

巨噬细胞移动抑制因子在炎症性肠病发病中的作用

张启芳, 邱小芬, 张翠萍, 杨建彬, 陈卓琳

张启芳, 陈卓琳, 广西壮族自治区南溪山医院消化内科 广西壮族自治区桂林市 541002

张翠萍, 邱小芬, 广西壮族自治区南溪山医院病理科 广西壮族自治区桂林市 541002

杨建彬, 广西壮族自治区南溪山医院检验科 广西壮族自治区桂林市 541002

张启芳, 2005年广西医科大学硕士, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的临床研究。

广西壮族自治区卫生厅科研资助项目, No. Z2005120

通讯作者: 张启芳, 541002, 广西壮族自治区桂林市, 广西壮族自治区南溪山医院消化内科. zhangqifang-gl@163.com

电话: 0773-3849749

收稿日期: 2008-02-17 修回日期: 2008-03-22

Pathogenic role of macrophage migration inhibitory factor in inflammatory bowel disease

Qi-Fang Zhang, Xiao-Fen Qiu, Cui-Ping Zhang, Jian-Bin Yang, Zhuo-Lin Chen

Qi-Fang Zhang, Xiao-Fen Qiu, Cui-Ping Zhang, Jian-Bin Yang, Zhuo-Lin Chen, Nan Xishan Hospital Guangxi Zhuang Autonomous Region, Guilin 541002, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. Z2005120

Correspondence to: Qi-Fang Zhang, Department of Gastroenterology, Nan Xishan Hospital Guangxi Zhuang Autonomous Region, Guilin 541002, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangqifang-gl@163.com

Received: 2008-02-17 Revised: 2008-03-22

Abstract

AIM: To explore the pathogenic role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in patients with inflammatory bowel disease.

METHODS: A total of 38 patients with ulcerative colitis (UC) at the active stage, 18 patients with Crohn's disease (CD), 23 patients with other forms of colitis and 20 normal controls were enrolled in the study. The levels of MIF in the sera and intestinal tissue were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and immunohistochemistry, respectively. Meanwhile, the levels of high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) were measured by latex-enhanced immunoturbidimetry.

RESULTS: The levels of MIF in the sera were

significantly higher in UC, CD and other forms of colitis than those in normal controls (10.599 ± 1.895 , 8.981 ± 1.409 , $8.498 \pm 2.242 \mu\text{g/L}$ vs $5.363 \pm 1.841 \mu\text{g/L}$; all $P < 0.01$). The serum MIF levels were significantly higher in the hs-CRP-positive cases with UC than those in the hs-CRP-negative cases ($11.025 \pm 1.863 \mu\text{g/L}$ vs $9.408 \pm 1.485 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$). However, the levels of MIF in CD patients were not significantly different from those levels in other forms of colitis. The rate of MIF express was significantly increased in colonic mucosa in UC than that in CD or other forms of colitis (100.00% vs 66.67% , 78.26% , 65.00% ; $P < 0.01$).

CONCLUSION: MIF may play a role in the pathogenesis of UC. MIF may be used as a marker of disease activity in UC and control of MIF production may have therapeutic effects.

Key Words: Crohn's disease; High sensitivity C-reactive protoein; Macrophage migration inhibitory factor; Ulcerative colitis

Zhang QF, Qiu XF, Zhang CP, Yang JB, Chen ZL. Pathogenic role of macrophage migration inhibitory factor in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(15): 1645-1648

摘要

目的: 探讨巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发病中的意义。

方法: 2005-03/2007-11广西壮族自治区南溪山医院及外院住院活动期溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者38例, 克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者18例, 其他结肠炎患者23例, 健康体检者20例。ELISA检测受试者血清MIF含量, LAB-SA免疫组化测定肠黏膜组织MIF蛋白表达。采用胶乳增强免疫透射比浊法检测超敏C-反应蛋白(Hs-CRP)。

结果: UC、CD及其他结肠炎患者的血清MIF水平均高于正常对照者(10.599 ± 1.895 , 8.981 ± 1.409 , $8.498 \pm 2.242 \mu\text{g/L}$ vs 5.363 ± 1.841

