

· 综述 ·

强直性脊柱炎炎症骨破坏和病理性骨化的信号转导机制

宋颖钰 崔阳 张晓

广东省人民医院(广东省医学科学院)风湿免疫科,广州 510080

中图分类号: R593.23 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 09-1132-06

摘要: 炎症骨破坏和病理性骨化是强直性脊柱炎的特征性病理表现,有多种细胞因子和信号通路参与其中。目前,肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素是最广为人知的参与炎症破坏的细胞因子,与此同时,伴随着越来越多新的生物学标志物的出现,Wnt/ β -catenin 信号通路、BMP/TGF- β 信号通路等在 AS 骨化中的作用也日益受到重视。细胞因子介导的炎症与病理性骨化信号通路之间关系的研究,可能从分子水平上揭示强直性脊柱炎从炎症到骨化过程的机制,并为 TNF 抑制剂的长期临床应用提供依据。

关键词: 强直性脊柱炎;TNF- α ;白细胞介素;Wnt/ β -catenin 信号通路;BMP/TGF- β 信号通路;生物学标志物

The mechanism of signal transduction of inflammatory cytokines and pathological bone formation in ankylosing spondylitis

SONG Yingyu, CUI Yang, ZHANG Xiao

Department of Rheumatology, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: CUI Yang, Email: cuiyang2003@medmail.com.cn

Abstract: The pathological features of ankylosing spondylitis (AS) include inflammatory bone destruction and ectopic bone formation. Variety of cytokines and signaling pathways are involved in these two processes. At present, tumor necrosis factor- α and interleukins are most well-known inflammatory cytokines which lead to bone damage. Meanwhile, appearing of many new biomarkers, such as Wnt/ β -catenin signaling pathway and BMP/TGF- β signaling pathway, are attracting more and more attention. The study of the relationship between cytokines and signal pathways may reveal the mechanism of inflammation and pathological ossification in AS, which provides the evidence for the long-term use of anti-TNF drugs.

Key words: ankylosing spondylitis; TNF- α ; Interleukins; Wnt/ β -catenin signaling pathway; BMP/TGF- β signaling pathway; Biomarkers

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是一种可严重影响骨平衡过程的炎症性关节疾病,在早期,患者主要表现为炎症骨破坏,但随着疾病进展,患者可同时出现炎症骨破坏和异位骨形成。目前,肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)是研究最广泛的导致骨破坏的炎症因子,TNF 抑制剂是 AS 治疗新的里程碑,但是约有 30% 的患者接受 TNF 抑制剂后无效或出现副作用^[1],因此 TNF- α 之外的其它导致骨破坏的炎症因子正在成为 AS 治疗的潜在靶点。更为关键的是,临床研究发现基线期炎症和韧带骨赘可以预测 AS 新发骨形成,但炎症和病理性骨化之间的关系仍未知,甚至有研究提出

TNF 抑制剂治疗的患者可能加速病情进展^[2],治疗效果是否取决于“治疗时间窗”仍悬而未决。有多种蛋白成分参与 AS 的骨破坏和病理性骨化过程,如 TNF- α 、IL-23/IL-17、IL-6 等主要通过炎症改变导致骨破坏,而 Wnt 蛋白、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)介导的信号通路主要参与异位骨形成,与此同时,还有越来越多新的生物学标志物,如血管内皮生长因子(vessel endothelium growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、生长分化因子 15(Growth Differentiation Factor 15, GDF-15)、胎球蛋白 A(Fetuin-A)和抗酒石酸酸性磷酸酶 5(Tartrate Resistant Acid Phosphatase 5, TRAP-5)等出现。本文主要针对上述参与 AS 炎症骨破坏和病理性骨化改变的相关蛋白及其信号转导进行综述。

1 细胞因子与生物学标志物

1.1 TNF- α

TNF- α 先是以膜型 TNF- α 产生,接着被 TACE 酶剪切为可溶性 TNF- α ^[3],两种类型的 TNF 配体都具有活性,它们可与细胞膜上的 TNFR1、TNFR2 受体结合后激活下游信号(见图 1)。TNFR1 主要介导与组织损伤相关的促炎症性细胞死亡和细胞凋亡通路,而 TNFR2 通过 NF- κ B、AP-1 和 MAPKs 信号通路介导组织修复和血管生成^[4]。

