

膝骨关节炎患者血清和关节滑液 TWEAK 水平与影像学严重程度的相关性

刘冰^{1△} 高兆宾¹ 赵亮亮¹

[摘要] 目的:探讨膝骨关节炎(Osteoarthritis, OA)患者血清和关节滑液中肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导因子(Tumor Necrosis Factor-like Weak Inducer of Apoptosis, TWEAK)水平与 OA 患者 X 线片上 Kellgren-Lawrence(K-L)分级严重程度的相关性。方法:选取本院就诊的 58 例 OA 患者为 OA 组,健康对照者 30 例为对照组,膝骨关节炎影像学严重程度评分采用国际公认的 Kellgren-Lawrence 评分系统。采用酶联免疫吸附测定法检测两组血清和 OA 组关节液中 TWEAK 水平。分析血清和膝关节滑液 TWEAK 水平与 OA 严重程度的相关性。结果:OA 组血清 TWEAK 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);OA 患者关节滑液 TWEAK 水平显著高于血清水平,差异有统计学意义($P < 0.01$);在 OA 患者中,K-L 分级越高,血清及关节滑液 TWEAK 水平越高($P < 0.05$ 或 0.01);血清和关节滑液中 TWEAK 水平与 OA 患者的 K-L 分级呈显著相关性($r = 0.574, P < 0.001; r = 0.651, P < 0.001$);血清 TWEAK 水平与关节滑液之间呈显著相关性($r = 0.865, P < 0.001$)。结论:TWEAK 水平与 OA 患者影像学 K-L 分级严重程度正相关,可作为评价 OA 严重程度的参考指标。

[关键词] 骨关节炎;肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导因子;Kellgren-Lawrence 分级

[中图分类号] R684.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2017)04-0018-04

Association of TWEAK Level in Serum and Synovia with X-ray Severity in Knee Osteoarthritis Patients

LIU Bing^{1△} GAO Zhaobin¹ ZHAO Liangliang¹

¹Department of Orthopaedics, Beijing Fengtai Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Beijing 100072, China.

Abstract Objective: To explore the correlation between the level of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) in serum and synovia and X-ray severity in patients with knee Osteoarthritis (OA). **Methods:** 58 patients with OA and 30 healthy controls were enrolled into this study. Knee OA grading was performed according to the Kellgren-Lawrence (K-L) classification. The serum and synovial fluid levels of TWEAK were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Correlations between plasma and synovial fluid levels of TWEAK and severity of OA were calculated. **Results:** The serum level of TWEAK in OA group was extremely higher than that in control group ($P < 0.01$), and the synovial fluid level of TWEAK was higher significantly than the serum level of TWEAK ($P < 0.01$). The higher the K-L classification, the higher the levels of serum and synovial fluid TWEAK. Both serum and synovial fluid levels of TWEAK were positively correlated with the severity grade of K-L for OA (respectively $r = 0.574, P < 0.001; r = 0.651, P < 0.001$). Furthermore, the level of serum TWEAK was positively correlated with the level of synovial fluid TWEAK ($r = 0.865, P < 0.001$). **Conclusion:** The level of TWEAK is positively correlated with the K-L classification, and may be used as a reference marker of severity of knee OA.

Keywords: osteoarthritis; tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis; Kellgren-Lawrence classification

膝骨关节炎 (Knee Osteoarthritis, KOA) 又称为增生性骨关节炎或退行性关节炎,是中老年人常见的骨关节疾病,以关节软骨退行性变、滑膜炎性增生为特

征^[1]。肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导因子 (Tumor Necrosis Factor-like Weak Inducer of Apoptosis, TWEAK) 是肿瘤坏死因子配体超家族成员之一,是一种 II 型跨膜蛋白,具有多功能的细胞因子,可调节细胞增殖、血管生成和诱导凋亡,参与炎症反应以及免疫调节^[2,3]。有研究指出, TWEAK 可影响 TNF- α , MMP-

¹ 北京市丰台区中西医结合医院 (北京, 100072)

[△] 通信作者 E-mail: bjftcb88@qq.com

3 等多种炎症细胞因子的释放,在 OA 中起到重要的作用^[4,5]。目前有关 TWEAK 在 OA 患者血清和关节滑液中的含量以及与 OA 严重程度的相关性尚未见报道。因此,本研究通过检测血清和关节滑液中 TWEAK 水平,分析与 OA 影像学严重程度的相关性,探讨 TWEAK 在 OA 患者中的作用,现报告如下。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

