

膝骨性关节炎滑液中骨桥蛋白的表达及临床意义

朱让腾, 应有荣, 童静玲, 高福明, 罗利飞, 张德清, 应光华
(台州恩泽医疗中心路桥医院, 浙江 台州 318050)

摘要 **目的:**探讨骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 在膝骨性关节炎关节滑液中的表达及其临床意义。**方法:**检测膝骨性关节炎 (osteoarthritis, OA) 患者和创伤骨折患者膝关节滑液中 OPN 的含量, 并加以比较。**结果:**OA 组关节滑液中 OPN 含量为 $(3978.7 \pm 459.1) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 对照组关节滑液中 OPN 含量为 $(874.2 \pm 259.3) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 两组数值经统计学分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。两组关节液中 OPN 含量与 OA 的病变严重程度 (关节镜下分级), 经 Spearman 等级相关检验, 两者呈正相关 ($P < 0.05$)。**结论:**OPN 与膝骨性关节炎的发病和发展有关。

关键词 骨关节炎, 膝 骨桥蛋白

Expression and clinical significance of OPN in synovial fluid of patients with knee osteoarthritis ZHU Rang-teng*, YING You-rong, TONG Jing-ling, et al. * Luqiao branch of Taizhou Hospital, Taizhou 318050, Zhejiang, China

ABSTRACT **Objective:**To investigate the expression and clinical significance of osteopontin(OPN) in in synovial fluid of patients with knee osteoarthritis. **Methods:**Content of OPN in synovial fluid was measured and compared from the patients with knee osteoarthritis and with fracture. **Results:**Synovial fluid OPN in OA group was $3978.7 \pm 459.1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, $874.2 \pm 259.31 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ in the fracture group. There was significant difference between the 2 groups by statistical analysis ($P < 0.05$). Subsequent analysis showed that the OPN level in synovial fluid significantly was correlated with severity of disease ($P < 0.05$) by Spearman rank correlation method. **Conclusion:**The data suggest that expression of OPN in synovial fluid is related to progressive joint damage.

Key words osteoarthritis, knee; osteopontin

随着人口的老龄化, 骨性关节炎 (osteoarthritis, OA) 的发病率越来越高, 尤其在膝关节发生率最高, 常伴有疼痛、肿胀、畸形和活动障碍, 严重影响了患者正常的生活和工作, 明显降低了其生活质量。因对 OA 的确切发病机制至今未清楚, 医务人员对膝骨性关节炎的治疗觉得很棘手。骨桥蛋白 (osteoponti, OPN) 是一种非胶原性骨基质糖蛋白, 文献报道广泛存在于骨关节炎患者的滑液和血浆中^[1], 但在膝骨性关节炎滑液中 OPN 表达水平与关节镜下分级的关系方面的研究甚少。本研究试通过分析膝骨性关节炎滑液中 OPN 表达水平与其关节镜下分级的关系, 以探讨 OPN 在膝骨性关节炎发病机制中的作用。现将研究结果总结报告如下。

1 临床资料

1.1 病例分组 本研究实验组 (OA 组) 病人均选自本院行膝关节镜手术的患者, 共 44 例, 男 26 例, 女 18 例。年龄 46 ~ 76 岁, 中位数 62 岁。对照组病例来自因外伤致下肢骨折或半月板损伤在我院行手术治疗的病人, 其中伴关节 3 级退变者 3 例, 4 级者 1 例, 共 32 例, 男 18 例, 女 14 例。年龄 32 ~ 62 岁, 中位数 42 岁。参照 Jackson RW 分级法^[2], 观察组病例中 (关节镜下分级) 2 级 12 例, 3 级 22 例, 4 级 10 例。两组资料比较如表 1 所示, 其在性别和侧别上的差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而在年龄和膝骨性关节炎程度上的差异则有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 1 两组临床资料比较

分组	例数 (例)	性别 (例)		侧别 (例)		平均年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	膝骨性关节炎 (例)	
		男	女	左	右		3 级	4 级
对照组	32	18	14	15	17	42.1 \pm 6.2	3	1
实验组	44	26	18	19	25	62.9 \pm 2.8	36	8
统计值	-	$\chi^2 = 4.306$		$\chi^2 = 4.219$		$t = 3.431$	$\chi^2 = 11.743$	
P 值	-	0.127		0.117		0.008	0.003	

1.2 诊断纳入标准 对选入实验组的患者要求符合如下诊断标准:①符合 1995 年美国风湿病协会修订的诊断标准^[3];②未经过治疗;③排除继发性骨性关节炎、风湿性和类风湿关节炎、痛风性关节炎。

2 试验准备与方法

2.1 关节滑液标本的制备 关节滑液抽取后,立即 4℃ 保存,3 000 r 离心 20 min,留取上清液分成 3 份,置于 -20℃ 冰箱保存,准备进行 3 次 OPN 检测。

