



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2021.04.014

http://www.lcnkz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.04.014

· 论著 ·

# 血清 Dickkopf-1 蛋白检测在活动性强直性脊柱炎中的应用

胡佳琳 郝喆 杨颖莹 王丹 曾昆

**【摘要】** **目的** 探讨血清 Dickkopf-1 蛋白(DKK-1)水平与活动性强直性脊柱炎(AS)的关系。**方法** 选取 2016 年 12 月~2018 年 6 月我院诊治的 50 例 AS 患者作为 AS 组,另选取同期 50 例健康体检者为对照组。检测并比较两组受试者血清 DKK-1、白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、红细胞沉降率(ESR)和 C 反应蛋白(CRP)水平。比较 AS 组患者治疗前后强直性脊柱炎疾病活动指数(BASDAI)评分、血清 DKK-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、ESR 及 CRP 水平。采用 Pearson 相关分析评估血清 DKK-1 水平与 BASDAI 评分、IL-6、TNF- $\alpha$ 、ESR 及 CRP 之间的关系。**结果** AS 组患者血清 DKK-1 水平低于对照组,血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、ESR 及 CRP 水平均高于对照组( $P < 0.01$ )。AS 组患者治疗 6 个月后血清 TNF- $\alpha$ 、ESR、CRP 水平及 BASDI 评分均低于治疗前( $P < 0.01$ ),而治疗前后血清 DKK-1 及 IL-6 水平比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。Pearson 相关分析结果显示,AS 患者血清 DKK-1 水平与 BASDAI 评分、ESR、CRP、IL-6 及 TNF- $\alpha$  均无相关性( $P > 0.05$ )。**结论** 血清 DKK-1 水平与 AS 发病过程相关,但与 AS 疾病活动度无明显关系。

**【关键词】** 强直性脊柱炎; Dickkopf-1 蛋白; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白细胞介素-6

**【中图分类号】** R593.23 **【文献标识码】** A

强直性脊柱炎(AS)是一种常见于青少年、以中轴关节的慢性炎症为主的血清阴性脊柱关节病,主要累及的部位是骶髂关节、髋关节及脊柱<sup>[1]</sup>。随病情进行性加重,累及脊柱者出现脊柱强直和功能丧失。而导致 AS 脊柱僵硬和丧失活动能力的主要病理改变为关节炎症和新骨形成<sup>[2]</sup>。既往研究发现,Wnt 信号是 AS 新骨形成的关键因素,通过强化 Wnt 信号途径,抑制天然抑制物 Dickkopf-1 蛋白(DKK-1)的表达,可导致外周骨赘的过度增生;无骨赘形成患者的 DKK-1 水平较有骨赘形成患者明显升高<sup>[3-4]</sup>。DKK-1 是一种分泌型糖蛋白,主要通过与其相应的受体结合,阻断 Wnt 信号的传导,从而抑制细胞的增殖和骨形成。尽管 AS 的病因不明,但近年来,发现肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$  在多种自身免疫性疾病患者的血清中呈高表达,白细胞介素(IL)-6 也在 AS 的发病中发挥了一定的作用,表明细胞因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 与 AS 的发病相关。强直性脊柱炎疾病活动指数(BASDAI)评分为评价 AS 疾

病活动度的有效指标<sup>[5]</sup>。红细胞沉降率(ESR)、C 反应蛋白(CRP)是典型的两种急性时相反应物,用于评估 AS 患者的炎症状况。我们通过检测活动性 AS 患者血清 DKK-1 水平,探讨其与活动性 AS 的关系。

## 对象与方法

1. 对象:2016 年 12 月~2018 年 6 月于我院风湿免疫科确诊及治疗的活动性 AS 患者 50 例(AS 组)。纳入标准:(1)18~60 岁;(2)符合 1984 年修订的纽约标准<sup>[6]</sup>,且 BASDAI 评分 $\geq 4$  分,符合活动性 AS 标准;(3)能充分合作。排除标准:(1)严重心脏、脑、肾脏、肝脏等重要器官及内分泌、血液系统及神经系统疾病病史;(2)急、慢性感染,包括泌尿系统、心脏、肺脏、耳、鼻、咽喉等感染;(3)活动性结核病病史;(4)其他风湿性疾病及恶性肿瘤;(5)妊娠期和哺乳期。另选取同期于我院体检的健康者 50 例(对照组)。其中 AS 组男 35 例,女 15 例,年龄 20~53 岁,平均年龄(34.68 $\pm$ 9.56)岁,平均症状持续时间(3.74 $\pm$ 1.82)年,人白细胞抗原(HLA)-B27 阳性 37 例(74.0%);对照组男 33 例,女 17 例,年龄 19~52 岁,平均年龄(33.02 $\pm$ 8.18)岁,两组受试者性别、年龄比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有受试者均自愿参加,并签署知情同意书。

