

# 类风湿关节炎患者骨质疏松与免疫调节性细胞因子的关系

冯秀媛<sup>1</sup>, 张芬燕<sup>2</sup>, 常志芳<sup>1</sup>, 杨国安<sup>2</sup>, 庞春艳<sup>2</sup>, 王永福<sup>1,2</sup>

1. 包头医学院第一附属医院风湿免疫科 包头医学院风湿免疫研究所, 内蒙古 包头 014010;

2. 内蒙古自治区自体免疫学重点实验室, 内蒙古 包头 014010

**摘要:** **目的** 探讨类风湿关节炎(RA)患者骨质疏松与免疫调节性细胞因子的关系。**方法** 收集2018年1月至2019年2月在包头医学院第一附属医院风湿免疫科住院确诊的115例RA患者的临床资料、实验室检查及血清标本。根据骨密度值将RA患者分为RA伴骨质疏松症(OP)组65例和RA不伴OP组50例。检测两组患者免疫调节性细胞因子[白细胞介素(IL)-17、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、转化生长因子(TGF)- $\beta$ 1]的表达水平及红细胞沉降率(ESR)、C反应蛋白(CRP)、免疫球蛋白(Ig)G、IgA、IgM水平。**结果** (1)RA伴OP组年龄、病程、压痛关节数(TJC)、肿胀关节数(SJC)和骨折史、使用糖皮质激素病史发病率均显著高于RA不伴OP组( $P < 0.01$ )。(2)RA伴OP组各部位骨密度值均显著低于RA不伴OP组( $P < 0.01$ )。两组RA患者腰椎骨密度值均显著低于髋关节骨密度值( $P < 0.01$ )。(3)RA伴OP组IL-17、ESR、CRP、DAS28水平显著高于RA不伴OP组,IL-10低于RA不伴OP组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** RA患者腰椎更容易出现骨质疏松,使用过糖皮质激素的患者更容易出现骨质疏松且易于发生骨折。合并OP的RA患者年龄、病程、TJC、SJC、DAS28、IL-17和CRP水平普遍偏高,且IL-10的下降水平较明显,RA患者发生OP可能与年龄、病程、使用糖皮质激素有关;免疫调节性细胞因子在RA发生OP的过程中起到一定的作用,其中IL-17可能参与骨破坏的过程,IL-10可能起到骨保护的作用。

**关键词:** 类风湿关节炎; 免疫调节性细胞因子; 骨质疏松症; 白细胞介素17; 白细胞介素10; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 转化生长因子- $\beta$ 1

中图分类号: R 593.22 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2020)02-0154-04

## Relationship between osteoporosis and immunoregulatory cytokines in patients with rheumatoid arthritis

FENG Xiu-yuan\*, ZHANG Fen-yan, CHANG Zhi-fang, YANG Guo-an, PANG Chun-yan, WANG Yong-fu

\* Department of Rheumatology and Immunology, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College

(Institute of Immunology and Rheumatology of Baotou Medical College), Baotou, Inner Mongolia 014010, China

Corresponding author: WANG Yong-fu, E-mail: 18047211500@163.com

**Abstract: Objective** To discuss the relationship between osteoporosis(OP) and immunoregulatory cytokines in patients with rheumatoid arthritis (RA). **Methods** The clinical data, laboratory tests and serum samples of 115 patients with confirmed RA from January 2018 to February 2019 were collected. According to bone mineral density(BMD) value, RA patients were divided into RA accompanied by OP (RA with OP group,  $n = 65$ ) and RA without OP (RA without OP group,  $n = 50$ ). The levels of interleukin-17(IL-17), IL-6, IL-10, tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$ , transforming growth factor- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1), erythrocyte sedimentation rate(ESR), C-reactive protein(CRP), immunoglobulin(Ig)G, IgA, IgM were detected in two groups. **Results** The age, course of disease, tender joint count(TJC), swollen joints count(SJC), history of fracture and history of glucocorticoid use in RA with OP group were significantly longer than those in RA without OP group ( $P < 0.01$ ). BMD values of each part in RA with OP group were significantly lower than those in RA without OP group ( $P < 0.01$ ). The BMD of lumbar vertebrae was significantly lower than that of hip joint in both groups ( $P < 0.01$ ). The levels of IL-17, ESR, CRP and DAS28 (Disease Activity Score including a 28-joint count) in RA with OP group were significantly higher, and IL-10 was significantly lower than those in RA without OP group ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** RA

patients are prone to lumbar osteoporosis, and those who have used glucocorticoids are more likely to have osteoporosis and fracture. In RA patients with OP, age, course of disease, TJC, SJC, DAS28, levels of IL-17 and CRP are generally high, and IL-10 level is obviously low. The occurrence of OP in RA patients may be related to age, course of disease and corticosteroids use. Immunoregulatory cytokines possibly participate in the process of OP in RA, in which IL-17 may be involved in the process of bone destruction, while IL-10 may play a role in bone protection.

