

· 论著 ·

文章编号: 1007-8738(2020)11-1026-06

不同免疫细胞亚群引起的炎症参与类风湿性关节炎骨破坏

万磊¹, 刘健^{1*}, 黄传兵¹, 谌曦¹, 赵磊², 范海霞¹, 葛瑶¹, 刘天阳¹, 刘磊¹(安徽中医药大学: ¹第一附属医院风湿病科, ²研究生院, 安徽 合肥 230031)

[摘要] 目的 观察类风湿性关节炎(RA)患者骨破坏与T细胞、调节性T细胞(Treg)、CD19⁺B细胞及免疫炎症的关系。方法 随机选取20例RA患者及20例正常对照者,采用DXEA双能X线骨密度仪测定骨密度,ELISA检测血清I型辅助T(Th1)细胞因子γ干扰素(IFN-γ)、Th2细胞因子白细胞介素4(IL-4)、IL-17、I型前胶原蛋白氨基端前肽(PINP)、I型胶原蛋白羧基端肽(CTX)、核因子κB受体激活蛋白配体(RANKL)、骨保护素(OPG)。采用流式细胞术测定外周血T细胞亚群、Treg、CD19⁺B细胞, Spearman法分析T细胞、Treg、B细胞与骨密度、Th1、Th2细胞因子相关性。结果 RA患者骨密度T值较正常对照组降低,在RA组中双前臂骨密度T值较腰椎降低。与正常对照组相比,RA组血清IFN-γ、IL-17、Th1/Th2细胞、CTX、RANKL升高,IL-4、PINP降低;RA组外周血CD4⁺/CD8⁺T细胞比值、CD19⁺B细胞增加,CD8⁺T细胞、CD4⁺CD25⁺Treg比例减少。相关性分析显示,RA外周血CD8⁺T细胞与Th1/Th2细胞、IL-17呈正相关,CD4⁺CD25⁺Treg与CTX呈负相关,CD19⁺B细胞与OPG呈负相关。结论 T细胞、CD19⁺B细胞可能通过释放细胞因子介导炎症参与RA骨破坏过程。

[关键词] 类风湿性关节炎(RA); 骨破坏; T细胞亚群; CD19⁺B细胞; 调节性T细胞(Treg); 免疫细胞; 炎症

[中图分类号] R593.22, R453.9, R593.2, R392.12 **[文献标志码]** A

DOI:10.13423/j.cnki.cjcmi.009103

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)特征是关节肿胀、关节压痛和持续性滑膜炎,关节骨质破坏导致严重的残疾^[1-2]。RA疾病过程涉及关节及整个骨骼出现进行性骨量减少,并发展为关节周围和全身性骨质疏松症^[3]。RA骨质破坏可通过滑膜、骨髓的细胞因子分泌来介导,且疾病处于活动状态更易发生骨质破坏^[4]。因此,早期抑制RA滑膜炎骨破坏对于预防关节周围骨质减少意义重大。RA全身性骨质疏松具有多种病因。既往研究仅观察RA骨质破坏的程度,而从免疫炎症角度探讨RA骨破坏较少。而免疫功能紊乱在RA骨破坏中起重要作用^[5]。RA关节骨质疏松与T淋巴细胞、B淋巴细胞、辅助T(helper T, Th)细胞有关,成骨细胞和T、B免疫系统细胞之间存在相互作用^[6]。研究显示,CD4⁺T细胞在促进RA滑膜病理破坏和骨质破坏中起作用^[7-8]。风湿病骨质疏松涉及Th亚群的I型辅助T(T helper type 1, Th1)细胞、Th17细胞,调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)和相关细胞因子^[9]。在炎症过程中RA滑膜腔中发现激活的Th1细胞和Th17

细胞。破骨细胞生成效应细胞因子核因子κB受体激活蛋白配体(receptor activator of NF-κB ligand, RANKL)、Th细胞分泌细胞因子如γ干扰素(interferon γ, IFN-γ)、白细胞介素17(interleukin 17, IL-17)表达增加影响RA骨量代谢^[10]。研究发现在RA滑液和外周血表达的表型中Th1细胞或Th17细胞较集中^[11]。B细胞同样在RA骨破坏中发挥作用。为验证T细胞、Treg、B细胞是否参与介导RA骨破坏过程,本研究通过观察RA患者CD4⁺/CD8⁺T细胞比值、Treg、CD19⁺B细胞数量变化,探讨是否伴随炎症变化诱导RA骨破坏,从而为探索RA骨破坏可能的发生机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