基金项目:武汉市卫生和计划生育委员会医疗卫生科研项目(WX14B20)

作者单位:430033 湖北省武汉市第四医院 华中科技大学同济医学院附属普爱医院综合科(胡佳琳、曾昆),风湿免疫科(郝喆、杨颖莹、王丹)

通讯作者:王丹,E-mail:13986118972@163.com

2. 方法:AS 组患者均接受非甾体抗炎药和(或)传统改善病情的抗风湿药和(或)TNF- $\alpha$  抑制剂治疗,并接受随访 6 个月。两组受试者均空腹采集静脉血 10 ml,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 DKK-1、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平。采用散射比浊法检测 CRP 和 ESR 水平。

3. 统计学处理:应用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验;计数资料以例数和百分比表示,两组间比较采用  $\chi^2$  检验。相关性分析采用 *Pearson* 相关分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 对照组和 AS 组受试者实验室检查结果比较:AS 组受试者血清 DKK-1 水平低于对照组,血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、ESR 及 CRP 水平均高于对照组 ( $P < 0.001$ )。见表 1。

2. AS 组患者治疗前后实验室检查结果及疾病活动度比较:AS 组患者治疗 6 个月后血清 TNF- $\alpha$ 、ESR、CRP 水平及 BASDI 评分均低于治疗前 ( $P < 0.001$ ),而治疗前后血清 DKK-1 及 IL-6 水平比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

3. AS 患者血清 DKK-1 水平与 BASDAI 评分、ESR、CRP、IL-6、TNF- $\alpha$  的相关性分析:*Pearson* 相关分析结果显示,AS 患者血清 DKK-1 水平与 BASDAI 评分、ESR、CRP、IL-6 及 TNF- $\alpha$  均无相关性 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

### 讨 论

AS 是风湿性疾病中最常见的具有致残性的慢性炎症性疾病之一,致残的主要原因是脊柱的过度骨化和新骨形成,晚期脊柱出现“竹节样”改变,最终导致

表 3 AS 患者血清 DKK-1 水平与 BASDAI 评分、ESR、CRP、IL-6、TNF- $\alpha$  的相关性分析

指标	r 值	P 值
BASDAI 评分	0.176	0.223
ESR	0.030	0.834
CRP	-0.050	0.733
IL-6	0.058	0.689
TNF- $\alpha$	-0.112	0.440

脊柱强直和功能丧失,严重影响患者的自理能力,给个人、家庭及社会带来沉重的负担。研究表明,成骨细胞的增殖、分化及成熟是通过经典 Wnt 信号通路完成,而 DKK-1 作为抑制骨形成相关通路的一项关键性因子,在抑制 Wnt 信号通路中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。而新近的研究发现,Wnt 信号通路可能参与了 AS 骨赘的形成<sup>[8-9]</sup>。

既往研究结果显示,DKK-1 与 AS 发病过程密切相关<sup>[10]</sup>。在成骨细胞中发现过表达的 DKK-1 蛋白也证实这一点,通过观察以 Col1A1 2.3 kb 和 Col1A1 3.6 kb 为启动子的 DKK-1 过表达转基因的小鼠,发现其出现严重的骨量缺失,血清骨钙素浓度降低 5%,成骨细胞数量降低 49%;此外,从体外实验中还发现 Dkk-1 蛋白抑制成骨细胞矿化结节的形成呈剂量依赖性;相反,存在 DKK-1 蛋白缺陷的杂合子小鼠的成骨细胞数量及骨形成率均明显高于野生型小鼠<sup>[11-13]</sup>。也有研究报道了 AS 患者血清 DKK-1 水平明显降低<sup>[14]</sup>。DKK-1 蛋白能通过干扰 Wnt 蛋白的结合而阻断 Wnt 通路,从而减少骨形成。本研究也发现,AS 组患者血清 DKK-1 水平低于对照组,表明 DKK-1 与 AS 具有相关性。

