

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.09.009

## 巨噬细胞迁移抑制因子在多发肌炎/皮肌炎患者中的意义

王艳<sup>1,2</sup>, 张亚妹<sup>1</sup>, 王维伟<sup>1</sup>, 尹利国<sup>1</sup>, 彭清林<sup>1</sup>, 王国春<sup>1△</sup>, 有军<sup>3</sup>

(1. 北京中日友好医院风湿免疫科, 北京 100029; 2. 北京协和医学院研究生院, 北京 100730;

3. 上海市浦东新区公利医院检验科, 上海 200135)

**摘要:**目的 检测多发肌炎(PM)/皮肌炎(DM)患者血清巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)水平,探讨其在 PM/DM 患者中的意义。方法 采用酶联免疫吸附法(ELISA 法)测定 125 例 DM、10 例 PM、30 例系统性红斑狼疮(SLE), 30 例类风湿关节炎(RA), 15 例原发性干燥综合征(pSS)及 64 名健康对照者血清中 MIF 水平,并进行比较。结果 血清 MIF 在 PM/DM 患者中[11 622.43(2 216.00~95 968.00)pg/mL]明显高于健康对照者[1 472.67(805.25~1 940.25)pg/mL, ( $P<0.05$ )]。有吞咽困难 PM/DM 患者血清 MIF 水平明显高于无吞咽困难的患者( $P<0.05$ );合并肿瘤的 PM/DM 患者血清 MIF 水平高于未合并肿瘤的患者( $P<0.05$ ),尤其是 DM 抗转录中介因子(TIF)-1 $\gamma$  抗体阳性患者 MIF 水平更高。血清 MIF 水平与 B2 淋巴细胞百分比( $r=0.255, P=0.014$ )、血细胞沉降率( $r=0.231, P=0.011$ )呈弱正相关;与 T 抑制性淋巴细胞( $r=-0.190, P=0.048$ )、T 淋巴细胞总数( $r=-0.244, P=0.011$ )呈弱负相关。结论 PM/DM 患者人群中血清 MIF 水平升高,血清 MIF 可作为 PM/DM 疾病活动标志,它还可能与抗 TIF-1 $\gamma$  抗体联合用于 DM 合并肿瘤的早期诊断。

**关键词:**特发性炎性肌病; 皮肌炎; 肿瘤; 巨噬细胞迁移抑制因子

中图分类号:R575.22

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)09-1245-04

**The value of macrophage migration inhibitory factor in multiple myositis/dermatomyositis patients**WANG Yan<sup>1,2</sup>, ZHANG Yamei<sup>1</sup>, WANG Weiwei<sup>1</sup>, YIN Ligu<sup>1</sup>,PENG Qinglin<sup>1</sup>, WANG Guochun<sup>1△</sup>, YOU Jun<sup>3</sup>

(1. Department of Rheumatology and Immunology, China-Japan Friendship

Hospital, Beijing 100029, China; 2. Graduate School, Peking Union Medical

College, Beijing 100730, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Gongli Hospital of

Pudong New Area, Shanghai 200135, China)

**Abstract: Objective** To detect the serum level of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in dermatomyositis (DM)/polymyositis (PM) patients, and provide its value in multiple myositis/dermatomyositis. **Methods** MIF was detected in 125 DM patients, 10 PM patients, 75 disease controls [30 rheumatoid arthritis (RA), 30 systemic lupus erythematosus (SLE), 15 sjogren syndrome (pSS)] and 64 healthy controls by ELISA. **Results** MIF was significantly higher in PM/DM patients[11 622.43(2 216.00—95 968.00) pg/mL] than the healthy controls[1 472.67(805.25—1 940.25) pg/mL,  $P<0.05$ ]. IIM patients with complication of dysphagia had significantly higher serum MIF level than that who had no dysphagia ( $P<0.05$ ). Additionally, MIF level of cancer associated myositis patients was higher than of patients with no combined tumor ( $P<0.05$ ), especially in DM patients with anti-TIF-1 $\gamma$  antibody positive. Cross-sectional correlation analysis showed a weak positive correlation between serum MIF and the percent of B2 lymphocytes ( $r=0.255, P=0.014$ ), ESR ( $r=0.231, P=0.011$ ), weak negative correlation with suppressor T lymphocyte ( $r=-0.190, P=0.048$ ) and total T lymphocytes ( $r=-0.244, P=0.011$ ). **Conclusion** Serum MIF increased in patients with IIM, and MIF could be used as a marker for IIM disease activity. It might also be banded with anti-TIF1- $\gamma$  antibody as an early diagnosis of cancer associated myositis.

