

绝经后骨质疏松症患者血清 IL-33 水平变化及临床意义

耿庆贺¹, 王申², 翟怀远³, 孙华北¹, 邵礼武¹, 武恒斌¹, 李剑¹,
徐国庆¹, 翟娟¹, 李本田¹, 衡科⁴, 郭开今⁵, 王进¹

1. 徐州医科大学附属邳州医院骨科, 江苏 徐州 221300; 2. 广西医科大学研究生院, 广西南宁 530021;
3. 南京东瑞医院骨科, 江苏 南京 210000; 4. 南京医科大学附属常州二院骨科, 江苏 常州 320412;
5. 徐州医科大学附属医院骨科, 江苏 徐州 221004

摘要: **目的** 探讨绝经后骨质疏松妇女血清白细胞介素(IL)-33 水平变化及其临床意义。**方法** 选取 2019 年 1 月至 4 月在徐州医科大学附属邳州医院骨科门诊就诊的绝经后骨质疏松症患者 50 例为观察组, 同期健康体检的绝经后妇女 50 例为对照组。采用酶联免疫吸附法检测两组患者血清中 IL-33 水平。**结果** 与健康体检组相比较, 绝经后骨质疏松症患者血清 IL-33 水平明显降低[(5.43 ± 2.48) pg/ml vs (20.12 ± 3.44) pg/ml, $P < 0.01$]。**结论** 绝经后骨质疏松妇女血清 IL-33 水平较健康人显著降低, IL-33 可能是一种重要的骨保护细胞因子, 对诊治绝经后骨质疏松症有一定的指导作用。

关键词: 白细胞介素 33; 绝经; 骨质疏松; 酶联免疫吸附; 细胞因子

中图分类号: R 681 R 58 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2020)01-0066-03

Changes of serum IL-33 level and its clinical significance in patients with postmenopausal osteoporosis

GENG Qing-he*, WANG Shen, ZHAI Huai-yuan, SUN Hua-bei, SHAO Li-wu, WU Heng-bin,
LI Jian, XU Guo-qing, ZHAI Juan, LI Ben-tian, HENG Ke, GUO Kai-jin, WANG Jin

* Department of Orthopedics, Pizhou Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221300, China

Corresponding author: WANG Jin, E-mail: wangjin221300@163.com

Abstract: Objective To explore the changes of serum interleukin-33 (IL-33) in women with postmenopausal osteoporosis (PMOP) and its clinical significance. **Methods** Fifty patients with PMOP admitting to Orthopedic Department of Pizhou Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University from January to April 2019 were selected as observation group, and 50 healthy postmenopausal women were served as control group at the same period. By enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), the serum level of IL-33 was detected in two groups. **Results** Compared with control group, the serum IL-33 level significantly decreased in observation group [(5.43 ± 2.48) pg/ml vs (20.12 ± 3.44) pg/ml, $P < 0.01$]. **Conclusions** The serum level of IL-33 in women with PMOP is significantly lower than that in healthy postmenopausal women. IL-33 may be an important cytokine of bone protection and has a certain guiding role in the treatment of PMOP.

Key words: Interlukin-33; Menopausal; Osteoporosis; Enzyme linked immunosorbent assay; Cytokine

Fund program: University Level Scientific Research Project of Xuzhou Medical University (2018KJ23); Scientific Research Fund of Pizhou Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University in 2019 (2019KY001)

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是指绝经后妇女因卵巢功能衰退、体内雌激素水平不足, 引起破骨细胞活性增强、成骨细胞和破骨细胞间平衡被打破, 从而导致骨量减少、骨密度下

降、骨脆性上升、骨折风险增大的一种全身性骨骼疾病^[1]。统计数据表明, 超过一半的绝经后妇女会发生 PMOP, 10% 的 PMOP 患者会发生骨折, 其中大多数的骨折发生在髌部^[1]。PMOP 会给绝经后妇女正