骨的重塑是导致 AS 异位骨形成的关键,它受到多种因素影响,包括机械损伤、血清电解质水平、破骨细胞、成骨细胞和骨细胞等。成骨细胞和破骨细胞的数目、活性又由激素、细胞因子、局部机械刺激产生的信号分子等决定,其中,TNF- α 具有重要的作用。TNF- α 可以通过阻断 IGF-1、osterix、Runx2 来抑制成骨细胞的分化^[5]。TNF- α 可以诱导骨细胞凋亡^[6],并增强 RANK 诱导的破骨细胞生成和活性,刺激破骨细胞分化^[7],促进骨吸收。在 TNF- α 转基因小鼠内,TNF- α 可通过泛素蛋白连接酶 Wwp1 抑制 MSC 向成骨细胞分化^[8]。334 例 AS 患者接受 TNF- α 抑制剂治疗后,可降低 50% 的放射学进展风险^[9]。因此,传统上都认为 TNF- α 促进破骨、抑制成骨。但最近的研究结果表明,TNF 也可以激活成骨细胞生成,推测可能与 TNF- α 的浓度、细胞的分化状态以及暴露时间相关^[8]。虽然 AS 患者棘间韧带的 TNF- α mRNA 水平升高,但是 AS 患者的关节突关节活检标本中骨细胞的死亡比率低^[10]。因此,TNF- α 在复杂的内环境影响下,对骨稳态的影响会发生改变。

1.2 白细胞介素

IL-23/IL-17 轴可以诱导 TNF- α 的产生,增强关节的破坏,或者直接刺激破骨细胞分化。最近的研究^[11]提示小鼠中过度表达的 IL-23 可以通过作用于 T 细胞,导致中轴和外周关节附着点炎,新骨形成。Chen WS 等^[12]在汉族 AS 患者血清中 IL-23 和 IL-17 的水平都升高,并且与患者的 BASDAI 评分相关。AS 患者接受 TNF 抑制剂治疗后,TNF- α 、IL-23、IL-17 的水平都显著降低,而治疗无效的患者,IL-23 和 IL-17 却显著升高^[13]。但是,有的研究^[14]却发现 IL-17 和 IL-23 与临床和实验室指标不相关,并且在活动性和非活动性 AS 患者之间无差异。Ciccia 等^[15]在 15 例 AS 患者的肠镜活检组织内发现 IL-23 过表达,认为是 IL-23,而不是 IL-17 在 AS 的亚临床

肠炎中发挥关键作用。近日,抗 IL-17A 单克隆抗体 secukinumab 已经被证实对强直性脊柱炎治疗安全有效^[16]。所以,IL-17 对 AS 的致病作用越来越受到重视,而 IL-23 在肠道局部的作用还需要进一步研究。

IL-6 被认为是 TNF- α 的下游信号通路,在体外,IL-6/sIL-6R 通过依赖 STAT3 的途径导致异位钙化范围扩大,甚至与 TNF- α 、IL-1 相比较,它刺激成骨标志物表达的能力更强^[17]。AS 患者的血清 IL-6 水平升高^[18],而且骶髂关节免疫组化染色也发现 IL-6 过表达^[19],但抗 IL-6 的单抗在 AS 患者的临床试验中并未被证实有效^[20],这与体外试验的研究结果不一致。我们先前的研究^[21]发现使用 TNF- α 抑制剂后,AS 患者骶髂关节 IL-6 水平并没有明显改变。所以,IL-6 在体内环境可能受到了负反馈调节,让它的致炎效应显得不那么重要。

1.3 新的生物学标志物

抗酒石酸酸性磷酸酶 5 (TRAP-5) 是广泛存在于骨和免疫系统的分子,它被认为是破骨细胞的组织学标志物^[22]。有研究发现 RA 患者的 TRAP5b 与局部骨破坏密切相关,可作为骨破坏及骨代谢失衡的评价指标^[23],但是 AS 患者的 TRAP-5 水平与对照组无差异^[24],所以,需要更多的临床实验研究 TRAP-5 在 AS 的作用。

