

类风湿关节炎患者 IL-18 检测的影响因素分析

陈浩全¹, 曾嫚妮² (1. 广西玉林市骨科医院检验科 537000; 2. 广西玉林市第一人民医院检验科 537000)

【摘要】 目的 探讨不同的保存时间、温度对类风湿关节炎(RA)患者外周血与关节积液 IL-18 水平的影响。**方法** 将 12 例 RA 患者的血清与关节积液按照不同保存时间与温度条件分为 A 组(血清, 室温 0 h)、B 组(全血, 室温 36 h)、C 组(全血, 室温 72 h)、D 组(全血, 4 ℃ 72 h)、E 组(血清, 室温 72 h)、F 组(关节液, 室温 0 h)、G 组(关节液, 室温 72 h), 用 ELISA 检测各组 IL-18 浓度变化。**结果** B、D、E 组 IL-18 浓度明显高于 A 组(均 $P < 0.05$); F 组 IL-18 浓度与 A 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。非参数两关联样本检验显示 C 组 IL-18 浓度明显高于 A、B、D 组; G 组 IL-18 浓度明显高于 F 组($P < 0.05$)。**结论** 外周血及关节积液 IL-18 水平变化趋势一致, IL-18 检测受时间和温度影响, 且温度影响更显著。

【关键词】 类风湿关节炎; 白细胞介素-18; 保存时间; 温度

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.06.006 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)06-0652-02

Analysis on influencing factors of IL-18 detection in rheumatoid arthritis CHEN Hao-quan¹, ZENG Man-ni² (1. Department of Laboratory, Yulin Municipal Orthopedics Hospital, Yulin, Guangxi 537000, China; 2. Department of Laboratory, Yulin First People's Hospital, Yulin, Guangxi 537000, China)

【Abstract】 Objective To study the influence of different preservation time and temperature on the IL-18 level of peripheral blood and joint effusion in the patients with rheumatoid arthritis(RA). **Methods** Serum and joint effusion in 12 cases of RA were divided into the group A (serum at room temperature for 0 h), B (whole blood at room temperature for 36 h), C (whole blood at room temperature for 72 h), D (whole blood at 4 ℃ for 72 h), E (serum at room temperature for 72 h), F (joint fluid at room temperature for 0 h), G (joint fluid at room temperature for 72 h) according to the different storage time and temperature conditions. The changes of IL-18 concentration in various groups were detected by ELISA. **Results** The IL-18 concentration in the group B, D and E was significantly higher than that in the group A (all $P < 0.05$). The IL-18 concentration had no statistical difference between the group A and F ($P > 0.05$). Non-parametric two-related sample test showed that the IL-18 concentration in the group C was significantly higher than that in the group A, B and D; which in the group G was significantly higher than the group F ($P < 0.05$). **Conclusion** The change of IL-18 level in peripheral blood and joint effusion demonstrates the consistent trend, the IL-18 detection is affected by the time and temperature, especially temperature influence is more significant.

【Key words】 rheumatoid arthritis; IL-18; preservation time; temperature

类风湿关节炎(RA)是一种慢性、炎症性、系统性自身免疫性疾病,以关节滑膜慢性炎症病变为主要表现,部分患者在发病 2 年内即可出现不可逆的骨关节破坏而致关节畸形和丧失劳动力^[1]。目前生物制剂的应用对 RA 的治疗已取得很大进展,其研究的靶点是 RA 发生时产生的细胞因子,因此细胞因子在 RA 发病机制中起着举足轻重的作用^[2]。越来越多的研究发现 IL-18 在 RA 患者滑膜、血清中表达增高^[3-4],作者在实际工作中发现用相同试剂盒检测不同存放时间条件下同一患者外周血标本 IL-18 浓度存在较大差别,本文对此现象进行探讨。

1 资料与方法

1.1 标本来源 收集 2011 年 7 月至 2012 年 2 月本院门诊和住院的活动期 12 例 RA 患者的静脉血与关节积液标本,其中男 7 例,女 5 例;年龄 35~60 岁,平均 51 岁。RA 诊断均符合 2010 年美国风湿病学会联合欧洲抗风湿病联盟的类风湿关节炎分类标准^[5]。留样前 24 h 内未使用过糖皮质激素等免疫抑制剂和细胞毒性药物,患者均签署临床研究知情同意书。