在2019-01-01/2019-12-31安徽中医药大学第一附属医院风湿免疫科住院患者中,随机选取20例RA患者(RA组)。年龄(30~70)岁,平均年龄(45.65±12.87)岁。RA诊断标准符合2010年

收稿日期: 2020-08-18; 接受日期: 2020-10-28

基金项目: 科技部国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项(2018YFC1705204); 国家自然科学基金(81973655); 安徽省重点研究和开发计划对外科技合作项目(201904b11020011); 安徽省省级质量工程教学研究项目(2018jyxm1068); 安徽省名中医刘健工作室建设项目(中医药发展秘[2018]11号); 全国中医药创新骨干人才培训项目(国中医药人教函[2019]128号); 安徽省重点研究与开发计划项目(201904a07020004); 安徽现代中医内科应用基础与开发研究省级实验室项目(2016080503B041); 安徽省第12批“115”创新团队项目(皖人才办[2019]1号); 安徽省教育厅高校自然科学研究重点项目(KJ2018A0279)

作者简介: 万磊(1982-),男,安徽巢湖人,副主任医师,副教授,博士

Tel: 0551-62850054; E-mail: yxwanlei@163.com

* 通讯作者,刘健, E-mail: liujianahzy@126.com

美国欧洲风湿病联盟分类标准^[12]。另设 20 例与 RA 组年龄、性别相匹配的正常健康者为正常对照组,两组年龄、性别比较,差异无统计学意义。研究方案通过安徽中医药大学第一附属医院伦理委员会审核,患者及志愿者均签署知情同意书。Challenger-98 型双能 X 线骨密度仪购自 DMS 公司; NovoCyte 型流式细胞仪、多甲藻黄素-叶绿素蛋白 (peridinin chlorophyll protein, PerCP) 标记的抗 CD45 抗体 (CD45-PerCP)、别藻蓝蛋白 (allophycocyanin, APC) 标记的抗 CD4 抗体 (CD4-APC)、藻红蛋白 (phycoerythrin, PE) 标记的抗 CD8 抗体 (CD8-PE)、异硫氰酸荧光素 (fluorescein Isothiocyanate, FITC) 标记的抗 CD3 抗体 (CD3-FITC)、CD19-APC、CD4-FITC、CD25-PE 购自 ACEA Biosciences 公司。IFN- γ 、IL-4、IL-17、I 型前胶原蛋白氨基端前肽 (type I procollagen amino-terminal propeptide, PINP)、I 型胶原蛋白羧基端肽 (carboxyl terminal peptide of type I collagen, CTx)、RANKL、骨保护素 (osteoprotectin, OPG) 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 DXEA 双能 X 线骨密度仪测定骨密度 采用 DXEA 双能 X 线骨密度仪测定股骨颈、腰椎 L2~L4、双前臂骨密度,以 T 值代表骨质量。

1.2.2 ELISA 检测血清 IFN- γ 、IL-4、IL-17、PINP、CTx、RANKL、OPG 水平 采用生化管于 7:00 采集全血,自然凝固后,3000 r/min 离心 10 min,获得上清液即血清。采用 ELISA 检测 Th1 细胞因子 IFN- γ 、Th2 细胞因子 IL-4、Th17 细胞因子 IL-17、骨形成标志物 PINP、骨吸收标志物 CTx、RANKL、OPG,具体操作步骤参照试剂盒说明书进行。

