

骨关节炎滑膜病变的体液标志物研究进展

姚佳炜, 邱波*

武汉大学人民医院骨关节外科, 武汉 430060

摘要: 骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种以进行性关节软骨的退化、骨赘形成及软骨下骨硬化为病理特征的疾病。近年来研究发现,关节滑膜的炎症也是骨关节炎发病的重要病理机制。骨关节炎患者体内血清及滑液中包含大量滑膜细胞和软骨细胞的代谢产物,如胶原蛋白降解产物、C反应蛋白降解产物、透明质酸、细胞因子和糖蛋白等,这些滑膜或软骨细胞的代谢产物与骨关节炎密切相关,它们在骨关节炎滑膜病变的发生和发展过程中发挥重要作用,能够一定程度反映骨关节炎患者体内关节滑膜的炎症程度及骨关节炎的进展程度。早期骨关节炎的滑膜病变在医学影像学检查中难以被识别和诊断,因此,寻找与骨关节炎滑膜病变相关的特异性生物学标志物有助于骨关节炎滑膜炎的早期诊断及进展评估。综述了以上各种滑膜或软骨细胞代谢产物与骨关节炎滑膜病变相关关系的研究进展,以期未来开发相应的生化检测手段和药物提供理论依据。

关键词: 骨关节炎;滑膜病变;体液;生物学标志物

DOI:10.19586/j.2095-2341.2021.092

中图分类号:R684 文献标志码:A

Research Progress of Body Fluid Markers of Osteoarthritis Synovial Lesions

YAO Jiawei, QIU Bo*

Department of Orthopedics, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Abstract: Osteoarthritis (OA) is a disease characterized by progressive articular cartilage degradation, osteophyte formation, and subchondral bone sclerosis. In recent years, studies have found that the inflammation of synovium is also an important pathological mechanism in the pathogenesis of osteoarthritis. The serum and synovial fluid of patients with osteoarthritis contain a large number of metabolites of synovial cells and chondrocytes, such as collagen degradation products, C-reactive protein degradation products, hyaluronic acid, cytokines, and glycoproteins. These metabolites of synovial cells or chondrocytes are closely related to osteoarthritis, and they play important roles in the occurrence and development of synovial diseases of osteoarthritis, which can reflect the degree of inflammation of joint synovium and the progress of osteoarthritis in patients with osteoarthritis to a certain extent. The synovial lesions of early osteoarthritis are difficult to be identified and diagnosed in medical imaging examinations. Therefore, finding sensitive and specific biomarkers related to osteoarthritis synovial lesions is helpful for osteoarthritis synovium early diagnosis of inflammation and evaluation of its progress. This paper summarized the research progress of the relationship between metabolites of synovial cells or chondrocytes above and osteoarthritis synovial lesions, which was expected to provide a theoretical basis for the development of corresponding biochemical detection methods and drugs in the future.

Key words: osteoarthritis; synovial disease; body fluid; biomarkers

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种关节软骨变性疾病,其病理特征是进行性关节软骨的退化、骨赘形成及软骨下骨硬化^[1]。OA的病因主要与

年龄、肥胖、关节过度劳损、关节畸形等因素有关^[2]。研究表明,OA的主要发病机理为软骨细胞外基质的降解和软骨的破坏和退变。近年来,研

收稿日期:2021-05-23; 接受日期:2021-07-27

基金项目:国家自然科学基金项目(81071494)。

联系方式:姚佳炜 E-mail:934234495@qq.com; *通信作者 邱波 E-mail:drqb123@163.com

究显示,滑膜组织中炎性细胞的聚集及炎性介质的表达也是OA发病的重要因素,且关节滑膜的慢性炎症会促进OA的发生和进展^[3]。OA患者滑膜炎的组织学标志是滑膜内皮细胞的增生、中度炎性细胞的浸润及新生血管的形成,且滑膜组织的增生厚度与炎性细胞浸润的程度明显相关^[4]。有研究表明,相比OA晚期,OA早期阶段巨噬细胞在关节内浸润更显著,其巨噬细胞分泌的细胞因子及炎症因子,如IL-1、IL-6、TNF、血管内皮生长因子可通过滑液扩散到软骨中,促进软骨细胞的凋亡与新生血管在软骨组织内的侵入,导致软骨细胞的破坏与降解,加重关节磨损,并最终导致OA的进展^[5]。OA患者关节液、血清等体液中均含有大量的滑膜细胞及软骨细胞代谢的产物,这些产物与OA发病和进展相关,总结这些滑膜细胞及软骨细胞代谢的标志性产物有助于医学研究者早期诊断OA滑膜病变并及时给予干预,抑制OA的进一步发展^[6]。本文对胶原蛋白降解产物、C反应蛋白降解产物、细胞因子、糖蛋白等与OA滑膜病变相关的生物学标志物进行综述,以期对未来开发相应的骨关节炎生化检测手段和治疗药物提供理论依据。

