

DYRK2: 基于东亚和欧洲人群揭示类风湿关节炎合并骨质疏松症的治疗新靶点

吴治林^{1,2}, 何 秦¹, 王梓稀¹, 石 现¹, 袁 松¹, 张 骏², 王 浩¹<https://doi.org/10.12307/2026.609>

投稿日期: 2024-12-09

采用日期: 2025-02-20

修回日期: 2025-04-21

在线日期: 2025-05-17

中图分类号:

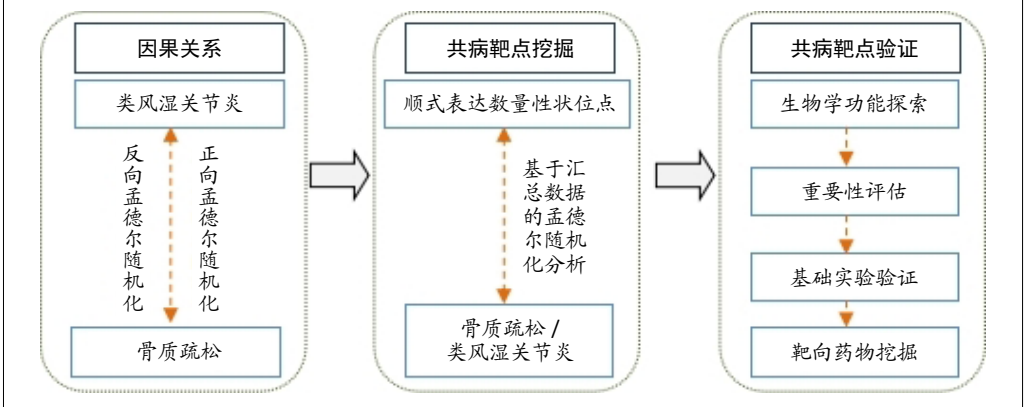
R459.9; R318; R593.22

文章编号:

2095-4344(2026)06-01569-11

文献标识码: A

文章快速阅读: 类风湿关节炎合并骨质疏松症的新治疗靶点及体外细胞学实验验证



文题释义:

孟德尔随机化: 是基于等位基因在配子形成时遵循随机分配原则, 可用单核苷酸多态性作为研究中间表型的工具变量来推断暴露因素与疾病状态的因果关联。

骨质疏松症: 是一种慢性代谢性骨骼疾病, 特征是骨量减少、骨组织微结构退化、骨张力和强度降低, 以及脆性骨折风险增加。

类风湿关节炎: 是一种伴有组织增生和滑膜炎的全身性自身免疫性疾病, 典型的症状和体征包括关节疼痛、僵硬和肿胀。

摘要

背景: 研究表明, 类风湿关节炎与骨质疏松症呈正相关趋势, 但因果关系和相关机制仍未得到证实。随着计算机科学和生命科学的交叉融合, 基于全基因组关联研究数据和转录组测序数据进行孟德尔随机化和生信分析, 可以评估两疾病间的因果关系、探索相关机制以及挖掘治疗靶点, 这有利于类风湿关节炎合并骨质疏松症的精准治疗。

目的: 采用双样本孟德尔随机化分析类风湿关节炎和骨质疏松症间的因果关系, 同时基于汇总数据的孟德尔随机化分析和生信分析挖掘潜在共病靶点和靶向药物, 旨在为类风湿关节炎合并骨质疏松症的机制探索和精准治疗提供理论依据。

方法: ①从基于亚洲人群和欧洲人群的GWAS Catalog、IEU Open GWAS、FinnGen以及eQTLGen 数据库下载类风湿关节炎、骨质疏松症和顺式表达数量性状位点的全基因组关联研究数据, 用于双样本孟德尔随机化和基于汇总数据的孟德尔随机化分析。②从GEO数据库下载类风湿关节炎的转录组测序数据(GSE93272和GSE15573), 用于生物信息学分析。③以逆方差加权法作为主要分析方法, 进行类风湿关节炎和骨质疏松症之间的正向和反向双样本孟德尔随机化分析, 并用MR Egger法、简单模式法、加权中位数法和加权模式法对结果加以佐证。④基于汇总数据的孟德尔随机化分析鉴定与类风湿关节炎和骨质疏松症相关的基因, 并基于交叉分析挖掘出类风湿关节炎和骨质疏松症共病靶点。同时, 基于生信分析和细胞实验验证共病靶点的生物学功能。⑤此外, 基于DYRK2构建类风湿关节炎风险预测诺莫图, 通过受试者特征曲线、矫正曲线和决策曲线验证预测性能。最后, 基于Enrichr数据库挖掘靶点潜在药物并进行分子对接。

结果与结论: ①正向孟德尔随机化分析结果显示, 除GCST90044540和GCST90086118无统计学意义, 其他所有结果均表明类风湿关节炎和骨质疏松症间存在显著因果关系, 并且呈正相关。②反向孟德尔随机化分析结果提示, 骨质疏松症和类风湿关节炎间未见显著因果关系。③基于汇总数据的孟德尔随机化分析共鉴定出412和344个与类风湿关节炎和骨质疏松症正相关的基因, 421和347个负相关基因。基于交叉分析得到26个共病基因。其中, DYRK2是潜在治疗靶点, 后续生信分析和细胞实验证实DYRK2在类风湿关节炎和骨质疏松症的进展过程中发挥重要作用。④此外, 构建的诺莫图具有出色的预测性能。最后, 挖掘出4个DYRK2的潜在靶向药物(Undecanoic Acid、Metyrapone、JNJ-38877605和ACA), 分子对接也证明具有可靠的靶向能力。⑤总之, 基于亚洲人群和欧洲人群的全基因组关联研究数据证明了类风湿关节炎和骨质疏松症在遗传学层面存在着因果关系, DYRK2是潜在治疗靶点, 有4种小分子是潜在靶向药物。

关键词: 类风湿关节炎; 骨质疏松症; 孟德尔随机化; 基于汇总数据的孟德尔随机化; 共病基因; DYRK2

DYRK2: a novel therapeutic target for rheumatoid arthritis combined with osteoporosis based on East Asian and European populations

Wu Zhilin^{1,2}, He Qin¹, Wang Pingxi¹, Shi Xian¹, Yuan Song¹, Zhang Jun², Wang Hao¹¹四川省达州市中心医院骨科, 四川省达州市 635000; ²重庆医科大学骨科实验室, 重庆市 400014

第一作者: 吴治林, 男, 1986年生, 四川省达州市人, 汉族, 重庆医科大学在读博士, 主要从事脊柱外科疾病与骨再生的防治研究。

通讯作者: 王浩, 副主任医师, 四川省达州市中心医院骨科, 四川省达州市 635000

共同通讯作者: 张骏, 主治医师, 重庆医科大学骨科实验室, 重庆市 400014

<https://orcid.org/0000-0002-7173-7961> (吴治林)

基金资助: 四川省医学会骨科专题研究项目 (2023AT19), 项目负责人: 王浩

引用本文: 吴治林, 何秦, 王梓稀, 石现, 袁松, 张骏, 王浩. DYRK2: 基于东亚和欧洲人群揭示类风湿关节炎合并骨质疏松症的治疗新靶点 [J]. 中国组织工程研究, 2026, 30(6):1569-1579.



¹Department of Orthopedics, Dazhou Central Hospital, Dazhou 635000, Sichuan Province, China; ²Orthopedic Laboratory, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China

Wu Zhilin, MD candidate, Department of Orthopedics, Dazhou Central Hospital, Dazhou 635000, Sichuan Province, China; Orthopedic Laboratory, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China

Corresponding author: Wang Hao, Associate chief physician, Department of Orthopedics, Dazhou Central Hospital, Dazhou 635000, Sichuan Province, China

Co-corresponding author: Zhang Jun, Attending physician, Orthopedic Laboratory, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China

Abstract

BACKGROUND: Studies have shown that rheumatoid arthritis and osteoporosis are positively correlated, but the causal relationship and related mechanisms have not yet been confirmed. With the cross-fertilization of computer science and life sciences, Mendelian randomization and bioinformatics analyses based on genome-wide association study (GWAS) and transcriptome sequencing data can assess the causal relationship between two diseases, explore the related mechanisms, and mine the therapeutic targets, which will be beneficial to the precision treatment of rheumatoid arthritis combined with osteoporosis.

OBJECTIVE: To explore the causal relationship between rheumatoid arthritis and osteoporosis using two-sample Mendelian randomization and to mine potential co-morbid targets and potential targeted drugs through summary-data-based Mendelian randomization and bioinformatics analyses, aiming to provide theoretical basis for mechanism exploration and precision treatment in the field of rheumatoid arthritis combined with osteoporosis.

