股骨头坏死骨髓 IL-6 表达与骨髓水肿分级的相关性研究

陈恒安,胡 海,刘金龙,李 华,徐祖健
(西南医科大学附属中医医院关节外科,四川 泸州 646000)

摘要:目的 探讨股骨头坏死骨髓白细胞介素 6 (IL-6)表达水平与骨髓水肿分级的相关性。**方法** 选取 2016 年 6 月~2017 年 12 月就诊于我院骨关节科行多孔髓芯减压术治疗的早期股骨头坏死患者 32 例作为研究对象,共 42 髋。术前结合 MRI 影像分为无骨髓水肿组、骨髓水肿 1 级组、骨髓水肿 2 级组及骨髓水肿 3 级组。所有患者行股骨头钻孔髓芯减压术,术中通过钻孔通道采集股骨头坏死骨髓标本,采用 ELISA 方法检测骨髓 IL-6 的表达水平。分析股骨头骨髓 IL-6 水平与 ARCO 分期及骨髓水肿分级的相关性。**结果** 42 髋中无骨髓水肿 6 髋、1 级骨髓水肿 9 髋、2 级骨髓水肿 12 髋及 3 级骨髓水肿 15 髋。相关性分析显示 ARCO 分期与骨髓水肿具有正相关性(r=0.567, P<0.05);骨髓 IL-6 含量在骨髓水肿各级组间比较有统计学差异(F=63.963, P<0.05)。骨坏死骨髓 IL-6 表达与骨髓水肿分级呈正相关(r=0.879, P<0.05)。**结论** 骨髓水肿在股骨头坏死 ARCO 分期进展中发挥重要作用,其发生与骨髓 IL-6 的表达有关,骨髓 IL-6 表达可能在推进股骨头坏死病程进展过程中发挥重要作用。

关键词:股骨头坏死;骨髓水肿;IL-6;炎性细胞因子;髓芯减压术;ARCO 分期

中图分类号:R681.8 **文献标识码:**A DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2019.03.021

文章编号:1006-1959(2019)03-0065-04

Correlation between Bone Marrow IL-6 Expression and Grade of Bone Marrow Edema in Osteonecrosis of Femoral Head

CHEN Heng-an,HU Hai,LIU Jin-long,LI Hua,XU Zu-jian
(Department of Joint Surgery,Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Southwest Medical University, Luzhou 646000,Sichuan,China)

Abstract:Objective To investigate the correlation between the expression of interleukin-6 (IL-6) and bone marrow edema in patients with femoral head necrosis. **Methods** A total of 32 patients with early femoral head necrosis treated with porous core decompression in our department of osteoarthrosis from June 2016 to December 2017 were enrolled. Preoperative combined with MRI images were divided into no bone marrow edema group, bone marrow edema level 1 group, bone marrow edema level 2 group and bone marrow edema level 3 group. All patients underwent core decompression of femoral head drilling, and bone marrow specimens of femoral head necrosis were collected through the drilling channel during operation. The expression level of IL-6 in bone marrow was detected by ELISA. The correlation between IL-6 levels in the femoral head bone marrow and ARCO staging and bone marrow edema grade was analyzed. **Results** Among the 42 hips,there was no bone marrow edema in 6 hips, grade 1 bone marrow edema in 9 hips, grade 2 bone marrow edema in 12 hips and grade 3 bone marrow edema in 15 hips. Correlation analysis showed that there was a positive correlation between ARCO staging and bone marrow edema (r=0.567, P<0.05), and there was a significant difference in bone marrow IL-6 content between different levels of bone marrow edema (F=63.963, P<0.05). The expression of bone marrow IL-6 in osteonecrosis was positively correlated with the grade of bone marrow edema (r=0.879, P<0.05). **Conclusion** Bone marrow edema plays an important role in the progression of ARCO stage of femoral head necrosis, which is related to the expression of bone marrow IL-6. The expression of bone marrow IL-6 may play an important role in the progression of osteonecrosis of femoral head.

