

骨髓间充质干细胞 miRNA-196a 异常表达与激素性股骨头坏死关联的临床研究

余华

(成都医学院第一附属医院关节外科, 四川 成都 610500)

摘要:目的 探讨骨髓间充质干细胞 miRNA-196a 异常表达与激素性股骨头坏死的关联。方法 选取确诊激素性股骨头坏死患者 58 例及其他类型股骨头坏死患者 65 例作为对照;荧光标记定量 PCR 测定 mRNA 表达水平,通过问卷调查方式收集其他相关因素信息。SPSS 17.0 统计软件包用于数据分析。结果 激素性股骨头坏死组骨髓间充质干细胞 miRNA-196a 表达水平高于对照组,且随着坏死程度的增加表达水平也随之增高 ($P < 0.05$);年龄大、miRNA-196a 高表达,免疫性疾病家族史以及激素使用时间长均可能增加激素性股骨头坏死的发生风险,男性和体质指数 (BMI) 超标则表现为弱保护因素 ($P < 0.05$)。结论 骨髓间充质干细胞 miRNA-196a 异常表达与激素性股骨头坏死存在关联,且此关联受到年龄、性别以及家族史等因素的潜在影响。

关键词:激素性股骨头坏死;miRNA-196a;骨髓间充质干细胞

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.01.016

A clinical analysis of the association between expression of miRNA-196a in bone marrow mesenchymal stem cells and the steroid induced femoral head necrosis

YU Hua

(Department of Joint Surgery, The First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan 610500, China)

Abstract: Objective To investigate the association between abnormal expression of miRNA-196a in bone marrow mesenchymal stem cells and steroid induced femoral head necrosis. **Methods** 58 patients with steroid induced femoral head necrosis and 65 patients with other types as controls were selected. The expression of mRNA in the femoral head was quantitatively detected by fluorescence labeling. Meanwhile, other related factors were collected via questionnaire survey. The data were analyzed with SPSS 17.0 statistical software package. **Results** The expression of miRNA-196a was significantly higher in steroid-induced femoral head necrosis group than that in control group, and the severer the necrosis, the higher the expression ($P < 0.05$). High risk of femoral head necrosis was associated with old age, higher expression of miRNA-196a, family history of immunodeficiency disease, and long-term steroid use, while men and exceeded BMI were weak protective factors ($P < 0.05$). **Conclusions** The abnormal expression of miRNA-196a in bone marrow mesenchymal stem cells is associated with steroid-induced femoral head necrosis, and this association is influenced by factors such as age, sex and family history.

Keywords: steroid induced femoral head necrosis; miRNA-196a; bone marrow mesenchymal stem cells

股骨头坏死的发病率和患病率近年来一直呈明显上升趋势,其中的激素性股骨头坏死在近年来引起了相关领域的关注,激素性股骨头坏死在非创伤性股骨头坏死的发病率中居首位,发病年龄低且致残率高^[1-3];其病因机制尚不十分清楚,但已有研究提示激素的使用会引起骨髓间充质干细胞成骨分化能力发生改变,原有的骨坏死和修复的平衡稳态被打破,引发股骨头坏死塌陷;同时微循环障碍导致的毛细血管栓塞可以引发

骨内压增高,进而出现局部缺血坏死^[4-5]。miRNA作为一种新型的疾病标记,同时也可作为潜在治疗的目标靶点,已经被发现在骨髓间充质干细胞成骨分化过程之中起着非常重要的调控作用^[6-8],相关 miRNA 有可能通过调控骨髓间充质干细胞的分化能力而影响骨坏死的发生以及修复。本研究就骨髓间充质干细胞 miRNA-196a 异常表达与激素性股骨头坏死的关联进行分析。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2014年9月—2015年12月就诊于成都医学院第一附属医院的确证手术股骨头坏死患者作为研究对象,其中激素性股骨头坏死患者58例作为坏死组,其他类型股骨头坏死患者65例作为对照组。术中采用无菌骨髓穿刺针于股骨侧假体试模开髓时抽取骨髓组织,迅速转入含有培养基及肝素抗凝的试管留存,骨髓样本分离、培养、传代后取得骨髓间充质干细胞,使用荧光标记定量PCR测定mRNA表达水平,同时通过问卷调查方式收集其他相关因素信息。本研究经成都医学院第一附属医院医学伦理委员会批准,所有受试者均知情同意并签署知情同意书。纳入标准:有完整的临床资料和影像学资料(髋关节片或磁共振)结合病史、查体和影像学检查确诊的患者纳入本研究。排除标准:排除因自身免疫性疾病导致的髋关节病变、老年性骨质疏松骨折患者及其他(如血友病髋关节病变、结核、化脓性感染、髋关节周围肿瘤等)以及不能配合本研究的患者。