1 蛋白及代谢产物

1.1 胶原蛋白降解产物

I型胶原蛋白存在于大多数结缔组织中,其由I型胶原蛋白 $\alpha 1$ (collagen type I $\alpha 1$, COL1A1)和I型胶原蛋白 $\alpha 2$ (collagen type I $\alpha 2$, COL1A2)组成,是细胞外基质的关键组成成分^[7]。III型胶原蛋白是一种重要的结构蛋白,占人体全部胶原蛋白含量的5%~20%,也是细胞外基质的组成成分之一^[8]。当基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)过度表达时,I型与III型胶原蛋白可在软骨及滑膜细胞内被裂解成C1M和C3M胶原降解片段并被释放于人体血清和关节滑液中。研究表明,具有滑膜炎的OA患者体内血清C1M和C3M的含量均升高,且升高水平与关节滑膜的炎症程度相关,可作为反映OA关节滑膜炎程度的参考指标^[9]。Kjelgaard-Petersen等^[10]通过离体细胞培养实验发现,正常成纤维滑膜细胞中未见CM1和CM3,而在TNF- α 与IL β 等炎性介质刺激下,OA患者滑膜细胞分泌

CM1和CM3的含量显著升高,表明OA患者血清、滑液中的CM1和CM3在炎症条件下由滑膜组织释放,胶原蛋白降解产物CM1和CM3在一定程度上有助于医学研究者评估OA患者滑膜组织病变的严重程度。

1.2 C反应蛋白降解产物

C反应蛋白作为人体一种炎症标志物,是一种急性期感染或炎症反应产物,其可由肝脏或其他组织中释放并与蛋白受体结合,聚集于炎症部位,且在MMPs的作用下分解成CRP片段(MMP-derived fragment of CRP, CRPM)。CRP不能特异性反映关节滑膜、软骨等特异组织的炎症,但可运用酶联免疫吸附试验测定MMPs裂解CRP所产生的CRPM,更好地反映关节滑膜或软骨组织的炎症情况^[11]。Siebuhr等^[9]采用酶联免疫吸附法测定342例有症状的膝关节炎患者血清中hsCRP、CRPM、CM1、CM3的含量,发现OA患者血清中CRP、CRPM、CM1、CM3均升高,且CRPM较其他指标升高更显著。Petersen等^[12]以疼痛视觉量表(visual analog scale, VAS)、膝关节压力疼痛阈值(pressure pain thresholds, PPTs)评估OA疼痛情况,对58例伴有关节疼痛症状的膝关节炎(knee osteoarthritis, KOA)患者和33例KOA无疼痛症状患者行核磁共振扫描,采用波士顿利兹骨关节炎评分(Boston Leeds osteoarthritis score, BLOKS)评估OA患者滑膜炎程度,并测定了两组患者血清中CRPM蛋白含量,结果发现,OA患者疼痛评分较高,膝关节滑膜炎程度较严重,且体内血清CRPM蛋白含量明显升高,并认为CRPM可作为反映OA患者关节内慢性炎症情况的指标,而炎症程度加重会导致关节内炎症因子进一步释放,破坏关节内正常的生理机构,导致骨关节炎的进展。以上研究表明,CRPM与骨关节炎患者的滑膜炎情况及疼痛症状相关,因此,测定血清中CRPM的含量对于了解关节内滑膜及软骨组织慢性炎症程度及OA进展程度具有一定的指导作用。

2 低分子透明质酸

透明质酸(hyaluronic acid, HA)是糖胺聚糖(glycosaminoglycans, GAGs)家族成员,而糖胺聚糖是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的主

