

· 论 著 ·

IL-33 与绝经后骨质疏松女性骨密度和骨代谢指标相关性研究

王雅纯¹ 周少法² 张翔^{3*}

1.海南医学院第一附属医院老年内科,海南 海口 571101

2.海南中和药业股份有限公司,海南 海口 571101

3.海南医学院第一附属医院神经内科,海南 海口 571101

中图分类号: R589.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020)12-1806-04

摘要: **目的** 探索血清白细胞介素-33(IL-33)与绝经后骨质疏松女性骨密度和骨代谢指标相关性。**方法** 采用酶联免疫吸附法测定 50 例绝经后骨质疏松患者和 50 例正常绝经后妇女血清 IL-33 水平。采用双能 X 线骨密度仪(DXA)测量患者和对照组的骨密度(BMD)。检测维生素 D、钙、碱性磷酸酶(ALP)、甲状旁腺激素(PTH)水平,以及 1 型胶原 C 末端肽(CTX)和 1 型前胶原 N 端前肽(P1NP)等骨转换指标。**结果** 在绝经后骨质疏松症女性中,IL-33 水平显著低于健康对照组[(3.53±2.45) pg/mL vs (13.72±5.39) pg/mL, $P=0.007$];Spearman 相关分析表明血清 IL-33 水平与年龄、BMI、PTH、CTX 和 P1NP 水平呈负相关,与腰椎 BMD 和股骨颈 BMD 呈正相关。多元回归分析表明,年龄、BMI、腰椎 BMD、PTH、股骨颈 BMD 和血清 CTX 和 P1NP 水平是骨质疏松症患者血清 IL-33 水平降低的独立预测因子。**结论** 血清 IL-33 降低是绝经后骨质疏松患者股骨颈和腰椎骨密度降低和骨转换增速的危险因素。

关键词: 细胞因子;绝经后骨质疏松症;白细胞介素-33;骨密度

Correlation between serum IL-33 and bone mineral density and bone metabolism indexes in postmenopausal women with osteoporosis

WANG Yachun¹, ZHOU Shaofa², ZHANG Xiang^{3*}

1.Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 571101

2.Hainan Zhonghe Pharmaceutical Co. Ltd., Haikou 571101

3.Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 571101, China

* Corresponding author; ZHANG Xiang, Email: 3492797059@qq.com

Abstract: Objective To explore the correlation between serum interleukin-33 (IL-33) and bone mineral density and bone metabolism indexes in postmenopausal women with osteoporosis. **Methods** In 50 postmenopausal osteoporotic patients and 50 healthy postmenopausal control women, serum IL-33 levels were measured using enzyme linked immunosorbent assay. In both patients and controls, bone mineral density (BMD) was measured using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). Serum levels of vitamin D, calcium, alkaline phosphatase (ALP), parathyroid hormone (PTH), as well as bone turnover markers, such as C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX) and N-terminal propeptide of type I procollagen (P1NP) were also detected. **Results** In postmenopausal women with osteoporosis, the level of IL-33 was significantly lower than that in the healthy control group (3.53 ± 2.45 vs 13.72 ± 5.39 pg/mL; $P=0.007$). Spearman correlation analysis showed that serum IL-33 levels were negatively correlated to age, BMI, PTH, CTX, and P1NP, but were positively correlated with BMD of the lumbar vertebrae and femoral neck. Multiple regression analysis showed that age, BMI, lumbar BMD, PTH, femoral neck BMD, and serum CTX and P1NP levels were independent predictors of decreased serum IL-33 levels in patients with osteoporosis. **Conclusion** Decreased serum IL-33 is a risk factor for the reduction of BMD and the increase of bone turnover in femoral neck and lumbar vertebrae in postmenopausal osteoporosis patients.