METHODS: (1) Firstly, GWAS data of rheumatoid arthritis, osteoporosis, and cis-expression quantitative trait locus (cis-eQTL) in Asian and European populations were downloaded from the GWAS Catalog, IEU Open GWAS, FinnGen, and eQTLGen databases, and were used for two-sample Mendelian randomization analysis and summary-data-based Mendelian randomization analysis. (2) Transcriptome sequencing data of rheumatoid arthritis (GSE93272 and GSE15573) were downloaded from the GEO database for bioinformatics analysis. (3) Subsequently, forward and inverse Mendelian randomization analyses between rheumatoid arthritis and osteoporosis were performed, and inverse variance weighted was used as the main metric for the analyses, and the results were corroborated with MR Egger, simple mode, weighted median and weighted mode. (4) Then, the genes closely related to rheumatoid arthritis and osteoporosis were identified based on the summary-data-based Mendelian randomization analysis, and the co-disease targets of rheumatoid arthritis and osteoporosis were mined based on cross-analysis. Meanwhile, the biological functions of the co-morbid targets were verified based on bioinformatics analysis and cellular experiments. (5) In addition, a rheumatoid arthritis risk prediction nomogram was constructed based on DYRK2, and its prediction performance was verified by receiver operating characteristic curve, correction curve and decision curve. Finally, the target potential drugs were mined based on Enrichr database and molecular docking was performed.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Forward Mendelian randomization analysis of rheumatoid arthritis and osteoporosis showed statistically significant results except for GCST90044540 and GCST90086118, and all other results indicated a significant causal relationship and positive correlation between rheumatoid arthritis and osteoporosis. (2) Inverse Mendelian randomization analysis suggested that no significant causal relationship was seen between osteoporosis and rheumatoid arthritis. (3) Summary-data-based Mendelian randomization analysis identified a total of 412 and 344 genes positively associated with rheumatoid arthritis and osteoporosis, and 421 and 347 genes negatively associated. Based on the cross-analysis, 26 co-morbid genes were subsequently obtained. Among them, DYRK2 was a potential therapeutic target, and subsequent bioinformatics analysis and cellular experiments confirmed its important role in the progression of rheumatoid arthritis and osteoporosis. (4) Furthermore, the constructed nomogram has excellent predictive performance. Finally, four potential DYRK2-targeting drugs (undecanoic acid, metyrapone, JNJ-38877605, and ACA) were discovered and molecular docking also demonstrated reliable targeting ability. (5) In conclusion, based on GWAS data from Asian and European populations, we successfully demonstrated that rheumatoid arthritis and osteoporosis are causally related at the genetic level, DYRK2 is a potential therapeutic target, and four small molecules are potential target drugs.

Key words: rheumatoid arthritis; osteoporosis; Mendelian randomization; summary-data-based Mendelian randomization; co-disease genes; DYRK2

Funding: the Orthopedic Special Research Project of Sichuan Medical Association, No. 2023AT19 (to WH)

How to cite this article: WU ZL, HE Q, WANG PX, SHI X, YUAN S, ZHANG J, WANG H. DYRK2: a novel therapeutic target for rheumatoid arthritis combined with osteoporosis based on East Asian and European populations. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2026;30(6):1569-1579.

0 引言 Introduction

骨质疏松症是一种慢性代谢性骨骼疾病，特征是骨量减少、骨组织微结构退化、骨张力和强度降低，以及脆性骨折风险增加^[1]。骨折是骨质疏松症最严重的后果之一，全球范围内因骨质疏松症所致的骨折约为890多万次，同时约1/3的女性和1/5的男性在50岁后会经历骨质疏松症性骨折^[2-3]。

根据病因，骨质疏松症主要分为原发性和继发性，其中原发性骨质疏松包括绝经后骨质疏松、老年性骨质疏松和特发性骨质疏松；而继发性骨质疏松主要指由影响骨代谢的疾病或药物或其他明确病因导致的骨质疏松。类风湿关节炎是一种伴有关节组织增生和滑膜炎的全身性自身免疫性疾病，典型的症状和体征包括关节疼痛、僵硬和肿胀^[4-5]。根据流行病学统计，在欧洲和北美，类风湿

关节炎患病率为0.5%–1.0%^[4]；在中国，类风湿关节炎患病率为0.32%–0.36%^[6]。既往研究表明，类风湿关节炎和骨质疏松症以及骨折存在正相关^[7-10]。一项包括865例类风湿关节炎患者和158名正常人群的对照研究表明，类风湿关节炎患者的椎体骨密度值低于非类风湿关节炎参与者，并且椎体骨折的患病率远高于正常人群^[7]。另外两项病例-对照研究分别纳入了645例女性研究对象(299例类风湿关节炎患者和246例健康人)^[8]、152例男性研究对象(76例类风湿关节炎患者和76例健康人)^[9]，并发现类风湿关节炎患者具有较低的骨密度值和较高的骨质疏松症发生率。此外，一项荟萃分析还显示，类风湿关节炎患者比非类风湿关节炎参与者有更高的骨折风险^[10]。

然而，类风湿关节炎和骨质疏松症间是否存在着一一定的因果效应仍

然难以确定。由于类风湿关节炎治疗方案中包含可致骨质疏松的糖皮质激素^[11]，而且因疼痛而导致的运动量减少、紫外线照射事件不足也会导致骨质疏松^[5]。确定因果关系的标准方法是随机对照试验，但耗费时间和经济消费是巨大的。近年来，孟德尔随机化已被广泛用于推断观察数据间的因果效应，这项技术使用单核苷酸多态性作为工具变量以评估暴露对结果的潜在因果影响^[12]。目前，大量数据库公开了全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)数据，有助于研究者基于孟德尔随机化探索暴露与结局间的因果关系。此外，利用基于汇总数据的孟德尔随机化(summary-data-based Mendelian randomization, SMR)来测试基因表达水平与性状之间的多效性关联，SMR分析的依赖性工具异质性(heterogeneity in dependent instruments,

HEIDI) 可以验证单核苷酸多态对性状的影响程度是否由基因表达介导^[13]。尽管已有研究基于孟德尔随机化分析探索了类风湿关节炎与骨质疏松症之间的因果分析, 但各研究结果存在矛盾。目前尚无有效的类风湿关节炎合并骨质疏松症的药物治疗靶点, 这限制了精准治疗的进展。

该研究通过多数据集和严格的阈值设定标准, 基于孟德尔随机化分析探索东亚和欧洲人群中类风湿关节炎和骨质疏松症之间的因果关系; 基于SMR分析探索出类风湿关节炎合并骨质疏松症的关键治疗靶点, 并通过生信分析和细胞实验进行验证; 构建了一个具有出色预测性能的类风湿关节炎风险预测诺莫图; 基于数据库和分子对接算法挖掘潜在靶向药物。该研究旨在为类风湿关节炎合并骨质疏松症的研究和精准治疗提供理论依据。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 设计 一项类风湿关节炎和骨质疏松间的正向和反向双样本孟德尔随机化分析, 同时基于SMR分析挖掘类风湿关节炎和骨质疏松的共病治疗靶点, 并基于生信分析和细胞实验进行验证。

1.2 时间及地点 研究于2024年10月在达州市中心医院完成。

1.3 资料 从GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)和GTEx数据库(<https://www.genome.gov/Funded-Programs-Projects/Genotype-Tissue-Expression-Project>)下载类风湿关节炎和31种正常组织的转录组数据。

1.3.1 数据获取 从存储GWAS数据的GWAS Catalog(<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>)、IEU Open GWAS(<https://gwas.mrcieu.ac.uk>)、FinnGen(<https://www.finnngen.fi/en>)以及eQTLGen(<https://eqtlgen.org/>)数据库中下载类风湿关节炎、骨质疏松症和顺式表达数量性状位点(cis-expression quantitative trait locus, cis-eQTL)的GWAS数据, 用于探索类风湿关节炎和骨质疏松症间的因果关系和挖掘潜在治疗靶点, 相关信息见表1。从GEO数据库

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)和GTEx数据库(<https://www.genome.gov/Funded-Programs-Projects/Genotype-Tissue-Expression-Project>)下载类风湿关节炎[GSE93272(亚洲), 27例类风湿关节炎样本, 30例健康样本; GSE15573(欧洲), 17例类风湿关节炎样本, 14例健康样本]和31种正常组织的转录组数据, 用于验证关键靶点的生物学功能。

1.4 方法

1.4.1 工具变量筛选 如图1所示, 为筛选出满足孟德尔随机化三大假设(假设1: 关联性假设, 工具变量与暴露因素强相关; 假设2: 独立性假设, 工具变量与混杂因素不相关; 假设3: 排他性假设, 工具变量仅通过暴露因素影响结局变量)的工具单核苷酸多态性^[14], 进行了如下操作: ①选择与类风湿关节炎显著相关的单核苷酸多态性($P < 5 \times 10^{-8}$); ②去除工具单核苷酸多态性连锁不平衡, 阈值设为: $r^2 < 0.01$, kb=10 000; ③剔除 F 统计值 < 10 的弱工具变量避免发生偏倚;

④使用IEU Open GWAS数据库(<https://gwas.mrcieu.ac.uk>)剔除与结局具有显著相关性的混淆因素。

1.4.2 孟德尔随机化分析 通过孟德尔随机化分析进行类风湿关节炎和骨质疏松症之间的因果分析, 以逆方差加权法作为主要分析方法, 以MR Egger法、简单模式法、加权中位数法和加权模式法作为补充方法。同时, 基于Cochran's Q检验、MR-Egger-Intercept检验以及留一法检验对分析结果进行敏感性分析。其中, Cochran's Q检验主要用于判断工具单核苷酸多态性的异质性, 当结果存在显著异质性时($P \leq 0.05$), 采用随机效应逆方差加权算法。MR-Egger-Intercept检验主要用于评估单核苷酸多态性间是否存在水平多效性, 以避免混杂因素导致分析结果出现偏倚; 留一法检验用于观察是否存在对结果影响较大的单核苷酸多态性, 如果存在则分析结果不可靠。

