本文引用:张兵,杨林,徐海斌. 非化脓性关节炎患者血清及关节滑膜中炎性介质的表达及其与C反应蛋白的相关性[J]. 新乡医学院学报,2015,32(9):877-879,883.

【临床研究】

非化脓性关节炎患者血清及关节滑膜中炎性介质的表达及其与C反应蛋白的相关性

张 兵,杨 林,徐海斌
(新乡医学院第一附属医院骨外科,河南 卫辉 453100)

摘要: **目的** 研究非化脓性关节炎患者血清及膝关节滑膜中白细胞介素(IL)-1、IL-6和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)等炎性因子指标与C反应蛋白(CRP)轻度增高(10~30 mg·L^{-1})的相关性。**方法** 选取CRP轻度增高的骨性关节炎(OA)、类风湿性关节炎(RA)患者10例(CRP 10~30 mg·L^{-1})为观察组。另选取CRP处于正常值(CRP≤10 mg·L^{-1})的OA、RA患者10例为对照组。采用苏木精-伊红染色法,显微镜下观察滑膜形态学变化。应用酶联免疫吸附试验检测2组患者血清中IL-1、IL-6及TNF-α水平,免疫组织化学法检测2组患者关节滑膜中IL-1、IL-6及TNF-α表达水平。**结果** 观察组患者血清IL-1、IL-6及TNF-α水平显著高于对照组($P<0.05$)。对照组患者滑膜组织可见正常滑膜细胞,观察组患者滑膜组织乳头样增生和间质细胞增生明显。关节滑膜的病理改变与CRP的轻度增高相关。观察组患者膝关节滑膜中IL-1、IL-6及TNF-α表达水平显著高于对照组($P<0.05$)。**结论** OA、RA患者血清及膝关节滑膜中IL-1、IL-6、TNF-α等炎性因子水平的增高与术前CRP的轻度增高相关。

关键词: C反应蛋白;骨性关节炎;类风湿性关节炎;白细胞介素-1;白细胞介素-6;肿瘤坏死因子-α
中图分类号: R684.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2015)09-0877-04

Expression of inflammatory mediators of serum and synovium of joint in non-suppurative arthritis patients and the relationship between it and C reactive protein

ZHANG Bing, YANG Lin, XU Hai-bin
(*Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui* 453100, *Henan Province, China*)

Abstract: **Objective** To study the correlation between inflammatory factor such as interleukin (IL)-1, IL-6 and tumor necrosis factor-α(TNF-α) in serum and synovium of joint and C reactive protein (CRP) light increases (CRP between 10 and 30 mg·L^{-1}) in non-suppurative arthritis patients. **Methods** Ten cases of osteoarthritis (OA) and rheumatoid arthritis (RA) with slightly elevated CRP (CRP 10-30 mg·L^{-1}) were chosen as the observation group. And 10 cases of osteoarthritis and rheumatoid arthritis patients with CRP in normal (CRP≤10 mg·L^{-1}) were chosen as the control group. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the change of synovium morphology. Enzyme linked immunosorbent assay was used to detect serum IL-1, IL-6 and TNF-α levels and immunohistochemical method was used to detect IL-1, IL-6 and TNF-α levels in synovium of joint of the patients in the two groups. **Results** The serum IL-1, IL-6 and TNF-α levels in observation group were significantly higher than those in control group($P<0.05$). The synovium tissue of control group showed nomal tissue while the synovium tissue of experimental group showed hyperplasia like nipples and obvious interstitial cell hyperplasia. The pathology change of synovium of joint had something to do with the slight indreasing of CRP. The IL-1, IL-6 and TNF-α levels in synovium of joint of experimental group were significantly higher than those in control group($P<0.05$). **Conclusion** The increasing of inflammatory cytokines such as IL-1, IL-6 and TNF-α in serum and synovium of joint of OA and RA patients is associated with the slight increasing of CRP of patients who hasn't focus of infection before operation.

