

DOI: 10.13376/j.cblls/2019005

文章编号: 1004-0374(2019)01-0035-09

细胞因子对类风湿性关节炎骨平衡的调节作用

杨林¹, 吕丹¹, 沈小芳¹, 张安兵², 肖娟^{1*}

(1 湖北文理学院分子医学实验室, 襄阳 441053; 2 湖北文理学院附属襄阳市中心医院风湿免疫科, 襄阳 441021)

摘要: 类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以滑膜持续炎症和关节软骨及骨质破坏为特征的自身免疫性疾病。RA 的发展伴随着滑膜细胞增生、新生血管、局部大量炎性细胞浸润及细胞因子水平的失调。异常炎症反应贯穿 RA 始终, 细胞因子失调引起的骨破坏和骨建之间的失衡导致 RA 关节炎和骨质破坏。RA 致残率极高, 且没有根治方法对其进行早期诊断和治疗, 延缓骨损伤尤为重要。目前临床常用的诊断指标缺乏特异性。现以细胞因子为切入点, 概述其在 RA 不同时期的不同存在及对 RA 骨平衡的调控作用机制, 为寻找 RA 更加精准的早期诊断指标和治疗靶点提供线索。

关键词: 类风湿性关节炎; 细胞因子; 骨损害

中图分类号: R593.22 文献标志码: A

The effect of cytokines on the balance between osteoclastogenesis and osteoblastogenesis in rheumatoid arthritis

YANG Lin¹, LV Dan¹, SHEN Xiao-Fang¹, ZHANG An-Bing², XIAO Juan^{1*}

(1 Department of Molecular Medicine Laboratory, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China;

2 Department of Rheumatism and Immunology, Xiangyang Central Hospital, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441021, China)

Abstract: Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic autoimmune disease characterized by constant synovium inflammation, cartilage degradation and bone resorption. RA develops with the formation of pannus, which consists of synovium hyperplasia, microangiogenesis, inflammatory cells infiltration and aberrant cytokine level. Given that RA is an autoimmune disease, abnormal inflammatory reaction is present during the whole course. The cytokine-related imbalance between osteoclastogenesis and osteoblastogenesis leads to synovitis and ultimately, bone damage. Due to the high risk of irretrievable disability, it is essential to give early diagnosis and treatment. Due to the fact that serological indexes used now lack specificity, it is suggested cytokines be an entry point. Probing their presence at different phases of RA and how they cause the imbalance mentioned above is responsible for when and how to give more precise diagnosis and medication to RA patients with clinical manifestation.

Key words: rheumatoid arthritis; cytokines; bone damage

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性系统性结缔组织疾病, 其病理特征包括滑膜囊增生、炎性细胞浸润和血管翳形成等, 最初造成近端掌指 (趾) 小关节对称性肿胀和疼痛, 最终进展为骨质破坏、大关节损伤, 表现为关节畸形和功能丧失等。全球 0.5%~1% 的人口罹患该疾病, 尚不包括未确诊的患者, 而近年来患病率逐年增加。研究表明, 在 RA 早期对疾病进行干预治疗将在很

大程度上减少关节损伤和致残率^[1]。RA 的病因尚不明确, 因此难以实现疾病的对因和预防性治疗。目前认为 RA 是一个多因素共同造成的疾病, 主要包括遗传因素、感染、环境, 以及内分泌异常、免疫调节失衡等。

收稿日期: 2018-08-02; 修回日期: 2018-09-02

基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究项目(D20172603)

*通信作者: E-mail: ju_126@126.com

1 RA中骨平衡系统简介

一般来说,骨平衡是破骨细胞 (osteoclasts, OC) 的骨吸收作用和成骨细胞 (osteoblasts, OB) 的骨建作用之间的动态平衡。破骨细胞来自造血干细胞,也可由树突状细胞、B细胞、单核细胞和巨噬细胞(一般为炎症反应时)分化而来;成骨细胞来自间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSC)。破骨细胞的分化机制,为来自成纤维样滑膜细胞 (fibroblast-like synoviocytes, FLS) 的 RANKL 与破骨细胞前体的 RANK 结合,招募 TRAF2、5、6 等聚集,导致下游 TAK1 与 TAB 结合,进而通过激活 MAPK、NF- κ B 通路产生 c-Jun 和 cFos 等, c-Jun 和 cFos 形成异二聚体 AP-1, AP-1 进入核内,正向调控 OC 的分化生长和增殖(图 1)^[2]。此外,这一过程尚需要巨噬细胞-集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)、破骨细胞相关受体等的协同诱导。研究发现,没有 RANKL 这一关键配体^[3],尽管关节内仍有炎症细胞浸润,但并不显示骨损害,因为 OC 没有大量活化。临床发现,抗环瓜氨酸抗体 (anti-citrullinated protein antibody, ACPA) 阳性的 RA 患者早期髌骨和脊柱骨密度均下降,提示 ACPA 在 RA 早期能与体内 OC 及其前体细胞表面的瓜氨酸波形蛋白抗原结合,激活 OC^[4-5]。OPG 来自 OB、单核细胞以及 T、B 细胞,可与 RANK 竞争性结合 RANKL,进而抑制 OC 的生成,发挥骨保护作用^[6]。在自身免疫病 RA 中,炎症会导致滑膜-软骨-软骨下骨大面积骨质疏松,此过程不可逆,且主要依赖 RANKL/RANK/OPG 这一核心轴线。RA 的特征性病理改变是滑膜血管翳里有大量免疫细胞,如单核细胞、淋巴细胞浸润,增生的 FLS 与免疫细胞均能大量生成 RANKL,与 RANK 的亲合力增加,RANKL/RANK 被过度激活,导致破骨细胞生成增加,最终导致不可逆的骨损害或骨质疏松。