1.4.3 SMR分析 为探索出类风湿关节炎合并骨质疏松症的潜在治疗靶

表1 | 类风湿关节炎和骨质疏松症的全基因组关联研究(GWAS)数据汇总

疾病	ID	数据库	人种	疾病组(n)	对照组(n)	总人数(n)
类风湿关节炎	GCST90044540	GWAS Catalog	欧洲	1 961	454 387	456 348
	GCST90129457	GWAS Catalog	欧洲	839	201 957	202 796
	bbj_a_151	IEU OPEN GWAS	东亚	4 199	208 254	212 453
	GCST90018690	GWAS Catalog	东亚	5 348	173 268	178 616
骨质疏松症	FinnGen_R9_M13_OP	FinnGen	欧洲	7 300	358 014	365 314
	GCST90044600	GWAS Catalog	欧洲	991	455 357	456 348
	GCST90086118	GWAS Catalog	欧洲	5 399	51 238	56 637
	GCST90018667	GWAS Catalog	东亚	9 794	168 932	178 726
表达数量性状位点	cis-eQTL	eQTLGen	欧洲	-	-	21 688

表注: “-”表示无数据。

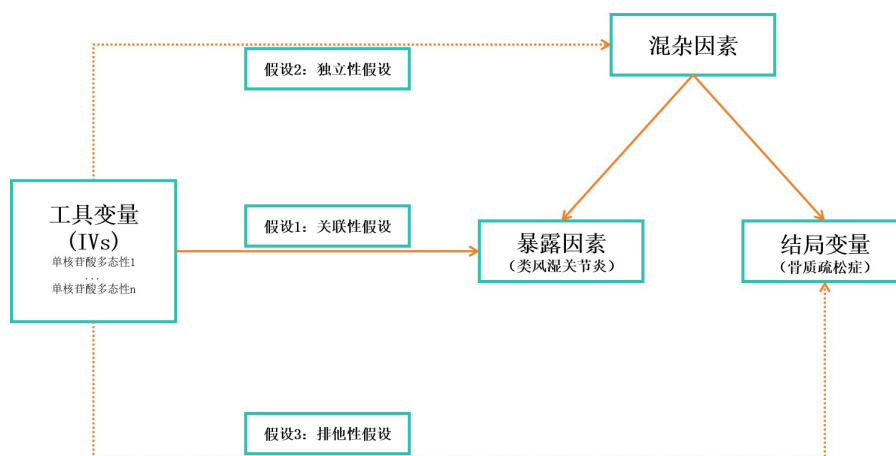


图1 | 基于孟德尔随机化分析三大假设筛选工具单核苷酸多态性

点, 该研究基于纳入人群最多的类风湿关节炎和骨质疏松症数据, 分别使用此数据对 cis-eQTL 进行 SMR 分析。SMR 分析基于 HEIDI 检验来确保阳性 SMR 结果具有因果关系。因此, 当满足 P 值 (SMR) < 0.05 和 P 值 (HEIDI) > 0.05 时, 该基因被视作具有可靠效应的潜在治疗靶点。

1.4.4 关键基因的生物学功能探索 从 GEO 数据库获取带有类风湿关节炎临床数据的芯片测序数据 (GSE93272 和 GSE15573)。基于注释文件对探针进行注释, 当存在相同探针时取平均值较大的探针予以保留。接着, 基于 'limma' R 包进行类风湿关节炎组织和正常组织的差异表达分析, 以验证关键基因在病理和正常组织间的差异表达。随后, 基于 GeneMania 数据库 (<https://genemania.org/>) 探索关键基因的生物学功能。此外, 基于基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 探索关键基因的潜在调控机制。最后, 基于 GTEx 数据库探索关键基因在 31 种正常组织中的表达。

1.4.5 关键基因的重要性评估和诺莫图构建 通过单因素逻辑回归分析、绘制受试者特征曲线和混淆矩阵评估关键基因在类风湿关节炎预测中的重要性, 同时进行关键基因和关键临床特征的相关性分析。最后, 基于关键基因构建类风湿关节炎风险预测诺莫图, 通过受试者特征曲线、校正曲线和决策曲线验证预测性能。

1.4.6 关键基因的靶点药物挖掘和分子对接 基于 Enrichr 数据库 (<https://maayanlab.cloud/Enrichr/>) 获取可上调/下调关键基因表达的靶向药物, 随后进行药物和关键基因的分子对接。首先, 从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 和 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org>) 下载药物和关键基因的三维分子结构。接着, 去除靶点蛋白三维结构的水分子和配体, 并添加氢原子修复缺失的侧链, 旨在对靶点蛋白的三维结构进行优化。随后, 用 AutoDock 对药物和关键基因进行分子对接模拟。最后, 使

用 PyMOL 对最佳对接构象进行可视化。

1.4.7 细胞获取和培养 从武汉塞维尔生物科技有限公司购置小鼠成骨细胞株 (MC3T3-E1)。将细胞接种在含体积分数 10% 胎牛血清的 α -MEM 培养基中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2 孵箱中培养。

1.4.8 细胞转染 将 MC3T3-E1 细胞以 1×10^5 个/孔密度接种在 6 孔板中, 使用含体积分数 10% 胎牛血清的 α -MEM 培养基培养细胞融合度达到 60%, 更换为 Opti-MEM 培养基, 并加入 Lipofectamine 3000 和 DYRK2-siRNA 或 NC-siRNA (吉满生物), 具体操作均基于试剂说明书进行。同时, 将未进行转染的细胞作为对照组进行比较。细胞转染培养周期为 48 h。

1.4.9 实时荧光定量聚合链式反应 (RT-qPCR) 细胞转染完成后, RT-qPCR 验证 si-DYRK2 转染效率。细胞转染完成后, 添加成骨诱导培养基 (普诺赛) 培养 3 d, RT-qPCR 检测 DYRK2 对成骨标志基因的影响。使用 TRIzol 试剂提取总 RNA, 用反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA, 最后用 RT-qPCR 扩增目的基因的表达水平。以 GAPDH 为内参, 以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 作为目的基因的相对表达水平, 引物序列见表 2。

1.4.10 Western blot 分析 细胞转染完成后, 添加成骨诱导培养基培养 3 d, Western blot 检测 DYRK2 对成骨标志蛋白的影响。细胞用 RIPA 裂解液 (含蛋白酶和磷酸酶抑制剂) 冰浴裂解 30 min, 12 000 r/min 离心 15 min 收集上清液, 使用 BCA 试剂盒定量蛋白。取等量蛋白与上样缓冲液混合, 在 95 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min 后加载至 10%-12% 的 SDS-PAGE 凝胶, 电泳分

离蛋白, 随后将蛋白转移至 PVDF 膜, 用 5% 脱脂奶粉在室温封闭 1 h, 将膜与一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜 [碱性磷酸酶抗体 (Abcam), 骨钙素、骨桥蛋白、Runt 相关转录因子 2 和 GAPDH 抗体 (ABclonal Biotechnology), 稀释比例均为 1 : 1 000], 次日用 TBST 洗膜后, 加入二抗在室温孵育 1 h, 再次用 TBST 洗膜后, 加入 ECL 并在化学发光系统中显影, Image J 软件进行条带灰度值分析。结果用目的条带的灰度值 /GAPDH 的灰度值表示。

1.4.11 茜素红染色和碱性磷酸酶染色

茜素红染色: 细胞转染完成后, 添加成骨诱导培养基培养 21 d 进行茜素红染色。细胞经 PBS 洗涤 2 次后, 用 40 g/L 多聚甲醛固定 10-15 min, 使用 pH 4.1-4.3 的 1% 茜素红染色液覆盖细胞, 染色 20-30 min, 染色完成后用水洗去多余染料, 并在显微镜下观察橙红色的矿化结节。另外, 染色后加入 10% 冰醋酸 15 min, 用酶标仪测定 570 nm 处的吸光度值进行半定量分析。

碱性磷酸酶染色: 细胞转染完成后, 添加成骨诱导培养基培养 14 d 进行碱性磷酸酶染色。细胞用 PBS 洗涤后, 用 40 g/L 多聚甲醛固定 10-15 min。按照试剂盒说明书配制碱性磷酸酶染色工作液, 加入固定细胞中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 15-30 min, 染色后用蒸馏水洗涤细胞 3 次, 去除未反应染料, 显微镜下观察蓝色沉淀代表碱性磷酸酶活性区域, 加入碱性磷酸酶活性测定试剂盒工作液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5-10 min, 每孔加入 100 μL 反应终止液终止反应, 用分光光度计在 405 nm 处测定吸光度值, 并与标准蛋白比较, 得到酶活力曲线。

