

## 骨 科 学

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002320

NGAL、OPG、RANKL 及 DAS28 对  
RA 骨质疏松的预测作用李苏华<sup>1</sup>, 李 惠<sup>2</sup>, 廖湘平<sup>3</sup>, 刘 凤<sup>4</sup>, 陈香文<sup>3</sup>

(湖南省郴州市第一人民医院 1. 医学病理检验中心; 2. 检验医学中心; 3. 肾脏风湿免疫科; 4. 血管外科, 郴州 423000)

**【摘要】目的:**通过检测血中中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)、骨保护素(osteoprotegerin, OPG)、病情活动度评分 DAS28 与 NF- $\kappa$ B 配体的受体(receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand, RANKL)预测类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)骨质疏松意义。**方法:**选择 119 例 RA 患者(RA 组, 其中并发骨质疏松症的 51 例)及 68 例健康者(对照组), 用 ELISA 法检测 RA 组与健康对照组的 NGAL、骨形成指标 OPG 及骨吸收指标 RANKL, 详细记录骨矿物质含量(bone mineral density, BMD)、病情活动性评分(disease activity score 28, DAS28)与临床、实验室资料。**结果:**①RA 病人血清 NGAL、RANKL 水平较健康对照组明显增高(均  $P=0.000$ ), 血清 OPG、OPG/RANKL、BMD 水平较对照组明显降低(均  $P=0.000$ ), 差异有统计学意义。②RA 合并有骨质疏松症的病人血清 NGAL[(152.12  $\pm$  28.34) ng/mL]、RANKL 水平[(112.23  $\pm$  18.45) pmol/L]及 DAS28(4.21  $\pm$  0.56)评分较无骨质疏松症组明显增高[NGAL(124.50  $\pm$  18.52) ng/mL,  $P=0.000$ ; RANKL(103.89  $\pm$  14.14) pmol/L,  $P=0.008$ ; DAS28 3.52  $\pm$  0.70,  $P=0.000$ ]; 血清 OPG[(114.35  $\pm$  17.00) ng/L]、OPG/RANKL(1.06  $\pm$  0.24)、BMD(-3.73  $\pm$  0.69)水平较无骨质疏松症组明显降低[OPG(120.56  $\pm$  15.35) ng/L,  $P=0.039$ ; OPG/RANKL 1.18  $\pm$  0.24,  $P=0.006$ ; BMD -0.57  $\pm$  0.76,  $P=0.000$ ], 差异有统计学意义。③Spearman 相关分析显示, NGAL、DAS28 与 BMD 严重程度呈正相关,  $r_s$  分别为 0.532、0.437,  $P$  值分别为 0.000、0.000, 其相关性对 RA 合并有骨质疏松症有早期诊断的实际意义。④采用 ROC 曲线下面积分析, 当 DAS28 的最佳诊断参考值为 4.11 时(诊断敏感性和特异性分别为 68.6%、77.9%)、NGAL 最佳诊断参考值为 148.80 ng/mL 时(诊断敏感性和特异性分别为 60.8%、89.7%)、RANKL 为 100.77 pmol/L 时(诊断敏感性和特异性分别为 64.7%、54.4%), 可考虑 RA 患者合并有骨质疏松症的可能。**结论:**血清 NGAL、RANKL 作为炎症指标, 其水平及 DAS28 活动性评分大于等于相应的最佳诊断值可以考虑 RA 病人合并有了骨质疏松症的可能, 对调整治疗方案、极早干预骨质疏松症的发生与发展有一定的临床价值。

**【关键词】**中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 骨保护素; NF- $\kappa$ B 配体的受体; 病情活动性评分 DAS28; 类风湿关节炎合并骨质疏松症

【中图分类号】R446

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-08-26

## Value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin, osteoprotegerin, receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, and 28-joint disease activity score in predicting osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis

Li Suhua<sup>1</sup>, Li Hui<sup>2</sup>, Liao Xiangping<sup>3</sup>, Liu Feng<sup>4</sup>, Chen Xiangwen<sup>3</sup>

