

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.11.021

❖ 临床研究 ❖

类风湿关节炎患者血清 25-羟维生素 D、RANKL 表达水平及其与骨密度、炎症因子表达的相关性

张南廷¹, 李丽², 吴记平²

(南方医科大学第十附属医院·东莞市人民医院, 1. 检验科; 2. 风湿免疫科, 广东 东莞 523000)

【摘要】目的: 探讨类风湿关节炎(RA)患者血清 25-羟维生素 D[25(OH)D]、核因子 κ B 受体活化因子配体(RANKL)表达水平及其与骨密度、炎症因子表达的相关性。**方法:** 选取中高活动度 RA 患者为病例组($n=120$);另选取同期体检的健康人群作为对照组($n=120$)。比较两组骨密度及血清 25(OH)D、RANKL、炎症因子水平。采用 Pearson 相关分析 25(OH)D、RANKL 与骨密度、炎症因子表达的相关性。**结果:** 病例组血清 25(OH)D 低于对照组、RANKL 高于对照组($P<0.05$)。病例组股骨颈、总髌关节及全部腰椎骨密度值均低于对照组($P<0.05$)。病例组血清 TNF- α 、IL-8、IL-17 水平均高于对照组($P<0.05$)。病例组患者血清 25(OH)D 与股骨颈骨密度、总髌关节骨密度及全部腰椎骨密度呈正相关($r=0.374, 0.188, 0.347, P<0.05$),与血清 TNF- α 、IL-8、IL-17 表达水平呈负相关($r=-0.373, -0.500, -0.352, P<0.05$)。病例组患者血清 RANKL 与股骨颈骨密度、总髌关节骨密度及全部腰椎骨密度呈负相关($r=-0.245, -0.247, -0.416, P<0.05$),与 IL-17 呈正相关($r=0.282, P<0.05$),与 TNF- α 、IL-8 无明显相关性($r=0.047, 0.099, P>0.05$)。**结论:** 中高活动度 RA 患者血清 25(OH)D 水平降低、RANKL 水平升高,且二者与患者骨密度、血清炎症因子水平具有一定相关性。

【关键词】 类风湿关节炎;25-羟维生素 D;核因子 κ B 受体活化因子配体;骨密度;炎症因子

【中图分类号】 R593.22 **【文献标志码】** A

Expression level of 25 hydroxyvitamin D and RANKL in serum of patients with Rheumatoid arthritis and their correlation with bone mineral density and expression of inflammatory factors

ZHANG Nan-ting¹, LI Li², WU Ji-ping²

(1. Department of Laboratory; 2. Department of Rheumatology and Immunology, Dongguan People's Hospital, the Tenth Affiliated Hospital of Southern Medical University, Dongguan 523000, Guangdong, China)

【Abstract】Objective: To investigate the expression level of serum 25 hydroxyvitamin D [25(OH)D] and Nuclear factor kappa B receptor activating factor ligand (RANKL) in patients with Rheumatoid arthritis (RA) and their correlation with bone density and inflammatory factor expression. **Methods:** 120 patients with moderate to high activity RA were selected as the case group, and 120 healthy people who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. The bone density, serum 25(OH)D, RANKL, and inflammatory factor levels were compared between the two groups. Pearson correlation analysis was used to investigate the correlation between 25(OH)D, RANKL, bone density, and inflammatory factor expression. **Results:** The serum 25(OH)D in the case group was lower than that in the control group, and RANKL was higher than that in the control group ($P<0.05$). The bone density values of the femoral neck, total hip joint, and all lumbar vertebrae in the case group were lower than those in the control group ($P<0.05$). Serum TNF- α , IL-8 and IL-17 in the case group were higher than those in the control group ($P<0.05$). Serum 25(OH)D was positively correlated with bone mineral density of femoral neck, total hip Articular bone and all lumbar vertebrae ($r=0.374, 0.188, 0.347, P<0.05$), and the expression levels of TNF- α , IL-8 and IL-17 were negatively correlated ($r=-0.373, -0.500, -0.352, P<0.05$). In the case group, serum RANKL was negatively correlated with bone mineral density of femoral neck, total hip Articular bone and all lumbar vertebrae ($r=-0.245, -0.247, -0.416, P<0.05$), positively correlated with IL-17 ($r=0.282, P<0.05$), and it was no significant correlation with TNF- α , IL-8 ($r=0.047, 0.099, P>0.05$). **Conclusion:** Moderate to high activity RA patients have a decrease in serum 25(OH)D levels and an increase in RANKL levels, which are correlated with bone density and serum inflammatory factor levels.