表 2 | RT-qPCR 引物序列

基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
ALP	CGG CGT CCA TGA GCA GAA CTA C	AGG CAC AGT GGT CAA GGT TGG
OCN	CAG AGG AAC TGG TTA GCA GGC AAC	CGC AGG TTC TCA ATG GCA CAC
OPN	CTG CTA GTA CAC AAG CAG ACA	CAT GAG AAA TTC GGA ATT TCA G
RUNX2	GAT GAT GAC ACT GCC ACC TCT GAC	TGA GGG ATG AAA TGC TTG GGA ACT G
DYRK2	TGG GTC CAA ATG CAA AGA AAC GCC A	GCT TCT CGT TCC GCA CCA TCT TCA G
GAPDH	CAT CTC TGC CCC CTC TGC TGA	GGA TGA CCT TGC CCA CAG CCT

表注: ALP 为碱性磷酸酶, OCN 为骨钙素, OPN 为骨桥蛋白, RUNX2 为 Runt 相关转录因子 2, DYRK2 为双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶 2, GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

1.5 主要观察指标 ①类风湿关节炎和骨质疏松症之间正向和反向因果关系;②与类风湿关节炎和骨质疏松症具有因果效应的基因;③关键基因在类风湿关节炎和骨质疏松症中的重要性。

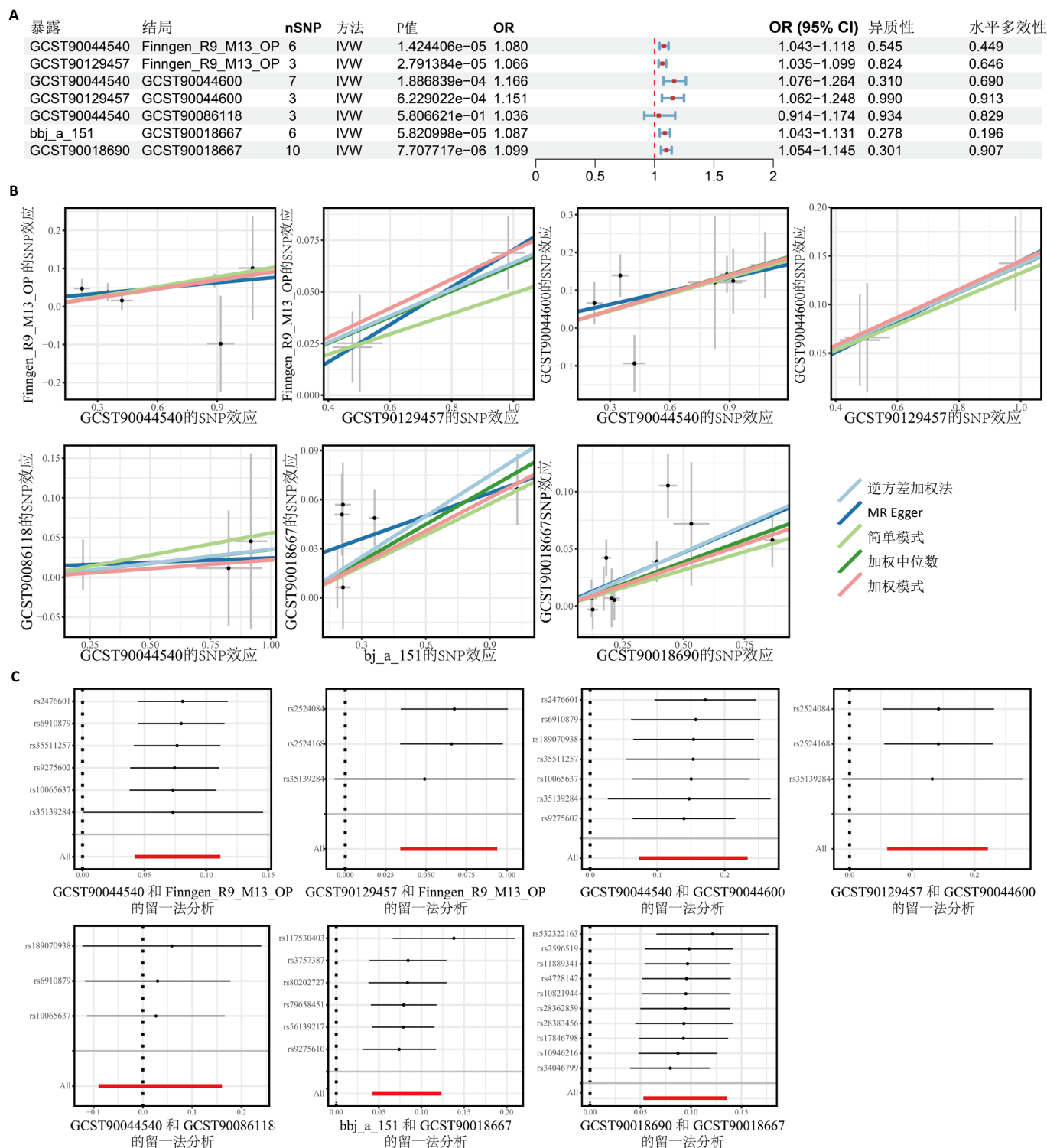
1.6 统计学分析 基于R软件(V4.3.2)

进行相关分析,图形均由“ggplot2”R包进行绘制,SMR分析由SMR软件(V1.3.1)完成。除外特殊说明, $P < 0.05$ 被视为差异有显著性意义。文章统计学方法已经通过重庆医科大学生物统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 类风湿关节炎和骨质疏松症的正向孟德尔随机化分析 见图2。

基于严格的阈值,筛选出正向孟德尔随机化分析中与暴露因素(类风湿关节炎)紧密相关的单核苷酸多



图注: 图A为类风湿关节炎和骨质疏松症正向孟德尔随机化森林图; B为类风湿关节炎和骨质疏松症正向孟德尔随机化散点图; C为类风湿关节炎和骨质疏松症正向孟德尔随机化留一法检验。

图2 | 类风湿关节炎和骨质疏松症的正向孟德尔随机化和留一法检验

态性，并通过去除连锁不平衡从 IEU Open GWAS 数据库筛选出满足孟德尔随机化三大假设的单核苷酸多态性，随后剔除 $F < 10$ 的单核苷酸多态性，以避免结果偏倚，最后进行类风湿关节炎和骨质疏松症间的正向双样本孟德尔随机化分析。结果显示，除外暴露 GCST90044540 和结局 GCST90086118，其余孟德尔随机化分析证实类风湿关节炎和骨质疏松症之间存在因果关系，并且呈显著正相关 (图 2A)。此外，散点图显示，其余 4 种算法 (MR Egger 法、简单模式法、加权中位数法和加权模式法) 具有一致性，表明分析结果可靠 (图 2B)。阳性结果均通过 Cochran's Q 检验、MR-Egger-Intercept 检验和留一法检验，证明结果稳定且可靠 (图 2C)。

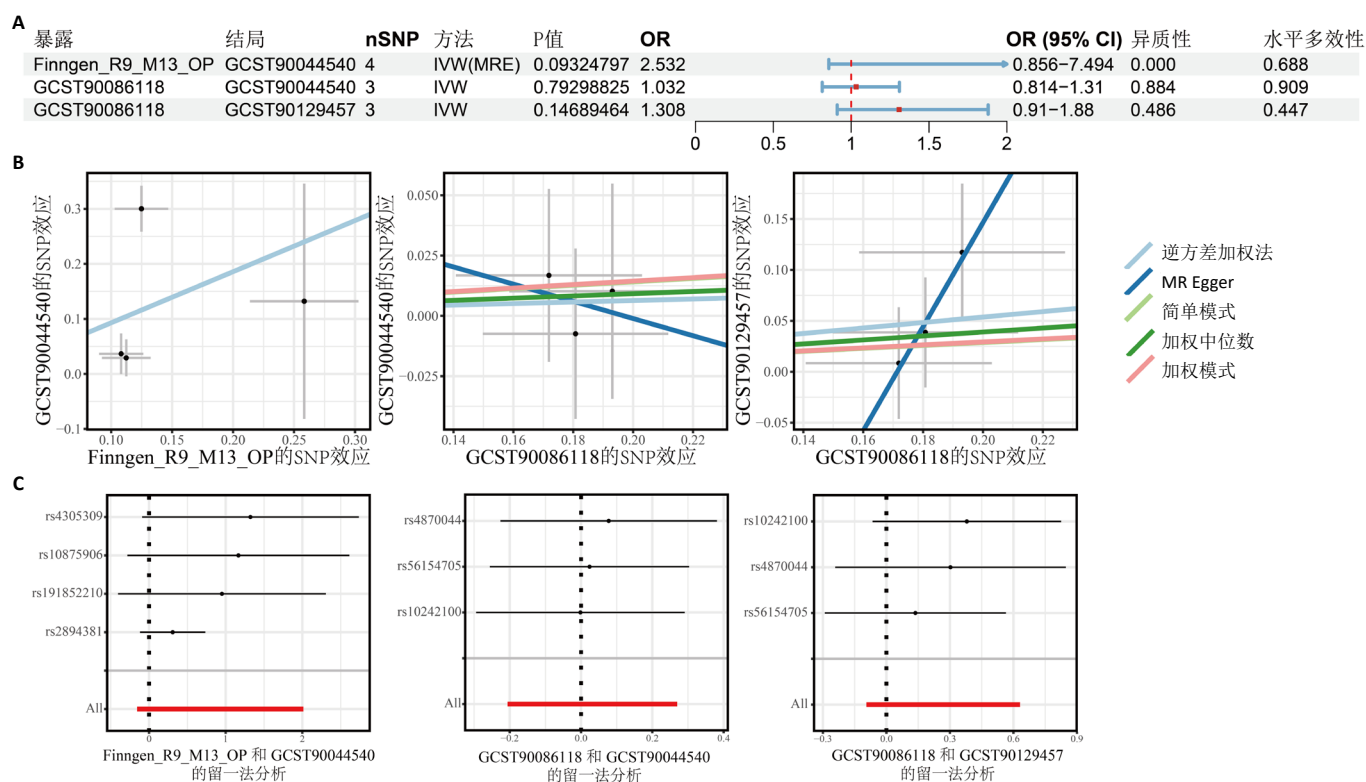
2.2 骨质疏松症和类风湿关节炎的反向孟德尔随机化分析 基于相同方式筛选出反向孟德尔随机化分析中与暴露因素 (骨质疏松症) 紧密相关且满足三大假设的单核苷酸多态性用于反