GDF15 又称巨噬细胞抑制因子-1 (macrophage inhibitory cytokine 1, MIC-1) 属于 TGF- β 超家族,它与炎症反应密切相关,在巨噬细胞, TNF- α 、IL-1、TGF- β 可快速诱导 GDF-15 的表达,并抑制巨噬细胞的活化和炎症反应^[25]。在缺氧条件下,骨细胞分泌的 GDF-15 可以促进破骨细胞分化过程。Brown DA 等^[26]发现 83 例 RA 患者的血清 GDF15 水平升高,并且可以反应疾病严重度。Lambrecht S 等^[27]进一步比较了 37 例 RA、63 例 SpA 和 17 例 OA 患者的 GDF15 水平,发现 SpA 患者血清中的 GDF15 明显低于 RA 患者,SpA 患者滑液中的 GDF15 却明显升高,因此他们认为滑膜关节局部产生了 GDF15,并且可作为炎性关节疾病新的诊断标志。GDF15 主要与炎性骨破坏相关,它在 AS 病理性骨化中的作用仍待探究。

胎球蛋白 A (Fetuin-A) 是半胱氨酸蛋白酶抑制剂家族的一员,它在骨组织内表达,与磷酸钙矿物质具有高亲和力。在骨组织内,胎球蛋白可能促进骨的矿化,它是 I 型胶原纤维的钙化的必要条件^[28]。无胎球蛋白 A 的小鼠的软骨分化和生长板组织受

损,使得长骨的生长缓慢。有研究发现,有韧带骨赘的 AS 患者血清胎球蛋白 A 水平较无韧带骨赘形成的患者、健康对照组都明显升高,而无韧带骨赘患者的胎球蛋白-A 与正常人没有差异,这提示胎球蛋白-A 可能在 AS 的病理性骨化中发挥作用^[29]。Demetriou 等^[30]发现胎球蛋白 A 可直接与 TGF- β 和 BMP 结合,从而阻断它们与 T β RII 受体胞外段的结合。因此,胎球蛋白 A 可能通过调节 TGF- β 或 BMP 信号通路参与骨的重塑过程。

基质金属蛋白酶主要是降解细胞外基质的酶类,目前研究认为包括 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9 四种基质金属蛋白酶与 AS 相关。通过免疫组化发现,在 AS 患者的标本内,贴附于骨的单核细胞表达 MMP-1^[31]。MMP-2/9 可以作用于 V 型胶原蛋白后产生片段 C5M,AS 患者的 C5M 水平较对照组明显升高,诊断的 ROC 曲线下面积可达 83%,证明 MMP-2/9 介导的 V 型胶原降解物可能用于 AS 的诊断^[32]。大量研究证实 AS 患者的 MMP-3 水平升高,且与 AS 的疾病活动度相关,AS 患者应用 TNF- α 抑制剂治疗后,MMP-3 可通过减少 TNF-TNFR2-JNK-AP-1 信号通路的致炎因子释放来缓解疾病炎症、减少骨质破坏^[33]。但是 Ribbens C 等^[34]研究发现 MMP-3 主要与滑膜炎相关,而 AS 患者的血清 MMP-3 水平正常。所以,尽管 MMP-3 与关节炎相关,但 AS 患者还存在各种促进骨质增生的因素,后者可能会调节 MMP-3 的水平。

VEGF 作为血管诱导因子,它可以直接或间接作用于成骨细胞,激活成骨细胞并促进其成骨作用。AS 患者的 VEGF 水平升高,接受 TNF 抑制剂治疗后,VEGF 水平可显著下降^[35]。AS 患者的棘上韧带中 VEGF 的 mRNA 表达升高^[36],Sieper J 等报道基线有韧带骨赘形成的中轴型脊柱关节病患者 VEGF 水平更高,因此 VEGF 可能成为预测放射学进展的因子^[37]。