Key words: Femoral head necrosis;Bone marrow edema;IL-6;Inflammatory cytokines;Core decompression;ARCO staging

骨髓水肿(bone marrow edema,BME)是股骨头坏死病程进展过程中的常见伴随征象,常通过核磁检查发现,普遍存在于坏死病灶周围[1],与股骨头坏死分期及疼痛分级[2,3]相关,是股骨头坏死塌陷的高危因素[4]。然而其并发骨髓水肿的机制目前尚不完全清楚,可能与机械应力微骨折,缺血、骨内高压学说[5,6]、炎性因子等有关[7,8]。近年来,大量临床病理切片证实股骨头坏死修复反应区的骨髓水肿是一种炎性反应,因此,研究骨髓水肿炎性反应在股骨头坏死的发生机制具有重要意义。IL-6 既是重要的促炎性细胞因子,又是促进骨吸收的细胞因子。本研究拟探讨 IL-6 表达与股骨头坏死骨髓水肿分级的关系,拟为早期临床防治股骨头坏死迅速进展及预防塌陷提供新的思路与临床实验依据。

作者简介:陈恒安(1991.4-),男,重庆人,硕士研究生,主要从事骨关节基础与临床方面的研究
通讯作者:徐祖健(1963.9-),男,四川西昌人,本科,教授,主任医师,主要从事骨关节基础与临床方面的研究

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 6 月~2017 年 12 月在西南医科大学附属中医医院关节外科住院行多孔髓芯减压术治疗的早期股骨头坏死的患者 32 例作为研究对象,共 42 髋,本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属知情同意,并签署知情同意书。单侧股骨头坏死 22 例,其中左侧 16 髋,右侧 12 髋,双侧受累 10 例。男 24 例,女 8 例,年龄 28~66 岁,平均年龄(46.80±4.85)岁。其中 18 例有长期使用激素 8 例,12 例长期酗酒,2 例无明确病因。按照股骨头坏死的 ARCO 分期[7]:Ⅰ期 8 髋、Ⅱ期 17 髋、Ⅲ期 17 髋。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:①临床症状符合,通过骨盆正位、蛙式位的 X 线片和 MRI 检查明确诊断为股骨头坏死,且属于塌陷前期的患者;②诊断符合 2012 年版成人股骨头坏死诊疗标准专家共识[9]。排除标准:①股骨头坏死伴髋关节炎的患者;②全身存在感染或患有自身免疫性疾病对实验影响较大的患者;③继续服用激素类药物的患者;④存在重大基

础疾病不能耐受手术的患者。

1.3 方法

1.3.1 标本采集及检测　所有患者行多孔髓芯减压术，术中采用 2.5 mm 克氏针穿刺坏死病灶，在 C 形臂设备正侧位透视下，确定克氏针打入股骨头坏死灶中心，使用 PKP 工具包组合式套管，配合 20 ml 空针注射器抽取骨坏死水肿区域液体标本。将标本置于 3000 r/min 离心 10 min 分离上清液，抽取的上清液再次于低温超高速离心机（Eppendorf AG，22331 Hamurg，德国）离心，12000 r/min，离心 10 min 分离脂肪成分，选取中层清液于医用低温保存箱-70℃冻存待测。采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验（ELISA）检测标本 IL-6 的浓度。试剂准备和检测程序参照 IL6 ELISA 试剂盒（human IL-6 ELISA Kit，上海桥杜生物科技有限公司，批号：201803）完成实验操作。

1.3.2 影像学检查　患者均行骨盆正位 X 线、髋关节蛙式位 X 线及 MRI 检查。MRI 使用西门子 skyra 3.0T 型磁共振扫描仪体线圈扫面双侧髋关节，层厚 3 mm。MRI 扫描技术及参数：T_2WI（TR/TE=4000/65 ms）、T_1WI（TR/TE=3150/80 ms）、STIR（TR/TE=428/11 ms）。由影像科和关节科医师独立评阅患者 X 线及 MRI 结果，结合患者病史及临床表现做出诊断。