(1. Clinical Pathology and Laboratory Center; 2. Laboratory Medical Center;

3. Department of Nephrology and Rheumatology; 4. Department of Vascular Surgery,

The First People's Hospital of Chenzhou)

**【Abstract】Objective:** To investigate the value of blood neutrophil gelatinase-associated lipocalin(NGAL), osteoprotegerin(OPG), 28-joint disease activity score(DAS28), and receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand(RANKL) in predicting osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis(RA). **Methods:** A total of 119 RA patients were enrolled as RA group, among whom 51 had osteoporosis in addition to RA, and 68 healthy individuals were enrolled as control group. ELISA was used to measure NGAL, OPG (an index for bone formation), and RANKL(an index for bone resorption) for both groups, and bone mineral density(BMD),

DAS28, and clinical and laboratory data were recorded in detail. **Results:** Compared with the control group, the RA group had significantly higher serum levels of NGAL and RANKL (both  $P=0.000$ ) and significantly lower serum OPG level, OPG/RANKL ratio, and BMD (all  $P=0.000$ ). Compared with those without osteoporosis, the RA patients with osteoporosis had sig-

作者介绍: 李苏华, Email: 314591024@qq.com,

研究方向: 病理生理诊断及研究。

通信作者: 李 惠, Email: lihui\_523@sina.com。

基金项目: 郴州市科技局科技计划资助项目(编号: CZ2014025)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20191010.0841.002.html>

(2019-10-10)

nificantly higher serum NGAL( $152.12 \pm 28.34$  ng/mL vs.  $124.50 \pm 18.52$  ng/mL,  $P=0.000$ ), serum RANKL level( $112.23 \pm 18.45$  pmol/L vs.  $103.89 \pm 14.14$  pmol/L,  $P=0.008$ ), and DAS28 score( $4.21 \pm 0.56$  vs.  $3.52 \pm 0.70$ ,  $P=0.000$ ), as well as significantly lower serum OPG( $114.35 \pm 17.00$  ng/L vs.  $120.56 \pm 15.35$  ng/L,  $P=0.039$ ), OPG/RANKL ratio( $1.06 \pm 0.24$  vs.  $1.18 \pm 0.24$ ,  $P=0.006$ ), and BMD( $-3.73 \pm 0.69$  vs.  $-0.57 \pm 0.76$ ,  $P=0.000$ ). Spearman correlation analysis showed that NGAL and DAS28 were positively correlated with the severity of BMD( $r_s=0.532$  and  $0.437$ ,  $P=0.000$  and  $0.000$ ), and such correlation had a certain value in the early diagnosis of osteoporosis in RA patients. The area under the receiver operating characteristic curve showed that DAS28 with a cut-off value of 4.11 (a sensitivity of 68.6% and a specificity of 77.9%), NGAL with a cut-off value of 148.80 ng/mL (a sensitivity of 60.8% and a specificity of 89.7%), and RANKL with a cut-off value of 100.77 pmol/L (a sensitivity of 64.7% and a specificity of 54.4%) helped with the diagnosis of osteoporosis in RA patients. **Conclusion:** Serum levels of the inflammatory markers NGAL and RANKL and DAS28 score at their respective cut-off values can help with the diagnosis of osteoporosis in RA patients. They also have a certain clinical value in adjustment of treatment regimens and early intervention of osteoporosis.

**【Key words】**neutrophil gelatinase-associated lipocalin; osteoprotegerin; receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand; 28-joint disease activity score; rheumatoid arthritis with osteoporosis

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一类常见的由炎症紊乱所导致的慢性滑膜炎甚而至于关节破坏致残的自身免疫性疾病,而早诊断、早预防是 RA 诊断与治疗的基本原则。骨质疏松症(osteoporosis, OP)是 RA 常见的早期临床合并症,早期诊断与干预应该从 RA 骨质疏松开始,可延缓关节损坏。本研究旨在探讨中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)、骨保护素(osteoprotegerin, OPG)、NF- $\kappa$ B 配体的受体(receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand, RANKL)和病情活动性评分(disease activity score 28, DAS28)与预测类风湿关节炎合并有骨质疏松症的临床意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 试验对象

