

膝关节液透明质酸含量与关节软骨损伤的关系

郝一勇, 卫小春

(山西医科大学第二医院骨科, 山西 太原 030001)

摘要 目的:探讨膝关节液透明质酸含量与关节软骨损伤程度之间的关系。方法:采用 ELISA 法检测膝关节疾病患者 102 例共 104 膝的关节液透明质酸含量,并在关节镜下应用 Outerbridge 关节软骨损伤评分法和 Ayrall 滑膜炎评分法评价膝关节软骨损伤程度和滑膜炎病理变化程度。采用 t 检验、方差分析、Spearman 相关分析和多元线性回归分析进行统计分析。结果:临床诊断为 OA 组的关节液透明质酸含量较非 OA 组低 ($t = -2.186, P < 0.05$)。Outerbridge 软骨损伤累计评分 ≥ 10 分组关节液透明质酸含量比 Outerbridge 软骨损伤累计评分 < 10 分组低 ($t = -2.316, P < 0.05$)。104 膝关节液透明质酸含量除主要与 Ayrall 滑膜炎评分呈正相关 ($r_A = 0.497, P < 0.001$) 之外,还与 Outerbridge 软骨损伤累计评分呈负相关 ($r_O = -0.364, P < 0.001$)。在 Ayrall 滑膜炎评分 ≥ 60 分组,关节液透明质酸含量与 Outerbridge 软骨损伤累计评分呈负相关 ($r_O = -0.437, P < 0.001$),与 Ayrall 滑膜炎评分呈正相关 ($r_A = 0.339, P < 0.01$),其中关节软骨累计损伤程度的影响较大。结论:关节液透明质酸除主要反映膝关节滑膜炎程度外,在一定程度上还可反映关节软骨累计损伤程度。当滑膜炎较重时,后者则起主导作用。膝关节液透明质酸含量的降低提示关节软骨累计损伤程度较重。

关键词 透明质酸; 关节疾病; 软骨,关节; 膝关节; 关节镜检查

The relationship of hyaluronic acid level in the synovial fluid of the knee with the degree of cartilage injury

HAO Yi-yong, WEI Xiaochun. Department of Orthopaedics, the Second Affiliated Hospital of Shanxi Medical University (Shanxi Taiyuan, 030001, China)

Abstract Objective: To explore the relationship of hyaluronic acid level in the synovial fluid of the knee with the degree of cartilage injury. **Methods:** A total of 104 knees in 102 patients with knee osteoarthritis (OA) or other knee diseases were studied. The hyaluronic acid level in the synovial fluid of the knees was measured with enzyme linked immunoassay. The pathology of the synovium and articular cartilage was observed with arthroscopy, and degree of synovitis and cartilage injury under arthroscopy was graded with Ayrall's score system for evaluation of the synovitis and Outerbridge's score system for cartilage injury. The data were analyzed by t -test, analysis of variance, Spearman correlation and multiple liner regression. **Results:** The results showed that the hyaluronic acid level in the synovial fluid of OA knees was lower ($t = -2.186, P < 0.05$) than other knee diseases. The hyaluronic acid level in the synovial fluid of the knees was lower in those with accumulative Outerbridge's score ≥ 10 than in those with the score < 10 ($t = -2.316, P < 0.05$). The hyaluronic acid level in the synovial fluid of the knees was correlated positively with Ayrall's score ($r_A = 0.497, P < 0.001$) and negatively with accumulative Outerbridge's score ($r_O = -0.364, P < 0.001$), especially Ayrall's synovitis score in 104 knees. The level of hyaluronic acid in the synovial fluid in the knees with Ayrall's score ≥ 60 was correlated negatively with accumulative Outerbridge's score ($r_O = -0.437, P < 0.001$) and positively with Ayrall's score ($r_A = 0.339, P < 0.01$), especially accumulative Outerbridge's score. **Conclusion:** The hyaluronic acid level in the synovial fluid of the knee can reflect the degree of synovitis and accumulative cartilage injury, especially synovitis. It reflects the degree of accumulative cartilage injury mainly when synovitis is more severe. The accumulative cartilage injury is more severe when the hyaluronic acid level in the synovial fluid of the knee is reducing.