**Key words:** idiopathic inflammatory myositis; dermatomyositis; tumor; macrophage migration inhibitory factor

特发性炎性肌病(IIM)是一种以全身横纹肌慢性、非化脓性炎性病变为主要特征的全身性疾病,易合并肺间质病变、心脏病变、恶性肿瘤等疾病。皮肤

炎(DM)和多发性肌炎(PM)是其常见的两种亚型。多项回顾性队列研究证实 IIM 的患者合并肿瘤的风险明显升高,为 3%~40%<sup>[1]</sup>,尤其见于 DM 患者,其

合并肿瘤的发生率可为健康人群的 10 倍<sup>[2]</sup>。肿瘤可先于、同时或后于 DM 发生,绝大部分的肿瘤发生于 DM 诊断的前后 3 年。DM 合并肿瘤患者因对激素治疗不敏感,病情不易控制,导致长期生存率不高。因此,早期积极治疗 DM 合并肿瘤患者,对改善预后具有重要意义。巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)是由免疫细胞及非免疫细胞合成分泌的细胞因子,可抑制巨噬细胞的自由移动,具有多效炎性介质功能。近期研究发现,MIF 与多种疾病尤其是肿瘤的病程进展、预后情况关系密切。本研究拟采用酶联免疫吸附试验(ELISA 法)观察血清中 MIF 在 PM/DM 患者中的表达情况,并分析 MIF 与 PM/DM 患者临床特征、实验室指标及预后的关系。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** DM 125 例,PM 10 例,共计 135 例患者纳入 PM/DM 组,其中女性 101 例,男性 34 例,年龄 20~83 岁,平均(51.6±9.2)岁;其中 DM 包括经典 DM 99 例,DM 合并肿瘤 34 例,无肌病性 DM (CADM)5 例。30 例系统性红斑狼疮(SLE)患者,30 例类风湿关节炎(RA)患者,15 例原发性干燥综合征(pSS)患者,共计 75 例患者纳入其他自身免疫病组。同期健康体检者 64 例纳入健康对照组,其中男 13 例,女 51 例,年龄 18~71 岁,平均(45.4±14.0)岁。本研究得到医院伦理委员会批准,参与者均签署知情同意书。

**1.2 仪器与试剂** 美国伯乐 Bio-rad (iMark)酶标仪。血清 MIF 的测定使用美国 RayBio® Human MIF ELISA 试剂盒。

**1.3 检测方法** 采集所有研究对象血清标本,用 Eppendorf 管分装后,储存于-80℃冰箱待测。采用 ELISA 法分别检测血清 MIF、抗转录中介因子(TIF)-1γ 抗体:(1)把包被好特异性抗体的 96 微孔试剂盒放置至室温。重组抗原按倍比稀释方法进行稀释,加入 100 μL 作为标准品。(2)待测血清按比例 1:6 稀释,分别加入反应孔,4℃振荡孵育过夜。(3)倒掉微量孔内液体,清洗液冲洗 4 次,加入 100 μL 生物素标记的二抗,室温震荡孵育 2 h。(4)弃去微量孔内液体,清洗液冲洗 4 次加入 100 μL Streptavidin solution,室温震荡孵育 45 min。(5)弃去微量孔内液体,清洗液冲洗 4 次加入 100 μL TMB 显色剂,室温下震荡孵育 30 min。(6)加入 50 μL 的反应中止液(1 mol/L 硫酸)中止反应,立即于 450 nm 处测光吸收度(A),以空白对照孔调零后测各孔 A 值。标准品及待测血清均做双孔取平均 A 值。研究中 T 淋巴细胞及其亚类采用流式细胞术检测;血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和乳酸脱氢酶(LDH)水平采用化学发光法检测。

