

脑脊液细胞因子水平对临床孤立综合征患者复发及转归为多发性硬化的预测价值

魏玉楨 苒浩晓 杜利 李昕頓 刘翕然 徐芸 尹琳琳 张星虎

100070 首都医科大学附属北京天坛医院神经病学中心神经感染与免疫科 国家神经系统疾病临床医学研究中心

通信作者: 张星虎, Email: xhzhtiantan@hotmail.com; 尹琳琳, Email: yinlinlin@bjtth.org

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2020.08.008

【摘要】目的 探讨临床孤立综合征(CIS)患者急性期脑脊液白细胞介素6(IL-6)等10种细胞因子水平对疾病复发和转归为多发性硬化(MS)的预测价值。**方法** 回顾性连续纳入2015年1月至2017年8月在首都医科大学附属北京天坛医院住院的急性期CIS患者33例,其中男9例,女24例,中位入组年龄35岁。使用Luminex液相芯片法检测脑脊液细胞因子白介素(IL)-6、IL-4、IL-2、IL-10、IL-13、IL-17A、IL-21、IL-23、干扰素 γ (IFN- γ)水平;使用酶联免疫吸附测定法检测转化生长因子 β 1(TGF- β 1)水平。对患者进行门诊随访,记录其复发、转归为MS的情况。比较复发及未复发者脑脊液细胞因子的差异。采用受试者工作特征(ROC)曲线及Cox回归模型分析脑脊液细胞因子对CIS患者复发及转归为MS的预测价值。**结果** 入组患者随访时间为10.7~39.9个月,中位随访时间23.4(17.6,29.1)个月。11例(33.3%)患者在随访期出现临床复发,其中4例诊断为MS。另有2例患者虽然未出现临床复发,但随访MR发现新发病灶最终诊断为MS。复发的CIS患者首次发病时脑脊液IL-6水平显著高于未复发的CIS患者[1.9(1.4,7.9)ng/L比1.1(0.9,1.5)ng/L; $Z=-2.904$, $P=0.003$]。ROC曲线分析显示,IL-6在判断复发时最佳临界值为1.37 ng/L。单因素Cox回归结果显示,脑脊液IL-6 >1.37 ng/L不能预测CIS复发($HR=1.54$,95% CI :0.40~5.92, $P=0.533$)。转归为MS和未转归为MS的CIS患者首次发病急性期脑脊液IL-6等10种细胞因子水差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。**结论** 本研究所观察的脑脊液IL-6等10种细胞因子可能不是预测CIS患者复发或转归为MS的标志物。

【关键词】 临床孤立综合征; 复发; 多发性硬化; 转归; 细胞因子

基金项目: 北京市卫生系统高层次人才(学科骨干)(2014-3-052);北京市自然科学基金面上项目(7162208)

Predictive value of levels of cerebrospinal fluid cytokines on relapse and conversion to multiple sclerosis of patients with clinical isolated syndrome

Wei Yuzhen, Chang Haoxiao, Du Li, Li Xindi, Liu Xiran, Xu Yun, Yin Linlin, Zhang Xinghu

Department of Neurology, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, National Clinical Research Center for Neurological Diseases, Beijing 100070, China

Corresponding authors: Zhang Xinghu, Email: xhzhtiantan@hotmail.com; Yin Linlin, Email: yinlinlin@bjtth.org

【Abstract】Objective To investigate the predictive value of levels of ten cerebrospinal fluid (CSF) cytokines including interleukin-6 (IL-6) on relapse and conversion to multiple sclerosis (MS) of patients with clinical isolated syndrome (CIS). **Methods** A total of 33 patients with acute CIS admitted to Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University from January 2015 to August 2017 were retrospectively enrolled, including 9 males and 24 females, with a median age of 35 years old. The CSF levels of IL-6, IL-4, IL-2, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-21, IL-23, and interferon- γ (IFN- γ) were detected by Luminex liquid chip method. The level of transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The patients were followed up in outpatient service, and the relapse and conversion to MS were recorded. The difference of CSF cytokines between relapse and non relapse patients was compared. Receiver operating characteristic (ROC) curve and Cox regression models were used to analyze the predictive value of CSF cytokines on the the relapse and conversion to MS of CIS patients. **Results** The median follow-up time