Key words: cytokines; postmenopausal osteoporosis; interleukin-33; bone mineral density

* 通信作者: 张翔, Email: 3492797059@qq.com

白细胞介素-33(IL-33)是一种细胞因子,主要由基质细胞表达;最近研究表明 IL-33 在调节适应性和先天性免疫,炎症过程和对环境压力的反应方面起着关键作用^[1]。在患有类风湿性关节炎的患者中,IL-33 比正常对照组明显升高,并且与骨破坏呈正相关^[2-3]。骨质疏松症是骨骼的全身性疾病,其主要特征是骨量减少,骨密度(bone mineral density,BMD)下降和骨微观结构破坏;主要后果是增加骨骼脆弱性、增加骨折风险。绝经后妇女的雌激素缺乏会导致骨吸收增加;当由破骨细胞进行的骨吸收和由成骨细胞介导的骨形成之间的平衡被破坏时,发生骨质疏松症^[4]。最近研究已明确表明骨重建受到严格的免疫调控^[5],骨细胞的活性受细胞因子调节^[5]。IL-33 是 IL-1 细胞因子家族中最新鉴定的成员;其他两个成员,即 IL-1 和 IL-18,对骨细胞具有重要的作用^[6]。到目前为止,IL-33 在自身免疫性和传染性疾病以及动脉粥样硬化,糖尿病和癌症中作用得到证实^[1],但其在骨质疏松症患者中的作用尚未被研究。目前关于骨质疏松症中 IL-33 血清水平的临床研究较为有限。因此,笔者研究了绝经后骨质疏松症患者的血清 IL-33 水平与骨代谢指标和骨密度之间的相关性。

1 材料和方法

1.1 一般资料

本研究纳入 50 名绝经后骨质疏松女性[年龄(65.42 ± 9.59)岁]和 50 名年龄匹配[(62.07 ± 8.34)岁]的健康绝经后女性。通过双能 X 射线吸收测定法(DXA)(Hologic QDR4 500 W)评估髌部和腰椎(L₁₋₄)的 BMD。排除服用影响骨转换的药物,继发性骨质疏松症患者;BMD 检测结果使用 T 值表示,骨质疏松症的诊断参考世界卫生组织制定的标准。T 值<-2.5 定义骨质疏松症,-1.0~-2.5 定义为骨量减少,>-1.0 表示正常 BMD。对每个受试者进行详细的体格检查,获取准确的病史,检测人体参数,例如体重、身高和体重指数以及实验室检测指标。研究得到医院伦理委员会批准,每位参与者均知晓研究目的并签署书面知情同意书。

1.2 检测指标

本研究检测了血清钙、磷、维生素 D(1 α ,25-二羟维生素 D₃)、甲状旁腺素(PTH)和碱性磷酸酶(ALP)水平。此外,在患者和对照组中,还进行了骨代谢标志物的检测如骨形成标志物血清 1 型原胶原 N-端前肽(P1NP)、骨吸收标志物血清 1 型胶原交

联 C-末端肽(β -CTX)以分别间接评估破骨细胞和成骨细胞活性。从骨质疏松症和健康对照受试者收集的所有临床和测量数据如表 1 所示。

对患有骨质疏松症的妇女和健康对照受试者血清 IL-33 水平进行检测。通过静脉抽取的血液 5 mL 并以 3 000 r/min 离心 5 min,将获得的血清冷冻并在-20℃下储存直至检测。根据制造商推荐的标准程序(USCN LIFE SCIENCE Houston, TX, USA),通过使用夹心 ELISA 试剂盒评估 IL-33 的水平,在 450 nm 处测量吸光度,并将获得结果以 pg/mL 表示。检测步骤参考试剂盒的制造商说明书,IL-33 的最小可检测水平低于 5.3 pg/mL。还根据制造商建议的以下程序建立了检测下限(LLD),本研究的 LLD 为 1.9 pg/mL。还进行了从 7.8 pg/mL 开始的标准曲线,以更准确地检测测试血清样品中的 IL-33 浓度。

1.3 统计学分析

检测的结果使用均数 $\pm$ 标准差表示。采用 Mann-Whitney 检验法分析两组之间的差异。使用 Spearman 相关系数进行相关分析。在校正其他因素后,进行了多元回归分析以确定每个独立变量的影响。所有统计分析均使用 SPSS for Windows(版本 19.0)进行。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料比较

研究人群的人口学和临床特征如表 1 所示。OP 患者的年龄、BMI、ALP、1,25(OH)₂D₃、钙和磷水平与健康对照组比较差异无统计学意义(P 均>0.05)。骨质疏松患者血清 IL-33 水平显著低于对照组,比较差异有统计学意义[(3.53 ± 2.45)pg/mL vs (13.72 ± 5.39)pg/mL; $P<0.05$]。OP 组血清 CTX 和 P1NP、PTH 水平均显著高于对照组(P 均<0.05)。OP 组腰椎 BMD 和股骨颈 BMD 明显低于对照组(P 均<0.05)。

