

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.19.009

比较富血小板血浆及透明质酸对临床患者膝关节炎模型中炎症因子 IL-1、TNF- α 表达的影响*

凌华军, 林伟文, 李 贝, 罗鹏刚, 赖茂松, 熊 浩, 吴增志, 钟思龙
广东省佛山市高明区人民医院骨二科, 广东佛山 528500

摘 要:目的 探讨富血小板血浆(PRP)及透明质酸(HA)对临床患者膝关节炎模型中炎症因子白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的影响。**方法** 选取 2018 年 1—12 月于该院诊治的 40 例膝关节骨关节炎患者作为研究对象,根据关节镜下软骨下骨钻孔原位注射不同药物,分成 HA 组及 PRP 组,每组 20 例。采用骨关节炎指数(WOMAC)评分、视觉模拟(VAS)评分及核磁共振检测于治疗前和治疗后 1、2、4、8 个月时对患者进行评估,通过酶联免疫吸附测定检测两组膝关节液中炎症因子 IL-1、TNF- α 水平。**结果** PRP 组治疗后 WOMAC 评分、VAS 评分降低,治疗后第 1 个月 IL-1 及 TNF- α 水平均较治疗前低,且随时间呈下降趋势。HA 组治疗后第 1、2 个月 WOMAC、VAS 评分,IL-1 及 TNF- α 水平降低,治疗后第 4、8 个月 WOMAC 评分、VAS 评分,IL-1 及 TNF- α 水平回升,且治疗后第 8 个月接近于治疗前。PRP 组治疗后 4、8 个月 WOMAC 评分、VAS 评分,IL-1 及 TNF- α 水平均低于 HA 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** PRP 通过降低膝关节中炎症因子 IL-1、TNF- α 水平,从而促进关节炎患者软骨修复。

关键词:骨关节炎; 功能评分; 炎症因子
中图分类号:R684.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2020)19-2780-04

Comparison of the effects of platelet-rich plasma and hyaluronic acid on the expression of inflammatory factors interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in clinical knee arthritis models*

LING Huajun, LIN Weiwen, LI Bei, LUO Penggang, LAI Maosong,
XIONG Hao, WU Zengzhi, ZHONG Silong
Second Department of Orthopaedics, Gaoming District People's Hospital,
Foshan, Guangdong 528500, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of platelet-rich plasma (PRP) and hyaluronic acid (HA) on the levels of inflammatory factors IL-1 and TNF- α levels in clinical knee arthritis models. **Methods** A total of 40 patients with knee osteoarthritis who were diagnosed and treated from January to December 2018 were selected as the research objects. According to the arthroscopic subchondral bone drilling, different drugs were injected in situ and divided into HA group and PRP group, with 20 cases in each group. The osteoarthritis index (WOMAC) score, visual analogue (VAS) score and MRI were used to evaluate patients before treatment and 1, 2, 4, and 8 months after treatment. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the expression levels of inflammatory factors IL-1 and TNF- α in the knee joint fluid of the two groups. **Results** The WOMAC score, VAS score, IL-1 and TNF- α levels after treatment in the PRP group were lower than before treatment, and they showed a downward trend over time. In the HA group, WOMAC score, VAS score decreased in the 1 and 2 months after treatment, IL-1 and TNF- α levels scores decreased in the 1 month after treatment, and WOMAC score, VAS score, IL-1 and TNF- α levels increased in the 4 and 8 months after treatment. And it was close to that before treatment at the 8 months after treatment. The WOMAC score, VAS score, IL-1 and TNF- α levels of the PRP group were significant lower than those of the HA group at 2, 4, and 8 months after treatment ($P<0.05$). **Conclusion** PRP can promote cartilage repair in patients with arthritis by reducing the expression levels of inflammatory factors IL-1 and TNF- α in the knee joint.

