

重要性^[3]。但这与 Renate 等^[9]发现 ADV 治疗 3~6 个月后随着病毒量的下降,出现髓样树突状细胞的数量升高及其功能的恢复而伴随 IL-12 及 TNF- α 水平升高的结论似乎有矛盾,笔者推测 ADV 治疗 3~6 个月后随着病毒量的下降,机体的免疫功能有所恢复,此时 TNF- α 等相关细胞因子水平升高,有助于进一步抑制和清除 HBV,而到 48 周后 HBV 已大量被抑制和清除,肝脏免疫损伤减轻,TNF- α 水平下降。

参考文献

- 1 Maddrey WC. Hepatitis B: an important public health issue. *J Med Virol*, 2000, 61(3): 362-366
- 2 Tillmann HL. Antiviral therapy and resistance with hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(1): 125-140
- 3 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(12): 881-891
- 4 Marcellin P, Chang TT, Lim SG, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J*

Med, 2003, 348(9): 808-816

- 5 欧强, 诸思贻, 殷科珊. 阿德福韦酯治疗 e 抗原阳性慢性乙型肝炎患者疗效和安全性观察. *肝脏*, 2007(5), 12: 423-424
- 6 Puro R, Schneider RJ. Tumor necrosis factor activates a conserved innate antiviral response to hepatitis B virus that destabilizes nucleocapsids and reduces nuclear viral DNA. *J Virol*, 2007, 81(14): 7351-7362
- 7 Kasahara S, Ando K, Saito K, et al. Lack of tumor necrosis factor- α induces impaired proliferation of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *J Virol*, 2003, 77(4): 2469-2476
- 8 Paschetto V, Wieland SF, Uprichard SL, et al. Cytokine-sensitive replication of hepatitis B virus in immortalized mouse hepatocyte cultures. *J Virol*, 2002, 76(11): 5646-5653
- 9 Renate G, van der Molen, Dave Sprengers, et al. Favorable effect of adefovir on the number and functionality of myeloid dendritic cells of patients with chronic HBV. *Hepatology*, 2006, 44(4): 907-914

(收稿: 2010-04-22)

白细胞介素-18 在类风湿关节炎患者血清中的表达及临床分析

任 敏 武加标 肖 菁 汤 丽 蒋立新

摘 要 **目的** 研究白细胞介素 18(interleukin-18, IL-18)在类风湿关节炎(RA)患者血清中的表达水平,并进一步探讨它们与临床指标的关系。**方法** 将 63 例 RA 患者组分为抗 CCP 阳性组和阴性组,应用 ELISA 方法检测 63 例患者和 27 例对照组的 IL-18 表达水平。**结果** IL-18 在 RA 抗 CCP 阳性组、阴性组和对照组依次为 213.27 ± 49.60 pg/ml、 192.03 ± 32.88 pg/ml 和 185.42 ± 44.93 pg/ml,抗 CCP 阳性组的表达水平高于抗 CCP 阴性组和对照组,其差异有统计学意义($P < 0.01$)。RA 抗 CCP 阳性组患者 IL-18 水平与 DAS28 呈负相关($r = -0.28, P < 0.05$),与外周血 WBC 计数呈负相关性($r = -0.51, P < 0.05$),而与 ESR、CRP 无相关性($P > 0.05$)。RA 抗 CCP 阴性组患者 IL-18 水平与 DAS28 呈负相关($P < 0.05$)。**结论** IL-18 水平在 RA 患者表达升高,IL-18 水平与 DAS28 呈负相关推测 IL-18 可能参与了 RA 的发病过程。

关键词 类风湿关节炎 细胞因子 白介素-18

Expression and Clinical Significance of IL-18 in Rheumatoid Arthritis Patients. Ren Min, Wu Jiabiao, Xiao Jing, Tang Li, Jiang Lixin. *Department of Rheumatology, Wujin Hospital, Jiangsu University, Jiangsu 213002, China*