向双样本孟德尔随机化分析。结果显示，尽管骨质疏松症与类风湿关节炎存在正相关趋势，但不存在明显因果关系 (图 3A)。散点图中各算法的不一致也证明骨质疏松症和类风湿关节炎之间不存在因果关系 (图 3B)。此外，敏感性分析结果表明骨质疏松症和类风湿关节炎的反向孟德尔随机化分析是可靠的 (图 3A 和 3C)。综上所述，类风湿关节炎和骨质疏松症的正向孟德尔随机化分析中具有一致方向的 OR 值，并且大部分结果具有显著性；同时，骨质疏松症和类风湿关节炎的反向孟德尔随机化分析中未见阳性结果。因此，类风湿关节炎与骨质疏松症之间具有因果关系，并且类风湿关节炎与骨质疏松症的发生风险呈显著正相关。

2.3 潜在治疗靶点挖掘 基于 SMR 分析，该研究共获得与类风湿关节炎和骨质疏松症正相关的基因分别为 412 和 344 个，负相关基因分别为 421 和 347 个。对正相关基因和负相关基因进行两两交叉分析，最终得到 6 个

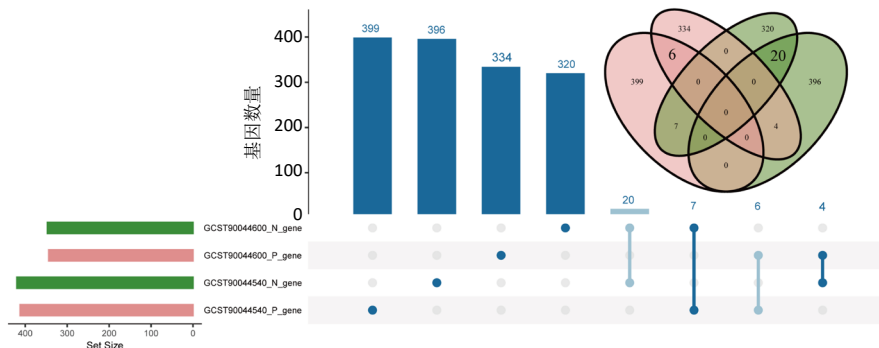
共同正相关基因和 20 个共同负相关基因，见图 4。这些基因在类风湿关节炎和骨质疏松症的调控中扮演桥梁作用，其中只有 DYRK2 的 Beta 值 < -1.5 ，表明 DYRK2 与两种疾病具有紧密的联系 (可能在两种疾病的共病机制中扮演着关键角色)，并且是潜在的治疗靶点 (表 3)。

2.4 DYRK2 的生物学功能探索 GSE93272 和 GSE15573 数据集中的基因差异表达分析表明，DYRK2 在类风湿关节炎中显著低表达 (图 5A, B)，这表明 DYRK2 的表达可能是类风湿关节炎发病的机制之一。生物学功能分析表明 DYRK2 主要参与氨基酸的修饰 (图 5C)。此外，GSEA 分析表明，DYRK2 的表达对 TNF 信号通路、破骨细胞分化和 PPAR 通路具有抑制作用 (图 5D, E)。TNF 信号通路是类风湿关节炎发病和进展的关键通路；破骨细胞分化和 PPAR 通路是骨质疏松发生的关键因素。因此，DYRK2 低表达可能会导致这些通路的异常激活，进而导致类风湿关节炎的进展和骨质疏



图注：图 A 为骨质疏松症和类风湿关节炎反向孟德尔随机化森林图；B 为骨质疏松症和类风湿关节炎反向孟德尔随机化散点图；C 为骨质疏松症和类风湿关节炎的反向孟德尔随机化留一法检验。

图 3 | 骨质疏松症和类风湿关节炎的反向孟德尔随机化和留一法检验



图注：纵坐标表示 GCST90044600 和 GCST90044540 中共同正 / 负相关基因数量。

图 4 | 基于交叉分析鉴定骨质疏松症和类风湿关节炎的共同正 / 负相关基因

表 3 | 基于汇总数据的孟德尔随机化 (SMR) 分析和交叉分析鉴定的潜在治疗靶点

基因名称	类风湿关节炎			骨质疏松症		
	Beta 值	P 值 (SMR)	P 值 (HEIDI)	Beta 值	P 值 (SMR)	P 值 (HEIDI)
NOM1	0.386	0.007	0.847	0.397	0.048	0.539
RP11-205M20.7	0.439	0.01	0.936	0.49	0.039	0.654
CCDC88B	0.177	0.021	0.477	0.241	0.025	0.5
GLIPR1L2	0.271	0.029	0.632	0.367	0.036	0.243
RP11-585P4.5	0.08	0.029	0.388	0.102	0.046	0.224
OAS1	0.145	0.004	0.293	0.179	0.011	0.182
MECOM	-0.969	0.021	0.626	-1.183	0.045	0.672
EIF5A2	-1.21	0.013	0.322	-1.888	0.006	0.982
NDUFC1	-0.406	0.012	0.795	-0.5	0.028	0.828
LINC00265	-0.113	0.021	0.825	-0.147	0.034	0.38
ZNF655	-1.069	0.028	0.242	-1.405	0.04	0.166
TNFRSF10D	-1.005	0.002	0.851	-1.1	0.015	0.599
U6	-0.367	0.013	0.906	-0.33	0.032	0.117
ZNF16	-0.84	0.023	0.741	-1.055	0.042	0.432
SWAP70	-0.319	0.007	0.54	-0.392	0.018	0.842
DDB2	-0.314	0.038	0.568	-0.533	0.013	0.193
PLA2G16	-0.111	0.01	0.991	-0.181	0.003	0.667
RP11-856B14.1	-0.301	0.035	0.714	-0.536	0.008	0.825
DYRK2	-1.741	0.02	0.843	-2.259	0.03	0.438
CAPS2	-0.503	0.035	0.51	-0.709	0.035	0.352
GLIPR1L1	-0.856	0.026	0.252	-1.131	0.036	0.273
OAS3	-0.379	0.004	0.074	-0.527	0.005	0.135
RP1-178F10.1	-0.336	0.022	0.204	-0.491	0.018	0.42
DDX52	-0.198	0.048	0.246	-0.293	0.038	0.718
PNMAL1	-0.161	0.026	0.806	-0.212	0.038	0.7
KCNS1	-0.974	0.019	0.876	-1.134	0.05	0.874

松症的发生。此外，GTEx 数据库表明，DYRK2 在骨髓中显著富集 (图 5F)，在成骨分化中可能发挥重要作用。因此，上述结果表明，DYRK2 是类风湿关节炎和骨质疏松症的关键共病基因。

2.5 DYRK2 的重要性评估和诺莫图构建 单因素逻辑回归结果显示，DYRK2 在 GSE93272 和 GSE15573 两个数据集中具有显著意义 (图 6A)；受试者工作特征曲线和混淆矩阵均显示 DYRK2 基因在两个数据集中表现出色。因此，DYRK2 基因具有较好的类风湿关节炎风险预测性能 (图 6B, C)。此外，相关性分析表明，除年龄外，DYRK2 的表达量与临床疾病活动指数 (clinical

disease activity index, CDAI) 简化临床疾病活动指数 (simplified disease activity index, SDAI) 和目测类比评分 (visual analogue scale, VAS) 均呈显著负相关 (图 6D)，这证实了该基因在临床中的重要性。最后，基于 DYRK2 和年龄特征，构建了一个诺莫图用于预测类风湿关节炎患病风险 (图 6E)。受试者工作特征曲线、校正曲线和决策曲线证明该预测工具具有出色的预测性能 (图 6F-H)。

2.6 基于细胞实验验证 DYRK2 的生物学功能 如图 7A 所示，si-DYRK2 转染成功，DYRK2 表达明显下调。如图 7B, C 所示，在 MC3T3-E1 细胞中沉