■背景资料

免疫因素参与炎症性肠病(IBD)的发病, 已得到多数学者公认。巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是一种重要的促炎细胞因子, 在机体的炎症和免疫反应中起重要作用, 国内外均有报道证实MIF参与多种炎症性疾病的发病, 然而MIF在IBD发病机制中的作用尚未明确。国内仅在大鼠溃疡性结肠炎模型中有所研究, 尚缺乏相关的临床研究资料。

■同行评议者

张锦生, 教授, 复旦大学上海医学院病理学系

■研究前沿

MIF是目前国内外医学专家研究的热点, MIF在IBD发病机制中的作用的报道尚不多, 国内仅在大鼠溃疡性结肠炎(UC)模型中有所研究, 尚缺乏相关的临床研究资料。

$\mu\text{g/L}$; 均 $P<0.01$); hs-CRP阳性的UC患者MIF水平高于hs-CRP阴性的UC患者($11.025\pm 1.863\mu\text{g/L}$ vs $9.408\pm 1.485\mu\text{g/L}$, $P<0.05$), 而hs-CRP阳性的CD患者MIF水平未见显著升高, CD患者的血清MIF水平与其他结肠炎患者的血清MIF水平比较无显著性差异。UC患者的肠黏膜MIF表达与其他结肠炎、CD患者和正常对照者比较, 均具有显著差异(100.00% vs 66.67% , 78.26% , 65.00% ; $P<0.01$)。

结论: MIF参与溃疡性结肠炎的发病过程, 可能是溃疡性结肠炎活动的指标, 控制MIF的产生可能有治疗作用。

关键词: 克罗恩病; 超敏-C反应蛋白; 巨噬细胞移动抑制因子; 溃疡性结肠炎

张启芳, 邱小芬, 张翠萍, 杨建彬, 陈卓琳. 巨噬细胞移动抑制因子在炎症性肠病发病中的作用. 世界华人消化杂志 2008; 16(15): 1645-1648

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/1645.asp>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD), 其病因和发病机制至今不明^[1], 可能与免疫、感染、遗传和精神活动等多因素有关, 目前免疫因素在IBD发病中的作用已得到肯定且研究日益深入。巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)是一种重要的促炎细胞因子^[2], 在机体的炎症和免疫反应中起重要作用, Yamaguchi *et al*^[3]和张启芳 *et al*^[4]报道证实MIF参与多种炎症性疾病的发病, 然而MIF在IBD发病机制中的作用尚未阐明, 国外Ohkawara *et al*已有MIF在IBD方面的报道^[5-7], 但是目前国内的报道甚少, 尤其是临床研究罕见。为探讨MIF在IBD发病中的作用, 本研究检测了UC、CD和其他结肠炎患者血清MIF的含量及肠黏膜组织中MIF的表达, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2005-03/2007-11广西壮族自治区南溪山医院及外院住院活动期UC患者38例, 男22例, 女16例, 年龄16-78(平均41.13)岁; CD患者18例, 男10例, 女8例, 年龄20-49(平均30.78)岁。全部病例均符合2000年成都召开的全国炎症性肠病研讨会制订的《对炎症性肠病的诊断治疗规范的建议》所规定的诊断标准^[8]。其他结肠炎(包括慢

性感染性结肠炎13例、缺血性肠炎6例、憩室炎4例)共23例, 男12例, 女11例, 年龄22-68(平均45.71)岁; 健康体检者20例作为正常对照, 男10例, 女10例, 年龄20-46岁。

1.2 方法

1.2.1 血清MIF浓度及超敏C-反应蛋白(hs-CRP)的测定: 清晨空腹静脉采血, 静置后离心分离出血清, -80°C 保存待测。MIF采用ELISA检测, 试剂盒为R&D公司产品, 实验操作严格按说明书进行。hs-CRP采用胶乳增强免疫透射比浊法, 试剂盒为上海复星长征医学科学有限公司产品。hs-CRP浓度超过3 mg/L为hs-CRP阳性。

1.2.2 MIF蛋白检测: 肠道标本来源部位: UC患者在乙状结肠和(或)直肠活检, CD患者在回肠末段和(或)右半结肠活检、或来自外科手术中小肠或右半结肠标本, 其他结肠炎在结肠和(或)直肠炎症明显处活检, 正常对照者在乙状结肠和(或)直肠活检。应用LAB-SA免疫组化试剂盒测定肠黏膜组织MIF蛋白表达。一抗为兔抗MIF(美国Zymed公司)1:2000稀释。用PBS代替一抗作为阴性对照。以胞质出现明显的棕黄色颗粒为MIF阳性细胞, 以阳性细胞在同类细胞中的百分比评判染色强度, 染色细胞 $<5\%$ (-); 染色细胞 $5\%-25\%$ 之间(+); 染色细胞 $>25\%$ (++)^[9]。

