

本文引文格式:汪慧芸.联合检测关节液中透明质酸和炎症因子变化对骨关节炎的诊断价值[J].右江民族医学院学报,2024,46(6):896-900.

【论著与临床报道】

## 联合检测关节液中透明质酸和炎症因子 变化对骨关节炎的诊断价值

汪慧芸

(江苏省江阴市中医院检验科,江苏 江阴 214400)

**摘要:**目的 探讨联合检测关节液中透明质酸(HA)和炎症因子变化对骨关节炎(OA)的诊断价值。方法 选取2022年1月至2024年1月于江阴市中医院就诊收治的102例OA患者作为观察组,另取同期在该院进行体检的102例健康人群作为对照组。收集所有受试者的关节液并采用ELISA检测关节液中HA和各炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ )的水平。比较两组间HA、TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 的变化并评估联合检测关节液中透明质酸和炎症因子变化对OA的诊断价值。结果 ELISA检测结果显示,与对照组比较,观察组中的透明质酸明显下降,TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 等炎症因子均不同程度升高,两组间差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。多因素逐步Logistic回归分析结果显示:HA( $OR = 0.912, 95\% CI : 0.858 \sim 0.971$ )是OA的保护因素( $P < 0.01$ );TNF- $\alpha$ ( $OR = 1.139, 95\% CI : 1.060 \sim 1.224$ )、IL-6( $OR = 1.110, 95\% CI : 1.069 \sim 1.154$ )和IL-1 $\beta$ ( $OR = 1.118, 95\% CI : 1.074 \sim 1.165$ )是OA的危险因素( $P < 0.01$ )。ROC曲线分析结果显示,检测单项的HA、TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 水平,其敏感性、特异性和曲线下面积(AUC)数值均较低,联合检测后,其敏感性、特异性和曲线下面积(AUC)数值均有大幅度提升。结论 联合检测HA和炎症因子水平,有助于提高OA的诊断效能,同时也为OA个性化治疗提供良好的参考价值。

**关键词:**骨关节炎;透明质酸;炎症因子;诊断效能

中图分类号:R684.3

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2024)06-0896-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2024.06.011

### Diagnostic value of combined detection of hyaluronic acid and inflammatory factors in joint fluid of osteoarthritis

WANG Huiyun

(Department of Clinical Laboratory, Jiangyin Hospital of Traditional  
Chinese Medicine, Jiangyin 214400, Jiangsu, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the diagnostic value of combined detection of hyaluronic acid (HA) and inflammatory factors in joint fluid for osteoarthritis (OA). **Methods** A total of 102 OA patients admitted to Jiangyin Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2022 to January 2024 were selected as the observation group, and another 102 healthy individuals undergoing physical examinations in the same hospital during the same period were selected as the control group. Joint fluid was collected from all subjects, and the levels of HA and various inflammatory factors (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) in the joint fluid were measured using ELISA. The changes in HA, TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-1 $\beta$  between the two groups were compared, and the diagnostic value of combined detection of HA and inflammatory factors in joint fluid for OA was assessed. **Results**

The results of ELISA showed that compared with the control group, the level of HA in the observation

基金项目:江阴市中医药学会科研项目(Y202208)

第一作者:汪慧芸,硕士,主任检验师,研究方向:医学检验技术,E-mail:wanghuiyun1118@163.com

group decreased significantly, and the levels of inflammatory factors such as TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$  increased to varying degrees. The differences between the two groups were statistically significant ( $P < 0.01$ ). The results of multivariate stepwise Logistic regression analysis showed that HA ( $OR = 0.912$ , 95%  $CI : 0.858 \sim 0.971$ ) was a protective factor for OA ( $P < 0.01$ ). TNF- $\alpha$  ( $OR = 1.139$ , 95%  $CI : 1.060 \sim 1.224$ ), IL-6 ( $OR = 1.110$ , 95%  $CI : 1.069 \sim 1.154$ ) and IL-1 $\beta$  ( $OR = 1.118$ , 95%  $CI : 1.074 \sim 1.165$ ) were risk factors for OA ( $P < 0.01$ ). The results of ROC curve analysis showed that the sensitivity, specificity, and area under the curve (AUC) values were low when detecting HA, TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-1 $\beta$  levels individually. After combined detection, the sensitivity, specificity, and AUC values were significantly improved. **Conclusion** Combined detection of HA and inflammatory factor levels helps to improve the diagnostic efficiency of OA and provide a good reference value for personalized treatment of OA.

