

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.04.016

# 膝关节骨关节炎软骨中 YKL-40、IL-1 $\beta$ 的表达及相关性探讨

苏晓恩,孔志强,朱娟,邓海棠,张震乾,冯文杰

(广东省肇庆市第一人民医院骨科 526000)

**[摘要]** **目的** 研究膝关节骨关节炎(KOA)病患软骨中甲壳质酶(YKL-40)、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )的表达水平,并分析两者相关性。**方法** 选择该院骨科住院就诊的符合 KOA 诊断的病患 38 例,记为观察组。再选择同期因膝关节外伤行膝关节镜检查治疗或膝关节骨折内固定手术患者关节软骨 30 例,记为对照组。根据 KOA 放射线及关节镜下分级标准,将观察组分为轻度组 16 例、中度组 11 例及重度组 10 例。对比所有病患的 YKL-40、IL-1 $\beta$ 、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )表达水平,同时进行 Mankin 评分、细胞死亡率的对比。**结果** 观察组 YKL-40、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  表达水平及 Mankin 评分、细胞死亡率均显著高于对照组,并且观察组中轻度、中度、重度的 YKL-40 等指标水平呈上升水平(均  $P < 0.05$ )。并且 YKL-40 表达水平与 IL-1 $\beta$  水平存在显著的正相关( $r = 0.738, P = 0.000$ )。此外, YKL-40 表达水平还与 IL-6( $r = 0.819, P = 0.000$ )、TNF- $\alpha$ ( $r = 0.871, P = 0.000$ )表达水平及 Mankin 评分( $r = 0.832, P = 0.000$ )、细胞死亡率存( $r = 0.832, P = 0.000$ )在显著的正相关。**结论** KOA 病患中 YKL-40、IL-1 $\beta$  呈高表达状态,并且两者呈现显著的正相关。

**[关键词]** 骨关节炎,膝;甲壳质酶蛋白;白细胞介素-1 $\beta$ **[中图分类号]** R684.3**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)04-0480-03

## The expressions and related discussion of YKL-40 and IL-1 $\beta$ in the cartilage of knee osteoarthritis

Su Xiaoen, Sun Zhiqiang, Zhu Juan, Deng Haitang, Zhang Zhenqian, Feng Wenjie

(Department of Orthopaedics, the First People's Hospital of Zhaoqing city, Zhaoqing, Guangdong 526000)

**[Abstract]** **Objective** To study the expressions of YKL-40 and IL-1 $\beta$  in the cartilage of knee osteoarthritis(KOA), and analysis the possible relationship between YKL-40, IL-1 $\beta$  in KOA. **Methods** Thirty-eight patients diagnosed with KOA were selected in this hospital as observation group. Then select 30 articular cartilage cases in the same period due to knee injury knee joint examination or treatment of knee joint fracture surgery patients, referred to as the control group. According to KOA radiation and arthroscopic grading standards, the observation group was divided into 16 cases of mild group, 10 cases of moderate group, 11 cases of severe groups. Compare the expression levels of all patients including YKL-40, interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), while recording Mankin score and cell mortality. **Results** Expression of YKL-40, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , Mankin scores and rate of cell death about observation group were significantly higher than control group, the indicators above in mild, moderate, severe group showed a trend of rising(all  $P < 0.05$ ). And the expression levels of YKL-40 and IL-1 $\beta$  were significantly positive correlation ( $r = 0.738, P = 0.000$ ). In addition, The expression levels of YKL-40 had relation with IL-6 ( $r = 0.819, P = 0.000$ ), TNF- $\alpha$  ( $r = 0.871, P = 0.000$ ) and Mankin score ( $r = 0.832, P = 0.000$ ), cells mortality deposit ( $r = 0.832, P = 0.000$ ). **Conclusion** Expression levels of YKL-40 and IL-1 $\beta$  were significantly increased in cartilage of knee osteoarthritis patients, and there showed a significant positive correlation between YKL-40 and IL-1 $\beta$ .