2 信号通路

2.1 Wnt/ β -catenin 信号通路

Wnt/ β -catenin 信号通路是强直性脊柱炎细胞信号通路中最经典、最重要的信号通路。它既促进骨形成,还增加 OPG 水平来抑制骨吸收。传统上,Wnt 蛋白被分为经典 Wnt 蛋白(包括 Wnt1, Wnt3a, Wnt8, Wnt10b)和非经典 Wnt 蛋白(包括 Wnt4, Wnt5A, Wnt11)。经典的 Wnt/ β -catenin 通路,Wnt 蛋白与细胞表面受体 Frizzled 蛋白结合后可激活细

胞内一系列反应^[38]。非经典 Wnt 信号通路多种多样,包括平面细胞极性通路, Wnt-RAP1 信号通路, Wnt-Ror2 信号通路, Wnt-PKA 通路, Wnt-GSK3MT 通路, Wnt-aPKC 通路, Wnt-RYK 通路, Wnt-mTOR 通路以及 Wnt/ Ca^{2+} 通路^[39]。目前非经典的 Wnt 通路在骨代谢中作用的研究更受到人们关注,但这种分类方法并不是基于 WNT 蛋白的结构进行划分的。WNT 通路活性可能受到细胞内环境的影响,非经典的 Wnt5a、WNT11 蛋白也可以激活经典信号通路^[40]。WNT 蛋白有多种抑制剂,包括 sFRP, Dkk, WIF, Wise/SOST, Cerberus, IGFBP, Shisa, Waif1, APCDD1, and Tiki1^[40],研究最多的是 DKK-1 和 sclerostin(SOST)。DKK-1 作为骨重塑的重要调节因子^[41],它与低密度脂蛋白相关受体 5/6 结合后可诱导细胞内吞,阻断 Wnt 的信号传递,同时它还可以抑制 OPG 来促进骨吸收。AS 患者的 DKK-1、sclerostin 的水平都明显低于健康对照组,而且低水平的 sclerostin 与新发韧带骨赘的形成相关^[10]。Dimitrios D 等^[42]的研究发现 AS 患者 DKK-1 水平虽然升高,但存在功能缺陷。最近 Yucong Z^[43]等又检测 84 名 AS 患者的血清,发现总 DKK-1 水平与正常人无差别,但功能性 DKK-1 降低,并且与改良的纽约分级标准和 mSASSS 系统评分明显相关。具有机械感应功能的骨细胞也可以调节 WNT 蛋白的表达,降低 DKK-1 和 sclerostin 水平,对骨形成产生刺激作用^[44, 45]。

2.2 BMP/TGF- β 信号通路

骨形态发生蛋白(BMP)又称为转化生长因子蛋白酶,是 TGF- β (转化生长因子, transforming growth factor- β)超家族中的重要成员,主要位于骨髓基质细胞、骨膜细胞和骨细胞内。BMP 与其受体结合后,通过激活 co-Smad 信号蛋白并结合辅助因子复合物进入细胞核,调节靶基因的表达,它可以促进成骨细胞分化,诱导间充质细胞、纤维细胞转化为骨系细胞。在成骨细胞,TNF- α 信号可以通过增加 Smurf1/2 蛋白,后者抑制 BMP 信号通路的 Smads 蛋白表达,从而抑制 BMP2 通路^[46]。在骨形成早期,BMP-2 不仅可使未分化的间质细胞向骨形成中心聚集,并分化成骨系细胞,而且可使成纤维细胞、成肌细胞及骨髓的基细胞逆转分化为骨系细胞^[47]。AS 患者体内 BMP-2 的水平增加,并且与影像学改变相关^[35]。AS 在症状出现之前或刚出现的时候,通过基因转染 noggin 蛋白抑制 BMP 后,可以有效避免关节炎和强直的出现^[48]。因此 TNF- α 抑制 BMP 后,