**Key words:** osteoarthritis; hyaluronic acid; inflammatory factors; diagnostic efficiency

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种退行性、慢性、进展性关节疾病,其特点是滑膜炎,逐渐丧失关节软骨和其他周围组织的退行性变化,包括滑膜、半月板、韧带和软骨下骨肥大(即骨赘)、慢性滑膜炎和软骨下硬化<sup>[1-2]</sup>。这是由多种风险因素引起的,如年龄、体重、过度使用关节以及代谢或遗传因素<sup>[3]</sup>。由于 OA 导致患者生产力和生活质量下降,故对经济和社会具有严重的影响。正常关节软骨有软骨细胞及其分泌合成的细胞外基质(ECM)组成,ECM 主要成分为胶原骨架(主要为 II 型胶原)、蛋白聚糖及透明质酸(hyaluronic acid, HA)<sup>[4]</sup>。HA 由软骨细胞、成纤维细胞和 B 型滑膜细胞合成并释放到关节腔,积聚在软骨和韧带表面,是软骨细胞生长、代谢和维持软骨细胞表型的必需底物,并促进 ECM 形成<sup>[5]</sup>。关节液中的 HA 具有增加关节粘弹性、润滑性,为关节提供减震能力,进一步恢复关节流变性,也兼具提供营养、维持关节软骨细胞正常功能,同时还具有抗炎和镇痛作用<sup>[6]</sup>。HA 的生物效应取决于其分子量(MW)和在体内的位置,监测 OA 患者关节液中透明质酸的浓度和相对分子质量的变化意义重大<sup>[7]</sup>。有研究表明<sup>[8]</sup>,OA 还与慢性炎症密切相关,由炎症组织、活化的软骨细胞、浸润的炎症细胞产生的促炎介质在 OA 的发生发展中发挥重要作用,如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(ILs)等。这些炎症介质刺激基质金属蛋白酶(MMPs)的产生,MMPs 通过降解 ECM 进一步导致 OA 患者的关节破坏。故监测 OA 患者关节液的炎性因子也非常重要。本研究以 OA 患者作为研究对象,比较不同患者关节液 HA 浓度的变化。同时,结合检测炎性因子变化,比较其诊断效率,以寻求提高临床诊断敏感性和特异性的方法。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取江阴市中医院 2022 年 1 月至 2024 年 1 月就诊收治的 102 例 OA 患者作为观察组,其中男 47 例,女 55 例,年龄为 45~74 岁,平均(59.81

$\pm 8.47$ )岁。观察组患者根据关节软骨分型又分为轻型(40 例)、中型(34 例)、重型(28 例)。纳入标准:①符合 1987 年美国风湿病协会 RA 诊断标准,主要症状为膝关节疼痛,轻度行走、活动障碍等;②膝外侧半月板损伤 II 度以上;③保守治疗半年以上症状未见明显好转。排除标准:①合并严重心血管疾病(急性心梗);②糖尿病、血液病等全身性疾病;③外伤合并有膝关节严重损伤。所有患者自愿参与本研究,并具有知情权。另取同期在该院进行体检的 102 例健康人群作为对照组,其中男 46 例,女 56 例,平均(58.38 $\pm 8.44$ )岁。对照组纳入标准:①年龄 $> 60$  岁的健康体检者;②自愿参与本研究,并签署知情同意书者。两组的性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 1.2 方法

