

类风湿关节炎伴慢性贫血患者相关细胞因子检测分析

钱超¹, 余建华¹, 汤巧² (1. 解放军第四五四医院检验科, 南京 210002; 2. 南京医科大学附属南京第一医院检验科 210006)

【摘要】目的 探讨白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)对类风湿关节炎(RA)伴慢性贫血(ACD)患者造血功能的影响。**方法** 以酶联免疫吸附试验检测 RA 患者血清 IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 水平,并检测 RA 患者血清铁、总铁结合力(TIBC)、铁蛋白(SF)及可溶性转铁蛋白受体(sTfR)水平;对 RA 伴贫血患者行骨髓涂片铁染色检测。**结果** 无贫血组、ACD 不伴缺铁组、ACD 伴缺铁组的血清 IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 水平显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$); ACD 不伴缺铁组、ACD 伴缺铁组的血清 IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 水平显著高于无贫血组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ACD 不伴缺铁组血清铁、TIBC、sTfR 水平明显低于健康对照组, SF 明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$); ACD 伴缺铁组血清铁、SF 显著低于 ACD 不伴缺铁组, TIBC 和 sTfR 显著高于 ACD 不伴缺铁组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。骨髓涂片铁染色示 ACD 不伴缺铁组细胞内、外铁均高于 ACD 伴缺铁组。**结论** RA 患者血清 IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 水平异常增高是导致 ACD 的重要原因。

【关键词】 类风湿关节炎; 慢性病贫血; 白细胞介素-1; 肿瘤坏死因子 α ; 干扰素 γ

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.23.002 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)23-2819-03

Analysis of associated laboratory index of rheumatoid arthritis patients with anemia of chronic disease QIAN Chao¹, YU Jian-hua¹, TANG Qiao² (1. Department of Clinical Laboratory, NO. 454 Hospital of PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China; 2. Department of Clinical Laboratory, The Affiliated Nanjing First Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210006, China)

【Abstract】Objective To explore the effect of IL-1, TNF- α and IFN- γ on the erythropoiesis in rheumatoid arthritis (RA) with anemia of chronic disease (ACD). **Methods** The levels of serum IL-1, TNF- α and IFN- γ in RA patients were detected by ELISA. The levels of serum iron (SI), total iron-binding capacity (TIBC), serum ferritin (SF) and serum transferrin receptor (sTfR) were also detected. Bone marrow smears iron staining were examined in RA patients with anemia. **Results** The levels of IL-1, TNF- α and IFN- γ in RA group without anemia, ACD without iron deficiency group and ACD with iron deficiency group were all significantly higher than those in normal controls ($P < 0.01$); The levels of IL-1, TNF- α and IFN- γ in ACD without iron deficiency group and ACD with iron deficiency group were both significantly higher than those in RA without anemia group ($P < 0.05$). The levels of SI, TIBC and sTfR in ACD without iron deficiency group were lower than those in the normal control group ($P < 0.05$), but the level of SF were higher than that in the normal control group ($P < 0.05$). The level of SI and SF were lower, but the levels of TIBC and sTfR were significantly higher in ACD with iron deficiency group than those in ACD without iron deficiency group ($P < 0.01$). Bone marrow smears iron stain showed that intracellular iron and extracellular iron in ACD without iron deficiency group were higher than those in ACD with iron deficiency group. **Conclusion** The abnormally increased levels of IL-1, TNF- α and IFN- γ are the important reason for resulting in ACD in RA patients.

【Key words】 rheumatoid arthritis; anemia of chronic disease; interleukin-1; TNF- α ; IFN- γ

类风湿关节炎(RA)是一组病因未明,以侵犯骨关节为主的炎性疾病。贫血是其最常见的关节外症状之一。研究显示白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)等细胞因子在 RA 的骨关节破坏和疾病进展上起着重要作用^[1]。高水平的 TNF- α 、IFN- γ 亦可影响 RA 患者的造血系统,导致慢性贫血(ACD)的发生^[2-3]。本研究通过检测 RA 患者血清 IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 水平,同时检测 RA 患者血清铁、总铁结合力(TIBC)、铁蛋白(SF)、可溶性转铁蛋白受体(sTfR)水平,并和健康对照组比较,以探讨这 3 种细胞因子对 RA 伴 ACD 患者造血功能的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2007 年 7 月至 2010 年 6 月解放军第四五