要组成部分。HA化学结构是由D-葡萄糖醛酸和N-乙酰基-D-葡萄糖胺结合 β -糖苷键组成,这种简单的分子单元重复结合而形成的线性聚合物其分子量可达 5×10^6 kD^[13]。线性聚合物HA受到透明质酸酶1和透明质酸酶2的控制与调节,可被其分解为低分子HA片段,随后通过胞吞的方式传递到溶酶体中被进一步分解^[14]。低分子的HA降解产物可诱导各种促炎反应,如促进白介素-8(interleukin-8, IL-8)、IL-12及巨噬细胞炎性蛋白MIP-1 α 、MIP-1 β 单核细胞趋化因子-1等多种炎性细胞因子的表达,从而使局部组织发生炎症反应^[13]。Turan等^[15]通过酶联免疫吸附法测定58例OA患者与40名健康人群血清HA水平,采用双膝X射线以Kellgren-Lawrence(KL)评分系统评估OA活动指数,结果发现,血清HA水平与OA患者的膝关节变窄程度相关,晚期、活动期OA或滑膜炎程度较重的患者体内HA血清水平显著增高,以上研究表明,血清HA水平可作为OA疾病活动期的标志评估参数。此外,一项前瞻性研究对444例OA患者血清透明质酸(serum hyaluronic acid, sHA)水平与膝关节X射线影像学表现进行了分析,结果发现血清内具有高水平sHA患者相比于低水平sHA患者,骨关节炎KL评分系统的等级增高,且关节间隙变窄的进程加重,表明sHA可能是评估膝关节炎进展情况的有效预测指标^[16]。

3 细胞因子

3.1 血管内皮生长因子

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种重要的促血管生成活性的生长因子,具有促进内皮细胞有丝分裂和抗凋亡的作用。VEGF家族由VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F、胎盘生长因子(placenta growth factor, PIGF)及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, EG-VEGF)组成,这些VEGF家族成员可与3种类型的受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)结合从而参与信号转导过程^[17]。关节滑膜中巨噬细胞等炎性细胞的浸润可增强VEGF的表达,进一步促进血管细胞和感觉神经的生长,而感觉神经与新生血管的生长可穿透未钙化的关节软骨与半月板等关节区域,最终发展成伴有疼痛的骨关节

炎^[18]。段鑫等^[19]采用免疫组织化学方法检测了30例骨关节炎患者(骨关节炎组)、20例急性外伤性滑膜炎患者(急性滑膜炎组)与10名健康人群(正常组)的滑膜组织中缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)、VEGF的表达情况,结果发现,正常组滑膜组织未见HIF-1 α 、VEGF的表达,骨关节炎组与急性滑膜炎组中HIF-1 α 、VEGF的表达水平明显升高,且骨关节炎组高于急性创伤性滑膜炎组,同时,骨关节炎组与急性滑膜炎组中HIF-1 α 与VEGF的表达呈正相关,说明两者与骨关节炎中的滑膜病变密切相关,均可促进骨关节炎的发展。Demg等^[20]将Sprague-Dawley(SD)大鼠随机分为3组,在采用双侧前交叉韧带横断法(anterior cruciate ligament transection, ACLT)对OA组造模4周后,给予OA组大鼠局部膝关节注射100 μ L VEGF溶液,对照组膝关节注射100 μ L 0.9%氯化钠溶液,空白对照组未做任何处理,4周后采用番红固绿染色病理检测3组大鼠膝关节软骨,蛋白质印迹法测量软骨中细胞外基质成分聚集蛋白聚糖、II型胶原蛋白、基质金属蛋白酶-3(matrix metalloproteinase, MMP-3)、MMP-9、MMP-13、血小板反应蛋白基序的金属蛋白酶(A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-1, ADAMTS)及转化生长因子- β (transforming growth factor- β 1, TGF- β)的蛋白表达含量,结果显示,VEGF可促进基质蛋白酶MMP、ADAMTS、TGF- β 的表达,减少软骨细胞外基质聚集蛋白聚糖和II型胶原蛋白的含量,从而破坏关节内的软骨组织,且TGF- β 过度上调会使滑膜细胞纤维化,造成KOA的进一步恶化。以上研究表明,VEGF与骨关节炎中的滑膜病变和软骨细胞的降解密切相关,在骨关节炎进展机制中有重要作用。