1.2.3 流式细胞术测定外周血 T 细胞、Treg、B 细胞 取 RA 患者 EDTA 抗凝外周血 100 μ L,加入荧光基团标记的抗体: CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PerCP/CD4-FITC (标记 T 细胞)、CD4-FITC/CD25-PE (标记 Treg)、CD3-FITC/CD19-APC (标记 CD19⁺ B 细胞) 各 10 μ L,室温闭光反应 30 min; 加 2 mL 溶血剂在室温下溶解红细胞,室温闭光约 10 min; PBS 洗涤 2 次,离心 5 min 弃上清; 每份标本加入 1 g/L 多聚甲醛 500 μ L 后用流式细胞仪检测。结果判定: 采用 ACEA 公司的自动软件进行 T 细胞、Treg、CD19⁺ B 细胞测定和分析,计算出百分比。

1.2.4 统计学分析 采用社会科学统计软件包 20.0 进行统计学处理,实验数据为连续性变量用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料采用独立样本 *t* 检验,相关性分析采用 spearman 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RA 患者骨密度降低

骨密度测定结果显示,RA 组股骨颈、腰椎 L2~L4 及双前臂骨密度 T 值较正常对照组降低,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。且在 RA 组中,双前臂骨密度 T 值较腰椎 L2-L4 降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而股骨颈与腰椎 L2-L4 骨密度比较,股骨颈与双前臂骨密度比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$,表 1)。

表 1 RA 股骨颈、腰椎、双前臂骨密度变化比较

组别	骨密度 T 值 (g/cm^3)		
	股骨颈	腰椎 L2~L4	双前臂
正常对照组	0.42 \pm 0.16	0.56 \pm 0.28	0.44 \pm 0.21
RA 组	1.54 \pm 0.81 ^b	1.17 \pm 0.69 ^b	1.61 \pm 0.69 ^b

^b $P < 0.01$ vs 正常对照组。

2.2 RA 组血清 IFN- γ 、IL-17 水平及 Th1/Th2 细胞比值升高,IL-4 水平降低

血清细胞因子比较发现,与正常对照组比较,RA 组血清 IFN- γ 、IL-17 水平升高,IL-4 水平降低,Th1/Th2 细胞比值增加 ($P < 0.05$,表 2)。

表 2 血清 IFN- γ 、IL-4、IL-17 水平及 Th1/Th2 细胞比值

检测指标	正常对照组		RA 组
	($n = 20, \bar{x} \pm s$)		
IFN- γ (ng/L)	100.14 \pm 54.80	194.07 \pm 47.41 ^b	
IL-4(ng/L)	217.89 \pm 68.02	176.40 \pm 49.91 ^a	
Th1/Th2 细胞比值	0.72 \pm 0.34	1.08 \pm 0.50 ^a	
IL-17(ng/L)	4.21 \pm 1.55	8.52 \pm 3.29 ^b	

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常对照组。

2.3 RA 患者血清 PINP 水平降低,CTx、RANKL 水平增加

与正常对照组比较,RA 组血清 PINP 水平降低 ($P < 0.05$),CTx、RANKL 水平升高 ($P < 0.01$)。两组 OPG 比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$,表 3)。

表 3 两组 PINP、CTx、RANKL、OPG 比较 ($n = 20, \bar{x} \pm s$)

骨代谢标志物	正常对照组	RA 组
PINP(μ g /L)	6.45 \pm 3.39	4.56 \pm 1.77 ^a
CTx(nmol /L)	7.01 \pm 2.10	10.68 \pm 4.62 ^a
RANKL(pg/mL)	275.74 \pm 80.37	580.59 \pm 158.30 ^b
OPG(pg/mL)	558.43 \pm 182.61	521.28 \pm 98.82

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常对照组。

2.4 RA 患者外周血 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比值、CD19⁺ B 细胞比例增加,CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ CD25⁺ Treg 比例降低

流式细胞术检测结果显示,与正常对照组比较,RA 组外周血 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比值、CD19⁺ B 细胞

表4 RA 外周血 T 细胞、Treg、B 细胞与骨代谢、细胞因子相关性 (n = 20)

