

· 论 著 ·

# 类风湿性关节炎患者韧带及关节囊组织炎性浸润机制研究

李 颖<sup>1</sup>, 刘英娜<sup>2</sup>, 覃仕化<sup>1</sup>, 杨俊生<sup>2</sup>, 冷冬妮<sup>2</sup>, 王 璐<sup>2</sup>, 杜秀奎<sup>2</sup>, 汪 悦<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨类风湿性关节炎患者的韧带及关节囊组织的浸润机制,为临床针对类风湿性关节炎患者关节周围软组织保护的筛选提供新的思路。**方法** 收集 27 例关节置换术中切取的关节囊和部分韧带组织,其中类风湿性关节炎(RA)6 例,骨性关节炎(OA)9 例,关节创伤(AT)12 例,观察关节囊和韧带组织大体病变,光学显微镜下病理切片检查,并行组织匀浆免疫组化检测肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )水平。**结果** RA 组的关节囊和韧带组织明显增厚,平均厚度 0.81 cm,镜下见韧带及关节囊组织中血管扩张,周围淋巴细胞浸润,纤维、胶原细胞增生,淋巴细胞数量明显多于 OA 组;RA 组、OA 组髌关节囊前壁厚度与 AT 组比较,差异有显著性( $P < 0.05$ );RA 组与 OA 组比较,无明显差异( $P > 0.05$ )。RA 组、OA 组的关节囊和韧带组织匀浆中 TNF- $\alpha$  水平与 AT 组比较,有显著差异( $P < 0.01$ );RA 组与 OA 组比较,无明显差异( $P > 0.05$ )。**结论** RA 患者的韧带及关节囊组织的病变是血管扩张后的炎性细胞的浸润过程,是一个慢性非特异性炎性浸润过程,与关节滑膜组织及血管翳的关系不大。RA 的浸润过程与 OA 的炎性过程基本相同,但是炎性细胞浸润在数量上明显多于 OA。

**[关键词]** 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ;韧带;关节囊;类风湿性关节炎

**[中图分类号]** R593.22 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2011)04-0314-03

## Tissue damage mechanism of ligament and joint capsule injury in patients with rheumatoid arthritis

LI Ying<sup>1</sup>, LIU Ying-na<sup>2</sup>, QIN Shi-hua<sup>1</sup>, YANG Jun-sheng<sup>2</sup>, LENG Dong-ni<sup>2</sup>, WANG Jun<sup>2</sup>, DU Xiu-luan<sup>2</sup>, WANG Yue<sup>1</sup> 1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210000, China; 2. Department of Orthopedics, 454 Hospital of PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the infiltration mechanism of ligament and joint capsule in patients with rheumatoid arthritis (RA), with new ideas of screening drug for clinical protection against RA. **Methods** The part of the joint capsule and ligament tissues of 27 cases underwent joint replacement surgery were collected, including RA 6 cases, osteoarthritis (OA) 9 cases, and joint trauma (AT) 12 cases. The joint capsule and ligament were observed in general lesions, pathological examination under the light microscope, and TNF- $\alpha$  levels of tissue immunohistochemistry. **Results** The joint capsule and ligament tissue of RA patients was significantly thicker (0.81 cm in the average), with vasodilatation, lymphocyte infiltration surrounded, fibrosis, and collagen proliferation in the microscope. The number of lymphocytes in RA group was significantly more than that in OA group. The front wall thicknesses of the hip joint capsule with both RA group and OA group compared with AT group, the differences were significant ( $P < 0.05$ ), and there was no difference between RA group and OA group ( $P > 0.05$ ). The levels of TNF- $\alpha$  in both RA group and OA group compared with AT group, the differences were significant ( $P < 0.05$ ), and there was no difference between RA group and OA group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The pathological mechanism of RA patient's ligament and joint capsule tissue is inflammatory cell infiltration after the vasodilatation process, which is a process of chronic non-specific inflammatory infiltration, and has little to do with synovial membrane tissue and pannus. The infiltration processes of RA and that of OA are basically the same and the difference is that the number of inflammatory cell is significantly more than OA.

