

• 临床检验研究论著 •

血清褪黑素水平与强直性脊柱炎疾病活动性之间的相关性研究

韦蓉梅,董丽平,吴红慧,徐燕群
(广州市正骨医院检验科,广东广州 510045)

摘要:目的 探讨强直性脊柱炎(AS)患者血清褪黑素(MLT)水平与患者疾病活动性之间的相关性。方法 40 例 AS 患者和 40 例非 AS 健康志愿者纳入研究。采用 Bath 强直性脊柱炎疾病活动指数(BASDAI)评估 AS 组患者的疾病活动程度,采用 Bath 强直性脊柱炎功能指数(BASFI)评估 AS 组患者的功能损害程度。采用所有研究对象的血液标本,测定其红细胞沉降率(ESR)、C 反应蛋白(CRP)及血清 MLT 水平。结果 AS 患者的 ESR、CRP 及血清 MLT 水平显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$)。活动性 AS 患者($BASDAI \geq 40$)的 ESR($P=0.015$)、CRP($P=0.012$)以及 BASFI($P=0.0016$)显著高于非活动性 AS 患者($BASDAI < 40$);活动性与非活动性 AS 患者的血清 MLT 水平分别为 (39.7 ± 6.2) 、 (35.2 ± 3.5) pg/mL,差异有统计学意义($P=0.011$)。血清 MLT 水平与 AS 患者的 BASDAI、BASFI 及 CRP 呈正相关,但与 ESR 水平或病程无相关性。结论 血清 MLT 的水平变化可反映 AS 患者的疾病活动性。

关键词:强直性脊柱炎; 褪黑素; 疾病活动性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)12-1516-02

A research on correlation between serum melatonin level and disease activity of ankylosing spondylitis

Wei Rongmei, Dong Liping, Wu Honghui, Xu Yanqun

(Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Orthopedic Hospital, Guangzhou, Guangdong 510045, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between serum melatonin(MLT) level of patients with ankylosing spondylitis(AS) and the disease activities. **Methods** 40 patients with AS and 40 healthy volunteers without AS were enrolled in the study. Disease activities of patients with AS were evaluated by using Bath ankylosing spondylitis disease activity index(BASDAI) and their functional damage degrees were estimated by using Bath ankylosing spondylitis functional index(BASFI). Serum samples from all study objects were subjected to detection of erythrocyte sedimentation rate(ESR), C-reactive protein (CRP) and serum MLT levels. **Results** Serum ESR, CRP and MLT levels of patients with AS were all markedly higher than those in health control group with statistically significant differences($P<0.01$). ESR($P=0.015$), CRP($P=0.012$) and BASFI($P=0.0016$) of patients with active AS($BASDAI \geq 40$) were significantly higher than those in patients with inactive AS($BASDAI < 40$). The serum MLT levels of patients with active and inactive AS were (39.7 ± 6.2) , (35.2 ± 3.5) pg/mL, respectively, with statistically significant differences ($P=0.011$). Serum MLT levels were positively correlated with BASDAI, BASFI and CRP of patients with AS, whereas no correlation were found between it with ESR levels or disease duration. **Conclusion** Changes of serum MLT levels may indicate disease activity of patients with AS.

Key words: ankylosing spondylitis; melatonin; disease activity

近年来,关于褪黑素(MLT)在炎症性关节炎发病机制中作用的研究经常见诸报道,Cutolo 等^[1]发现类风湿性关节炎(RA)患者的 MLT 水平在早晨及初夜时均高于健康人群,且 MLT 的水平增加与患者的关节僵硬和疼痛症状呈现出相关关系,他们还发现 MLT 的水平升高与血中的炎症细胞因子升高及皮质类固醇抵抗有关,进而认为 MLT 在夜间疾病的炎症激活中起重要作用。然而,到目前为止,尚无关于血清 MLT 水平与强直性脊柱炎(AS)疾病生理机制之间关系的研究报道。为此,笔者开展了本项实验研究,对 MLT 水平与 AS 患者疾病活动程度的相关性进行评估,以期对 AS 的相关临床治疗提供理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 经当地伦理委员会批准,并与研究对象签订知情同意后,该研究得以实施。2010 年 10 月至 2011 年 3 月间 40 例经 AS 改良纽约诊断标准^[2]确诊的 AS 患者纳入本研究(AS 组)。另招募 40 例非 AS 健康志愿者作为对照组研究对象。存在糖尿病,心脏病,急、慢性感染病史以及尿液或血生