Key words Hyaluronic acid; Joint diseases; Cartilage, articular; Knee joint; Arthroscopy

基金项目:卫生部科研基金资助项目(编号:2002742);山西省科学技术厅基金资助项目(编号:011042)。

通讯作者:郝一勇(现在山西省太原市尖草坪区柏杨树街 25 号太钢总医院骨科,030003) Tel:0351-3074234-2697 E-mail:haoyiyong@sohu.com

目前骨性关节炎 (osteoarthritis, OA) 的诊断主要依靠影像学手段,不能发现关节组织病变的早期生化改变。所以,近年来人们不断地寻找反映 OA 代谢变化的生物标记物 (biomarker, BM)^[1,2],期望有助于 OA 的早期诊断。既往研究表明,OA 患者关节液透明质酸 (hyaluronan, HA) 浓度较健康人为低,并认为 HA 是反映 OA 病变相对独立的炎症反应指标^[3]。但这些研究对 OA 病变程度的确定是基于 X 线的变化,不能准确地反映关节内组织的病理变化。本研究通过检测膝关节疾病患者关节液 (synovial fluid, SF) 中的 HA 含量,并在关节镜下直接观察关节内相关组织的病理变化程度,探讨关节液中 HA 含量与关节软骨损伤病变程度之间的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料 收集 2001 - 2003 年在我院行关节镜诊治并抽取关节液的膝关节疾病患者 102 例共 104 膝,男 47 例,女 55 例 (57 膝);年龄 11 ~ 70 岁,平均 42.9 岁。其中临床诊断为膝 OA (1996 年美国风湿病学会标准) 42 例 44 膝 (即 OA 组),男 14 例,女 28 例 (双膝 OA 2 例);年龄 31 ~ 75 岁,平均 59.2 岁。其它膝关节疾病共 60 例 (即非 OA 组),男 33 例,女 27 例;年龄 11 ~ 60 岁,平均 30.9 岁。半月板损伤 21 例,滑膜皱襞综合征 12 例,前交叉韧带损伤 12 例,后交叉韧带损伤 6 例,侧副韧带损伤 2 例,游离体 5 例,滑膜软骨瘤病 4 例,痛风性关节炎 1 例 (合并症分别计算)。所有患者均无关节肿胀且浮髌征阴性,肝肾功能正常并排除恶性肿瘤、全身性感染,且在检测前 2 个月内未服用皮质激素类药物。

1.2 关节液的采集 在关节镜手术时,麻醉后常规消毒铺单,取髌下前内侧入路行膝关节腔穿刺,注入 10 ml 生理盐水,完全屈伸膝关节 20 次,穿刺抽取关节液并盛于血清管中,暂时保存在 4℃ 条件下。在术后 2 h 内,以 4 500 r/min、20 min 条件进行离心,取上清液分装于 Eppendorf 管中, - 70℃ 深低温保存。

1.3 关节镜下关节软骨损伤和滑膜炎病理变化程度的评价 根据膝关节镜检查所见,采用 Outerbridge^[4] 软骨损伤评分法,对髌骨、股骨髌面、股骨内侧髌、股骨外侧髌、胫骨内侧髌和胫骨外侧髌共 6 个区域的关节软骨损伤大体病理变化情况进行评分,各区域分值为 0 ~ 4 分:关节软骨正常,0 分;关节软骨表面软化和肿胀,大小不计,1 分;关节软骨有破裂和裂隙形成,小于 1.5 cm², 2 分;关节软骨有破裂和裂隙形成,大于 1.5 cm², 3 分;关节软骨下骨暴露,大

小不计,4 分。将上述 6 个区域的分值相加,即得膝 Outerbridge 软骨损伤累计评分值,其范围为 0 ~ 24 分。

根据 Outerbridge 关节软骨损伤累计评分可将 104 膝分为 2 组。Outerbridge 软骨损伤累计评分 10 分 47 膝,男 14 膝,女 33 膝;年龄 31 ~ 59 岁,平均 59.0 岁。Outerbridge 软骨损伤累计评分 < 10 分 57 膝,男 24 膝,女 33 膝;年龄 11 ~ 66 岁,平均 29.6 岁。

根据膝关节 6 个区域中最高的 Outerbridge 关节软骨损伤评分,则可将 104 膝分 5 组。0 分 20 膝中男 9 膝,女 11 膝;年龄 11 ~ 45 岁,平均 24.9 岁。1 分 10 膝,男 5 膝,女 5 膝;年龄 12 ~ 55 岁,平均 29.5 岁。2 分 17 膝,其中男 14 膝,女 3 膝;年龄 19 ~ 60 岁,平均 33.4 岁。3 分 13 膝,男 3 膝,女 10 膝;年龄 22 ~ 63 岁,平均 46.2 岁。4 分 44 膝中男 16 膝,女 28 膝;年龄 28 ~ 75 岁,平均 56.8 岁。

