

· 临床研究 ·

## 重症肌无力中血清白介素-4、15、18 的表达及意义

陈 敏, 莫雪安

(南华大学 第一附属医院 神经内科, 湖南 衡阳 421001)

**摘 要:** 目的 探讨白细胞介素(IL)-4、IL-15、IL-18与重症肌无力(MG)的关系。方法 应用 ELISA 检测 30 例 MG 患者(重症肌无力组)和 30 例健康对照者(健康对照组)血清中的 IL-4、IL-15、IL-18 水平及乙酰胆碱受体抗体(AchRab)和突触前膜受体抗体(PsmRab)水平。结果 重症肌无力组血清 IL-4、IL-15、IL-18 水平显著高于健康对照组, 差异具有显著性( $P < 0.01$ ); 10 例 MG 患者经治疗后血清的 IL-4、IL-15、IL-18 水平均较治疗前明显降低, 差异具有显著性( $P < 0.05$ ); 重症肌无力组血清 IL-4、IL-15、IL-18 水平与临床绝对评分、病程、AchRab 和 PsmRab 水平均无相关性( $P > 0.05$ ); 重症肌无力组全身型血清 IL-18 水平高于眼肌型血清 IL-18 水平, 差异具有显著性( $P < 0.05$ ), 而血清 IL-4、IL-15 水平与临床分型无相关性( $P > 0.05$ ); 重症肌无力组血清 IL-4、IL-15 及 IL-18 水平两两之间均存在正相关关系( $P < 0.05$ )。结论 IL-4、IL-15、IL-18 均参与了 MG 的发病过程, 且其降低可以作为免疫治疗效果有意义的观察指标。

**关键词:** 重症肌无力; 白介素-4 白介素-15 白介素-18

中图分类号: R746.1 文献标识码: A 文章编号: 1672-7444(2010)03-0367-03

## Interleukin-4, 15, 18 Expression and Significance in Myasthenia Gravis

CHEN Min MO Xue-an

(Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, University of South China,  
Hengyang, Hunan 421001, China)

**Abstract:** Objective To explore the relationship of IL-4, IL-15, IL-18 in serum levels of myasthenia gravis (MG). Methods The serum levels of IL-4, IL-15, IL-18, AchRab and Psmab were detected with ELISA in 30 MG patients and 30 negative controls. Results The levels of IL-4, IL-15, IL-18 in MG were significantly higher than those in negative controls ( $P < 0.01$ ); The serum levels of IL-4, IL-15, IL-18 were decreased after immunotherapy ( $P < 0.05$ ); There were no correlations between the serum levels of IL-4, IL-15, IL-18 and the clinical absolute scores, course, serum levels of the AchRab, Psmab in MG patients ( $P > 0.05$ ); The IL-18 level of systemic type was significantly higher than that of ocular type ( $P < 0.05$ ), but there were no correlations between the serum levels of IL-4, IL-15 and grouping in MG patients ( $P > 0.05$ ); There were positive correlations between the serum levels of IL-4, IL-15 and IL-18 ( $P < 0.05$ ). Conclusions (1) IL-4, IL-15, IL-18 were involved in the pathology of MG. The decreasing of IL-4, IL-15, IL-18 were significant in observing the effect of therapy on MG.

**Key words:** Myasthenia gravis (MG); IL-4 IL-15 IL-18

重症肌无力是由乙酰胆碱受体介导、细胞免疫依赖及补体参与的神经-肌肉接头处传递障碍的自身免疫性疾病。本文采用 ELISA 法对 30 例 MG 患者血清中 IL-4、IL-15、IL-18 及 AchRab 和

PsmRab 水平进行了测定, 探讨 IL-4、IL-15、IL-18 与 MG 临床评分、病程、分型、AchRab、PsmRab 水平的相关性及其在 MG 发病机制中的作用。