1.2 标本处理 穿刺抽取患者关节积液 2~3 mL 和外周静

脉血 2~3 mL, 2 000 r/min, 离心 5 min, 分离血清 250 μ L, 即室温 0 h 条件血清, 作为 A 组; 将静脉血置于室温, 分别于 36 h 与 72 h, 采集血清 250 μ L, 作为 B 组和 C 组; 将静脉血置于 4 ℃, 存放 72 h, 采集 250 μ L, 作为 D 组; 将 0 h 采集的血清 250 μ L, 室温放 72 h, 作为 E 组; 将 0 h 分离关节上清液 250 μ L, 作为 F 组; 将关节积液置于室温, 存放 72 h 采集上清液 250 μ L, 作为 G 组。7 组标本采集分装后置于 -70 ℃ 保存。

1.3 IL-18 检测 采用上海 RD 公司生产的 IL-18 ELISA 试剂盒, 按产品说明书进行检测。用 Elx800 型全自动酶联仪 (Bio Tek 公司) 在 450 nm 处读取 IL-18 吸光度 (A) 值, 用 Curve Expert 1.38 软件选取建立最优标准检测曲线方程并计算 IL-18 浓度值。

1.4 统计学方法 用 SPSS18.0 统计软件进行。数据经 Shapiro-Wilk 法正态性检验, A、B、D、E、F 组数据符合正态分布, C、G 组数据偏态分布, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 偏态分布的数据用中位数 (四分位数间距) [M(Q)] 表示。计量资料组间比较用配对 t 检验, 偏态分布计量资料用非参数两关联样本检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ELISA 法检测 IL-18 标准回归方程的建立 回归方程： $Y = (-6.55 \times 2\ 689\ 566.2 + 3.965\ 452 \times X^{1.12}) / (2\ 685\ 566.2 + X^{1.12})$ 。相关系数(r):0.999 4。

2.2 外周血与关节液 IL-18 的检测 A 组 IL-18 水平为(215.2±8.6)pg/mL, B 组 IL-18 水平为(226.7±9.6)pg/mL, C 组 IL-18 水平为(244.3±10.5)pg/mL, D 组 IL-18 水平为(212.9±8.7)pg/mL, E 组 IL-18 水平为(213.5±7.9)pg/mL, F 组 IL-18 水平为(239.5±10.5)pg/mL。B、C、D、E 与 A 组结果比较见表 1; 非参数两关联标本检验结果见表 2。

表 1 12 例 RA 患者各组外周血与关节液标本 IL-18 检测结果比较

组别	配对差异 ($\bar{x} \pm s$)	95%CI	t	P	相关分析	
					r	P
B 组 vs A 组	4.14±2.85	1.83~6.58	4.113	0.003	0.985	0.000
C 组 vs A 组	3.05±2.39	1.02~5.14	3.588	0.005	0.975	0.000
D 组 vs A 组	4.51±4.21	0.98~8.12	3.005	0.023	0.820	0.014
E 组 vs A 组	0.07±3.46	-2.76~3.12	0.068	0.896	0.534	0.174

表 2 12 例 RA 患者各组外周血与关节液标本 IL-18 非参数两关联样本检验

组别	IL-18 浓度[M(Q)]差值	Z	P
C 组 vs A 组	11.06(1.89, 19.10)	-2.489	0.013
C 组 vs B 组	5.16(1.05, 13.25)	-2.354	0.018
C 组 vs D 组	8.15(0.81, 11.52)	-2.516	0.011
E 组 vs F 组	4.53(1.05, 8.02)	-2.236	0.024