化分析异常的患者排除在该研究之外。AS 组的平均年龄为 (33.2 ± 6.4) 岁,其中女性 7 例,男性 33 例,平均病程为 (6.3 ± 2.8) 年;对照组的平均年龄为 (31.8 ± 5.6) 岁,其中女性 7 例,男性 33 例;两组研究对象在年龄、性别构成比方面,差异无统计学意义($P>0.05$)。在随机抽样中,AS 组中 26 例患者正接受系统的非甾体类抗炎药联合柳氮磺胺吡啶治疗,14 例患者正接受系统的非甾体类抗炎药物治疗,在本研究开展期间允许患者继续按疗程服药。

1.2 方法

1.2.1 临床评估方法 所有 AS 组患者均接受骨盆及脊柱全长 X 线片检查,如患者存在脊柱、骶髂关节或髋关节之外其他部位关节受累,也对其受累的关节进行 X 线片检查。采用 Bath 强直性脊柱炎疾病活动指数(BASDAI)^[3]评估 AS 组患者的疾病活动程度,采用 Bath 强直性脊柱炎功能指数(BASFI)^[4]评估 AS 组患者的功能损害程度。

1.2.2 实验室检查 在同一天,采集所有研究对象的空腹状态下血液标本,检测其红细胞沉降率(ESR)、C 反应蛋白

(CRP)及血清 MLT 水平。血清提取时以 3 000 g 离心 15 min,之后置于-80 ℃下储存直至进行检测分析。血清 MLT 的检测采用 ELISA 法,检测试剂盒购自德国 IBL 免疫生物学实验室。

1.3 统计学处理 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,计数资料以率表示;两组之间的数据比较采用 Student *t* 检验或四格表 χ^2 检验,相关性分析采用 Pearson 相关系数;检验水准均取双侧 $\alpha=0.05$ 。所有数据的统计处理均采用 SPSS17.0 软件。

2 结 果

2.1 生化指标检测结果比较 AS 组的 ESR 和 CRP 水平显著高于对照组,AS 组的血清 MLT 水平也显著高于对照组,组间差异均有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

2.2 AS 患者疾病活动及功能损害程度 AS 组患者 BASDAI 及 BASFI 分别为(65.5±11.1)、(23.7±4.2)分,其中 23 例为活动性 AS 患者(BASDAI≥40),17 例为非活动性 AS 患者

(BASDAI<40)。活动性与非活动性 AS 患者的评估指标数据见表 2,活动性 AS 患者的 ESR、CRP 以及 BASFI 评估结果显著高于非活动性 AS 患者($P<0.05$);活动性与非活动性 AS 患者的血清 MLT 水平分别为(39.7±6.2)、(35.2±3.5)pg/mL,差异有统计学意义($P<0.05$)。28 例患者存在韧带附着端病,其血清 MLT 水平为(39.1±4.8)pg/mL;另外 12 例未患有韧带附着端病,其血清 MLT 水平为(35.6±4.3)pg/mL,差异有统计学意义($t=2.176,P=0.036$)。

表 1 2 组生化指标比较			
组别	ESR(mm/h)	CRP(mg/mL)	MLT(pg/mL)
AS 组(<i>n</i> =40)	30.7±4.1*	12.4±3.4*	37.4±5.1*
对照组(<i>n</i> =40)	10.1±0.7	0.7±0.2	26.7±4.3

