

• 论 著 •

类风湿关节炎患者血清炎症因子与骨质疏松的关系

林红晓, 王东岩

(连云港市第一人民医院骨质疏松科, 江苏连云港 222002)

摘要:目的 探索及分析类风湿关节炎患者的血清白细胞介素-34(IL-34)、类风湿因子(RF)、细胞核因子 κ B 受体活化因子配体(RANKL)等指标水平变化,且观察其变化与骨质疏松的关系。方法 收集 2016 年 1 月至 2017 年 1 月间该院接收的患类风湿关节炎的 40 例患者作为研究组,同时取同期于本院进行健康体检的 40 例健康人群作为对照组。通过酶联免疫吸附试验(ELISA)对 2 组对象的血清 IL-34、RANKL 水平进行检测,通过乳胶凝集法对 2 组对象的血清 RF 水平进行检测,同时常规检测患者的骨密度(BMD)、红细胞沉降率(ESR)、C 反应蛋白(CRP)、抗 CCP 抗体,并经改良 DAS28 评分对类风湿关节炎的疾病活动度进行评估。结果 研究组的血清 IL-34、RF 及 RANKL 等指标水平高于对照组,BMD 低于对照组,且差异均具有统计学意义($P < 0.05$);研究组的骨质疏松发生率大于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);研究组中骨质疏松患者的 IL-34、RF、RANKL 水平高于骨量正常组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);经 Spearman 秩相关分析发现,研究组的血清 IL-34 水平与 ESR、CRP、抗 CCP 抗体及 DAS28 评分等指标均呈正相关($P < 0.05$),血清 IL-34、RF 及 RANKL 水平与 BMD 呈均呈负相关($P < 0.05$)。结论 类风湿关节炎患者的血清 IL-34、RF、RANKL 水平均有明显上升,且以上指标均与 BMD 呈负相关,提示可能 IL-34 协同参与了骨质疏松的出现。

关键词:类风湿关节炎; 骨质疏松; 白细胞介素-34; 类风湿因子; 细胞核因子 κ B 受体活化因子配体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.18.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)18-2540-03

Relationship between changes of serum IL-34, RF and RANKL levels in patients with rheumatoid arthritis and osteoporosis

LIN Hongxiao, WANG Dongyan

(The First People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang, Jiangsu 222002, China)

Abstract: Objective To investigate and analyze the changes of serum interleukin-34(IL-34), rheumatoid factor(RF) and nuclear factor κ B receptor activator ligand(RANKL) in patients with rheumatoid arthritis Its relationship with osteoporosis. **Methods** A total of 40 patients suffering from rheumatoid arthritis in the hospital between January 2016 and January 2017 were included in the study group, and 40 healthy subjects who underwent the same period of physical examination at the same time were enrolled as controls. By enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) were detected in 2 groups of serum IL-34 and RANKL levels were detected by latex agglutination assay of serum RF levels in 2 groups, and routine testing in patients with bone mineral density, erythrocyte sedimentation rate(ESR), C reactive protein(CRP) and anti CCP antibody. And the modified DAS28 score of disease activity of rheumatoid arthritis evaluation. **Results** The levels of serum IL-34, RF and RANKL in the study group were significantly higher than those in the control group($P < 0.05$). The incidence of osteoporosis in the study group was significantly higher than that in the control group($P < 0.05$). The levels of IL-34, RF and RANKL in the osteoporosis patients were significantly higher than those in the normal group($P < 0.05$). The Spearman correlation analysis showed that the serum IL-34 levels were positively correlated with ESR, CRP, anti-CCP and DAS28($P < 0.05$). There was a negative correlation between serum IL-34, RF and RANKL levels and bone mineral density($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of serum IL-34, RF and RANKL in patients with rheumatoid arthritis were significantly increased, and the above indexes were negatively correlated with bone mineral density. It suggested that IL-34 may be involved in osteoporosis.

Key words: rheumatoid arthritis; osteoporosis; interleukin-34; rheumatoid factor; NF- κ B receptor activator ligand

类风湿关节炎是临床常见的自身免疫性疾病,主要特征为对称性、侵蚀性的多关节炎^[1-2]。骨质疏松是该疾病患者的常见并发症,属于骨质破损的早期表现,而随着患者的病程进展会造成进行性关节破坏,严重影响了患者的日常生活质量。因此,了解参与类风湿关节炎患者骨破坏的相关病理因素具有重要的意义。临床研究表明,细胞核因子 κ B 受体活化因子配体(RANKL)与巨噬细胞集落刺激因子(CSF-1)是调节破骨细胞分化的主要因子^[3-4]。白细胞介素-34(IL-34)属于 CSF-1 的第 2 个配体,与 CSF-1 的功能特征有许多相似之处,其也参与了巨噬细胞的分化与破骨细胞的生成。而类风湿因子(RF)则是临床常用的类风湿关节炎诊断标志物。本研究通过检测

