA 的发生发展中起关键作用。

TNF- α 来源于成纤维母细胞, 巨噬细胞以及软骨细胞。其主要作用, 一方面可促进成纤维细胞释放出黏附因子, 接下来激活并增强血管上皮对黏附因子的表达, 使得血液中白细胞与黏附分子二者结合后相互发生作用, 从而参与对关节软骨的破坏。也可通过刺激滑膜细胞的前列腺素 E2 产生, 加速对骨和软骨的侵蚀和破坏。另一方面还可刺激人软骨细胞分泌纤维蛋白溶酶激活剂, 使纤维蛋白溶酶原变成纤维蛋白溶酶从而加重关节损伤, 增加糖蛋白降解, 提高磷酸化水平, 并且产生胶原酶和其它中性蛋白酶, 释放骨钙等, 从而导致骨和关节软骨的破坏^[9-10]。同样有研究发现, TNF- α 直接参与了膝关节炎疾病的发生^[11]。TNF- α 作为炎症反应的枢纽, 可诱导协同 IL-1 加速疾病的进程。本研究发现 KOA 患者关节液与血清中 IL-1 和 TNF- α 二者本身也存在正相关。葛满意等^[12]在关节镜结合胫骨截骨治疗膝关节炎的疗效观察中发现, 术后患者 TNF- α 水平与术前均明显降低。耿洋等^[13]在探讨关节镜清理术联合电针治疗膝骨性关节炎 (KOA) 的临床疗效中发现, 关节镜清理术联合电针主要通过降低 IL-1 和 TNF- α 水平减少膝关节软骨的破坏, 也为本实验结果提供了相关依据。

IL-1 是目前公认的最重要的炎症细胞因子之一。在关节部位, IL-1 可刺激 TNF- α 等细胞因子的分泌^[13]。本研究结果表明膝骨性关节炎患者关节液及血清中的 IL-1 和 TNF- α 均显著高于对照组。与之前 Chen YJ 等人的研究结果相一致^[14]。随着骨性关节炎病程的进展, 二者水平也相应随之升高, 呈正相关, 说明利用关节液与血清中的 IL-1 和 TNF- α 可间接反映 KOA 的疾病严重程度, 而且二者之间可能存在互相调控的关系。总之, KOA 患者 IL-1 和 TNF- α 的高表达, 可能是骨性关节炎发病的重要机制之一。

(下转第 464 页)

身体危害。

目前国内有关 SELD 治疗 LDH 的临床疗效报道的文献相对较少,但从本文结果来看,在严格掌握手术的适应证及操作技巧的基础上,使用 SELD 技术治疗腰椎间盘突出症具有创伤小、出血少、恢复快等优点,且短期疗效满意,对于其远期疗效还需进一步跟踪随访。

参考文献:

- [1] 周谋望,岳寿伟,何成奇,等. “腰椎间盘突出症的康复治疗”中国专家共识[J]. 中国康复医学杂志,2017,32(2):129-35.
- [2] 张维涛. 常规开放与显微镜下小开窗治疗腰椎退行性疾病的疗效对比研究[J]. 中南医学科学杂志,2017,45(3):234-7.
- [3] 薛静波,王文军,晏怡果,等. 经皮全脊柱内镜技术治疗腰椎间盘突出症的疗效分析[J]. 中南医学科学杂志,2017,45(3):230-3.
- [4] 曹奇,张洁,陈小明,等. 经骶管裂孔硬膜外腔镜下椎间盘激光切除神经减压治疗腰椎间盘突出症 1 例[J]. 中南医学科学杂志,2016,44(5):599-600.