此外,采用 Ayral 等^[5] 关节镜膝滑膜炎评分法,先对 104 例膝关节前滑膜腔 9 个区域的滑膜异常程度进行分类并赋值 (X₁ ~ X₉),其中正常滑膜 (0 分) 的关节镜下表现为:极少数细长的半透明绒毛,伴纤细且清晰可见的血管网;反应性滑膜 (0.5 分):数量增多的不透明绒毛 (形态可正常、增厚或矮胖),血管网不可见;炎症性滑膜 (1 分):肥大充血的绒毛增生和 (或) 过度血管生成。再结合各滑膜区域所占前滑膜腔的比例,按照公式: Ayral 滑膜炎评分 = 20X₁ + 10X₂ + 10X₃ + 25X₄ + 10X₅ + 10X₆ + 5X₇ + 5X₈ + 5X₉ 计算,得膝关节 Ayral 滑膜炎评分值 (0 ~ 100 分)。根据 Ayral 滑膜炎评分可将 104 膝分为 Ayral 滑膜炎评分 < 60 分组和 Ayral 滑膜炎评分 ≥ 60 分两组。

1.4 关节液透明质酸含量测定 用 ELISA 法对关节液透明质酸 (SF-HA) 浓度进行测定 (上海森雄科技实业有限公司的透明质酸酶联免疫试剂盒)。检测前将关节液标本从 - 70℃ 移至室温下静置 30 min,待其完全解冻后混匀,用样本稀释液将关节液标本作 12.5 倍的稀释。将标准液、质控液、稀释后的待测关节液标本各 100 μl 分别加入已包被有鼠抗人 HA 单抗的 96 孔反应板中,充分混匀后置于 37℃ 恒温孵育 120 min。用洗涤液将反应板充分洗涤 6 次,在滤纸上印干。每孔加入生物素标记的兔抗人 HA 多抗 50 μl,置 37℃、60 min。同前洗板后,加入辣根过氧化物酶标记的亲素酶标抗体工作液 100 μl,置 37℃、60 min。同前洗板,再加入邻苯二胺底物工作

液 100 μl,置 37 °C 暗处反应 10 min。最后每孔加入 2 M 硫酸终止液 50 μl 混匀,在 492 nm 下测其 OD 值(芬兰 Labsystems Dragon, Wellsan MK3 型酶标分析仪)。

1.5 统计方法 结果采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较用方差分析,两因素相关性分析采用 Spearman 相关,检验水准 $\alpha = 0.05$;多因素分析采用多元线性回归分析(逐步法),检验水准为 $\alpha_{引入} = 0.05$, $\alpha_{剔除} = 0.10$ 。所有数据应用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理。

2 结果

OA 组 SF-HA 浓度为 (181.7 ± 105.3) ng/ml,非 OA 组为 (280.5 ± 327.8) ng/ml, $t = -2.186$, $P = 0.032 < 0.05$ 。

Outerbridge 软骨损伤累计评分 ≥ 10 分组 SF-HA 浓度为 (179.3 ± 104.4) ng/ml,Outerbridge 软骨损伤累计评分 < 10 分组为 (287.6 ± 334.9) ng/ml, $t = -2.316$, $P = 0.024 < 0.05$ 。

Outerbridge 软骨损伤最高评分 0 分组的 SF-HA 浓度为 (349.0 ± 415.5) ng/ml,1 分组为 (249.0 ± 330.8) ng/ml,2 分组为 (225.9 ± 308.6) ng/ml,3 分组为 (205.4 ± 130.8) ng/ml,4 分组为 (200.9 ± 131.7) ng/ml。多组间 SF-HA 浓度的方差分析, $F = 1.192$, $P = 0.319 > 0.05$ 。

将 104 例 SF-HA 浓度作为应变量,将性别(赋值为:男=0,女=1)、年龄、Ayrat 滑膜炎评分和 Outerbridge 软骨损伤累计评分作为待引入的自变量进行多元线性回归分析,得回归方程:SF-HA 浓度 = 0.918 + 5.967 × Ayrat 滑膜炎评分 - 12.073 × Outerbridge 软骨损伤累计评分。Ayrat 滑膜炎评分的标准化偏回归系数 $\beta_A = 0.497$, $P = 0.000 < 0.001$;Outerbridge 软骨损伤累计评分 $\beta_O = -0.364$, $P = 0.000 < 0.001$; $|\beta_A| > |\beta_O|$ 。

将 SF-HA 浓度与 Outerbridge 软骨损伤累计评分作 Spearman 相关分析,两者在 Ayrat 滑膜炎评分 ≥ 60 分组呈负相关 ($r = -0.275$, $P < 0.05$) (图 1),而在 Ayrat 滑膜炎评分 < 60 分组无相关性 ($r = 0.147$, $P = 0.324 > 0.05$)。

