

类风湿关节炎患者外周血 25 羟基维生素 D、白介素-6 的表达

孟静楠, 赵韵琦, 张伦军, 王涛, 陈琳洁

蚌埠医学院第一附属医院风湿免疫科 慢性疾病预防免疫学基础与临床安徽省重点实验室, 安徽 蚌埠 233000

摘要: **目的** 分析类风湿关节炎(RA)患者血清 25 羟基维生素 D[25(OH)D]、血浆白介素(IL)-6 水平及临床意义。**方法** 选取 2019 年 9 月至 2021 年 2 月蚌埠医学院第一附属医院治疗的 RA 患者 99 例为研究组,按照 28 个关节疾病活动度(DAS28)评分分为:高度疾病活动期组 36 例,中度疾病活动期组 25 例,低度疾病活动期组 21 例,缓解期组 17 例。选取同期健康体检者 68 例作对照组。使用化学发光法检测定各组研究对象 25(OH)D 及 IL-6 水平。**结果** 对照组、缓解期组、低度活动期组、中度活动期组及高度活动期组 25(OH)D 水平依次降低,IL-6 水平依次增高,各组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。25(OH)D 与 IL-6 水平、DSA28 评分呈负相关($r=-0.746, -0.787, P<0.01$);IL-6 水平与 DSA28 评分呈正相关($r=0.886, P<0.01$)。25(OH)D 水平与 D-二聚体(D-D)、红细胞沉降率(ESR)、C 反应蛋白(CRP)、抗环瓜氨酸多肽(CCP)抗体、关节肿胀数(SJC)、关节压痛数(TJC)呈负相关($P<0.01$)。IL-6 水平与 D-D、ESR、CRP、抗 CCP 抗体、SJC、TJC 呈正相关($P<0.01$)。**结论** RA 患者外周血 25(OH)D 水平降低,IL-6 水平增高,二者联合监测可用以判断 RA 疾病活动程度。

关键词: 类风湿关节炎; 25 羟基维生素 D; 白介素-6; 28 个关节疾病活动度

中图分类号: R593.23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2022)02-0190-04

Expression of 25-hydroxyvitamin D and interleukin-6 in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis

MENG Jing-nan, ZHAO Yun-qi, ZHANG Lun-jun, WANG Tao, CHEN Lin-jie

Department of Rheumatology and Immunology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College,
Anhui Province Key Laboratory of Immunology in Chronic Diseases, Bengbu, Anhui 233000, China

Corresponding author: WANG Tao, E-mail: bengbuwangtao@126.com

Abstract: Objective To analyze serum 25-hydroxyvitamin D[25(OH)D] and plasma interleukin-6 (IL-6) levels in patients with rheumatoid arthritis (RA) and their clinical significance. **Methods** Ninety-nine RA patients treated in the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College from September 2019 to February 2021 were selected as the research group. According to the 28 joint disease activity (DAS28) scores, they were divided into high disease activity group (group H), moderate disease activity group (group M), low disease activity group (group L), and disease remission group (group R), 68 cases of healthy physical examination at the same period were selected as the control group. Chemiluminescence method was used to detect 25(OH)D and IL-6 levels in each group of subjects. **Results** The 25(OH)D levels of the control group, group R, group L, group M, and group H decreased in sequence, and the IL-6 level increased in sequence. The differences among the groups were statistically significant ($P<0.05$). 25(OH)D was significantly negatively correlated with IL-6 level and DSA28 score ($r=-0.746, -0.787, P<0.01$); IL-6 level was significantly positively correlated with DSA28 score ($r=0.886, P<0.01$). 25(OH)D level was significantly negatively correlated with D-dimer (D-D), erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), anti-cyclic citrullinated polypeptide (CCP) antibody, joint swelling number (SJC), joint tenderness number (TJC) ($P<0.01$).

IL-6 levels was significantly positively correlated with D-D, ESR, CRP, anti-CCP antibodies, SJC and TJC ($P<0.01$).

Conclusion The level of 25(OH)D in the peripheral blood of RA patients decreases, and the level of IL-6 increases. The combined monitoring of the two can make a more reliable clinical judgment on the degree of RA disease activity.

