

Research on the Diagnostic Value of Synovial Fluid Interleukin-4 in Chronic Knee Periprosthetic Joint Infection

Jiaxing Huang Li Wei Bo Zhu Wei Huang Ning Hu

Department of Orthopedics, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400416, China

Abstract

Objective: To research the diagnostic value of synovial fluid interleukin-4 for chronic knee Periprosthetic joint infection(PJI), and to establish the optimal cut-off value. **Methods:** Prospectively enrolled patients who underwent revision surgery for chronic knee PJI or aseptic failure(AF) from February 2019 to September 2021. Before the operation, test the serum erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, interleukin-6 and synovial fluid interleukin-4, white blood cell count. Analyze the diagnostic value and calculate the best cut-off value by ROC curve. **Results:** A total of 31 patients with chronic PJI and 25 patients as AF were enrolled. The indexes in the chronic PJI group were significantly higher than those in the AF group ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that when synovial fluid interleukin-4 $>1.54\text{pg/mL}$ had the highest diagnostic value for chronic knee PJI compared with other indicators ($P<0.05$). **Conclusion:** Synovial fluid interleukin-4 has better clinical application value in the diagnostic of chronic knee prosthesis infection.

Keywords

chronic periprosthetic joint infection; knee periprosthetic joint; interleukin-4; diagnostic

关节液白介素-4在慢性膝关节假体周围感染诊断中的价值研究

黄家兴 魏力 朱博 黄伟 胡宁

重庆医科大学附属第一医院骨科, 中国·重庆 400416

摘要

目的: 研究关节液白介素-4在慢性膝关节假体周围感染诊断中的价值, 制定最佳诊断截断值。**方法:** 前瞻性地纳入于2019年2月至2021年9月因膝关节慢性假体周围感染或无菌性失败行翻修手术治疗的患者。术前测试血清红细胞沉降率、C反应蛋白、白介素-6及关节液白介素-4、白细胞计数。ROC曲线分析各指标对慢性膝关节假体周围感染的诊断价值, 计算最佳截断值。**结果:** 共纳入31例膝关节慢性假体周围感染患者及25例无菌性失败患者。慢性PJI组中各指标均明显高于无菌性失败组 ($P<0.05$)。ROC曲线分析显示关节液白介素-4 $>1.54\text{pg/mL}$ 时较其他研究指标对膝关节慢性假体周围感染具有最高的诊断价值 ($P<0.05$)。**结论:** 关节液白介素-4对慢性膝关节假体周围感染诊断有更佳的临床应用价值。

关键词

慢性假体周围感染; 膝关节; 白介素-4; 诊断

1 引言

假体周围感染 (Periprosthetic joint infection, PJI) 作为关节置换术后面临的灾难性并发症, 是全膝关节置换术后翻修的首要原因, 其发生率在 0.8%~2%^[1]。膝关节慢性假体周围感染表现为疼痛, 慢性肿胀, 少许有窦道形成, 难以与松动、衬垫磨损鉴别。一旦发生慢性 PJI, 假体取出一期清创, 二期翻修作为首选治疗, 大大增加患者痛苦及经济负担。

【作者简介】黄家兴 (1995-), 男, 中国四川眉山人, 硕士, 从事髌膝关节疾病手术治疗及假体周围感染的相关研究。

PJI 的诊断标准已更新多次, 但仍没有公认的“金标准”可达到 100% 准确性。

血清 ESR 及 CRP 作为经典筛查指标, 具有高敏感性, 但对感染的特异性较低, 假阴性率高。慢性 PJI 属于关节囊内低毒性感染, 关节液指标理论上应具备更佳诊断价值^[2]。白细胞介素-4 (IL-4) 属抗炎型细胞因子, 参与慢性细菌感染防御反应, 可能对慢性膝关节假体周围感染具有更佳的诊断价值。

因此, 本研究的目的旨在对比关节液 IL-4 与血清 ESR、CRP、IL-6 及关节液内白细胞计数对慢性膝关节假体周围感染的诊断价值, 确定各指标的最佳诊断阈值。