将 Ayrat 滑膜炎评分 ≥ 60 分组 SF-HA 浓度作为应变量,将性别(赋值为:男=0,女=1)、年龄、Ayrat 滑膜炎评分和 Outerbridge 软骨损伤累计评分作为待引入的自变量进行多元线性回归分析,得回归方程:SF-HA 浓度 = -260.017 - 17.227 × Outerbridge 软

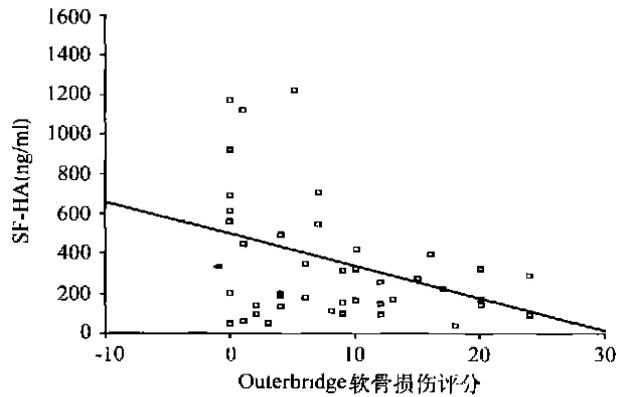


图 1 Ayrat 滑膜炎评分 ≥ 60 分组 SF-HA 浓度与 Outerbridge 软骨损伤累计评分的相关分析

Fig. 1 The negative correlation of the level of hyaluronic acid in the synovial fluid with accumulative Outerbridge's score in the knees with Ayrat's score ≥ 60

骨损伤累计评分 + 10.407 × Ayrat 滑膜炎评分。其中 Outerbridge 软骨损伤累计评分的标准化偏回归系数 $\beta_O = -0.437$, $P < 0.001$;Ayrat 滑膜炎评分的 $\beta_A = 0.339$, $P < 0.01$; $|\beta_O| > |\beta_A|$ 。

3 讨论

既往研究表明 OA 患者关节液中透明质酸的浓度、分子量和粘弹性均低于正常^[6],本研究也显示 OA 组的 SF-HA 含量比非 OA 组低,与既往研究相符^[3]。其原因可能与关节内炎症、生物力学、生物化学和免疫学等方面的异常有关。

文献报道透明质酸是反映滑膜合成代谢的 BM 之一^[2],但 Chevalier^[7]认为它可反映软骨的破坏。本研究 104 膝多元回归分析结果表明,SF-HA 含量除主要受滑膜炎的影响外,关节软骨累计损伤程度也是影响 SF-HA 含量的因素之一。

此外,Outerbridge 软骨损伤累计评分 ≥ 10 分组的 SF-HA 含量较 Outerbridge 软骨损伤累计评分 < 10 分组低,提示关节软骨累计损伤较重以总量丢失为主(即软骨残存总量减少)时,SF-HA 含量显著降低。而据 Outerbridge 软骨损伤最高评分分组的多组间 SF-HA 浓度比较,说明 SF-HA 含量不能反映关节内最重的软骨损伤。究其机制,SF-HA 含量可能与关节软骨基质中 HA 的降解流失和关节软骨的残存总量有关。一方面,退变关节软骨可能发生 HA 的大量流失。OA 时软骨基质中的部分 HA 和新合成的 HA 发生降解,使关节液中软骨来源的 HA 含量呈升高趋势。另一方面,随着关节软骨退变的逐渐加重,软骨总量的丢失使残存的基质总量和软骨细胞

数量都减少,导致释放到关节液中的 HA 减少,使 SF-HA 含量出现降低趋势。关节软骨损伤对 SF-HA 含量的影响是上述两种趋势共同作用的结果,软骨来源的 SF-HA 含量可能综合反映退变关节软骨分解代谢水平及其残存总量,而以后者为甚。

本组资料表明随膝关节滑膜炎程度的不同,上述两种趋势综合作用的结果也不同。SF-HA 浓度与软骨累计损伤程度在 Ayrat 滑膜炎评分 60 分组呈负相关,结合该组多元回归分析结果,提示在滑膜炎较重时,关节软骨累计损伤程度的加重则是 SF-HA 含量降低的主要原因,此时关节软骨损伤以总量丢失为主,软骨残存总量对 SF-HA 含量的影响占主导地位。然而,二者在 Ayrat 滑膜炎评分 < 60 分组无相关性,说明当滑膜炎程度较轻时,关节软骨损伤以代谢变化为主,软骨总量的变化较小,上述两种趋势的作用相当,关节液中软骨来源 HA 的量对 SF-HA 含量无明显影响。