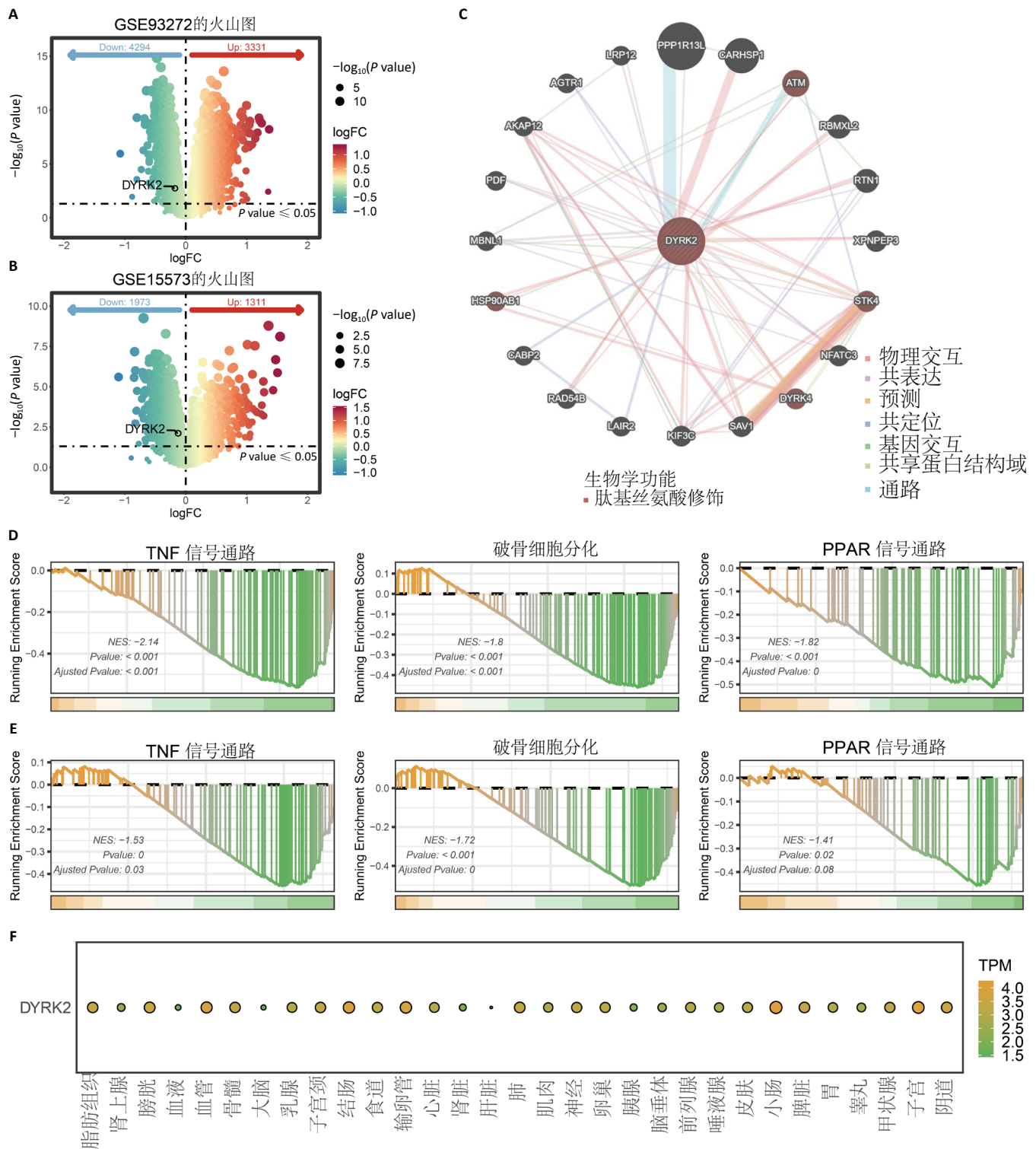
默 DYRK2 表达时，成骨相关基因 (碱性磷酸酶、骨桥蛋白、骨钙素、Runt 相关转录因子 2) mRNA 和蛋白表达显著降低；同时，通过碱性磷酸酶染色和茜素红染色发现当 DYRK2 表达降低时，它能够显著抑制 MC3T3-E1 细胞的成骨分化和矿化 (图 7D-G)，这表明 DYRK2 基因在成骨过程中起调控作用。

2.7 DYRK2 的靶向药物挖掘和分子对接 基于 Enrichr 数据库挖掘出 4 种可靶向 DYRK2 的药物 (图 8A)。分子对接显示，4 种药物的小分子均成功占据在 DYRK2 蛋白的分子口袋中 (图 8B)，结合能分别为 -23.85 kJ/mol (Undecanoic Acid)、-30.96 kJ/mol (Metyrapone)、-46.86 kJ/mol (JNJ-38877605) 和 -38.07 kJ/mol (ACA)。这些结果为类风湿关节炎和骨质疏松症的靶向治疗提供了一定的前期理论依据。

3 讨论 Discussion

先前的一项基于日本人群的孟德尔随机化研究表明类风湿关节炎与骨质疏松症之间具有显著因果关系，但数据均来源于同一数据库，可能存在“赢家诅咒”^[15]，这导致结果具有不确定性。此外，另一项基于欧洲人群的孟德尔随机化研究表明，类风湿关节炎和骨质疏松症之间无显著因果关系。但是，该研究的工具单核苷酸多态性阈值只有 1×10^{-5} ，这在一定程度上会导致结果的偏倚^[16-18]。该研究基于多数据集和高标准阈值，成功验证了东亚和欧洲人群中类风湿关节炎与骨质疏松症具有因果效应，并且呈显著正相关。

类风湿关节炎免疫细胞和滑膜成纤维细胞诱导促炎细胞因子增加，并破坏骨平衡 (骨形成和骨吸收)，进而导致了骨质疏松症的发生。在类风湿关节炎滑膜中，滑膜成纤维细胞细胞和活化的 T 细胞是产生核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 的主要细胞^[19]。研究表明，敲除类风湿关节炎实验小鼠滑膜成纤维细胞的 RANKL 表达后，未观察到骨侵蚀的存在；但是，敲除 T 细胞的 RANKL 表



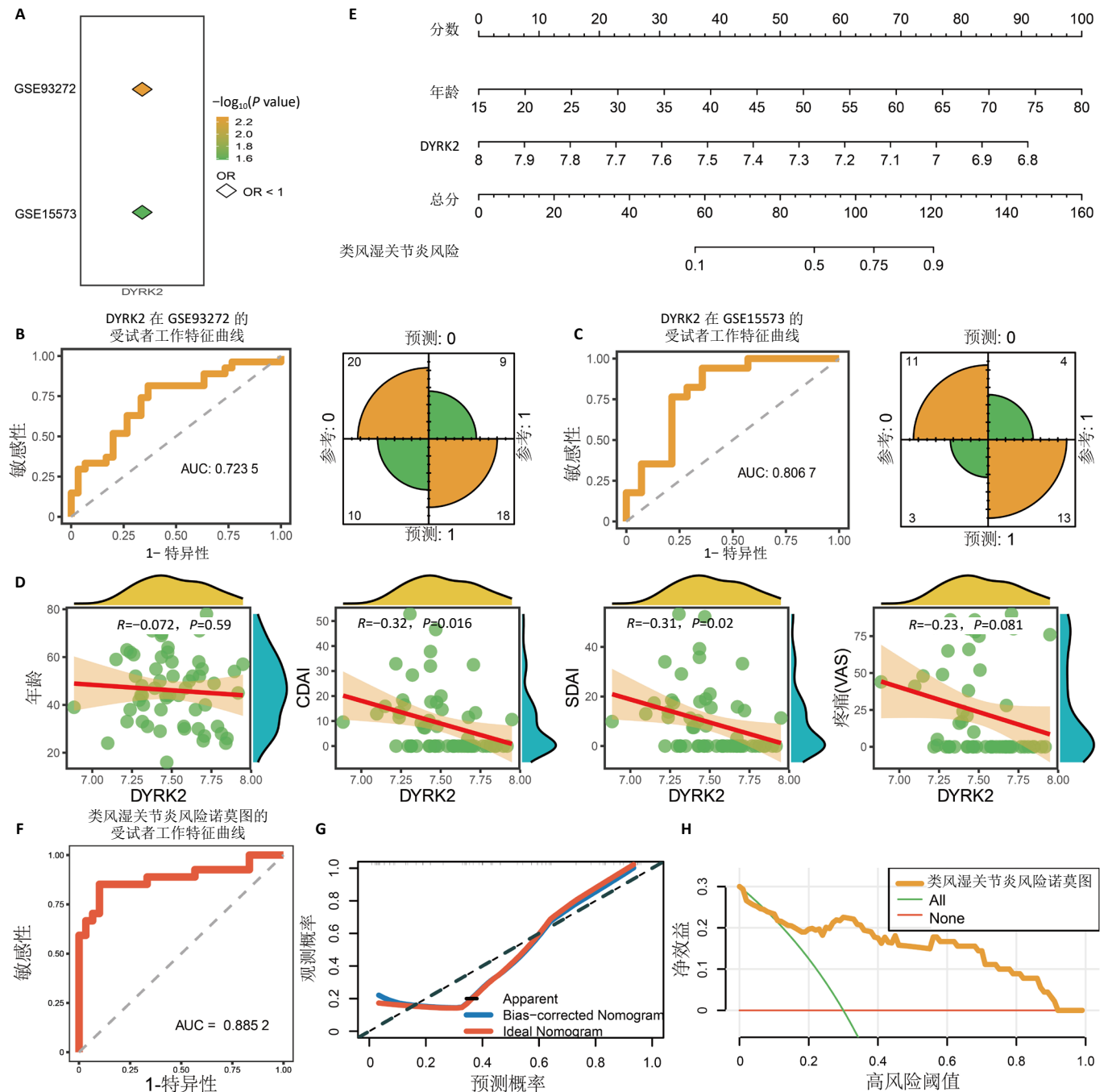
图注：图 A, B 为 GSE93272 和 GSE15573 数据集中正常组织和类风湿关节炎组织的差异表达基因火山图；C 为基于 GeneMania 数据库构建的 DYRK2 生物学功能调控网络；D, E 为 DYRK2 在 GSE93272 和 GSE15573 数据集中的基因集富集分析 (GSEA)；F 为 DYRK2 在 31 种组织中的表达。