2 方法

本研究通过医院伦理委员会审批，每位患者均取得知情同意。采用 2013 MSIS 诊断标准^[3]。膝关节慢性 PJI 定义为初次植入后 6 周以上出现 PJI 症状^[4]。无菌失败包括无菌松动、假体衬垫磨损、脱位等。

排除标准如下：①其他器官感染性疾病，包括肺炎、尿路感染；②活动性类风湿性关节炎、痛风性关节炎；③恶性肿瘤。④ BMI > 35kg/m²。

2.1 指标检测

停用抗菌药物 2 周，取外周静脉血 3mL 用于检测 ESR 和 CRP 和 IL-6；同日行关节腔穿刺抽取 3~5mL 关节液（SF）检测关节液白细胞计数（SF-WBC）、中性粒百分比（SF-PMN%）及 SF-IL4。

2.2 统计分析

使用 SPSS 26.0 分析数据。各检测指标使用中位数和四分位距（IQR）描述，P < 0.05 认为具有统计学意义。MedCalc 20.0 软件绘制 ROC 曲线计算各指标的曲线下面积（AUC）、敏感性、特异性、阳性预测值（PPV）、阴性预测值（NPV）。根据 Youden 指数最大（灵敏度 + 特异性 - 1）计算截断值。诊断优势比（DOR，DOR=+LR/-LR）越大，表明更好的诊断能力。

3 结果

本研究共纳入 57 例患者，1 例因活动性类风湿及药物性肝损伤被排除。共 56 例纳入分析，两组患者基线资料相似，见表 1。

表 1 一般资料分析

项目	感染组 (N=31)	无菌组 (N=25)	P 值
年龄 (岁)	70.45 ± 4.95	69.32 ± 5.83	0.436 [#]
性别			
男	13 (41.9%)	10 (40%)	0.885 [*]
女	18 (58.1%)	15 (60%)	
体重指数 (Kg/m ²)	22.24 ± 3.83	22.94 ± 4.73	0.546 [#]
假体在位时长 (月)	49.02 ± 23.07	73.66 ± 23.52	< 0.001 [#]

* 卡方检验，[#] 两样本独立 t 检验。

如表 2 所示，在膝关节慢性 PJI 组中，各检测指标中位数均高于无菌性失败组，差异具有统计学意义。同时，我们绘制了各指标的 ROC 曲线，如图 1 所示。可见关节液 IL-4 对慢性膝关节假体周围感染具有最大的曲线下面积（AUC）为 0.975，与其余几个指标对比具有统计学差异（P 均小于 0.05）。随后我们通过 ROC 分析计算了各指标对膝关节慢性 PJI 的诊断价值及最佳诊断阈值，如表 3 所示。

表 2 各指标在膝关节慢性 PJI 组及无菌性失败组中的差异分析

指标	PJI 组 (n=31)	非感染组 (n=25)	P [#]
ESR (mm/h)	36[28, 50]	21[19, 34]	< 0.001
CRP (mg/L)	33.4[14.22, 52]	7.6[3.27, 15.0]	0.006
IL-6 (ng/mL)	9.4[7.3, 14.1]	5.0[3.7, 7.5]	0.002
SF-IL4 (pg/mL)	3[2.14, 5.17]	1.16[0.71, 1.25]	< 0.001
SF-WBC (个/ul)	4356[3208, 6231]	2351[2041, 2691]	< 0.001
SF-PMN% (%)	87.6[84.4, 91.3]	56.85[53.40, 67.78]	< 0.001