统计学处理 计算值以mean \pm SD表示。血清MIF数据两组间比较采用 t 检验, 多组间先采用 F 检验分析, 然后再用 q 检验进行组间比较, 免疫组化结果比较采用Ridit分析, $P<0.05$ 认为差异具有显著性。

2 结果

2.1 血清MIF水平 UC、CD及其他结肠炎患者血清MIF水平均高于对照组($P<0.01$), 其中以UC患者的升高最明显, 且UC组高于CD及其他结肠炎组($P<0.05$), 而CD组与其他结肠炎组比较无显著性差异(表1)。

2.2 不同hs-CRP水平IBD患者的血清MIF情况 UC患者中hs-CRP阳性20例, 阴性18例, hs-CRP阳性的UC患者MIF水平($11.025\pm 1.863\mu\text{g/L}$)高于hs-CRP阴性的UC患者MIF水平($9.408\pm 1.485\mu\text{g/L}$, $P<0.05$)。CD患者中hs-CRP阳性的有12例, 但这些患者的MIF水平与hs-CRP阴性患者的MIF水平无显著差别($P>0.05$, 表2)。

2.3 MIF在不同患者肠黏膜中的表达 正常对照者的肠黏膜有MIF弱表达, 主要位于黏膜表面的上皮细胞, 固有层的腺体很少表达。结肠炎时

■相关报道

Murakami *et al*的研究认为MIF参与了溃疡性结肠炎的发病, 是UC活动的灵敏指标, MIF主要在人类大肠黏膜的炎症细胞表达, 而实质细胞不表达。

表 1 各组患者血清MIF ($\mu\text{g/L}$, mean \pm SD)

分组	n	MIF
UC组	38	10.599 \pm 1.895 ^{ab}
CD组	18	8.981 \pm 1.409 ^b
其他结肠炎组	23	8.498 \pm 2.242 ^b
对照组	20	5.363 \pm 1.841

^a $P < 0.05$ vs CD组, 其他结肠炎组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

表 2 不同hs-CRP水平BD患者的血清MIF水平 ($\mu\text{g/L}$, mean \pm SD)

UC组	UC		CD	
	n	MIF	n	MIF
hs-CRP(+)/UC组	28	11.025 \pm 1.863 ^a	12	9.152 \pm 1.325
hs-CRP(-)/UC组	10	9.408 \pm 1.485	6	8.64 \pm 1.635

^a $P < 0.05$ vs hs-CRP(-)/UC组.

大肠的上皮细胞和炎症细胞均有表达, 轻度炎症的病例, MIF表达较弱, 主要位于黏膜表面上皮细胞, 固有层的腺体较少表达; 炎症程度越重, MIF表达愈强、愈广泛, 黏膜表面的上皮细胞、固有层的腺体及炎症细胞均有强表达(图1). 其中, UC患者的肠黏膜MIF表达率为100%、染色明显增强, 与其他结肠炎、CD患者或正常对照组比较均具有显著差异($P < 0.01$), 但是CD及其他类型结肠炎患者的MIF表达与对照组比较无显著差别($P > 0.05$).

3 讨论

MIF是一种115个氨基酸的蛋白质, 脑垂体前叶和单核巨噬细胞是血MIF的主要来源(中枢和外周来源), MIF能够抑制巨噬细胞的游走, 促进巨噬细胞在炎症局部的聚集、增生、激活及分泌一些细胞因子, 在炎症和内毒素血症中起重要作用; MIF还能够对抗糖皮质激素的抗炎作用, 两者共同调节机体的免疫和炎症过程^[10-11].