常生活带来严重威胁,引起学术界越来越多的关注。伴随着骨质疏松症的发生、发展,机体炎症因子水平往往异常增高。炎症因子在骨微环境中能够通过细胞黏附作用、旁分泌和自分泌的方式打破骨重建的微妙平衡,导致骨代谢紊乱^[2]。越来越多的研究证实,炎症因子在骨质疏松症的发病过程中扮演了极其重要的角色,炎症是骨质疏松症的重要病理过程^[2]。白细胞介素(Interleukin, IL)-33 是孤儿受体 ST2 的配体,隶属于 IL-1 家族,具有抑制和促进炎症的双重作用,参与了一系列疾病的发生、发展^[3-4]。但到目前为止,IL-33 是否参与 PMOP 的病程尚未见报道。鉴于其在炎症和骨重建中的关键作用,笔者选取了 50 例 PMOP 患者和 50 例健康个体进行血清 IL-33 水平测定,探索 IL-33 与 PMOP 的关系。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 4 月在徐州医科大学附属邳州医院就诊的 50 例 PMOP 女性患者为观察组(PMOP 组),选择同期于我院健康体检的绝经后非骨质疏松妇女 50 例为对照组。所有受试人员均签订知情同意书。本研究获得徐州医科大学附属邳州医院伦理委员会批准(编号:2019-1-001)。

1.2 纳入标准 (1)均自然绝经,且时间 ≥ 1 年;(2)均自愿参加本实验,且签署知情同意书。

1.3 排除标准 (1)有卵巢切除手术史者;(2)患有能够导致继发性骨质疏松症的各种内分泌疾病;(3)近 3 个月内服用钙剂、糖皮质激素、抗骨质疏松症药物、雌激素等影响骨代谢药物者;(4)慢性肝肾、胃肠、骨关节、血液系统疾病;(5)有肿瘤病史者。

1.4 骨密度的测定 使用双能 X 线骨密度仪(DXA,韩国 Osteosys 公司)检测患者腰椎(L₂₋₄)和左侧股骨颈、股骨粗隆的骨密度。骨质疏松的诊断标准参照 1994 年 WHO 推荐的诊断标准,即骨密度 T 值 > -1.0 SD 为骨量正常, T 值 ≤ -2.5 SD 为骨质疏松。所有检查均由我科专职医师进行,检查前均行骨密度仪精密度质控。

1.5 血清 IL-33 检测 两组对象均于清晨空腹抽取肘部静脉血 5 ml,离心后(3 000 r/min)取上层血清,放入 -80 °C 冰箱冻存。为消除批间差异,所有标本收集完成后统一检测。检测前,将冰冻血清样本于室温下复融。试剂盒购自南京建成公司,所有操作流程严格遵照产品说明书。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用成组 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般情况比较 两组对象年龄、体重、绝经时间、BMI 指数相当(P 均 > 0.05)。见表 1。

2.2 两组骨密度比较 PMOP 组患者腰椎、股骨颈、股骨粗隆骨密度均低于对照组(P 均 < 0.01)。见表 1。

2.3 两组血清 IL-33 水平比较 对照组对象血清 IL-33 水平低于 PMOP 组患者($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 两组对象一般资料比较 ($n = 50, \bar{x} \pm s$)

项目	对照组	PMOP 组	t 值	P 值
年龄(岁)	55.74 \pm 2.77	56.18 \pm 3.19	0.74	0.466
体重(kg)	78.85 \pm 6.22	77.63 \pm 4.56	1.12	0.271
绝经时间(年)	9.24 \pm 2.25	9.79 \pm 4.27	0.81	0.424
BMI(kg/m ²)	21.47 \pm 4.38	23.12 \pm 4.31	1.90	0.064
骨密度(T-score)				
腰椎	-0.95 \pm 0.22	-2.82 \pm 1.11	11.69	0.000
股骨颈	-0.88 \pm 0.13	-2.63 \pm 0.81	15.08	0.000
股骨粗隆	-0.79 \pm 0.17	-2.54 \pm 0.65	18.42	0.000
IL-33(pg/ml)	20.12 \pm 3.44	5.43 \pm 2.48	24.49	0.000