【Key words】 Rheumatoid arthritis; 25(OH)D; RANKL; Bone density; Inflammatory factors

基金项目: 2020 年东莞市社会发展项目(202050715001528)

作者简介: 张南廷(1982-),男,主管技师。E-mail:13580990677@163.com

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性自身免疫性疾病,以关节炎和关节破坏为主要特征,严重影响患者的健康及生活质量^[1]。RA的发病机制尚未完全明确,研究^[2]表明其与遗传、环境、免疫和内分泌等多种因素相关。近年来,越来越多的研究^[3]发现,维生素 D 在 RA 的发生发展中扮演重要角色。血清 25-羟维生素 D [25-hydroxyvitamin d, 25(OH)D] 在体内的半衰期较长,被认为是评估人体的维生素 D 水平的最主要指标。低水平的血清 25(OH)D 已被证实^[4-5]与骨质疏松症、骨折、肌肉虚弱及 RA 等自身免疫性疾病密切相关。核因子 κ B 受体活化因子配体(RANKL)是一种存在于骨骼和免疫系统中的蛋白质,其过度表达会导致骨质疏松和骨质破坏^[6]。骨密度是衡量骨骼健康的方式之一,测定 RA 患者骨密度的变化有利于预测全身骨质疏松与局部关节畸形的发生风险^[7]。炎性因子是 RA 发生过程中的关键介质,参与关节炎症反应和关节破坏^[8]。目前,虽然 RA 患者血清 25(OH)D、RANKL 表达水平的相关研究已见报道,但其与骨密度、炎性因子之间关联性的研究较少。基于此,本研究旨在分析中高活动度 RA 患者血清 25(OH)D、RANKL 表达水平与骨密度、炎性因子表达的相关性,以探究其在 RA 发生发展中的病理机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 6 月至 2021 年 12 月于南方医科大学第十附属医院收治的 120 例中高活动度 RA 患者为研究对象作为病例组;另选取同期入院体检的 120 名健康人群为对照组。纳入标准:(1)符合 2010 年美国风湿病学会制定的 RA 诊断标准^[9],疾病活动度为中高活动度,即 28 个关节活动评分(DAS28) > 3.2 分;(2)近 6 个月内未接受过维生素 D 相关制剂治疗;(3)近 6 个月内未应用过可能影响骨代谢的药物;(4)临床资料完整。排除标准:(1)心、肝、肾等重要脏器功能受损者;(2)合并中枢神经系统疾病史、恶性肿瘤者;(3)合并精神类疾病或沟通障碍者;(4)合并感染性疾病、其他自身免疫性疾病者;(5)其他类型的关节炎患者。对照组中男性 24 例,女性 96 例,年龄(48.32 ± 10.58)岁,体质指数(BMI)(21.39 ± 1.68) kg/m²;病例组中男性 22 例、女性 98 例;年龄(48.46 ± 10.39)岁, BMI(21.11 ± 1.65) kg/m²。两组性别、年龄、BMI 比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准,患者自愿参加试验并签署知情同意书。

1.2 方法

(1)血清 25(OH)D、RANKL 表达水平检测:采用化学发光(CLIA)法测定血清 25(OH)D 水平;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清 RANKL 表达水平,CLIA 试剂盒购自美国雅培公司,ELISA 试剂盒购自上海科培瑞生物科技有限公司。(2)骨密度测定:采用双能 X 射线骨密度仪 Prodigy(美国 GE)测定患者股骨颈、总髌关节及全部腰椎骨密度值。(3)血清炎性因子水平测定:采用 ELISA 法测定血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 8(IL-8)、IL-17 水平,ELISA 试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司。

1.3 统计学分析

采用 SPSS27.0 统计软件进行数据处理与分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以[$n(\%)$]表示,组间比较采用独立样本 χ^2 检验。25(OH)D、RANKL 与骨密度、炎性因子表达的相关性采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组研究对象血清 25(OH)D、RANKL 表达水平比较

病例组血清 25(OH)D 水平低于对照组, RANKL 高于对照组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组血清 25(OH)D、RANKL 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	25(OH)D(ng/mL)	RANKL(μ g/L)
病例组($n = 120$)	23.01 ± 1.84	0.12 ± 0.02
对照组($n = 120$)	34.26 ± 3.78	0.08 ± 0.01
t 值	29.314	13.132
P 值	<0.001	<0.001