**1.4 疾病评分** 在收集每位入组患者血清标本的同时,进行肌炎活动评估视觉模拟(MYOACT)评分:包

括疾病活动度、皮肤评分、消化道、骨骼肌等评分,每项为 1~5 分,最后计算总分即为 MYOACT 评分值。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理及统计分析,作图使用 GraphPad Prism 5.01 软件。计量资料使用单样本 K-S 拟合优度检验判断数据是否为正态分布,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,非正态分布的资料以中位数(四分位数间距)[ $M(P_{25} \sim P_{75})$ ]表示,组间比较采用 Mann-Wittney *U* 检验。计数资料以例数或百分率表示,多组间比较采用  $\chi^2$  检验,多组间中的 2 组比较采用 Fisher 检验。正态分布的双变量之间的相关性采用 Pearman 相关分析,不服从正态分布或分类有序资料采用 Spearman 秩相关进行分析,相关系数(*r*)强度定义如下:0.1<*r*≤0.3 为弱相关;0.3<*r*≤0.5 为中度相关;0.5<*r*≤1.0 为显著相关。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 PM/DM 组患者的基本临床特征分析** PM/DM 组患者病程为 0.3~180.0 月,平均 25.8 月;血清肌酸激酶(CK)水平为 14.0~17 724.0 IU/L,平均 876.9 IU/L,患者其他的基本临床特征见表 1。

表 1 PM/DM 组患者的基本临床特征分析[n(%),n=135]

临床特征	例数及构成比
抗核抗体(ANA)阳性	70(61.9)
肌炎特异性抗体(MSA)阳性	76(72.3)
合并间质性肺病(ILD)	76(60.1)
肿瘤	34(25.2)
肌痛	55(44.0)
肌无力	83(65.9)
向阳疹	77(61.2)
Gotttron 征	61(48.4)
V 型疹	62(49.2)
披肩征	45(35.7)
枪套征	20(15.9)
甲周红斑	13(11.4)
皮肤溃疡	10(7.9)
皮肤钙化	4(3.2)
光过敏	17(13.5)
雷诺现象	5(4.0)
关节疼痛	31(25.0)
吞咽困难	34(27.9)

**2.2 各组的血清 MIF 水平比较** PM/DM 组、健康对照组的血清 MIF 水平分别为 11 622.43(2 216.00~95 968.00)、1 472.67(805.25~1 940.25)pg/mL,PM/DM 组明显高于健康对照组(*P*<0.05)。RA、SLE、pSS 患者中,血清 MIF 分别为 13 686(10 142~17 486)、4 408(3 133~5 208)、24 251(19 807~29 604)pg/mL,与健康对照组相比,MIF 值也均明显升高,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。

**2.3 PM/DM 患者血清 MIF 水平与临床特征的相关性** PM/DM 组 135 例患者血清 MIF 水平与疾病持

续时间呈弱负相关( $r = -0.289, P < 0.05$ )。PM/DM “早期阶段”(≤6 个月)患者[(1 027.73 ± 89.23) pg/mL]血清 MIF 水平低于“进展阶段”(＞6 个月)患者[(2 217 ± 48.65) pg/mL], 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

有吞咽困难 PM/DM 患者血清 MIF 水平明显高于无吞咽困难的患者, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。同时抗羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGCR)抗体阳性的患者血清 MIF 水平高于抗 HMGCR 抗体阴性的患者, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 不同临床特征 PM/DM 患者血清 MIF 水平比较[M(P<sub>25</sub>~P<sub>75</sub>), pg/mL]