收稿日期: 2010-01-06

通讯作者: 莫雪安, 硕士研究生, 教授, 硕士生导师, E-mail: mxs50@126.com

1 资料与方法

1.1 一般资料

重症肌无力组 30例,为 2006年 7月~2007年 1月在广西医科大学第一附属医院神经内科病房及门诊就诊的患者,均为初诊患者或已停用免疫抑制剂 1个月以上者,根据病史、临床体征、新斯的明实验和肌电图重复刺激试验诊断。其中男 14例,女 16例,年龄 8~68岁,平均为 32.6±14.45岁;病程 ≤6个月组 10例、6个月<病程≤1年组 7例、病程>1年组 13例;MG患者不同病情严重程度采用临床绝对评分量化,按首次取标本时的临床绝对评分分为 4组:轻度(≤15分)13例、中度(16~30分)15例、重度(31~45分)2例。其中 10例复查的 MG患者接受了皮质类固醇(强的松)上楼法或下楼法治疗一个月。健康对照组 30例健康体检者,其中男 15例,女 15例,年龄 13~60岁,平均 33.3±15.51岁,入选人员无过敏性疾病、自身免疫病史,近期内无感染。

1.2 方法

1.2.1 血清收集 采集两组患者每例肘静脉血 4 mL,室温下静置 1~2 h后 3 000 r/min,离心 10 min,留取血清于冻存管内, -80℃保存备用(溶血者弃用)。

1.2.2 IL-4、IL-15、IL-18含量测定 采用 ABC-ELISA法检测 IL-4、IL-15、IL-18(ELISA试剂盒购自上海轩昊科技公司)。

1.2.3 AchRab、PsmRab的检测 采用间接 ELISA法,分别将 α-BGT和 β-BGT包被于酶标板上,待测血清中的 AchRab和 PsmRab与酶标板上的 AchR和 PsmR结合,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗人 IgG与之形成免疫复合物连接在板上,加入底物液,出现黄色,加终止液硫酸,颜色变深,在 490 nm处测 OD值,通过计算 P/N比值判断标本中 AchRab或 PsmRab的存在与否(P/N=标本 OD值/阴性对照 OD值,本组以 P/N>2为阳性)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS15.0软件进行统计学分析,试验数据用均数±标准差表示,多样本或者两样本均数的比较采用方差分析,治疗前后各指标比较应用配对 t检验,两因素相关分析采用 Pearson直线相关分析法,多因素之间的相关分析采用多元线性回归分析。

2 结果

2.1 重症肌无力组与健康对照组血清 IL-4、IL-15、IL-18水平的比较

30例健康对照组血清 IL-4、IL-15的 OD值均低于浓度为 0 pg/mL标准品的 OD值,而 30例 MG患者中大部分可检测到低浓度的 IL-4和 IL-15。健康对照组血清 IL-18浓度均可测得且明显低于重症肌无力组的血清 IL-18浓度。经检验重症肌无力组与健康对照组间血清 IL-4、IL-15、IL-18水平的差异均有显著性(P<0.01,表 1)。

表 1 两组血清 IL-4、IL-15、IL-18水平比较

| 组别     | 例数 | IL-4 (pg/mL) | IL-15 (pg/mL) | IL-18 (pg/mL) |
|--------|----|--------------|---------------|---------------|
| 重症肌无力组 | 30 | 18.17±15.69  | 14.76±11.98   | 210.69±150.50 |
| 健康对照组  | 30 | 0.00         | 0.00          | 66.54±19.10   |
| P      |    | <0.01        | <0.01         | <0.01         |

2.2 MG患者治疗前后血清 IL-4、IL-15、IL-18水平比较

经配对 t检验 10例 MG患者经治疗后,病情缓解且临床绝对评分显著降低(P<0.01),血清 IL-4、IL-15、IL-18水平均较治疗前明显降低,差异具有显著性(表 2)。