*: $P<0.01$,与对照组比较。

表 2 活动性与非活动性 AS 患者的评估指标数据结果

AS 患者	年龄(岁)	性别(男/女, <i>n</i> / <i>n</i>)	AS 病程(年)	ESR(mm/h)	CRP(mg/mL)	BASFI(分)	MLT(pg/mL)
活动性 AS(<i>n</i> =23)	33.4±5.2	18/5	6.4±2.3	32.7±5.2	13.7±3.1	24.1±5.2	39.7±6.2
非活动性 AS(<i>n</i> =17)	32.7±4.3	15/2	5.7±1.9	28.6±4.8	11.2±2.8	19.3±4.1	35.2±3.5
<i>t</i> 值	0.452	0.674	1.022	2.546	2.625	3.148	2.687
<i>P</i> 值	0.654	0.412	0.313	0.015	0.012	0.003	0.011

2.3 Pearson 相关分析结果 血清 MLT 水平与 AS 患者的 BASDAI、BASFI 及 CRP 呈正相关(*r* 分别为 0.447、0.371、0.454, $P<0.05$),但与 ESR 水平或病程无相关关系(*r* 分别为 0.148、0.211, $P>0.05$)。

3 讨 论

AS 是一种原因不明的炎症性疾病,除累及脊柱关节外,外周关节及关节外结构也经常受累。尽管目前对于 AS 的病理基础尚未完全明确,但多数学者认为其与患者自身的免疫调节机制紊乱有关,机体的抗氧化能力减弱是导致 AS 发生的一种重要因素^[5]。

MLT 是一种由松果体分泌的机体天然激素,其化学结构为 N-乙酰基-5-甲氧基色胺。MLT 参与机体自身免疫调节^[6]和免疫防御^[7]机制,在调节昼夜节律和睡眠^[8]中也起重要作用。MLT 的合成与分泌存在昼夜规律,在夜间分泌达高峰,日光照射可抑制其产生和分泌^[9]。

以往研究显示^[10],RA 患者与健康人群的 MLT 水平从上午 8 时起逐渐升高,RA 患者的 MLT 分泌高峰出现在午夜,相比健康人群的 MLT 分泌高峰早约 2 h,之后 RA 患者的 MLT 血清浓度呈现出 2~3 h 的平台期,而在健康人群中未观察到这一现象。Cutolo 等^[1]研究发现,MLT 的水平升高与血中的炎症细胞因子升高及皮质类固醇抵抗有关,进而认为 MLT 在夜间疾病的炎症激活中起重要作用。另有研究显示,下丘脑-垂体-肾上腺轴的整体活性并不足以抑制 RA 疾病的持续炎症反应^[11],皮质类固醇的抗炎效应与 MLT 诱发的促炎效应之间的平衡受自身免疫性炎症性疾病的显著影响^[12]。与 RA 相似,AS 作为一种自身免疫性炎症性疾病其症状程度也表现出昼夜规律,在早晨时其关节僵硬、疼痛症状更为突出,此时各种炎性细胞因子的产生也处于高峰水平^[13]。

最近,土耳其学者 Senel 等^[13]实施的一项实验研究表明,AS 患者的血清 MLT 水平显著高于健康人群,但他们并没有

进一步考察 AS 患者的疾病严重程度是否与血清 MLT 的水平升高有关。本研究对 AS 患者的血清 MLT 水平变化与疾病严重程度之间的相关性进行了考察,研究结果显示,AS 患者的血清 MLT 水平显著高于对照组;活动性 AS 患者(BASDAI ≥40)较之非活动性 AS 患者(BASDAI<40)的血清 MLT 水平更高;AS 患者的血清 MLT 水平与 BASDAI、BASFI 及 CRP 呈正相关,但患者的 ESR 水平与之无相关关系,表明 MLT 可能在 AS 的疾病活动及病理过程中发挥重要作用,血清 MLT 的水平变化可反映 AS 患者的疾病活动性和功能损害程度。AS 患者 MLT 水平变化对其疾病的发病机制和预后的影响将是以后值得深入研究的一项课题,以便更好地理解 AS 的病理生理学机制。