RANKL/RANK/OPG 这一信号通路受诸多因素影响,主要是数量众多的细胞因子的调控,这些细胞因子分别是由 CD4⁺ T 细胞的 4 个亚群产生,即辅助性 T 细胞 Th1、Th2、Th17 和调节性 T 细胞 Treg。这 4 种不同的 T 细胞分别分泌不同的细胞因子,但它们之间又相互联系,组成了一个极其庞大而又复杂的细胞因子调控网络。白细胞介素 1 (interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-17、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促进破骨细胞生成;而 IL-4、IL-10、IL-13、干扰素- α (interferon- α , IFN- α)、

IFN- β 和 IFN- γ 等拮抗破骨细胞的生成。现阶段许多治疗性生物制剂都是以细胞因子为基础开发而成的靶向药^[7-10]。除了调控骨平衡系统,这些细胞因子更主要的作用是直接或者间接调节免疫活性细胞或者调节性 T 细胞,从而影响 RA 的发生发展和预后。本文将着重讨论一些近年来比较重视的细胞因子对 RA 骨平衡破坏的调节作用。

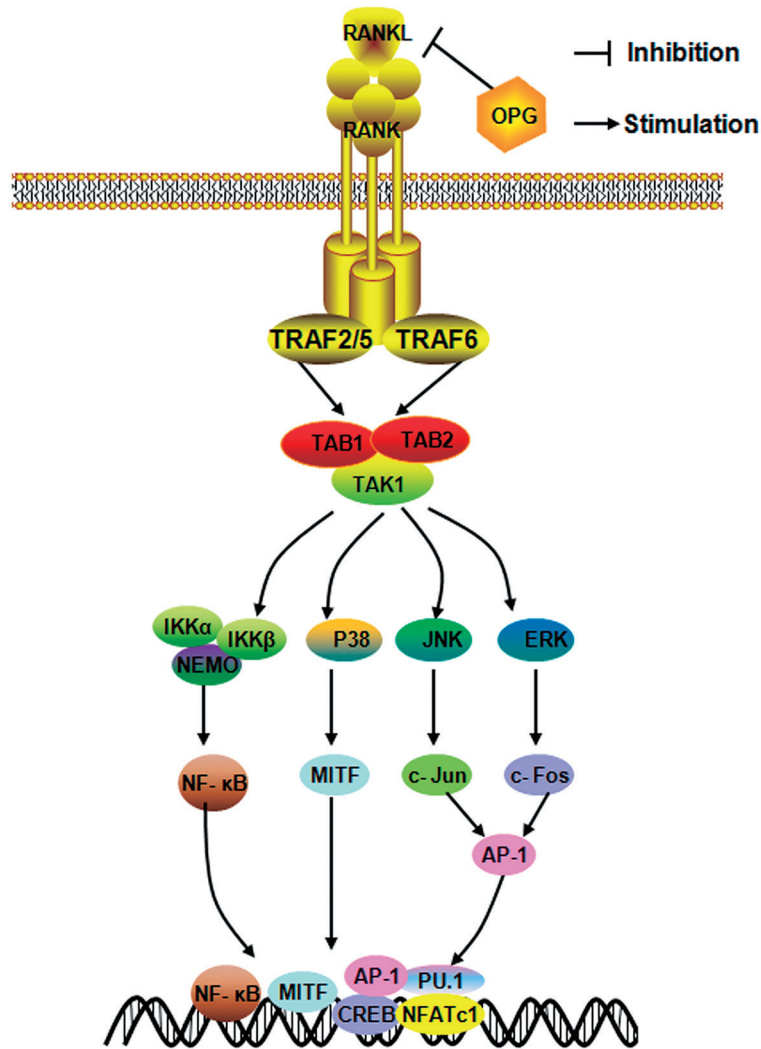
1.1 TNF- α

TNF- α 主要由 Th1 细胞产生,是调控 RANKL/RANK/OPG 轴线的的一个重要的促炎性细胞因子,对破骨细胞生成有很强的诱导作用。它能促进单核细胞向破骨细胞的快速分化和 RANKL 的过表达。在 TNF- α 的破骨细胞生成作用中,TRAFs 发挥了关键的作用,没有 TRAFs,下游关键信号通路分子 NF- κ B 无法激活^[11]。IL-1 β 也能上调 RANKL,促进 OC 前体细胞分化^[12],且通常与 TNF- α 同时存在。IL-1 β 与 TNF- α 协同导致的骨损害比各自单独作用明显且严重。

大量研究表明,降低体内 TNF- α 水平能很大程度上延缓 RA 骨损伤^[7,10,13]。在碘乙酸单钠诱导的骨关节炎模型中,TNF 抗体能显著降低 ($P < 0.05$) TNF- α 、IL-1 β 、IL-4 和 IL-6 等炎性细胞因子的水平和骨关节损伤评分^[13],该抑制作用是通过下调 Toll 样受体 3 (Toll like receptor 3, TLR-3),增加 ERK 和 AKT 磷酸化水平完成的。研究人员利用 CIA 大鼠模型研究骨损伤机制,发现 IKK 激活后,NF- κ B 抑制蛋白 (NF- κ B inhibitor, I κ B) 被泛素化降解,NF- κ B 从胞浆转运至胞核中,与目标基因启动子结合上调促炎因子基因的表达,如 TNF- α 、IL-1 β 和 COX2,从而导致免疫调控向 OC 生成转变^[14];继续用纳米金治疗此模型大鼠后检测到 TNF- α 、IL-1 β 和 COX2 水平下降。Zhou 等^[8]利用 IKK 抑制剂氨来咕诺 (amlexanox),发现血清促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平比正常下调,也间接证明了 TNF- α 经 NF- κ B 通路调节 OC 生成。综上所述,不同实验可测定不同的 TNF- α 促炎通路,表明其调控方式多样,而且下游受调控因子众多。因此,TNF 抗体能在临床应用中取得较好疗效^[10]。

1.2 IL-17

IL-17 主要由近年来发现的辅助性 Th17 细胞产生,也可以由 $\gamma\delta$ T 细胞、NKT 细胞和固有淋巴细胞等产生。对 IL-17 的研究包括 RA 骨损伤机制相比 TNF- α 较少,然而,研究热度正在增加。抑制初始 T 细胞向 Th17 分化能减轻骨损害^[15]。Th17 细胞彻