Key words: osteoarthritis; functional score; inflammatory factors

* 基金项目: 广东省佛山市卫生和计划生育委员会医学科研项目(20180416)。
作者简介: 凌华军, 男, 副主任医师, 主要从事骨科相关研究。

骨关节炎是最常见的退行性关节炎类型。由于负重活动导致的疼痛恶化是骨关节炎的主要症状之一,随着疾病的进展,持续的疼痛或静息疼痛是主要的临床表现,并且由于功能限制最终导致骨关节炎患者残疾,大大降低患者生活质量^[1-2]。

因此,如何有效的修复关节软骨,恢复损伤关节面结构功能完整性,防止关节软骨进一步退变,以及改善关节功能,是目前临床面临的巨大挑战^[3]。近年来临床制备的患者自体富血小板血浆(PRP)回输治疗将有望解决这一问题。PRP 是全血通过梯度离心后物理化学浓度制备的成分血液制品。PRP 回注关节后,其中富含血小板激活因子、血小板衍生生长因子、成纤维细胞生长因子、血管内皮生长因子、表皮生长因子和白细胞介素-1(IL-1)可诱导组织再生、新生血管生成,促进胶原、基质及纤维组织合成,从而促进损伤软骨修复,软骨细胞增殖。同时由于 PRP 由自体血液标本制备,取材及制备均较简单,无免疫排斥反应及疾病感染等风险^[4-5]。

目前,临床多采用关节腔内直接注射 PRP 进行关节炎治疗。关节腔内注射 PRP 虽然操作简单、应用方便,但 PRP 容易分布不均,难以准确分布到损伤部位,难以保证局部高浓度的生长因子,可能引起周围组织医源性损害^[6-7]。因此,本研究拟通过软骨下骨将 PRP 准确放置到受损部位,观察其对膝关节软骨退变的影响,并与关节镜下软骨下骨钻孔,注射透明质酸(HA)注射液进行比较,探索不同治疗方法的疗效,同时探讨肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及 IL-1 在 PRP 治疗中的变化规律。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1—12 月在本院诊治的 40 例膝关节骨关节炎患者作为研究对象,均经临床及核磁共振(MRI)确诊,并使用 Kellgren-Lawrence 分级法,根据患者关节间隙狭窄程度,骨赘形成严重程度,选取 I、II、III 级膝骨关节炎患者 40 例,并在关节镜下软骨下骨钻孔原位注射不同药物,分成 HA 组及 PRP 组。PRP 组 20 例,其中男 10 例,女 10 例;平均年龄(54.4 ± 6.3)岁;平均病程(5.4 ± 1.6)年;平均体质质量指数(24.7 ± 3.1) kg/m^2 ;Kellgren-Lawrence I 级 7 例,II 级 10 例,III 级 3 例。HA 组 20 例,其中男 10 例,女 10 例;平均年龄(55.8 ± 3.8)岁;平均病程(5.5 ± 1.4)年;平均体质质量指数(25.2 ± 2.8) kg/m^2 ;Kellgren-Lawrence I 级 8 例,II 级 9 例,III 级 3 例。纳入标准:(1)均符合美国风湿病学会的分级诊断标准;(2)治疗前均行负重条件下 X 线检测。排除标准:(1)血小板数量少于 $150 \times 10^9/\text{L}$ 的患者;(2)有膝关节注射史、手术史、类风湿疾病、风湿或自体免疫

性疾病患者^[5]。

1.2 方法

1.2.1 PRP 制备及关节腔内注射 PRP 制备参考文献^[6],使用 ACD 及 A 抗凝剂预处理针筒,采集 PRP 患者新鲜血液 40 mL 备用。平均注入 8 支塑料离心管,每管 5 mL,分 2 次离心,第 1 次通过 $200 \times g$ 离心力离心 10 min 后,吸取离心后分层液体的全部上清液及交界面下 3 mm 液体,移至新的离心管,配平后再次以 $200 \times g$ 离心力离心 10 min。去除上层上清液,约剩余 0.7 mL 摇匀,即 PRP,每位患者共制备 5~6 mL 备用。

1.2.2 关节腔穿刺及 PRP 注射 PRP 组行关节镜下清理术,术中观察关节内软骨损害情况,于退变软骨处行软骨下骨钻孔,并于每个钻孔处均匀注射 1.0~1.5 mL PRP;HA 组行关节镜下清理术,术中同样于退变软骨处行软骨下骨钻孔,术中于钻孔处注射 HA 注射液。每 1 周注射 1 次,注射 3 次后观察疗效。所有患者注射后观察 10 min,确保无任何不良反应,注射后不限制关节活动。