Keywords: Rheumatoid arthritis; 25-hydroxyvitamin D; Interleukin-6; 28 joint disease range of motion

Fund program: Anhui Soft Science Research Project on Health (2020WR03013)

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性自身免疫病,其临床表现为关节肿胀、疼痛。维生素D不仅在调节骨代谢中发挥作用,在自身免疫性疾病也同样发挥着不容忽视的作用。25羟基维生素D[25(OH)D]是维生素D的活性形式,它对天然免疫系统和获得性免疫系统的多种成分以及内皮细胞膜的稳定性具有免疫活性,低水平的维生素D与发生免疫相关疾病的风险增加有关^[1]。白介素(IL)-6通过B细胞、成纤维细胞和破骨细胞活化在RA的各种炎症效应途径中发挥重要作用^[2],能显著促进细胞增殖和炎性细胞因子的表达^[3]。本研究旨在通过测定RA患者25(OH)D及IL-6水平,分析二者与RA疾病活动度性的关系。

1 对象与方法

1.1 一般资料 研究对象选取2019年9月至2021年2月蚌埠医学院第一附属医院治疗的RA患者99例作为研究组。所有患者均符合2010年美国风湿病学会(ACR)和欧洲抗风湿病联盟(EULAR)提出的新的RA分类标准(ACR/EULAR2010标准)。按照28个关节疾病活动性评分(DAS28)分为:高度疾病活动期组(DAS28值 >5.1 分)36例;中度疾病活动期组(DAS28值3.3~5.1分)25例;低度疾病活动期组(DAS28值2.8~3.2分)21例;缓解期组(DAS28值 <2.8 分)17例。同时选取同期体检中心健康人68例为对照组。并排除存在肿瘤、感染、近3个月手术、严重肝病、心肌梗死、静脉血栓及其他免疫性疾病。所

有研究对象均签署知情同意,本研究经医院伦理委员会讨论批准。各组基线的一般临床指标以及相关实验室检查比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表1。

1.2 方法 各组研究对象均禁食8h后于清晨6点抽取5ml静脉血,并予以3000 r/min离心15 min,使用血清分离仪,分离上层血清,放置 -20°C 冰箱中保存备用。使用化学发光法测定各组研究对象外周血25(OH)D及IL-6水平,同时收集研究组患者外周血中血红蛋白(Hb)、血小板计(PLT)、D-二聚体(D-D)、红细胞沉降率(ESR)、C反应蛋白(CRP)、类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸多肽(CCP)抗体,评估患者关节肿胀数(SJC)、关节压痛数(TJC)。

1.3 统计学方法 采用SPSS 22.0软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐性采用Levene检验,多重比较的 P 值均经过LSD调整。计数资料以例表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用Pearson相关分析法分析指标间的相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组间25(OH)D、IL-6水平比较 对照组、缓解期组、低度活动期组、中度活动期组及高度活动期组25(OH)D水平依次降低,IL-6水平依次增高,各组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表1 研究对象的临床基线资料比较 ($\bar{x}\pm s$)
Tab. 1 Comparison of clinical baseline data of study subjects ($\bar{x}\pm s$)

指标	对照组 ($n=68$)	高度活动组 ($n=36$)	中度活动组 ($n=25$)	低度活动组 ($n=21$)	缓解期组 ($n=17$)	F/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	52.85 \pm 7.25	50.11 \pm 7.15	48.68 \pm 5.77	50.95 \pm 7.55	50.99 \pm 7.21	1.425	0.071
女性[例(%)]	50(51.02)	19(52.77)	14(56.00)	11(52.38)	9(52.94)	1.106	0.127
BMI	23.87 \pm 3.19	23.72 \pm 3.85	22.63 \pm 2.13	23.57 \pm 2.54	22.36 \pm 2.62	0.417	0.283
舒张压(mm Hg)	81.45 \pm 4.17	84.26 \pm 5.27	86.12 \pm 2.68	83.53 \pm 8.19	85.24 \pm 7.63	0.362	0.408
收缩压(mm Hg)	123.60 \pm 6.37	124.73 \pm 7.18	122.65 \pm 5.16	125.46 \pm 8.25	121.81 \pm 5.43	0.126	0.472
GLU(mmol/L)	4.47 \pm 0.36	4.31 \pm 0.35	5.23 \pm 1.38	4.81 \pm 0.72	4.26 \pm 0.33	0.393	0.361
TG(mmol/L)	0.83 \pm 0.16	1.21 \pm 0.32	0.92 \pm 0.35	0.89 \pm 0.42	0.93 \pm 0.18	0.018	0.431
TC(mmol/L)	3.21 \pm 0.13	3.16 \pm 0.18	2.92 \pm 0.31	3.17 \pm 0.13	3.28 \pm 0.23	0.321	0.295