我科室 2012 至 2017 年间接收门诊与住院患者 119 例,其中健康者 68 例。将其分为 2 组:1 组为 RA 组,均符合 2010 年 ACR/EULAR 类风湿关节炎的分类标准,并排除长期服用糖皮质激素、性激素等影响骨代谢药物者,无严重肝病、肾病,甲状旁腺疾病及恶性肿瘤,共 119 例(并发有 OP 患者 51 例),其中男性 44 例,女性 75 例,年龄 17~90 岁,平均年龄( $50.41 \pm 16.42$ )岁;另一组为对照组:健康者 68 人(均经健康体检,无肝肾功能异常,无内分泌紊乱及钙磷代谢异常),年龄 15~87 岁,平均年龄( $48.66 \pm 14.49$ )岁,男 23 人,女 45 人。两组性别、年龄等方面差异无统计学意义(性别:  $\chi^2=0.187$ ,  $P=0.666$ ;年龄:  $t=0.723$ ,  $P=0.471$ )。

### 1.2 临床资料记录

详细记录 RA 患者和正常人的一般资料:性别、年龄;RA

患者的各临床指标:晨僵时间、关节压痛数(TJC28)、关节肿胀数(SJC28)等;实验室指标:外周血血沉、C 反应蛋白(CRP)、类风湿因子、抗环瓜氨酸肽抗体及骨密度测量(bone mineral density, BMD)。测量患者左右髋关节、股骨颈部及 L1~L4 腰椎正位骨矿物质含量,取最低值。WHO 推荐诊断标准:T 值>1.0 为骨量正常, T 值-2.5~-1.0 为骨量减少; T 值 $\leq -2.5$  为骨质疏松。DAS28 计算方法是评估 RA 患者疾病活动的综合指标<sup>[1]</sup>。PGA 为基于视觉模拟量表 VAS 的自身病情总体评估, DAS28 计算公式如下:

$$\text{DAS28CRP} = 0.56 \times \sqrt{\text{TJC28}} + 0.28 \times \sqrt{\text{SJC28}} + 0.36 \times \ln(\text{CRP}+1) + 0.014 \times \text{PGA} + 0.96$$

### 1.3 方法

人外周血清 OPG、RANKL、NGAL 水平:试剂盒分别来自上海科兴生物有限公司、上海江莱生物科技有限公司与广州伊莱瑞特生物科技有限公司,均为 ELISA 法,按照说明书操作。

### 1.4 统计学方法

应用 SPSS.16 软件包,参考值采用 ROC 特征工作曲线分析,计数资料样本的比较用卡方检验,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组均数比较  $t$  检验,等级资料相关分析用 Spearman 相关分析,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 RA 组与对照组各参数比较

从表 1 可见,类风湿关节炎病人血清 NGAL、RANKL 水平较对照组明显增高(均  $P=0.000$ ),血清 OPG、OPG/RANKL、BMD 水平较对照组明显降低(均  $P=0.000$ ),差异有统计学意义。

### 2.2 RA 患者 OP 组与非 OP 组间各参数比较

从表 2 可见,类风湿关节炎合并有骨质疏松的病人血清

NGAL $[(152.12 \pm 28.34) \text{ ng/mL}]$ 、RANKL 水平 $[(112.23 \pm 18.45) \text{ pmol/L}]$ 及 DAS28 评分 $(4.21 \pm 0.56)$ 较无骨质疏松组明显增高[NGAL $(124.50 \pm 18.52) \text{ ng/mL}$ ,  $P=0.000$ ; RANKL $(103.89 \pm 14.14) \text{ pmol/L}$ ,  $P=0.008$ ; DAS28 $(3.52 \pm 0.70)$ ,  $P=0.000$ ]; 血清 OPG $[(114.35 \pm 17.00) \text{ ng/L}]$ 、OPG/RANKL $(1.06 \pm 0.24)$ 、BMD $(-3.73 \pm 0.69)$ 水平较无骨质疏松组明显降低[OPG $(120.56 \pm 15.35) \text{ ng/L}$ ,  $P=0.039$ ; OPG/RANKL $(1.18 \pm 0.24)$ ,  $P=0.006$ ; BMD $(-0.57 \pm 0.76)$ ,  $P=0.000$ ], 差异有统计学意义。