Abstract Objective To investigate the expression of sera interleukin-18 (IL-18), and analyze its clinical significance. **Methods** 63 rheumatoid arthritis(RA) patients were divided into two groups according to anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies, and 27 normal subjects were enrolled as control group. Levels of IL-18 in the serum were analysed by ELISA. **Results** In anti-CCP antibodies positive patients, IL-18 serum levels were enhanced compared with two other groups and the levels of expression were 213.27 ± 49.60 pg/ml, 192.03 ± 32.88 pg/ml and 185.42 ± 44.93 pg/ml, respectively among the three groups, and this changes were sig-

基金项目:常州市科技发展技术项目[2009(90)cs20092002]

作者单位:213002 常州,江苏大学附属武进医院风湿免疫科(任敏、武加标、汤丽、肖菁),检验科(蒋立新)

通讯作者:任敏,电子信箱:minren2007@yahoo.com.cn

nificant ($P < 0.01$). In anti-CCP positive RA patients, elevated IL-18 level was negative correlated with DAS28 and WBC counts. Plasma levels of IL-18 showed no correlation with ESR and CRP. **Conclusion** IL-18 level was negative correlated with DAS28. IL-18 appears to be involved in the pathogenetic stage of RA.

Key words Rheumatoid arthritis; Cytokine; IL-18

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以慢性、进行性、侵蚀性关节炎为主要表现的自身免疫病,至今其发病机制仍未被阐明。但多种细胞因子 (IL-1、TNF- α 、IL-15 等) 的参与是引起 RA 发生的重要因素。而且近年针对 IL-1、TNF- α 生物制剂的临床应用对患者症状改善,进一步证实细胞因子在 RA 发病机制中的关键作用^[1]。特别是 IL-18、IL-17 炎性细胞因子在 RA 的发生引人关注。本研究旨在探讨 IL-18 在 RA 中的表达水平并分析与临床指标的相关性。现将结果报道如下。

资料与方法

1. 一般资料:(1)选取 2008 年 12 月~2010 年 1 月笔者医院风湿科住院 RA 患者 63 例,纳入研究的均符合 1982 年美国风湿病学会修订的诊断标准,排除合并高血压、糖尿病和骨性关节炎等,其中男性 4 例,女性 59 例,年龄 33~68 岁,平均 57.7 $\pm$ 12.3 岁。(2)同时选取笔者医院体检中心 27 例正常人群作为对照组。排除高血压、糖尿病、关节炎等疾病。其中男性 3 例,女性 24 例,年龄 32~62 岁,平均年龄 47.1 $\pm$ 13.1 岁。两组性别年龄均衡、具有可比性。所有患者均按照疾病活动评分 (disease activity score 28, DAS28) 评估病情,即 $DAS28 = 0.56 \times \sqrt{\text{压痛关节数}} + 0.28 \times \sqrt{\text{肿胀关节数}} + 0.7 \times \ln(\text{ESR}) \times 1.08 + 0.16$ 。采用酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 测定抗 CCP 抗体,并将其分为阳性组和阴性组。

2. 主要试剂及仪器:人 IL-18 ELISA 试剂盒 (购自上海 R&D 公司,上海森雄公司分装),抗 CCP 抗体试剂盒 (上海富纯中南生物技术有限公司),酶标仪 (美国 BIO-rad680)。

3. 指标测定:采集患者和正常对照组外周血,离心后提取血清,储存-70℃ 冰箱。采用 ELISA 同批测定 IL-18 的水平,抗 CCP 抗体亦用 ELISA 测定。严格按照试剂盒说明书进行操作。

4. 统计学方法:用 SPSS16.0 分析软件进行统计学处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析和 q 检验,用 Pearson 进行相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 血清 IL-18 的表达:RA 患者抗 CCP 阳性组、

抗 CCP 阴性组和对照组 3 组间的 IL-18 的表达水平,其结果分别为 213.27 $\pm$ 49.60pg/ml、192.03 $\pm$ 32.88pg/ml 和 185.42 $\pm$ 44.93pg/ml,抗 CCP 阳性组和抗 CCP 阴性组无明显差异 ($P = 0.149$),抗 CCP 阳性组和对照组差异有统计学意义 ($P = 0.017$),抗 CCP 阴性组和对照组差异无统计学意义 ($P = 0.639$) (表 1、图 1)。