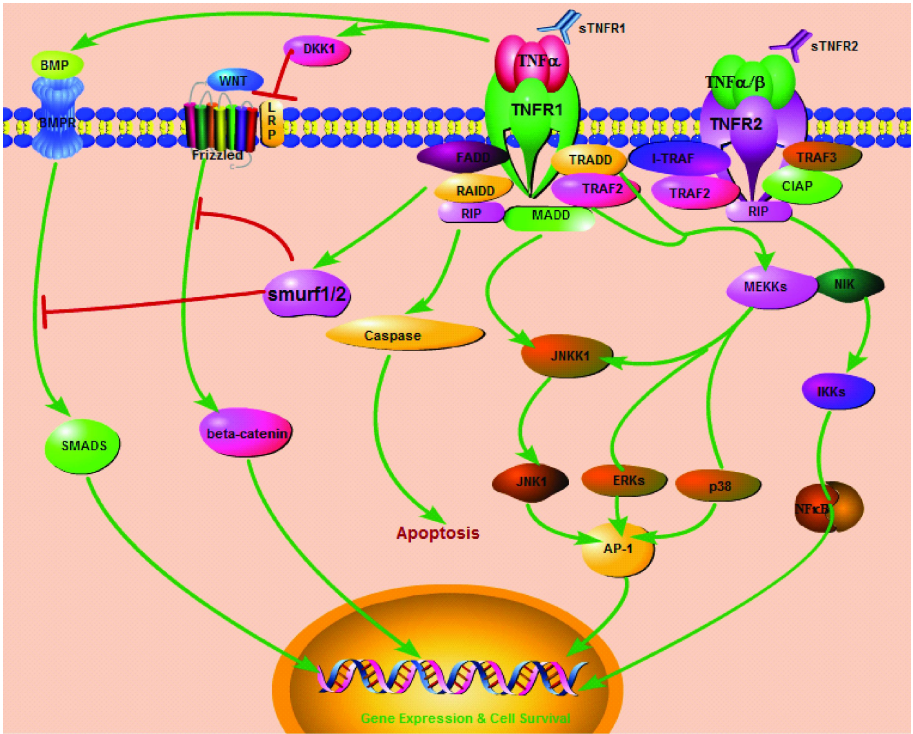


图 1 TNF- α 信号通路与 Wnt/ β -catenin、BMP/TGF- β 信号通路之间的关系
注:绿色箭头表示活化作用,红色箭头表示抑制作用

Fig. 1 The interaction among TNF- α signaling pathway, Wnt/ β -catenin signaling pathway, and BMP/TGF- β signaling pathway.
Note: green arrows indicate activation, red arrows indicate inhibition

可以阻止 AS 的多种致病细胞向骨化分化。但是, AS 患者使用 TNF 抑制剂后,血清 BMP-2 的水平却没有改变^[35],可能是因为包括 TNF- α 、IL-1 在内的多种致炎因子可以诱导 BMPs 的产生,从而抵消了 TNF- α 的抑制作用。

2.3 Wnt/ β -catenin、BMP/TGF- β 信号通路与 TNF- α 之间的关系

AS 最重要的炎性因子 TNF- α 可以刺激 DKK-1 的产生、抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路,AS 患者使用 TNF- α 抑制剂后血清 DKK-1 水平会显著下降,因此,传统观点认为使用 TNF- α 抑制剂后不能抑制新骨形成^[50],甚至可能促进骨化进展,这为临床生物制剂的使用带来巨大的挑战。令人欣喜的是,Baraliakos X 等^[51]报道了长期 TNF 拮抗剂不会导致新骨形成速度增加,虽然 4 年时的影像学 mSASSS 评分相似,但 8 年后 TNF 拮抗剂治疗组新形成的韧带骨赘较对照组明显减少。

如前所述,TNF- α 可以通过 Smurf1/2 蛋白抑制 BMP/TGF- β 信号通路,同时对 Wnt 信号通路存在抑制作用,前者通常在骨化的早期阶段,晚期主要由 Wnt 介导骨化。这或许可以解释临床研究发现使用

TNF- α 抑制剂的患者更容易出现韧带骨赘。首先,AS 起病隐匿、病程长,患者开始接受治疗时已经是疾病晚期阶段,Wnt 通路处于活化状态,其次,TNF- α 抑制剂虽然缓解了活动性病变,但也减弱了 TNF- α 对 WNT 通路的抑制作用,所以在基线有炎症而治疗后炎症消退的患者反而更容易出现韧带骨赘。