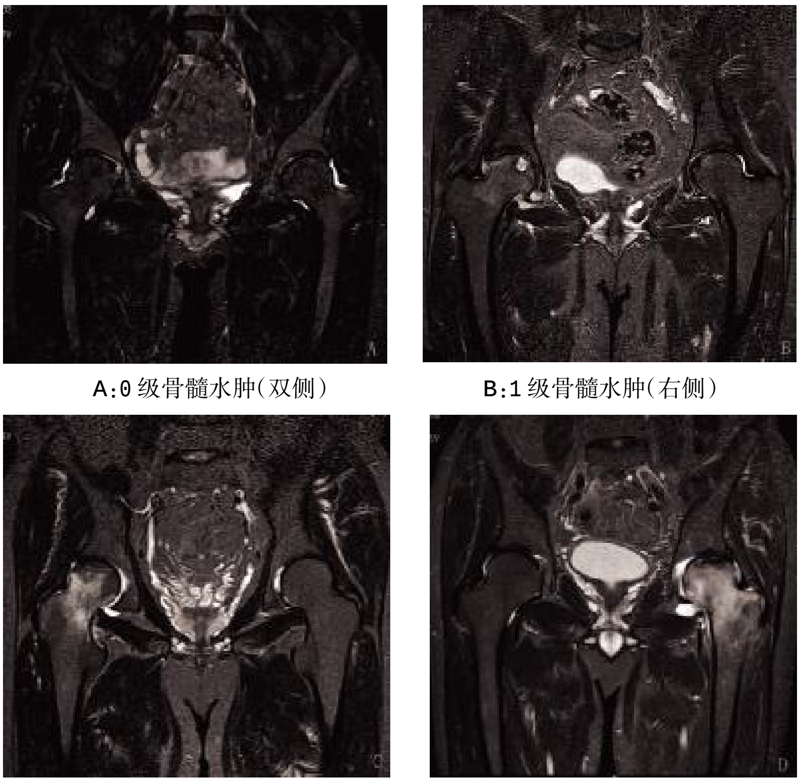
1.4 评价标准　ARCO 分期标准[10]：①Ⅰ期为 X 线片、CT 正常，但骨扫描或 MRI 阳性；②Ⅱ期为无新月征但 X 线片异常：③硬化，骨小梁缺失，局部囊变；④Ⅲ早期为 X 线片出现新月征伴或不伴股骨头关节面变平，CT 没有塌陷；⑤Ⅲ晚期为线片出现塌陷和股骨头关节面变平；⑥Ⅳ期为骨关节炎征象：关节间隙狭窄，髋臼改变，关节破坏。

骨髓水肿诊断标准：骨髓水肿诊断可根据 MRI 影像学上显示股骨头坏死灶周围 T_1WI 呈低信号、T_2WI 呈等高信号、压脂像呈清楚高信号影。骨髓水肿 MRI 分级参照赵培荣[11]以髋关节 MRI 冠状位扫面 T_2WI、STIR 图像观察为主，将股骨上段水肿分为 0~3 级进行统计：0 级为股骨上段无水肿；1 级为水肿局限于股骨头区；2 级为水肿局限于股骨头及股骨颈区；3 级为水肿自股骨头延伸至粗隆下。

1.5 统计学分析　运用 SPSS 20.0 统计软件对资料进行分析，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，各组间比较采用方差分析（S-N-K 法）；相关性分析应用 Spearman 相关分析法，以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 股骨头坏死 ARCO 分期与骨髓水肿的关系　32 例 42 个髋关节中，ARCOⅠ期 8 髋、Ⅱ期 17 髋、Ⅲ期 17 髋。42 髋中 0 级（即无髓水肿）6 髋、1 级骨髓水肿 9 髋、2 级骨髓水肿 12 髋及 3 级骨髓水肿 15 髋，具体分布见表 1，不同级别骨髓水肿 MRI 表现见图 1。Spearman 相关性分析显示 ARCO 分期与骨髓水肿具有正相关性，具有统计学意义（相关系数 r=0.567，$P<0.05$）。