CRP是由肝脏合成的一种急性蛋白质, 正常血清中含量甚微, 在炎症急性期、风湿热、类风湿性关节炎、恶性肿瘤、外伤等患者血清中含量增高. 检测CRP对疾病的诊断虽无特异性, 但其浓度上升是各种原因引起的炎症和组织损伤的灵敏指标^[12], 已有较多的研究^[13-14]证实活动期UC患者CRP的水平增高, 而hs-CRP比普通CRP更灵敏、准确性更高. 本组资料hs-CRP阳性UC患者的MIF水平高于hs-CRP阴性UC患者的MIF水平, 可能提示UC患者炎症及组织损伤

表 3 各组患者肠黏膜的MIF表达

分组	n	大肠黏膜的MIF表达			
		-	+	++	阳性率(%)
UC组	38	0	6	32	100.00 ^b
CD组	18	6	11	1	66.67
其他结肠炎组	23	5	16	2	78.26
对照组	20	7	13	0	65.00

^b $P < 0.01$ vs 其他三组.

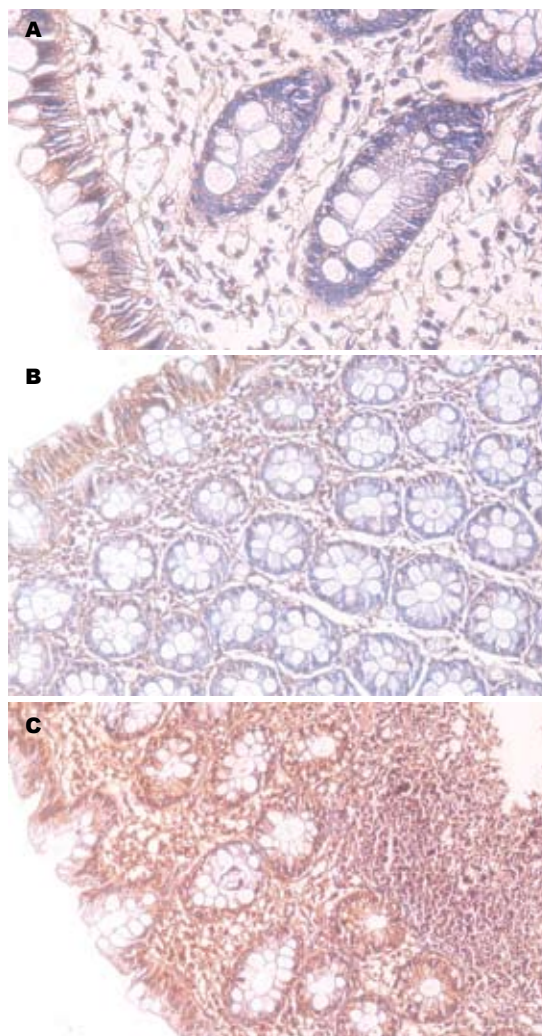


图 1 肠黏膜MIF表达(免疫组化S-P法). A: 正常肠黏膜($\times 400$); B: 轻度炎症的UC患者肠黏膜($\times 200$); C: 炎症较重的UC患者肠黏膜($\times 200$).

愈严重, 则MIF的产生愈多, 血清MIF水平愈高.

Ohkawara *et al*^[15]的研究显示MIF在大鼠结肠的上皮细胞及炎症细胞均有表达, 正常条件下的大鼠结肠黏膜上皮细胞的MIF表达较弱, 在硫酸葡聚糖钠(DDS)诱导的结肠炎中MIF表达则明显增强. 本研究显示正常对照组肠黏膜有MIF弱表达, 主要位于黏膜表面的上皮细胞, 结肠炎

■创新盘点

本研究首次在国内从临床角度探讨了MIF在人类IBD发病中作用.

■同行评价

本文从临床角度阐明MIF在溃疡性结肠炎发病中的作用,有一定的学术意义和临床参考价值.

时上皮细胞和炎症细胞均有MIF表达,炎症程度越重, MIF表达愈强、愈广泛, 黏膜表面的上皮细胞、固有层的腺体及炎症细胞均表达, 本研究结果与Ohkawara *et al*的动物实验研究结果基本一致, 但是与Murakami *et al*^[6]研究结果有差别: Murakami *et al*认为MIF主要在炎症细胞表达, 而实质细胞(parenchymal cell)不表达, MIF表达的结果主要根据炎症细胞的数目.