40 例类风湿关节炎患者的血清 IL-34、RF、RANKL 水平,旨在分析以上指标与类风湿关节炎、骨质疏松间的关系,现总结报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 1 月至 2017 年 1 月本院接收的患类风湿关节炎的 40 例患者作为研究组,同时取同期于本院进行健康体检的 40 例健康人群作为对照组。研究组中包含男 13 例,女 27 例;年龄 23~77 岁,平均(50.55±27.08)岁。对照组中包含男 11 例,女 29 例;年龄 24~78 岁,平均(51.17±27.04)岁。两组以上基线资料对比,差异无统计学意义($P > 0.05$),存在可比性。

1.2 纳入及排除标准 纳入标准:(1)40 例类风湿关节炎患者均满足《类风湿关节炎诊断及治疗指南》^[5]中的相关诊断标准;(2)意识及精神状态均为正常;(3)研究对象和(或)家属均在知情同意书上签字同意。排除标准:(1)合并甲状腺、甲状旁腺疾病或严重肝肾功能受损者;(2)合并结核感染与急性感染的患者;(3)合并血液系统疾病者;(4)长时间服用抗凝剂、免疫抑制剂、雌激素、雄激素及影响骨代谢药物者;(5)不配合本研究者。

1.3 仪器与试剂 仪器选用日本 HITACHI-7060 全自动生化分析仪、SYSMEX 全自动血凝仪、芬兰 THERMO Multiskan Flash 全波长多功能酶标仪、SIGMA 高速离心机,试剂由上海捷门生物技术合作公司、上海富莼科芯生物科技股份有限公司提供。

1.4 方法

1.4.1 收集血清 于清晨,体位选平卧位,经分离胶管收集 3~5 mL 静脉血标本,放入高速离心机中行离心处理,3 000 r/min 离心 10 min,留取血清后放在-80 ℃冰箱内保存待检。

1.4.2 血清 IL-34、RANKL 检测 通过 ELISA 法对 2 组研究对象的血清 IL-34、RANKL 水平进行检测。检测步骤:(1)取出研究对象的血清与试剂盒,且放到常温;(2)样品稀释液 250 μL 加入血清 5 μL 中,混匀之后取混合液 10 μL 放到样品稀释液 200 μL 中混匀;(3)根据标准品顺序,各孔依次放入 50 μL 标准品;(4)在酶标板孔内分别放入稀释过的 50 μL 血清;(5)混匀后以封口胶密闭,常温下温育;(6)洗板后各孔分别给予 100 μL 酶标试剂置入,混匀后封板,常温下温育;(7)洗板后各孔分别加入 100 μL 显色液,混匀后,常温下温育;(8)各孔分别加入 100 μL 终止液,混匀 30 s 后终止反应,30 min 中经酶标仪进行读数。

1.4.3 血清 RF 检测 通过乳胶凝集法对 2 组研究对象的血清 RF 水平进行检测,检测步骤:(1)取出研究对象的血清与试剂盒,且放到常温;(2)生化仪中放入试剂,标本置于常温下 30 min 解冻;(3)打开生化仪,依次行开机预热、参数设置及标准品定标;(4)将待测项目输入,置入标本开始检测,检测完后记录结果。

1.4.4 临床数据收集 收集 2 组研究对象的性别、年龄、关节肿胀数、压痛数等基本资料,同时常规检测患者的 C 反应蛋白(CRP,经全自动生化分析仪进行检测)、红细胞沉降率(ESR,

经自然沉降法进行检查)及环状胬氨酸多肽抗体(CCP,经 ELISA 法进行检测)等指标水平,并通过 Hologic 双能 X 线骨密度仪测量腰椎 L₁~L₄ 及股骨颈的骨密度(BMD)值,依据 WHO 骨质疏松症(OP)诊断标准,BMD 下降≤1 个标准差(SD)正常骨量范围;(1.1~2.4)SD 即诊断为骨量减少;≥2.5 SD 为骨质疏松,≥2.5SD 同时伴有骨折为重度骨质疏松,同时经改良风湿性关节炎活动度(DAS28)评分对类风湿关节炎的疾病活动度进行评估。

1.5 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;计数资料以[n(%)]表示,以 χ^2 检验进行分析,同时通过 Spearman 秩相关分析对各指标水平与类风湿关节炎及骨质疏松的相关关系,以 *P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组血清 IL-34、RF 及 RANKL 水平及 BMD 值对比分析 研究组血清 IL-34、RF 及 RANKL 水平显著高于对照组,BMD 值显著低于对照组,且差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