注:空腹血糖(GLU),甘油三酯(TG),胆固醇(TC)。

2.2 研究组 25(OH)D、IL-6 水平及 DAS28 评分间的相关性分析 Pearson 相关分析显示, 25(OH)D 与 IL-6 水平、DSA28 评分呈显著负相关($r = -0.746$ 、 -0.787 , $P < 0.01$); IL-6 水平与 DSA28 评分呈显著正相关($r = 0.886$, $P < 0.01$)。

2.3 研究组 25(OH)D、IL-6 水平与临床指标间的相关性分析 Pearson 相关分析显示, 25(OH)D 水平与 RA 患者 Hb、PLT、RF 无相关性($P > 0.05$); 与 D-D、ESR、CRP、抗 CCP 抗体、SJC、TJC 呈显著负相关($P < 0.01$)。IL-6 水平与 RA 患者 Hb、PLT、RF 无相关性($P > 0.05$); 与 D-D、ESR、CRP、抗 CCP 抗体、SJC、TJC 呈显著正相关($P < 0.01$)。见表 3。

表 2 各组间 25(OH)D 和 IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of 25(OH)D and IL-6 levels among groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	25(OH)D (ng/ml)	IL-6 (pg/ml)
对照组	68	35.31±3.01	4.20±1.10
高度活动组	36	11.54±3.44 ^{abcd}	18.61±2.53 ^{abcd}
中度活动组	25	13.24±2.14 ^{abc}	13.99±2.16 ^{abc}
低度活动组	21	18.80±3.95 ^{ab}	7.97±1.10 ^{ab}
缓解期组	17	23.98±4.08 ^a	5.32±0.80 ^a
F 值		420.422	516.340
P 值		<0.001	<0.001

注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与缓解期组相比, ^b $P < 0.05$; 与低度活动组相比, ^c $P < 0.05$; 与中度活动组相比, ^d $P < 0.05$ 。

表 3 25(OH)D、IL-6 水平与 RA 临床指标相关性

Tab. 3 Correlation between 25(OH)D and IL-6 levels and RA clinical indicators

指标	25(OH)D (r 值/ P 值)	IL-6 (r 值/ P 值)
Hb	0.051/0.641	-0.175/0.083
PLT	-0.148/0.114	0.158/0.119
D-D	-0.769/<0.001	0.894/<0.001
ESR	-0.366/<0.001	0.473/<0.001
CRP	-0.471/<0.001	0.568/<0.001
RF	-0.196/0.064	0.167/0.115
抗 CCP 抗体	-0.437/<0.001	0.554/<0.001
SJC	-0.346/<0.001	0.498/<0.001
TJC	-0.588/<0.001	0.644/<0.001

3 讨论

免疫紊乱是 RA 的主要发病机制^[4], 而维生素 D 对免疫系统影响是极其繁杂的, 通常用血液中循环性质更稳定的 25(OH)D 反应体内真实的维生素 D 水平。本研究结果显示, 不同疾病活动期组患者的 25(OH)D 水平不同, 这与 Zakeri 等^[5] 研究结果一致。提示维生素 D 在血清中的水平会影响 RA 患者疾病的活性。已经有研究指出, 维生素 D 可能是 RA 治疗的潜在靶点^[6]。高剂量补充维生素 D 会促使高敏

CRP 水平和中性粒细胞与淋巴细胞比例分布降低^[7]。Brance 等^[8] 通过对 RA 患者进行维生素 D 治疗 1 年后发现, 患者 DAS28 评分降低。有研究发现在亚洲族裔亚组中, 维生素 D 剂量 $\leq 50\ 000$ IU, 只有维生素 D 和 TJC 改善, 而维生素 D 剂量 $> 50\ 000$ IU, VAS 评分和 DAS28 改善^[9]。增加维生素 D 摄入量, 使血清中 25(OH)D 水平维持在 40~60 ng/ml, 可以降低 RA 患病的风险^[2]。