2.2 两组研究对象骨密度值比较

病例组股骨颈、总髌关节及全部腰椎骨密度值均低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组研究对象骨密度值比较($\bar{x} \pm s, g/cm^2$)

组别	股骨颈骨密度	总髌关节骨密度	全部腰椎骨密度
病例组($n = 120$)	0.77 ± 0.11	0.86 ± 0.10	0.90 ± 0.11
对照组($n = 120$)	0.82 ± 0.08	0.96 ± 0.09	0.93 ± 0.10
t 值	4.001	7.942	2.764
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 两组研究对象炎性因子水平比较

病例组血清 TNF- α 、IL-8、IL-17 水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组研究对象血清 TNF- α 、IL-8、IL-17 水平表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	TNF- α	IL-8	IL-17
病例组 ($n=120$)	41.07 \pm 6.07	144.36 \pm 41.22	88.71 \pm 11.9
对照组 ($n=120$)	21.55 \pm 5.48	31.88 \pm 10.36	15.78 \pm 2.39
t 值	26.149	28.988	65.834
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 病例组血清 25(OH)D 与骨密度、炎症因子表达水平的相关性分析

病例组患者血清 25(OH)D 与股骨颈骨密度、总髌关节骨密度及全部腰椎骨密度呈正相关 ($r = 0.374, 0.188, 0.347, P < 0.05$), 与血清 TNF- α 、IL-8、IL-17 表达水平呈负相关 ($r = -0.373, -0.500, -0.352, P < 0.05$)。见图 1。

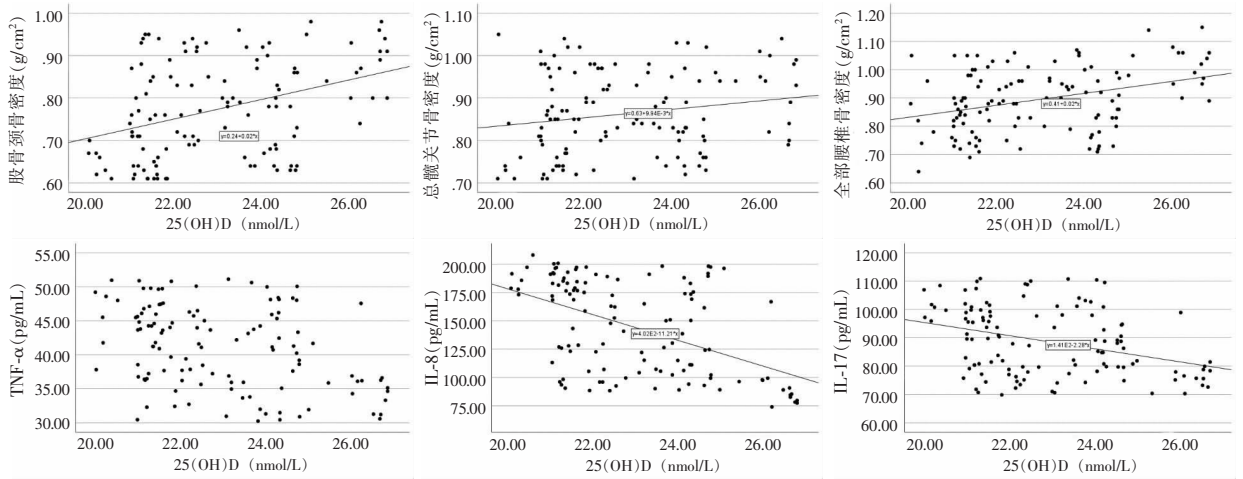


图 1 病例组血清 25(OH)D 与骨密度、炎症因子表达水平的相关性分析

2.5 病例组血清 RANKL 与骨密度、炎症因子表达水平的相关性分析

病例组患者血清 RANKL 与股骨颈骨密度、总髌关节骨密度及全部腰椎骨密度呈负相关 ($r = -$

$0.245, -0.247, -0.416, P < 0.05$), 与 IL-17 呈正相关 ($r = 0.282, P < 0.05$), 与 TNF- α 、IL-8 无明显相关性 ($r = 0.047, 0.099, P > 0.05$)。见图 2。