1.2.1 关节液的抽取 取关节液之前对皮肤消毒,患者取平卧体位,伸直膝关节。选择股骨外踝间与髌骨外缘处做穿刺点,沿着髌骨关节间隙用 5 mL 注射器进入到膝关节腔,抽取关节积液。将关节积液离心去除关节液中的细胞,进行样本前处理,去上清液保存在 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待检测。

1.2.2 仪器 Thermo SCIENTIFIC WELLWASH 全自动洗板机;Infinite F50 全自动酶标仪;Mini-Shaker MH-2 全自动混匀仪;SH 酶标板脱水机。

1.2.3 试剂 试剂盒均购自武汉吉立德生物科技有限公司(批号:2023-11),严格按照使用说明书进行操作。

## 1.2.4 观察指标

1.2.4.1 ELISA 检测关节液中 HA 含量 从冰箱当中取出关节液,进行缓冻,铺板,对照组加入等计量的 PBS 液,过夜。并采取双抗体夹心酶联免疫吸附法测定 HA 浓度的变化。

1.2.4.2 ELISA 检测炎性因子 从冰箱当中取出关节液,进行缓冻,置于 $4^{\circ}\text{C}$ 低温离心机中以 3 000 r/min 离心处理 10 min,取上清液备用。采用 ELISA 试

剂盒检测炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  的水平。

1.2.5 统计学方法 采用 GraphPad Prism 10.3.0 软件对数据进行分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ ),两组间比较采用独立样本  $t$  检验;计数资料用率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;采用 SPSS 24.0 统计学软件对数据进行分析,影响因素的分析采用多因素逐步 Logistic 回归模型。绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组关节液中 HA 含量比较 ELISA 检测结果显示,与对照组比较,观察组中的透明质酸明显下降,两组间差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 两组关节液中 HA 含量

组别	$n$	HA/(ng · mL <sup>-1</sup> )
观察组	102	61.17 ± 19.26
对照组	102	70.09 ± 22.03
$t$		3.079
$P$		0.002

注:表内计量资料数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示。

2.2 两组炎症因子含量比较 ELISA 检测结果显示,观察组中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  等炎症因子均不同程度升高,与对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。见表 2。

表 2 两组关节液炎症因子含量

单位:pg/mL

组别	$n$	TNF- $\alpha$	IL-6	IL-1 $\beta$
观察组	102	105.03 ± 21.97	170.64 ± 15.02	70.81 ± 18.32
对照组	102	72.30 ± 21.64	145.71 ± 16.63	41.49 ± 16.44
$t$		10.719	11.234	12.029
$P$		<0.001	<0.001	<0.001

注:表内计量资料数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示。

2.3 OA 影响因素的多因素逐步 Logistic 回归分析参数 以是否患有 OA 为因变量(否 = 0,是 = 1),HA、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  水平为自变量,进行多因素逐

步 Logistic 回归分析( $\alpha_{\text{入}} = 0.05, \alpha_{\text{出}} = 0.10$ ),结果显示:HA 是 OA 的保护因素( $P < 0.01$ );TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  是 OA 的危险因素( $P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 OA 影响因素的多因素逐步 Logistic 回归分析参数

自变量	$b$	SE	Wald $\chi^2$	$P$	OR	95% CI
HA	-0.092	0.032	8.445	0.004	0.912	0.858~0.971
TNF- $\alpha$	0.130	0.037	12.631	<0.001	1.139	1.060~1.224
IL-6	0.105	0.020	28.571	<0.001	1.110	1.068~1.154
IL-1 $\beta$	0.112	0.021	28.794	<0.001	1.118	1.074~1.165

2.4 HA 和炎症细胞因子对 OA 的诊断效能分析 ROC 曲线分析结果显示,检测单项的 HA 和各炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ )水平,其敏感性、特异性和曲线