Mann-Whitney U 检验。

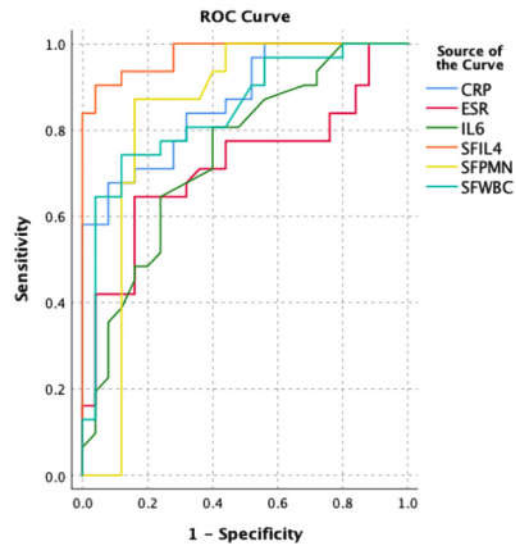


图 1 各指标对膝关节慢性 PJI 诊断的 ROC 曲线分析

表 3 各指标对膝关节慢性 PJI 的诊断价值分析

项目	AUC	阈值	敏感性	特异性	PPV	NPV	DOR
ESR (mm/h)	0.715	34	64.52	84.00	83.3	65.6	9.60
CRP (mg/L)	0.866	18	92.00	67.74	69.7	91.3	24.2
IL-6 (ng/mL)	0.734	5.7	80.65	60.00	71.4	71.4	6.31
SF-IL4 (pg/mL)	0.975	1.54	90.32	96.00	96.6	88.9	225.8
SF-WBC (个/ul)	0.841	3423	74.19	88.00	88.5	73.7	21.3
SF-PMN% (%)	0.835	77.9	87.1	84	87.1	84.0	32.3

4 讨论

膝关节慢性假体周围关节感染仍然是膝关节置换术的灾难性并发症,患者的功能评分、生活质量评分明显降低,短期死亡风险显著增加^[5]。多数患者没有典型的全身炎症表现,实验室检查结果可能为阴性^[2]。目前,慢性PJI的诊断一直具有挑战性。

2013年MSIS诊断标准推荐ESR > 30mm/hr及CRP > 10mg/L作为慢性PJI的诊断阈值,但最近的研究表明,该标准对慢性PJI的筛查的敏感度及特异度均较低,假阴性率很高^[6]。在本研究结果中,当ESR截断值为34mm/h时,对膝关节慢性PJI的诊断敏感性为64.52%,特异性为84%;当CRP > 18mg/L时,敏感性及特异性分别为92%及67.74%。尽管敏感性较高,但特异性仍不令人满意,但我们发现当CRP小于该截断值时,具有高达91.3%的阴性排除价值,这对初步排除诊断是有应用价值的。

研究表明,关节液中性粒细胞对慢性膝关节假体周围感染诊断具有很高的准确率。临床实践中,翻修术前,进行关节液白细胞计数已作为常规检查,可作为血清CRP和ESR的辅助诊断手段^[7]。但其结果可能受到抗生素及金属磨屑影响^[8,9],此外,与感染的症状持续时间相关^[10],因此目前诊断阈值仍无共识。本研究中,当关节液中性粒细胞计数达3423个/ul,PMN%达77.9%时,对慢性PJI诊断敏感性分别为88%及84%,特异性分别为88.5%及87.1%。

多种细胞因子,包括IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、IL-13、IL-17和TNF- α 大多数都具有抗菌性或促炎性^[11]。PJI患者中,上述多种细胞因子仅在关节液中升高,而血清中水平正常^[12]。血清IL-6由活化的单核细胞和巨噬细胞产生的细胞因子,是全身炎症反应综合征和脓毒症的早期敏感“警示”标志^[13]。其位于CRP等炎症介质的信号通路上游,感染、创伤和手术后IL-6均会明显升高,且手术后在较短时间内降至正常,因此,血清IL-6对关节置换术后病人排除有无感染具有较大价值^[14]。在本研究中,当血清IL-6 > 5.7ng/mL时,仅可达到与血清ESR相近的诊断价值(P=0.785),但在我们先前的一项研究表明,当同时满足血清IL-6 > 6.7pg/mL和SF-IL6 > 1855.36pg/mL时,将明显提高慢性髌膝关节PJI的诊断准确性达96.77%^[15]。

IL-4作为典型的抗炎细胞因子,通过调节T淋巴细胞亚群分化等多途径参与慢性感染免疫调控^[16,17]。IL-4可以抑制慢性金葡菌感染生物膜的形成以及促进感染的自发清除^[18]。与既往研究结果一致^[12,19],在本研究中,关节液IL-4水