**[Key words]** TNF- $\alpha$ ; ligament; joint capsule; rheumatoid arthritis

**作者简介:** 李 颖(1972-),男,江苏镇江人,博士研究生,副主任医师,从事关节外科研究工作

**作者单位:** 1. 210000 江苏南京,南京中医药大学; 2. 210002 江苏南京,解放军 454 医院骨科

**通讯作者:** 汪 悦, E-mail: wangyuephd@126.com

类风湿性关节炎(RA)的软骨及骨组织的破坏和侵蚀机制近年来研究较多,但是有关韧带及关节囊组织的病变机制,目前研究不多。本研究通过临床人工关节置换患者的韧带及关节囊组织的病理观察,探讨有关韧带和关节囊组织的挛缩变形的过程。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

**1.1.1 标本来源** 标本取自人工关节置换术。其中类风湿性关节炎(RA组)6例(8个关节),男2例,女4例,年龄35~74岁,4个髋关节,3个膝关节,1个肘关节;骨性关节炎(OA组)9例,男3例,女6例,年龄46~67岁,7个髋关节,2个膝关节;关节创伤(AT组)12例,男5例,女7例,年龄65~87岁,为髋关节。

**1.1.2 入选标准** RA组入选标准:采用ACR/EULAR 2009年RA分类标准<sup>[1]</sup>,评分大于6分,影像学上关节有一定程度变形的中晚期患者。OA组入选标准:采用美国风湿病协会1995年修订的诊断标准,该标准包含临床和放射学标准<sup>[2]</sup>,所有病例环瓜氨酸多肽(CCP)及类风湿因子(RF)检查均阴性,红细胞沉降率(ESR) < 25 mm/h。创伤性人工关节置换病例是老年股骨颈骨折,受伤至行关节置换术的时间均 < 1周。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本获取** 髋关节置换的病例取前关节囊全层,用游标卡尺测量厚度,并将组织送病理检查;膝关节置换的病例取前关节囊和部分内侧副韧带组织送病理检查;肘关节置换的病例取后关节囊组织送病理检查。

**1.2.2 病理检测** 手术切除标本,4%中性甲醛固定,常规取材、脱水,石蜡包埋,4 μm厚切片,HE染色,光学显微镜观察。对于有关节软骨及关节囊钙化明显的区域,用脱钙液处理后常规HE染色制片。

**1.2.3 制备组织匀浆** 关节囊和韧带组织标本洗净擦拭干净后,放入-70℃冰箱中冷冻保存。匀浆方法:取5g组织,用移液管量取预冷的生理盐水,体积总量为组织块重量的9倍,用移液管移取总量2/3生理盐水于烧杯中,用眼科剪尽快剪碎组织块。将剪碎的组织倒入玻璃匀浆管中,再将剩余的1/3的生理盐水冲洗残留在烧杯中的碎组织块,一起倒入匀浆管中进行匀浆,左手持匀浆管将下端插入盛有冰水混合物的器皿中,右手将捣杆垂直插入套管中,上下转动研磨数十次(6~8 min),充分研碎,使组织匀浆化。将制备好的10%匀浆用半径8cm的离心机在4℃条件下以3000 r/min离心10~15 min,取上清液装入EP管,放入-70℃的冰箱冷冻保存,待检。

**1.2.4 TNF-α检测方法** 将组织匀浆采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测肿瘤坏死因

子-α(TNF-α)水平(ELISA实验试剂盒由上海韵涵生物科技有限公司提供)。

**1.3 统计学处理** 采用SPSS 11.0统计软件包进行统计学分析,正态分布的计量数据采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 $t$ 检验等, $P < 0.05$ 差异为有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 光镜下观察** 类风湿性关节炎患者的关节囊和韧带组织明显增厚,周围肌肉萎缩,关节滑膜表面无明显纤维素性渗出,部分滑膜衬覆细胞呈乳头状增生,部分滑膜衬覆细胞退行性变、消失,滑膜间质中血管扩张充血,纤维组织增生、胶原化,并见以血管为中心的较多浆细胞、淋巴细胞浸润,见图1。骨性关节炎与RA相比,淋巴细胞浸润程度存在数量上差别,见图2。