注: RANKL: receptor activator of the nuclear factor κ B ligand (核因子 κ B受体活化因子配体); RANK: receptor activator of the nuclear factor κ B (核因子 κ B受体活化因子); OPG: osteoprotegerin (骨保护素); TRAF: tumor necrosis receptor-associated factor (破骨细胞前体胞质内肿瘤坏死因子受体相关因子); TAK1: transforming growth factor- β kinase 1 (转化生长因子 β 激酶1); TAB: transforming growth factor- β kinase 1 binding protein (转化生长因子 β 激酶1相关蛋白); IKK: inhibitor of NF- κ B kinase (NF- κ B抑制激酶); AP-1: activator protein 1 (转录因子激活蛋白-1); NFATc1: nuclear factor of activated T cells c1 (活化的T细胞核因子1)。

OC分化机制: RANKL与OC前体细胞表面RANK结合, 招募OC前体胞质内 TRAF2、5、6等聚集, 引起TAK1与TAB结合, 进而激活MAPK (P38、JNK、ERK)、NF- κ B通路, 产生c-Jun和 cFos等, 两者形成异二聚体AP-1后进入胞核内, 协同NF- κ B、NFATc1等正向调控OC的分化生长和增殖^[2]。

图1 OC分化分子机制

底分化成熟需要 TGF- β 、IL-21、IL-6 等细胞因子^[16]。2015年, Lubberts^[17]提出, IL-23对Th17的成熟分化作用也必不可少, 滑膜组织中巨噬细胞和树突状细胞可以产生这些促炎因子; 同时, 还产生趋化因子, 与Th17表面的趋化因子受体6 (CCR6)结合, 最终导致Th17细胞的分化, 并产生促炎因子IL-17。IL-17能促进其他炎症因子, 如IL-6、IL-8、PGE2的产生, 加强促OC分化作用。Shaw等^[18]发现,

IL-17促进K/BxN小鼠体内人分泌型卷曲相关蛋白1 (sFRP1)分泌, 减少sFRP3的分泌; 增多的sFRP1和减少的sFRP3均能抑制WNT/ β -catenin/RUNX2通路, 负调控OB生成。Komatsu等^[19]提出Th17细胞还来自于CD4⁺Foxp3⁺Treg细胞, 因为动态追踪到RA患者Treg不表达Foxp3而表达IL17, 提示Treg向Th17的转化。转化后的Th17细胞分泌的IL-17诱导的破骨作用更为强大, 分析有两种可

能：一种是 RA 关节腔中强大的自身免疫炎症微环境提供反应条件，转化后的 Th17 分泌的 IL-17 数量更多；二是除了 IL-17 以外，还产生了其他可诱导破骨细胞产生的细胞因子。一般体内 Treg 和 Th17 细胞以及它们分泌的细胞因子处于平衡状态。RA 早期，即可以检测到此平衡失调：IL-17 数量增多，平衡偏向 Th17，开始逐渐造成骨损害。同时，Th1 和 Th17 之间也存在互相转化，研究认为 Th17 在 RA 早期发挥作用，在疾病进展期，用 IL-23 和 IL-12 诱导 Th17 分泌的是 IFN- γ ^[20]，而 Th1 细胞产生 IFN- γ ，说明 Th17 可能在后期能转化为 Th1，Th1 在 RA 进展期发挥主导作用。Kotake 等^[21]证实了 IL-17 仅在 RA 早期发挥促炎效应，因此实验中抗 IL-17 抗体仅在 RA 早期使用有效。

1.3 IL-6

IL-6 在 RA 骨损害中的作用也受到越来越多的关注。正常情况下，IL-6R 包括 1 个 gp80 和 1 个 gp130 亚单位。gp80 仅在特定白细胞亚群和肝细胞膜表达，而 gp130 广泛稳定表达。正常情况下，游离型 gp80 可来自 IL-6R 限制性水解，在自身免疫性疾病中该基因还处于高表达水平。MKP1 (丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶 1) 和 MKP7 是编码 JNK (c-Jun 氨基末端激酶) 磷酸酶的两个基因，这两个基因水平升高与 JNK 去磷酸化有关；Semp2 (sentrin-specific protease 2) 和 Cul4A (cullin-4A) 基因的表达与 NF- κ B 抑制蛋白泛素化降解有关。Yoshitake 等^[22]检测到生理情况下，IL-6 通过上调 MKP1 和 MKP7，下调 Semp2 和 Cul4A 共同导致依赖 RANKL 的下游信号的分子 NF- κ B、JNK 减少，最终导致 OC 生成减少，因此，在生理情况下，IL-6 防止骨过度破坏。炎症反应时，虽然 IL-6 对 OC 前体细胞的直接作用是抑制，但间接作用却是促进，这是通过 IL-6 先与游离的 gp80 结合，再与 OB 膜上 gp130 结合，促进 OB 分化之后间接促进 OC 分化完成的，最终促进效应大于抑制效应。此外，作为促炎因子，IL-6 与受体结合后可启动胞内酪氨酸激酶磷酸化级联反应，特异性活化 STAT3。Oike 等^[23]研究表明，在 CIA 模型中 STAT3 抑制剂美洛昔康能减轻大鼠的异常炎症反应和骨损害，提示经过 JAK/STAT3 通路造成 CIA 大鼠骨损害。Miao 等^[24]用抗 gp130 单抗 (M10) 中和 IL-6 后发现，CIA 大鼠关节肿胀程度减轻，且检测到 FLS 表达的 WNT5A、RANKL、STAT3 磷酸化均减少，提示 IL-6 分别通过 JAK/STAT3 和 WNT 通路促进 OC 分化和抑制 OB 生成。