2.3 重症肌无力组血清 IL-4、IL-15、IL-18水平与临床绝对评分、病程、AchRab、PsmRab水平的关系

(1)经 Pearson直线相关分析 MG血清 IL-4、

IL-15、IL-18水平与临床绝对评分的相关系数分别为 0.302、0.165、0.135,其 P>0.05,无相关关系;(2)不同病程组的 MG患者血清 IL-4、IL-15、IL-18水平之间差异无显著性(P>0.05);(3)本组 30例 MG患者 AchRab阳性 15例(50.0%),PsmRab阳性 9例(30%)。经方差分析 AchRab及 PsmRab阳性组与阴性组血清 IL-4、IL-15或 IL-18水平差异无显著性(P>0.05),经 Pearson直线相关分析本组患者血清 AchRab和 PsmRab水平与血清 IL-4、IL-15或 IL-18水平的 Pearson/ r分别为

0.111, 0.143, 0.154和 0.104, 0.048, 0.052 其 P值均>0.05 血清 AchRab和 PsmRab水平与血清 IL-4、IL-15或 IL-18水平之间没有相关关系。

| 表 2 治疗前后 MG患者临床绝对评分、IL-4、IL-15、IL-18水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ ) |    |            |              |               |               |
|-------------------------------------------------------------|----|------------|--------------|---------------|---------------|
|                                                             | 例数 | 临床绝对评分     | IL-4 (pg/mL) | IL-15 (pg/mL) | IL-18 (pg/mL) |
| 治疗前                                                         | 10 | 19.67±5.89 | 23.36±17.75  | 20.01±15.59   | 200.66±102.70 |
| 治疗后                                                         | 10 | 6.17±2.86  | 5.61±1.68    | 6.54±4.96     | 69.17±25.22   |
| P                                                           | 10 | <0.01      | <0.05        | <0.05         | <0.01         |

2.4 重症肌无力组临床分型与血清 IL-4、IL-15、IL-18水平的关系  
MG全身型组的血清 IL-4、IL-15水平与眼肌型组间的差异均不显著 ( $P>0.05$ ), 全身型 MG患者的血清 IL-18水平高于眼肌型的血清 IL-18水平, 差异具有显著性 ( $P<0.05$  表 3)。

| 表 3 MG临床分型与血清 IL-4、IL-15、IL-18水平的比较 ( $\bar{x}\pm s$ ) |    |              |               |               |  |
|--------------------------------------------------------|----|--------------|---------------|---------------|--|
| 组别                                                     | 例数 | IL-4 (pg/mL) | IL-15 (pg/mL) | IL-18 (pg/mL) |  |
| MG全身型                                                  | 10 | 24.50±16.66  | 18.75±21.71   | 219.39±131.63 |  |
| MG眼肌型                                                  | 20 | 15.678±8.80  | 13.30±10.62   | 206.18±154.84 |  |
| P                                                      |    | >0.05        | >0.05         | <0.05         |  |

2.5 重症肌无力组血清 IL-4、IL-15和 IL-18水平之间的关系  
对本组 30例 MG患者血清 IL-4、IL-15及 IL-18作多元线性回归分析计算其 Pearson相关系数 (表 4所示), 三者两两之间均存在正相关关系, 而以 IL-4与 IL-15的关系最为密切。

| 表 4 MG血清 IL-4、IL-15、IL-18之间的相关关系 |       |       |       |  |
|----------------------------------|-------|-------|-------|--|
|                                  | IL-4  | IL-15 | IL-18 |  |
| IL-4                             | 1.000 | 0.817 | 0.568 |  |
| IL-15                            | 0.817 | 1.000 | 0.413 |  |
| IL-18                            | 0.568 | 0.413 | 1.000 |  |

### 3 讨论

本文健康对照组未检测到 IL-4、IL-15考虑正常人血清中的含量较低或不表达。30例 MG患者的 IL-4、IL-15、IL-18血清水平高于健康对照组, 提示 IL-4、IL-15、IL-18均参与 MG的发病。  
(1) IL-4作为 Th2细胞的自身活化因子, 可促进 B细胞的增殖, 产生 IgG被认为是介导体液免疫应答的主要因子之一。有学者认为 IL-4与 MG病情的持续和进展有关。但在临床实验中发现随着病情好转 IL-4分泌增加<sup>[1]</sup>, 因此虽然血清 IL-4水平在 MG中表达增加但它在 MG和 EAMG中的作用仍不

