

## 创伤性膝骨关节炎患者血清 IL-6, TNF- $\alpha$ , 瘦素水平表达与影像学 K-L 分级的相关性\*

赵娜<sup>a</sup>, 康利宝<sup>b</sup> (榆林市第二医院 a. 检验科; b. 输血科, 陕西榆林 719000)

**摘要:**目的 探讨创伤性膝骨关节炎(post-traumatic knee osteoarthritis, PTOA)患者血清促炎症因子的表达及其与影像学分级严重程度相关性。方法 收集2013年1月~2017年12月在陕西省榆林市第二医院确诊的63例PTOA患者, 30例健康体检者的临床资料纳入研究。采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测受试者血清中促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ 和瘦素)的水平。结果 与健康对照组相比, PTOA患者血清中促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ 和瘦素)水平显著增高(IL-6:  $15.87 \pm 5.59$  ng/L vs  $7.04 \pm 2.42$  ng/L; TNF- $\alpha$ :  $41.40 \pm 14.63$  ng/L vs  $24.53 \pm 10.37$  ng/L; 瘦素:  $15.52 \pm 6.43$   $\mu$ g/L vs  $5.21 \pm 3.19$   $\mu$ g/L), 差异均有统计学意义( $t=7.961, 5.164, 8.292$ , 均  $P<0.001$ )。进一步通过K-L分级对影像学严重程度分为4组, 结果显示4组间血清促炎症因子水平差异有统计学意义( $F=5.974, 7.090$ , 均  $P<0.001$ ), 且血清促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ 和瘦素)水平随着膝关节损伤严重程度增加而增高。相关性分析显示血清IL-6与TNF- $\alpha$  ( $r=0.458$ )、瘦素 ( $r=0.563$ ) 呈正相关, TNF- $\alpha$ 与瘦素 ( $r=0.692$ ) 呈正相关(均  $P<0.001$ )。结论 血清促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ 和瘦素)水平在PTOA患者显著增高, 且与K-L分级密切相关, 可作为一个潜在的生物标记物反映PTOA患者膝关节损伤的严重程度。

**关键词:** 创伤性膝骨关节炎; 促炎症因子; Kellgren-Lawrence 分级

中图分类号: R684.3; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)05-139-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.05.035

## Association between Levels of Serum Inflammatory Cytokines and Imaging Severity in Patients with Post-traumatic Knee Osteoarthritis

ZHAO Na<sup>a</sup>, KANG Li-bao<sup>b</sup> (a. Department of Clinical Laboratory;

b. Department of Blood Transfusion, the Second Hospital of Yulin, Shaanxi Yulin 719000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the levels of serum inflammatory cytokines in patients with post-traumatic knee osteoarthritis (PTOA) and the correlation with the severity of imaging. **Methods** 63 cases of PTOA patients and 30 cases of healthy control, admitted to the Second Hospital of Yulin from January 2013 to December 2017, were enrolled in this study. The levels of serum inflammatory cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$  and leptin) was detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The levels of serum inflammatory cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$  and leptin) were significantly increased in PTOA patients compared with healthy controls (HC) (IL-6:  $15.87 \pm 5.59$  ng/L vs  $7.04 \pm 2.42$  ng/L, TNF- $\alpha$ :  $41.40 \pm 14.63$  ng/L vs  $24.53 \pm 10.37$  ng/L, leptin:  $15.52 \pm 6.43$   $\mu$ g/L vs  $5.21 \pm 3.19$   $\mu$ g/L), the differences were statistically significant ( $t=7.961, 5.164$  and  $8.292$ , all  $P<0.001$ ). The severity of imaging was further divided into 4 groups by Kellgren-Lawrence grade, the results showed that the levels of serum proinflammatory cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$  and leptin) were significantly different among the 4 groups ( $F=5.974, 7.090$ , all  $P<0.001$ ), and the level of serum proinflammatory cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$  and leptin) were increases with the severity of knee injury. Correlation analysis showed that serum IL-6 was positively correlated with TNF- $\alpha$  ( $r=0.458$ ) and leptin ( $r=0.563$ ), and TNF- $\alpha$  was positively correlated with leptin ( $r=0.692$ ) (all  $P<0.001$ ). **Conclusion** The levels of serum proinflammatory cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$  and leptin) were increased in patients with PTOA and was associated with K-L grade and suggesting that proinflammatory cytokines may be a potential markers for reflect the severity of knee joint injury in patients with PTOA.