3 展望

随着临床上长期使用 TNF- α 抑制剂后可以阻止 AS 病理性骨化的进展,越来越多的人认为 AS 的炎症与病理性骨化是相关的。TNF- α 作为引发炎症反应的关键因子,它可以影响其它炎性信号通路,并与 Wnt/ β -catenin、BMP/TGF- β 等骨化信号通路相互关联。目前,影像学仍是疾病进展重要的监测手段,但它存在多方面的局限性,为了更好地评估患者疾病活动度和预测骨化,许多新的反映炎性骨破坏和病理性骨化的标志物涌现出来,但仍需更多的研究明确它们的价值和意义。因此,除了进一步探究 TNF- α 抑制剂的长期使用疗效,针对其它炎性因子、生物学标志物和信号通路的靶向治疗,为临床实践提供更多的选择。

【参 考 文 献】

- [1] Biggiongero M, Favalli EG. Ten-Year Drug Survival of Anti-TNF Agents in the Treatment of Inflammatory Arthritides [J]. *Drug Dev Res*, 2014, 75 Suppl 1: S38-S41.
- [2] Maksymowych WP, Chiowchanwisawakit P, Clare T, et al. Inflammatory lesions of the spine on magnetic resonance imaging predict the development of new syndesmophytes in ankylosing spondylitis: evidence of a relationship between inflammation and new bone formation [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(1): 93-102.
- [3] Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, et al. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- α from cells [J]. *Nature*, 1997, 385(6618): 729-733.
- [4] Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease [J]. *J Pathol*, 2008, 214(2): 149-160.
- [5] Osta B, Benedetti G, Miossec P. Classical and Paradoxical Effects of TNF- α on Bone Homeostasis [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 48.
- [6] Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, et al. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin [J]. *J Clin Invest*, 1999, 104(10): 1363-1374.
- [7] Zhao YM, Ge LH, Grigoriadis AE. [Effect of TNF- α on murine osteoclast differentiation] [J]. *Beijing Da Xue Xue Bao*, 2005, 37(4): 433-435.
- [8] Osta B, Benedetti G, Miossec P. Classical and Paradoxical Effects of TNF- α on Bone Homeostasis [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 48.
- [9] Haroon N, Inman RD, Learch TJ, et al. The impact of tumor necrosis factor α inhibitors on radiographic progression in ankylosing spondylitis [J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(10): 2645-2654.
- [10] Appel H, Ruiz-Heiland G, Listing J, et al. Altered skeletal expression of sclerostin and its link to radiographic progression in ankylosing spondylitis [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(11): 3257-3262.
- [11] Sherlock JP, Joyce-Shaikh B, Turner SP, et al. IL-23 induces spondyloarthritis by acting on ROR- γ + CD3 + CD4- CD8- enthesal resident T cells [J]. *Nat Med*, 2012, 18(7): 1069-1076.
- [12] Chen WS, Chang YS, Lin KC, et al. Association of serum interleukin-17 and interleukin-23 levels with disease activity in Chinese patients with ankylosing spondylitis [J]. *J Chin Med Assoc*, 2012, 75(7): 303-308.
- [13] Xueyi L, Lina C, Zhenbiao W, et al. Levels of circulating Th17 cells and regulatory T cells in ankylosing spondylitis patients with an inadequate response to anti-TNF- α therapy [J]. *J Clin Immunol*, 2013, 33(1): 151-161.
- [14] Mei Y, Pan F, Gao J, et al. Increased serum IL-17 and IL-23 in the patient with ankylosing spondylitis [J]. *Clin Rheumatol*, 2011, 30(2): 269-273.