表 1 血清 IL-18 在 3 组的表达水平比较 ($n, \bar{x} \pm s$)		
分组	<i>n</i>	IL-18 (pg/ml)
抗 CCP 阳性组	50	213.27 $\pm$ 49.60 *
抗 CCP 阴性组	13	192.03 $\pm$ 32.88
对照组	27	185.42 $\pm$ 44.93
<i>F</i>	—	3.51
<i>P</i>	—	0.03
<i>MS</i> _{组内}	—	2147.22

与对照组比较, * $P < 0.01$

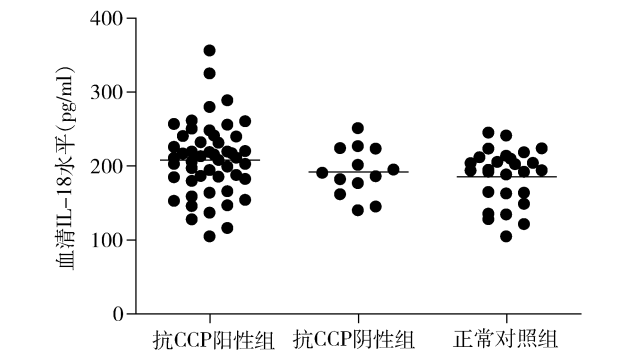


图 1 血清 IL-18 在 3 组的表达水平

2. RA 患者血清 IL-18 的表达水平与临床指标的相关性:在抗 CCP 阳性组 IL-18 的水平和 DAS28 呈负相关 ($r = -0.28, P < 0.05$) 与 WBC 计数呈负相关性 ($r = -0.51, P < 0.05$),而在抗 CCP 阴性组 IL-18 仅与 DAS28 呈负相关 ($r = -0.7, P < 0.05$) (表 2)。

表 2 RA 患者血清 IL-18 的表达水平与临床指标的相关性											
分组		WBC	PLT	IgG	C3	C4	ASO	RF	ESR	CRP	DAS28
抗 CCP 阳性组	<i>r</i>	-0.51	0.14	0.13	0.18	-0.03	0.36	0.05	-0.13	-0.14	-0.28
	<i>P</i>	0.04	0.31	0.54	0.91	0.85	0.21	0.32	0.369	0.92	0.03
抗 CCP 阴性组	<i>r</i>	-0.23	0.27	-0.6	-0.28	0.022	0.45	0.28	-0.07	-0.18	-0.7
	<i>P</i>	0.15	0.53	0.75	0.34	0.94	0.48	0.09	0.80	0.25	0.008

讨 论

IL-18 是 IL-1 家族的炎性细胞因子,由单核细胞、巨噬细胞等多种细胞产生,是 IFN- γ 强大的诱导物,在诱导 Th1 细胞的分化成熟过程和 Th1 细胞为主的细胞免疫反应中具有促进和调节作用。IL-18 在体外可与 IL-12、IL-15 协同诱导关节滑膜组织产生 IFN- γ ,它通过与其受体结合而发挥多种生物学功能^[2]。在 RA 发病机制中 T 细胞更多地向 Th1 细胞分化,与 Th1 应答有关。目前,已认识到 RA 患者抗 CCP 阳性和抗 CCP 阴性在临床表现、治疗方案和病情预后差异较大,抗 CCP 阳性的患者的滑膜似乎具有更密集的淋巴细胞浸润和关节破坏率更高的特征,而滑膜纤维变性的改变更多地出现在抗 CCP 阴性的患者,于是越来越多的人将 RA 患者分为抗 CCP 阳性和抗 CCP 阴性,更有 Liao 等学者对 RA 的诊断标准提出新的挑战,将抗 CCP 阳性作为改良的 RA 分类标准之一^[3-5]。本实验结果表明 RA 患者抗 CCP 阳性组 IL-18 的表达水平高于其他两组,差异有统计学意义,进一步分析 RA 患者抗 CCP 阳性组与对照组有极显著意义($P=0.017$)。研究发现,RA 患者的血清和滑液中的 IL-18 均明显升高,并且滑液中 IL-18 的水平与 RA 活动指标有相关性,同时国内研究分别用 ELISA 和 RT-PCR 检测 IL-18 在 RA 患者血清、滑液和滑膜组织中的表达结果提示 IL-18 在患者组表达高于对照组^[6-9]。在血清中的表达与本实验结果一致,但李强等^[10]研究发现 IL-18 在 RA 中的表达与对照组并无差异,与 RA 无相关性。