A：0 级骨髓水肿（双侧）　B：1 级骨髓水肿（右侧）

C 2 级骨髓水肿（右侧）　D 3 级骨髓水肿（左侧）

图 1　不同级别骨髓水肿 MRI 表现

2.2 骨髓 IL-6 含量表达情况及与骨髓水肿分级关系　各组间骨髓 IL-6 比较差异均有统计学意义（F=63.963,P<0.05),且随着水肿分级增加 IL-6 含量表达有增加的趋势。Spearman 相关分析显示骨坏死区域 IL-6 表达骨髓水肿分级呈正相关,差异具有统计学意义(相关系数 r=0.897,P<0.05),见表 2,图 2。

表 1　骨髓水肿分级与 ARCO 分期分布表(n)

ARCO 分期	骨髓水肿				合计
	0 级水肿	1 级水肿	2 级水肿	3 级水肿	
Ⅰ期	4	3	1	0	8
Ⅱ期	2	3	5	7	17
Ⅲ期	0	3	6	8	17
合计	6	9	12	15	42

注:r=0.567,P=0.001

表 2　不同水肿分级 IL-6 含量($\bar{x}\pm s$,pg/ml)

水肿分级	IL-6
0 级	16.01±3.29
1 级	28.88±3.89
2 级	44.78±6.80
3 级	53.62±6.33

注:*提示各不同水肿等级两两比较,P<0.05;r=0.879,P=0.001

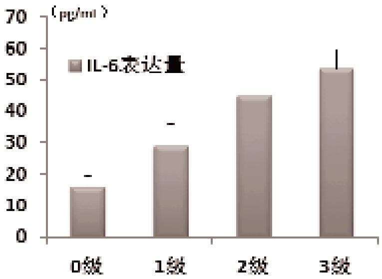


图 2　不同骨髓水肿分级 IL-6 含量柱状图

3 讨论

股骨头坏死又称股骨头无菌性坏死,或股骨头缺血性坏死,是多种原因导致的股骨头血供受损,造成骨细胞及骨髓成分部分死亡及发生随后的修复,继而引起骨组织坏死,导致股骨头结构改变及塌陷,引起髋关节疼痛及功能障碍的疾病[12]。该病起病隐匿,自然进展快,容易导致股骨头的塌陷甚至骨性关节炎而致残率高。股骨头坏死发病机制较复杂且预后不良,是骨科治疗的难题,临床上虽治疗手段较多,早中期治疗主要方法[13]有髓芯减压、病灶减压植骨、网球支架置入、钽棒支撑、介入、截骨术、细胞因子或干细胞移植术、药物及各种物理治疗等,但其治疗周期长、治疗费用高、且效果难以令人满意。目前关于股骨头坏死治疗研究已达瓶颈,很难再有新的突破,早期诊断,及时予以合理有效的治疗显得格外要。本研究通过髓心减压手术,抽取股骨头骨髓分析,拟为早期临床防治股骨头坏死迅速进展及预防塌陷提供新的思路与临床实验依据。

骨髓水肿是以骨基质水肿、纤维组织增生及炎性细胞浸润为主要病理表现的一种征象[14],常见于股骨头坏死疾病。詹伟强等[15]学者研究得出 ARCO 分期Ⅰ~Ⅲ期骨髓水肿的发生率依次升高（χ^2=27.69,P=0.001); Ⅰ~Ⅲ期骨髓水肿的平均秩次加大;骨髓水肿分级越高,可能预示病情的进展。