**Keywords:** post-traumatic knee osteoarthritis; proinflammatory cytokines; kellgren-lawrence grade

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种退行性关节病, 常见于负重关节, 以关节软骨退化为主要特征<sup>[1]</sup>。创伤性骨关节炎(post-traumatic osteoarthritis, PTOA)是继发关节损伤后的一种并发症,

约占OA的12%, 其中膝关节损伤较为常见<sup>[2]</sup>。近年来, 随着社会的发展, 交通意外、运动损伤不断增多, 关节损伤的患者逐渐增多, PTOA的发病率也呈现逐渐增加的趋势。目前, PTOA的发病机

\* 基金项目: 陕西省自然科学基金项目(2013JM4016)。

作者简介: 赵娜(1983—), 女, 本科, 主管检验师, 研究方向: 临床医学检验, E-mail: yuzhaon@163.com。

通讯作者: 康利宝(1979—), 男, 本科, 主管检验师, E-mail: 1144814852@qq.com。

制仍不清晰,PTOA 的发生、发展过程缺乏可预测性,早期诊断困难,缺乏特异性干预措施,严重影响病人的日常生活。因此,加强对 PTOA 发生与发展的研究将有助于改善 PTOA 患者的关节功能,提高其生活质量。

研究显示,细胞因子级联反应所致的合成代谢和分解代谢信号失衡以及炎症介质的产生在 OA 的发病中具有关键的作用<sup>[3]</sup>。已证实 OA 的影像分级与血清中许多炎症标志物具有一定的相关性,如 IL-6、TNF- $\alpha$  和瘦素等<sup>[4-6]</sup>。此外,发现瘦素水平增高与骨关节炎影像学变化相关是一个独立预测因子。但目前关于 PTOA 患者血清中促炎症因子(IL-6、TNF- $\alpha$  和瘦素)与凯尔格伦-劳伦斯分级(kellgren-lawrence grade, K-L 分级)关系方面的研究较少。本研究旨在探讨创伤性膝骨关节炎患者血清中促炎症因子表达情况与 K-L 分级之间的关系,希望为早期临床诊断和治疗 PTOA 提供参考和帮助。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2013 年 1 月~2017 年 12 月榆林市第二医院确诊并住院的 PTOA 患者 63 例,其中女性 38 例(60.3%),男性 25 例(39.7%),平均年龄  $52.30 \pm 9.97$  岁。同期选取榆林市第二医院健康体检中心正常体检者 30 例为健康对照组(healthy controls, HC),其中女性 17 例(53.3%),男性 13 例(46.7%),平均年龄  $51.40 \pm 10.69$  岁。PTOA 患者纳入标准:①所有患者均符合 2010 年中华风湿病学会制定的骨关节炎诊断标准<sup>[7]</sup>,且通过临床表现和影像学检查可诊断为 PTOA。②所有患者至少有一侧膝关节(左或右)遭受过膝关节创伤。K-L 分级对影像学严重程度进行评估, I

级:关节软骨存在轻微骨赘;Ⅱ级:关节软骨存在明显的骨赘,关节间隙轻度变窄;Ⅲ级:关节软骨关节间隙中度变窄,软骨下骨出现硬化;Ⅳ级:关节软骨关节出现大量骨赘,关节间隙严重变窄,软骨下骨硬化及畸形明显。其中Ⅰ级 11 例,Ⅱ级 18 例,Ⅲ级 19 例,Ⅳ级 15 例。排除标准:非创伤性关节炎、类风湿关节炎、化脓性关节炎、痛风、糖尿病和膝盖机械损伤等。两组研究对象在年龄、性别构成比等一般资料方面比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