Key words: C reactive protein; osteoarthritis; rheumatoid arthritis; interleukin-1; interleukin-6; tumor necrosis factor -α

近些年,关节置换术作为恢复关节功能、解除疼痛、纠正畸形、提高患者生活质量的临床有效手术方法被越来越多地应用于骨性关节炎(osteoarthritis, OA)和类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)等非化脓性关节炎患者[1]。感染是关节置换术的严重并发症,所以此手术对皮肤条件要求严格,若术野皮肤有破损或感染灶,甚至其他部位的感染(如口

DOI:10.7683/xxyxyxb.2015.09.026
收稿日期:2015-03-02
作者简介:张 兵(1985-),男,河南商丘人,硕士研究生在读,研究方向:脊柱与关节。
通信作者:徐海斌(1964-),男,河南新乡人,学士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:脊柱与关节;E-mail:drxhb@163.com。

腔炎或龋齿等)均会增加术后感染的可能[2]。因此在手术前需对患者进行全面细致的检查,及时发现全身和局部的感染病灶。C 反应蛋白(C reactive protein,CRP)是临床诊断外科感染的主要生物化学指标,是高敏感反映炎症、组织损伤的标志物,主要由肝细胞合成和分泌,并受多种细胞因子,如白细胞介素(interleukin,IL)-1、IL-6 及肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)等的调节和引导[3-4]。手术后无论存在感染因素与否均可引起炎症反应,从而导致 CRP 升高,CRP 正常值为≤10 mg·L^{-1}。然而,临床研究发现,OA、RA 患者术前 CRP 检测值不超过正常值的 3 倍,关节置换术后感染率未见明显增加[5]。同时发现部分 OA、RA 患者在接受膝关节置换手术前 CRP 的检测值均出现轻度增高(10~30 mg·L^{-1}),而又查无感染灶。因此考虑患者血清及关节滑膜中存在的 IL-1、IL-6、TNF-α 等炎性因子可能是导致 CRP 在查无感染灶的情况下轻度升高的可能性因素。本研究探讨了非化脓性关节炎患者血清及膝关节滑膜中 IL-1、IL-6 和 TNF-α 等炎性因子与 CRP 轻度增高(10~30 mg·L^{-1})之间的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 1 月至 2014 年 1 月在新乡医学院第一附属医院入院并通过体格检查及影像学检查诊断为 OA 和 RA 的患者。入选标准:(1)年龄 45~75 岁,性别不限;(2)经体格检查及影像学检查诊断为 OA、RA 患者;(3)术前检查均无明显感染灶;(4)所有受试者于研究前 3 个月内均未服用过任何免疫抑制剂及激素。排除标准:(1)CRP 高于 30 mg·L^{-1}的患者;(2)关节置换术后的 OA、RA 患者。根据术前 CRP 水平分为观察组(CRP 10~30 mg·L^{-1})和对照组(CRP≤10 mg·L^{-1}),每组 10 例。观察组:男 4 例,女 6 例,年龄 52~74 岁,平均(67.8±6.4)岁,CRP(21.61±5.45)mg·L^{-1}。对照组:男 5 例,女 5 例,年龄 48~75 岁,平均(65.7±8.9)岁,CRP(3.24±3.03)mg·L^{-1}。2 组患者性别、年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 主要试剂及材料 人 IL-1、IL-6 及 TNF-α 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒及免疫组织化学染色试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司;二氨基联苯胺显色液(diaminobenzidine,DAB)试剂盒购自北京中杉公司。