选择 2014 年 4 月至 2015 年 12 月在本院就诊的 OA 患者 58 例:其中男 38 例,女 20 例;年龄 51~76 岁,平均年龄(58.6±9.4)岁;体质量指数(Body Mass Index,BMI)(25.5±4.2)kg/m²。

1.2 纳入标准

1)患者均符合膝骨关节炎诊断标准^[6];2)自愿参加并签署知情同意书。

1.3 排除标准

1)患者有膝关节外伤史;2)膝关节内有半月板损伤者;3)有类风湿关节炎、痛风等疾病,有激素用药史;4)合并有严重心脑血管等疾病者。

1.4 方法

1.4.1 分组方法 对确诊患者行膝关节负重位 X 线片检查,并根据 Kellgren-Lawrence 分级对膝关节严重程度进行评估分组,分为 K-L II 级组 22 例,III 级组 16 例,IV 级组 20 例;选择膝关节 X 线片 K-L 分级 0 级的受试者 30 例为对照组。

1.4.2 标本采集 采用膝关节无菌穿刺技术抽取 OA 患者患侧膝关节滑液 0.5~5.0 mL,3 000 r/min 离心 20 min,分装-80℃保存于冰箱,集中检测。此外,晨起空腹采集两组受试者静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心

20 min,取上清液,-80℃保存于冰箱,集中检测。
1.4.3 TWEAK 水平检测 采用酶联免疫吸附法(Enzyme-linked Immunosorbent Assay,ELISA)检测血清和关节滑液中 TWEAK 水平。人 TWEAK ELISA 试剂盒购自北京易科攀博生物科技有限公司,严格按照试剂盒说明书进行操作,分别设立空白对照、标准品孔和待测样品孔。在 450 nm 波长下测量其吸光度值,根据标准曲线计算样品浓度。

1.5 统计学方法

应用 SPSS18.0 软件进行统计分析,所有计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。符合正态分布和方差齐者,采用 *t* 检验及单因素方差 LSD 分析,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Pearson 法,*P*<0.05 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

OA 组 58 例:其中,男 38 例,女 20 例;年龄 51~76 岁,平均年龄(58.6±9.4)岁;体质量指数(body mass index,BMI)(25.5±4.2)kg/m²。根据 Kellgren-Lawrence 分级对膝关节严重程度进行评估:其中 II 级 22 例,男 14 例,女 8 例;平均年龄(58.5±6.5)岁,BMI(25.1±3.7)kg/m²。III 级 16 例,男 11 例,女 5 例,平均年龄(58.3±4.3)岁,BMI(25.3±4.3)kg/m²。IV 级 20 例,男 13 例,女 7 例,平均年龄(58.8±3.8)岁,BMI(25.9±4.7)kg/m²。各亚组性别、年龄、BMI 之间差异无统计学意义(*P*>0.05)。对照组 30 例,其中男 17 例,女 13 例;平均年龄(57.2±6.2)岁;BMI(24.2±5.3)kg/m²。对照组与 OA 组相比,性别、年龄、BMI 之间差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。

表 1 一般资料的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄(岁)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>	性别比 (男/女)	χ^2	<i>P</i>	BMI (kg/m ²)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
对照组	30	57.2±6.2	<i>t</i> =2.688	0.055	17/13	0.661	0.416	24.2±5.3	<i>t</i> =2.617	0.059
OA 组	58	58.6±9.4			38/20			25.5±4.2		
K-L II 级	22	58.5±6.5	<i>F</i> =0.894	0.457	14/8	0.111	0.946	25.1±3.7	<i>F</i> =0.064	0.939
K-L III 级	16	58.3±4.3			11/5			25.3±4.3		
K-L IV 级	20	58.8±3.8			13/7			25.9±4.7		

2.2 两组血清和关节滑液中 TWEAK 水平比较

OA 组血清 TWEAK 水平[(227.81±48.26)pg/mL]明显高于对照组[(107.30±23.58)pg/mL],差异有统计学意义(*t*=12.880,*P*<0.01);OA 患者关节滑液 TWEAK 水平[(271.14±60.93)pg/mL]显著高于血清水平,差异有统计学意义(*t*=4.246,*P*<0.01)。