1.2 试剂和仪器 TGL-16M 台式高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);IL-6 检测试剂盒和 TNF- $\alpha$  检测试剂盒、瘦素水平检测试剂盒(中国武汉优尔生生物技术有限公司)。

1.3 方法 采用无菌采血针抽取受试对象晨起空腹外周血 3~5 ml,离心取上清液,  $-80^{\circ}\text{C}$  冻存备用。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中 IL-6、TNF- $\alpha$  和瘦素水平。操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学分析 运用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析和 Graph Pad Prism5.0 软件进行绘图。计量资料数据用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,分类变量的比较运用  $\chi^2$  检验。符合正态分布及方差齐性,两组间比较采用  $t$  检验;多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD- $t$  法。采用 Pearson 对数据进行相关性分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 PTOA 组和健康对照组的人口学特征 见表 1。两组年龄、性别及 BMI 比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 1 PTOA 患者及健康对照者的人口学特征

类 别	PTOA ( $n=63$ )	HC ( $n=30$ )	$t/\chi^2$	$P$	K-L Ⅰ级 ( $n=11$ )	K-L Ⅱ级 ( $n=18$ )	K-L Ⅲ级 ( $n=19$ )	K-L Ⅳ级 ( $n=15$ )
年龄(岁)	$52.30 \pm 9.97$	$51.40 \pm 10.69$	0.398	0.691	$54.73 \pm 11.07$	$51.56 \pm 10.33$	$52.16 \pm 11.08$	$51.60 \pm 7.69$
性别(男/女)	25/38	13/17	0.112	0.738	5/6	7/11	7/12	6/9
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$25.30 \pm 1.50$	$24.68 \pm 1.33$	1.608	0.111	$25.52 \pm 2.02$	$25.19 \pm 1.94$	$25.27 \pm 1.96$	$25.29 \pm 1.85$

2.2 PTOA 组和健康对照组血清促炎症因子水平的检测 见表 2。与 HC 组相比,血清促炎症因

子(IL-6、TNF- $\alpha$ 、瘦素)在 PTOA 组中明显增高(均  $P < 0.001$ )。

表 2 PTOA 组和健康对照组血清促炎症因子水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

项 目	OA( $n=63$ )	HC( $n=30$ )	$t$ 值	$P$ 值
IL-6( $\text{ng}/\text{L}$ )	$15.87 \pm 5.59$	$7.04 \pm 2.42$	7.961	$<0.001$
TNF- $\alpha$ ( $\text{ng}/\text{L}$ )	$41.40 \pm 14.63$	$24.53 \pm 10.37$	5.164	$<0.001$
瘦素( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	$15.52 \pm 6.43$	$5.21 \pm 3.19$	8.292	$<0.001$

2.3 血清促炎症因子水平与膝关节受损程度的关系 见表3。通过 K-L 分级对 PTOA 患者影像学严重程度进行评估,分为4组。结果显示4组间血清促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ , 瘦素)水平比较,差异均有统计学意义(均  $P < 0.001$ ),且血清促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ , 瘦素)水平随着膝关节损伤严重程度增加而增高(见图1)。相关性分析显示,血清 IL-6 与 TNF- $\alpha$  ( $r = 0.458$ )、瘦素 ( $r = 0.563$ ) 呈正相关, TNF- $\alpha$  与瘦素 ( $r = 0.692$ ) 呈正相关(均  $P < 0.001$ ),见图2。