研究发现,在 RA 模型鼠中 IL-18 缺陷的小鼠可豁免发展成胶原诱发性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA),用 IL-18 处理的 DAB/1 小鼠容易出现疾病发展成炎症性关节炎,IL-18 抗体可缓解小鼠的关节炎症状,而且针对 IL-18 的单抗治疗可能会阻止 RA 病程的发生。提示 IL-18 参与 RA 的发病。本实验表明 RA 患者抗 CCP 阳性组 IL-18 的水平和外周血白细胞呈负相关,推测 IL-18 可能通过 NF- κ B 活化途径上调黏附分子参与白细胞募集,引起炎性细胞的迁移。本实验发现 IL-18 在抗 CCP 阳性和阴性组中均与 DAS28 呈负相关,表明血浆 IL-18 的表达水平高低与疾病的活动性有关,进一步临床资料分析表明 IL-18 水平值增高的患者其特点多为中年女性,病程有 2 年以上,且为复诊患者,关节 X

线提示骨质均有不同程度侵蚀,CRP 并不增高。但患者的关节肿痛、晨僵全身乏力症状并未有缓解,反而有所加重。可能由于 RA 炎症的级联反应使得体内多种细胞因子释放,从而使 Th1/Th2 细胞因子调节失衡。

综上所述,RA 患者血清中 IL-18 的水平高于对照组,差异有统计意义,临床分析表明 IL-18 在 RA 患者抗 CCP 阳性组和阴性组与 DAS28 呈负相关。但未有证据表明 IL-18 是评定病情活动的标志。从一定意义上说 IL-18 的表达水平及其与临床指标的相关性提示它可能在 RA 的病情进展中起作用,必须看到生物制剂的临床应用虽可缓解症状改善病情,但仍有患者治疗欠佳,阻断 IL-18 的水平及其介导的信号可能成为治疗 RA 的新靶向。

参考文献

- 1 Singh JA, Christensen R, Wells GA, *et al.* A network meta-analysis of randomized controlled trials of biologics for rheumatoid arthritis: a Cochrane overview. *CMAJ*, 2009, 181(11): 787-796
- 2 Matsui K, Tsutsui H, Nakanishi K. Pathophysiological roles for IL-18 in inflammatory arthritis. *Expert Opin Ther Targets*, 2003, 7(6): 701-724
- 3 van Oosterhout M, Bajema I, Levarht EWN, *et al.* Differences in synovial tissue infiltrates between anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis and anti-cyclic citrullinated peptide-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(1): 53-60
- 4 Klareskog L, Catrina AI, Paget S. Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2009, 373(9664): 659-672
- 5 Liao KP, Batra KL, Chibnik L, Schur PH, Costenbader KH. Anti-cyclic citrullinated peptide revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2008, 67(11): 1557-1561
- 6 Petrovic Rackov L, Pejnovic N. Clinical significance of IL-18, IL-15, IL-12 and TNF- α measurement in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*, 2006, 25(4): 448-452
- 7 李忆农,施桂英. 白细胞介素-18 在类风湿关节炎外周血单个核细胞中的表达. *中华风湿病学杂志*, 2001, 5(2): 97-99
- 8 姚航平,徐建忠,张立煌. 类风湿关节炎患者血清滑液和滑膜组织白细胞介素-18 的水平及意义. *中华风湿病学杂志*, 2002, 6(2): 80-83
- 9 Shao XT, Feng L, Gu LJ, *et al.* Expression of interleukin-18, IL-18BP, and IL-18R in serum, synovial fluid, and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Med*, 2009, 9(3): 215-221
- 10 李强,黄宪章,丁海明,等. 外周血白细胞介素-18 与类风湿性关节炎相关性研究. *实用医学杂志*, 2007, 23(8): 1143-1144

(收稿:2010-04-24)