		CD4 ⁺ T 细胞	CD8 ⁺ T 细胞	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T 细胞比值	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg	CD19 ⁺ B 细胞
股骨颈 BMD	r	-0.122	-0.011	0.008	0.262	-0.212
	P	0.609	0.965	0.975	0.265	0.369
腰椎 BMD	r	0.000	-0.250	0.021	-0.125	-0.085
	P	1.000	0.288	0.931	0.600	0.723
双前臂 BMD	r	0.364	0.227	0.156	-0.062	-0.056
	P	0.115	0.336	0.512	0.796	0.815
PINP	r	0.048	-0.203	0.027	0.155	0.092
	P	0.840	0.391	0.910	0.514	0.701
CTX	r	0.153	-0.140	0.054	-0.466	-0.051
	P	0.519	0.556	0.821	0.038	0.830
RANKL	r	-0.311	-0.203	-0.006	0.280	0.035
	P	0.182	0.391	0.980	0.232	0.885
OPG	r	-0.138	0.005	0.194	-0.316	-0.604
	P	0.561	0.985	0.413	0.175	0.003
IFN- γ	r	0.203	0.123	-0.293	0.140	0.185
	P	0.391	0.605	0.210	0.556	0.435
IL-4	r	0.074	0.415	0.174	0.253	-0.080
	P	0.758	0.069	0.462	0.283	0.738
Th1/Th2 细胞 比值	r	0.264	0.459	0.019	0.396	0.091
	P	0.261	0.042	0.937	0.084	0.703
IL-17	r	0.319	0.457	-0.289	0.353	0.370
	P	0.171	0.043	0.217	0.126	0.108

3 讨论

RA 骨质疏松症通常发生在炎症性关节炎环境中。RA 骨质流失的重要决定因素是疾病活动、滑膜炎反应和糖皮质激素的使用^[13]。RA 早期关节炎中关节周围骨质疏松反映了疾病活动,因为它与急性期反应物密切相关^[14]。在原发性骨质疏松症疾病中,髌部和桡骨处测量骨矿物质密度比在脊柱处更低。但在 RA 患者中,不仅出现近关节骨质疏松和骨侵蚀,而且在远离炎症关节的部位普遍出现骨质疏松表现。本研究发现 RA 股骨颈、腰椎 L2~L4 及双前臂骨密度明显降低。且在 RA 患者中双前臂骨密度值较腰椎降低明显,与 Makhdoom 等^[15] 研究结果相似。

RA 患者破骨细胞的分化能力与骨破坏密切相关^[16]。RANKL 和 OPG 被认为是破骨细胞募集和激活的调节剂。T、B 淋巴细胞是骨/免疫系统之间共享的细胞和细胞因子效应物^[17]。在 RA 疾病炎症状态下,T、B 淋巴细胞与 RA 骨质疏松症有关^[18]。本研究发现 RA 患者在出现骨密度降低时,CD4⁺/CD8⁺T 细胞比值、CD19⁺B 细胞升高,CD8⁺T 细胞、CD4⁺CD25⁺Treg 表达降低。说明 T 细胞活化可能具有驱动破骨细胞生成和骨质流失的能力。OPG 和 RANKL 受细胞因子的调节。在 RA 滑膜中成纤维细胞和活化 T 细胞均表达 RANKL,从而促进破骨细胞

募集和活化。在炎症细胞因子刺激下,RANKL 导致破骨细胞前体分化为破骨前破骨细胞,汇合在一起形成成熟的多核骨吸收破骨细胞。炎症细胞因子通过刺激增加 RANKL 产生和/或抑制 OPG 表达,从而促进破骨细胞生成和骨吸收。由于 RANKL 和 OPG 是破骨细胞形成的最终下游效应器,OPG 与 RANKL 结合阻止降低破骨细胞分化和骨吸收速率。因此,OPG 和 RANKL 是 RA 免疫系统和骨骼代谢之间联系的重要分子。Th1 细胞分泌 IFN- γ 是一种有效的炎症性和破骨细胞生成因子,它通过成骨细胞谱系细胞上调 RANKL 表达,并降低调节 OPG 的成骨细胞生成。炎症细胞因子如 IL-1、IL-6、IL-17 也通过调节 RANKL 和/或 OPG 的产生来上调破骨细胞生成^[19-20]。本研究发现 RA 血清 Th1 细胞因子 IFN- γ 、Th17 细胞因子 IL-17 及 Th1/Th2 细胞比值升高,IL-4 降低,且在 RA 中血清 PINP 表达亦出现降低,CTX、RANKL 表达升高。说明炎症细胞因子可能促进 RA 破骨细胞形成,并通过调节 RANKL、OPG 来介导。这与 Yang 等^[21] 研究结论相似。根据本研究结果可知,Th 细胞分泌的细胞因子 IL-17 可能在信号转导水平上与 RANKL 产生协同作用,从而进一步增强 RA 破骨细胞生成和骨吸收。