总之,AS 患者的血清 MLT 水平显著高于健康人群,MLT 的水平变化与患者的与 BASDAI、BASFI 及 CRP 水平呈正相关关系,血清 MLT 的水平变化可反映 AS 患者的疾病活动性。

参考文献

[1] Cutolo M, Maestroni GJ. The melatonin-cytokine connection in rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2005, 64(8): 1109-1111.

[2] van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria[J]. Arthritis Rheum, 1984, 27(4): 361-368.

[3] Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, et al. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index[J]. J Rheumatol, 1994, 21(12): 2286-2291.

[4] Calin A, Garrett S, Whitelock H, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index(下转第 1520 页)

物选择压力的作用下发生突变^[10]。基于上述依据,本研究利用 653 例接受核苷(酸)类似物治疗的慢性乙肝患者的血浆标本,证实 RT 结构域突变所产生的 HBV 耐药突变的确可以导致编码表面抗原的多个位点发生突变。

在本研究中,HBV 耐药变异株相关突变位点和氨基酸的选择参考 2012 年版的欧洲肝病研究协会的慢性乙肝管理临床指南^[8],对指南中未列出而在以往研究中报道过的其他潜在的耐药突变位点未予选择。值得注意的是,rt169、rt173、rt180、rt181、rt184、rt202 和 rt204 位点上出现的其他氨基酸突变也可能造成 S 基因的突变,不过现有的循证医学证据尚不支持这些突变和核苷(酸)类似物耐药之间的联系,所以本研究未选择这些突变进行分析。

近年来国内已有研究综述关注 HBV 耐药突变所诱发的表面抗原突变^[11],与之相比,本研究还发现了 rtM204V 可以同时导致表面抗原 I195M 和 W196L 的突变,但是未发现 rtM204I 可致 196W 突变为终止密码子的情况。尽管 HBV 耐药变异导致的表面抗原突变多位于表面抗原的主要亲水区之外,但是其潜在的生物学意义也值得研究,因为以往的研究发现主要亲水区之外的氨基酸突变会导致表面抗原的功能改变,例如 F183C 的突变可以造成 HBV 的免疫逃逸^[12]。实际上,已有初步的研究报道了其中某些表面抗原突变所导致的生物学功能变化^[13],近年来表面抗原 172W 突变为终止密码子的研究尤其被关注;现有的研究结果提示,不论在体外实验还是体内实验中该突变均可导致分泌到细胞外的表面抗原减少^[14-15],过多的表面抗原聚集在细胞内可能增加某些患者发生原发性肝癌的风险^[16]。

随着核苷(酸)类似物在慢性乙型肝炎临床治疗中的不断使用,HBV 耐药变异株的产生已成为临床迫切需要面对的问题,而分析耐药突变对表面抗原的影响,将为未来深入研究耐药变异株中 HBV 表面抗原的生物学功能奠定基础,从而有助于对表面抗原检测做出更加全面合理的评价。

参考文献

[1] Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection - natural history and clinical consequences[J]. N Engl J Med, 2004, 350(11): 1118-1129.

[2] Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2007, 45(2): 507-539.

[3] McMahon BJ. Natural history of chronic hepatitis B[J]. Clin Liver Dis, 2010, 14(3): 381-396.

[4] Fung J, Lai CL, Seto WK, et al. Nucleoside/nucleotide analogues in the treatment of chronic hepatitis B[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(12): 2715-2725.

[5] Zoulim F, Locarnini S. Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues[J]. Gastroenterology, 2009, 137(5): 1593-1608.