**[Key words]** osteoarthritis, knee; YKL-40; interleukin-1 $\beta$ 

膝关节骨关节炎(cartilage of rnee osteoarthritis, KOA)在临床上是一种慢性炎症疾病,在老年人群中发病率相对较高<sup>[1]</sup>。KOA 发生机制复杂,并且在软骨细胞合成、分解代谢水平处于较低状态,使得软骨细胞的再生能力明显下降。因此需要对重要的相关因子进行深入研究为临床上进一步治疗提供依据。其中甲壳质酶(YKL-40)又被称为人软骨糖蛋白 39,能对软骨损伤程度作出较好的反应<sup>[2]</sup>。IL-1 $\beta$ 是炎症反应的重要因子,其分泌量的增加会破坏组织及集体的功能<sup>[3-4]</sup>。鉴于此,本文对 KOA 患者 YKL-40、IL-1 $\beta$  水平的检测及相关性进行分析,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2014 年 1 月至 2015 年 6 月在本科室住院就诊的符合 KOA 诊断的病患 38 例,记为观察组。所有病患均确诊为膝关节骨关节炎同时排除类风湿关节炎、强直性脊柱炎、感染性关节炎等其他疾病。包括男 21 例,女 17 例。年龄在 43~75 岁,平均(59.3 $\pm$ 5.12)岁。再选择同期因膝关节

外伤行膝关节镜检查治疗或膝关节骨折内固定手术患者关节软骨同时排除骨关节炎病变的病患 30 例,记为对照组。其中男 18 例,女 12 例。年龄 40~78 岁,平均(59.7 $\pm$ 5.17)岁。两组人员在年龄、性别等基本资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。根据 KOA 放射线及关节镜下分级标准<sup>[1]</sup>,关节镜下软骨损伤分级(Outerbridge), I 度:表面轻度的水泡(软化和肿胀);II 度:直径小于 1 cm 的毛糙和浅表溃疡、纤维化;III 度:损伤直径大于 1 cm 深溃疡,无软骨下骨暴露;IV 度:全厚撕裂合并软骨下骨暴露。X 线片下软骨损伤分级按照 Kellgren-Lawrence (K-L)分级标准进行分级,0 级:正常;I 级:关节间隙无变窄,可疑骨赘或微小骨赘;II 级:关节间隙可疑变窄,有明显的轻度骨赘;III 级:关节间隙明显狭窄,骨质有硬化性改变,中度多发骨赘形成;IV 级:关节间隙明显狭窄,严重硬化性改变及明显关节畸形,有大量骨赘形成。将入组患者分为 3 组。轻度组:K-L 分级 0~1 级合并软骨 I 度损伤;中度组:K-L 分级 II 级和/或软骨 II~III 度损伤;重度组:K-L 分级 III~IV 级和/或

软骨Ⅳ度损伤将观察组分为轻度组 16 例、中度组 11 例及重度组 10 例。

1.2 方法

1.2.1 标本获取与保存 所获软骨标本均在手术后 1 h 内进行处理:首先肉眼观察大体标本并进行记录,然后切取全层软骨标本,修切成 1.0 cm×0.8 cm×0.5 cm 大小,用 4% 中性多聚甲醛固定 72 h 后置于-70 ℃深低温冰箱中冷冻保存备用。

1.2.2 标本处理 试验前取出标本,缓慢复温至室温,常规梯度乙醇脱水,石蜡包埋,载玻片用 10% 的多聚赖氨酸处理,5 μm 切片以备染色。其中 YKL-40、IL-1β 均采用免疫组织化学法检测。