1.3 方法 清晨术前抽取患者空腹静脉血,并分离血清,应用 ELISA 法检测 2 组患者血清中 IL-1、IL-6 及 TNF-α 水平。在膝关节置换术中提取患者膝关节滑膜,并制作石蜡切片,行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining,HE)染色,显微镜下观察滑膜形态学变化。应用免疫组织化学方法检测 2 组患者滑膜组织中 IL-1、IL-6 及 TNF-α 表达水平。计算 400 倍视野下的膝关节滑膜细胞阳性细胞数和细胞总数,IL-1、IL-6 和 TNF-α 的表达量用阳性细胞数占细胞总数的百分比表示,即细胞分数,最大值为 100%,每张切片的细胞计数分别由 2 个独立的观察者进行,评分误差率控制在 5% 以内,取二者平均值为最后的得分。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2 组均数比较采用 t 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者血清中 IL-1、IL-6 和 TNF-α 水平比较 结果见表 1。观察组 IL-1、IL-6 和 TNF-α 水平均显著高于对照组($P<0.05$)。

表 1 2 组患者血清中 IL-1、IL-6 及 TNF-α 水平比较

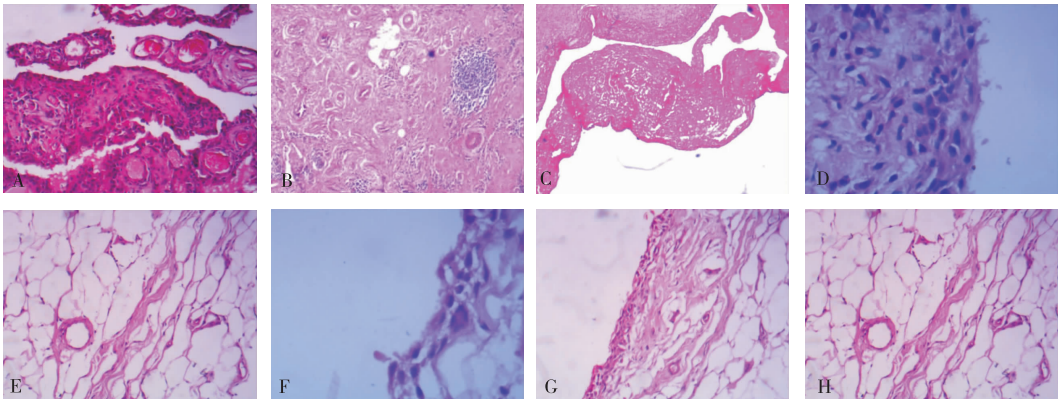
Tab.1 Comparison of the serum levels of IL-1, IL-6 and TNF-α between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-1/(ng·L^{-1})	IL-6/(ng·L^{-1})	TNF-α/(ng·L^{-1})
对照组	10	52.61±12.21	22.36±6.97	29.74±7.12
观察组	10	85.61±6.05[a]	49.90±4.18[a]	65.78±4.32[a]

注:与对照组比较[a]$P<0.05$。

2.2 2 组患者膝关节滑膜 HE 染色结果 观察组患者滑膜组织乳头样增生和间质细胞增生明显,毛细血管有扩张并充血(图 1A),滑膜中可见淋巴细胞灶生成(图 1B),表面有纤维素样坏死及渗出(图 1C),滑膜细胞有重叠发生(图 1D),周围可见散在中性粒细胞浸润(图 1E)。对照组可见正常滑膜细胞,层次分明,未发生滑膜细胞重叠(图 1F),周围无滑膜乳头样增生及滑膜细胞增生(图 1G),毛细血管无扩张及充血(图 1H)。

2.3 2 组患者膝关节滑膜中 IL-1、IL-6 和 TNF-α 的表达 结果见表 2。与对照组比较,观察组患者膝关节滑膜 IL-1、IL-6 和 TNF-α 表达水平均显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组患者滑膜组织中,滑膜细胞 IL-1、IL-6 和 TNF-α 阳性表达相对较多,细胞质呈棕褐色,着色相对较深,呈颗粒状。对照组患者滑膜组织中,滑膜细胞 IL-1、IL-6 和 TNF-α 阳性表达相对较少,细胞质也呈棕褐色颗粒状,与观察组比较,着色相对较浅(图 2)。