1.4 IL-4和IL-13

IL-4 和 IL-13 是 Th2 类细胞分泌的一类抗炎细胞因子，它们不仅共享受体 IL-4R α ，而且共同经 STAT6 调节下游信号，这两项特点奠定了 IL-4 和 IL-13 具有相似效应的基础。IL-4 既能抑制促炎因子，如 TNF- α 、IL-6、PGE2 等，又能诱导抑炎介质的表达^[25]。Mangashetti 等^[26]检测到成熟 OC 表达 IL-4R mRNA，说明 IL-4 能直接影响 OC 分化。进一步研究发现，IL-4 降低了 OC 内 TRAP 和 Ca²⁺ 水平，抑制 NF- κ B 亚单位 p65 核转位。在 RA 早期，IL-13 和 IL-4 能协同增加 OPG，减少 RANKL 的表达，而在晚期则具有相反的效应^[27]。蠕虫反应诱导 Th2 免疫应答和中性粒细胞浸润。Chen 等^[28]检测到感染巴西日圆线虫的 RA 模型小鼠关节内 Th2 细胞和嗜酸性粒细胞增多，产生大量 IL-4 和 IL-13，经 IL-4/IL-13-STAT6 抑制了 OC 的分化；同时，还能招募 IL-10 和 Foxp3⁺ Treg，一定程度上抑制骨吸收，改善了关节炎。

1.5 IL-10

IL-10 也是一类重要的抗炎因子，曾被报道比 IL-4 的抗炎效应更强。几乎所有的免疫细胞都能产生 IL-10，如单核细胞、巨噬细胞、DC、Th1、Th2、B 细胞。由于它的半衰期较短，所以在自身免疫病的治疗中，外源给予 IL-10 不但相对内源产生的量来说小得多，而且效应难以评估。因此，对内源性 IL-10 的保护将成为 IL-10 发挥其抗炎作用的切入点。已知 IL-10 能抑制 OC 的生成，Evans 和 Fox^[29]用 RANKL 与小鼠单核细胞系 RAW264.7 共同培养建立 OC 生成模型，检测 IL-10 抑制 OC 生成是否与 DAP12、c-jun、TRAF6、p38、NF- κ B、NFATc1 这几个热门信号分子受到负调控相关，结果发现只有 NFATc1 表达水平降低，同时，它的核转位也被抑制。CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg 是 CD4⁺ T 细胞家族中起免疫负调控作用的一类细胞，它能抑制促炎因子的过度活化，活性 Treg 在 RA 患者体内表达量下降。Xu 等^[30]发现，雷公藤能通过上调 Treg 促进 IL-10 和 TGF- β 的表达，进而延缓关节骨质破坏，说明在某些情况下，Treg 能通过 IL-10 间接发挥免疫抑制效应。

1.6 IFNs

IFN 有两大类三种：IFN- α 、IFN- β 和 IFN- γ ，分别由白细胞、成纤维细胞和 T 淋巴细胞产生，前两种属于 I 型，IFN- γ 属于 II 型。IFN- α 通过直接减少 c-Fos 进而抑制 OC 的生成^[31]。RANKL 通过

JAK1/STAT3/c-Fos 通路促进 OC 生成^[32], RANKL 能诱导 JAK1 的泛素化降解,同时能诱导 OC 前体细胞内源性 IFN- β 的产生,IFN- β 负调控 OC 生成的能力^[33]与 OC 前体细胞内早期未被 RANKL 降解的 JAK1 水平呈正相关,所以,最终虽然此通路中 c-Fos 的表达水平降低,但 OC 生成水平并未降低。Zhao 等^[34]发现,CIA 大鼠模型滑膜液中内源性 IFN- β 生成减少,利用外源性 IFN- β 进行治疗后,c-Fos 和 NFATc1 表达均下调,软骨和骨损伤均有所减轻,推测与外源性 IFN- β 直接抑制 RANKL 表达有关。IFN- γ 和脂多糖产生 iNOS 和 NO,它们的表达和释放需要由 RANKL 和 IFN- β 触发,此过程由 NF- κ B 介导,OPG 能抑制此过程。Zheng 等^[11]发现,NO 能通过负反馈抑制 RANKL 进而抑制 OC 生成;IFN- β 抗体能降低 NO 水平,减弱此负反馈作用,致 OC 增多。在生理情况下,IFN- γ 则通过降解 TRAF6,抑制 OC 生成,但在不同的动物模型中,IFN- γ 具有不同的效应^[35-36]。Gao 等^[36]发现在某些特定情况下,如雌激素缺乏的绝经后期和自身免疫炎症环境中,IFN- γ 通过提升 APC 的抗原提呈作用刺激产生大量辅助性 T 细胞,进而产生更多促炎因子,如 RANKL 和 TNF- α ,促进 OC 的生成;同时,在相同环境中,只有当 T 细胞缺乏时,IFN- γ 才能发挥直接的抑制 OC 前体细胞的作用。Kim 等^[35]发现 IFN- γ 本身能抑制 OC 前体细胞分化,但是通过诱导树突状细胞特异性跨膜蛋白能促进单核 OC 前体细胞融合成多核成熟 OC,使 OC 真正发挥骨破坏的作用。

1.7 IL-23

IL-23 属于 IL-12 细胞因子家族,是由 IL-12p40 亚单位及 IL-23 特异性 p19 亚单位以二硫键连接而成的异二聚体。IL-23 与 IL-23R 结合后,下游信号分子 STAT3 磷酸化并转位至核中,诱导 ROR γ t 表达增多,最终导致 IL-17 表达增多,进而通过促进 FLS 等分泌 RANKL 和增加 OC 前体细胞上 RANK 的表达等促进 OC 生成^[37-38]。Fiocco 等^[39]在银屑性关节病患者滑膜液中检测到 IL-17A-F⁺IL-23⁺CD161⁺CD4⁺T 细胞,认为其与滑膜血管翳形成有关。除了上述间接作用之外,IL-23 还被报道能直接与 OC 前体细胞上的 DAP-12 受体结合,激活免疫受体酪氨酸活化基序 (ITAM),不需要 RANKL 直接促进 OC 生成^[40]。许多动物实验和临床试验均证明,去除 IL-23 对关节炎症状有改善^[41-42],但是这种改善有限,用抗 IL-23p19 单抗治疗 CIA 大鼠最终还是未