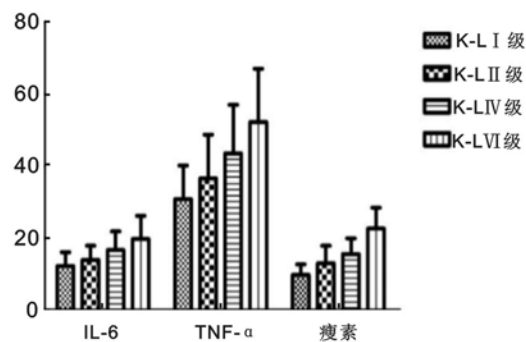


图1 不同分级血清中促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ , 瘦素)水平

表3

PTOA 不同分级血清促炎症因子水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	K-L I级 (n=11)	K-L II级 (n=18)	K-L III级 (n=19)	K-L IV级 (n=15)	F值	P值
IL-6(ng/L)	12.22±3.87	13.98±3.92	16.72±5.21	19.76±6.45	5.974	0.001
TNF- $\alpha$ (ng/L)	30.91±9.18	36.50±12.21	43.47±13.58	52.33±14.79	7.090	<0.001
瘦素(μg/L)	9.75±2.97	13.03±4.88	15.58±4.41	22.67±5.81	18.560	<0.001

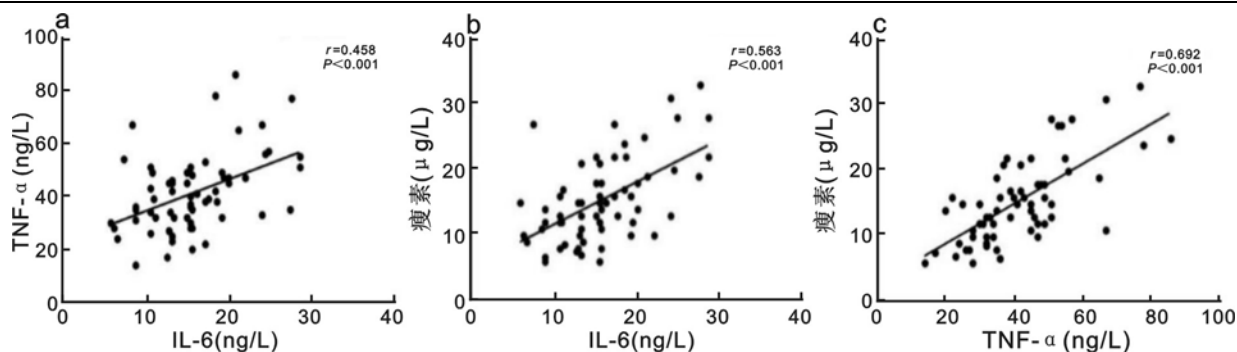


图2 PTOA 患者血清促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ , 瘦素)水平间的关系

3 讨论 PTOA 主要是由创伤引起的以关节软骨的退化变性和继发的软骨增生、骨化为主要病理变化,以关节疼痛、活动功能障碍为主要临床表现的一种疾病,随着疾病的发展可致患者残疾,严重影响患者的生活质量<sup>[8]</sup>。目前,对于 PTOA 的发生、发展过程预测仍然缺乏特异性的手段,早期诊断及病情评估比较困难。PTOA 患者的主要治疗方式包括早期的保守治疗以及晚期的手术治疗(人工关节置换手术)<sup>[8]</sup>。手术治疗为侵入性治疗,对患者的伤害较大,治疗费用较高,而且容易出现并发症。早期 PTOA 患者关节和软骨出现轻微损伤时,其影像学表现无明显改变且没有典型的临床症状,当出现关节狭窄、变形、疼痛以及功能障碍等时,多数 PTOA 患者已处于晚期<sup>[9-10]</sup>。因此,寻找有效地手段对疾病进行早期诊断、病情评估,制定合理的治疗方案,更好地管理 PTOA 患者极为重要。

生物标记物作为一种简便而快捷的生物指标,不仅可以在分子水平揭示疾病的发病机制,还可以在在一定程度上为临床医生对于疾病的诊断及病情评估提供参考依据。已报道 VCAM-1, EGF, VEGF-A, IL-6, TNF-RI, YKL-40, MMP-1, MMP-