1.2.3 病变情况评估 采用 Mankin 评分标准对病变情况进行评估,并在记录后统计对比。

1.2.4 细胞凋亡率 采用 TUNEL 法染色检测软骨细胞凋亡率,在显微镜下观察结果。随机选取 10 个细胞统计阳性细胞数,其中细胞凋亡率=凋亡细胞/(凋亡细胞数+未凋亡细胞数)×100%。使用 Olympus BX-51 电光源(荧光)显微镜,选取不同视野观察并照相,显微图像分析系统(SamplePCI)测定软骨内反应产物吸光度值,采集到关节软骨图像随机选取 6 个区域测定吸光度值,计算均值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS12.0 软件进行数据分析,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,主要包括单因素方差分析(one way-ANOVA);两个指标相关性采用 Pearson 相关分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同病患中 YKL-40、IL-1β 表达水平对比 观察组 YKL-40、IL-1β 表达水平均显著高于对照组,并且观察组中轻度、中度、重度的 YKL-40、IL-1β 表达水平呈上升趋势(均  $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 不同病患中 YKL-40、IL-1β 表达水平对比( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	YKL-40	IL-1β
对照组	30	0.153 9±0.016 3	0.162 1±0.018 3
观察组轻度	16	0.190 4±0.023 1 <sup>a</sup>	0.219 2±0.024 1 <sup>a</sup>
观察组中度	11	0.224 1±0.027 4 <sup>ab</sup>	0.241 9±0.027 5 <sup>ab</sup>
观察组重度	10	0.274 8±0.032 1 <sup>abc</sup>	0.274 3±0.029 2 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与对照组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与观察组轻度比较;<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与观察组中度比较。

2.2 不同病患中 IL-6、TNF-α 表达水平对比 观察组 IL-6、TNF-α 表达水平均显著高于对照组,并且观察组中轻度、中度、重度的 IL-6、TNF-α 表达水平呈上升趋势(均  $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 不同病患中 IL-6、TNF-α 表达水平对比( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IL-6	TNF-α
对照组	30	0.146 3±0.019 4	0.151 2±0.018 4
观察组轻度	16	0.184 3±0.023 1 <sup>a</sup>	0.193 2±0.022 4 <sup>a</sup>
观察组中度	11	0.241 7±0.025 1 <sup>ab</sup>	0.229 5±0.025 1 <sup>ab</sup>
观察组重度	10	0.278 3±0.028 4 <sup>abc</sup>	0.284 7±0.028 4 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与对照组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与观察组轻度比较;<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与观察组中度比较。

2.3 不同病患中 Mankin 评分、细胞死亡率对比 观察组 Mankin 评分、细胞死亡率均显著高于对照组,并且观察组中轻度、中度、重度的 Mankin 评分、细胞死亡率呈上升趋势(均  $P <$

0.05),见表 3。

表 3 不同病患中 Mankin 评分、细胞死亡率对比( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Mankin 评分(分)	细胞死亡率(%)
对照组	30	0.57±0.12	3.19±0.78
观察组轻度	16	4.12±1.04 <sup>a</sup>	8.94±1.42 <sup>a</sup>
观察组中度	11	8.14±1.73 <sup>ab</sup>	14.59±1.78 <sup>ab</sup>
观察组重度	10	12.63±2.42 <sup>abc</sup>	17.13±2.31 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与对照组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与观察组轻度比较;<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与观察组中度比较。

2.4 YKL-40 与其他指标的相关性分析 YKL-40 表达水平与 IL-1β 水平存在显著的正相关。此外,YKL-40 表达水平还与 IL-6、TNF-α 表达水平及 Mankin 评分、细胞死亡率存在显著的正相关。见表 4。

表 4 YKL-40 与其他指标的相关性分析

项目	r	P
IL-1β	0.738	0.000
IL-6	0.819	0.000
TNF-α	0.871	0.000
Mankin 评分	0.832	0.000
细胞死亡率	0.872	0.000

3 讨 论

本研究发现观察组 YKL-40、IL-1β、IL-6、TNF-α 表达水平及 Mankin 评分、细胞死亡率均显著高于对照组,并且观察组中轻度、中度、重度的 YKL-40 等指标水平呈上升趋势。说明 KOA 病患 YKL-40、IL-1β 等细胞因子水平及细胞死亡率明显上升,并且随着 KOA 病变程度加深而增加。首先,YKL-40 是其 mRNA 或者蛋白质在炎症反应、细胞退化过程中高度表达,所以其分泌量的大小与细胞活性存在很大联系。YKL-40 在真核细胞的细胞质中都有产生,是一种对软骨具有保护作用的因子。并且 YKL-40 能促进细胞生长,同时抑制细胞凋亡<sup>[5]</sup>。而在 KOA 病患病情加重的时候 YKL-40 水平会显著上升,笔者认为这可能与软骨组织在受到生物力学或者生物化学的刺激迅速反应后产生更多的 YKL-40。IL-1β 是 IL-1 家族成员之一,IL-1 则在淋巴细胞、软骨相关的靶细胞上都有存在<sup>[6-7]</sup>。IL-1β 在 KOA 发生过程中是通过不同路径加快了软骨的分解代谢,同时对软骨的合成代谢具有显著抑制作用。并且 IL-1β 还与 IL-6、TNF-α 等炎症因子有诱导作用,促进炎症介质的大量释放。而 IL-1β、IL-6、TNF-α 都会对组织造成不同的伤害,进而加重病情。