2.2 Spearman 相关分析结果

Spearman 相关分析如表 2 所示。血清 IL-33 水平与年龄、BMI、PTH、CTX 和 P1NP 水平呈负相关,与腰椎 BMD 和股骨颈 BMD 呈正相关。血清 IL-33 与 ALP、1,25(OH)₂D₃、钙和磷水平无相关性。

2.3 多元回归分析结果

多元回归分析如表 3 所示。因变量为血清 IL-33 水平,自变量为年龄、BMI、腰椎 BMD、股骨颈 BMD、PTH、ALP、CTX、P1NP、1,25(OH)₂D₃、钙和磷水平。结果表明,年龄、BMI、腰椎 BMD、PTH、股骨

颈 BMD 和血清 CTX 和 P1NP 水平是骨质疏松症患者血清 IL-33 水平降低的独立预测因子。

表 1 两组一般特征和检测指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of general characteristics and detection indicators between patients and controls ($\bar{x} \pm s$)

参数	患者 (n=50)	对照 (n=50)	P 值
年龄/岁	65.42±9.59	62.07±8.34	0.072
BMI/(kg/m ²)	27.31±4.29	28.63±4.84	0.859
腰椎 BMD/(g/cm ²)	0.96±0.14	0.78±0.17	0.001
股骨颈 BMD/(g/cm ²)	0.977±0.080	0.656±0.110	0.032
PTH/(pg/mL)	68.93±22.69	61.97±16.26	0.022
ALP/(U/L)	123.26±62.36	103.57±25.76	0.123
CTX/(pg/mL)	429.01±273.58	290.93±180.57	0.001
P1NP/(ng/mL)	28.10±7.82	21.37±5.35	0.012
1,25(OH) ₂ D ₃ /(pg/mL)	19.12±8.98	22.37±5.89	0.256
钙/(mg/dL)	9.16±0.77	7.14±3.58	0.147
磷/(mg/dL)	1.18±0.15	1.16±0.18	0.123
IL-33/(pg/mL)	3.53±2.45	13.72±5.39	0.007*

注:患者和对照之间差异有统计学意义,* $P<0.05$ 。

表 2 OP 患者血清 IL-33 与年龄、BMI、BMD 和骨转换指标的相关性

Table 2 Correlations between serum IL-33 and age, BMI, BMD, and bone turnover markers in OP patients

变量	R	P 值
年龄	-0.005	0.008
BMI	-0.073	0.001
腰椎 BMD	0.582	<0.001
股骨颈 BMD	0.476	0.002
PTH	0.396	0.007
ALP	0.411	0.086
CTX	0.387	0.004
P1NP	0.223	0.029
1,25(OH) ₂ D ₃	0.056	0.227
钙	0.045	0.169
磷	0.065	0.057

表 3 OP 患者的多元回归结果

Table 3 Results of multiple regression in OP patients

变量	B	SE	β	t	P 值
年龄	-0.056	0.079	-0.023	-0.046	0.002
BMI	-0.022	0.165	-0.008	-0.079	0.008
腰椎 BMD	33.676	4.657	-0.387	-7.123	<0.001
股骨颈 BMD	31.564	3.987	-0.298	-7.543	<0.001
PTH	4.877	1.266	0.165	2.122	0.016
ALP	2.565	0.745	0.036	0.914	0.086
CTX	-0.155	0.156	-0.076	-1.256	0.087
P1NP	-0.467	0.078	-0.055	-0.978	0.134
1,25(OH) ₂ D ₃	0.367	0.076	0.087	0.755	0.487
钙	-0.356	0.457	-0.273	-0.345	0.544
磷	-0.546	0.456	-0.174	-0.655	0.764

3 讨论

虽然 IL-33 最初认为是 Th2 免疫反应的诱导

物,现在 IL-33 认为是一种多效性细胞因子,它可以在细胞外空间释放,也可以作为炎症性疾病的细胞内核因子引起细胞损伤或机械损伤^[1]。IL-33 可以介导过敏性气道炎症,导致动脉粥样硬化和对某些类型的感染具有保护作用;但在许多自身免疫性疾病的发展中也起着关键作用^[1]。因此,IL-33 既可以促进炎症的消退也可以导致疾病的发生发展。免疫系统和炎症对骨骼的影响是由细胞因子介导的。然而,并非所有参与骨重建的细胞因子都具有促进破骨细胞生成作用:一些细胞因子有助于骨吸收,而其他细胞因子对骨质疏松症具有保护作用,而部分细胞因子具有多效性功能。因此,每一个细胞因子的最终效果取决于靶细胞以及控制骨骼健康的复杂骨重塑过程的各个阶段中涉及的其他细胞因子和抑制剂和(或)刺激控制因子的联合作用^[7]。