### 2.3 RA 患者 OPG、RANKL、NGAL 及 DAS28 与骨密度 BMD 水平严重程度的相关性分析

从表 3 可见, RA 患者骨密度 BMD 水平分为 3 级: 1 级, 骨量正常(T 值 $>1.0$ ); 2 级, 骨量减少(T 值 $-1.0 \sim -2.5$ ); 3 级, 骨质疏松(T 值 $\leq -2.5$ )。Spearman 相关分析显示, OPG 水平、RANKL 水平与 BMD 严重程度呈负相关( $r_s = -0.255$ ,  $P=0.005$ ;  $r_s = 0.265$ ,  $P=0.004$ ), 因相关系数数值不大, 实际意义不大; NGAL、DAS28 与 BMD 严重程度呈正相关,  $r_s$  分别为 0.532、0.437,  $P$  值分别为 0.000、0.000, 可见 NGAL、DAS28 与 BMD 水平严重程度相关性对 RA 合并有骨质疏松有早期诊断的实际意义。

### 2.4 NGAL、DAS28、OPG、RANKL 在预测 RA 骨质疏松的应用价值

根据类风湿关节炎骨质疏松症与无骨质疏松症的 NGAL、DAS28、OPG、RANKL 水平建立 ROC 曲线, 辅助判断 RA

患者是否合并有骨质疏松症(图 1), DAS28 曲线下面积为 0.781 (95%CI 为 0.698~0.864,  $P=0.000$ ), 最佳诊断参考值为 4.11 时, 诊断敏感性和特异性分别 68.6%、77.9%; 当 NGAL 最佳诊断参考值为 148.80 ng/mL 时, 诊断敏感性和特异性分别为 60.8%、89.7% (曲线下面积为 0.792, 95%CI 为 0.706~0.879,  $P=0.000$ ); RANKL 水平为 100.77 pmol/L 时 (诊断敏感性和特异性分别为 64.7%、54.4%, 曲线下面积为 0.632, 95%CI 为 0.528~0.737,  $P=0.037$ ), 可考虑 RA 患者合并有骨质疏松症的可能。

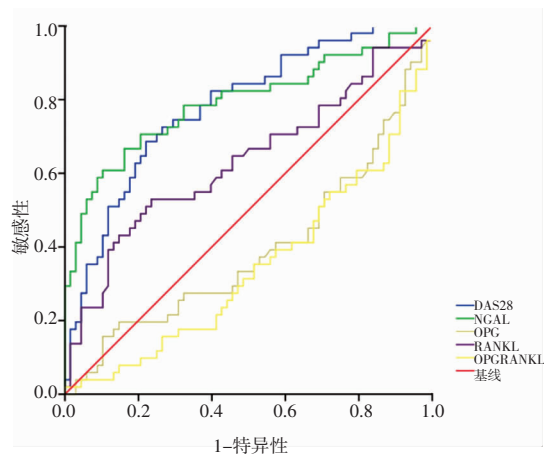


图 1 NGAL、DAS28、OPG、RANKL 对预测 RA 骨质疏松的 ROC 曲线分析

表 1 RA 组与对照组各参数比较

| 参数             | RA 组 (n=119)   | 对照组 (n=68)     | t 值     | P 值   |
|----------------|----------------|----------------|---------|-------|
| NGAL (ng/mL)   | 136.34 ± 26.89 | 45.17 ± 10.97  | 32.545  | 0.000 |
| OPG (ng/L)     | 117.90 ± 16.31 | 198.03 ± 37.77 | -16.632 | 0.000 |
| RANKL (pmol/L) | 107.46 ± 16.58 | 69.39 ± 10.81  | 18.963  | 0.000 |
| OPG/RANKL      | 1.13 ± 0.25    | 2.90 ± 0.66    | -21.405 | 0.000 |
| BMD            | -1.92 ± 1.73   | 0.33 ± 0.96    | -11.430 | 0.000 |