医院 RA 住院患者 68 例,其中男 27 例,女 41 例,年龄 33~74 岁,平均 48.7 岁。所有患者均符合美国风湿病协会类风湿关节炎诊断标准。按血红蛋白男性小于 120 g/L,女性小于 110 g/L 的标准诊断为贫血。根据血清铁降低,血清 SF > 60 μ g/L 诊断为 ACD 不伴缺铁;根据血清铁降低,血清 SF < 60 μ g/L 诊断为 ACD 伴缺铁^[4]。根据上述标准将 RA 患者分成 3 组:无贫血组、ACD 不伴缺铁组和 ACD 伴缺铁组。本研究中无贫血组 19 例,ACD 不伴缺铁组 31 例,ACD 伴缺铁组 18 例。健康对照组:健康体检者 20 例,男 10 例,女 10 例,年龄 22~62 岁,平均 33.8 岁。

1.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 水平 IL-1、TNF- α 及 IFN- γ 试剂盒由武汉博士德生物

工程有限公司提供,操作及结果判定按试剂盒说明书进行。检测仪器为 ADALTIS 全自动酶免仪,购自意大利亚特斯公司。

1.3 血清铁、TIBC、SF、sTfR 水平检测 血清铁、TIBC 的检测仪器为 HITACHI 7180 全自动生化分析仪,购自日本日立公司;SF 检测仪器为 ADVIA Centaur CP 全自动化学发光仪,购自德国西门子公司;sTfR 的检测仪器为 BN-100 型全自动特定蛋白分析仪,购自美国德灵公司。

1.4 骨髓涂片铁染色 49 例贫血患者行骨髓穿刺术,抽取骨髓行骨髓涂片铁染色检测。

1.5 统计学处理 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数的比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有处理均采用 SPSS 11.0 系统软件进行分析。

2 结 果

2.1 各组血清 IL-1、TNF- α 与 IFN- γ 的变化 ELISA 法检测 RA 患者血清中 3 种细胞因子水平见表 1。无贫血组、ACD 组不伴缺铁组、ACD 伴缺铁组的 3 种细胞因子水平均显著高于健康对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$); ACD 不伴缺铁组、

ACD 伴缺铁组 3 种细胞因子水平显著高于无贫血组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); ACD 不伴缺铁组 3 种细胞因子水平显著高于 ACD 伴缺铁组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 各组血清血清铁、TIBC、SF 与 sTfR 水平检测 各组血清铁代谢参数检测结果见表 2。ACD 不伴缺铁组血清铁、TIBC 和 sTfR 显著低于健康对照组 ($P < 0.05$),而 SF 明显高于健康对照组 ($P < 0.05$); ACD 伴缺铁组的血清铁、SF 水平显著低于 ACD 不伴缺铁组 ($P < 0.01$),而 TIBC 和 sTfR 水平显著高于 ACD 不伴缺铁组 ($P < 0.01$); ACD 伴缺铁组的血清铁、SF 显著低于健康对照组 ($P < 0.01$),而 TIBC、sTfR 显著高于健康对照组 ($P < 0.01$)。

2.3 骨髓涂片铁染色 ACD 不伴缺铁组骨髓涂片细胞外铁全部为阳性,绝大部分为 ++~++++ (90.3%),其中 ++++ 占 19.3%。ACD 伴缺铁组全部为 -~-/和 +。ACD 伴缺铁组骨髓涂片细胞内铁明显低于 ACD 不伴缺铁组 ($P < 0.05$),见表 3。

表 1 各组血清中 IL-1、TNF- α 与 IFN- γ 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血红蛋白(g/L)	IL-1(ng/L)	TNF- α (ng/L)	IFN- γ (ng/L)
健康对照组	20	135.13 \pm 15.25	36.45 \pm 6.38	59.41 \pm 16.09	49.46 \pm 11.44
RA 无贫血组	19	120.51 \pm 15.98	98.34 \pm 22.54 ^a	106.79 \pm 43.16 ^a	152.54 \pm 45.19 ^a
ACD 不伴缺铁组	31	92.61 \pm 8.34	253.57 \pm 63.19 ^{abc}	209.54 \pm 71.45 ^{abc}	312.32 \pm 83.69 ^{abc}
ACD 伴缺铁组	18	94.78 \pm 7.94	168.53 \pm 56.37 ^{ab}	151.09 \pm 55.32 ^{ab}	193.41 \pm 51.45 ^{ab}

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.01$;与 RA 无贫血组比较,^b $P < 0.05$;与 ACD 伴缺铁组比较,^c $P < 0.05$ 。

表 2 各组血清血清铁、TIBC、SF 与 sTfR 测定值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血清铁(μ mol/L)	TIBC(μ mol/L)	SF(μ g/L)	sTfR(mg/L)
健康对照组	20	16.33 \pm 5.54	48.53 \pm 6.19	75.59 \pm 33.88	1.48 \pm 0.42
ACD 不伴缺铁组	31	8.03 \pm 3.21 ^a	36.25 \pm 8.78 ^a	306.38 \pm 119.93 ^a	1.08 \pm 0.39 ^a
ACD 伴缺铁组	18	4.74 \pm 2.31 ^{bc}	68.32 \pm 7.64 ^{bc}	35.78 \pm 12.65 ^{bc}	4.61 \pm 1.83 ^{bc}