of the enrolled patients was 23.4 (17.6, 29.1) months. 11 CIS cases (33.3%) had clinical relapse during the follow-up period, and 4 cases were diagnosed as MS. Although no clinical recurrence was found in other 2 patients, follow-up MR revealed new lesions, which were diagnosed as MS. The level of CSF IL-6 in patients with relapse was significantly higher than that in patients without relapse [1.9 (1.4, 7.9) ng/L vs. 1.1 (0.9, 1.5) ng/L; $Z=-2.904$, $P=0.003$]. ROC curve analysis showed that the optimal cut-off value of IL-6 was 1.37 ng/L. However, Uni-variate Cox regression showed that CSF IL-6 > 1.37 ng/L could not predict the relapse of CIS ($HR=1.54$, $95\%CI: 0.40-5.92$, $P=0.533$). There was no significant difference in CSF IL-6 and the other 9 cytokines between the patients with conversion to MS and those without conversion to MS (all $P > 0.05$).

Conclusions Ten cytokines such as IL-6 in CIF investigated in this study may not be markers for predicting the relapse or conversion to MS of CIS patients.

【Key words】 Clinical isolated syndrome; Relapse; Multiple sclerosis; Conversion; Cytokines

Fund programs: Beijing Health and Technical Personal of High-level Plan (2014-3-052); Beijing Natural Science Foundation (7162208)

临床孤立综合征(clinically isolated syndrome, CIS)是指首次发生的,伴有临床症状和中枢神经系统脱髓鞘事件的一组临床综合征,可急性或亚急性起病,临床症状持续时间至少24 h,伴或不伴病情恢复,无发热或感染^[1]。约1/3的CIS患者表现为单相病程,另外60%~70%的患者表现为多相病程,20年内出现2次或更多临床脱髓鞘事件,被诊断为临床确诊的多发性硬化(multiple sclerosis, MS)、视神经脊髓炎谱系疾病(neuromyelitis optica spectrum disorder, NMOSD)或其他中枢神经系统特发性炎症性脱髓鞘病(idiopathic inflammatory demyelinating diseases, IIDDs)^[2-4]。复发风险高的CIS患者应采取不同的治疗策略,给予更积极的治疗以预防再次发作。对CIS患者进行复发风险评估和转归预测,有助于对患者早期进行个体化治疗,最大限度减少复发、降低神经功能损害的程度,改善预后,并能避免不必要的治疗和药物不良反应,降低部分患者的临床花费。

既往研究多着眼于通过患者的一般临床情况和影像特征对CIS的复发和向MS的转归加以预测^[5-7],对于CIS发病早期生物标志物的预测价值缺乏相关报道。目前已知CIS和MS患者脑脊液细胞因子浓度不同^[8-10],而CIS患者脑脊液细胞因子浓度对疾病复发和转归为MS的预测作用仍缺乏相关研究。

因此,本研究旨在探索CIS患者首次发病急性期脑脊液细胞因子水平对其复发和转归为MS的预测作用。

一、对象与方法

1. 研究对象:前瞻性收集2015年1月至2017年8月因CIS在北京天坛医院神经感染与免疫科住院的CIS患者。CIS诊断根据2010年McDonald's诊断标准^[11]。入组标准:(1)年龄15~70岁;(2)首次发病急性期(症状开始2周内);(3)未使用免疫治疗,包括激素、丙种球蛋白、免疫抑制剂、疾病修正治疗、

血浆置换等。排除标准:(1)合并感染及其他自身免疫性疾病;(2)合并严重心、肺、肝、肾功能受损等其他严重疾病;(3)妊娠期及哺乳期妇女;(4)无法完成腰椎穿刺或MRI检查者。

本研究方案经首都医科大学附属北京天坛医院伦理委员会批准(伦理号:KY2015-031-02),受试者或家属或监护人均签署书面知情同意书。

2. 一般资料收集:入组时收集患者性别、年龄、发病时间、发病过程及治疗情况、扩展残疾状况评分量表(expanded disability status scale, EDSS)^[12]、血清水通道蛋白4(aquaporin-4, AQP4)抗体(细胞间接免疫荧光法)、脑脊液检查(白细胞计数、蛋白含量、IgG指数、寡克隆区带)以及影像学检查(头部、脊髓MRI病灶部位、数量、强化情况、脊髓病灶长度等)。