3 讨论

骨的各种活动受到细胞因子的精密调节^[5],炎症因子如肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IL-6 及 IL-1 β 能够通过各种途径促进破骨细胞活化。TNF- α 是重要的破骨细胞激活因子,其不但能直接刺激破骨细胞前体细胞的增殖分化,还能抑制破骨细胞凋亡、延长破骨细胞寿命^[6]。IL-6 由单核/巨噬细胞及成骨细胞合成、分泌,能直接促进破骨细胞增殖分化、增加骨吸收。IL-6 和 IL-6 受体在骨质疏松症的发病过程中有重要作用,PMOP 患者体内 IL-6 的 mRNA 水平显著高于非骨质疏松绝经妇女^[7]。IL-1 是当前所知最为有效的骨吸收刺激因子,可直接诱导破骨细胞前体细胞融合,形成类破骨多核细胞,并提高破骨细胞的生存能力。此外,IL-1 也可通过放大 TNF- α 和 RANKL 介导的骨吸收信号,持续诱导骨吸收^[8]。IL-1 β 基因敲除小鼠的骨密度较之野生型小鼠明显提高^[9]。

IL-33 基因定位于人 9 号染色体(9p24.1),是孤儿受体 ST2 的配体^[10]。在人和小鼠的多种组织中均可检测到 IL-33 的 mRNA 表达。IL-33 是 IL-1 细胞因子家族中最新鉴定的成员;另外两个成员,即 IL-1 和 IL-18 都对骨内细胞起作用。IL-33 最初被认定为 Th2 免疫应答的诱导剂,如今被认为是一种多效的细胞因子:它既能够向细胞外空间释放,也能够作为炎症中的细胞内核因子。IL-33 涉及许多疾病,如特应性皮炎、哮喘、类风湿性关节炎和心血管疾病。哮喘患者血清 IL-33 水平显著升高,并随病情加重而增

加^[11]。类风湿性关节炎患者血清 IL-33 水平也显著升高,且和骨侵蚀正相关^[12]。然而,IL-33 在心血管疾病如动脉粥样硬化、肥胖、2 型糖尿病和心脏重塑中也显示出预防炎症效果^[3]。由此可见,IL-33 是促炎症还是抗炎症,是根据临床情况而定^[3]。

IL-33 在骨质疏松症中的作用仍有争议。到目前为止,在人体研究尚未见报道,大多数研究都集中于体外研究和动物实验。事实上,IL-33 能够抑制 RANKL 依赖性破骨细胞形成,从而避免炎症性骨质流失^[13-14]。Schulze 等^[15]发现,IL-33 能够直接抑制骨髓前体细胞形成破骨细胞,Zaiss 等^[16]发现 IL-33 还能促进体外培养的破骨细胞向巨噬细胞分化,减少破骨细胞数量。da Luz 等^[17]发现,IL-33 也能通过减少成骨细胞分泌骨保护素(OPG),增加破骨细胞生成因子的产生,增加骨吸收。Saleh 等^[18]发现 IL-33 在体外刺激骨基质矿化,但 Saidi 等^[19]也报道 IL-33 对于骨基质形成没有影响。Velickovic 等^[20]证明小鼠缺乏 IL-33 受体显示破骨细胞形成增加,骨量减少。因此,可以认为 IL-33 可能是骨内细胞活性的重要内源调节因子,既有促炎作用,又有抗炎作用,同时发挥刺激成骨细胞、破骨细胞作用,其具体作用,取决于具体的临床背景和疾病阶段。

本研究结果表明,PMOP 患者血清 IL-33 水平较对照组显著降低。PMOP 患者血清低水平的 IL-33 与 IL-33 在实验条件下抑制破骨细胞分化的几个观察结果一致^[13-14,16]。虽然 IL-33 存在多效性作用,但其在 PMOP 患者的骨重建中,抗破骨细胞骨吸收作用可能是最关键的。本研究数据表明,IL-33 代表了一种重要的骨保护细胞因子,故应注重 PMOP 患者炎症因子的检测,为其诊断和治疗提供参考。