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$,^c $P < 0.01$;与 ACD 不伴缺铁组比较,^b $P < 0.01$ 。

表 3 ACD 不伴缺铁组和 ACD 伴缺铁组骨髓铁染色的比较

组别	n	-~-/[n(%)]	+ [n(%)]	++ [n(%)]	+++ [n(%)]	++++ [n(%)]	细胞内铁(%), $\bar{x} \pm s$
ACD 不伴缺铁组	31	0(0.0)	3(9.7)	7(22.6)	15(48.4)	6(19.3)	10 \pm 2.5
ACD 伴缺铁组	18	11(61.1)	7(38.9)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	5 \pm 2.1 ^a

注:与 ACD 不伴缺铁组比较,^a $P < 0.05$ 。

3 讨 论

RA 是免疫介导的炎性疾病,主要表现为对称性的多关节肿痛、晨僵,体质量减轻以及全身多系统的损伤。炎症因子在 RA 的发生、发展中起着重要作用^[5]。单核巨噬细胞分泌的炎症因子 IL-1、TNF- α 和 T 淋巴细胞分泌的 IFN- γ 等不仅直接介导关节损伤,而且可从多方面影响患者的造血功能。本研究结果显示,RA 患者的细胞因子 IL-1、TNF- α 与 IFN- γ 明显高于健康对照组。在 RA 伴 ACD 的发病机制中,患者的骨髓对贫血的代偿不足是发生贫血的主要原因。患者体内的 IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 等可抑制促红细胞生成素(EPO)的产生,使骨髓对 EPO 反应减弱,影响红系突变成单位(BFU-E)及红系集落形成单位(CFU-E)的生成,对骨髓红系造血产生抑制作

用^[6]。有研究亦证实,TNF- α 和 IFN- γ 均能抑制人 BFU-E 和 CFU-E 的形成,且这种抑制具有剂量依赖性。被 TNF- α 和 IFN- γ 抑制的 BFU-E 和 CFU-E 能被 EPO 所纠正^[3]。另有研究发现,骨髓中 TNF- α 水平增高在 RA 患者中可能和红系造血祖细胞凋亡有关^[7]。Davis 等^[8]在用鼠抗人 TNF- α 单克隆抗体(cA2)对 RA 患者的治疗中发现,cA2 不仅可改善关节损害,对 ACD 也有显著疗效,说明 TNF- α 在 ACD 的发病中有着重要作用^[7]。其次,单核和巨噬细胞系统活性的增高,亦可对红细胞的吞噬作用增强。有学者认为细胞因子可增强单核和巨噬细胞的吞噬作用,给小鼠注射 TNF- α 后,红细胞寿命缩短,可能就是单核-巨噬细胞活化后,吞噬红细胞的能力增强所致^[6,9]。本研究结果显示,ACD 不伴缺铁组和 ACD 伴缺铁组

细胞因子水平显著高于无贫血患者,说明 IL-1、TNF- α 和 IFN- γ 可能共同参与 RA 伴 ACD 的发病过程。在患者贫血程度相似的情况下,ACD 伴缺铁组的 3 种细胞因子水平明显低于 ACD 不伴缺铁组,说明其贫血的原因与缺铁和细胞因子密切相关,细胞因子是引起贫血的原因之一。

铁代谢异常也是造成 ACD 的重要原因。有研究显示,在炎症时细胞免疫功能活化可产生多种细胞因子,其中的 IL-1 和 TNF- α 能促进网状内皮细胞吸收铁离子,导致大量铁离子在网状内皮细胞内沉积,而引起血清铁含量降低,原因可能是通过一种尚未完全阐明机制的转录水平增加了 SF 的 H 链和 L 链的表达^[10]。另外在炎症时,IL-1 和 TNF- α 诱导合成的去铁蛋白能与血清中的铁离子迅速结合,导致血清铁含量降低^[6]。本研究结果显示,ACD 不伴缺铁组血清 SF 显著高于健康对照组,而血清铁含量显著低于健康对照组,说明 ACD 不伴缺铁组存在铁分布异常和利用障碍,而 ACD 不伴缺铁组 TIBC 和 sTfR 测定值显著低于健康对照组,可能是因为 SF 增高引起的负反馈抑制所致。本组 ACD 伴缺铁组在 RA 伴贫血中占的比例较高,达到 36.7%,说明 RA 伴贫血患者中有相当一部分合并缺铁,这对临床治疗有指导意义。sTfR 能正确反映红系造血前体细胞表面 TfR 水平,并受细胞内铁含量的调节。血清 sTfR 水平增加可反映骨髓幼红细胞内可染铁降低^[11]。Fitzsimons 等^[12]研究表明在缺铁性贫血组,红系造血前体细胞表面 TfR 表达明显升高,其 sTfR 水平也升高,而 ACD 组不伴缺铁组红系造血前体细胞表面 TfR 表达并不升高,其 sTfR 水平也正常;在 ACD 伴缺铁组中 sTfR 水平明显升高。本组研究显示,由于合并缺铁,ACD 伴缺铁组的血清铁、SF 测定值显著低于 ACD 不伴缺铁组,TIBC 和 sTfR 测定值显著高于 ACD 不伴缺铁组。