2.2 两组的骨质疏松发生情况 经计算骨密度 T 值可见,研究组患者中 6 例(15.0%)骨量正常,13 例(32.50%)骨量减少,21 例(52.50%)骨质疏松;对照组中 14 例(35.0%)骨量正常,19 例(47.50%)骨量减少,7 例(17.50%)骨质疏松。研究组患者的骨质疏松发生率显著高于对照组,差异具有统计学意义($\chi^2=26.923, P=0.000$)。

2.3 类风湿关节炎不同骨量患者的血清 IL-34、RF 及 RANKL 水平对比分析 研究组中,骨质疏松患者的 IL-34 水平与骨量显著高于对照组,差异具有统计学意义(*P*<0.05);骨质疏松患者的 RF、RANKL 水平显著高于骨量正常组和骨量减少组,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

2.4 类风湿关节炎患者血清 IL-34、RF 及 RANKL 水平与临床指标的相关性分析 经 Spearman 秩相关分析发现,类风湿关节炎患者的血清 IL-34 水平与 ESR、CRP、抗 CCP 抗体水平及 DAS28 评分均呈正相关(*P*<0.05),血清 RF、RANKL 水平与 ESR、CRP、抗 CCP 抗体水平及 DAS28 评分均无明显的相关性(*P*>0.05)。类风湿关节炎患者的血清 IL-34、RF 及 RANKL 水平均与 BMD 呈负相关(*P*<0.05)。见表 3。

表 1 两组的血清 IL-34、RF 及 RANKL 等指标水平与 BMD 值对比分析($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-34(pg/mL)	RF(U/mL)	RANKL(pmol/L)	BMD
研究组	40	493.14±158.79	84.75±6.17	511.43±158.23	0.57±0.13
对照组	40	383.12±80.37	52.93±4.42	399.74±45.36	0.79±0.15
<i>t</i>		3.909	26.515	4.291	7.009
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 不同骨量患者的血清 IL-34、RF 及 RANKL 水平对比分析($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-34(pg/mL)	RF(U/mL)	RANKL(pmol/L)
骨量正常组	6	361.71±125.63	70.87±4.23	437.87±169.94
骨量减少组	13	463.25±151.29	78.26±5.11	463.21±134.97
骨质疏松组	21	550.75±166.72 ^a	92.52±5.94 ^{ab}	566.27±166.26 ^{ab}

注:与骨量正常组对比,^a*P*<0.05;与骨量减少组对比,^b*P*<0.05。

表 3 类风湿关节炎患者血清 IL-34、RF 及 RANKL 水平与临床指标的相关性分析

指标	IL-34		RF		RANKL	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
ESR	0.309	0.010	0.171	0.152	0.149	0.201
CRP	0.291	0.016	0.153	0.197	0.168	0.159
抗 CCP 抗体	0.301	0.013	0.126	0.269	0.060	0.631
DAS28 评分	0.391	0.001	0.089	0.418	0.130	0.301
BMD	-0.379	0.002	-0.381	0.001	-0.369	0.001

3 讨 论

类风湿关节炎主要是因患者的免疫功能异常导致炎症递质及因子的释放并由此引发的滑膜炎、血管炎,患者的症状包括关节疼痛、红肿及晨僵等,随着患者病情的进展还会产生骨质疏松,甚至导致关节破坏而引发关节畸形,故具有较高的致残率^[4]。目前,临床上对类风湿关节炎的致病机制依旧没有明确,杨威等^[6]学者认为,滑膜炎进展受到多种促炎炎症介质的调节,且经促破骨细胞生成及分化而参与类风关节炎患者骨质破坏的病理过程。

类风湿因子属于类风湿关节炎的标志性抗体,该疾病患者的 RF 阳性率可达 70%~80%。但其特异性相对较差,在部分结核、系统性红斑狼疮及肿瘤等自身免疫性疾病患者中均可检出,少数健康老年人群也会出现 RF 上升情况,易产生漏诊或误诊,故临床常通过联合其他指标协同诊断。何思华等^[7]研究发现,采用 RF 与抗-CCP 抗体联合检测有助于类风关节炎的早期诊断。

RANKL 为常见的肿瘤坏死因子,主要在破骨细胞及其前体细胞内表达,其与 RANKL 受体结合而使下游信号通路激活,进而对破骨细胞的生成、分化进行调节。陈林等^[8]报道表明,RANKL 在破骨细胞的生成、分化中具有重要的作用。而李丽辉等^[9]学者亦经动物实验发现,小鼠 RANKL 受体过度表达时其骨量会明显提高。本研究发现,研究组的血清 RANKL 水平与对照组相比明显更高($P<0.05$),与陈娟等^[10]学者报道一致。健康人群滑膜组织中没有 RANKL 表达,炎性反应时滑膜中巨噬细胞、成纤维细胞及活化 T 细胞内 RANKL 表达上升。