总之,关节液透明质酸含量除受滑膜炎的主要影响外,关节软骨累计损伤程度也是其影响因素之

一。当膝关节滑膜炎程度较重时,后者则成为影响关节液透明质酸含量的主要原因。膝关节液透明质酸含量的降低提示关节软骨累计损伤程度较重。

参考文献

- 1 Poole R. NIH White Paper: Biomarkers, the Osteoarthritis Initiative: A Basis for Discussion. 2000. 1.
- 2 Young-Min SA, Cawston TE, Griffiths ID. Markers of joint destruction: principles, problem, and potential. Ann Rheum Dis, 2001, 60: 545-548.
- 3 刘湘源, 于清宏, 施桂英, 等. 骨关节炎患者血清及滑液透明质酸的变化. 中华风湿病学杂志, 1998, 2: 25-28.
- 4 Outerbridge RE. The etiology chondromalacia patellae. J Bone Joint Surg (Br), 1961, 43B: 752-757.
- 5 Ayrat X, Mayoux-Benhamou A, Dougados M. Propose scoring system for assessing synovial membrane abnormalities at arthroscopy in knee osteoarthritis. British Journal Rheumatology, 1996, 35 (Supp 13): 14-17.
- 6 Ghosh P. Hyaluronan and biochemical lesions of osteoarthritis. Immuno Cell Biol, 1996, 74: A9-A12.
- 7 Chevalier X. Is a biological marker for osteoarthritis within reach. Rev Rhum Engl Ed, 1997, 64: 562-577.

(收稿日期: 2003 - 09 - 16 本文编辑: 李为农)

北京市京华行科贸有限责任公司

生产研制产品报价单

京药管械经营许 20000737 号 京医械广备(字)第 200312099 号

一、牵引康复设备 (D)代表全电脑控制

1. JKF 系列多功能脊柱牵引康复床: 电脑程控, 腰椎、颈椎、全身静止、间歇牵引, 侧扳, 腰部热疗按摩。

型 19 800 元/台 A 型: 26 500 元/台 A(D) 型: 38 000 元/台

IB 型: 8 800 元/台 IB(D) 型: 19 800 元/台 IC 型: 13 000 元/台 IC(D) 型: 23 900 元/台

2. FYC 系列伏卧式多功能腰椎治疗床: 屈膝伏卧位牵引、捶击、热疗一体化, 颈牵、下肢摇摆。

型: 9 850 元/台 A 电动型: 13 900 元/台 A(D) 型: 29 000 元/台

3. JQY 系列多功能颈椎牵引治疗仪: 颈牵、电针、热疗一体化。

型: 5 800 元/台 (B) 型: 12 600 元/台 (A) 型: 8 800 元/台 C 家用型: 520 元/台

二、RL Y- A 系列 BH 型中频热场针灸按摩仪

该系列产品均为电脑程控, 型产品具有人工针灸的各种针法及按摩手法, 手法逼真、柔和、深沉, 力度等同人工。中频波渗透性强, 可调至较深层次的穴位及病灶处。型和型增设远红外线热疗、药物离子导入, 配有与人体各部位相吻合的药物模具。主治: 风湿病、腰椎间盘突出症、颈椎病、骨质增生、关节炎、急慢性扭拉伤、偏瘫肢体恢复等。

型: 6 000 元/台 型: 9 000 元/台(双功能型) 型: 12 000 元/台(双功能智能型)

三、其它设备

1. XN 心脑血管检查治疗仪 A 型 2 960 元/台 2. GZ 骨质增生药物电泳治疗仪 A 型 3 260 元/台

3. FD 风湿治疗仪 A 型 2 880 元/台 4. DJS 胆结石治疗仪 A 型 3 380 元/台

邮购办法: (1) 邮局, 银行汇款均可, 款到后立即发货。(2) 厂家销售, 所售产品保修壹年, 长期维修。运费保险费由我方负责。(3) 面向全国常年办理邮购, 欢迎来函来电索取资料。公司地址: 北京广安门外大街 305 号八区荣丰嘉园 8 号楼 2722 号 邮编: 100055 联系人: 徐照 电话: 010 - 63275185, 63275186 值班电话: 010 - 66031777 手机: 13901040602, 13910097637 银行汇款户名: 北京市京华行科贸有限责任公司 开户行: 北京建行玉泉路支行 帐号: 6510006032630017010