本组骨髓涂片铁染色显示 ACD 伴缺铁组细胞外铁和内生铁含量均低于 ACD 不伴缺铁组,这和血清铁代谢检测结果一致,说明了 ACD 患者存在铁代谢异常,也显示 ACD 伴缺铁组的贫血是由于细胞因子和铁代谢失衡所共同造成的。

参考文献

[1] 梁伟,宋笃焜,劳建英.类风湿关节炎患者血清中细胞因子的检测及临床意义[J].河北医学,2009,15(3):272-274.

[2] Jongen-Lavrencic M,Peeters HR,Wognum A,et al. Ele-

(上接第 2818 页)

[6] Herklotz R,Huber AR. Precision and accuracy of the leukocyte differential in the Sysmex XE-2100[J]. Sysmex J Int,2001,11(11):8-21.

[7] 代琼,解学龙,张妍妍,等.血球分析仪的校准与比对[J].西部医学,2010,22(6):1110-1112.

[8] 王丽燕.血球分析仪检测血小板的影响因素初探[J].河北医药,2002,24(3):170.

[9] 关涛.血液分析仪计数血小板假性异常及其影响因素分析[J].长江大学学报:自然科学版,2010,7(4):64-66.

[10] Jerelyn W,Patricia G. Performance evaluation of the Sys-

vated levels of inflammatory cytokines in bone marrow of patients with rheumatoid arthritis and anemia of chronic disease[J]. J Rheumatol,1997,24(8):1504-1509.

[3] 朱月勇,叶德富,黄子洲,等.肿瘤坏死因子 α 、 γ 干扰素和红细胞生成素与类风湿性关节炎贫血相关性研究[J].中华血液学杂志,2000,21(11):587-590.

[4] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准[M].3版.北京:科学出版社,2007:6-8.

[5] 王立德,洋孝云,吴汝舟.类风湿关节炎的早期诊断和治疗[J].中国现代医学杂志,2004,14(10):66-68.

[6] 田凡清.慢性疾病性贫血的诊断与鉴别诊断[J].中国医师进修杂志,2006,29(11):13-14.

[7] Papadaki HA,Kritikos HD,Gemetzi C,et al. Bone marrow progenitor cell reserve and function and stromal cell function are defective in rheumatoid arthritis:evidence for a tumor necrosis factor alpha (TNF α)-mediated effect [J]. Blood,2002,99(5):1610-1619.

[8] Davis D,Charles PJ,Potter A,et al. Anemia of chronic disease in rheumatoid arthritis;in vivo effects of tumor necrosis factor alpha blockade[J]. Br J Rheumatol,1997,36(9):950-956.

[9] Helen A,Papadaki,Heraklis D,et al. Anemia of chronic disease in rheumatoid arthritis is associated with increased apoptosis of bone marrow erythroid cells:improvement following anti-tumor necrosis factor- α antibody therapy [J]. Blood,2002,100(2):474-482.

[10] 徐学聚,刘玉峰.慢性病贫血发病机制的研究进展[J].中国小儿血液与肿瘤杂志,2006,11(3):141-142.

[11] Ferguson BJ,Skikne BS,Simpson KM,et al. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia[J]. J Lab Clin Med,1992,119(4):385-390.

[12] Fitzsimons EJ,Houston T,Munro R,et al. Erythroblast iron metabolism and serum soluble transferrin receptor values in the anemia of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum,2002,47(2):166-171.

(收稿日期:2011-06-13)

mex XE-2100 hematology analyzer [J]. Lab Hematol, 2000,6(2):85-86.

[11] Kazuto T,Tomohiro T,Tesesuy U,et al. Evaluation and clinical usefulness of the automatic hematology analyzer. Sysmex XE-2100[J]. Sysmex J Int,1999,9(2):129-135.

[12] 元幼红,徐卫益,陈保德. XE-2100 血液分析仪光学法血小板计数的临床应用[J].中国卫生检验杂志,2010,20(10):2526-2528.

(收稿日期:2011-08-16)