能逆转,甚至缓解骨损伤^[43]。一组随机对照临床二期试验分别用 p40 单抗 ustekinumab 和 p19 单抗 guselkumab (两者对银屑性关节病有效)治疗经典 RA 患者,与安慰剂对照组相比,均未能缓解骨损伤,证实了 IL-23 不在 RA 进展期起作用^[44]。IL-23 和 IL-6 可协同 IL-21、IL-1 β 、TGF- β 诱导 CD4⁺T 细胞向 Th17 细胞分化^[45]。综上,虽然目前对 IL-23 的研究有了一些突破性进展,但远不能解释它在调节骨平衡和类风湿性关节炎中的作用机制。

1.8 IL-35

IL-35 是 IL-12 细胞因子家族成员,其他家族成员还包括 IL-12、IL-23 和 IL-27。IL-12 家族由 α 链 (p19/IL-23 α 、p28/IL-27 和 p35/IL-12 α) 和 β 链 (p40/IL-12 β 和 EB13/IL-27 β) 组成。IL-35 由 1 条 IL-12 α 链 (p35) 和 1 条 IL-27 β 链 (EB13) 以二硫键相连而成^[46]。EB13 由 EB 病毒感染 B 淋巴母细胞后诱导产生,与 IL-12p40 和睫状神经营养因子受体同源^[47]。4 个家族成员在组成上相似,受体也具有同源性,功能却不同。IL-35 受体由 1 条 IL-12R β 2 (IL-12 受体组成部分) 和 1 条 gp130 (IL-27 受体组成部分) 组成。IL-35 与其受体结合后可分别激活下游 STAT1 和 STAT4 信号转导系统。

2018 年, Sakkas 等^[48]研究发现,IL-35 功能失调与 RA 相关。Hou 等^[49]将表达 IL-35 的质粒注入野生型小鼠后发现,小鼠体内 IL-10 和 TGF- β 水平上调,INF- γ 、IL-12 和 IL-17 水平下调。F4/80⁺CD80⁺ 和 F4/80⁺CD206⁺ 分别是 M1 型和 M2 型巨噬细胞的标志,IL-35 能间接促进巨噬细胞向抗炎 M2 型分化^[50]。将 RA 患者外周血分离出的 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺T 细胞与 IL-35 共培养,发现 Treg 的负调控效应增强,IL-17 和 IFN- γ 的水平下降^[51]。RA 急性发作期和进展期患者血清中 IL-35 水平较稳定期和非进展期低^[51]。CIA 大鼠滑膜组织中 IL-17 和 RANKL 表达水平明显上升,OPG 数量明显下降,加入 IL-35 后能逆转以上效应^[52]。

IL-35 是 IL-12 家族新发现的成员,目前尚无临床试验表明 IL-35 可用于 RA 的治疗。然而,它强大的抑炎作用使其在 RA 各阶段扮演的角色值得详细研究。

2 细胞因子及抗细胞因子抗体在调节和干预 RA 中的研究进展

细胞因子在调节 RA 进展的不同阶段具有异质性。例如,IL-23 仅在 RA 发病早期起作用,进展

期没有作用^[44]；IL-13和IL-4早期促进RA进展，晚期则抑制RA进展^[27]；IL-17仅在RA早期发挥促炎效应，晚期不发挥促炎作用^[21]；内源性IL-35有促炎效应，但在RA发病早期抑制炎症反应，在晚期和慢性发展阶段则发挥促炎效应^[53]。

自20世纪末TNF- α 抑制剂出现后，RA的药物治疗便进入特异性阻断细胞因子作用的单克隆抗体或者抗体衍生品——生物制剂的新时代^[54]。EULAR推荐的2016最新药物指南提出：一旦确诊为RA，需要立即使用改善病情的抗风湿药，如使用一种传统合成改善病情的抗风湿药(disease modifying antirheumatoid drugs, DMARDs)的远期预后不佳，或两种传统合成DMARDs联合使用不能达到理想效果，则推荐使用生物制剂或靶向合成药^[55]。指南中并未明确指出传统DMARDs无效后应具体使用哪种生物制剂或靶向合成药，所以提示强调个体化治疗。截至到目前，已被批准为治疗RA的生物制剂共有5类：TNF抑制剂^[56]、T细胞共刺激阻断药^[57]、IL-6受体抑制剂^[58]、B细胞去除治疗剂^[59]和IL-1抑制剂^[60]。生物制剂在RA治疗和转归中具有双重性，如利用抗TNF- α 抗体治疗RA，部分患者出现充血性心力衰竭，但是，也有一些合并心衰的RA患者治疗之后不仅关节炎症减轻，而且心脏功能得到改善^[61]。

TNF抑制剂包括英夫利西单抗、阿达木单抗、依那西普单抗；T细胞共刺激阻断药包括阿塞西普、阿巴西普、贝拉西普；IL-6受体抑制剂包括托珠单抗；B细胞去除治疗药物包括戈利木单抗、赛妥珠单

抗和利妥昔单抗；IL-1抑制剂包括阿那白滞素和康纳单抗。GM-CSF抑制剂如Mavrilimumab^[62]、RANKL抑制剂如狄诺塞麦^[63]以及IL-17单抗如苏金单抗虽然已经用于治疗其他自身免疫性疾病，但对RA的治疗作用尚处于临床及临床前试验阶段^[64]。