1.2.3 功能评价指标 患者均在注射前及注射后 1、2、4、8 个月进行骨关节炎指数(WOMAC)评分和视觉模拟(VAS)评分,评分包括疼痛、关节受限、功能活动。WOMAC 评分 0~96 分,总分分值越高表示病情越严重,关节功能越差。VAS 评分分值范围为 0~10 分,0 分表示无痛;1~3 分表示轻度疼痛; $>3 \sim 6$ 分表示中度疼痛; $>6 \sim 9$ 分表示重度疼痛; $>9 \sim 10$ 分表明剧痛。

1.2.4 MRI 膝关节扫描 MRI 检查使用德国西门子子公司生产的 Avanto 1.5 T MRI 扫描仪,膝关节扫描采用膝关节柔软线圈。行检查时,患者仰卧位,双膝伸直。MRI 检查序列为:T2 加权像和弥散加权像矢状位扫描,扫描参数:TE(1)14 ms,TR(2)900 ms,FOVL 80 mm,TE(2)84 ms,层厚 4 mm。通过脂肪抑制三维稳态进动快速成像序列显示软骨的序列,其扫描参数为:TR 38 ms,TE 10 ms,FOVL 80 mm,反转角 40° ,层距 0 mm,层厚 1.5 mm,时间 7.35 min。以 MRI 显示软骨较治疗前增厚为好转指标。

1.2.5 酶联免疫吸附测定(ELISA)检测关节液中 IL-1 及 TNF- α 水平 收集 3 d 的细胞培养基,检测术前、术后 1、2、4、8 个月关节液中 IL-1 及 TNF- α 水平。在 ELISA 板中加标准品和标本稀释液(每孔 100 μL),封板后 37°C 孵育 90 min。标准品孔加入生物素化抗体稀释液,其余孔加入 100 μL 生物素化抗体工作液。加入试剂后封板 37°C 孵育 60 min。标准品孔加酶结合物稀释液,其余每孔加入 100 μL 酶结合物工作液,避光在 37°C 孵箱内孵育 30 min。每孔加入

100 μ L 底物显色液,孵育 15 min 后每孔加入 100 μ L 终止液。每次操作步骤之间洗板 5 次后在酶标仪上以 450 nm 波长测量溶液的吸光度。

1.3 统计学处理 使用 SPSS20.0 对本次研究进行数据处理分析,计量资料符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者治疗前后 WOMAC 评分比较 PRP 组治疗后 WOMAC 评分均较治疗前低,且随时间呈下降趋势。HA 组治疗后第 1、2 个月 WOMAC 评分降低,治疗后第 4、8 个月 WOMAC 评分回升,且治疗后第 8 个月其评分接近于治疗前。PRP 组治疗后 2、4、8 个月 WOMAC 评分均低于 HA 组,差异有统计

学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组患者治疗前后 VAS 评分比较 PRP 组治疗后 VAS 评分均较治疗前低,且随时间呈下降趋势。HA 组治疗后第 1、2 个月 VAS 评分降低,治疗后第 4、8 个月 VAS 评分回升,且治疗后第 8 个月其评分接近于治疗前。PRP 组治疗后 4、8 个月 VAS 评分均低于 HA 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 两组患者软骨厚度比较 PRP 组治疗后 8 个月,软骨厚度无变化 13 例,软骨厚度降低 4 例,软骨厚度增加 3 例。HA 治疗后 8 个月,软骨厚度无变化 5 例,软骨厚度降低 14 例,软骨厚度增加 1 例。治疗 8 个月后 HA 组软骨平均厚度低于 PRP 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 1 两组患者治疗前后 WOMAC 评分比较($\bar{x} \pm s$,分)