3.2 白细胞介素与肿瘤坏死因子

IL-1 β 和肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor alpha, TNF- α)是炎症反应中主要的促炎细胞因子,可以调节如IL-6、IL-8等促炎因子的产生,引发关节的炎症联级反应。Ozler等^[21]比较了42例3级膝骨关节炎患者和42例4级膝骨关节炎患者血清和滑液中TNF- α 、MMP-13的水平,结果发现,TNF- α 的血清和关节滑液水平与OA等级有关,且4级OA的TNF- α 含量高于3级OA,即滑膜炎程度越严重其滑液中TNF- α 的水平越高。IL-

IL-1 β 、IL-4、IFN- γ 等细胞因子可诱导浸润在滑膜中的巨噬细胞产生白介素1受体拮抗剂(interleukin 1 receptor antagonist, IL-1Ra)。一项为期24个月的以111例有临床症状的膝关节炎患者做为研究对象的前瞻性研究发现,血清中IL-1Ra与OA放射影像学的严重程度相关,血清高水平IL-1Ra可促进膝关节炎的进展,提示IL-1Ra可作为预测OA进展的标志物^[22]。IL-6是一种由TNF- α 和IL-1 β 调节的促炎介质,且其可抑制软骨细胞外基质II型胶原蛋白的合成。Yang等^[23]对骨关节炎患者滑膜成纤维细胞中IL-6的表观遗传修饰研究发现,OA患者的滑膜成纤维细胞中IL-6的表达增强,通过抑制滑膜成纤维细胞IL-6的表达可减轻OA的症状,表明IL-6与OA的发病机理相关。IL-8又称为血管生成趋化因子,是一种与血小板因子-4化学结构相似的细胞因子,可由暴露于炎性刺激下的吞噬细胞产生。IL-8可激活中性粒细胞在局部的聚集并发挥其胞吞和胞吐作用^[24]。已有研究证明IL-8的血清水平与膝关节炎的严重程度及临床症状呈正相关,特别是中重度膝关节炎患者(KL $\geq$ II级),KL $\geq$ II级患者血清IL-8水平高于KL 0级或KL I级患者^[25]。此外,与正常膝关节相比,膝关节炎患者的关节滑液中IL-8的水平也有升高的现象^[26]。IL-2和IL-4是目前骨关节炎发病机理研究中的重点,Mabey等^[27]在OA患者的血浆中观察到IL-2与IL-4的水平升高,且IL-4与OA的放射学报告的严重程度相关。以上研究表明,炎性细胞因子在骨关节炎滑膜炎病变中可发挥重要作用,影响骨关节炎的发生和发展,因此,检测OA患者体内血清和关节滑液的白介素、肿瘤坏死因子水平对于评估OA的进展程度具有积极意义。

3.3 高迁移率族蛋白B1

高迁移率族蛋白B1(high-mobility group box-1, HMGB1)也称为两性霉素,是一种存在于细胞内的蛋白质。HMGB-1是一种新型的炎症细胞因子,当细胞坏死、损伤时,释放于细胞外,也可由巨噬细胞或中性粒细胞主动释放,引起大量炎性细胞的聚集^[28]。据文献^[29]报道, HMGB-1可诱导滑膜成纤维细胞的增生,并促进NF- κ B/IL-6信号通路的激活,导致滑膜组织中IL-6等炎性因子聚集和表达增强。Kokkola等^[30]通过免疫组织化学染色分别对SPF级健康大鼠滑膜组织、结核分枝杆菌诱导的滑膜炎大鼠的滑膜组织、OA及类风湿性