细胞因子的网络调节异常是 AS 发病机制的一个重要特征,其中 IL-6 调节网络参与 AS 的病理生理过程。多项研究结果显示,AS 患者血清和滑膜组织 IL-6 水平均高于健康对照组<sup>[15-17]</sup>。本研究中,AS 组患者血

表 1 对照组和 AS 组受试者实验室检查结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	DKK-1 (pg/ml)	ESR (mm/h)	CRP (mg/L)	IL-6 (pg/L)	TNF- $\alpha$ (pg/L)
对照组	50	80.87 $\pm$ 9.83	10.47 $\pm$ 3.79	5.92 $\pm$ 1.39	5.64 $\pm$ 1.50	5.70 $\pm$ 1.60
AS 组	50	70.28 $\pm$ 7.92	27.52 $\pm$ 5.10	22.78 $\pm$ 6.62	10.50 $\pm$ 6.30	18.58 $\pm$ 10.60
t 值		5.763	18.768	17.585	4.991	8.579
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 AS 组患者治疗前后实验室检查结果及疾病活动度比较( $\bar{x} \pm s$ )

时间	例数	DKK-1 (pg/ml)	ESR (mm/h)	CRP (mg/L)	IL-6 (pg/L)	TNF- $\alpha$ (pg/L)	BASDAI 评分(分)
治疗前	50	70.28 $\pm$ 7.92	27.52 $\pm$ 5.10	22.78 $\pm$ 6.62	10.50 $\pm$ 6.30	18.58 $\pm$ 10.60	6.26 $\pm$ 0.94
治疗后	50	71.20 $\pm$ 7.95	15.34 $\pm$ 4.35	8.38 $\pm$ 2.52	10.57 $\pm$ 6.32	11.88 $\pm$ 6.56	4.34 $\pm$ 0.94
t 值		-1.972	16.294	15.875	-0.342	6.046	9.617
P 值		0.054	<0.001	<0.001	0.733	<0.001	<0.001

清 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平均高于对照组,且 AS 组患者治疗 6 个月后 TNF- $\alpha$  水平低于治疗前,而 AS 组患者治疗前后血清 DKK-1 水平比较差异无统计学意义。同时 Pearson 相关分析结果显示,血清 DKK-1 水平与 IL-6 及 TNF- $\alpha$  均无相关性,表明调节 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平均不能达到调控 DKK-1 水平的作用。ESR、CRP 水平及 BASDI 评分均能提示 AS 患者体内炎症情况,反映 AS 疾病的活动度,但本研究发现,AS 组患者治疗 6 个月后血清 ESR、CRP 水平及 BASDI 评分均低于治疗前,而 AS 组患者治疗前后血清 DKK-1 水平比较差异无统计学意义,同时血清 DKK-1 水平与 BASDI 评分、ESR 及 CRP 均无相关性,提示 DKK-1 可能与 AS 疾病活动度无关。由此推断,降低 AS 患者疾病活动度可能不能达到调控 DKK-1 水平的作用。但由于本研究观察时间短,样本量亦偏少,仍需进一步探讨。李振彬等<sup>[18]</sup>的研究结果显示,AS 患者存在骨破坏/新骨形成与炎症因子水平升高的分离现象。炎症不是新骨形成的直接后果,这可能是导致不同患者结局不同的原因之一<sup>[19-20]</sup>。研究表明,通过阻断 DKK-1 蛋白上调 Wnt 信号通路,可抑制骨破坏,促进骨形成<sup>[3]</sup>,而 DKK-1 高表达可抑制 AS 的新骨形成<sup>[4]</sup>,表明或许可通过提高血清 DKK-1 水平而达到抑制新骨形成的作用。但本研究结果显示,血清 DKK-1 水平与疾病活动度及实验室炎症指标均不相关,提示血清 DKK-1 调控可能并不受炎症影响,AS 新骨形成的过程与疾病炎症活动可能是相对独立的两个过程。

Walter 等<sup>[21]</sup>发现脊柱炎症的存在更容易导致韧带骨赘形成,但不存在炎症的脊柱同样会出现骨赘形成,且炎症的消失对骨赘的形成无任何抑制现象。本研究结果显示,控制炎症、阻断致病细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 均不能达到调控 AS 患者血清 DKK-1 水平的作用。综上所述,血清 DKK-1 水平与 AS 发病过程相关,但与 AS 疾病活动度无明显关系。DDK-1 与 AS 之间的关系仍需进一步深入研究,或许能进一步明确 AS 新骨形成的病理生理过程,为 AS 的疾病评估提供新的生物标志物及为治疗靶点。