图 5 | DYRK2 的生物学功能探索

达，依旧可以观察到骨侵蚀。因此，滑膜成纤维细胞是类风湿关节炎导致骨质疏松症的主要细胞^[20]。当然，免疫细胞与滑膜成纤维细胞的相互作用，也在骨质疏松症的发生过程中扮演重要作用。Th17 细胞可通过产生白

细胞介素 17、白细胞介素 21 和白细胞介素 22 诱导滑膜成纤维细胞表达 RANKL，同时，白细胞介素 17 通过激活先天免疫细胞产生促炎因子，并进一步诱导滑膜成纤维细胞表达 RANKL^[21-22]。此外，Th17 细胞对免疫

复合物的去唾液酸化也增加了破骨细胞的生成能力^[23-24]。B 细胞除产生抗体外，在类风湿关节炎的破骨细胞生成中也发挥重要作用，研究表明类风湿关节炎滑液中活化的 B 细胞表达高水平的 RANKL，进而促进骨吸收^[25]。



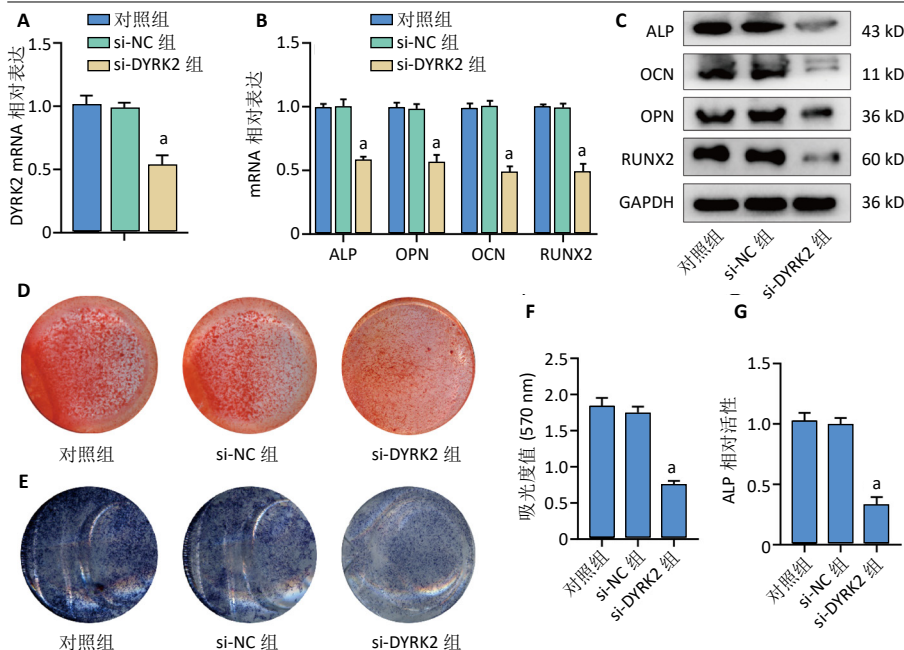
图注：图 A 为 DYRK2 的单因素逻辑回归分析；B、C 为 DYRK2 的受试者工作特征曲线和混淆矩阵绘制；D 为 DYRK2 和重要临床特征的相关性分析；E 为基于 DYRK2 构建的诺莫图；F 为诺莫图的受试者工作特征曲线；G 为诺莫图的校正曲线；H 为诺莫图的决策曲线。AUC：曲线下面积；CDAI：临床疾病活动指数；SDAI：简化临床疾病活动指数；VAS：目测类比评分。

图 6 | DYRK2 的重要性评估和诺莫图构建

据统计，在类风湿关节炎患者中 30%-50% 的人群合并骨质疏松症，并且骨质疏松症发生风险与疾病持续时间和严重程度密切相关^[26-28]。研究表明，在同龄的绝经前女性中类风湿关节炎患者患骨质疏松症的风险更高^[29]，并且这一现象也在男性中被发现^[8]。两项荟萃分析显示，与健康人群相比，类风湿关节炎患者的骨折风险高出

60%-100%^[10, 30]。另一项荟萃分析显示，类风湿关节炎患者椎体骨折风险也较常人高出 2 倍^[31]。尽管已有大量临床研究和基础研究证实了类风湿关节炎和骨质疏松症间的密切联系，但是只有约 45% 的类风湿关节炎患者接受钙剂和维生素 D 的治疗^[32]。在未接受糖皮质激素治疗的类风湿关节炎患者中，只有 5.4% 的患者使用双膦酸

盐类药物^[33]。此外，在一项大规模队列研究中，研究者们发现仅有 35% 的患者接受了抗骨质疏松症药物方案，其中高骨折风险患者只有 50%^[34]。这些数据是值得担忧的，结合此研究结果可以证明类风湿关节炎和骨质疏松症间存在着因果关系。因此，类风湿关节炎患者骨质疏松症的早期预防至关重要，对于改善患者生活质量、减



图注：图 A 为 RT-qPCR 检测 DYRK2 mRNA 表达，验证 si-DYRK2 转染效率；B 为 RT-qPCR 检测成骨相关基因表达；C 为 Western blot 检测成骨相关蛋白表达；D, F 为茜素红染色及半定量分析；E, G 为 ALP 染色及活性。与对照组比较， $^aP < 0.01$ 。ALP: 碱性磷酸酶；OPN: 骨桥蛋白；OCN: 骨钙素；RUNX2: Runt 相关转录因子 2。

图 7 | 沉默 DYRK2 表达对 MC3T3-E1 细胞成骨分化的影响

轻医疗财政负担具有重大意义。

DYRK2 属于蛋白激酶家族，主要参与细胞的生长和发育。研究表明，DYRK2 基因与阿尔茨海默症、肿瘤和骨质疏松等疾病密切相关^[35-36]。研究表明，DYRK2 的表达在破骨细胞融合开始的时间点达到峰值^[37]，这表明该基因在破骨细胞的分化过程中扮演关键角色。该研究结果显示 DYRK2 在类风湿关节炎中显著低表达，这一现象可能激活 TNF 信号通路促进类风湿关节炎进展，同时通过激活破骨细胞分化以及 PPAR 信号通路来促进骨质疏松症的发生。后续实验也证实抑制 DYRK2 的表达会导致祖细胞成骨分化受阻。因此，DYRK2 在类风湿关节炎合并骨质疏松症中具有重要价值，值得后续深入研究。