**Key words:** Rheumatoid arthritis; Immunoregulatory cytokines; Osteoporosis; Interleukin-17; Interleukin-10; Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Transforming growth factor- $\beta$ 1

**Fund program:** Baotou Medical College Science Research Fund Project (Youth Program) (BYJJ-QM2016112)

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 的基本病理改变为滑膜炎、血管翳形成,并逐渐出现关节软骨和骨破坏,最终可能导致关节畸形和功能丧失<sup>[1]</sup>。骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种以骨量低,骨组织微结构损坏,导致骨脆性增加,易发生骨折为特征的全身性骨骼疾病<sup>[2]</sup>。RA 由于自身免疫性疾病本身的特点和其所造成的关节、骨骼等功能受损,患者易合并骨质疏松及骨折。关于 OP 的病因,最近研究提出了“骨免疫学”的观点<sup>[3]</sup>,认为在 OP 的发生发展过程中,免疫系统和免疫因素起了重要的调节作用。而免疫系统和骨骼系统共享很多共同的调节因子,如巨噬细胞集落刺激因子、核因子  $\kappa$ B 受体活化因子 (RANK)、Tregs、白细胞介素 (IL)、肿瘤坏死因子 (TNF) 等<sup>[4-5]</sup>,本研究通过测定 RA 伴发 OP 患者的血清免疫调节性细胞因子水平,分析相关细胞因子在 RA 合并 OP 中的临床意义,初步探讨 RA 患者骨质疏松与其的关系。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 1 月至 2019 年 2 月在包头医学院第一附属医院风湿免疫科住院确诊的 115 例 RA 患者的临床资料、实验室检查及血清标本。RA 患者男 19 例,女 96 例,年龄 18 ~ 86 (58.68  $\pm$  12.74) 岁,病程 5 ~ 135 (40.77  $\pm$  27.12) 个月。

1.2 纳入和排除标准 纳入标准:(1)符合 1987 年美国风湿病学会 (ACR) 制定的 RA 分类标准;(2)OP 主要基于双能 X 线骨密度仪 (DXA) 骨密度测量结果和/或脆性骨折。DXA 骨密度测量结果参照世界卫生组织 (WHO) 推荐的诊断标准, T 值  $\leq$  -2.5 即诊断 OP。脆性骨折是指受到轻微创伤或日常活动中即发生的骨折。排除标准:(1)妊娠或者哺乳期女性;(2)合并其他可以引起 OP 疾病的患者;(3)长期服用影响骨代谢药物的患者。

### 1.3 方法

1.3.1 一般资料 包括年龄、性别、病程、压痛关节数 (tender joint count, TJC)、肿胀关节数 (swollen joint count, SJC), 计算疾病活动指数 (disease activity

score, DAS28) 评分<sup>[6]</sup>,  $DAS28 = [0.56 \times \sqrt{28TJC} + 0.28 \times \sqrt{28SJC} + 0.70 \times \ln(ESR)] \times 1.08 + 0.16$ 。其中  $\sqrt{\quad}$ : 开平方根;  $\ln$ : 取自然对数。

1.3.2 骨密度测量 采用法国麦迪 (MEDILINK) 公司 MEDIX-DR 数字化二维扇扫骨密度仪对所有 RA 患者检测骨密度,根据骨密度值将 RA 患者分为两组 RA 伴 OP 组 65 例, RA 不伴 OP 组 50 例。

1.3.3 实验室检查 对两组患者晨起采取空腹肘静脉血 5 ml, 3 000 rpm 离心 10 min, 分离血清。根据武汉新启迪生物科技有限公司酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测试剂盒进行操作,检测血清 IL-17、IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$ 、转化生长因子 (TGF)- $\beta$ 1 的水平,检测步骤按试剂盒说明进行。同时详细记录 RA 伴 OP 患者的实验室指标,主要包括血沉仪法检测红细胞沉降率 (ESR),速率散射比浊法检测 C 反应蛋白 (CRP) 和免疫球蛋白 (Ig) G、IgA、IgM。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行数据处理,数据进行正态性检验,符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,比较采用独立样本  $t$  检验;非正态分布计量资料以中位数 (四分位数) [ $M(P_{25}, P_{75})$ ] 表示,比较采用秩和检验;计数资料以例 (%) 表示,比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组一般资料比较 RA 伴 OP 组年龄、病程、TJC、SJC 和骨折史、使用糖皮质激素史发生率均显著高于 RA 不伴 OP 组 ( $P < 0.01$ )。见表 1。