关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者滑膜组织进行定位分析,结果发现,在正常大鼠滑膜细胞中, HMGB-1主要局限于细胞核中,而在OA、RA患者及滑膜炎大鼠滑膜组织中, HMGB-1除了分布于细胞核中,还大量沉积于细胞外基质,且蛋白免疫印迹实验发现, HMGB-1大量存在于OA与RA患者滑液中。Ke等^[31]收集了74例膝关节炎患者的滑膜组织(疾病组)和34例半月板急性损伤患者的滑液标本(对照组),通过免疫组织化学分析确定了HMGB-1在滑膜组织中的位置,并采用免疫蛋白印迹法及酶联免疫吸附实验测定两组标本中HMGB-1的含量,采用KL评分系统和WOMAC评估量表评估OA患者的放射学与临床症状严重程度,并在显微镜下对OA患者的滑膜进行分级以评估滑膜炎的进展程度。结果发现,疾病组细胞核和细胞质具有HMGB-1蛋白分布的滑膜细胞占比以及HMGB-1蛋白水平明显高于对照组;滑膜及滑液中HMGB-1蛋白水平与患者疼痛评分、膝关节X线狭窄程度、滑膜炎进展程度呈正相关^[31]。以上研究表明, HMGB-1蛋白在OA患者的滑膜组织中过表达,患者关节滑液内的HMGB-1含量与OA患者进展和滑膜炎程度密切相关,OA患者关节内滑液HMGB-1的水平可作为评估OA进展及滑膜病变程度的一项生物学标志产物。

4 糖蛋白YKL-40

糖蛋白YKL-40又称人类软骨糖蛋白39(human cartilage glycoprotein-39, HC-gp-39)或乳房消退蛋白39(breast regressing protein 39, BRP-39),是一种最新发现的分子量高达40 kD的糖蛋白, YKL-40可由软骨细胞、滑膜细胞、肝星状细胞、中性粒细胞等多种细胞分泌,与肥胖症、慢性炎症和胰岛素抵抗等疾病有关^[32]。一项病理学研究表明, YKL-40蛋白存在于OA患者的软骨细胞、滑膜细胞及侵袭于滑膜组织的巨噬细胞中,且滑膜炎的程度越严重,滑膜组织含有YKL-40蛋白的细胞(YKL-40阳性细胞)越多;OA滑膜炎患者关节滑液中的YKL-40水平远高于血清水平,两者存在一定的因果关系,血清中的YKL-40来源于OA患者滑膜病变。若采取关节腔内注射糖皮质激素的干预措施,可以缓解OA患者的临床症状,并且可降低体内血清中的YKL-40蛋白含量, YKL-40可能

参与骨关节炎的病理过程^[33]。Johansen等^[34]通过检测健康儿童受试者、健康成年人受试者、晚期膝部骨关节炎患者、早期膝部骨关节炎患者、急性交叉韧带撕裂患者和半月板撕裂患者的血清和滑液中YKL-40蛋白水平,发现晚期膝部骨关节炎患者血清和关节滑液中YKL-40水平明显升高,且滑液中YKL-40水平是血清的10倍,YKL-40蛋白与Ⅲ型胶原蛋白片段呈显著正相关,而早期膝部骨关节炎、急性交叉韧带撕裂和半月板撕裂患者体液中未见YKL-40升高,表明滑液和血清中YKL-40水平可反映骨关节炎及滑膜病变的进展程度。以上研究表明,YKL-40参与OA滑膜炎的发病过程,可作为了解滑膜病变程度的生物标志物。

5 展望

骨关节炎既是一种退行性疾病,也是一种常见的风湿性疾病,其特征是软骨损坏和滑膜炎症,而滑膜炎与关节肿胀、炎性疼痛等临床症状密切相关。检测滑膜炎的金标准为活检关节滑膜组织,并联合超声、核磁共振等辅助学检查。早期的滑膜炎在超声、核磁、CT等辅助检查显影中并不明显,因此,在血清、滑液等体液中探寻与骨关节炎滑膜病变相关的敏感性、特异性生物学标志物具有重要意义,有助于早期诊断骨关节炎滑膜炎及评估进展。胶原蛋白降解产物(CM1与CM3)、CRPM、HA、细胞因子(VEFG、IL-1Ra、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、HMGB-1)及糖蛋白YKL-40等组织代谢产物与骨关节炎及滑膜的病变密切相关,并且其血清或关节腔滑液的蛋白水平可反映OA滑膜炎的严重程度,有利于研究者评估骨关节炎滑膜炎的病情,也为未来开发相应的药物提供理论依据。虽然已有上述各类存在于血清或滑液的生物学标志物与骨关节炎相关性的报道,但仍需要更多的试验和临床研究证实。血清及关节腔等体液中的生物学标志物与骨关节炎疾病程度密切相关,但仍需医学研究者进行一系列的临床研究。未来可将标准化、规范化检测体液的生物学标志物与影像学检查结合,进行OA病情进展的评估和疗效评价,从而进一步提高OA的诊疗效果。

参 考 文 献

[1] CHARLIER E, DERoyer C, CIREGIA F, *et al.* Chondrocyte

dedifferentiation and osteoarthritis (OA) [J]. *Biochem. Pharmacol.*, 2019, 165:49-65.