[6] Locarnini S, Zoulim F. Molecular genetics of HBV infection[J]. Antivir Ther, 2010, 15(Suppl 3): 3-14.

[7] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版) [J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 19(1): 13-24.

[8] European Association for the study of the liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol, 2012, 57(1): 167-185.

[9] Mauss S, Berg T, Rockstroh J, et al. Hepatology 2012: a clinical Textbook[M]. Germany: Flying Publisher, 2012: 66-70.

[10] Dienstag JL. Hepatitis B virus infection[J]. N Engl J Med, 2008, 359(14): 1486-1500.

[11] 杨松, 成军. 核苷(酸)类似物耐药与乙型肝炎病毒表面抗原变异[J]. 中华传染病杂志, 2010, 28(5): 318-320.

[12] Kay A, Zoulim F. Hepatitis B virus genetic variability and evolution[J]. Virus Res, 2007, 127(2): 164-176.

[13] Sloan RD, Ijaz S, Moore PL, et al. Antiviral resistance mutations potentiate hepatitis B virus immune evasion through disruption of its surface antigen a determinant[J]. Antivir Ther, 2008, 13(3): 439-447.

[14] Warner N, Locarnini S. The antiviral drug selected hepatitis B virus rtA181T/sW172 * mutant has a dominant negative secretion defect and alters the typical profile of viral rebound[J]. Hepatology, 2008, 48(1): 88-98.

[15] Dai J, Chen EQ, Bai L, et al. Biological characteristics of the rtA181T/sW172 * mutant strain of Hepatitis B virus in animal model[J]. Virol J, 2012, 9: 280.

[16] Yeh CT, Chen T, Hsu CW, et al. Emergence of the rtA181T/sW172 * mutant increased the risk of hepatoma occurrence in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B [J]. BMC Cancer, 2011, 11: 398.

(收稿日期: 2012-11-08)

(上接第 1517 页)

[4] J. J Rheumatol, 1994, 21(12): 2281-2285.

[5] Karakoc M, Altindag O, Keles H, et al. Serum oxidative-antioxidative status in patients with ankylosing spondylitis[J]. Rheumatol Int, 2007, 27(12): 1131-1134.

[6] Srinivasan V, Spence DW, Trakht I, et al. Immunomodulation by melatonin: its significance for seasonally occurring diseases[J]. Neuroimmunomodulation, 2008, 15(2): 93-101.

[7] Maldonado MD, Murillo-Cabezas F, Terron MP, et al. The potential of melatonin in reducing morbidity-mortality after craniocerebral trauma[J]. J Pineal Res, 2007, 42(1): 1-11.

[8] Agez L, Laurent V, Guerrero HY, et al. Endogenous melatonin provides an effective circadian message to both the suprachiasmatic nuclei and the pars tuberalis of the rat[J]. J Pineal Res, 2009, 46(1): 95-105.

[9] Yu HS, Reiter RJ. Melatonin: Biosynthesis, physiological effects,

and clinical applications[M]. Boca Raton: CRC Press, 1992: 1-17.

[10] Cutolo M, Masi AT. Circadian rhythms and arthritis[J]. Rheum Dis Clin North Am, 2005, 31(1): 115-129.

[11] Straub RH, Cutolo M. Involvement of the hypothalamic-pituitary-adrenal/gonadal axis and the peripheral nervous system in rheumatoid arthritis: viewpoint based on a systemic pathogenetic role[J]. Arthritis Rheum, 2001, 44(3): 493-507.

[12] Cutolo M. Night-time glucocorticoid-A paradigm shift in glucocorticoid therapy in rheumatoid arthritis? [J]. Eur Musculoskelet Rev, 2009, 4(2): 41-43.

[13] Senel K, Baykal T, Melikoglu MA, et al. Serum melatonin levels in ankylosing spondylitis: correlation with disease activity[J]. Rheumatol Int, 2011, 31(1): 61-63.

(收稿日期: 2013-01-12)