3 结论

细胞因子种类繁多，联系密切，调节机制复杂，与RA骨损害之间有密切联系(表1)。在RA发病早期，主要是IL-1、IL-4、IL-6、IL-17、TNF- α 等这些重要的常见细胞因子起主要作用。进展期存在以下两种情况：一些促炎因子将不具备原有效应或转变为其他促炎因子，如IL-17；一些抑炎细胞和抑炎因子失去效应，甚至具备相反效应，如IL-4和Treg。除了需要注意不同时期细胞因子作用的转变，不同RA患者由细胞因子调节失衡引起的骨损害机制也不尽相同，因此，给予适当治疗前检测患者体内细胞因子的水平有助于诊断和精确治疗疾病。

在临床治疗中，当发现RA患者出现关节损伤和骨损害时，往往提示疾病进展已经不可逆转，因此，提高RA早期诊断率，加强患者的健康意识十分重要。一旦确诊为RA，需根据个体情况进行药物干预治疗。药物分为基础NSAIDs类、DMARDs、生物制剂等。虽然生物制剂治疗靶点较DMARDs精准，起效更快，但是价格昂贵，而且因患者个体差异并不能保证对所有的RA患者均有效^[9,21,65-66]。有些个体两种药物联合使用的效果大于单药^[67-69]，所以，临床用药时针对患者的个体化评估显得尤为

表1 细胞因子的功能

细胞因子	功能	参考文献
OPG	与RANKL竞争性结合RANK	[6]
TNF- α	(与IL-1 β 协同)促进破骨细胞的快速分化；上调RANK和RANKL；激活MAPK和NF- κ B通路 路上调其他促炎因子	[11-14]
IL-17	促进IL-6、IL-8、PGE2等其他促炎因子表达；经WNT/ β -catenin/RUNX2抑制OB生成	[17-18]
IL-6	诱导RANKL表达，抑制RANK；经JAK/STAT3促进OC分化，抑制OB生成	[22-24]
IL-4	通过抑制NF- κ B通路影响OC分化；在RA早期上调OPG，下调RANKL	[26-27]
IL-10	通过抑制NFATc1，减少OC生成	[29]
IL-13	通过抑制NF- κ B通路影响OC分化；在RA早期上调OPG，下调RANKL	[26-27]
IFN- α	直接减少c-Fos	[31]
IFN- β	间接减少c-Fos；部分由OC产生且负反馈抑制OC；直接抑制RANKL	[32-34]
IFN- γ	加强APC的抗原提呈作用，产生促炎因子，促进OC生成；促进OC前体细胞融合成成熟OC	[42-43]
IL-23	在RA早期促进FLS等分泌RANKL和增加OC前体细胞上RANK的表达，促进OC生成；促进 IL-17分泌；直接激活OC	[37-40]
IL-35	抑制RA炎症；增强Treg的免疫负调控效应；下调RANKL，上调OPG	[49-52]

重要。此外, 由于生物制剂是新药, 而且主要通过免疫抑制作用发挥效应, 所以, 它的远期不良反应, 如肿瘤发生有待评估, 目前有关此类报道甚少。这就要求药物研发者不仅要确保药物的疗效, 而且要警惕它们的潜在风险; 临床医生更应该在选择药物时权衡利弊, 严格把握药物使用适应证。综上, 以细胞因子调控骨平衡为切入点, 寻找精确的诊断指标, 研发更精准的免疫靶向治疗药物迫在眉睫。

[参 考 文 献]

- [1] Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2001, 358: 903-11
- [2] Amarasekara DS, Yun H, Kim S, et al. Regulation of osteoclast differentiation by cytokine networks. *Immune Netw*, 2018, 18: e8
- [3] Takeuchi T, Tanaka Y, Ishiguro N, et al. Effect of denosumab on Japanese patients with rheumatoid arthritis: a dose-response study of AMG 162 (Denosumab) in patients with rheumatoid arthritis on methotrexate to validate inhibitory effect on bone erosion (DRIVE)-a 12-month, multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase II clinical trial. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75: 983-90
- [4] Bugatti S, Bogliolo L, Vitolo B, et al. Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18: 226
- [5] Kocijan R, Harre U, Schett G. ACPA and bone loss in rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep*, 2013, 15: 366
- [6] Krajewska-Wlodarczyk M, Stompor T. Osteoporosis and vascular calcification in rheumatoid arthritis --- the role of osteoprotegerin and sclerostin. *Pol Merkuri Lekarski*, 2017, 43: 41-7
- [7] Aldayel AM, O'Mary HL, Valdes SA, et al. Lipid nanoparticles with minimum burst release of TNF- α siRNA show strong activity against rheumatoid arthritis unresponsive to methotrexate. *J Control Release*, 2018, 283: 280-9
- [8] Zhou LF, Zeng W, Sun LC, et al. IKK ϵ aggravates inflammatory response via phosphorylation of ERK in rheumatoid arthritis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22: 2126-33
- [9] Suzuki T, Nakamura Y, Kato H. Effects of denosumab on bone metabolism and bone mineral density with anti-TNF inhibitors, tocilizumab, or abatacept in osteoporosis with rheumatoid arthritis. *Ther Clin Risk Manag*, 2018, 14: 453-9
- [10] Shimizu T, Choi HJ, Heilmeyer U, et al. Assessment of 3-month changes in bone microstructure under anti-TNF α therapy in patients with rheumatoid arthritis using high-resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT). *Arthritis Res Ther*, 2017, 19: 222
- [11] Zheng H, Yu X, Collin-Osdoby P, et al. RANKL stimulates inducible nitric-oxide synthase expression and nitric oxide production in developing osteoclasts. An autocrine negative feedback mechanism triggered by RANKL-induced interferon- β via NF- κ B that restrains osteoclastogenesis and bone resorption. *J Biol Chem*, 2006, 281: 15809-20
- [12] Ruscitti P, Cipriani P, Carubbi F, et al. The role of IL-1 β in the bone loss during rheumatic diseases. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 782382
- [13] Yu FY, Xie CQ, Jiang CL, et al. TNF α increases inflammatory factor expression in synovial fibroblasts through the toll-like receptor-3-mediated ERK/AKT signaling pathway in a mouse model of rheumatoid arthritis. *Mol Med Rep*, 2018, 17: 8475-83
- [14] Khan MA, Khan MJ. Nano-gold displayed anti-inflammatory property via NF- κ B pathways by suppressing COX-2 activity. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, [Epub ahead of print]
- [15] Min HK, Kim SM, Baek SY, et al. Anthocyanin extracted from black soybean seed coats prevents autoimmune arthritis by suppressing the development of Th17 cells and synthesis of proinflammatory cytokines by such cells, via inhibition of NF- κ B. *PLoS One*, 2015, 10: e0138201
- [16] Segura E, Touzot M, Bohineust A, et al. Human inflammatory dendritic cells induce Th17 cell differentiation. *Immunity*, 2013, 38: 336-48
- [17] Lubberts E. The IL-23-IL-17 axis in inflammatory arthritis. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11: 562
- [18] Shaw AT, Maeda Y, Gravalles EM. IL-17A deficiency promotes periosteal bone formation in a model of inflammatory arthritis. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18: 104
- [19] Komatsu N, Okamoto K, Sawa S, et al. Pathogenic conversion of Foxp3⁺ T cells into TH17 cells in autoimmune arthritis. *Nat Med*, 2014, 20: 62-8
- [20] Kelchtermans H, Schurgers E, Geboes L, et al. Effector mechanisms of interleukin-17 in collagen-induced arthritis in the absence of interferon- γ and counteraction by interferon- γ . *Arthritis Res Ther*, 2009, 11: R122
- [21] Kotake S, Nanke Y, Yago T, et al. Elevated ratio of Th17 cell-derived Th1 cells (CD161⁺Th1 cells) to CD161⁺Th17 cells in peripheral blood of early-onset rheumatoid arthritis patients. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 4186027
- [22] Yoshitake F, Itoh S, Narita H, et al. Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF- κ B signaling pathways. *J Biol Chem*, 2008, 283: 11535-40
- [23] Oike T, Sato Y, Kobayashi T, et al. Stat3 as a potential therapeutic target for rheumatoid arthritis. *Sci Rep*, 2017, 7: 10965
- [24] Miao P, Zhou XW, Wang P, et al. Regulatory effect of anti-gp130 functional mAb on IL-6 mediated RANKL and Wnt5a expression through JAK-STAT3 signaling pathway in FLS. *Oncotarget*, 2018, 9: 20366-76
- [25] Ursaciuc C, Surcel M, Ciotaru D, et al. Regulatory T cells and TH1/TH2 cytokines as immunodiagnosis keys in systemic autoimmune diseases. *Roum Arch Microbiol Immunol*, 2010, 69: 79-84
- [26] Mangashetti LS, Khapli SM, Wani MR. IL-4 inhibits bone-resorbing activity of mature osteoclasts by affecting