- [5] OH J, JO D. Epiduroscopic laser neural decompression as a treatment for migrated lumbar disc herniation[J]. Medicine, 2018, 97(14):e0291.
- [6] 陈小明,张洁,颜学亮,等. 全脊柱内镜下治疗极外侧型腰椎间盘突出症的疗效评价[J]. 中国内镜杂志,2017,23(4):57-61.
- [7] KIM JD, JANG JH, JUNG GH, et al. Epiduroscopic laser disc and neural decompression[J]. Pain Med,2011,1(S1):14-19.
- [8] KIM SK, LEE SC, PARK SW. Trans-sacral epiduroscopic laser decompression versus the microscopic open interlaminar approach for L5-S1 disc herniation[J]. J Spinal Cord Med, 2020, 43(1):46-52.
- [9] LEE SH, LEE SH, LIM KT. Trans-sacral epiduroscopic laser decompression for symptomatic lumbar disc herniation: a preliminary case series[J]. Photomed Laser Surg,2016,34(3):121-9.
- [10] KIM SK, LEE SC, PARK SW, et al. Complications of lumbar disc herniations following trans-sacral epiduroscopic lumbar decompression: a single-center, retrospective study[J]. J Orthop Surg Res, 2017, 12(1):187-92.

(本文编辑:蒋湘莲)

(上接第 460 页)

参考文献:

- [1] 鲁海,卢超,张嘉良,等. 膝骨性关节炎患者关节液中 MMP-7、MMP-9、TIMP-1、TNF- α 的表达及意义[J]. 中国医药科学, 2015, (22): 11-5.
- [2] LIAO CY, CHAN HT, CHAO EN, et al. Comparison of total hip and knee joint replacement in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis: a nationwide, population-based study[J]. Singapore Med J, 2015, 56(1): 58-64.
- [3] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊治指南(草案)[J]. 中华风湿病学杂志, 2003, (4): 250-4.
- [4] 王兆铭. 中国中西医结合实用风湿病学[M]. 北京:中国古籍出版社,1997:769.
- [5] 郭建文,王茹春,郭建利,等. 益肾活血方治疗膝骨性关节炎的临床疗效观察和作用机制研究[J]. 河北医药, 2016, 38(16): 2478-81.
- [6] 李嘉怡,刘双全,邵瑞,等. 成纤维细胞生长因 18 对骨和软骨发育[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(1): 102-5.
- [7] GHIVIZZANI S C, KANG R, GEORGESCU H I, et al. Constitutive intra-articular expression of human IL-1 beta following gene transfer to rabbit synovium produces all major pathologies of human rheumatoid arthritis[J]. J Immunol, 1997, 159(7): 3604-12.
- [8] 孙绍勇. 臭氧联合关节腔内注射玻璃酸钠对膝骨性关节炎患

者膝关节功能及疼痛程度的影响[J]. 国际医药卫生导报, 2018,24(5):685-8.

- [9] NAKOSHI Y, HASEGAWA M, SUDO A, et al. Regulation of tenascin-C expression by tumor necrosis factor- α in cultured osteoarthritic chondrocytes [J]. Rheumatol, 2008, 35(1):147-52.
- [10] BOTHAS S, WATT I, SLAGBOOM E, et al. Innate production of tumour necrosis factor- α and interleukin 10 is associated with radiological progression of knee osteoarthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2008, 67(8): 1165-9.
- [11] 江锋,陈巍,马川,等. 膝骨性关节炎患者关节滑液肿瘤坏死因子- α 的表达及其临床意义[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(2): 246-7.
- [12] 葛满意,李高强,赵勇,等. 关节镜结合腓骨截骨治疗膝骨性关节炎的疗效观察[J]. 广西医科大学学报, 2018, 35(4): 541-4.
- [13] 耿洋. 关节镜清理术联合电针治疗膝骨性关节炎的临床疗效及机制初探[J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15(1): 43-5.
- [14] CHEN YJ, TSAI KS, CHAN DC, et al. Honokiol, a low molecular weight natural product, prevents inflammatory response and cartilage matrix degradation in human osteoarthritis chondrocytes [J]. J Orthop Res, 2014, 32(4): 573-80.

(本文编辑:秦旭平)