2.2 OPN 检测方法 采用 ELISA 检测关节滑液(上清液)中 OPN 的含量,严格按照说明书由本院实验室专人负责操作,将标准重组人类 OPN 与滑液标本加入已包被抗体放入酶标板上,在 37℃ 下反应 2 h,用吸水纸吸干酶标板上的液体,在每个孔上加入生物素标记抗人 OPN 抗体,在 37℃ 下反应 1 h,PBS 洗涤 5 次后,每孔加入 TMB 显色液在 37℃ 下反应 10~15 min,加入 TMB 终止液终止反应,用酶标仪在 450 nm 下进行检查吸收率,制作标准曲线。人 OPN 酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。

3 统计方法

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13 软件包进行统计学分析,组间比较采用 t 检验;为了分析骨性关节炎的分级结果与 OPN 指标的关系,对 OPN 与骨性关节炎的严重度进行相关性分析,OPN 指标与骨性关节炎的严重程度的相关性分析采用 Spearman 检验秩相关。

4 结果

OA 组的 OPN 的水平较对照组高,OA 组关节滑液中 OPN 含量为 $(3978.7 \pm 459.1) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,对照组关节滑液中 OPN 含量为 $(874.2 \pm 259.3) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,两组数值经统计学分析,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。OPN 指标与骨性关节炎的严重程度的相关性分析采用秩相关——不叫 Spearman 检验,Spearman 检验,并且应给出, $r_s = 0.382$ spearman 相关系数和具体 $P = 0.009$ 值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,提示 OPN 指标与骨性关节炎的严重程度存在正相关关系。

表 2 两组的 OPN 水平情况 $\bar{x} \pm s \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	OPN 水平
对照组	874.2 ± 259.3
实验组	3978.7 ± 459.1
t 值	3.559
P 值	0.001

5 讨论

5.1 骨桥蛋白的生物学特性 OPN 是一种多功能的细胞外基质蛋白和分泌型磷酸化糖蛋白,人体内多种组织细胞能合成 OPN,广泛存在于细胞外、炎症部位与骨组织的细胞间质中,关节液和血液中均能测到,其中破骨细胞、骨细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞、多种肿瘤细胞均能合成与分泌 OPN 分子^[4]。在骨骼中含有丰富的 OPN,他可与细胞表面受体结合,参与介导信号传导过程,促进细胞粘附和聚集介导细胞-基质和细胞细胞间反应^[5];早期前成骨细胞合成的 OPN 可能与骨基质的形成有关^[6];OPN 分子的氨基端区域与外分泌有关,羧基端参与粘附功能的调节^[7]。成骨细胞可合成 44 000 的高磷酸化蛋白,参与调节羟基磷灰石晶体生长,因此骨桥蛋白被认为是成骨细胞成熟分化的标志^[8]。

5.2 OPN 与骨性关节炎的相关性 骨性关节炎的病理学特点包括关节软骨破坏、滑膜炎、软骨下骨囊肿和骨赘形成等。Ohshima S^[9] 等研究发现,OPN 在类风湿关节炎的滑膜和关节软骨中均有高水平的表达,抑制滑膜细胞凋亡,从而加重 RA 病理过程中的炎症反应。Yumoto K 等^[10] 动物实验发现,OPN 可通过促进毛细血管生长和诱导软骨细胞凋亡,OPN 是破坏关节软骨的重要因素。Ann K Rosenthal 等^[11] 研究表明,OPN 通过刺激 CPPD(双水焦磷酸钙)沉着从而促使关节软骨中病理矿化,引起关节软骨的退变,以上一系列的研究表明关节软骨破坏和滑膜炎具有相关性。最近文献报道^[12],关节滑液和关节软骨内 OPN 表达水平增加与 OA 的病变严重程度相关,其可用作评价膝关节 OA 病程和进展的有效指标,也与以上文献相符。

5.3 本实验研究分析 OA 组关节滑液中 OPN 含量为 $(3978.7 \pm 459.1) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,对照组关节滑液中 OPN 含量为 $(874.2 \pm 259.3) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,两组数值经统计学分析,差异有统计学意义($P < 0.05$)。表明 OPN 确实参与了人类 OA 的发病过程。OA 组关节液中 OPN 含量与膝骨关节炎关节镜下分级的相关性经 Spearman 等级相关检验,两者呈正相关关系($P < 0.05$)。从而提示,OPN 在 OA 疾病的进展中起一定的作用,检测 OA 膝关节滑液中的 OPN 的水平对判断 OA 的病情严重性和预后提供了参考的信息。若能进一步研究了解 OPN 具体的作用机制,研制出阻断