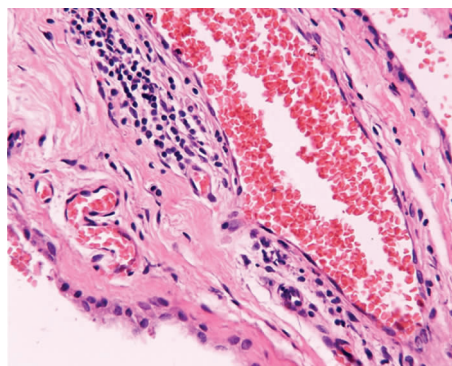


图1 类风湿性关节炎(HE ×40)

关节囊组织血管扩张充血,大量浆细胞、淋巴细胞浸润

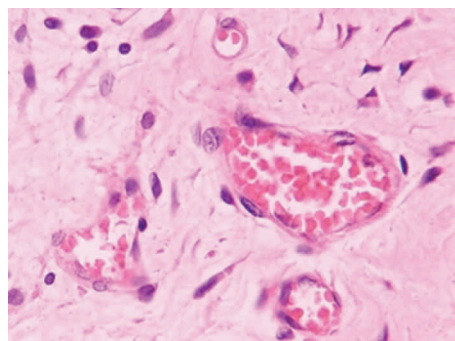


图2 骨性关节炎 (HE ×20)

关节囊纤维组织增生,胶原化,血管扩张充血,散在淋巴细胞浸润

**2.2 三组髋关节置换术切取的髋关节囊前壁厚度和髋关节囊韧带组织匀浆TNF-α浓度比较** 见表1。

表 1    三组髋关节置换术切取的髋关节囊前壁厚度  
和髋关节囊韧带组织匀浆 TNF-α 浓度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	厚度 (cm)	TNF-α (pg/ml)
RA 组	4	0.87 ± 0.11 *	25.13 ± 3.89 **
OA 组	7	0.77 ± 0.09 *	20.56 ± 8.83 **
AT 组	7	0.48 ± 0.08	5.07 ± 2.61

注:与 AT 组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与 AT 组比较, \*\*  $P < 0.01$

3 讨 论

RA 的病理过程是滑膜病变形成肉芽组织血管翳侵犯软骨,导致关节面破坏,关节间隙变窄,血管翳机化形成粘连,以及纤维组织增生,使关节功能明显受限,形成纤维性强直;在这个病变的过程中一氧化氮(NO)、前列腺素 E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 等炎症调节因子对软骨的效应,并发现 TNF-α、白介素-1(IL-1)在 RA 关节液中的水平升高,是参与关节炎过程中的主要因子等。一般认为关节囊及关节周围的韧带组织的损伤机制有以下几个方面:①RA 早期及中期反复关节积液肿胀,使关节囊及周围韧带受到机械牵拉而松弛;②严重期关节软骨破坏使关节间隙变窄,使关节囊及周围韧带相对松弛;③关节囊和韧带炎性病变,纤维增生及胶原化,使组织增厚、变韧,至终末期发生关节挛缩,甚至纤维性强直。关于 RA 的韧带及关节囊组织的炎性浸润的过程,浸润过程中是否与滑膜和血管翳的炎性侵犯有关,一直缺乏深入的研究。本研究中重点关注到 RA 的韧带及关节囊组织的病变过程,病理切片证实了 RA 的韧带与关节囊的浸润过程来自血管扩张后的炎性浸润的过程,本质上是一个慢性非特异性炎,与关节滑膜组织及血管翳的关系不大;RA 的浸润过程与 OA 的炎性过程的差别,在组织学上表现为炎性细胞种类及数量上有明显的差异,何种因子调节了这种程度上的差异还有待于进一步的研究。