- NF- κ B and Ca²⁺ signaling. *J Immunol*, 2005, 175: 917-25
- [27] Stein NC, Kreutzmann C, Zimmermann SP, et al. Interleukin-4 and interleukin-13 stimulate the osteoclast inhibitor osteoprotegerin by human endothelial cells through the STAT6 pathway. *J Bone Miner Res*, 2008, 23: 750-8
- [28] Chen Z, Andreev D, Oeser K, et al. Th2 and eosinophil responses suppress inflammatory arthritis. *Nat Commun*, 2016, 7: 11596
- [29] Evans KE, Fox SW. Interleukin-10 inhibits osteoclastogenesis by reducing NFATc1 expression and preventing its translocation to the nucleus. *BMC Cell Biol*, 2007, 8: 4
- [30] Xu H, Zhao H, Lu C, et al. Triptolide inhibits osteoclast differentiation and bone resorption *in vitro* via enhancing the production of IL-10 and TGF- β 1 by regulatory T cells. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 8048170
- [31] Xiong Q, Zhang L, Ge W, et al. The roles of interferons in osteoclasts and osteoclastogenesis. *Joint Bone Spine*, 2016, 83: 276-81
- [32] Takayanagi H, Sato K, Takaoka A, et al. Interplay between interferon and other cytokine systems in bone metabolism. *Immunol Rev*, 2005, 208: 181-93
- [33] Hayashida C, Ito J, Nakayachi M, et al. Osteocytes produce interferon- β as a negative regulator of osteoclastogenesis. *J Biol Chem*, 2014, 289: 11545-55
- [34] Zhao R, Chen NN, Zhou XW, et al. Exogenous IFN- β regulates the RANKL-c-Fos-IFN- β signaling pathway in the collagen antibody-induced arthritis model. *J Transl Med*, 2014, 12: 330
- [35] Kim JW, Lee MS, Lee CH, et al. Effect of interferon- γ on the fusion of mononuclear osteoclasts into bone-resorbing osteoclasts. *BMB Rep*, 2012, 45: 281-6
- [36] Gao Y, Grassi F, Ryan MR, et al. IFN- γ stimulates osteoclast formation and bone loss *in vivo* via antigen-driven T cell activation. *J Clin Invest*, 2007, 117: 122-32
- [37] Chen L, Wei XQ, Evans B, et al. IL-23 promotes osteoclast formation by up-regulation of receptor activator of NF- κ B (RANK) expression in myeloid precursor cells. *Eur J Immunol*, 2008, 38: 2845-54
- [38] Ju JH, Cho ML, Moon YM, et al. IL-23 induces receptor activator of NF- κ B ligand expression on CD4⁺ T cells and promotes osteoclastogenesis in an autoimmune arthritis model. *J Immunol*, 2008, 181: 1507-18
- [39] Fiocco U, Stramare R, Martini V, et al. Quantitative imaging by pixel-based contrast-enhanced ultrasound reveals a linear relationship between synovial vascular perfusion and the recruitment of pathogenic IL-17A-F⁺IL-23⁺ CD161⁺ CD4⁺ T helper cells in psoriatic arthritis joints. *Clin Rheumatol*, 2017, 36: 391-9
- [40] Shin HS, Sarin R, Dixit N, et al. Crosstalk among IL-23 and DNAX activating protein of 12 kDa-dependent pathways promotes osteoclastogenesis. *J Immunol*, 2015, 194: 316-24
- [41] van Nieuwenhuijze AE, van de Loo FA, Walgreen B, et al. Complementary action of granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-17A induces interleukin-23, receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, and matrix metalloproteinases and drives bone and cartilage pathology in experimental arthritis: rationale for combination therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17: 163
- [42] Pfeifle R, Rothe T, Ipseiz N, et al. Regulation of autoantibody activity by the IL-23-TH17 axis determines the onset of autoimmune disease. *Nat Immunol*, 2017, 18: 104-13
- [43] Cornelissen F, Asmawidjaja PS, Mus AM, et al. IL-23 dependent and independent stages of experimental arthritis: no clinical effect of therapeutic IL-23p19 inhibition in collagen-induced arthritis. *PLoS One*, 2013, 8: e57553
- [44] Smolen JS, Agarwal SK, Ilivanova E, et al. A randomised phase II study evaluating the efficacy and safety of subcutaneously administered ustekinumab and guselkumab in patients with active rheumatoid arthritis despite treatment with methotrexate. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76: 831-9
- [45] McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, et al. TGF- β and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T_H-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol*, 2007, 8: 1390-7
- [46] Su LC, Liu XY, Huang AF, et al. Emerging role of IL-35 in inflammatory autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*, 2018, 17: 665-73
- [47] Devergne O, Hummel M, Koeppen H, et al. A novel interleukin-12 p40-related protein induced by latent Epstein-Barr virus infection in B lymphocytes. *J Virol*, 1996, 70: 1143-53
- [48] Sakkas LI, Mavropoulos A, Perricone C, et al. IL-35: a new immunomodulator in autoimmune rheumatic diseases. *Immunol Res*, 2018, 66: 305-12
- [49] Hou C, Wu Q, Ouyang C, et al. Effects of an intravitreal injection of interleukin-35-expressing plasmid on pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. *Int J Mol Med*, 2016, 38: 713-20
- [50] Zhang J, Lin Y, Li C, et al. IL-35 decelerates the inflammatory process by regulating inflammatory cytokine secretion and M1/M2 macrophage ratio in psoriasis. *J Immunol*, 2016, 197: 2131-44
- [51] Nakano S, Morimoto S, Suzuki S, et al. Immunoregulatory role of IL-35 in T cells of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology: Oxford*, 2015, 54: 1498-506
- [52] Li Y, Li D, Li Y, et al. Interleukin-35 upregulates OPG and inhibits RANKL in mice with collagen-induced arthritis and fibroblast-like synoviocytes. *Osteoporos Int*, 2016, 27: 1537-46
- [53] Houshmandi N, Najafipour H, Joukar S, et al. The effect of interleukins 27 and 35 and their role on mediating the action of insulin like growth factor -1 on the inflammation and blood flow of chronically inflamed rat knee joint. *Cytokine*, 2016, 81: 117-26
- [54] Rein P, Mueller RB. Treatment with biologicals in rheumatoid arthritis: an overview. *Rheumatol Ther*, 2017, 4: 247-61
- [55] Smolen JS, Landewe R, Bijlsma J, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76: 960-77