下面积(AUC)数值均较低,联合检测后,其敏感性、特异性和曲线下面积(AUC)数值均有大幅度提升,说明联合检测有助于提高其诊断效能。见表 4 和图 1。

表 4 HA 和炎症细胞因子对 OA 的诊断效能分析

指标	最佳 截断值	敏感 性/%	95% CI	特异 性/%	95% CI	AUC	95% CI
HA	58.80	66.4	0.645~0.683	11.2	0.084~0.140	0.454	0.371~0.537
TNF- $\alpha$	64.26	50.7	0.473~0.541	33.9	0.314~0.365	0.673	0.589~0.757
IL-6	158.48	68.6	0.641~0.730	49.9	0.474~0.524	0.867	0.813~0.921
IL-1 $\beta$	63.94	77.2	0.738~0.806	54.8	0.532~0.564	0.889	0.846~0.932
联合		86.8	0.841~0.895	65.4	0.631~0.676	0.970	0.939~0.985

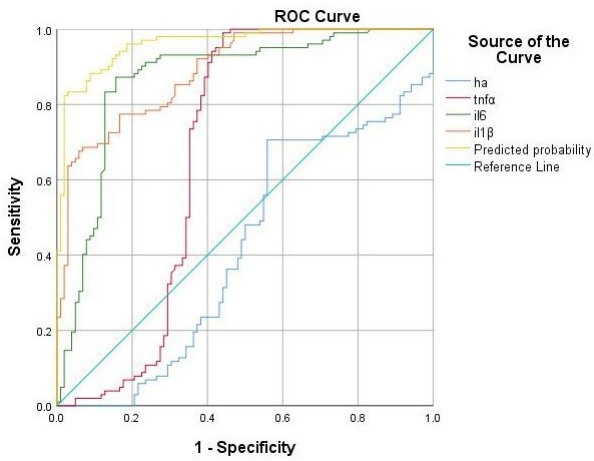


图 1 HA 和炎症细胞因子及其联合诊断 OA 的 ROC 曲线

### 3 讨论

OA 的病症特征是关节软骨退化和随后的软骨下骨变化,大约 10% 的 55 岁以上人口受其影响,其中,约 1/4 是严重残疾,给人们带来了严重的健康威胁<sup>[9]</sup>。目前,临床对于 OA 的诊断,手段比较匮乏,主要依赖于症状、体征和影像学(X 片为主)。症状、体征和影像学检查不能完全反映出 OA 的真实病理进程,只能显示退变积累至一定程度后的病变结果,因而无法作为骨性关节炎个性化选择治疗时机和治疗模式的唯一判断依据<sup>[10]</sup>。随着分子生物学、细胞生物学及免疫学科的发展,对关节疾病发生的细胞、分子水平机制认知逐步完善。如若将物理学检查、影像学检查和生物信息学、统计学检查相结合,有助于对 OA 的诊断做出更好的判断。而 HA 的变化与关节炎息息相关,HA 的检测能够更直观地反映关节炎的病理进程,有助于优化治疗方案。

HA 已广泛应用于骨关节疾病的治疗中,其中尤以 OA 的应用最为广泛。将高分子量的 HA 补充回关节炎患者的滑液中,称为粘性补充,可改善关节润滑并减轻患者疼痛<sup>[11]</sup>。MOTA A H 等<sup>[12]</sup>采用一种特殊的递送系统将 HA 给予药骨性关节炎大鼠后,发现可以有效地抑制炎症因子的表达;MIGLIORE A 等<sup>[13]</sup>研究表明高分子量的 HA 治疗后能够达到较好的疗效,且不会增加不良反应的风险。MURAKAMI T 等<sup>[14]</sup>认为长期关节内注射 HA 可以改变 CD44 受体过表达现状,缓解疼痛改善关节功能并延缓症状进展。事实证明 HA 不仅仅能够缓解关节疼痛,提高肌肉活动,还能抑制 IL-1 $\beta$  的分泌,防止软骨和胶原酶降解,抑制 MMP-13 表达,发挥优异的抗炎作用。但是目前存在的问题是,HA 在用于 OA 的治疗方面是盲目的。在治疗方面没有区分不同进程的,不同病理特性的 OA,均采用统一式的治疗方法,这也导致了不同