TNF-α 是一种公认的炎性介质,广泛参与了炎性浸润的过程,TNF-α 的过量表达是类风湿滑膜炎的重要标志之一<sup>[3]</sup>。它可刺激关节滑膜细胞增生,还可以促进血管生成<sup>[4]</sup>;并募集大量淋巴细胞聚向炎性病变的关节囊和韧带组织,大量释放炎症相关的细胞因子,如 IL-1、白介素-6(IL-6)和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等,并促进软骨细胞和成纤维细胞释放胶原酶和基质降解酶等金属蛋白酶(MMP)的产生,这些均刺激破骨细胞的分化和活性,破坏关节软骨,同时刺激关节囊和韧带组织成纤

维细胞活性,促进组织增生,胶原纤维化。血清 TNF-α 已经成为 RA 诊断要点之一<sup>[5]</sup>,同时也是观察 RA 治疗效果的重要指标之一。TNF-α 的靶向治疗药物在临床治疗上也有大量的应用<sup>[6]</sup>,如 TNF-α 抗体英夫利昔、单奥等已经成为抗类风湿治疗的措施之一。本研究选用 TNF-α 作为一个指标观察 RA 和 OA 的靶向组织中的表达,发现组织的 TNF-α 的表达低于血清的表达,但两组之间的 TNF-α 表达水平无显著差异,这可能与选择的病例都是在相对稳定期,红细胞沉降率和 CCP 的数值都基本正常有关,同时这也说明 RA 的韧带及关节囊组织的损伤过程是一个非特异性的慢性炎性浸润的过程。

现代关节外科技术的进步,使得人工关节置换术后能够获得理想的关节功能。置换后的人工关节是金属界面间的相对活动,成功解决了骨及软骨组织的破坏和变形的问题,但是 RA 患者的僵硬的韧带及关节囊严重影响了关节功能的康复,使 RA 患者关节置换术后关节功能改善不满意<sup>[7]</sup>。笔者希望通过对 RA 的韧带损伤机制的深入研究,明确损伤机制,通过手术中的适当的韧带平衡技术<sup>[8]</sup>,在术前、术中、术后采用合适的药物和功能锻炼,取得满意的关节功能。

【参考文献】

[1] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿性关节炎诊断及治疗指南 [J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(4): 265-270.

[2] 中华医学会风湿病学分会. 骨关节炎诊断及治疗指南 [J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(6): 416-419.

[3] Chu CQ, Field M, Feldmann M, et al. Localization of tumor necrosis factor α in synovial tissues and at the cartilage-pannus junction in patients with rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum 1994, 34: 1125-1132.

[4] 成 锋,王昌兴,王伟东. 类风湿性关节炎滑膜新生血管形成及抑制机制 [J]. 医学综述, 2009, 15(15): 2291-2294.

[5] 王 毅,朱 江,张震宇,等. RA 及 OA 关节滑液 TNF-α 水平的相关性 [J]. 中国矫形外科杂志, 2004, 12(21-22): 1669-1671.

[6] 邱一华,谭俊铭,冯金忠,等. 中重度类风湿性关节炎的联合药物治疗比较 [J]. 东南国防医药, 2007, 9(1): 14-16.

[7] 王上增,孙永强. 类风湿性关节炎股骨头缺血性坏死合并转子间骨折全髋关节置换 12 例 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(4): 763-767.

[8] 王维军,牛东生. 重症类风湿性关节炎膝关节屈曲挛缩畸形全膝关节置换术的软组织平衡 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2008, 22(10): 1173-1176.

(收稿日期:2011-03-11;修回日期:2011-04-14)

(本文编辑:黄攸生; 英文编辑:王建东)