本研究的结果表明,IL-33 的抗破骨细胞作用对绝经后妇女的骨重建有重要作用。虽然 IL-33 对破骨细胞功能或骨吸收的直接影响尚不清楚,但 IL-33 与吸收标志物 CTX 之间的负相关结果似乎证实 IL-33 抑制破骨细胞分化。在骨质疏松症患者中发现的较低水平的 IL-33 与以前几项研究结果一致,即 IL-33 在实验条件下可以抑制破骨细胞分化^[8-9]。事实上,IL-33 抑制 RANKL 依赖性破骨细胞的形成,从而防止炎性骨质流失^[10]。此外,IL-33 还通过诱导减少破骨细胞生成细胞因子如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、IL-10、IL-4 和 IFN- γ 生成以及抑制破骨细胞前体巨噬细胞和树突状细胞的分化激活来抑制破骨细胞形成^[11]。虽然有学者提出 IL-33 在人类破骨细胞形成过程中的 RANKL 样作用,但相对于 RANKL 的强烈且一致的作用,IL-33 对骨骼的促重吸收作用较弱^[12]。此外,IL-33 对骨骼的影响可能因疾病的阶段和激素影响而有所不同,因此 IL-33 对骨骼的最终影响因骨量差异而受到较大的影响。

IL-33 在骨重塑中的调节作用也部分由激素介导。PTH 是维持骨稳态和促进骨形成的重要激素。IL-18 也是 IL-33 所属的 IL-1 家族的另一成员,是 PTH 介导合成代谢作用所必需的^[13]。本研究发现骨质疏松绝经后妇女中 PTH 和 IL-33 血清水平之间呈负相关的结果与 IL-33 和 PTH 强烈抑制的观察结果一致^[13],从而证实该细胞因子可能参与成骨细胞介导的合成代谢作用。IL-33 与骨合成代谢标志物 P1NP 之间的负相关性也证实了这点。骨质疏松症认为是 Th1/Th17 细胞介导的炎症性疾病,毫无疑

问的是 IL-33 能有效增强 Th2 免疫反应对骨质疏松症表现出保护作用^[14], 这表明该细胞因子在绝经后骨质疏松症中也存在保护作用。另一方面, 最近在体外和体内的观察结果表明, Th2 细胞因子也可能有助于骨质疏松症的发展^[15]。正如本研究结果一致, 与年龄相关的健康女性相比, 绝经后骨质疏松症患者血清 IL-33 水平较低。然而, 随着疾病进展和 BMD 降低, IL-33 对骨骼的保护作用趋于消失, 可能是由于其他因素和破骨细胞生成因子的干扰^[16]。因此, IL-33 可能被认为是骨细胞活性的重要内源调节因子, 可以发挥抗破骨细胞增生和刺激破骨细胞作用^[16]。然而, 由于各种相关细胞因子之间的平衡是非常复杂的, IL-33 本身也可能是一把双刃剑, 取决于具体的疾病阶段^[16]。

研究表明, 与对照组相比, 绝经后骨质疏松症患者的血清 IL-33 水平显著降低。还观察到 IL-33 和 PTH 血清水平之间的负相关。此外, IL-33 与骨形成和重吸收标志物之间的负相关分别表明该细胞因子可能在骨重塑中发挥作用, 可能影响成骨细胞和破骨细胞功能。这些数据表明 IL-33 可能是一种重要的骨保护细胞因子, 它可能在绝经后骨质疏松症发生发展中发挥重要的作用。