此外,本研究还发现:YKL-40 表达水平与 IL-1β、IL-6、TNF-α 表达水平及 Mankin 评分、细胞死亡率均存在显著的正相关。说明 YKL-40 水平与 IL-1β、IL-6、TNF-α 等因子同时上升,并且随着 YKL-40 水平的上升 Mankin 评分、细胞死亡率也上升。IL-1β 在引起多种炎症因子的释放后对组织造成不同程度的破坏,进而使得细胞凋亡比例逐渐上升。这就在很大程度上加速了软骨的分解,加重了病情。而 YKL-40 是作为一个保护因子存在的,其作用与生长因子类似。主要是通过各种信号的传导来促进软骨细胞的增殖,同时降低炎症反应。并且促进生长、分化、重建,抑制细胞凋亡。所以 YKL-40 与 IL-1β、IL-6、TNF-α 表现相反的作用,相互抑制的情况同步变化。

本组试验是以放射线及关节镜下诊断对患者进行 KOA

分级分组,未能从不同年龄段中对试验结果进行分组分析。然而 KOA 发病率随着着年龄增长而增高。机械力学因素和遗传因素在 KOA 发病中起重要作用,另一个基本的危险因素是年龄,虽然随着年龄增长软骨的成分和结构改变不可避免,但 KOA 并不是普遍发生的。关节软骨老化性的改变包括关节面的软化、抗张强度的降低及基质的僵硬,这些改变归因于细胞外基质(ECM)结构的改变<sup>[8-10]</sup>。在不受到干扰情况下,正常软骨细胞保持静止状态,并且随着年龄增长其增殖的潜能下降。KOA 软骨细胞凋亡增加还是克隆增加问题上还存在争议,有研究表明老化过程中氧化剂可以改变软骨细胞内质网和高尔基复合体的软骨基质蛋白积聚导致软骨基质合成减少,最后软骨细胞凋亡<sup>[11]</sup>。

综上所述,KOA 变化中 YKL-40、IL-1 $\beta$  显著上升,并且随着病情的加重而逐渐增加。同时,YKL-40 与 IL-1 $\beta$  表达水平出现明显的正相关。体内外的研究表明软骨细胞可以产生一些细胞因子和化学因子,也可对关节组织和关节液一些细胞因子和化学因子产生反应。然而这些因子的产生机制和因果关系还不是很明确,和异常的机械力学和氧化应激可能有关<sup>[12]</sup>,YKL-40 目前更多是作为反映 KOA 炎症程度的标记物。此类细胞因子在 KOA 发病中起到重要作用,已成为 KOA 值得期待的一个治疗靶目标。

#### 参考文献

- [1] 中华医学会骨科学分会. 骨关节炎诊治指南(2007 年版)[J]. 中华骨科杂志,2007,10(27):793-796.
- [2] 魏波,陈喜德,刘军,等. 骨关节炎早中期关节软骨 YKL-40 表达与软骨细胞凋亡的关系[J]. 中国骨与关节外科,2012,5(3):243-246.
- [3] 荣令,殷瑞和,周新,等. YKL-40 在呼吸病中作用的研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),2011,5(3):823-825.
- [4] 马卫华,张树栋,王诗军,等. 腓骨高位截骨治疗膝关节炎机理探讨[J/CD]. 中华关节外科杂志(电子版),2015,1(3):421-422.