本研究选取股骨头坏死塌陷前 ARCO Ⅰ~Ⅲ期的患者,研究了骨髓水肿的发生与分期和疼痛程度的相关性。研究结果显示 ARCO 分期与骨髓水肿分级具有显著正相关(r=0.567,P=0.001),表明股骨头坏死塌陷前，骨髓水肿分级随着股骨头坏死分期增加而增加。该结果产生的主要原因可能是在股骨头坏死早期，骨细胞死亡，坏死区域释放大量炎性因子,促使血流增加,毛细血通透性增加,导致局限性的骨髓水肿；股骨头坏死中期，骨组织坏死体积增大,骨坏死骨髓水肿程度重,水肿范围广泛。因此,骨髓水肿可以作为判断疾病进展的辅助指标。

IL-6 不仅是重要的炎症细胞因子,也是主要的破骨细胞调节因子之一，可刺激破骨细胞的增殖和功能的表达,被称为溶骨性细胞因子[16]。冯伟等[17]研究结果表明 IL-6 刺激破骨细胞性骨吸收，其效应随 IL-6 的浓度而不同，低浓度刺激破骨细胞形成、较高浓度能刺激成熟的破骨细胞骨吸收功能。IL-6 作为重要的炎性细胞因子，通过刺激破骨细胞分化成熟调节骨内代谢，在股骨头坏死修复和塌陷起到重要作用。有文献指出 [18]IL-6 通过 OPG/RANKL/RANK 调解破骨细胞功能，坏死区软骨下破骨细胞功能强,在修复区成骨细胞功能强,由于破骨细胞加强坏死区修复,造成骨质量下降,应力分布不均,因而发生微骨折,产生骨髓水肿,导致塌陷。近年来,文献报道[19,20]临床上使用二磷酸盐可以减弱 IL-6 对破骨细胞的作用，防治股骨头坏死塌陷，取得满意效果。Bosco G 等[21]研究发现高压氧治疗通过作用于 IL-6 等骨吸收细胞因子及其协同作用,调节炎症和氧化应激改善股骨头坏死患者取得有益的效果。Kuroyanagi G 等[22]学者研究在手术引起的股骨头缺血性坏死的野生型和 IL-6 敲除的小鼠实验中证实 IL-6 敲除的小鼠比野生型小鼠更有利于刺激股骨

头坏死血管再生和新骨形成。

本研究采用 Spearman 相关性分析 结果显示骨坏死区域 IL-6 表达与骨髓水肿分级存在明显正相关(r=0.879,P=0.001),各组间差异比较均有统计学差异(F=63.963,P<0.05),且随着水肿分级增加 IL-6 含量表达有增加的趋势,表明骨髓 IL-6 的表达与骨坏死骨髓水肿的产生有关,骨髓水肿分级越高,骨髓 IL-6 表达越高。该结果产生的原因可能是 IL-6 在股骨头坏死病变发生发展过程中通过介导骨内炎症反应及调解骨内代谢,导致股骨头坏死骨髓水肿,造成股骨头坏死病变发生发展。

综上所述,本研究结果表明骨髓水肿在股骨头坏死 ARCO 分期进展中发挥重要作用,可以作为判断疾病进展的辅助指标,而骨髓 IL-6 可能通过介导骨内炎症反应及骨代谢导致股骨头坏死发生发展。在接下来的研究中,将进一步通过临床干预研究明确 IL-6 在介导骨内炎症反应和调节骨内代谢的作用机制,为临床上早期干预骨髓内炎症延缓股骨头坏死塌陷提供新的思路及实验依据。

参考文献:

[1]Stumpp P,Roth A.Bone marrow edema-differential diagnosis of the femoral head necrosis[J]. Der Orthopade,2018,47(9):717-721.

[2]唐昊,常俊,陆鸣,等.非创伤性股骨头坏死髋关节积液与坏死分期及髋关节功能的相关性分析[J].临床骨科杂志,2017,20(2):169-172.

[3]詹维强,尹宗生,陆鸣,等.非创伤性股骨头坏死骨髓水肿与 ARCO 分期及疼痛的相关性[J].中国组织工程研究,2015,19(46):7529-7533.