3, 瘦素、抵抗素、SAA 和 CRP 这十二种促炎因子结合能较好地反映类风湿性关节炎(RA)的临床症状,对 RA 患者评估有临床应用价值,因此,被用于 RA 检测的生物标记物<sup>[20,23-24]</sup>。TNF- $\alpha$ , IL-6 和瘦素是体内常见的促炎因子,血清表达水平升高会激发体内自身免疫疾病<sup>[21]</sup>。研究表明,OA 患者中促炎症因子水平显著升高,可加速关节软骨的破坏,加重滑膜炎,导致 OA 的恶化<sup>[11-13]</sup>。众所周知,IL-6, TNF- $\alpha$  和瘦素是常见的促炎细胞因子。IL-6 是由 T 细胞、B 细胞和巨噬细胞分泌的促炎细胞因子,可以刺激滑膜细胞增殖和细胞活化,导致滑膜血管翳形成和基质金属蛋白酶的产生,导致关节软骨破坏<sup>[14-15]</sup>。TNF- $\alpha$  由活化的巨噬细胞、单核细胞、成纤维细胞、肥大细胞和 NK 细胞产生的,参与炎症反应,可以增加软骨、软骨下骨的破坏,是软骨基质降解的重要介质<sup>[16]</sup>。瘦素是一种由脂肪细胞分泌的激素,瘦素受体属于 I 型炎症因子受体超家族,是细胞炎症网络中的一员。当机体瘦素水平增高后可促进软骨细胞中的基质金属蛋白酶等的合成,致软骨损伤,进一步诱发骨质增生,最终导致 OA<sup>[17-19]</sup>。IL-6, TNF- $\alpha$  和瘦素引起 OA 恶化的机制已被阐明。但有关血清促炎症因子水平与

PTOA 影像学严重程度之间的关系研究极少。

本研究主要探讨 PTOA 患者血清中促炎症因子水平表达与影像学严重程度之间的关系,为早期临床诊断和病情评估提供一定的参考和帮助。本研究显示血清促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ , 瘦素)水平在 PTOA 患者中是显著增高的,且与 K-L 分级具有相关性。血清中促炎症因子水平越高, K-L 分级显示 PTOA 患者膝关节损伤越严重。这说明血清中促炎症因子水平能反映关节损伤病变程度。表明这些促炎症因子(IL-6, TNF- $\alpha$ , 瘦素)可以作为生物标记物来预测疾病的发生、发展。但本次研究的样本量较少,可能存在一定误差,因此我们需进一步扩大样本量来确定促炎症因子与 PTOA 患者的关系。

参考文献:

- [1] NELSON A E. Osteoarthritis year in review 2017: clinical[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2018, 26(3): 319-325.
- [2] RIORDAN E A, LITTLE C, HUNTER D. Pathogenesis of post-traumatic OA with a view to intervention[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2014, 28(1): 17-30.
- [3] MABEY T, HONSAWEK S. Cytokines as biochemical markers for knee osteoarthritis[J]. World J Orthop, 2015, 6(1): 95-105.
- [4] WOJDASIEWICZ P, PONIATOWSKI L A, SZUKIEWICZ D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. Mediators of Inflammation, 2014, 2014: 561459.
- [5] KARVONEN-GUTIERREZ C A, HARLOW S D, JACOBSON J, et al. The relationship between longitudinal serum leptin measures and measures of magnetic resonance imaging-assessed knee joint damage in a population of mid-life women[J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2014, 73(5): 883-889.
- [6] KLUZEK S, ARDEN N K, NEWTON J. Adipokines as potential prognostic biomarkers in patients with acute knee injury[J]. Biomarkers, 2015, 20(8): 519-525.
- [7] 中华医学会风湿病学分会. 骨关节炎诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(6): 416-419.
- [8] 王曦, 苍金荣, 刘宗智, 等. 骨关节炎关节置换术后诺卡氏菌感染的实验诊断与治疗[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(3): 115-117.
- [9] 万楠, 王璐, 孟冬娅, 等. 炎症标志物在感染性和痛风性关节炎中鉴别诊断的应用价值[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(3): 142-144.
- [10] ACKERMAN I N, BOHENSKY M A, DE STEIGER R, et al. Substantial rise in the lifetime risk of primary total knee replacement surgery for osteoarthritis from 2003~2013: An international, population-level analysis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2016, 4(16): 304-309.
- [11] NIELSEN F K, EGUND N, JRGENSEN A, et al. Assessment of subchondral bone marrow lesions in knee osteoarthritis by MRI: a comparison of fluid sensitive and contrast enhanced sequences[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2016, 17(1): 479.
- [12] WANG Xia, HUNTER D, XU Jianhua, et al. Metabolic triggered inflammation in osteoarthritis[J]. Osteoarthritis, 2015, 23(1): 22-30.
- [13] ROGERS E L, REYNARD L N, LOUGHLIN J. The role of inflammation-related genes in osteoarthritis[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2015, 23(11): 1933-1938.
- [14] MABEY T, HONSAWEK S, SAETAN N, et al. Angiogenic cytokine expression profiles in plasma and synovial fluid of primary knee osteoarthritis[J]. International Orthopaedics, 2014, 38(9): 1885-1892.
- [15] HUNTER C A, JONES S A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease[J]. Nature Immunology, 2015, 16(5): 448-457.
- [16] SANCHEZ C, GABAY O, SALVAT C, et al. Mechanical loading highly increases IL-6 production and decreases OPG expression by osteoblasts[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2009, 17(4): 473-481.
- [17] MIN Sicong, WANG Chao, LU Wanli, et al. Serum levels of the bone turnover markers dickkopf-1, osteoprotegerin, and TNF- $\alpha$  in knee osteoarthritis patients[J]. Clin Rheumatol, 2017, 36(10): 2351-2358.
- [18] ELWAKILA W A, MOHASSEB D, ELKAFFASHB D M, et al. Serum leptin and osteoporosis in postmenopausal women with primary knee osteoarthritis[J]. The Egyptian Rheumatologists, 2016, 38(3): 209-215.
- [19] SCOTECE M, MOBASHERI A. Leptin in osteoarthritis: Focus on articular cartilage and chondrocytes[J]. Life Sci, 2015, 140: 75-78.
- [20] ZHANG Ping, ZHONG Zhihong, YU Haotao, et al. Significance of increased leptin expression in osteoarthritis patients[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0123224.
- [21] MAIJER K I, LI Wanying, SASSO E H, et al. Does the multi-biomarker disease activity score have diagnostic value in early rheumatoid arthritis and unclassified arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2015, 74(11): 2097-2099.
- [22] TAKEUCHI T. Biomarkers as a treatment guide in rheumatoid arthritis[J]. Clinical Immunology, 2017, 186: 59-62.
- [23] 张吉红, 王晓娟, 党红胜, 等. 膝关节滑膜炎滑膜清理术前后 MMP-7 与 MMP-9 测定和关节功能的影响分析[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(4): 43-46.
- [24] ZHANG Jihong, WANG Xiaojuan, DANG Hongsheng, et al. Effects analysis of joint function and MMP-7 and MMP-9 measurement after synovial arthroscopic debridement for knee synovitis[J]. J Mod Lab Med, 2015, 30(4): 43-46.
- [24] 张微, 张润清, 于磊. 类风湿关节炎并发贫血女性患者血清铁蛋白检测的临床价值[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(2): 118-120, 124.
- [24] ZHANG Wei, ZHANG Runqing, YU Lei. Clinical value of serum ferritin detection in patients with rheumatoid arthritis complicated with anemia[J]. J Mod Lab Med, 2018, 33(2): 118-120, 124.

收稿日期: 2019-01-02  
修回日期: 2019-05-10