CD4⁺T 细胞涉及体内平衡的重建,该过程涉及 T 细胞增殖。CD4⁺T 细胞亚群进一步调节其他适应性免疫成分,包括 B 细胞和抗原提呈细胞^[22]。CD8⁺T 细胞和 B 细胞涉及相似的过程,并且受细胞因子介导驱动。通过共刺激相互作用和细胞因子产生。在炎症条件下 B 细胞和 T 细胞通过大量分泌 RANKL 和炎症细胞因子破坏骨骼。活化的 T 细胞、B 细胞分泌促破骨细胞生成因子,包括 RANKL、IL-17 和 IFN- γ ,促进骨丢失的受体激活剂表达,从而放大骨吸收并促进骨质破坏^[23]。本研究通过相关性分析显示,RA 外周血 CD8⁺T 细胞与 Th1/Th2 细胞比值、IL-17 水平呈正相关,CD19⁺B 细胞与 OPG 呈负相关。提示 Th 细胞和 Treg 失衡可能与 RA 骨破坏有关。活化的 B 细胞刺激致使 RANKL 升高和 OPG 降低,驱动骨吸收。Th1 细胞分泌 IFN- γ 。IFN- γ 是一种细胞因子,可上调巨噬细胞中的转录因子而增加 T 细胞的抗原提呈,从而进一步诱导 T 细胞活化。RA 滑膜 T 细胞通过分泌 IFN- γ 、IL-17 以及通过细胞间接触机制与巨噬细胞和成纤维细胞直接相互作用,从而促进 RA 滑膜炎,这可能是导致 RA 骨质流失的

关键。由该过程诱导的另一种辅助亚群是 Th17 细胞,其特征在于分泌 IL-17 产生。IL-17 是一种有效的破骨细胞生成因子,可诱导成骨细胞系细胞 RANKL 生成。IL-17 产生的增加反过来会通过增加成骨细胞中促破骨细胞生成的细胞因子(包括 TNF- α 、IL-6 和 RANKL)而导致骨质流失。抗炎细胞因子 IL-4 已显示抑制破骨细胞分化,IL-4 有效抑制 RANKL 诱导骨破坏^[24]。Treg 可以在体外和体内抑制破骨细胞分化。CD4⁺T 细胞增殖和活化导致抗炎细胞因子 IL-4 下调,导致 Treg 的形成减少。本研究显示,RA 组 CD4⁺CD25⁺Treg 比例降低,且 CD4⁺CD25⁺Treg 比例与 CTx 呈负相关。提示 Treg 下降可能进一步导致免疫激活增强,维持 RA 炎症级联反应,从而进一步加重 RA 骨破坏进程,与 Komatsu 等^[25]研究相似。

基于以上研究可知,RA 患者可能存在 T、B 细胞表达失衡,且 T、B 细胞可能参与 RA 骨破坏的过程。这些结果对于进一步探讨 RA 骨破坏的发病机制,为 RA 骨破坏寻求准确、合理的治疗方法提供免疫学依据。

参考文献:

- [1] Adami G, Saag K G. Osteoporosis pathophysiology, epidemiology, and screening in rheumatoid arthritis[J/OL]. *Curr Rheumatol Rep*, 2019, 21(7): 34. DOI: 10.1007/s11926-019-0836-7.
- [2] Suzuki T, Nakamura Y, Kato H. Effects of monthly minodronate with or without eldecalcitol addition in osteoporosis patients with rheumatoid arthritis: An 18-month prospective study [J]. *Osteoporos Sarcopenia*, 2019, 5(4): 122-127.
- [3] Rehling T, Björkman A D, Andersen M B, et al. Diabetes is associated with musculoskeletal pain, osteoarthritis, osteoporosis, and rheumatoid arthritis [J/OL]. *J Diabetes Res*, 2019, 2019: 6324348. DOI: 10.1155/2019/6324348. eCollection 2019.
- [4] Sargin G, Köse R, Şentürk T. Relationship between bone mineral density and anti-citrullinated protein antibody and rheumatoid factor in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Eur J Rheumatol*, 2019, 6(1): 29-33.
- [5] Coury F, Peyruchaud O, Machuca-Gayet I. Osteoimmunology of bone loss in inflammatory rheumatic diseases [J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 679. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00679.
- [6] Ponzetti M, Rucci N. Updates on osteoimmunology: What's new on the cross-talk between bone and immune system [J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 236. DOI: 10.3389/fendo.2019.00236.
- [7] Michael B N R, Kommoju V, Kavachanda Ganapathy C, et al. Characterization of cell-derived microparticles in synovial fluid and plasma of patients with rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatol Int*, 2019, 39(8): 1377-1387.
- [8] Cao G, Chi S, Wang X, et al. CD4⁺CXCR5⁺PD-1⁺T follicular helper cells play a pivotal role in the development of rheumatoid arthritis [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 3032-3040.
- [9] 王涛,江超,赵萍,等. 系统性红斑狼疮合并骨质疏松或骨坏死患者外周血 IL-10、TGF- β 1 的水平检测及分析 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2018, 34(11): 1032-1035. Wang T, Jiang C, Zhao P, et al. Detection and analysis of serum IL-10 and TGF- β 1 in the SLE patients with osteoporosis or osteonecrosis [J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2018, 34(11): 1032-1035.
- [10] Di Munno O, Ferro F. The effect of biologic agents on bone homeostasis in chronic inflammatory rheumatic diseases [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2019, 37(3): 502-507.
- [11] Li C, Zhang J, Wang W, et al. Arsenic trioxide improves Treg and Th17 balance by modulating STAT3 in treatment-naïve rheumatoid arthritis patients [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 73: 539-551.
- [12] Aletaha D, Neogi T, Silman A J, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an american college of rheumatology/european league against rheumatism collaborative initiative [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(9): 2569-2581.
- [13] Kim H R, Kim B M, Won J Y, et al. Quercetin, a plant polyphenol, has potential for the prevention of bone destruction in rheumatoid arthritis [J]. *J Med Food*, 2019, 22(2): 152-161.
- [14] 赵琴,沈海丽,王鑫,等. 血清氨基肽酶 N(APN/CD13) 水平与类风湿性关节炎患者骨破坏相关 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(2): 235-238. Zhao Q, Shen H, Wang X, et al. Serum aminopeptidase N (APN/CD13) level is associated with bone destruction in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2017, 33(2): 235-238.
- [15] Makhdoom A, Rahopoto M Q, Awan S, et al. Bone mineral density level by dual energy X-ray absorptiometry in rheumatoid arthritis [J]. *J Pak Med Assoc*, 2017, 67(1): 15-19.
- [16] 蔡辉,徐子涵,商玮,等. 类风湿关节炎患者破骨细胞分化情况及其与骨破坏的关系 [J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(5): 604-607. Cai H, Xu Z, Shang W, et al. Relationship between osteoclast differentiation and bone destruction in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Zhongguo Mian Yi Xue Za Zhi*, 2019, 35(5): 604-607.
- [17] Weitzmann M N. Bone and the immune system [J]. *Toxicol Pathol*, 2017, 45(7): 911-924.
- [18] 贾淑媛,李萍. 淋巴细胞亚群在类风湿关节炎患者外周血中的表达及意义 [J]. *中国实验诊断学*, 2019, 23(11): 1943-1946. Jia S, Li P. Expression and significance of lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis [J]. *Zhongguo*