本组资料显示UC患者的血清MIF水平高于CD及其他结肠炎患者的血清MIF水平, hs-CRP阳性UC患者的MIF水平高于hs-CRP阴性UC患者的MIF水平; UC患者的肠黏膜MIF表达率为100%、染色明显增强, 与CD、其他结肠炎患者及正常对照者比较具有显著差异($P<0.01$), 提示MIF参与UC的发病过程, 可能是UC活动的指标, 控制MIF的产生可能达到治疗UC的效果, MIF可作为临床上判断疾病活动程度和观察疗效的灵敏指标. CD患者的血清MIF水平与其他结肠炎患者比较无显著差别, hs-CRP阳性CD患者的血清MIF水平无显著升高, CD患者肠黏膜的MIF表达与其他结肠炎患者及正常对照者的MIF表达也无显著差别, 提示MIF可能不是CD发病的主要因素.

4 参考文献

- 1 Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology* 1998; 115: 182-205
- 2 Calandra T, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a glucocorticoid counter-regulator within the immune system. *Crit Rev Immunol* 1997; 17: 77-88
- 3 Yamaguchi E, Nishihira J, Shimizu T, Takahashi T, Kitashiro N, Hizawa N, Kamishima K, Kawakami Y. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) in bronchial asthma. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1244-1249
- 4 张启芳, 梁志海, 唐国都, 邓德海, 覃锦耀, 邱小芬. 巨噬细胞移动抑制因子在急性坏死性胰腺炎发病中的作用. *胰腺病学* 2006; 6: 326-329
- 5 Ohkawara T, Miyashita K, Nishihira J, Mitsuyama K, Takeda H, Kato M, Kondo N, Yamasaki Y, Sata M, Yoshiki T, Sugiyama T, Asaka M. Transgenic over-expression of macrophage migration inhibitory factor renders mice markedly more susceptible to experimental colitis. *Clin Exp Immunol* 2005; 140: 241-248
- 6 Murakami H, Akbar SM, Matsui H, Onji M. Macrophage migration inhibitory factor in the sera and at the colonic mucosa in patients with ulcerative colitis: clinical implications and pathogenic significance. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 337-343
- 7 Griga T, Wilkens C, Wirkus N, Epplen J, Schmiegell W, Klein W. A polymorphism in the macrophage migration inhibitory factor gene is involved in the genetic predisposition of Crohn's disease and associated with cumulative steroid doses. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 784-786
- 8 欧阳钦, 胡品津, 钱家鸣, 郑家驹, 胡仁伟. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 488-495
- 9 Castellà E, Ariza A, Fernández-Vasalo A, Roca X, Ojanguren I. Expression of CD44H and CD44v3 in normal oesophagus, Barrett mucosa and oesophageal carcinoma. *J Clin Pathol* 1996; 49: 489-492
- 10 Bacher M, Metz CN, Calandra T, Mayer K, Chesney J, Lohoff M, Gemsa D, Donnelly T, Bucala R. An essential regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in T-cell activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 7849-7854
- 11 Bernhagen J, Bacher M, Calandra T, Metz CN, Doty SB, Donnelly T, Bucala R. An essential role for macrophage migration inhibitory factor in the tuberculin delayed-type hypersensitivity reaction. *J Exp Med* 1996; 183: 277-282
- 12 Gambino R. C-reactive protein--undervalued, underutilized. *Clin Chem* 1997; 43: 2017-2018
- 13 Dunker MS, Ten Hove T, Bemelman WA, Slors JF, Gouma DJ, Van Deventer SJ. Interleukin-6, C-reactive protein, and expression of human leukocyte antigen-DR on peripheral blood mononuclear cells in patients after laparoscopic vs. conventional bowel resection: a randomized study. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 1238-1244
- 14 Cabrera-Abreu JC, Davies P, Matek Z, Murphy MS. Performance of blood tests in diagnosis of inflammatory bowel disease in a specialist clinic. *Arch Dis Child* 2004; 89: 69-71
- 15 Ohkawara T, Takeda H, Nishihira J, Miyashita K, Nihiwaki M, Ishiguro Y, Takeda K, Akira S, Iwanaga T, Sugiyama T, Asaka M. Macrophage migration inhibitory factor contributes to the development of acute dextran sulphate sodium-induced colitis in Toll-like receptor 4 knockout mice. *Clin Exp Immunol* 2005; 141: 412-421

编辑 李军亮 电编 何基才