临床特征	有(+)/无(-)	血清 MIF 水平	P
吞咽困难	+	14 172.94(2 552~42 160)	0.009
	-	10 763.84(2 216~95 968)	
雷诺现象	+	9 701.60(2 560~15 100)	0.779
	-	11 696.31(2 216~95 968)	
技工手	+	10 972.68(2 216~25 500)	0.610
	-	11 849.84(2 552~95 968)	
肌无力	+	13 020.77(2 560~95 968)	0.135
	-	9 390.46(2 216~23 568)	
关节炎/关节疼痛	+	11 203.35(2 560~38 592)	0.982
	-	11 747.35(2 216~95 968)	
ILD	+	12 134.42(2 560~95 968)	0.906
	-	10 962.92(2 216~38 592)	
肿瘤	+	13 108.82(2 552~25 500)	0.013
	-	11 122.06(2 216~95 968)	
抗 HMGCR 抗体	+	14 925.74(6 836~42 160)	0.007
	-	9 397.16(2 216~95 968)	

**2.4 血清 MIF 水平与 PM/DM 患者实验室检查指标之间的关系** 血清 MIF 水平与血清 IgM( $r = 0.182, P = 0.05$ )、IgG( $r = 0.208, P = 0.025$ )呈弱相关, 与 B2 淋巴细胞百分比( $r = 0.255, P = 0.014$ )、血细胞沉降率(ESR)( $r = 0.231, P = 0.011$ )呈弱正相关, 与 T 抑制性淋巴细胞( $r = -0.190, P = 0.048$ )、T 淋巴细胞总数( $r = -0.244, P = 0.011$ )呈弱负相关。ALT、AST、LDH 水平也与 MIF 呈弱相关。

**2.5 血清 MIF 与 DM 合并肿瘤** DM 合并肿瘤患者腺癌发生率高于实体瘤, 腺癌中乳腺癌的比例最多(30%)。患者平均病程为(23.7 ± 46.6)月。DM 合并肿瘤患者血清 MIF 水平高于单纯 DM 患者( $P = 0.006$ )。以 6、24 月为截点分别分析 DM 合并肿瘤患者治疗前后血清 MIF 变化, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。另外发现 DM 合并肿瘤中, 抗 TIF-1γ 抗体阳性组的 MIF 水平明显高于抗体阴性组, 差异有统计学意义( $P = 0.006$ ), 见图 1。

由健康对照组血清 MIF A(平均 A 值+4 倍标准差), 计算得出其 cut-off 值为 4 913.87 pg/mL。MIF 阳性(高于 cut-off 值)DM 合并肿瘤的发生率为 25.6%, MIF 阴性(低于 cut-off 值)为 8.6% ( $P = 0.045$ )。

MIF 诊断 DM 合并肿瘤的灵敏度和特异度分别为 94.1%(32/34)、23.1%(21/91), 抗 TIF-1γ 抗体诊断 DM 合并肿瘤的灵敏度和特异度分别为 68.9%(20/29)、87.9%(80/91)。

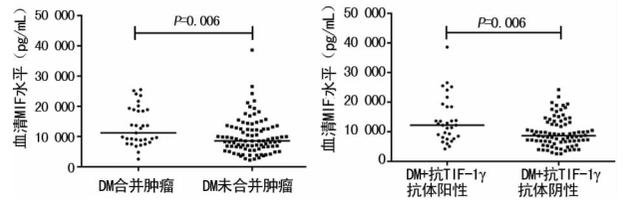


图 1 DM 合并肿瘤患者特征

**2.6 血清 MIF 与 PM/DM 患者临床疾病活动度的关系** 进一步研究了血清 MIF 水平是否与 IIM 疾病活动度相关。评估根据血清采样时 MYOACT 分数, 结果未发现血清 MIF 水平和 MYOACT 分数之间存在显著相关( $r = 0.202, P = 0.225$ )。

### 3 讨论

DM 基本病理改变是肌纤维变性和(或)坏死、肌细胞再生、肌萎及特异性抗体的产生, 有大量活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞和 B 细胞浸润<sup>[3]</sup>。PM 无明显皮肤损伤。临床上均表现为对称性进行性近端肌力减退, 出现多种内脏器官受累, 对患者的生存能力、心理、精神等方面有明显影响。更重要的是, IIM 尤其是 DM 易合并 ILD、心脏病变、恶性肿瘤等疾病, 极大地影响了患者的生存率。