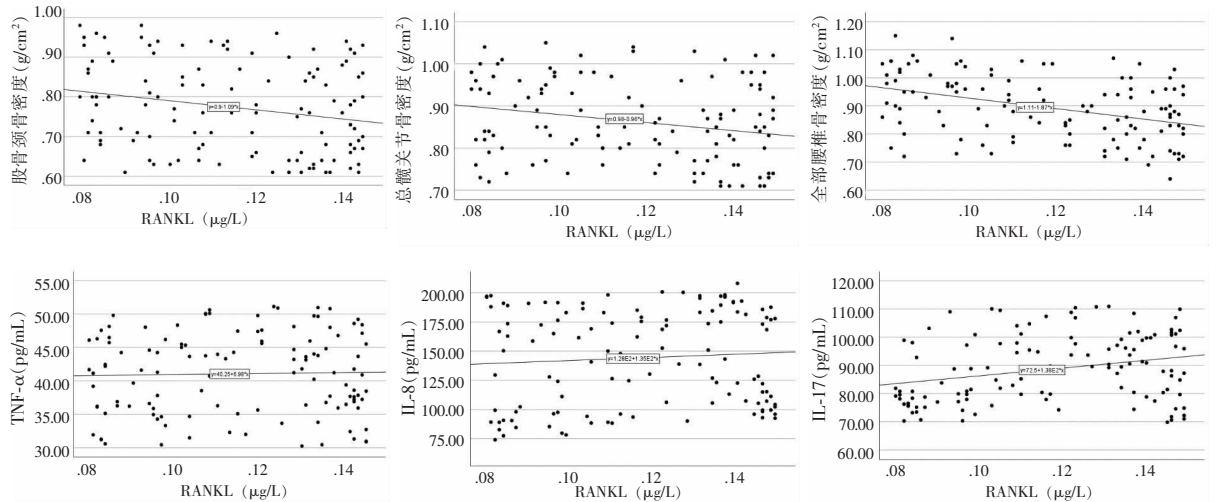


图 2 病例组血清 RANKL 与骨密度、炎症因子表达水平的相关性分析

3 讨论

Bellan 等^[10]、Harrison 等^[11]均发现, RA 患者多伴有维生素 D 缺乏, 且这种缺乏不但影响骨骼发展, 还会影响机体免疫功能。RANKL 作为介导成骨与骨重建的关键细胞因子, 参与多种生物学效应, 并

可能诱导骨质疏松症等骨相关疾病的发生。Tanaka 等^[12]发现, 以 RANKL 为靶点的药物在治疗 RA 时效果显著。Lv 等^[13]也指出, 抗 RANKL 单克隆抗体能对于 RA 大鼠的治疗具有积极作用。骨密度值是反映骨骼强度的重要指标, RA 患者通常伴有骨质疏松, 且治疗 RA 的药物可导致骨密度进一步下降。

Ketabforoush 等^[14]研究指出,RA 患者患有骨质疏松症的风险高于健康人群,且 Hsu 等^[15]进一步研究发现,中、重度 RA 患者的骨质流失情况更为严重。促炎因子的过度产生也是导致 RA 患者关节滑膜增生、血管新生和骨骼侵蚀的关键因素。Gremese 等^[16]以 RA 患者为研究对象,发现高水平的 IL-8、IL-17 会促进滑膜、肌腱、关节外部位、血管及肺部免疫细胞和基质细胞的有害激活。本研究中,病例组血清 25(OH)D 低于对照组、RANKL 高于对照组,腰椎、股骨颈、全髋骨密度值均低于对照组,TNF- α 、IL-8、IL-17 水平均高于对照组,再次证实上述结论。

本研究发现,中高活动度 RA 患者血清 25(OH)D 与骨密度正相关,与 TNF- α 、IL-8、IL-17 负相关。分析原因可能如下:RA 患者维生素 D 水平降低,影响钙、磷等矿物质吸收,从而导致骨密度降低;此外,维生素 D 可以通过维生素 D 受体影响免疫细胞的分化和活性,抑制 TNF- α 、IL-8、IL-17 等细胞因子的生成。Khademi 等^[17]指出代谢失调患者体内维生素 D 与 TNF- α 水平负相关。本研究中,中高活动度 RA 患者血清 RANKL 与骨密度负相关,与 IL-17 正相关,与 TNF- α 、IL-8 无相关性。Yokota 等^[18]研究发现,RA 患者血清 RANKL 与骨密度呈负相关。李秀娟等^[19]指出,RA 患者血清 IL-17 水平与 RANKL 呈正相关。张旭飞等^[20]以 RA 患者为研究对象,发现其血浆 RANKL 与 TNF- α 、IL-8 之间无明显相关性。但与 Marahleh 等^[21]研究不同,该研究发现,与 TNF- α 共同培养的骨细胞 RANKL mRNA 表达水平升高,并推测 TNF- α 与骨细胞 RANKL 的表达密切相关。