2.2 两组各部位骨密度值比较 RA 伴 OP 组各部位骨密度值均显著低于 RA 不伴 OP 组,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。两组 RA 患者腰椎骨密度值均显著低于髌关节骨密度值,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

2.3 两组细胞因子水平及炎症指标的比较 RA 伴 OP 组 IL-17、ESR、CPR、DAS28 水平显著高于 RA 不伴 OP 组, IL-10 低于 RA 不伴 OP 组,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); IL-6、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1、IgA、IgM、IgG 水平两组间无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 1 两组一般资料比较

| 组别           | 例数 | 男/女<br>(例) | 年龄<br>(岁, $\bar{x} \pm s$ ) | 病程<br>(月, $\bar{x} \pm s$ ) | TJC<br>(个, $\bar{x} \pm s$ ) | SJC<br>(个, $\bar{x} \pm s$ ) | 骨折史<br>[例(%)] | 使用糖皮质激素史[例(%)] |
|--------------|----|------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------|----------------|
| RA 伴 OP 组    | 65 | 9/56       | 64.02 ± 8.73                | 58.32 ± 23.62               | 16.71 ± 3.94                 | 8.11 ± 1.99                  | 14(21.54)     | 43(66.15)      |
| RA 不伴 OP 组   | 50 | 10/40      | 51.74 ± 13.82               | 17.94 ± 6.45                | 12.62 ± 3.61                 | 6.38 ± 2.04                  | 1(2.00)       | 11(22.00)      |
| $\chi^2/t$ 值 |    | 0.776      | 5.815                       | 11.748                      | 5.716                        | 4.562                        | 9.512         | 22.120         |
| P 值          |    | 0.378      | 0.000                       | 0.000                       | 0.000                        | 0.000                        | 0.002         | 0.000          |

表 2 两组各部位骨密度值比较

| 组别         | 例数 | T1<br>( $\bar{x} \pm s$ ) | T2<br>( $\bar{x} \pm s$ ) | T3<br>[ $M(P_{25}, P_{75})$ ] | T4<br>( $\bar{x} \pm s$ ) | T 腰椎总计<br>( $\bar{x} \pm s$ ) |
|------------|----|---------------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| RA 伴 OP 组  | 65 | -2.03 ± 1.00              | -2.34 ± 1.02              | -2.3(-3.05, -1.60)            | -2.22 ± 1.31              | -2.18 ± 0.99                  |
| RA 不伴 OP 组 | 50 | -0.34 ± 1.34              | -0.57 ± 1.46              | -0.6(-1.43, -1.00)            | -0.32 ± 1.33              | -0.40 ± 1.28                  |
| t/Z 值      |    | 7.738                     | 7.617                     | -6.713                        | 7.653                     | 8.428                         |
| P 值        |    | 0.000                     | 0.000                     | 0.000                         | 0.000                     | 0.000                         |

  

| 组别         | 例数 | T 股骨颈<br>[ $M(P_{25}, P_{75})$ ] | 大粗隆<br>( $\bar{x} \pm s$ ) | 粗隆间<br>( $\bar{x} \pm s$ ) | T 整体髋关节<br>( $\bar{x} \pm s$ ) |
|------------|----|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| RA 伴 OP 组  | 65 | -1.40(-2.00, -0.90)              | -1.78 ± 1.03               | -1.36 ± 0.90               | -1.36 ± 0.79 <sup>a</sup>      |
| RA 不伴 OP 组 | 50 | -0.35(-1.50, 1.10)               | -0.34 ± 1.19               | 0.22 ± 1.14                | 0.13 ± 1.10 <sup>a</sup>       |
| t/Z 值      |    | -4.608                           | 6.954                      | 8.343                      | 8.458                          |
| P 值        |    | 0.000                            | 0.000                      | 0.000                      | 0.000                          |