- [56] Kim EY, Moudgil KD. Immunomodulation of autoimmune arthritis by pro-inflammatory cytokines. *Cytokine*, 2017, 98: 87-96
- [57] Mellado M, Martinez-Munoz L, Cascio G, et al. T cell migration in rheumatoid arthritis. *Front Immunol*, 2015, 6: 384
- [58] Raimondo MG, Biggioggero M, Crotti C, et al. Profile of sarilumab and its potential in the treatment of rheumatoid arthritis. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11: 1593-603
- [59] Mota P, Reddy V, Isenberg D. Improving B-cell depletion in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13: 667-76
- [60] Cavalli G, Dinarello CA. Treating rheumatological diseases and co-morbidities with interleukin-1 blocking therapies. *Rheumatology: Oxford*, 2015, 54: 2134-44
- [61] Kotyla PJ. Bimodal function of anti-TNF treatment: shall we be concerned about anti-TNF treatment in patients with rheumatoid arthritis and heart failure? *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 1739
- [62] Burmester GR, McInnes IB, Kremer J, et al. A randomised phase IIb study of mavrilimumab, a novel GM-CSF receptor α monoclonal antibody, in the treatment of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76: 1020-30
- [63] Fassio A, Rossini M, Viapiana O, et al. New strategies for the prevention and treatment of systemic and local bone loss; from pathophysiology to clinical application. *Curr Pharm Des*, 2017, 23: 6241-50
- [64] Kim EK, Kwon JE, Lee SY, et al. IL-17-mediated mitochondrial dysfunction impairs apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through activation of autophagy. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e2565
- [65] Shan J, Zhang J. Impact of obesity on the efficacy of different biologic agents in inflammatory diseases: a systematic review and meta-analysis. *Joint Bone Spine*, 2018, pii: 51297-319x(18)30050-2
- [66] Wijekoon S, Bwalya EC, Fang J, et al. Chronological differential effects of pro-inflammatory cytokines on RANKL-induced osteoclast differentiation of canine bone marrow-derived macrophages. *J Vet Med Sci*, 2017, 79: 2030-5
- [67] Tanaka Y. Homeostasis and disorder of musculoskeletal system. progress in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Calcium*, 2018, 28: 395-401
- [68] Yago T, Nanke Y, Kawamoto M, et al. IL-23 and Th17 disease in inflammatory arthritis. *J Clin Med*, 2017, 6: 81
- [69] Wu Q, Wang Y, Wang Q, et al. The bispecific antibody aimed at the vicious circle of IL-1 β and IL-17A, is beneficial for the collagen-induced rheumatoid arthritis of mice through NF- κ B signaling pathway. *Immunol Lett*, 2016, 179: 68-79