本研究结果显示, IL-6 也可能作为 RA 疾病活动的指标, 这与以往研究结果一致^[10-11]。此外, RA 患者外周血中 25(OH)D 与 IL-6 呈显著负相关, 提示维生素 D 可能参与细胞因子的调节作用。有文献指出, 1,25(OH)₂D₃ 可促进抗炎细胞因子转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 的分泌, 抑制 IL-17 等促炎细胞因子的分泌^[12]。核因子- κB (NF- κB) 是 RA 的主要炎症途径之一, NF- κB 受体激活剂 (RANKL) 与 NF- κB 活化和骨侵蚀有关, IL-6 能促进 RANKL 的表达^[13], 导致 RA 患者骨侵蚀更严重, 补充维生素 D 可抑制 RA 患者成纤维滑膜细胞 RANKL 蛋白的表达^[14], 降低 RA 的炎症反应, 间接延缓了 RA 骨破坏的进程。RA 患者 T 细胞的持续激活, 导致其处于异常增殖状态, 从而刺激关节滑膜组织内成纤维细胞的增殖^[15]。维生素 D 能促进 RA 患者滑膜成纤维细胞的凋亡^[16]。而 IL-6 与肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 可以显著调节细胞周期, 促进 RA 成纤维样滑膜细胞的大量增殖^[17], 并可通过诱导破骨细胞参与关节破坏的相关炎症性关节炎的病理过程^[18]。说明维生素 D 参与 RA 中炎症因子 IL-6 的调控, 提示维生素 D 水平联合 IL-6 水平可很好地作为评估的指标。已有研究表明, 当 IL-6 抗体治疗的 RA 患者体内具有充足的血清维生素 D 时, 其反应会更好, 这是由于维生素 D 与 IL-6 抑制剂通过抑制 IL-17 的产生和破骨细胞的生成。

汤一榕等^[19] 研究显示, IL-6 与 SJC、TJC 均呈正相关。本研究除了发现 IL-6 与 SJC、TJC 均呈正相关, 也发现 IL-6 水平与 RA 患者 D-D、ESR、抗 CCP 抗体显著正相关。炎症活动期是增加血管凝固性和血栓形成的重要过程, 因此 D-D 水平升高并不提示 RA 患者出现血栓现象^[20]。IL-6 也可以对 RA 相关的疼痛、疲劳和情绪障碍 (如抑郁和焦虑) 起到病理作用^[21]。IL-6 与 RF、抗 CCP 抗体的相关性研究较少, 还需要进一步研究。

本研究结果显示, 外周血 25(OH)D 与 RA 患者 D-D、ESR、CRP、抗 CCP 抗体、SJC、TJC 呈显著负相关。而泰国一项研究显示, 25(OH)D 水平与 SJC、

TJC、DAS28 评分、RF、抗 CCP 抗体之间均无相关性^[22]。研究结果不一致,可能与季节、地域差异、部分患者服用糖皮质激素、维生素 D 及免疫抑制剂等因素有关,具体机制还需要进一步研究。

综上所述,RA 患者外周血 25(OH)D、IL-6 水平与疾病活动度密切相关。RA 患者外周血中 25(OH)D 与 IL-6 呈显著负相关,提示维生素 D 可能通过细胞因子参与调节 RA 病情。由于本研究不是前瞻性研究,所以没有连续监测入组人群 25(OH)D、IL-6 等指标的变化。在临床诊疗中二者联合监测,可更好地评估患者病情及治疗情况,这对早期临床干预、改善患者预后具有一定临床价值。同时,也为维生素 D 参与 RA 免疫调控提供理论依据。