[2] NEES T A, ROSSHIRT N, REINER T, *et al.* Inflammation and osteoarthritis-related pain [J]. *Schmerz*, 2019,33(1):4-12.

[3] MATHIESSEN A, CONAGHAN P G, Synovitis in osteoarthritis: current understanding with therapeutic implications [J/OL]. *Arthritis. Res. Ther.*, 2017, 19:18[2017-02-02]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00476>.

[4] ROEMER F W, KASSIM J M, GUERMAZI A, *et al.* Anatomical distribution of synovitis in knee osteoarthritis and its association with joint effusion assessed on non-enhanced and contrast-enhanced MRI [J]. *Osteoarth. Cartilage*, 2010, 18(10): 1269-1274.

[5] HUGLE T, GEURTS J. What drives osteoarthritis-synovial versus subchondral bone pathology [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2017, 56(9): 1461-1471.

[6] MOBASHERI A, BAY-JENSEN A C, SPIL W E, *et al.* Osteoarthritis year in review 2016: biomarkers (biochemical markers) [J]. *Osteoarth. Cartilage*, 2017, 25(2): 199-208.

[7] LI J, DING Y, LI A. Identification of COL1A1 and COL1A2 as candidate prognostic factors in gastric cancer[J/OL]. *World J. Surg. Oncol.*, 2016, 14(1): 297[2010-11-29]. <https://doi.org/10.1186/s12957-016-1056-5>.

[8] KUIVANIEMI H, TROMP G. Type III collagen (COL3A1): Gene and protein structure, tissue distribution, and associated diseases[J]. *Gene*, 2019, 707: 151-171.

[9] SIEBUHR A S, PETERSEN K, ARENDT-NIELSEN K, *et al.* Identification and characterisation of osteoarthritis patients with inflammation derived tissue turnover [J]. *Osteoarth. Cartil.*, 2014, 22(1): 44-50.

[10] KJELGAARD-PETERSEN C, SIEBUHR A, CHRISTIANSEN T, *et al.* Synovitis biomarkers: ex vivo characterization of three biomarkers for identification of inflammatory osteoarthritis[J]. *Biomarkers*, 2015, 20(8): 547-556.

[11] SKJOT-ARKIL H, SCHETT G, ZHANG Y, *et al.* Investigation of two novel biochemical markers of inflammation, matrix metalloproteinase and cathepsin generated fragments of C-reactive protein, in patients with ankylosing spondylitis [J]. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2012, 30(3): 371-379.

[12] PETERSEN K, SIEBUHR A, GRAVEN-NIELSEN T, *et al.* Sensitization and serological biomarkers in knee osteoarthritis patients with different degrees of synovitis [J]. *Clin. J. Pain.*, 2016, 32(10): 841-848.

[13] LITWINIUK M, KREJNER A, SPEYERER M, *et al.* Hyaluronic acid in inflammation and tissue regeneration [J]. *Wounds*, 2016, 28(3): 78-88.

[14] STERN R, JEDRZEJAS M. Hyaluronidases: their genomics, structures, and mechanisms of action [J]. *Chem. Rev.*, 2006, 106(3): 818-839.

[15] TURAN Y, BAL S, GURGAN A, *et al.* Serum hyaluronan levels in patients with knee osteoarthritis [J]. *Clin. Rheumatol.*, 2007, 26(8): 1293-1298.