分组	<i>n</i>	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 2 个月	治疗后 4 个月	治疗后 8 个月
PRP 组	20	40.5 $\pm$ 3.4	25.2 $\pm$ 2.5	19.7 $\pm$ 2.9	15.6 $\pm$ 3.8	14.9 $\pm$ 3.2
HA 组	20	39.8 $\pm$ 4.7	24.9 $\pm$ 3.3	22.4 $\pm$ 2.4	31.7 $\pm$ 2.5	35.7 $\pm$ 4.1
<i>t</i>		0.31	1.56	3.58	16.43	24.13
<i>P</i>		0.77	0.17	0.01	<0.001	<0.001

表 2 两组患者治疗前后 VAS 比较($\bar{x} \pm s$,分)

分组	<i>n</i>	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 2 个月	治疗后 4 个月	治疗后 8 个月
PRP 组	20	6.3 $\pm$ 1.4	3.5 $\pm$ 1.8	2.8 $\pm$ 1.7	2.1 $\pm$ 1.1	1.8 $\pm$ 0.5
HA 组	20	5.9 $\pm$ 1.6	3.6 $\pm$ 1.2	2.7 $\pm$ 1.9	4.1 $\pm$ 1.6	5.6 $\pm$ 1.8
<i>t</i>		0.74	0.52	0.65	4.24	7.00
<i>P</i>		0.49	0.62	0.53	<0.001	<0.001

表 3 两组患者软骨厚度比较($\bar{x} \pm s$,mm)

分组	<i>n</i>	治疗前	治疗后 8 个月
PRP 组	20	1.8 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.2
HA 组	20	1.7 $\pm$ 0.3	1.4 $\pm$ 0.1
<i>t</i>		0.40	5.17
<i>P</i>		0.70	<0.001

2.5 两组患者治疗前后 TNF- α 及 IL-1 水平比较 治疗前两组 IL-1 及 TNF- α 水平比较,差异无统计学

意义($P < 0.05$)。PRP 组治疗后 1、2、4、8 个月 IL-1 及 TNF- α 水平较治疗前低,且随时间呈下降趋势。HA 组治疗后第 1 个月 IL-1 及 TNF- α 水平降低,治疗后第 2、4、8 个月,IL-1 及 TNF- α 水平回升,且治疗后第 8 个月其评分接近于治疗前。同时在治疗后第 1 个月,两组患者关节液中 TNF- α 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。PRP 组治疗后 2、4、8 个月 IL-1 及 TNF- α 水平均低于 HA 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4、5。

表 4 两组患者治疗前后 TNF- α 水平比较($\bar{x} \pm s$,ng/mL)

分组	<i>n</i>	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 2 个月	治疗后 4 个月	治疗后 8 个月
PRP 组	20	40.4 $\pm$ 5.6	32.6 $\pm$ 2.4	30.8 $\pm$ 3.4	28.3 $\pm$ 2.5	26.7 $\pm$ 2.9
HA 组	20	41.2 $\pm$ 4.8	31.5 $\pm$ 3.1	35.4 $\pm$ 3.7	37.8 $\pm$ 5.4	38.1 $\pm$ 4.3
<i>t</i>		0.65	1.57	7.39	7.54	14.62
<i>P</i>		0.54	0.17	<0.001	<0.001	<0.001

表 5 两组患者治疗前后 IL-1 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/mL)

分组	<i>n</i>	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 2 个月	治疗后 4 个月	治疗后 8 个月
PRP 组	20	78.6±8.7	58.1±6.4	45.5±4.5	40.3±4.9	38.7±4.7
HA 组	20	76.9±7.7	60.8±6.1	68.4±5.6	72.2±7.4	74.1±7.4
<i>t</i>		1.96	3.58	18.41	41.24	39.44
<i>P</i>		0.10	0.01	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨 论