平在慢性PJI患者中明显升高,其AUC值为0.975,当其大于1.54pg/mL时,对感染的诊断敏感性为90.32%,特异性为96%,明显高于血清指标及关节液白细胞计数(P < 0.05),但本研究的临床诊断阈值为1.54pg/mL,低于既往研究报道的7.79pg/mL^[12],可能由于他们仅纳入了金葡萄感染的患者,细菌毒力更强,可能诱发滑膜分泌更多的IL-4。

5 结语

综上,由于细菌培养的检出率有限,目前仍没有一项检测可作为慢性PJI的诊断金标准。临床实践中,关节液IL-4作为一项新的诊断指标,可明显提高诊断准确性。此外,当高度怀疑存在假体周围感染时,应结合多种检测指标进行联合诊断,但联合诊断将会降低诊断敏感性,导致部分患者漏诊,临床医生需要平衡。

参考文献

- [1] Delanois RE, Mistry JB, Gwam CU, et al. Current Epidemiology of Revision Total Knee Arthroplasty in the United States. [J]. *J Arthroplasty*. 2017,32(9):2663-2668.
- [2] AKGÜN D, MÜLLER M, PERKA C, et al. The serum level of C-reactive protein alone cannot be used for the diagnosis of prosthetic joint infections, especially in those caused by organisms of low virulence [J]. *Bone Joint J*, 2018,100-B(11):1482-1486.
- [3] PARVIZI J, GEHRKE T. Definition of periprosthetic joint infection [J]. *Arthroplasty*, 2014,29(7):1331.
- [4] Osmon D R, Berbari E F, Berendt A R, et al. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America [J]. *Clin Infect Dis*, 2013,56(1):1-25.
- [5] Boddapati V, Fu M C, Mayman D J, et al. Revision Total Knee Arthroplasty for Periprosthetic Joint Infection Is Associated With Increased Postoperative Morbidity and Mortality Relative to Noninfectious Revisions [J]. *J Arthroplasty*, 2018,33(2):521-526.
- [6] Bingham J S, Hassebrock J D, Christensen A L, et al. Screening for Periprosthetic Joint Infections With ESR and CRP: The Ideal Cutoffs [J]. *J Arthroplasty*, 2020,35(5):1351-1354.
- [7] Ghanem E, Parvizi J, Burnett R S J, et al. Cell count and differential of aspirated fluid in the diagnosis of infection at the site of total knee arthroplasty [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2008,90(8):1637-1643.
- [8] Zmistowski B, Restrepo C, Huang R, et al. Periprosthetic joint infection diagnosis: a complete understanding of white blood cell count and differential [J]. *J Arthroplasty*, 2012,27(9):1589-1593.

- [9] Shahi A, Deirmengian C, Higuera C, et al. Premature Therapeutic Antimicrobial Treatments Can Compromise the Diagnosis of Late Periprosthetic Joint Infection [J]. Clin Orthop Relat Res, 2015, 473(7):2244-2249.
- [10] Sukhonthamarn K, Tan T L, Xu C, et al. Determining Diagnostic Thresholds for Acute Postoperative Periprosthetic Joint Infection [J]. J Bone Joint Surg Am, 2020, 102(23):2043-2048.
- [11] Dinarello C A. Proinflammatory cytokines [J]. Chest, 2000, 118(2):503-508.
- [12] Gollwitzer H, Dombrowski Y, Prodinger P M, et al. Antimicrobial peptides and proinflammatory cytokines in periprosthetic joint infection [J]. Bone Joint Surg Am, 2013, 95(7):644-651.
- [13] Berbari E, Mabry T, Tsaras G, et al. Inflammatory blood laboratory levels as markers of prosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis [J]. Bone Joint Surg Am, 2010, 92(11):2102-2109.
- [14] Ettinger M, Callies T, Kielstein J T, et al. Circulating biomarkers for discrimination between aseptic joint failure, low-grade infection, and high-grade septic failure [J]. Clin Infect Dis, 2015, 61(3):332-341.
- [15] Qin L, Li X, Wang J, et al. Improved diagnosis of chronic hip and knee prosthetic joint infection using combined serum and synovial IL-6 tests [J]. Bone Joint Res, 2020, 9(9):587-592.
- [16] HO I C, MIAW S C. Regulation of IL-4 Expression in Immunity and Diseases [J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 941(7):31-77.
- [17] Pesanti E L, LORENZO J A. Osteoclasts and effects of interleukin 4 in development of chronic osteomyelitis [J]. Clin Orthop Relat Res, 1998(355):290-299.
- [18] Prabhakara R, Harro J M, LEID J G, et al. Suppression of the inflammatory immune response prevents the development of chronic biofilm infection due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus [J]. Infect Immun, 2011, 79(12):5010-5018.
- [19] Fröschen F S, Schell S, Schildberg F A, et al. Analysis of synovial biomarkers with a multiplex protein microarray in patients with PJI undergoing revision arthroplasty of the hip or knee joint [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2020, 140(12):1883-1890.