A ~ C:观察组(×100);D、E:观察组(×400);F:对照组(×400);G、H: 对照组(×100)。

图 1　2 组患者滑膜组织 HE 染色

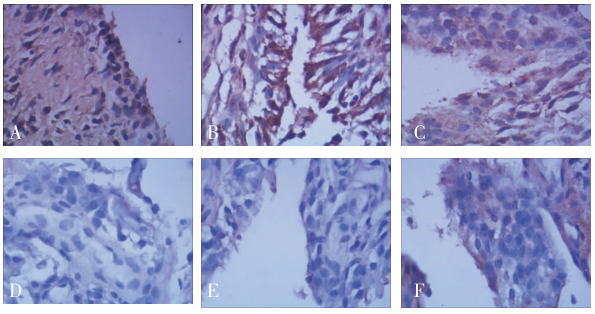
Fig. 1　HE staining of synovium tissues of the two groups

表 2　2 组患者膝关节滑膜中 IL-1、IL-6 和 TNF-α 水平比较

Tab. 2　Comparison of the IL-1, IL-6 and TNF-α levels in synovium of knee joint between the two groups　($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-1/%	IL-6/%	TNF-α/%
对照组	10	8.72 ± 0.65	5.28 ± 0.33	5.60 ± 0.80
观察组	10	19.48 ± 4.14[a]	14.80 ± 4.82[a]	12.86 ± 1.66[a]

注:对照组比较[a] $P < 0.05$。



A:观察组 IL-1;B:观察组 IL-6;C:观察组 TNF-α;D:对照组 IL-1;E:对照组 IL-6;F:对照组 TNF-α。

图 2　2 组患者膝关节滑膜组织中 IL-1、IL-6 和 TNF-α 免疫组织化学染色(×400)

Fig. 2　Immunohistochemistry staining of IL-1, IL-6 and TNF-α in synovium of knee joint of the two groups(×400)

3　讨论

OA 是一种以关节软骨的变性、破坏及骨质增生为特征的慢性关节病。在 OA 的软骨破坏分解与修复过程中,局部分泌的一些细胞因子被释放进入血液、关节液和滑膜中,这些细胞因子与骨关节炎滑膜炎性病变、细胞外基质降解及干扰软骨细胞功能密切相关[6]。

RA 是一种以关节骨膜组织及软骨损伤为主要特征的器官特异性自身免疫性疾病[7]。其表现为慢性关节炎导致的不可逆的关节损伤,致残率较高,其病变特点为炎性细胞浸润,大量血管翳的形成,滑膜炎症的产生以及关节软骨和骨质的破坏,最终导致关节畸形和功能丧失[8-9]。OA、RA 患者体内存在多种细胞因子和炎症介质异常表达,并相互作用、相互调节,形成一个复杂的网络,直接或间接介导了 OA、RA 发生和发展过程[10]。在其致病过程中伴随多种细胞因子、炎性介质的参与。

许多细胞因子包括 IL-1、IL-6 和 TNF-α 等,已被公认为与 OA、RA 发病关系较为密切的细胞因子[11]。所以检测这些细胞因子水平,有助于临床研究 OA、RA 发病机制,并可作为病情治疗效果及预后的评估指标。有关 OA、RA 患者在接受关节置换手术前,在感染因素除外后,如何界定合适的 CRP 值作为关节置换的安全界值,虽然有学者提出以不高于正常值 3 倍作为界限[5],但缺乏相关的实验及临床证据。所以本研究检测 CRP 值在 10 ~ 30 mg · L^{-1} 的 OA、RA 患者,探讨 IL-1、IL-6、TNF-α 等炎性因子与其相关性。