- [5] Valdes AM, Van Oene M, Hart DJ, et al. Reproducible genetic associations between candidate genes and clinical knee osteoarthritis in men and women [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(13):533-539.
- [6] 鱼云霞,张玉蓉,王海英,等. 血清 YKL-40 水平变化与骨关节炎的相关性探讨[J]. 陕西医学杂志,2010,39(10):1363-1364.
- [7] 陈喜德,宋丽君,魏波,等. 骨关节炎 SD 大鼠关节软骨中蛋白多糖与 YKL-40 的相关性[J]. 重庆医学,2014,43(10):1214-1217.
- [8] 舒甜,黄体钢. 基质金属蛋白酶的研究进展[J]. 河北联合大学学报(医学版),2006,34(3):212-214.
- [9] 刘志翔,张柳. 基质金属蛋白酶和骨关节炎的研究进展[J]. 天津医药,2007,9(3):330-332.
- [10] Verzijl N, Bank RA, TeKoPpele JM, et al. Ageing and osteoarthritis: A different perspective[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2003, 15(13):616-622.
- [11] Loeser RF. Molecular mechanisms of cartilage destruction; Mechanics, inflammatory mediators and aging collide[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(8):1357-1360.
- [12] Goldring SR, Goldring MB. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis[J]. *Clin Orthop*, 2004, 423(6):527-536.
- [13] 柳奇奇,吴汉阳,汪宗保,等. 早期非负重康复运动对膝骨关节炎大鼠关节软骨 YKL-40 表达的影响[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),2015,9(24):4616-4620.
- [14] Hootman JM, Helmick CG. Projections of US prevalence of arthritis and associated activity[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(6):226-229.
- [15] Aspberg A. The different roles of aggrecan interaction domains[J]. *J Histochem Cytochem*, 2012, 60(12):987-996.

(收稿日期:2016-09-25 修回日期:2016-10-23)

(上接第 479 页)

- and early outcomes in 30 patients using the interlocked barbed unidirectional V-LOC180 suture[J]. *Can Urol Assoc J*, 2011, 5(3):188-194.
- [9] Sammon J, Kim TK, Trinh QD, et al. Anastomosis during robot-assisted radical prostatectomy: randomized controlled trial comparing barbed and standard monofilament suture[J]. *Urology*, 2011, 78(3):572-579.
  - [10] De Blasi V, Facy O, Goergen M, et al. Barbed versus usual suture for closure of the gastrojejunal anastomosis in laparoscopic gastric bypass: a comparative trial [J]. *Obes Surg*, 2013, 23(1):60-63.
  - [11] Lee SW, Nomura E, Tokuhara T, et al. Laparoscopic technique and initial experience with knotless, unidirectional barbed suture closure for staple-conserving, delta-shaped gastroduodenostomy after distal gastrectomy [J]. *J Am Coll Surg*, 2011, 213(6):e39-45.
  - [12] Keck T, Küsters S, Wellner UF, et al. Total laparoscopic partial pancreatoduodenectomy and Reconstruction via laparoscopic pancreatogastrostomy[J]. *Langenbecks Arch*

*Surg*, 2012, 397(6):1009-1012.

- [13] Alessandri F, Remorgida V, Venturini PL, et al. Unidirectional barbed suture versus continuous suture with intracorporeal knots in laparoscopic myomectomy: a randomized study [J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2010, 17(6):725-729.
- [14] Nawfal AK, Eisenstein D, Theoharis E, et al. Vaginal cuff closure during robotic-assisted total laparoscopic hysterectomy: comparing vicryl to barbed sutures [J]. *JSLs*, 2013, 16(4):525-529.
- [15] Angioli R, Plotti F, Montera R, et al. A new type of absorbable barbed suture for use in laparoscopic myomectomy [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2012, 117(3):220-223.
- [16] Zaruby J, Gingras K, Taylor J, et al. An in vivo comparison of barbed suture devices and conventional monofilament sutures for cosmetic skin closure: biomechanical wound strength and histology [J]. *Aesthet Surg J*, 2011, 31(2):232-240.

(收稿日期:2016-09-23 修回日期:2016-10-21)