综上,中高活动度 RA 患者血清 25(OH)D 水平降低、RANKL 水平升高,且二者与患者骨密度、血清炎性因子水平具有一定相关性。

参考文献

- [1] 冯贺龙,张福利. 分清走泄方作用于 NLRP3 炎症小体改善类风湿性关节炎的机制研究[J]. 川北医学院学报,2023,38(3): 294-298.
- [2] 陈雪猛,王勇,吴维. 基于网络药理学分析桂枝治疗类风湿关节炎的作用机制[J]. 中南医学科学杂志,2023,51(1): 45-48.
- [3] Cai B, Zhou M, Xiao Q, et al. L-shaped association between serum 25-hydroxyvitamin D and all-cause mortality of individuals with rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology*,2023,62(2):575-582.
- [4] Charoenngam N. Vitamin D and rheumatic diseases: a review of clinical evidence[J]. *International Journal of Molecular Sciences*,2021,22(19):10659.
- [5] 张旺,茹金玲,相明飞. NLR、维生素 D 水平在类风湿关节炎的诊断价值及与疾病活动度的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂

- 志,2023,15(4):622-625.
- [6] 张超,李强强,王雄,等. 异甘草素抑制 RANKL/RANK/TRAF6 信号通路对骨质疏松大鼠成骨细胞分化的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*,2023,29(4):488-492,508.
- [7] 冯宇翔,邵丰,汪梅姣,等. 类风湿性关节炎住院患者疼痛评分骨密度与临床指标相关性研究[J]. *浙江临床医学*,2020,22(10):1420-1421.
- [8] 芦燕,刘敏,梁照华. 健脾补肾强督壮骨法针刺治疗 RA 患者的效果及其对膝关节疼痛、活动功能及炎性因子水平的影响[J]. *华夏医学*,2022,35(2):6-10.
- [9] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative[J]. *Arthritis & Rheumatism*,2010,62(9):2569-2581.
- [10] Bellan M, Sainaghi PP, Pirisi M. Role of vitamin D in rheumatoid arthritis[M]//Ahmad S. *Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment*. Cham: Springer,2017:155-168.
- [11] Harrison SR, Li D, Jeffery LE, et al. Vitamin D, autoimmune disease and rheumatoid arthritis[J]. *Calcified Tissue International*,2020,106(1):58-75.
- [12] Tanaka S, Tanaka Y. RANKL as a therapeutic target of rheumatoid arthritis[J]. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*,2021,39(1):106-112.
- [13] Lv D, Zhao X. Evaluation of the anti-RANKL monoclonal antibody in rheumatoid arthritis rats[J]. *Archives of Rheumatology*,2022,38(1):22-31.
- [14] Ketabforoush AHME, Aleahmad M, Qorbani M, et al. Bone mineral density status in patients with recent-onset rheumatoid arthritis[J]. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*,2023,22(1):775-785.
- [15] Hsu CY, Chen JF, Su YJ, et al. Time-averaged disease activity of rheumatoid arthritis associated with long-term bone mineral density changes[J]. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*,2020,11:2040622320981517.
- [16] Gremese E, Tolusso B, Bruno D, et al. The forgotten key players in rheumatoid arthritis: IL-8 and IL-17-Unmet needs and therapeutic perspectives[J]. *Frontiers in Medicine*,2023,10:956127.
- [17] Khademi Z, Hamed-Shahraki S, Amirhizi F. Vitamin D insufficiency is associated with inflammation and deregulation of adipokines in patients with metabolic syndrome[J]. *BMC Endocrine Disorders*,2022,22(1):223.
- [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 & Rheumatology*,2021,73(7):1145-1154.
- [19] 李秀娟,黄胜起,王阿妮,等. 白细胞介素-17 与细胞核因子- κ B 受体活化因子配体在强直性脊柱炎患者血清中表达的研究[J]. *中华风湿病学杂志*,2013,17(11):769-771.
- [20] 张旭飞. 类风湿关节炎血瘀证与血浆凝血因子 XⅢ 的相关性研究[D]. 承德:承德医学院,2018.
- [21] Marahleh A, Kitaura H, Ohori F, et al. TNF- α directly enhances osteocyte RANKL expression and promotes osteoclast formation[J]. *Frontiers in Immunology*,2019,10:2925.

(收稿日期:2023-06-08

修回日期:2023-07-02)