注:与同组 T 腰椎总计比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ 。

表 3 两组细胞因子水平及炎症指标比较

| 组别         | 例数 | IL-17<br>[pg/ml, $M(P_{25}, P_{75})$ ] | IL-6<br>(pg/ml, $\bar{x} \pm s$ ) | IL-10<br>[pg/ml, $M(P_{25}, P_{75})$ ] | TNF- $\alpha$<br>[pg/ml, $\bar{x} \pm s$ ] | TGF- $\beta$ 1<br>[pg/ml, $M(P_{25}, P_{75})$ ] |
|------------|----|--|-----------------------------------|--|--|---|
| RA 伴 OP 组  | 65 | 16.10(0.00, 70.28)                     | 1843.59 ± 1.03                    | 0.00(0.00, 24.56)                      | 2076.46 ± 1.93                             | 144.14(56.87, 277.61)                           |
| RA 不伴 OP 组 | 50 | 0.00(0.00, 0.00)                       | 1775.25 ± 1.53                    | 123.99(0.00, 320.97)                   | 2144.48 ± 1.50                             | 141.84(0.00, 527.25)                            |
| t/Z 值      |    | 4.828                                  | 0.286                             | 5.479                                  | 0.206                                      | 0.079   |
| P 值        |    | 0.000                                  | 0.775                             | 0.000                                  | 0.837                                      | 0.937   |

  

| 组别         | 例数 | ESR<br>(mm/h, $\bar{x} \pm s$ ) | CRP<br>[mg/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ] | IgA<br>[g/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ] | IgM<br>(g/L, $\bar{x} \pm s$ ) | IgG<br>(g/L, $\bar{x} \pm s$ ) | DAS28<br>( $\bar{x} \pm s$ ) |
|------------|----|---------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| RA 伴 OP 组  | 65 | 43.09 ± 29.95                   | 20.80(10.80, 49.60)                 | 3.32(2.37, 4.50)                   | 1.38 ± 0.83                    | 13.59 ± 4.98                   | 6.10 ± 0.66                  |
| RA 不伴 OP 组 | 50 | 28.60 ± 22.19                   | 9.91(3.13, 31.48)                   | 2.90(2.11, 3.56)                   | 1.33 ± 0.65                    | 14.16 ± 3.94                   | 5.30 ± 0.78                  |
| t/Z 值      |    | 2.868                           | 3.030                               | 1.879                              | 0.414                          | 0.667                          | 5.950                        |
| P 值        |    | 0.005                           | 0.002                               | 0.060                              | 0.680                          | 0.506                          | 0.000                        |

### 3 讨论

RA 是一种以对称性多关节炎为主要表现的全身性自身免疫性疾病,早期即可出现受累关节关节端的 OP,同时还可出现全身性的 OP<sup>[7-9]</sup>。本研究结果显示,出现 OP 的 RA 患者腰椎不同椎体和髋关节不同部位的骨密度值较不伴有 OP 的 RA 患者均有不同程度的下降,其中伴有 OP 的 RA 患者腰椎骨密度值明显低于髋关节骨密度值,表明 RA 患者更容易出现腰椎骨质疏松。

有研究显示,无论男性还是女性,RA 均为骨质疏松性骨折的独立危险因素<sup>[10]</sup>。本研究显示,RA 患者是否出现 OP 与性别无显著关系,随着年龄增加和病程延长,RA 患者更容易发生 OP。文献报道皮质醇激素可增加成骨细胞的凋亡,抑制骨形成,导致骨密度降低<sup>[11]</sup>。本研究数据证实整个病程中使用过糖皮质激素的 RA 患者更容易出现骨质疏松且易于发生骨折。

CRP 是在机体受到感染或组织损伤时血浆中一些急剧上升的急性蛋白<sup>[12]</sup>,激活补体和加强吞噬细胞的吞噬而起调理作用,清除入侵机体的病原微生物和损伤、坏死、凋亡的组织细胞,由 IL-6 调控<sup>[13]</sup>,再由肝脏内合成并释放入血的一种蛋白质,炎症反应越重,其浓度越高。本研究数据表明与非 OP 组相比,OP 组 RA 患者 TJC、SJC、DAS28 和 CRP 水平普遍偏高,且差异有统计学意义。这说明疾病活动度越高、炎症反应越重的 RA 患者更容易合并 OP。

目前认为 RA 的骨质疏松与关节破坏基于共同的发病机制<sup>[3]</sup>。免疫系统和骨骼系统存在一些交联点,T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、细胞因子、趋化因子和共刺激分子等均能与成骨细胞和破骨细胞相互作用,共同调节骨形成和骨吸收,进而改变骨重塑的方向。本研究数据表明,伴有 OP 的 RA 患者较不伴 OP 的单纯 RA 患者 IL-17 水平升高,IL-10 水平下降,而两组间 IL-6、TNF- $\alpha$  及 TGF- $\beta$ 1 水平并无明显差异。这提示免疫调节性细胞因子参与了 RA 合并 OP 的发