1.2 统计学方法 使用SPSS 17.0统计软件包进行数据分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验进行组间比较;计数资料用率表示,采用 χ^2 检验进行组间比较;潜在影响因素分析采用非条件Logistics回归模型;全部数据分析以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 受试对象一般情况分布特征 本研究中,激素性股骨头坏死组受试对象平均年龄(55.26 ± 7.90)岁,60岁以上者占20.69%,坏死组中男性占46.55%,平均体质质量指数(BMI, 24.85 ± 9.94) $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$,股骨头坏死的平均病程(6.12 ± 0.76)年,其中病程超过5年的占27.59%,70.69%的患者曾使用激素超过5年,12.07%患者有免疫性疾病家族史。对照组平均年龄(54.97 ± 11.93)岁,60岁以上者占21.54%,男性占50.77%,平均BMI(25.05 ± 10.52) $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$,平均病程为(6.22 ± 0.96)年,其中病程超过5年者占27.69%,12.31%的患者有免疫性疾病家族史。两组基线资料相比差异无统计学意义($P > 0.05$),详见表1。

2.2 激素性股骨头坏死与其他类型股骨头坏死患者miRNA-196a表达水平对比分析 本次研究中,激素性股骨头坏死组骨髓间充质干细胞miRNA-196a表达水平为(6.13 ± 0.87),高于对照组表达水平(3.17 ± 0.85),差异有统计学意义($P < 0.05$)。其中激素性股骨头坏死患者中I期和II期坏死者

表达水平为(4.87 ± 1.02),III期为(6.04 ± 0.96),IV期为(6.43 ± 1.30),随着坏死程度的增加表达水平也随之增高($P < 0.05$);对照组中I期和II期坏死者表达水平为(2.89 ± 0.88),III期和IV期分别为(3.24 ± 1.00)和(3.23 ± 0.92),不同坏死分期间未见差别。不同坏死分期的激素性股骨头坏死组与对照组分别比较,各个坏死分期的激素性股骨头坏死组miRNA-196a表达水平均高于对照组相应分期($P < 0.05$)。详见表2。

表1 受试对象一般情况分布特点

项目	对照组($n=65$)	坏死组($n=58$)
年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	54.97 ± 11.93	55.26 ± 7.90
年龄 ≥ 60 岁/例(%)	14(21.54)	12(20.69)
男性/例(%)	33(50.77)	27(46.55)
BMI/($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$, $\bar{x} \pm s$)	25.05 ± 10.52	24.85 ± 9.94
病程/(年, $\bar{x} \pm s$)	6.22 ± 0.96	6.12 ± 0.76
病程 ≥ 5 年/例(%)	18(27.69)	16(27.59)
激素使用 ≥ 5 年/例(%)	—	41(70.69)
免疫性疾病家族史/例(%)	8(12.31)	7(12.07)

表2 两组患者miRNA-196a表达水平对比/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	分期	miRNA-196a
对照组	65	全部	3.17 ± 0.85
		坏死分期I、II($n=7$)	2.89 ± 0.88
		坏死分期III($n=26$)	3.24 ± 1.00
		坏死分期IV($n=32$)	3.23 ± 0.92
坏死组	58	全部	6.13 ± 0.87^a
		坏死分期I、II($n=5$)	4.87 ± 1.02^a
		坏死分期III($n=28$)	6.04 ± 0.96^a
		坏死分期IV($n=25$)	6.43 ± 1.30^a

注:与对应分期之间比较, $^a P < 0.05$ 。

2.3 与激素性股骨头坏死存在关联的潜在因素分析 考虑以激素性股骨头坏死状况为应变量,赋值1=坏死(坏死组),0=其他类型股骨头坏死(对照组),进行非条件Logistic回归。并在前述单因素比较分析(表1,2)的基础上,以两组比较 $P < 0.10$ 标准筛选潜在影响因素自变量。被选中纳入的自变量有年龄等6个指标,在此基础上进行了多因素综合回归,结果如表3所示:年龄 ≥ 60 岁、miRNA-196a高表达,免疫性疾病家族史以及激素使用时间长4个因素有可能增加激素性股骨头坏死的潜在发生风险,其OR(95%CI)分别为1.306(1.182~1.443)、1.226(1.112~1.351)、1.079(1.019~1.143)和1.16(1.009~1.232), $P < 0.05$ 。男性和BMI超标与激素性股骨头坏死发生的OR值均临界1,表现为弱保护因素,OR(95%CI)分别为0.759

表3 与激素性股骨头坏死存在关联的潜在因素分析

变量	赋值	Beta	S. E.	OR (95% CI)	P 值
年龄≥60 岁	1 = ≥60 岁, 0 = <60 岁	0.267	0.051	1.306 (1.182 ~ 1.443)	<0.001
男性	1 = 男, 2 = 女	-0.276	0.084	0.759 (0.644 ~ 0.894)	0.001
BMI 超标	1 = 超标, 0 = 否	-0.237	0.064	0.789 (0.696 ~ 0.895)	<0.001
免疫性疾病家族史	1 = 有, 0 = 无	0.076	0.029	1.079 (1.019 ~ 1.143)	0.009
miRNA-196a 表达	1 = 增高, 0 = 否	0.204	0.050	1.226 (1.112 ~ 1.351)	<0.001
激素使用年限增高	1 = 增高, 0 = 否	0.109	0.051	1.16 (1.009 ~ 1.232)	0.032