(上接第 16 页)

4 讨论

本研究通过对 TCGA 数据的分析发现长链非编码 RNA TLX1NB 在低分化胶质瘤 (LGG) 组织中特异性高表达, 具有一定的组织特异性, 同时我们发现干扰 TLX1NB 能抑制胶质瘤细胞的增殖、阻止细胞周期并且促进胶质瘤细胞的凋亡说明 TLX1NB 在胶质瘤中可以作为潜在的生物标记物^[3]。

lncRNA 作为 ceRNA 与 miRNA 结合从而影响 miRNA 对靶基因的调控, 本研究中我们发现 TLX1NB 能直接与 miR-325-3p 结合, 过表达 TLX1NB 能抑制 miR328-3p 的表达水平, 影响 miR-328-3p 靶基因 ABCG2 的表达水平, 我们在 TCGA 低级别胶质瘤组织中发现 TLX1NB 与 ABCG2 的表达正相关, 也在组织层面验证了 ceRNA 机制。has-miR-328-3p 在胃癌、肉瘤、乳腺癌、结直肠癌等多种肿瘤组织中具有抑癌作用。miR-328-3p 通过调节葡萄糖代谢调节肿瘤细胞的能量代谢, 在胃癌中, 下调 has-miR-328-3p 表达可上调 STAT3 及下游增殖相关靶基因 COX2、MMP2、CCDN1 的表达水平。ABCG2 蛋白的活性在肿瘤耐药以及药物诱导细胞凋亡过程中发挥重要作用。高表达 ABCG2 蛋白的胶质瘤患者生存率明显低于低表达患者, 使用小分子抑制剂抑制 ABCG2 的表达能明显抑制胶质瘤干细胞的自我更

新, 这也提示有效干预 ABCG2 表达可以控制胶质瘤的恶性表型, 本研究发现 TLX1NB 通过 ceRNA 机制调控 ABCG2 的表达, 干扰 TLX1NB 诱导 miR-328-3p 的表达, 最终降低了 ABCG2 的表达, 诱导细胞凋亡^[4]。

综上, TLX1NB 在胶质瘤组织中呈高表达, 影响胶质瘤细胞的增殖和凋亡其作用机制是竞争性结合 miR-328-3p, 进而抑制 miR-328-3p 与靶基因 ABCG2 的结合影响胶质瘤细胞的凋亡, 本研究为胶质瘤的治疗和预后提供新的作用靶点。

参考文献

- [1] 李筱雨, 范晓庆, 申伟, 等. 长链非编码 RNA H19 在甲状腺癌组织的表达及其对细胞增殖能力的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(11):3.
- [2] 张静, 黄守国, 夏鹰. CeRNA 网络介导恶性肿瘤表型调控的机制研究 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2021, 48(9):544-548.
- [3] 李元幸. 基于 miRNA-mRNA 调控关系对与 Cox 回归模型的宫颈鳞状细胞癌预后生物标志物综合分析 [J]. 国际妇产科学杂志, 2021, 48(5):553-559.
- [4] Emery I F, Gopalan A, Wood S, et al. Expression and function of ABCG2 and XIAP in glioblastomas [J]. J Neurooncol, 2017, 133(1):47-57.