MIF 由单核/巨噬细胞、B 细胞、T 细胞等免疫细胞, 以及内皮细胞、上皮细胞、血管平滑肌细胞等非免疫细胞合成, 可抑制巨噬细胞的自由移动, 使其在炎症反应中呈定向移动。后来研究发现, MIF 具有多种炎症介质功能: 促进巨噬细胞的活化, 形成正性反馈环路; 促进白细胞与血管内皮黏附, 促进炎症部位对白细胞的招募; 促进单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的表达, 维持炎症反应。本研究使用 ELISA 法, 首次系统分析了 PM/DM 患者血清 MIF 水平与临床特征的相关性。本研究发现 DM、PM 患者的血清 MIF 水平明显高于健康对照组, SLE、RA、pSS 患者与健康对照组比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 与之前研究基本一致<sup>[4]</sup>, 进一步说明了 MIF 在自身免疫疾病发病机制及疾病进展中的作用。

此次研究发现 MIF 水平与外周淋巴细胞计数呈弱相关。既往研究显示, 在 PM/DM 患者中外周血 T 细胞的比例低于健康对照组, 即 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞数量低于健康对照组; B 细胞数量与其他疾病对照组、健康组相比明显下降<sup>[5-6]</sup>。笔者推测, MIF 的分泌并不依赖外周血 T、B 细胞, 肌肉组织中的骨骼肌细胞、血管内皮细胞及其他炎性细胞, 可能有助于升高血清 MIF。但在 IIM 中血清 MIF 的确切来源仍然需要探索。

本研究还发现, IIM 早期血清 MIF 水平明显低于

进展期,但与 IIM 的病程持续时间呈负相关。其原理尚不清楚,可能由于在疾病的不同阶段,MIF 介导了不同的免疫通路所导致。且 MIF 在疾病进展阶段比早期阶段发挥更重要的作用。

吞咽困难是 IIM 一种难治性并发症,缺乏明确的血清生物标志物。本研究发现 吞咽困难 IIM 患者 MIF 水平明显高于无吞咽困难患者,并且抗 HMGR 抗体阳性的患者血清 MIF 水平高于抗 HMGR 抗体阴性的患者。抗 HMGR 抗体与严重的坏死性肌病紧密相关,并且此抗体阳性会增加患吞咽困难的风险<sup>[7]</sup>。本次研究结果提示,升高的血清 MIF 可能被作为除了抗 HMGR 抗体之外的吞咽困难的标记,但具体关联机制仍有待研究。

另外值得注意的是,本研究发现合并肿瘤的 PM/DM 患者血清 MIF 水平高于未合并肿瘤的患者,尤其是在 DM 中发生肿瘤患者 MIF 水平明显高于未发生肿瘤者。MIF 高于 cut-off 值的 DM 患者合并肿瘤的发生率明显高于 MIF 低于 cut-off 值合并肿瘤患者。MIF 参与肿瘤的发病机制,与疾病的病程进展、预后情况关系密切。口腔鳞状细胞癌中,MIF 升高与肿瘤的恶性程度、侵袭和浸润的深度呈正相关<sup>[8]</sup>;在黑色素瘤中,转移性黑色素瘤组织中的 MIF 比原位性黑色素瘤高,并且在转移性肿瘤中,根据 MIF 水平进行四分位分组计算,MIF 高的患者的生存时间更短,疾病进展更快<sup>[9]</sup>。