表 2 RA 患者 OP 组与非 OP 组间各参数比较

| 参数             | OP 组 (n=51)    | 非 OP 组 (n=68)  | t 值     | P 值   |
|----------------|----------------|----------------|---------|-------|
| NGAL (ng/mL)   | 152.12 ± 28.34 | 124.50 ± 18.52 | 6.059   | 0.000 |
| OPG (ng/L)     | 114.35 ± 17.00 | 120.56 ± 15.35 | -2.083  | 0.039 |
| RANKL (pmol/L) | 112.23 ± 18.45 | 103.89 ± 14.14 | 2.693   | 0.008 |
| OPG/RANKL      | 1.06 ± 0.24    | 1.18 ± 0.24    | -2.816  | 0.006 |
| DAS28          | 4.21 ± 0.56    | 3.52 ± 0.70    | 5.791   | 0.000 |
| BMD            | -3.73 ± 0.69   | -0.57 ± 0.76   | -23.333 | 0.000 |

表 3 RA 患者 OPG、RANKL、NGAL 及 DAS28 与 BMD 水平严重程度与的相关性分析

| BMD 等级  | OPG            | RANKL          | NGAL           | DAS28       |
|---------|----------------|----------------|----------------|-------------|
| 1       | 123.44 ± 14.66 | 102.38 ± 14.40 | 121.52 ± 17.25 | 3.50 ± 0.70 |
| 2       | 113.00 ± 15.63 | 108.18 ± 13.69 | 130.74 ± 19.47 | 3.63 ± 0.72 |
| 3       | 114.15 ± 16.71 | 112.02 ± 18.12 | 152.01 ± 27.93 | 4.16 ± 0.60 |
| $r_s$ 值 | -0.255         | 0.265          | 0.532          | 0.437       |
| P 值     | 0.005          | 0.004          | 0.000          | 0.000       |

注: BMD 分 3 级, 1 级 T 值 $>1.0$ , 骨量正常; 2 级 T 值在 $-2.5 \sim -1.0$ , 骨量减少; 3 级 T 值 $\leq -2.5$ , 骨质疏松,  $r_s$  值为 Spearman 相关系数

### 3 讨论

正常骨组织修复由成骨细胞介导的骨形成与破骨细胞主导的骨吸收两者之间建立的良性动态平衡来完成<sup>[2-3]</sup>;RANKL 结合破骨前体细胞 RANK 配体并诱导其活化及分化;OPG 由骨髓干细胞与成骨细胞产生,在 OPG/RANKL/RANK 系统的破骨细胞生物学功能中起重要的作用,能与 RANK 竞争结合 RANKL,抑制骨中 RANKL/RANK 信号通路,抑制破骨前体细胞分化与融合,并封闭破骨细胞防止其被激活,从而增加骨密度形成。然而在病理状况下,OPG/RANK/RANKL 系统平衡被打破,以破骨细胞主导的骨吸收为主,表现为骨质溶解与骨质疏松<sup>[4]</sup>,而抗骨质疏松药物能显著性抑制骨质疏松进程,干扰血清与骨质中 RANKL 的蛋白水平表达,并增加 OPG 的生成<sup>[5]</sup>,有研究表明<sup>[6]</sup>,RANKL 蛋白的缺失能有效保护卵巢切除术后骨质钙流失。本研究结果显示,类风湿关节炎合并有骨质疏松症的病人(OP 组)血清 RANKL 水平较无 OP 组明显增高( $t=2.639, P=0.008$ ),而血清 OPG、OPG/RANKL 水平较无 OP 组明显降低( $t$  值分别为 $-2.083$ 、 $-2.816$ , $P$  值分别为 $0.039$ 、 $0.006$ )。