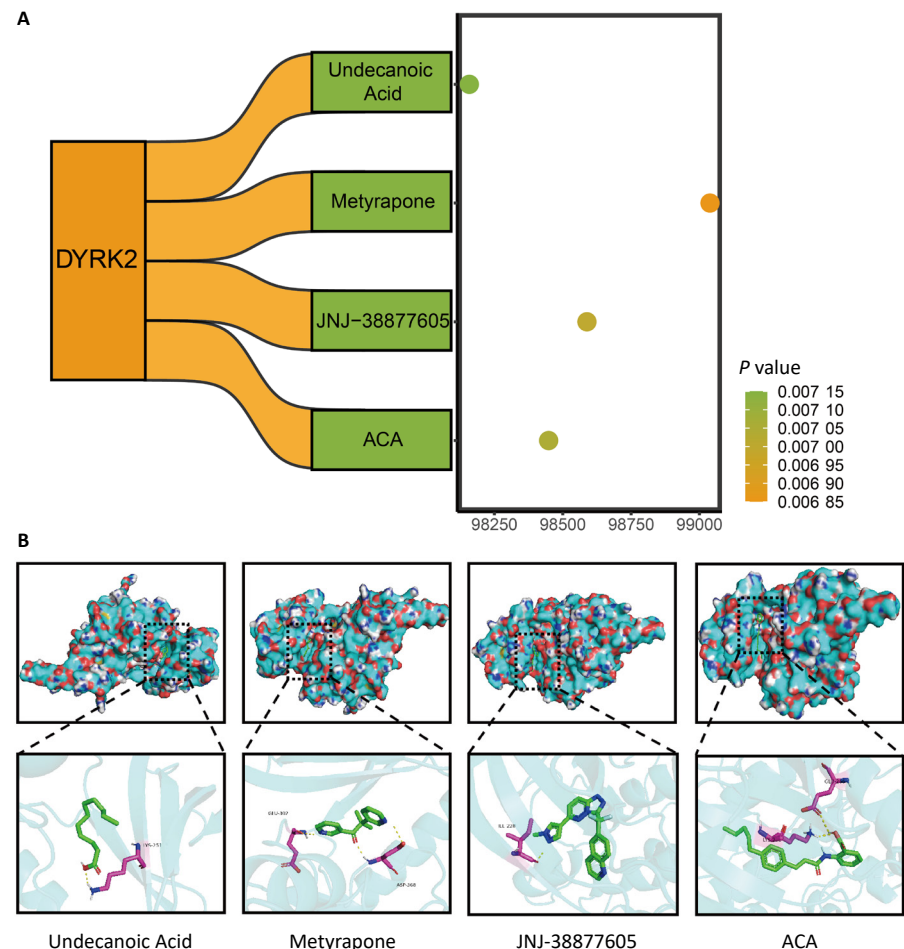
该研究基于多数据集孟德尔随机化分析，证明在东亚和欧洲人群中类风湿关节炎和骨质疏松症间具有因果关系，并且呈显著正相关。此外，该研究挖掘出的 26 个类风湿关节炎和骨质疏松症共病基因，其中 DYRK2 可作为共病治疗的潜在靶点。通过生信分析和细胞实验验证了 DYRK2 在类风湿关节炎和骨质疏松症中的重要性，并构建了一个具有出色预测性能的诺莫图。最后，该研究还挖掘出 4 个促进 DYRK2 表达的靶向药物。

该研究仍存在一定局限：首先，数据分析本质上属于回归性分析，结果存在一定偏倚；其次，该研究未能对相关通路进行深入探索，仍需后续研究加以验证；最后，还需要更多的体外和体内实验验证靶点和靶向药物的疗效。

作者贡献：吴治林负责实验实施、数据分析和论文撰写；何秦、王桢稀、石现和袁松负责数据分析和图片整理；张骏和王浩负责实验设计、项目监督、资源支持和文章校对。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链



图注：图 A 为基于 Enrichr 数据库获取的 DYRK2 靶向药物；B 为靶向药物和 DYRK2 的分子对接。

图 8 | DYRK2 的靶向药物挖掘

接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] POURRESMAEILI F, KAMALIDEHGHAN B, KAMAREHEI M, et al. A comprehensive overview on osteoporosis and its risk factors. *Ther Clin Risk Manag*. 2018;14: 2029-2049.
- [2] JOHNNELL O, KANIS JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2006;17(12):1726-1733.
- [3] JOHNSTON CB, DAGAR M. Osteoporosis in Older Adults. *Med Clin North Am*. 2020; 104(5):873-884.
- [4] VAN DER WOUDE D, VAN DER HELM-VAN MIL AHM. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2018;32(2):174-187.
- [5] LIU YQ, LIU Y, CHEN ZY, et al. Rheumatoid arthritis and osteoporosis: a bi-directional Mendelian randomization study. *Aging (Albany NY)*. 2021;13(10):14109-14130.
- [6] BASAT H, ESMAEILZADEH S, ESKIYURT N. The effects of strengthening and high-impact exercises on bone metabolism and quality of life in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *J Back Musculoskelet Rehabil*. 2013;26(4):427-435.
- [7] TONG JJ, XU SQ, ZONG HX, et al. Prevalence and risk factors associated with vertebral osteoporotic fractures in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2020; 39(2):357-364.
- [8] KWEON SM, SOHN DH, PARK JH, et al. Male patients with rheumatoid arthritis have an increased risk of osteoporosis: Frequency and risk factors. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(24):e11122.
- [9] LEE SG, PARK YE, PARK SH, et al. Increased frequency of osteoporosis and BMD below the expected range for age among South Korean women with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2012;15(3):289-296.
- [10] XUE AL, WU SY, JIANG L, et al. Bone fracture risk in patients with rheumatoid arthritis: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(36):e6983.
- [11] ADAMI G, SAAG KG. Glucocorticoid-induced osteoporosis: 2019 concise clinical review. *Osteoporos Int*. 2019;30(6):1145-1156.
- [12] BIRNEY E. Mendelian Randomization. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2022;12(4): a041302.
- [13] ZHU Z, ZHANG F, HU H, et al. Integration of summary data from GWAS and eQTL studies predicts complex trait gene targets. *Nat Genet*. 2016;48(5):481-487.
- [14] SKRIVANKOVA VW, RICHMOND RC, WOOLF BAR, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology Using Mendelian Randomization: The STROBE-MR Statement. *JAMA*. 2021;326(16):1614-1621.
- [15] JIANG T, GILL D, BUTTERWORTH AS, et al. An empirical investigation into the impact of winner's curse on estimates from Mendelian randomization. *Int J Epidemiol*. 2023;52(4):1209-1219.
- [16] DAVIES NM, HOLMES MV, DAVEY SMITH G. Reading Mendelian randomisation studies: a guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ*. 2018;362:k601.
- [17] SKRIVANKOVA VW, RICHMOND RC, WOOLF BAR, et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using mendelian randomisation (STROBE-MR): explanation and elaboration. *BMJ*. 2021;375:n2233.
- [18] HEMANI G, ZHENG J, ELSWORTH B, et al. The MR-Base platform supports systematic causal inference across the human phenome. *Elife*. 2018;7:e34408.
- [19] KOTAKE S, UDAGAWA N, HAKODA M, et al. Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum*. 2001;44(5):1003-1012.
- [20] DANKS L, KOMATSU N, GUERRINI MM, et al. RANKL expressed on synovial fibroblasts is primarily responsible for bone erosions during joint inflammation. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(6):1187-1195.
- [21] KOMATSU N, TAKAYANAGI H. Immune-bone interplay in the structural damage in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2018;194(1):1-8.
- [22] WANG M, TIAN T, YU S, et al. Th17 and Treg cells in bone related diseases. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:203705.
- [23] 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(1):104-113.
- [24] HARRE U, LANG SC, PFEIFLE R, et al. Glycosylation of immunoglobulin G determines osteoclast differentiation and bone loss. *Nat Commun*. 2015;6:6651.
- [25] YEO L, TOELLNER KM, SALMON M, et al. Cytokine mRNA profiling identifies B cells as a major source of RANKL in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(11): 2022-2028.
- [26] HAUGEBERG G, UHLIG T, FALCH JA, et al. Bone mineral density and frequency of osteoporosis in female patients with rheumatoid arthritis: results from 394 patients in the Oslo County Rheumatoid Arthritis register. *Arthritis Rheum*. 2000; 43(3):522-530.
- [27] SINIGAGLIA L, NERVETTI A, MELA Q, et al. A multicenter cross sectional study on bone mineral density in rheumatoid arthritis. Italian Study Group on Bone Mass in Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol*. 2000; 27(11):2582-2589.
- [28] HAUSER B, RICHES PL, WILSON JF, et al. Prevalence and clinical prediction of osteoporosis in a contemporary cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53(10):1759-1766.
- [29] FASSIO A, IDOLAZZI L, JABER MA, et al. The negative bone effects of the disease and of chronic corticosteroid treatment in premenopausal women affected by rheumatoid arthritis. *Reumatismo*. 2016; 68(2):65-71.
- [30] JIN S, HSIEH E, PENG L, et al. Incidence of fractures among patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int*. 2018;29(6):1263-1275.
- [31] CHEN B, CHENG G, WANG H, et al. Increased risk of vertebral fracture in patients with rheumatoid arthritis: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(45):e5262.
- [32] DOUGADOS M, SOUBRIER M, ANTUNEZ A, et al. Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring: results of an international, cross-sectional study (COMORA). *Ann Rheum Dis*. 2014;73(1):62-68.
- [33] RICHARDS JS, CANNON GW, HAYDEN CL, et al. Adherence with bisphosphonate therapy in US veterans with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(12):1864-1870.
- [34] OZEN G, KAMEN DL, MIKULS TR, et al. Trends and Determinants of Osteoporosis Treatment and Screening in Patients With Rheumatoid Arthritis Compared to Osteoarthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2018;70(5):713-723.
- [35] TANDON V, DE LA VEGA L, BANERJEE S. Emerging roles of DYRK2 in cancer. *J Biol Chem*. 2021;296:100233.
- [36] HE D, ZHENG S, CAO J, et al. CircCOX6A1 suppresses osteogenic differentiation and aggravates osteoporosis via miR-512-3p/DYRK2 axis. *Mol Biol Rep*. 2024;51(1):636.
- [37] GUTERMAN-RAM G, PESIC M, ORENBACH A, et al. Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 2 regulates osteoclast fusion in a cell heterotypic manner. *J Cell Physiol*. 2018;233(1):617-629.

(责任编辑：马征华，王蕾，张楠)