IL-1、IL-6、TNF-α 等炎性细胞因子均可由病毒或内毒素等因素刺激单核-巨噬细胞而产生,其水平高低可间接反映机体内单核-巨噬细胞的激活状态,在 OA、RA 疾病发生和发展过程中起重要作用[12]。高水平的 IL-6 可刺激 B 淋巴细胞合成自身抗体,促进类风湿因子及其他细胞因子的生成,从而促进炎症反应过程,加重关节软骨组织病变。有研究报道,TNF-α 可刺激滑膜及内皮细胞成纤维生长因子生成趋化因子,趋化并激活炎症细胞,从而加重炎症反应;亦可刺激滑膜组织纤维母细胞和软骨细胞生成前列腺素 E_2 和胶原酶,加速骨质破坏、骨吸收及纤维母细胞增生,并抑制骨胶原的合成,从而加速关节炎的病理过程[13]。近年研究表明,IL-6 和 TNF-α 在触发滑膜细胞激活导致关节受损和诱导炎症过程中起重要作用[14]。IL-1、IL-6 异常表达和失调是 OA 和 RA 的典型特征,关节组织中 IL-1、IL-6 主要由滑

(下转第 883 页)

计,以减少作业人员因长期使用不符合人机工效学设计的设备、工具而导致的工作效率下降,下背痛、腕管综合征、颈肩腕综合征等工作相关疾病的发生。

用人单位应将外包项目中可能受到职业病危害的临时雇用人员纳入职业卫生管理范围之内,为他们建立职业健康监护档案,加强职业卫生管理和培训[13]。

建设单位应依据《建筑行业职业病危害预防控制规范》[14],建立职业卫生管理机构和责任制,设立专人负责对建设项目施工期间的职业卫生工作进行监督管理。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 中华人民共和国职业病防治法(中华人民共和国主席令第 52 号)[EB/OL]. http://www.moh.gov.cn/zhuzhan/wsjsfl/201305/9ee06be194ee4ab184047f6ed2a3e8fd.shtml,2011-12-31.

[2] 国家安全生产监督管理总局. 国家安全生产监督管理总局令第 47 号[EB/OL]. http://www.chinasafety.gov.cn/newpage/Contents/Channel-5916/2012/0504/170492/content-170492.htm,2012-04-27.

[3] 国家安全生产监督管理总局. 国家安全生产监督管理总局令第 51 号[EB/OL]. http://www.chinasafety.gov.cn/newpage/Contents/Channel-20697/2012/0504/171616/content-171616.htm, 2012-04-27.

[4] 中华人民共和国卫生部. 工作场所空气中有害物质监测的采样规范(GBZ159-2004)[EB/OL]. http://www.morechina.com.cn/technical/GBZ159-2004.htm,2004-12-01.

[5] 中华人民共和国卫生部. 工作场所有害因素职业接触限值第 1 部分:化学有害因素(GBZ2.1-2007)[EB/OL]. http://www.esafety.cn/health/94517.html,2014-04-16.

[6] 中华人民共和国卫生部. 工作场所有害因素职业接触限值第 2 部分:物理因素(GBZ2.2-2007)[EB/OL]. http://www.zywsw.com/wsfg/standard-m03.htm,2007-04-12.

[7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 工业企业设计卫生标准(GBZ 1-2010 代替 GBZ1-2002)[EB/OL]. http://www.moh.gov.cn/zwgkzt/pyl/201003/46131.shtml,2010-03-02.

[8] 国家安全监管总局. 关于公布建设项目职业病危害风险分类管理目录(2012 年版)的通知,安监总安健[2012]73 号[EB/OL]. http://www.chinasafety.gov.cn/newpage/Contents/Channel-5916/2012/0604/171653/content_171653.htm,2012-05-31.

[9] 李奎荣,余善法,马良庆. 循环流化床锅炉发电厂职业病危害因素及其危害程度分析[J]. 工业卫生与职业病,2005,31(5):327-330.

[10] 曹煜红,刘卫华. 轨枕生产噪声对工人健康影响的调查[J]. 工业卫生与职业病,2003,29(2):99-101.