3 讨 论

滑膜炎是 RA 的病变基础。在炎症过程中 IL-18 是维持滑膜炎持续长期存在的关键细胞因子^[6]。Bokarewa 等^[7]曾在 RA 滑膜组织特殊标记 IL-18, 发现在 80% 患者膝关节的滑膜衬里层可探测到 IL-18, 而且 IL-18 的表达和巨噬细胞浸润有关。国内外学者研究结果提示 IL-18 参与 RA 发病过程^[8-9]。当前风湿学界较为关注的 RA 损伤和炎症分离现象^[10], 从一定意义上说 IL-18 水平表达较高, 提示 RA 病情控制不佳, 应进一步动态检测药物治疗前后其 IL-18 水平的变化。常用 IL-18 检测方法为双抗体夹心 ELISA, 可定量检测 RA 患者血液与关节液 IL-18 水平, 标本中 IL-18 可能会因保存时间和温度不同发生降解灭活, 了解其规律有助于判定检验结果的可靠性。本研究显示 B、D、E 组 IL-18 浓度显著高于 A 组(均 $P < 0.05$); C 组血清 IL-18 水平亦明显高于 D 组、B 组和 A 组血清(均 $P < 0.05$), 表明外周血 IL-18 水平变化受时间和温度影响, 而温度影响更为显著。本研究显示, RA 患者室温 0

h 血清(即 A 组)与室温 0 h 关节滑液(即 F 组)IL-18 浓度差值变化无统计学意义($P > 0.05$)。提示活动期 RA 患者外周血与关节液中 IL-18 水平接近或一致, 检测外周血 IL-18 水平可反映关节液水平。本研究还提示, 血清或关节液常温存放随时间变化其 IL-18 水平增加, 分析原因可能是在温度和时间影响下, 标本中 IL-18 多聚体分解, 暴露更多的结合位点, 使一抗和二抗结合增加, 导致 A 值水平增加。

综上所述, 外周血 IL-18 水平可反映关节液 IL-18 水平; 标本中 IL-18 水平受时间和温度影响而变化, 而温度影响更为显著。因此检测 IL-18 水平应注意及时采集血清, 及时检测。

参考文献

- [1] Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis [J]. Lancet, 2010, 376(9746): 1094-1108.
- [2] Klareskog L, Catrina AI, Paget S, et al. Rheumatoid arthritis [J]. Lancet, 2009, 373(9664): 659-672.
- [3] 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 [J]. Clin Exp Med, 2009, 9(3): 215-221.
- [4] 曲瑾. 类风湿关节炎关节滑膜细胞中 IL-18 表达及意义 [J]. 山东医药, 2008, 48(48): 99-100.
- [5] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria; an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative [J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(9): 2569-2581.
- [6] Brennan FM, McInnes IB. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis [J]. J Clin Invest, 2008, 118(11): 3537-3545.
- [7] Bokarewa M, Hultgren O. Is interleukin-18 useful for monitoring rheumatoid arthritis [J]. Scand J Rheumatol, 2005, 34(6): 433-436.
- [8] 王叶萍, 姚航平. 类风湿性关节炎患者血清和滑液 IL-18 及 IL-18 结合蛋白的水平及意义 [J]. 检验医学, 2004, 19(6): 518-520.
- [9] Bresnihan B, Roux Lombard P, Murphy E, et al. Serum interleukin 18 and interleukin 18 binding protein in rheumatoid arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2002, 61(8): 726-729.
- [10] Brown AK, Conaghan PG, Karim Z, et al. An explanation for the apparent Dissociation between clinical remission and continued structural deterioration in rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(10): 2958-2967.

(收稿日期: 2012-09-06 修回日期: 2013-01-04)

(上接第 648 页)

- [6] 李贵才, 谢鹤, 王朋朋, 等. 潮州地区地中海贫血患儿基因突变类型分析 [J]. 中华全科医学杂志, 2012, 10(6): 877-879.
- [7] 王妍, 林敏, 韩志君, 等. 江苏省无锡地区异常血红蛋白病的流行病学调查 [J]. 实用医学杂志, 2012, 28(2): 316-

318.

- [8] 张银辉, 张允奇, 黄烈, 等. 地中海贫血诊断实验的选择在临床的应用价值 [J]. 中华全科医学, 2012, 28(2): 454-456.

(收稿日期: 2012-09-06 修回日期: 2013-01-03)