明了。(2) IL-15和 IL-18均为 Th1型细胞因子。IL-15不仅通过上调抗凋亡蛋白 Bcl-2的表达发挥抗激活诱导的细胞凋亡而且在试验性 MG中 IL-15可激活并上调  $\gamma$ -IFN的表达, 增加的  $\gamma$ -IFN使连接 AchRα神经肌接头处的单克隆抗体 mAb35暴露, 从而诱导试验性 MG的产生<sup>[2]</sup>。结合本次的试验结果认为 IL-15可通过活化并上调  $\gamma$ -IFN的表达和抑制记忆性的 T细胞的凋亡参与 MG发病的免疫过程。IL-18是一种双向调节因子, 推测它可同时促进 Th1、Th2细胞的增殖、诱导  $\gamma$ -IFN、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-2的表达而参与了 MG的发病过程<sup>[3]</sup>。  
10例患者经激素治疗后临床绝对评分及血清 IL-4、IL-15、IL-18水平均显著降低, 这分别与龙志刚的报告<sup>[4]</sup>及 Jander的研究<sup>[5]</sup>一致。提示免疫抑制剂治疗 MG可通过降低其异常的免疫因子来缓解病情, 其血清白介素的降低可以作为免疫治疗效果有意义的观察指标。本组血清 IL-4、IL-15、IL-18水平与临床绝对评分、病程、AchRab、Psmab水平无相关性。(1)临床绝对评分反映了本组 MG患者不同病情严重程度, 由于本组 MG患者轻、中度者较多 (分别为 13例、15例) 提示在轻、中度 MG患者中血清 IL-4、IL-15、IL-18水平与病情的严重程度无关。(2)不同病程组之间的血清白介素水平差异无显著性。提示在 MG中异常的 Th1、Th2

(下转第 407页)

号换 8 号)。每换一号锉, 慢速旋转 1~2 m 冲洗后按轮换顺序换锉扩锉。通常 15 号 K 锉只到达软点稍上方, 去除上方阻力, 以免造成台阶, 软点消失。如此耐心预备, 直至通过狭窄区。一旦 k 锉通过狭窄点, 能感觉到锉尖能顺势突破一段, 甚至到达根尖区。狭窄点的预备过程通常费时较长, 没有具体记录时间, 一般一个根管需要一到二小时。通常二个小时仍不能扩通, 且找不到软点的根管, X 线片显示锉尖离根尖 2 mm 以上, 通常放弃治疗, 认为预备失败。有文献认为通常需预备二小时以上<sup>[3]</sup>, 本研究在时间上仍显不足。

有较多的文献报道, 使用超声波根管预备器械预备狭窄根管, 认为超声波具有深入能力强、效率高的特点<sup>[9]</sup>, 但未详细说明是用于钙化根管口的寻找, 还是用于根管中下段的预备。笔者起初曾试用超声预备, 但很难找到狭窄点“软点”的感觉, 而易形成肩台及根管偏移, 所以基本弃之未用。本文所采纳的病例均是用不锈钢器械预备的。有文献报道使用镍钛器械预备<sup>[7]</sup>, 但笔者感觉到, 在根管中下段的狭窄点处, 往往感觉到根管已足够宽大, 但就是找不到进入的方向, 需要反复、多角度预弯锉尖, 从

不同的方向寻找“突破口”, 有时预备了很长一段时间, 改变锉尖的预弯角, 突然就找到了“突破口”, 而镍钛锉无法预弯。

预弯锉尖, 寻找突破口, 是狭窄根管预备的关键。使用手用器械, 手感较好, 对于根管中下段和弯曲根管亦有较好的效果, 较少造成根管侧穿。

参考文献:

[1] 姚莉莉, 高云松. 应用根管显微镜处理阻塞根管的疗效评价 [J]. 上海口腔医学, 2007 16(4): 395—398.  
[2] 徐东伟. 超声扩通阻塞根管的临床体会 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2004 14(12): 687—688.  
[3] 葛久禹. 根管治疗学。第二版 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2008 380—381.  
[4] 吕红兵, 闫福华. 实用根管治疗学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2006 78.  
[5] 宋爱萍, 李斌学. 223 例阻塞根管的根管预备路径分析 [J]. 北京口腔医学杂志, 2006 14(4): 462—662.  
[6] 鲁伟, 刘泳安. 超声根管治疗的临床应用 [J]. 广东牙病防治, 1999 7(3): 191.  
[7] 戴丽霞, 张良付. 机动镍钛器械预备阻塞根管的临床分析 [J]. 口腔医学, 2005 25(3): 191—192

(此文编辑 蒋湘莲)

(上接第 369 页)

型细胞因子表达并不随病程的增加而增加或降低。(3) 本组 30 例 MG 患者 AchRab 阳性 15 例 (50.0%), PsmRab 阳性 9 例 (30%)。这低于有关的文献报导的水平, 考虑本组患者 2/3 为眼肌型所致。本组 30 例 MG 患者眼肌型 20 例, 全身型 10 例, 经统计分析全身型 MG 患者的血清 IL—18 水平高于眼肌型的血清 IL—18 水平, 而血清 IL—4、IL—15 水平与分型无相关性, 这与 Jander 的研究一致<sup>[5]</sup>。提示 MG 中血清 IL—4、IL—15 的表达水平与受累的肌群数量无关。

MG 患者血清 IL—4、IL—15、IL—18 水平均为正相关关系。IL—18 可诱导 Th1 型细胞因子的表达 (如 IFN— $\gamma$ 、IL—12、IL—2、IL—15), 同时 IL—18 可以显著提高 IL—4 的产生以及 IL—4<sup>+</sup> 细胞在激活的 NKT 细胞中的百分率<sup>[6]</sup>, 因此 IL—18 水平与 IL—4 及 IL—15 水平均存在正相关 ( $r=0.558, 0.45$ )。而 IL—15 一方面可诱生  $\gamma$ —IFN、IL—4 的表达, 另一方面也可增强 T 细胞的早期活化和增殖抑制其凋亡从而导致 IL—4、IL—18 等细胞因子的产生增加, 因此 IL—15 水平与 IL—4 及 IL—18 水平均存在正相关 ( $r=0.801, 0.45$ )。由此可见在 MG 这个复杂的免疫调节网络中 Th1 型和 Th2 型

细胞因子可通过彼此间的相互作用导致疾病的发生、发展。

参考文献:

[1] 吴怀国, 彭晓江, 吴元波, 等. 免疫球蛋白对重症肌无力细胞免疫制的影响 [J]. 中国实用医药, 2009 9(2): 46.  
[2] Stegall T, Kroljck KA. Myocytes respond in vivo to an antibody reactive with the acetylcholine receptor by upregulating interleukin—15, an interferon—gamma activator with the potential to influence the severity and course of experimental myasthenia gravis [J]. J Neurol Immunol 2001 119(2): 377—386.  
[3] Sun B, Li HL, Wang JH, et al. Passive transfer of experimental autoimmune neuritis by IL—12 and IL—18 synergistically potentiated lymphoid cells is regulated by NKR—P1<sup>+</sup> cells [J]. Scand J Immunol 2007 65(5): 412—420.  
[4] 龙志刚, 付晓雪, 廖小平, 等. 神经免疫性疾病患者糖皮质激素治疗前后白细胞介素 2 和 15 变化的临床意义 [J]. 中华检验医学杂志, 2003 26(11): 668—670.  
[5] Jander S, Stoll G. Interferon—gamma—inducing cytokine interleukin—18 in myasthenia gravis [J]. Neurology 2002 59(2): 287—289.  
[6] Szpfer, Kravitz M, Uziel Q, Shapiro H, et al. Granulocyte colony—stimulating factor administration upregulates telomerase activity in CD34<sup>+</sup> haematopoietic cells and may prevent telomere attrition after chemotherapy [J]. Br J Haematol 2003 120(2): 329—336.

(此文编辑 蒋湘莲)