[11] 杨杰. 电力行业职业卫生事故及应急救援体系现状[J]. 江苏预防医学,2014,25(4):73-74.

[12] 国家安全生产监督管理总局. 建设项目职业病危害预评价技术导则(GBZT 196-2007)[EB/OL]. http://www.zywsw.com/wsfg/Regulate009.htm,2008-02-01.

[13] 李晓燕,郑少华,魏海明. 陕西省内 10 家发电厂职业病危害特点与管理对策[J]. 铁路节能环保与安全卫生,2011,1(5):272-274.

[14] 中华人民共和国卫生部. 建筑行业职业病危害预防控制规范(GBZ/T 211-2008)[EB/OL]. http://www.czs.gov.cn/wsj/zwpt/wsjd/content_203058.html,2011-09-28.

(本文编辑:杨　博　英文编辑:杨　博)

(上接第 879 页)

膜细胞产生。另外,IL-6 能促进 B 淋巴细胞增殖,并分化为免疫球蛋白分泌细胞,还能促进肝脏合成急性时相蛋白及促进类风湿因子的合成。

本研究结果显示,患者血清及关节滑膜中 IL-1、IL-6、TNF-α 水平的增高及关节滑膜的病理改变与 CRP 的轻度增高相关。这为临床选择合适的手术时机,降低关节置换手术的感染率提供一定的理论依据,如何从 CRP 定量去规范 OA、RA 患者全膝关节置换术的适应证有待进一步研究。

参考文献:

[1] Clhisy J C, Calvert G, Tull F, *et al*. Reasons for revision hip surgery: a retrospective review[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2004, 429(12): 188-192.

[2] 方恺. 人工膝关节置换后的假体周围感染[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(30):5650-5653.

[3] Pearle A D, Scanzello C R, George S, *et al* Elevated high-sensitivity C-reactive protein levels are associated with bocal inflammatory findings in patients with osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2007, 15(5): 516-523.

[4] Iannone F, Lapadula G. The pathophysiology of osteoarthritis[J]. *Aging Clin Exp Res*, 2003, 15(5): 364-372.

[5] 裴福兴. 中华医学会第十五届骨科学术会议暨第八届 COA 国际学术大会[R]. 中华医学会,2013.

[6] 谢伟,王东超,陈勇,等. 早期膝骨关节炎患者与健康者血清 MMP-3、IL-6、TNF-α 和 hs-CRP 的相关性研究[J]. 青海医学院学报,2009,30(3):183-185.

[7] 温博,曾升平. 类风湿关节炎的研究进展[J]. 世界中西医结合杂志,2014,9(9):1014-1016.

[8] 熊英琼,程绍民,刘端勇,等. 类风湿性关节炎中医研究思路探讨[J]. 辽宁中医杂志,2011,38(3):458-461.

[9] 肖卫国. 美国风湿病协会 2012 年类风湿关节炎治疗推荐意见解读[J]. 中国实用内科杂志,2013,33(1):38-41.

[10] 梁秀云. 类风湿性关节炎患者血清 IL-6、TNF-α、CRP 的水平变化及意义[J]. 2012,23(4):85-87.

[11] Loeser R F. Molecular mechanisms of cartilage destruction: mechanics, inflammatory mediators, and aging collide[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(5): 1357-1360.

[12] 王勇,滕义建,李前防. 类风湿关节炎患者 SAA、IL-6 水平及意义[J]. 吉林医学,2010,31(35):6476.

[13] 龙武彬,刘建,董巍. 血清新蝶呤、IL-1、TNF-α 联合检测对类风湿关节炎活动性诊断价值的探讨[J]. 现代预防医学,2010,37(13):2590-2592.

[14] Rho Y H, Chung C P, Oeser A, *et al*. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 61(11): 1580-1585.

(本文编辑:王　燕　英文编辑:王　燕)