【参 考 文 献】

- [1] Liew FY, Girard JP, Turnquist HR. Interleukin-33 in health and disease [J]. Nature Reviews Immunology, 2016, 16 (11): 676-689.
- [2] Wang-Dong X, Min Z, Yu-Jing Z, et al. IL-33 in rheumatoid arthritis: potential role in pathogenesis and therapy [J]. Human Immunology, 2013, 74(9): 1057-1060.
- [3] Xiangyang Z, Lutan Y, Lin Z, et al. Increased levels of interleukin-33 associated with bone erosion and interstitial lung diseases in patients with rheumatoid arthritis [J]. Cytokine, 2012, 58(1): 6-9.
- [4] Zhao R. Immune regulation of osteoclast function in postmenopausal osteoporosis: a critical interdisciplinary perspective [J]. Int J Med Sci, 2012, 9(9): 825-832.
- [5] Ginaldi L, De Martinis M. Osteoimmunology and beyond [J]. Curr Med Chem, 2016, 23(33): 3754-3774.
- [6] Takayanagi H. Osteoimmunology in 2014: Two-faced immunology—from osteogenesis to bone resorption [J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(2): 74-76.
- [7] Molofsky AB, Savage AK, Locksley RM. Interleukin-33 in Tissue Homeostasis, Injury, and Inflammation [J]. Immunity, 2015, 42(6): 1005-1019.
- [8] Hasnawati S, Damien E, 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.
- [9] Keller J, Catala-Lehnen P, Wintges K, et al. Transgenic overexpression of interleukin-33 in osteoblasts results in decreased osteoclastogenesis [J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2012, 417(1): 217-222.
- [10] 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.
- [11] Zaiss MM, Mariola KS, Christina BH, et al. IL-33 shifts the balance from osteoclast to alternatively activated macrophage differentiation and protects from TNF-alpha-mediated bone loss [J]. J Immunology, 2011, 186(11): 6097.
- [12] Eeles DG, Hodge JM, Singh PP, et al. Osteoclast formation elicited by interleukin-33 stimulation is dependent upon the type of osteoclast progenitor [J]. Molecular & Cellular Endocrinology, 2015, 399(12): 259-266.
- [13] Cheloha R, Gellman S, Vilardaga JP, et al. PTH receptor-1 signalling - mechanistic insights and therapeutic prospects [J]. Nature Reviews Endocrinology, 2015, 11: 712-724.
- [14] Zhang J, Fu Q, Ren Z, et al. Changes of serum cytokines-related Th1/Th2/Th17 concentration in patients with postmenopausal osteoporosis [J]. Gynecol Endocrinol, 2015, 31(3): 183-190.
- [15] Saluja R, Ketelaar ME, Hawro T, et al. The role of the IL-33/IL-1RL1 axis in mast cell and basophil activation in allergic disorders [J]. Molecular Immunology, 2015, 63(1): 80-85.
- [16] Fy L. IL-33: a Janus cytokine [J]. Annals of the rheumatic diseases, 2012, 12: 101-104.

(收稿日期: 2020-01-23; 修回日期: 2020-02-17)

(上接第 1805 页)

- [10] Fechtenbaum J, Cropet C, Kolta S, et al. The severity of vertebral fractures and health-related quality of life in osteoporotic postmenopausal women [J]. Osteoporosis International, 2005, 16(12): 2175-2179.
- [11] Iwamoto J, Takeda T, Sato Y, et al. Effects of alendronate on metacarpal and lumbar bone mineral density, bone resorption, and chronic back pain in postmenopausal women with osteoporosis [J]. Clinical Rheumatology, 2004, 23(5): 383-389.
- [12] Teodorczyk-Injeyan JA, Triano JJ, McGregor M, et al. Elevated production of inflammatory mediators including nociceptive chemokines in patients with neck pain: A cross-sectional evaluation [J]. J Manipulative & Physiological Therapeutics, 2011, 34(8): 498-505.
- [13] Hayman AR, Macary P, Lehner PJ, et al. Tartrate-resistant acid phosphatase (Acp 5): identification in diverse human tissues and dendritic cells [J]. J Histochem Cytochem, 2001, 49(6): 675-684.
- [14] Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards [J]. Clin Biochem Rev, 2011, 22(2): 391-420.
- [15] Helena J, Anders O, Kanis JA, et al. A meta-analysis of reference markers of bone turnover for prediction of fracture [J]. Calcified Tissue International, 2014, 94(5): 560-567.
- [16] Watts NB, Hattersley G, Fitzpatrick LA, et al. Abaloparatide effect on forearm bone mineral density and wrist fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis [J]. Osteoporosis International, 2019, 30(6): 1187-1194.

(收稿日期: 2020-01-05; 修回日期: 2020-01-20)