患者检查结果综合评析差别不大,但是治疗效果却大相径庭。所以,监测关节液中 HA 浓度变化,对于 OA 的个性化治疗有很大的帮助。

在 OA 中,炎症贯穿了其发生发展的整个进程,例如 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ ,它们负责降解 ECM 中的蛋白聚糖并减少分子内源性透明质酸的重量和浓度<sup>[15]</sup>。其中 TNF- $\alpha$  是主要的促炎细胞因子,负责软骨内稳态向分解代谢和软骨降解的转变,它通过受体直接激活感觉神经元,增加其他促炎细胞因子如 IL-6 和 IL-8 的合成,并导致软骨基质的流失。另外,它可以诱导软骨细胞合成 MMPs 和其他蛋白酶,并通过抑制蛋白多糖和 II 型胶原蛋白的合成来抑制软骨合成代谢<sup>[16]</sup>。IL-1 则是炎症调节剂,由多种细胞产生,可作为调节软骨细胞的功能活动因子,能促使软骨细胞分解其周围的基质<sup>[17]</sup>。

本研究检测了不同患者关节液 HA 浓度的变化,同时结合检测关节液中的炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ )水平,比较其诊断效率。实验结果显示,联合检测 HA 和炎症因子水平,其敏感性、特异性和 AUC 数值均有大幅度提升,说明联合检测有助于提高其诊断效能,同时也为 OA 个性化治疗提供良好的参考价值。

### 参考文献:

- [1] MASS H, KATZ J N. The influence of meniscal pathology in the incidence of knee osteoarthritis: a review[J]. *Skeletal Radiol*, 2023, 52(11): 2045-2055.
- [2] STEINBERG J, SOUTHAM L, FONTALIS A, et al. Linking chondrocyte and synovial transcriptional profile to clinical phenotype in osteoarthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2021, 80(8): 1070-1074.
- [3] LUO Q F, ZHANG S Y, YANG Q Y, et al. Causal factors for osteoarthritis risk revealed by mendelian randomization analysis[J]. *Aging Clin Exp Res*, 2024, 36(1): 176.
- [4] KAFIAN-ATTARI I, NIPPOLAINEN E, BERGMANN F, et al. Broadband scattering properties of articular cartilage zones and their relationship with the heterogenous structure of articular cartilage extracellular matrix[J]. *J Biomed Opt*, 2023, 28(12): 125003.
- [5] XIAO S P, TANG L S, CHEN J Y, et al. Effect of cross-linked hyaluronate scaffold on cartilage repair: an in vivo study[J]. *Orthop Surg*, 2019, 11(4): 679-689.
- [6] ISHAQ N, GUL S, GUL M, et al. Chondroprotective effects of intra-articular hyaluronic acid and triamcinolone in murine model of osteoarthritis[J]. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 2022, 34(1): 82-86.
- [7] KAKEHI K, KINOSHITA M, YASUEDA S I. Hyaluronic acid: separation and biological implications[J]. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*, 2003, 797(1-2): 347-