2.3 不同亚组间 TWEAK 水平比较

经单因素方差 LSD 分析,三组患者血清及关节滑液 TWEAK 水平,IV 级>III 级>II 级,差异有统计学

意义(*P*<0.05 或 0.01),见表 2。

表 2 不同亚组间血清及关节滑液中 TWEAK 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TWEAK(pg/mL)	
		血清	关节滑液
K-L II 级	22	195.77±39.90	226.72±46.53
K-L III 级	16	231.25±43.28	272.13±53.09
K-L IV 级	20	260.30±37.91	319.20±42.46
<i>F</i>		6.423	10.036
<i>P</i>		0.013	0.008

2.4 相关性分析

血清和关节滑液中 TWEAK 水平与 OA 患者的 K-L 分级呈显著相关性 ($r=0.574, P<0.001$; $r=$

$0.651, P<0.001$), 血清 TWEAK 水平与关节滑液之间呈显著相关性 ($r=0.865, P<0.001$), 见图 1。

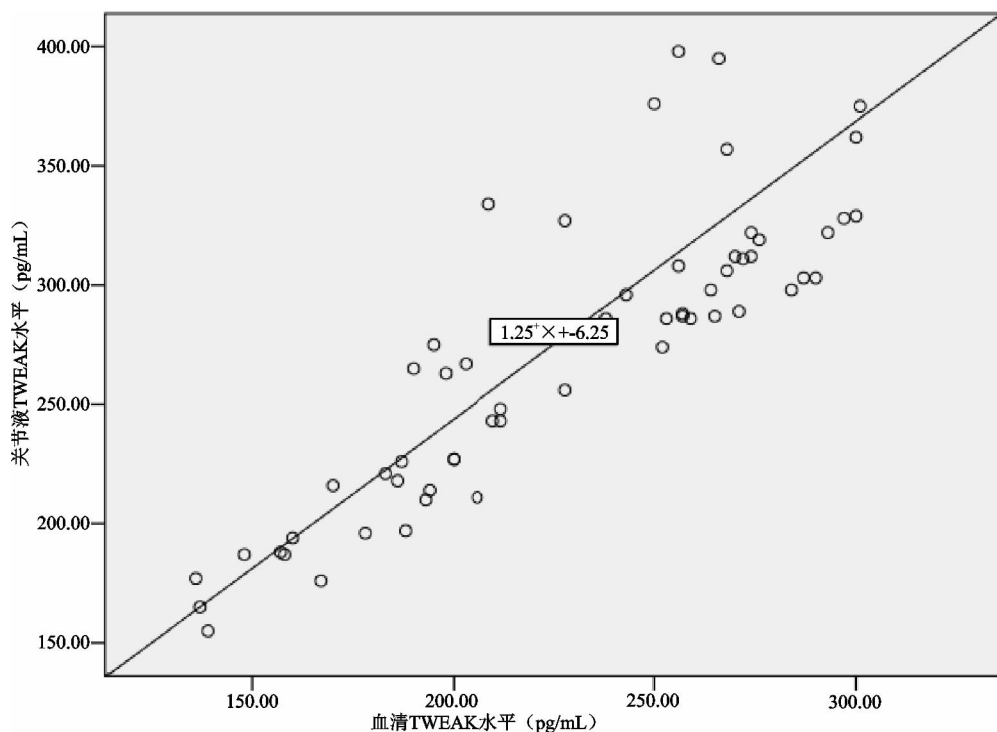


图 1 OA 患者血清和关节液 TWEAK 水平相关性

3 讨论

研究发现, TWEAK 可结合其受体成纤维细胞生长因子诱导因子 14 (Fibroblast Growth Factor Inducible 14, Fn14), 通过 NF- κ B, P38 MARK 等信号通路发挥促炎作用^[7,8]。蔡国平等^[9]研究发现, TWEAK 及其受体 Fn14 的 mRNA 及蛋白表达水平在大鼠 OA 关节软骨及滑膜组织中的表达显著增高, 它们可能是参与 OA 的重要细胞诱导因子。陈琼等^[10]研究发现, TWEAK 在骨关节炎患者的血浆、PBMC 和软骨细胞中高表达。Park 等^[11]研究发现, TWEAK 可促进 IL-17 的分泌, 类风湿关节炎患者血清及关节液中 TWEAK 和 IL-17 含量明显高于 OA 患者, TWEAK 可能是治疗关节炎的靶点。本研究结果显示, 与对照组比较, OA 患者血清 TWEAK 水平明显升高, 关节滑液 TWEAK 水平显著高于血清水平, 表明 TWEAK 可能参与了 OA 的致病过程。TWEAK 通过促进炎症细胞因子的释放以及诱导趋化因子的分泌, 发挥炎症介导作用, 此外, TWEAK 除了可抑制关节组织修复的作用, 还具有作为未来治疗肌萎缩的潜在的分子靶点^[12,13]。陈雯等^[14]研究发现, TWEAK 在 OA 软骨细胞中广泛表达, 其通过诱导产生 MMP-9 引起 OA 软骨的破坏, 从而在 OA 的发病中起作用。陈琼等^[15]研究发现, IL-1 β 与 TWEAK, TNF- α 与 TWEAK 分别诱导 OA 软骨细胞 MMP-13 和 IL-6 表达增加, 可能

参与关节软骨损伤和 OA 的病程发展。因此, TWEAK 在 OA 发病过程中起到重要的作用。

本研究通过 ELISA 法测定血清和关节滑液中 TWEAK 水平变化, 发现血清和关节滑液中 TWEAK 水平与 OA 的严重程度呈正相关, 提示 OA 患者随着 K-L 分级的增加, 血清及关节滑液 TWEAK 水平也逐渐升高, 其中以关节滑液升高更为显著, 这可能与软骨细胞或滑膜细胞分泌 TWEAK 增加有关。此外, 研究还发现血清 TWEAK 水平与关节滑液水平呈正相关, 这可能与 TWEAK 在关节腔内大量聚集, 释放入血有关, K-L 分级增加, 关节软骨损害越严重, 释放入血的 TWEAK 水平越高。因此, TWEAK 水平可作为评价 OA 影像学严重程度的指标。TWEAK 水平与膝关节影像学结果相结合, 从定性到定量方面全面评估 OA 患者的严重程度。本研究不足之处在于单中心实验研究、样本量偏少, 尚缺乏 TWEAK 水平与 OA 患者临床功能评分的关系, 因此, 在后续的研究中需要进一步扩大样本量, 并对 OA 局部组织进行免疫组化等方面的研究, 以期进一步阐明 TWEAK 在 OA 中的作用机制。