- [15] Ciccio F, Bombardieri M, Principato A, et al. Overexpression of interleukin-23, but not interleukin-17, as an immunologic signature of subclinical intestinal inflammation in ankylosing spondylitis [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(4): 955-965.
- [16] Baeten D, Baraliakos X, Braun J, et al. Anti-interleukin-17A monoclonal antibody secukinumab in treatment of ankylosing spondylitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2013, 382(9906): 1705-1713.
- [17] Fukuyo S, Yamaoka K, Sonomoto K, et al. IL-6-accelerated calcification by induction of ROR2 in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells is STAT3 dependent [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2014, 53(7): 1282-1290.
- [18] Bal A, Unlu E, Bahar G, et al. Comparison of serum IL-1 β , sIL-2R, IL-6, and TNF- α levels with disease activity parameters in ankylosing spondylitis [J]. *Clin Rheumatol*, 2007, 26(2): 211-215.
- [19] Francois RJ, Neure L, Sieper J, et al. Immunohistological examination of open sacroiliac biopsies of patients with ankylosing spondylitis: detection of tumour necrosis factor α in two patients with early disease and transforming growth factor β in three more advanced cases [J]. *Ann Rheum Dis*, 2006, 65(6): 713-720.
- [20] Sieper J, Braun J, Kay J, et al. Sarilumab for the treatment of ankylosing spondylitis: results of a Phase II, randomised, double-blind, placebo-controlled study (ALIGN) [J]. *Ann Rheum Dis*, 2014.
- [21] Cui Y, Xiao Z, Shuxia W, et al. Computed tomography guided intra-articular injection of etanercept in the sacroiliac joint is an effective mode of treatment of ankylosing spondylitis [J]. *Scand J Rheumatol*, 2010, 39(3): 229-232.
- [22] Hayman A R. Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) and the osteoclast/immune cell dichotomy [J]. *Autoimmunity*, 2008, 41(3): 218-223.
- [23] 马晓旭, 李春, 左瑜, 等. Dickkopf-1 与抗酒石酸酸性磷酸酶 5b 在类风湿关节炎骨破坏中的意义 [J]. *中日友好医院学报*, 2014(03): 134-138.
MA Xiaoxu, LI Chun, ZUO Yu, et al. Significance of circulating Dickkopf-1 and tartrate-resistant acid phosphatase 5b (TRAP5b) in bone destruction of patients with rheumatoid arthritis [J]. *Journal of China-Japan Friendship Hospital*, 2014(03): 134-138.
- [24] Taylan A, Sari I, Akinci B, et al. Biomarkers and cytokines of bone turnover: extensive evaluation in a cohort of patients with ankylosing spondylitis [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2012, 13: 191.
- [25] 杨希帅. 生长分化因子-15 (GDF-15) 研究进展 [D]. *山西医科大学*, 2012.
Yang Xishuai. Research progress in Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) [D]. *Shanxi Medical University*, 2012.
- [26] Brown DA, Moore J, Johnen H, et al. Serum macrophage inhibitory cytokine 1 in rheumatoid arthritis: a potential marker of erosive joint destruction [J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(3): 753-764.
- [27] Lambrecht S, Coudens J, De Keyser F, et al. Reduced levels of the TGF β family member GDF15 in spondyloarthritis versus other