- 355.
- [8] MEHANA E E, KHAFAGA A F, EL-BLEHI S S, et al. The role of matrix metalloproteinases in osteoarthritis pathogenesis; an updated review[J]. *Life Sci*, 2019, 234: 116786.
- [9] SCHWARTZBERG H G, ROY R, WILSON K, et al. Patient characteristics independently associated with knee osteoarthritis symptom severity at initial orthopedic consultation[J]. *J Clin Rheumatol*, 2022, 28(2): e359-e362.
- [10] EVERS B J, SCHERS H J, VAN DEN ENDE CHM, et al. Diagnosing knee osteoarthritis in patients, differences between general practitioners and orthopedic surgeons: a retrospective cohort study[J]. *BMC Prim Care*, 2023, 24(1): 155.
- [11] ALTMAN R D, SCHEMITSCH E, BEDI A, et al. Assessment of clinical practice guideline methodology for the treatment of knee osteoarthritis with intra-articular hyaluronic acid[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2015, 45(2): 132-139.
- [12] MOTA A H, DIREITO R, DIREITO M R, et al. Combination of hyaluronic acid and PLGA particles as hybrid systems for viscosupplementation in osteoarthritis[J]. *Int J Pharm*, 2019, 559: 13-22.
- [13] MIGLIORE A, BLICHARSKI T, PLEBANSKI R, et al. Knee osteoarthritis pain management with an innovative high and low molecular weight hyaluronic acid formulation (HA-HL): a randomized clinical trial[J]. *Rheumatol Ther*, 2021, 8(4): 1617-1636.
- [14] MURAKAMI T, OTSUKI S, OKAMOTO Y, et al. Hyaluronic acid promotes proliferation and migration of human meniscus cells via a CD44-dependent mechanism[J]. *Connect Tissue Res*, 2019, 60(2): 117-127.
- [15] MARTEL-PELLETIER J, BARR A J, CICUTTINI F M, et al. Osteoarthritis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 13(2): 16072.
- [16] STANNUS O, JONES G, CICUTTINI F, et al. Circulating levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  are associated with knee radiographic osteoarthritis and knee cartilage loss in older adults[J]. *Osteoarthr Cartilage*, 2010, 18(11): 1441-1447.
- [17] JIN Y H, ZHANG J, ZHU H, et al. Expression profiles of miRNAs in giant cell tumor of bone showed miR-187-5p and miR-1323 can regulate biological functions through inhibiting FRS2[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(9): 3163-3173.

收稿日期: 2024-10-20; 修回日期: 2024-12-09

(上接第 895 页)

- [14] BRES E E, FAISSNER A. Low density receptor-related protein 1 interactions with the extracellular matrix: more than meets the eye[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 30(18): 2015-2027.
- [15] HE J, QIN M, CHEN Y Y, et al. Epigenetic regulation of matrix metalloproteinases in inflammatory diseases: a narrative review[J]. *Cell Biosci*, 2020, 10: 86.
- [16] ZHANG J, ZHAO M, LIU J, et al. Synovitis ointment improved knee osteoarthritis by suppressing SDF-1/CXCR4 signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 7719301.
- [17] 王宁, 李志坚, 刘平, 等. MMP-2 在糖尿病视网膜病变中的作用[J]. *医学综述*, 2021, 27(19): 3881-3885.
- [18] VIEIRA RAMOS G, DE SOUSA NETO I V, TOLEDO-ARRUDA A C, et al. Moderate treadmill training induces limited effects on quadriceps muscle hypertrophy in mice exposed to cigarette smoke involving metalloproteinase 2[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2022, 17: 33-42.
- [19] ABRAHAM R S. Assessment of functional immune responses in lymphocytes [M]//*Clinical Immunology*. Amsterdam; Elsevier, 2019: 1253-1271. e1.
- [20] 温晓洲, 孙爱华, 李广平, 等. 基质金属蛋白酶 9 的研究进展[J]. *岭南急诊医学杂志*, 2021, 26(2): 216-218.
- [21] ZAKIYANOV O, KALOUSOVÁ M, ZIMA T, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in kidney disease[J]. *Adv Clin Chem*, 2021, 105: 141-212.
- [22] EHTESHAM N, MOSALLAEI M, ZABOLI MAHDI-ABADI M, et al. Significant hypomethylation of MMP-9 gene promoter in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2023, 32(9): 1056-1065.

收稿日期: 2024-08-26; 修回日期: 2024-10-29