生、发展,参与了 RA 关节破坏的过程,与 RA 患者局部及全身的骨量丢失具有高度相关性。其中 IL-17 可能参与骨破坏的过程;IL-10 可能起到骨保护的作用。文献报道 RA 受累关节的炎症滑膜 T 细胞产生大量的 IL-17,IL-17 刺激滑膜巨噬细胞,进一步产生大量其他炎症因子(如 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6 等)<sup>[3]</sup>,这些炎症因子作用于破骨细胞前体,使其分化为破骨细胞,增加骨吸收,最终发生关节部位的骨侵蚀。而 IL-10 可通过上调骨保护素的分泌,并下调破骨细胞生成因子和集落刺激因子-1 的表达,抑制破骨细胞的分化成熟<sup>[14]</sup>。

综上所述,RA 患者腰椎更容易出现骨质疏松,是否出现 OP 与性别无明显关系,使用过糖皮质激素的患者更容易出现骨质疏松且易于发生骨折。合并 OP 的 RA 患者年龄、病程、TJC、SJC、DAS28、IL-17 和 CRP 水平显著偏高,且 IL-10 的下降水平较明显,RA 患者发生 OP 可能与年龄、病程、使用糖皮质激素有关;免疫调节性细胞因子在 RA 发生 OP 的过程中起到一定的作用,其中 IL-17 可能参与骨破坏的过程;IL-10 可能起到骨保护的作用,抑制 IL-17、上调 IL-10 水平可能为控制 RA 患者骨质疏松的发生、发展提供一种更有前景的治疗办法。

## 参考文献

- [1] 陈灏珠,钟南山,陆再英.内科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:808.
- [2] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松症诊治指南(2011年)[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2011,4(1):2-17.
- [3] 常志芳,冯成龙,史晓霞,等.免疫与骨质疏松的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(4):508-513.
- [4] 李文艳,徐玉善,李红.免疫调节在骨质疏松症中的研究进展[J].医学综述,2015,21(2):213-216.
- [5] 王佳,孙何花,乔军,等.低剂量 IL-2 治疗对活动性类风湿关节炎调节性 T 细胞的影响及临床疗效[J].中国临床研究,2019,32(10):1310-1314.
- [6] Inoue E, Yamanaka H, Hara M, et al. Comparison of Disease Activity Score (DAS)28-erythrocyte sedimentation rate and DAS28-C-reactive protein threshold values[J]. Ann Rheum Dis, 2007, 66(3):407-409.
- [7] Loza E, Lajas C, Andreu JL, et al. Consensus statement on a framework for the management of comorbidity and extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis[J]. Rheumatol Int, 2015, 35(3):445-458.
- [8] Delgado-Frías E, López-Mejías R, Genre F, et al. Relationship between endothelial dysfunction and osteoprotegerin, vitamin D, and bone mineral density in patients with rheumatoid arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2015, 33(2):241-249.
- [9] 蔡晓燕,董光富.类风湿关节炎继发骨质疏松症的临床分析[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(12):1495-1497.
- [10] Hippisley-Cox J, Coupland C. Predicting risk of osteoporotic fracture in men and women in England and Wales: prospective derivation and validation of Q Fracture Scores[J]. BMJ, 2009, 340(7746):586.
- [11] 葛金莲,买买提伊明·吐尔逊,罗德梅.骨代谢生化指标在糖皮质激素诱导类风湿性关节炎骨质疏松症中的意义[J].新疆医科大学学报,2015,38(8):1011-1013,1017.
- [12] Ammitzbøll CG, Steffensen R, Bøgsted M, et al. CRP genotype and haplotype associations with serum C-reactive protein level and DAS28 in untreated early rheumatoid arthritis patients[J]. Arthritis Res Ther, 2014, 16(5):475.
- [13] Karsdal MA, Schett G, Emery P, et al. IL-6 receptor inhibition positively modulates bone balance in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to anti-tumor necrosis factor therapy: biochemical marker analysis of bone metabolism in the tocilizumab RADIATE study (NCT00106522)[J]. Semin Arthritis Rheum, 2012, 42(2):131-139.
- [14] Gendron S, Boisvert M, Chetoui N, et al. Alpha1beta1 integrin and interleukin-7 receptor up-regulate the expression of RANKL in human T cells and enhance their osteoclastogenic function[J]. Immunology, 2008, 125(3):359-369.

收稿日期:2019-09-03 修回日期:2019-10-05 编辑:王娜娜