参考文献

- [1] Geng QH, Gao HY, Yang RL, et al. Pyrroloquinoline quinone prevents estrogen deficiency-induced osteoporosis by inhibiting oxidative stress and osteocyte senescence[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(1): 58-68.
- [2] Polat B, Halici Z, Cadirci E, et al. The effect of alpha-lipoic acid in ovariectomy and inflammation-mediated osteoporosis on the skeletal status of rat bone[J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 718(1/2/3): 469-474.
- [3] Miller AM. Role of IL-33 in inflammation and disease[J]. *J Inflamm (Lond)*, 2011, 8(1): 22.
- [4] 耿庆贺, 翟怀远, 李迎乐, 等. 非创伤性股骨头坏死患者血清白细胞介素-33 水平变化及意义[J]. *中国临床研究*, 2019, 32(4): 509-511, 515.
- [5] Ginaldi L, De Martinis M. Osteoimmunology and beyond[J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(33): 3754-3774.

- [6] Jules J, Feng X. In vitro investigation of the roles of the proinflammatory cytokines tumor necrosis factor- α and interleukin-1 in murine osteoclastogenesis[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1155: 109-123.
- [7] Czerny B, Kaminski A, Kurzawski M, et al. The association of IL-1 β , IL-2, and IL-6 gene polymorphisms with bone mineral density and osteoporosis in postmenopausal women[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reproductive Biol*, 2010, 149(1): 82-85.
- [8] Yamashita T, Yao ZQ, Li F, et al. NF-kappaB p50 and p52 regulate receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL) and tumor necrosis factor-induced osteoclast precursor differentiation by activating c-Fos and NFATc1[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(25): 18245-18253.
- [9] Lee YM, Fujikado N, Manaka H, et al. IL-1 plays an important role in the bone metabolism under physiological conditions[J]. *Int Immunol*, 2010, 22(10): 805-816.
- [10] Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines[J]. *Immunity*, 2005, 23(5): 479-490.
- [11] Li R, Yang G, Yang RQ, et al. Interleukin-33 and receptor ST2 as indicators in patients with asthma; a meta-analysis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 14935-14943.
- [12] Xu WD, Zhang M, Zhang YJ, et al. IL-33 in rheumatoid arthritis: potential role in pathogenesis and therapy[J]. *Hum Immunol*, 2013, 74(9): 1057-1060.
- [13] Kiyomiya H, Ariyoshi W, Okinaga T, et al. IL-33 inhibits RANKL-induced osteoclast formation through the regulation of Blimp-1 and IRF-8 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 460(2): 320-326.
- [14] Zhu X, Zhao Y, Jiang Y, et al. Dectin-1 signaling inhibits osteoclastogenesis via IL-33-induced inhibition of NFATc1[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(32): 53366-53374.
- [15] Schulze J, Bickert T, Beil FT, et al. Interleukin-33 is expressed in differentiated osteoblasts and blocks osteoclast formation from bone marrow precursor cells[J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(4): 704-717.
- [16] Zaiss MM, Kurowska-Stolarska M, Böhm C, et al. IL-33 shifts the balance from osteoclast to alternatively activated macrophage differentiation and protects from TNF-alpha-mediated bone loss[J]. *J Immunol*, 2011, 186(11): 6097-6105.
- [17] da Luz FA, Oliveira AP, Borges D, et al. The physiopathological role of IL-33: new highlights in bone biology and a proposed role in periodontal disease[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 342410.
- [18] Saleh H, Eeles D, Hodge JM, et al. Interleukin-33, a target of parathyroid hormone and oncostatin m, increases osteoblastic matrix mineral deposition and inhibits osteoclast formation in vitro[J]. *Endocrinology*, 2011, 152(5): 1911-1922.
- [19] Saidi S, Bouri F, Lencel P, et al. IL-33 is expressed in human osteoblasts, but has no direct effect on bone remodeling[J]. *Cytokine*, 2011, 53(3): 347-354.
- [20] Velickovic M, Pejnovic N, Mitrovic S, et al. ST2 deletion increases inflammatory bone destruction in experimentally induced periapical lesions in mice[J]. *J Endod*, 2015, 41(3): 369-375.