[4]姜胜攀,谭一清,雷文峰,等.基于磁共振成像对股骨头坏死继发骨髓水肿的临床指标相关性研究[J].实用医学影像杂志,2017,18(3):219-222.

[5]Roth A,Beckmann J,Bohndorf K,et al.Update of the German S3 guideline on atraumatic femoral head necrosis in adults[J].Der Othopade,2018,47(9):757-769.

[6]Quack V,Betsch M,Schenker H,et al.Pathophysiology of traumatic bone marrow ede-ma [J].Unfallchirurg,2015,118(3):199-205.

[7]高宇航.股骨头坏死中的炎性细胞因子的临床相关研究[D].吉林大学,2017.

[8]Adapala NS,Yamaguchi R,Phipps M,et al.Necrotic Bone Stimulates Proinflammatory Responses in Macrophages through the Activation of Toll-Like Receptor 4 [J].Am J Pathol,2016,186(11):2987-2999.

[9]中华医学会骨科分会显微修复学组,中国修复重建外科专业委员会骨缺损及骨坏死学组. 成人股骨头坏死诊疗标准专家共识(2012 年版)[J].中华骨科杂志,2012,32(6):606-610.

[10]Gardeniers JWM,Goslin-Gardeniers AC,Rijnen WHC.The ARCO Staging System:Generation and Evolution Since 1991[M]//Koo KH,Mont MA,Jones LC.Osteonecrosis,Heidelberg:Springer,2014:215-218.

[11]赵培荣,庄奇新,张长青.股骨头缺血坏死骨髓水肿的 MRI 研究[J].实用放射学杂志,2006(7):835-837,853.

[12]赵德伟.成人股骨头坏死临床诊疗指南(2016) [J].中华骨科杂志,2016,36(15):945-954.

[13]丁佐佑,陈增淦.股骨头坏死保头手术治疗的研究进展[J].中国临床医学,2018,25(5):830-834.

[14]陈军,瞿玉兴.骨髓水肿的现代研究[J].长春中医药大学学报,2010,26(2):255-256.

[15]詹维强,尹宗生,陆鸣,等.非创伤性股骨头坏死骨髓水肿与 ARCO 分期及疼痛的相关性 [J]. 中国组织工程研究,2015,19(46):7529-7533.

[16]于超平,姚建晗,高原,等.白细胞介素-6 与骨质疏松相关研究进展[J].新乡医学院学报,2017,34(11):1040-1043.

[17]冯伟.IL-6 和 sIL-6R 对不同浓度 RANKL 诱导的破骨细胞分化和活性的差异性调节及其机制研究 [D]. 山东大学,2017.

[18]李盛村,鲍捷,王国祥.IL-6 与 OPG/RANKL/RANK 信号通路在风湿性关节炎发病机制中的作用 [J]. 现代预防医学,2013,40(5):933-935.

[19]苟文隆.骨坏死修复机制及局部应用唑来膦酸调节成骨/破骨活动的研究[D].中国人民解放军医学院,2014.

[20]Floresrobles BJ,Sanzsanz J,Sanabriasanchinel AA,et al.Zoledronic Acid Treatment in Primary Bone Marrow Edema Syndrome[J].J Pain Palliat Care Pharmacother,2017,31(1):52-56.

[21]Bosco G,Vezzani G,Mrakic Sposta S,et al.Hyperbaric oxygen therapy ameliorates osteonecrosis in patients by modulating inflammation and oxidative stress [J].J Enzyme Inhib Med Chem,2018,33(1):1501-1505.

[22]Kuroyanagi G,Adapala NS,Yamaguchi R,et al.Interleukin-6 deletion stimulates revascular-ization and new bone formation following ischemic osteonecrosis in a murine mod-el[J].Bone,2018(16):221-231.

收稿日期:2018-12-4;修回日期:2018-12-29
编辑/肖婷婷