[16] SASAKI E, TSUDA E, YAMAMOTO Y, *et al.* Serum hyaluronic acid concentration predicts the progression of joint space narrowing in normal knees and established knee osteoarthritis - a five-

- year prospective cohort study [J/OL]. *Arthritis Res. Ther.*, 2015, 17: 283[2016-10-10]. <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0793-0>.
- [17] MELINCOVICI C, BOSCA A, SUSMAN S, *et al.*. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-key factor in normal and pathological angiogenesis [J]. *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 2018, 59 (2): 455-467.
 - [18] MAPP P I, WALSH D A. Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis [J]. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2012, 8(7): 390-398.
 - [19] 段鑫,李奇,林荔军,等. 骨关节炎滑膜组织中缺氧诱导因子-1 α 、血管内皮生长因子的表达[J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(1): 117-120.
 - [20] DEMG S, JIANLIN Z, PENG H, *et al.*. Local intraarticular injection of vascular endothelial growth factor accelerates articular cartilage degeneration in rat osteoarthritis model [J]. *Mol. Med. Rep.*, 2018, 17(5): 6311-6318.
 - [21] OZLER K, AKTAS E, ATAY C, *et al.*. Serum and knee synovial fluid matrix metalloproteinase-13 and tumor necrosis factor- α levels in patients with late-stage osteoarthritis [J]. *Acta Orthop. Traumatol. Turc.*, 2016, 50(3): 356-361.
 - [22] ATTUR M, STATNIKOV A, SAMUELS J, *et al.*. Plasma levels of interleukin-1 receptor antagonist (IL1Ra) predict radiographic progression of symptomatic knee osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(11): 1915-1924.
 - [23] YANG F, ZHOU S, WANG S, *et al.*. Epigenetic modifications of interleukin-6 in synovial fibroblasts from osteoarthritis patients [J/OL]. *Sci. Rep.*, 2017, 7: 43592[2017-03-06]. <https://doi.org/10.1038/srep43592>.
 - [24] BAGGIOLINI M, CLARK-LEWIS I. Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine [J]. *FEBS Lett.*, 1992, 307(1): 97-101.
 - [25] GUANGFENG R, JIANHUA X, KNAG W, *et al.*. Associations between serum IL-8 and knee symptoms, joint structures, and cartilage or bone biomarkers in patients with knee osteoarthritis [J]. *Clin. Rheumatol.*, 2019, 38(12): 3609-3617.
 - [26] KOH S M, CHAN C K, TEO S H, *et al.*. Elevated plasma and synovial fluid interleukin-8 and interleukin-18 may be associated with the pathogenesis of knee osteoarthritis [J]. *Knee*, 2020, 27(1): 26-35.
 - [27] MABEY T, HONSAWEK S, TANAVALLEE A, *et al.*. Plasma and synovial fluid inflammatory cytokine profiles in primary knee osteoarthritis [J]. *Biomarkers*, 2016, 21(7): 639-644.
 - [28] MANTELL LL, PARRISH WR, ULLOA L, *et al.*. Hmgb-1 as a therapeutic target for infectious and inflammatory disorders [J]. *Shock*, 2006, 25(1): 4-11.
 - [29] HOU C H, FONG Y C, TANG C H. HMGB-1 induces IL-6 production in human synovial fibroblasts through c-Src, Akt and NF-kappaB pathways [J]. *J. Cell Physiol.*, 2011, 226(8): 2006-2015.
 - [30] KOKKOLA R, SUNDBERG E, ULFGREN A K, *et al.*. High mobility group box chromosomal protein 1: a novel proinflammatory mediator in synovitis[J]. *Arthr. Rheum.*, 2002, 46(10): 2598-2603.
 - [31] KE X, JIN G, YANG Y, *et al.*. Synovial fluid HMGB-1 levels are associated with osteoarthritis severity [J]. *Clin. Lab.*, 2015, 61(7): 809-818.
 - [32] YINGJIAN Y, GUIYANG L, DONG C, *et al.*. YKL-40 as a novel biomarker in cardio-metabolic disorders and inflammatory diseases [J]. *Clin. Chim. Acta*, 2020, 511: 40-46.
 - [33] VOLCK B, JOHANSEN J S, STOLTENBERG M, *et al.*. Studies on YKL-40 in knee joints of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Involvement of YKL-40 in the joint pathology [J]. *Osteoarth. Cartilage*, 2001, 9(3): 203-214.
 - [34] JOHANSEN J S, HVOLRIS J, HANSEN M, *et al.*. Serum YKL-40 levels in healthy children and adults. Comparison with serum and synovial fluid levels of YKL-40 in patients with osteoarthritis or trauma of the knee joint [J]. *Br. J. Rheumatol.*, 1996, 35(6): 553-559.