GM-CSF 能够与 RANKL 联合诱导单核细胞分化成破骨细胞,其中 GM-CSF 主要经 CSF-1R 受体发挥作用^[11]。IL-34 属于 CSF-14 配体,其与 GM-CSF 有着相似的功能,但其与 CSF-14 相结合的亲和力更高,生物效应更强。王苗苗等^[12]研究表明,伴骨质疏松的类风湿关节炎患者滑膜内的 IL-34 表达上升,且其表达水平和患者的病情有着密切联系,故笔者认为 IL-34 可能参与了类风湿关节炎患者病理进展。本研究亦发现,研究组血清 IL-34 水平与对照组相比明显更高($P<0.05$)。

陆竞秋等^[13]学者研究发现,类风湿关节炎患者的 BMD 值与健康人群相比更低,骨质疏松发生率显著升高,本研究也证实了这一点,故可见类风湿关节炎患者伴有较重的骨质破坏。黄哲敏^[14]报道表明,类风湿关节炎患者滑膜内 IL-34 和 RANKL 水平呈正相关。本研究可见,研究组中骨质疏松患者 IL-34、RF 及 RANKL 水平均较骨质正常患者明显升高,而经 Spearman 秩相关分析发现,以上指标与 BMD 值均表现为负相

关,这提示它们可能联合参与了骨质疏松的出现。综上所述,类风湿关节炎患者血清 IL-34、RF、RANKL 水平均有明显上升,且以上指标均与 BMD 值表现为负相关,提示 IL-34 可能协同参与了骨质疏松的出现。

参考文献

[1] 王越,林晓萍. 类风湿性骨病与牙周炎的病因机制相关性研究进展[J]. 口腔医学,2015,35(3):229-233.

[2] 李怡然,周艳艳,黄昊,等. 基于 SNP 互作识别类风湿性关节炎的潜在致病基因[J]. 哈尔滨医科大学学报,2015,49(3):196-199.

[3] Kauther MD,Neuerburg C,Wefelnberg F,et al. RANKL-associated suppression of particle-induced osteolysis in an aged model of Calcitonin and α -CGRP deficiency[J]. Biomaterials,2013,34(12):2911-2919.

[4] Yanagawa N,Sakai F,Takemura T,et al. Pulmonary cryptococcosis in rheumatoid arthritis (RA) patients: Comparison of imaging characteristics among RA, acquired immunodeficiency syndrome, and immunocompetent patients[J]. Eur J Radiol,2013,82(11):2035-2042.

[5] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志,2010,14(4):265-270.

[6] 杨威,康武林,袁普卫,等. 滑膜炎在骨关节炎发病机制中作用的研究进展[J]. 中国康复理论与实践,2015,21(5):530-533.

[7] 何思华,陈明舜,卢绍佳,等. 抗环瓜氨酸抗体和类风湿因子联合测定在 61 例类风湿关节炎诊断的临床应用[J]. 检验医学与临床,2014,11(2):217-219.

[8] 陈林,李立新,黄卓春,等. 类风湿性关节炎患者外周血 T 细胞 RANKL 增加且血清 Dickkopf1 降低[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2016,32(3):373-377.

[9] 李丽辉,杨杰,董洁琼,等. 运动对去卵巢骨质疏松大鼠 OPG、RANKL 表达的影响[J]. 中国运动医学杂志,2013,32(11):991-996.

[10] 陈娟,郑卫东. 抗环瓜氨酸肽抗体与类风湿因子联合检测在类风湿性关节炎中的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(5):626-627.

[11] 汤荣华,黄建军. 类风湿性关节炎患者血清 GM-CSF、IL-6、IL-17 和 TNF- α 的水平测定及临床意义[J]. 检验医学,2013,28(3):173-177.

[12] 王苗苗,王冰,马梓健,等. 白细胞介素-34 对类风湿关节炎患者滑膜成纤维细胞增殖及趋化因子表达的影响[J]. 中华风湿病学杂志,2016,20(4):220-223.

[13] 陆竞秋,张林杰,徐胜前. 类风湿关节炎患者的骨质疏松及其相关影响因素[J]. 临床军医杂志,2008,36(4):499-501.

[14] 黄哲敏. 类风湿关节炎患者血清 IL-34 和 RANKL 水平变化及与骨质疏松的关系[D]. 太原:山西医科大学,2015.