以上结果表明, TWEAK 在 OA 发病中起到重要作用, 血清和关节滑液中 TWEAK 水平可作为评价 OA 严重程度的指标。关节滑液中 TWEAK 水平增高, 提示针对关节腔内 TWEAK 的靶向治疗或许可以

延缓 OA 疾病的进展。因此,进一步研究 TWEAK 在 OA 中作用机制将有助于阐明 OA 的发病机制,为 OA 患者的诊治提供新的思路。

参考文献

- [1] 李宁,王拥军,施杞,等. 膝骨性关节炎的中医药防治研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志,2013,21(5):62-65.
- [2] Xu WD,Zhao Y,Liu Y. Role of the TWEAK/Fn14 pathway in autoimmune diseases[J]. Immunol Res,2016,64(1):44-50.
- [3] Dionne S,Levy E,Levesque D,et al. PPAR gamma ligand 15-deoxy-delta 12,14-prostaglandin J2 sensitizes human colon carcinoma cells to TWEAK-induced apoptosis[J]. Anticancer Res,2010,30(1):157-166.
- [4] Winkles JA. The TWEAK-Fn14 cytokine-receptor axis: discovery,biology and therapeutic targeting[J]. Nat Rev Drug Discov,2008,7(5):411-425.
- [5] 陈悦,赵明才. 肿瘤坏死因子样凋亡微弱诱导剂在骨关节炎中的作用[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(18):5392-5496.
- [6] 中华医学会骨科分会. 骨关节炎诊治指南(2007 年版)[J]. 中华骨科杂志,2007,27(10):793-796.
- [7] Zhang Z,Fang Y,Wang Q,et al. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis regulates particle-induced inflammatory osteolysis via the p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway[J]. Mol Med Rep,2015,12(1):1499-1505.
- [8] Cherry EM,Lee DW,Jung JU,et al. Tumor necrosis fac-

tor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) promotes glioma cell invasion through induction of NF- κ B-inducing kinase(NIK) and noncanonical NF- κ B signaling[J]. Mol Cancer,2015,14:9.