(0.644 ~ 0.894) 和 0.789 (0.696 ~ 0.895), $P < 0.05$ 。见表3。

3 讨论

激素性股骨头坏死的发病和患病率近年来一直呈明显上升趋势,且发病平均年龄有趋于年轻化的趋势,本病病情进行性发展最终会出现严重的髋关节骨关节炎等病理状态,会使患者丧失劳动能力甚至生活不能自理,给个人、家庭和社会都会带来沉重的负担^[1-2]。

骨髓间充质干细胞中的众多 miRNA 参与了骨的生长分化与坏死修复的调节过程,在动物实验领域 miRNA-196a 被发现参与脊椎动物 HOX 基因簇的内含子区域功能存在关联,miR-196a rs11614913 基因多态性也已被证实与人类一些骨关节疾病和免疫性疾病存在关联。可见 miRNA-196a 相关靶基因比如 Hox 基因家族,在生长发育中其重要作用,可能影响成骨分化过程,也与一些生长发育畸形存在密切关联,有研究提示 miRNA-196a 高表达可以出现在脂肪来源的间充质干细胞向成骨分化的过程之中^[5-10]。本研究结果发现,激素性股骨头坏死组骨髓间充质干细胞 miRNA-196a 表达水平高于对照组。其中激素性股骨头坏死患者中 I 期和 II 期坏死者表达水平为(4.87 ± 1.02), III 期为(6.04 ± 0.96), IV 期为(6.43 ± 1.30),随着坏死程度的增加表达水平也随之增高;不同坏死分期的激素性股骨头坏死组与对照组分别比较,各个坏死分期的激素性股骨头坏死组 miRNA-196a 表达水平均分别高于对照组相应分期,印证了之前国内外研究的结论,同时也提出众多因素都参与影响激素性股骨头坏死的发生以及进展,比如年龄≥60 岁、miRNA-196a 高表达,免疫性疾病家族史以及激素使用时间长 4 个因素有可能增加激素性股骨头坏死的潜在发生风险,而男性和 BMI 超标与激素性股骨头坏死发生的 OR 值均临界 1,表现为弱保护因素。正如现今无论国内还是国际上,随着研究的不断深入,大家越来越认识到股骨头坏死是多种因素导致的综合结果,比如局部血供减弱是一个重要始动和推进因

素,而髋关节本身的生物力学特性也参与加速病理的改变,诸多的不利因素中当然也包含对于股骨头坏死修复起到重要调节控制作用的媒介之一就是骨髓间充质干细胞,其自身功能状态与周围微环境相互影响,影响了骨本身坏死修复的平衡稳态,就有可能导致股骨头坏死的病理状态发生^[11-15]。

综上,本次临床分析结果提示骨髓间充质干细胞 miRNA-196a 异常表达与激素性股骨头坏死存在关联,且此关联受到年龄、性别以及家族史等因素的潜在影响。

参考文献

- [1] 王荣田,陈卫衡,林娜,等. 股骨头坏死的病因构成及发病特征分析[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2009, 24(9): 792-795.
- [2] KANBAY M, KANBAY A, BOYACIOGLU S. Helicobacter pylori infection as a possible risk factor for respiratory system disease: a review of the literature[J]. Respir Med, 2007, 101(2): 203-209.
- [3] KUBO T, UESHIMA K, SAITO M, et al. Clinical and basic research on steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in Japan[J]. J Orthop Sci, 2016, 21(4): 407-413.
- [4] 章乐成,尹宗生. 骨髓间充质干细胞及其载体在股骨头坏死治疗中的研究与进展[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(3): 440-445.
- [5] 王冰清. 小鼠激素性股骨头坏死导致骨髓间充质干细胞 miRNA 变化的研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2013.
- [6] 肖茗渊,马怡,陈兴国,等. miR-499、miR-196a2、miR-149 单核苷酸多态性与系统性红斑狼疮的关联性[J]. 南昌大学学报(医学版), 2015, 55(2): 13-16, 91.
- [7] 樊粤光,徐传毅,何伟,等. 激素性股骨头坏死病程中股骨头局部 VEGF mRNA 表达的变化及意义[J]. 中国矫形外科杂志, 2002, 10(8): 784-786.
- [8] 吴兴净,张永涛,郭雄,等. miR-125a-3p 和 miR-17-5p 在激素性股骨头坏死中的作用[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2015, 36(2): 210-214.
- [9] 金淑清,浦予飞,裴莹. HOX 基因的研究进展[J]. 癌症进展, 2011, 9(2): 154-158.
- [10] 康少平,刘淑艳,李永升,等. 激素性股骨头坏死患者骨髓间充质干细胞体外增殖分化能力的研究[J]. 中国细胞生物学报, 2015, 37(11): 1490-1496.
- [11] 赵忠福,李晓光,刘彩虹,等. 齐齐哈尔地区股骨头坏死危险因素分析[J]. 中外医疗, 2016, 35(27): 20-22.
- [12] 代志鹏. 谷胱甘肽对激素性股骨头坏死骨髓间充质干细胞分化的影响[D]. 武汉:华中科技大学, 2015.