OPN 的作用途径的药物,可能有效控制 OA 病程的发展,为 OA 的治疗提供了新的思路。

6 参考文献

- [1] Zheng W, Li R, Pan H, et al. Role of osteopontin in induction of Inonocyte chemoattractant protein 1 and macrophage inflammatory protein lbeta thrush the NF - kappaB and MAPK pathways in rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(7) : 1957 - 1965.
- [2] Jackson RW. The role of arthroscopy diagnosis and management osteoarthritis. In: osteoarthritis: diagnosis and medical/ surgical management [M]. 2nded. Philadephia: WB Saunders, 1992: 527 - 534.
- [3] 曾庆徐, 许敬才. 骨关节炎的分类诊断和流行病学 [J]. 中国实用内科杂志, 1998, 18(2) : 108 - 109.
- [4] Haylock DN, Nilsson SK. Osteopontin: a bridge between bone and blood [J]. Br J Haematol, 2006, 134(5) : 467 - 474.
- [5] O' Regan AW, Nau GJ, Chupp GL, et al. Osteopontin(Eta - 1) in cell - mediated immunity: teaching an old dog new tricks [J]. Immunol Today, 2000, 21(10) : 475 - 478.
- [6] Sodek J, Chen J, Nagata T, et al. Regulation of osteopontin expression in osteoblasts [J]. Ann Acad Sci, 1995, 21(4) :

760; 223.

- [7] Takahashi K, Takahashi F, Tanabe K, et al. The carboxy-2 terminal fragment of osteopontin suppresses arginine - glycine - aspartic acid dependent cell adhesion bioche Mol Biol Int, 1998, 46(6) : 1081.
- [8] 刘宏, 王勤涛, 吴织芬, 等. rhBMP22 对人牙牙周细胞骨桥蛋白表达的影响 [J]. 中华口腔医学杂志, 2000, 35(5) : 330.
- [9] Ohshima S, Yamaguchi N, Nishida K, et al. Enhanced local production of osteopontin in rheumatoid joints [J]. Rheumatology, 2002, 29(10) : 2061 - 2067.
- [10] Yumoto K, Ishijima M, Rittling SR, et al. Osteopontin deficiency protects joints against destruction in anti - type II collagen antibody - induce arthritis mice [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(7) : 4556 - 4561.
- [11] Ann K Rosenthal, Claudia M. Gohr, et al. Osteopontin promotes pathologic mineralization in articular cartilage [J]. Matrix biology, 2007, (26) : 96 - 105.
- [12] 高曙光, 徐文硕, 曾凯斌等. 膝关节骨关节炎滑液和软骨骨桥蛋白水平与其病变程度的相关性 [J]. 中华骨科杂志, 2010, 30(7) : 672 - 676.

(2011-01-09 收稿 2011-07-26 修回)

· 通 知 ·

全国水针刀三氧消融术尸体解剖研修班及中华筋骨三针法学习班通知

水针刀三氧消融术及筋骨针法是由中国骨伤微创水针刀学术委员会会长、张仲景国医学院教授、广东省中医院主任医师吴汉卿教授在水针刀疗法的基础上,结合三氧治疗仪所研发的新技术,研制发明的多用系列筋骨针具已获国家专利,并创立了十大筋骨针法(已编入骨伤教材),出版了《中华筋骨三针疗法》。该项技术的培训班已举办 180 余期,来自国内包括台湾、香港等地区及国外(马来西亚、新加坡、韩国)的万余名医生学习、掌握了该技术。为满足广大医师要求,现继续举办以下研修、学习班:

水针刀三氧融盘术及尸体解剖研修班:由吴汉卿教授主要传授:水针刀新针法治疗骨伤颈肩腰腿痛病、水针刀三氧融盘术。应用水针刀法结合新鲜尸体详细讲解三针法安全入路法、配合独特松解液及椎间孔扩张术、侧隐窝分离术。新颖的三针法理论、独特的十大针法,结合尸体刀法入路、水针刀挂图,有专科医院手术病人治疗,同时讲解影像诊断,保证每位学员能够独立操作。临床上可治疗腰椎间盘突出症,对颈肩腰腿痛患者具有较好的疗效。

脊柱九病区药磁线植入技术:传授独特的脊背九大诊疗区,临床应用水针刀分离、磁线留置并配合整脊手法,快速治疗脊柱相关病,如颈源性心脏病、颈性咽炎、面瘫、三叉神经痛、癫痫病、慢性支气管炎、哮喘、胃炎、胃溃疡、结肠炎、生殖疾病等。

中华筋骨三针法学习班:中华筋骨三针法是吴汉卿教授在水针刀针法九针疗法基础上,根据人体生物力学,提出了人体软组织立体三角平衡学说,创立了平衡三针法。该班传授筋骨三针法原理、三针定位法、十大针法技巧。该法主要治疗:颈椎病、颈 1 横突综合症、颈 7 棘突综合症、肩关节周围炎、肌筋膜炎、腰椎间盘突出症、股骨头坏死症、膝关节骨关节炎、神经痛、类风湿性关节炎、脊柱相关病等。

其他:参加学习班者将授予国家级中医药 I 类继续教育学分(项目编号:390206382)

开学时间:2011 年每月 1 日开课,需提前 2 日报到

报到地址:河南省南阳市仲景路与天山路口(水针刀专科医院)

邮政编码:473000 **联系电话:**0377 - 63282507, 13721820657 **联系人:**黄建

网址:www. shuizhendao. com **邮箱:**shuizhendao@ 163. com