- [9] 蔡国平,俞永林,熊敏,等. TWEAK 及其受体 Fn14 在大鼠骨关节炎(OA)关节软骨和滑膜中的表达[J]. 复旦学报:医学版,2013,40(3):265-270.
- [10] 陈琼,赵明才,蒋萍,等. TWEAK/Fn14 在骨关节炎患者中的表达及其临床意义[J]. 川北医学院学报,2013,28(4):302-304.
- [11] Park JS,Park MK,Lee SY,et al. TWEAK promotes the production of Interleukin-17 in rheumatoid arthritis[J]. Cytokine,2012,60(1):143-149.
- [12] Perper SJ,Browning B,Burkly LC,et al. TWEAK is a novel arthritogenic mediator[J]. J Immunol,2006,177(4):2610-2620.
- [13] Kumar A,Bhatnagar S,Paul PK. TWEAK and TRAF6 regulate skeletal muscle atrophy[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care,2012,15(3):233-239.
- [14] 陈雳,陈悦,王梓,等. 肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导因子在骨关节炎软骨细胞的表达及诱导产生 MMP-9 的研究意义[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2012,6(10):2614-2617.
- [15] 陈琼,赵明才,蒋萍,等. 肿瘤坏死因子样微弱凋亡诱导因子对骨关节炎软骨细胞作用实验研究[J]. 检验医学与临床,2013,10(16):2065-2066.

(收稿日期:2016-10-09)

(上接第 17 页)

- [5] Rockwood CA. Disorders of the acromioclavicular joint [M]//RockwoodCA,Matsen FA. The shoulder. Philadelphia:Sounders WB,1985:413-476.
- [6] 常山,严小虎,闫广华,等. 不修复喙锁韧带的锁骨钩钢板固定治疗肩锁关节脱位[J]. 中国骨与关节损伤杂志,2010,25(7):623-624.
- [7] Constant CR,Murley AH. A clinical method of functional assessment of the shoulder[J]. Clin Orthop Relat Res,1987,214:160-164.
- [8] Canale ST. 坎贝尔骨科手术学[M]. 11 版. 北京:人民军医出版社,2009:2813.
- [9] 王海明,陈云丰,陆叶,等. Triple-Endobutton 技术与锁骨钩钢板置入治疗肩锁关节脱位的比较[J]. 中国组织工程研究,2012,16(17):3105-3010.
- [10] 杨英果,蔡晓冰,王晓民,等. 钩钢板治疗肩锁关节脱位肩痛原因分析的病例对照研究[J]. 中国骨伤,2015,28(6):494.
- [11] Baker JE,Nicandri GT,Young DC,et al. A cadaveric study examining acromioclavicular joint congruity after

different methods of coraco-clavicular loop repair[J]. J Shoulder Elbow Surg,2003,12:595-598.

- [12] 张峻,王友,孙月华,等. Endobutton 治疗肩锁关节脱位术后复位丢失与固定装置力臂的相关性研究[J]. 医用生物力学,2011,26(5):476-481.
- [13] 诸力,杨贺杰,赵万军,等. Endobutton 袢钢板和锁骨钩钢板治疗新鲜肩锁关节脱位的病例对照研究[J]. 中国骨伤,2012,25(2):120-123.
- [14] 田竞,于海龙,薛海鹏,等. Endobutton 技术治疗肩锁关节脱位失效的原因分析[J]. 中国骨与关节外科,2012,5(6):497-500.
- [15] 赵加松,扶世杰,汪国友,等. 关节镜辅助下袢钢板治疗 Rockwood Ⅲ型肩锁关节脱位的临床疗效观察[J]. 中国矫形外科杂志,2015,23(16):1527-1529.
- [16] 颜瑞健,陆建伟,张春. 改良双 Endobutton 技术治疗 Tossy Ⅲ型肩锁关节脱位的远期疗效分析[J]. 中国骨伤,2014,27(1):9-12.

(收稿日期:2016-08-01)