有研究表明,当 PRP 注射入关节腔后,其富含的血小板可被关节腔内凝血酶及胶原组织激活,释放转化生长因子、IL-1 受体拮抗剂、血小板源性生长因子等^[8-9]。本研究发现,无论是 HA 还是 PRP 治疗后患者其关节液中 IL-1 及 TNF-α 水平均较治疗前低,说明两种治疗方式均可以降低患者关节液中的 IL-1 及 TNF-α 水平。治疗后 2 个月,PRP 组 IL-1 及 TNF-α 水平明显低于 HA 组,说明 PRP 治疗较 HA 组治疗在 2 个月时可明显降低关节腔中 IL-1 及 TNF-α 水平。治疗后 6 个月,PRP 组 IL-1 及 TNF-α 水平持续降低,而 HA 组 IL-1 及 TNF-α 水平反而再次升高。说明 PRP 组的治疗不仅可以有效降低 IL-1 及 TNF-α 水平,其持续时间也明显高于 HA 组。这一效应可能与 PRP 含有诸多炎症调节因子有关,其可以有效降低膝关节内无菌性炎症。

本研究发现,PRP 及 HA 均对膝骨关节炎治疗有效,均可有效改善患者运动功能及降低疼痛反应,而 PRP 疗效更加明显。HA 对于膝骨关节炎虽然有一定疗效,但其疗效随着治疗时间的延长而逐渐降低,HA 主要通过润滑和营养关节软骨,抑制部分炎症反应而取得短期疗效^[10-12]。而 PRP 具有强大的炎症抑制及免疫调控作用,其对关节内退变组织的修复及关节滑膜炎症的影响具有重要意义。疾病早期,PRP 可抑制关节内炎症因子的产生及释放,降低其对滑膜组织的刺激,抑制滑膜增生,能从根本上缓解患者关节疼痛症状,最大限度地恢复膝关节功能。控制炎症后为关节软骨修复提供良好的微环境,通过促进软骨细胞增殖及抑制软骨细胞凋亡从而维持其疗效的持久性,故 PRP 疗效更优于 HA。

参考文献

[1] JIN K F. Commentary on topical platelet rich plasma versus hyaluronic acid during fat graft myringoplasty[J]. Am J Otolaryngol,2019,40(3):465-466.

[2] 付立功,陈连旭. 富血小板血浆在膝关节骨关节炎治疗中的应用与临床分析[J]. 河北医学,2017,23(9):1463-1467.

[3] 庞成龙,颜世昌,陈晖. 富血小板血浆治疗膝骨性关节炎的研究进展[J]. 骨科,2019,10(2):167-172.

[4] 陈玉书,张燕红,刘日许,等. 富血小板血浆治疗膝关节骨关节炎的临床疗效[J/CD]. 中华关节外科杂志(电子版),2017,11(6):589-592.

[5] DI-MARTINO A,DI-MATTEO B,PAPIO T,et al. Platelet-rich plasma versus hyaluronic acid injections for the treatment of knee osteoarthritis:results at 5 years of a double-blind,randomized controlled trial[J]. Am J Sports Med,2019,47(2):347-354.

[6] 何珊,周勇伟,杜红卫. 自体富血小板血浆与糖皮质激素关节腔内注射治疗晚期膝骨关节炎疼痛的疗效比较[J]. 医药导报,2018,37(8):960-963.

[7] 侯晓明,李丽,臧静一,等. 富血小板血浆(PRP)用于膝关节骨性关节炎关节软骨修复作用研究[J/CD]. 临床医药文献电子杂志,2017,4(92):18036-18037.

[8] 赵泉,刘艳西,吴剑. 富血小板血浆对兔膝骨关节炎模型基质金属蛋白酶-9 的影响[J]. 吉林医学,2018,39(8):1403-1406.

[9] 赵新亮. 透明质酸钠注射配合自体富血小板血浆注射治疗膝骨关节炎的临床效果[J]. 临床医学研究与实践,2018,3(25):37-38.

[10] 崔桂华. 富血小板血浆与透明质酸钠治疗膝骨关节炎的效果比较[J]. 中国当代医药,2018,25(16):102-104.

[11] 马浩哲,郑成. 膝关节骨性关节炎经关节腔内注射自体富血小板血浆治疗效果分析[J]. 江汉大学学报(自然科学版),2019,47(1):83-86.

[12] COLE B J,KARAS V,HUSSEY K,et al. Hyaluronic acid versus platelet-rich plasma: a prospective, double-blind randomized controlled trial comparing clinical outcomes and effects on intra-articular biology for the treatment of knee osteoarthritis[J]. Am J Sports Med,2017,45(2):339-346.