本研究纳入的 DM 合并肿瘤中腺癌发生率高于实体瘤,腺癌中乳腺癌的比例最多(30%),这与既往文献报道 DM/PM 伴发肿瘤常见类型为卵巢癌、乳腺癌、黑色素瘤、结肠癌和非霍奇金氏淋巴瘤等一致。但不同于白种人伴发肿瘤的类型没有特殊倾向性,亚洲人群中最常见的伴发肿瘤类型是鼻咽癌<sup>[10]</sup>。值得注意的是,抗 TIF-1 $\gamma$  抗体阳性的 DM 合并肿瘤患者 MIF 水平高于此抗体阴性患者。血清抗 TIF-1 $\gamma$  抗体可作为 DM 合并肿瘤的敏感而特异的血清学指标,以往多项研究证实其可用于早期诊断 DM 合并肿瘤<sup>[11]</sup>。本研究发现,MIF 诊断 DM 合并肿瘤的灵敏度、特异度分别为 94.1%、23.1%,抗 TIF-1 $\gamma$  抗体诊断 DM 合并肿瘤的灵敏度、特异度分别为 68.9%、87.9%。因此,将这 2 种抗体联合分析在提高诊断灵敏度的同时能保证一定的特异度,可作为早期诊断 DM 合并肿瘤灵敏而又特异的指标。

本研究未发现血清 MIF 水平和 MYOACT 分数之间存在相关性。有报道称 RA 患者血清 MIF 和血清 C 反应蛋白(CRP)水平呈负相关,与 DAS28 评分无相关性<sup>[12]</sup>。

综上所述,本研究发现在我国 PM/DM 患者人群中血清 MIF 水平升高,血清 MIF 可作为 DM/PM 疾病活动标志。它还可同抗 TIF-1 $\gamma$  抗体联合用于早期

诊断 DM 合并肿瘤。但 MIF 在 DM 合并肿瘤的发病机制中的作用及确切的预测价值,仍有待进一步探讨。

## 参考文献

- [1] ZAMPIERI S, VALENTE M, ADAMI N, et al. Polymyositis, dermatomyositis and malignancy: a further intriguing link[J]. *Autoimmun Rev*, 2010, 9(6): 449-453.
- [2] LIU W C, HO M, KOH W P, et al. An 11-year review of dermatomyositis in Asian patients[J]. *Ann Acad Med Singapore*, 2010, 39(11): 843-847.
- [3] DALAKAS M C. Pathophysiology of inflammatory and autoimmune myopathies[J]. *Presse Med*, 2011, 40(4 Pt 2): e237-e247.
- [4] WAKABAYASHI K, OTSUKA K, SATO M, et al. Elevated serum levels of macrophage migration inhibitory factor and their significant correlation with rheumatoid vasculitis disease activity[J]. *Mod Rheumatol*, 2012, 22(1): 59-65.
- [5] WANG D X, LU X, ZU N, et al. Clinical significance of peripheral blood lymphocyte subsets in patients with polymyositis and dermatomyositis[J]. *Clin Rheumatol*, 2012, 31(12): 1691-1697.
- [6] LI W, TIAN X, LU X, et al. Significant decrease in peripheral regulatory B cells is an immunopathogenic feature of dermatomyositis[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 27479-27495.
- [7] KAO A H, LACOMIS D, LUCAS M, et al. Anti-signal recognition particle autoantibody in patients with and patients without idiopathic inflammatory myopathy[J]. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(1): 209-215.
- [8] CHANG K P, LIU S C, YI J S, et al. Low-molecular-mass secretome profiling identifies HMGA2 and MIF as prognostic biomarkers for oral cavity squamous cell carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11689.
- [9] OLIVEIRA C S, DE BOCK C E, MOLLOY T J, et al. Macrophage migration inhibitory factor engages PI3K/Akt signalling and is a prognostic factor in metastatic melanoma[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 630.
- [10] Dalakas M C. Inflammatory muscle diseases: a critical review on pathogenesis and therapies[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2010, 10(3): 346-352.
- [11] 杨澜波, 舒晓明, 彭清林, 等. 血清抗转录中介因子 1- $\gamma$  抗体在 PM-DM 合并肿瘤诊断中的价值[J]. *中华风湿病学杂志*, 2013, 17(1): 10-15.
- [12] BRENNAN-BOURDON L M, DE LA CRUZ-MOSSO U, REYES-CASTILLO Z, et al. MIF and TNF $\alpha$  serum levels in rheumatoid arthritis patients treated with disease-modifying antirheumatic drugs: a cross-sectional study[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2015, 37(2): 207-213.