- rheumatic diseases[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2011, 70(Suppl 2):A88.
- [28] Price PA, Toroian D, Lim JE. Mineralization by inhibitor exclusion; the calcification of collagen with fetuin[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(25):17092-17101.
- [29] Tuytu T, Sari I, Solmaz D, et al. Fetuin-A is related to syndesmophytes in patients with ankylosing spondylitis: a case control study[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2014, 69(10):688-693.
- [30] Demetriou M, Binkert C, Sukhu B, et al. Fetuin/alpha2-HS glycoprotein is a transforming growth factor-beta type II receptor mimic and cytokine antagonist[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(22):12755-12761.
- [31] Neidhart M, Baraliakos X, Seemayer C, et al. Expression of cathepsin K and matrix metalloproteinase 1 indicate persistent osteodestructive activity in long-standing ankylosing spondylitis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2009, 68(8):1334-1339.
- [32] Veidal S S, Larsen D V, Chen X, et al. MMP mediated type V collagen degradation (CSM) is elevated in ankylosing spondylitis[J]. *Clin Biochem*, 2012, 45(7-8):541-546.
- [33] 古洁若, 张汉伟, 赵丽珂, 等. 基质金属蛋白酶-3 在强直性脊柱炎中的作用和意义探讨[J]. *中国药物与临床*, 2004(04):270-276.
- GU Jieruo, ZHANG Hanwei, ZHAO Li-ke, et al. The significance of matrix metalloproteinase-3 response down-regulation in the treatment of ankylosing spondylitis by anti-TNF a monoclonal antibody remicade[J]. *Chinese Remedies & Clinics*, 2004(04)270-276.
- [34] Ribbens C, Martin YPM, Franchimont N, et al. Increased matrix metalloproteinase-3 serum levels in rheumatic diseases; relationship with synovitis and steroid treatment[J]. *Ann Rheum Dis*, 2002, 61(2):161-166.
- [35] Tosovsky M, Bradna P, Andrys C, et al. The VEGF and BMP-2 levels in patients with ankylosing spondylitis and the relationship to treatment with tumour necrosis factor alpha inhibitors[J]. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2014, 57(2):56-61.
- [36] 张莹, 初同伟. 基因表达谱芯片筛选强直性脊柱炎差异表达基因的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2011(10):1044-1047.
- Zhang Ying, Chu Tongwei. Screening of differentially expressed genes in ankylosing spondylitis by cDNA microarray[J]. *J Third Military Medical University*, 2011(10):1044-1047.
- [37] Poddubnyy D, Conrad K, Haibel H, et al. Elevated serum level of the vascular endothelial growth factor predicts radiographic spinal progression in patients with axial spondyloarthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(12):2137-2143.
- [38] 刘剑雯, 陈君敏. Wnt 信号通路在强直性脊柱炎发病过程中的作用[J]. *医学综述*, 2011(15):2277-2279.
- Liu Jianwen, Chen Junmin. The Role of Wnt Signaling Pathways in the Onset Process of Ankylosing Spondylitis[J]. *Medical Recapitulate*, 2011(15):2277-2279.
- [39] De A. Wnt/Ca2+ signaling pathway: a brief overview[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2011, 43(10):745-756.
- [40] Willert K, Nusse R. Wnt proteins[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(9):a7864.
- [41] Diarra D, Stolina M, Polzer K, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling[J]. *Nat Med*, 2007, 13(2):156-163.
- [42] Daoussis D, Liossis SN, Solomou EE, et al. Evidence that Dkk-1 is dysfunctional in ankylosing spondylitis[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(1):150-158.
- [43] Yucong Z, Lu L, Shengfa L, et al. Serum functional dickkopf-1 levels are inversely correlated with radiographic severity of ankylosing spondylitis[J]. *Clin Lab*, 2014, 60(9):1527-1531.
- [44] Amin N, Vincan E. The Wnt signaling pathways and cell adhesion[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2012, 17:784-804.
- [45] Bonewald LF, Johnson ML. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling[J]. *Bone*, 2008, 42(4):606-615.
- [46] Kaneki H, Guo R, Chen D, et al. Tumor necrosis factor promotes Runx2 degradation through up-regulation of Smurf1 and Smurf2 in osteoblasts[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(7):4326-4333.
- [47] Wang EA, Rosen V, Cordes P, et al. Purification and characterization of other distinct bone-inducing factors[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, 85(24):9484-9488.
- [48] Carter S, Braem K, Lories R J. The role of bone morphogenetic proteins in ankylosing spondylitis[J]. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2012, 4(4):293-299.
- [49] Wendling D, Claudepierre P. New bone formation in axial spondyloarthritis[J]. *Joint Bone Spine*, 2013, 80(5):454-458.
- [50] Maksymowych WP, Morency N, Conner-Spady B, et al. Suppression of inflammation and effects on new bone formation in ankylosing spondylitis: evidence for a window of opportunity in disease modification[J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(1):23-28.
- [51] Baraliakos X, Haibel H, Listing J, et al. Continuous long-term anti-TNF therapy does not lead to an increase in the rate of new bone formation over 8 years in patients with ankylosing spondylitis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(4):710-715.

(收稿日期: 2015-02-16)