- Shi Yan Zhen Duan Xue ,2019 ,23(11) : 1943 –1946.
- [19] Tomizawa T ,Ito H ,Murata K ,et al. Distinct biomarkers for different bones in osteoporosis with rheumatoid arthritis[J/OL]. Arthritis Res Ther , 2019 , 21 (1) : 174. DOI: 10. 1186/s13075 - 019 - 1956 -1.
- [20] Cui M Y ,Li X ,Lei Y M ,et al. Effects of IL-34 on the secretion of RANKL/OPG by fibroblast-like synoviocytes and peripheral blood mononuclear cells in rheumatoid arthritis [J]. Eur Cytokine Netw , 2019 ,30(2) : 67 –73.
- [21] Yang H , Liu W , Zhou X , et al. The association between RANK , RANKL and OPG gene polymorphisms and the risk of rheumatoid arthritis: a case-controlled study and meta-analysis [J/OL]. Biosci Rep ,2019 ,39(6) : BSR20182356. DOI: 10. 1042/BSR20182356.
- Print 2019 Jun 28.
- [22] Chemin K ,Gerstner C ,Malmström V. Effector functions of CD4⁺ T cells at the site of local autoimmune inflammation—lessons from rheumatoid arthritis [J/OL]. Front Immunol , 2019 , 10: 353. DOI: 10. 3389/fimmu. 2019. 00353.
- [23] Weitzmann M N. T-cells and B-cells in osteoporosis[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes ,2014 ,21(6) : 461 –467.
- [24] Jung S M , Kim K W , Yang C W , et al. Cytokine-mediated bone destruction in rheumatoid arthritis[J/OL]. J Immunol Res , 2014 , 2014: 263625. DOI: 10. 1155/2014/263625. Epub 2014 Sep 10.
- [25] Komatsu N ,Takayanagi H. Immune-bone interplay in the structural damage in rheumatoid arthritis [J]. Clin Exp Immuno , 2018 , 194(1) : 1 –8.

Inflammation caused by different immune cell subsets is involved in bone destruction of rheumatoid arthritis

WAN Lei¹ , LIU Jian^{1*} , HUANG Chuanbing¹ , CHEN Xi¹ , ZHAO Lei² , FAN Haixia¹ , GE Yao¹ , LIU Tianyang¹ , LIU Lei¹

¹Department of Rheumatology , First Affiliated Hospital , ²School of Graduate , Anhui University of Chinese Medicine , Hefei 230031 , China

* Corresponding author , E-mail: liujianahzy@126. com

[Abstract] **Objective** To observe the relationship of rheumatoid arthritis (RA) bone destruction with T cells , regulatory T cells (Tregs) , CD19⁺ B cells and immune inflammation. **Methods** The study enrolled randomly 20 RA patients (RA group) and 20 normal controls (NC group) . Bone mineral density was measured by DXEA dual energy X-ray bone densitometer. The serum levels of γ -interferon (IFN- γ) of Th1 cells , interleukin-4 (IL-4) of Th2 cells , IL-17 , type I procollagen amino terminal propeptide (PINP) , type I collagen carboxy terminal peptide (CTx) , receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) and osteoprotectin (OPG) were detected by ELISA. T-cell subsets , Tregs , CD19⁺ B cells in peripheral blood were measured by flow cytometry. Spearman method was used to analyze the correlations of T cells , Treg and CD19⁺ B cells with bone density and Th1 and Th2 cytokines. **Results** The bone mineral density T value of the RA group was lower than that of the NC group. The bone mineral density T value of the double forearm was lower than that of the lumbar spine in the RA group. Compared with the NC group , the expression of IFN- γ , IL-17 , Th1/Th2 cells , CTx , RANKL increased , and IL-4 , PINP decreased in the RA group. Compared with the NC group , the expression of CD4⁺/CD8⁺ T cells , CD19⁺ B cells increased , and CD8⁺ T cells , CD4⁺CD25⁺ Tregs decreased in the RA group. Correlation analysis showed that CD8⁺ T cells were positively correlated with Th1/Th2 cells and IL-17 , while CD4⁺CD25⁺ Tregs were negatively correlated with CTx , and CD19⁺ B cells were negatively correlated with OPG in RA. **Conclusion** T cells and CD19⁺ B cells may participate in the process of bone destruction in RA by mediating inflammatory immunity.

[Key words] rheumatoid arthritis (RA) ; bone destruction; T cell subsets; CD19⁺ B cells; regulatory T cells (Tregs) ; immune cells; inflammation