## 参 考 文 献

[1] 陆再英,钟南山. 内科学[M]. 第七版. 北京:人民卫生出版社, 2008. 866-869.  
 [2] Fulciniti M, Tassone P, Hideshima T, et al. Anti-DKK1 mAb (BHQ880) as a potential therapeutic agent for multiple myeloma[J]. Blood, 2009, 114(2): 371-379.  
 [3] Uderhardt S, Diarra D, Katzenbeisser J, et al. Blockade of Dickkopf

(DKK)-1 induces fusion of sacroiliac joints[J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(3): 592-597.  
 [4] Heiland GR, Appel H, Poddubny D, et al. High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis[J]. Ann Rheum Dis, 2012, 71(4): 572-574.  
 [5] Sieper J, Rudwaleit M, Baraliakos X, et al. The Assessment of Spondylo Arthritis international Society (ASAS) handbook; a guide to assess spondyloarthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2009, 68 Suppl 2: ii1-ii44.  
 [6] Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis; a proposal for modification of the New York criteria[J]. Arthritis Rheum, 1984, 27(4): 361-368.  
 [7] 朱文锋. 创立统一的辨证方法与体系[J]. 湖南中医药导报, 2003, 9(1): 7-10.  
 [8] Wendling D, Claudepierre P. New bone formation in axial spondyloarthritis[J]. Joint Bone Spine, 2013, 80(5): 454-458.  
 [9] Appel H, Kuhne M, Spiekermann S, et al. Immunohistologic analysis of zygapophyseal joints in patients with ankylosing spondylitis[J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(9): 2845-2851.  
 [10] Sieper J, Poddubny D. Axial spondyloarthritis[J]. Lancet, 2017, 390(10089): 73-84.  
 [11] Qiang YW, Barlogie B, Rudikoff S, et al. Dkk1-induced inhibition of Wnt signaling in osteoblast differentiation is an underlying mechanism of bone loss in multiple myeloma[J]. Bone, 2008, 42(4): 669-680.  
 [12] Li J, Sarosi L, Cattley RC, et al. Dkk1-mediated inhibition of Wnt signaling in bone results in osteopenia[J]. Bone, 2006, 39(4): 754-766.  
 [13] Morvan F, Boulukos K, Clement-Lacroix P, et al. Deletion of a single allele of the Dkk1 gene leads to an increase in bone formation and bone mass[J]. Bone Miner Res, 2006, 21(6): 934-945.  
 [14] Liao HT, Lin YF, Tsai CY, et al. Bone morphogenetic proteins and Dickkopf-1 in ankylosing spondylitis[J]. Scand J Rheumatol, 2018, 47(1): 56-61.  
 [15] Liu W, Wu YH, Zhang L, et al. Elevated serum levels of IL-6 and IL-17 may associate with the development of ankylosing spondylitis[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(10): 17362-17376.  
 [16] Sveaas SH, Berg IJ, Provan SA, et al. Circulating levels of inflammatory cytokines and cytokine receptors in patients with ankylosing spondylitis: a cross-sectional comparative study[J]. Scand J Rheumatol, 2015, 44(2): 118-124.  
 [17] Bleil J, Maier R, Syrbe U, et al. In situ analysis of interleukin-6 expression at different sites of zygapophyseal joints from patients with ankylosing spondylitis in comparison to controls[J]. Scand J Rheumatol, 2015, 44(4): 296-301.  
 [18] 李振彬, 马琳, 刘彦卿, 等. 活动性强直性脊柱炎患者外周血骨免疫学指标检测的临床意义[J]. 解放军医药杂志, 2016, 28(11): 42-45.  
 [19] Sieper J, Poddubny D. Inflammation, new bone formation and treatment options in axial spondyloarthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(8): 1439-1441.  
 [20] Zhang JR, Liu XJ, Xu WD, et al. Effects of tumor necrosis factor-alpha inhibitors on new bone formation in ankylosing spondylitis[J]. Joint Bone Spine, 2016, 83(3): 257-264.  
 [21] 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.

(收稿日期:2020-07-03)

(本文编辑:周三凤)