参考文献

- [1] Charoenngam N, Holick MF. Immunologic effects of vitamin D on human health and disease[J]. *Nutrients*, 2020, 12(7):2097.
- [2] McInnes IB, Thompson L, Giles JT, et al. Effect of interleukin-6 receptor blockade on surrogates of vascular risk in rheumatoid arthritis: MEASURE, a randomised, placebo-controlled study [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(4):694-702.
- [3] Lin JJ, Tao K, Gao N, et al. Triptolide inhibits expression of inflammatory cytokines and proliferation of fibroblast-like synoviocytes induced by IL-6/sIL-6R-mediated JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Curr Med Sci*, 2021, 41(1):133-139.
- [4] 郑魏,张丽卿,王建宝,等.二甲双胍对类风湿关节炎患者外周血 CD4⁺T 淋巴细胞亚群的影响及临床意义[J]. *中国临床研究*, 2021, 34(10):1308-1313.
Zheng W, Zhang LQ, Wang JB, et al. Effect of metformin on CD4⁺T lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis and its clinical significance[J]. *Chin J Clin Res*, 2021, 34(10):1308-1313.
- [5] Zakeri Z, Sandoughi M, Mashhadi MA, et al. Serum vitamin D level and disease activity in patients with recent onset rheumatoid arthritis [J]. *Int J Rheum Dis*, 2016, 19(4):343-347.
- [6] Tavasolian F, Hosseini AZ, Soudi S, et al. A systems biology approach for miRNA-mRNA expression patterns analysis in rheumatoid arthritis[J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2021, 24(2):195-212.
- [7] Tabatabaeizadeh SA, Avan A, Bahrami A, et al. High dose supplementation of vitamin D affects measures of systemic inflammation: reductions in high sensitivity C-reactive protein level and neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) distribution[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(12):4317-4322.
- [8] Brance ML, Brun LR, Lioi S, et al. Vitamin D levels and bone mass in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2015, 35(3):499-505.
- [9] Guan YY, Hao Y, Guan Y, et al. The effect of vitamin D supplementation on rheumatoid arthritis patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2020, 7:596007.
- [10] 王梁谦,唐杨,李修洋,等.血清中炎症细胞因子在类风湿关节炎患者中的检测及临床意义[J]. *海南医学院学报*, 2016, 22(8):762-764.
Wang LQ, Tang Y, Li XY, et al. Clinical significance in detection of inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis [J]. *J Hainan Med Univ*, 2016, 22(8):762-764.
- [11] 高柳冰,杨荣志,高艳华,等.RA 患者血清中 TNF- α 、IL-6、miR-155、PA 及 TGF- β 1 水平及临床意义[J]. *热带医学杂志*, 2020, 20(12):1585-1588, 1599.
Gao LB, Yang RZ, Gao YH, et al. Levels of TNF- α , IL-6, miR-155, PA and TGF- β 1 in the serum of RA patients and their clinical significance [J]. *J Trop Med*, 2020, 20(12):1585-1588, 1599.
- [12] Zhou Q, Qin SY, Zhang JY, et al. 1,25(OH)₂D₃ induces regulatory T cell differentiation by influencing the VDR/PLC- γ 1/TGF- β 1 pathway [J]. *Mol Immunol*, 2017, 91:156-164.
- [13] Du YY, Chen ZX, Liu MY, et al. Leonurine regulates treg/Th17 balance to attenuate rheumatoid arthritis through inhibition of TAZ expression [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:556526.
- [14] Ilchovska DD, Barrow DM. An Overview of the NF- κ B mechanism of pathophysiology in rheumatoid arthritis, investigation of the NF- κ B ligand RANKL and related nutritional interventions [J]. *Autoimmun Rev*, 2021, 20(2):102741.
- [15] Malemud CJ. Defective T-cell apoptosis and T-regulatory cell dysfunction in rheumatoid arthritis [J]. *Cells*, 2018, 7(12):223.
- [16] Zhang YY, Li SF, Zhuo F, et al. Additive effects of VDBP and 1,25(OH)₂D₃ on the viability and apoptosis of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 11:583229.
- [17] Kaneshiro K, Sakai Y, Suzuki K, et al. Interleukin-6 and tumour necrosis factor- α cooperatively promote cell cycle regulators and proliferate rheumatoid arthritis fibroblast-like synovial cells [J]. *Scand J Rheumatol*, 2019, 48(5):353-361.
- [18] Yokota K, Sato K, Miyazaki T, et al. Characterization and function of tumor necrosis factor and interleukin-6-induced osteoclasts in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2021, 73(7):1145-1154.
- [19] 汤一榕,杨晓冬,陈仁利,等.类风湿关节炎患者血清 IL-6、D-D、25(OH)D₃ 水平变化及临床意义 [J]. *解放军预防医学杂志*, 2019, 37(4):88-89.
Tang YR, Yang XD, Chen RL, et al. Changes and clinical significance of serum IL-6, D-D, 25(OH)D₃ levels in patients with rheumatoid arthritis [J]. *J Prev Med Chin People's Liberation Army*, 2019, 37(4):88-89.
- [20] Sebba A. Pain: a review of interleukin-6 and its roles in the pain of rheumatoid arthritis [J]. *Open Access Rheumatol*, 2021, 13:31-43.
- [21] Choy EHS, Calabrese LH. Neuroendocrine and neurophysiological effects of interleukin 6 in rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2018, 57(11):1885-1895.
- [22] Pakchotanon R, Chaiamnuay S, Narongroeknawin P, et al. The association between serum vitamin D Level and disease activity in Thai rheumatoid arthritis patients [J]. *Int J Rheum Dis*, 2016, 19(4):355-361.