而这种平衡的打乱可能与炎症因子相关<sup>[4,7]</sup>。NGAL 是一种分泌型的脂质运载蛋白,为脂肪来源的细胞因子,是一种新型的炎症因子<sup>[8]</sup>。本研究显示,RA 病人 NGAL 水平远远高于对照组,结果同 Katano 等<sup>[9]</sup>相关报道。其可能机制为:NGAL 能干扰成纤维细胞生长因子 FGF-2 与上皮细胞生长因子 EGF 信号途径对 RA 软骨细胞的促增殖作用,而这种干扰作用导致 RA 软骨组织的退行性变;另一方面 NGAL 通过谷氨酰胺转移酶 TG2、组织蛋白酶 D 与内质网 ATP 酶(TERA)激活滑膜细胞的免疫活性及免疫炎症损伤<sup>[9]</sup>。因此,NGAL 是 RA 发现的又一致病因子,为靶向治疗提供新的思路。

实时监测 RA 骨质疏松是干预 RA 关节退行性变的常用检测手段,以测量骨骼的矿物质含量来判断骨质疏松与否的 BMD 法,却受限于仪器的精确度、受测试部位选择不同及不规范操作等影响。本研究显示,RA 患者血清 RANKL 水平、NGAL 水平及 DAS28 值与骨密度 BMD 水平严重程度呈显著性相

关,可见,NGAL、RANKL、DAS28 辅助判断 RA 患者是否处于骨质疏松期及严重程度有重要意义,外周血检测方法简便、易标准化、受干扰因素少;当 NGAL 水平的 cut off 值为  $148.80 \text{ ng/mL}$  时,RANKL 水平的 cut off 值为  $100.22 \text{ pmol/L}$  时,DAS28 的 cut off 值为  $4.11$  时,需考虑 RA 患者合并有骨质疏松症的可能。

综上所述,血清 NGAL、RANKL 作为炎症指标,DAS28 评分做为活动度评价,当增高到一定水平,可以考虑 RA 病人是否合并有骨质疏松症,对临床调整治疗方案、极早干预骨质疏松症的发生与发展有一定的临床价值。

### 参 考 文 献

- [1] 梁娜娜,张莉芸,张改连,等. 重置 DAS28CRP 临界值对类风湿关节炎患者疾病活动度评价的影响[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志,2017,11(2):119-125.
- [2] Xu XJ, Shen L, Yang YP, et al. Serum  $\beta$ -catenin levels associated with the ratio of RANKL/OPG in patients with postmenopausal osteoporosis[J]. Int J Endocrinol, 2013, 2013:534352.
- [3] Yasuda H. RANKL, a necessary chance for clinical application to osteoporosis and cancer-related bone diseases[J]. World J Orthop, 2013, 4(4):207-217.
- [4] Bai P, Sun Y, Jin J, et al. Disturbance of the OPG/RANK/RANKL pathway and systemic inflammation in COPD patients with emphysema and osteoporosis[J]. Respir Res, 2011, 12:157.
- [5] Ma B, Zhang Q, Wu D, et al. Strontium fructose 1,6-diphosphate prevents bone loss in a rat model of postmenopausal osteoporosis via the OPG/RANKL/RANK pathway[J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(4):479-489.
- [6] Onal M, Xiong J, Chen X, et al. Receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand(RANKL) protein expression by B lymphocytes contributes to ovariectomy-induced bone loss[J]. J Biol Chem, 2012, 287(35):29851-29860.
- [7] Weitzmann MN. The role of inflammatory cytokines, the RANKL/OPG axis, and the immunoskeletal interface in physiological bone turnover and osteoporosis[J]. Scientifica(Cairo), 2013, 2013:125705.
- [8] Abella V, Scotece M, Conde J, et al. The potential of lipocalin-2/NGAL as biomarker for inflammatory and metabolic diseases[J]. Biomarkers, 2015, 20(8):565-571.
- [9] Katano M, Okamoto K, Arito M, et al. Implication of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induced neutrophil gelatinase-associated lipocalin in pathogenesis of rheumatoid arthritis revealed by proteome analysis[J]. Arthritis Res Ther, 2009, 11(1):R3.

(责任编辑:冉明会)