3. 脑脊液标本的收集与保存:CIS患者出现症状2周内,使用激素或丙种球蛋白或免疫抑制剂治疗前采集脑脊液标本。所有脑脊液样本(非腰椎穿刺第1管)由无菌聚苯乙烯管收集,室温下1600 r/min离心15 min(离心半径10 cm)后取上清液分装在0.4 ml聚苯乙烯管中,储存在-80℃冰箱中。样本收集当天冻存。

4. 脑脊液细胞因子检测:采用Luminex液相芯片法(MILLIPEX公司map human High Sensitivity Cytokine/Chemokine Panels Cat. Nos. HCYTOMAG-60K, HCYP2M AG-62K)检测脑脊液白细胞介素2(IL-2)、IL-4、IL-6、IL-10、IL-13、IL-17A、IL-21、IL-23、干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)水平;采用酶联免疫吸附测定法(NeoBioscience公司EHC107b.96)检测转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)水平。具体操作步骤按试剂盒说明书进行。所有样品一式两份进行测定,取均值。对检测者设盲。

5. 治疗与随访:CIS患者均给予大剂量甲基泼尼松龙500 mg(5 d)→250 mg(3 d)→120 mg(3 d),后

改为口服强的松 60 mg, 每周减 10 mg, 直至停药。除急性期激素治疗外, 随访期未给予其他免疫治疗。入组患者每 3 ~ 6 个月进行 1 次门诊随访, 当病情需要时(如出现新发症状或原有症状加重)进行不定期随访。随访内容包括 EDSS 评分、原有症状恢复情况、是否出现新发症状、药物使用情况。当怀疑有临床复发时复查头部或脊髓 MRI 平扫+增强。由两位高年资神经内科医师共同判断患者是否出现临床复发^[11]以及是否确诊为 NMOSD^[13]或 MS^[11]。

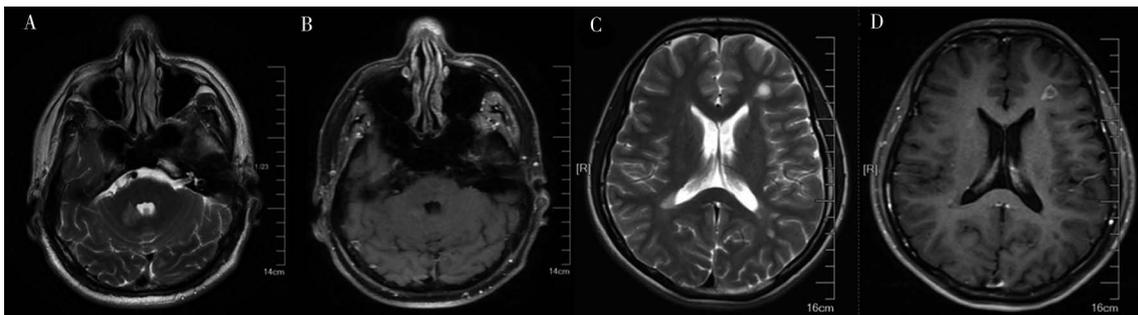
6. 统计学方法: 采用 SPSS 22.0 统计软件。非正态分布的计量资料以中位数和上、下四分位数 [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 两组间比较采用 Mann-Whitney 秩和检验; 计数资料以例数(%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC) 曲线确定脑脊液细胞因子的最佳临界点。使用 Cox 比例风险回归模型进行单因素分析判定细胞因子及临床特征与复发和转归为 MS 的关联。对单因素分析时 $P \leq 0.20$ 的因素使用逐步回归法进行多因素分析, 计算风险比(hazard ratio, HR)。与患者失访有关的资料, 以最后一次随访时间作为终点。双侧检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

二、结果

1. 随访信息: 共 33 例 CIS 患者纳入本次研究。中位入组年龄 35.0(30.0, 50.5) 岁。首次发病时所有患者血清 AQP4 抗体均为阴性。所有患者采集脑脊液标本后均给予激素冲击及递减治疗, 随访期内或复发前未应用免疫抑制剂及疾病修正治疗。患者随访时间 10.7 ~ 39.9 个月, 中位随访时间 23.4(17.6, 29.1) 个月。30 例(90.9%) 的患者随访时间超过 1 年, 16 例(48.5%) 的患者随访时间超过 2 年。3 例患者(2 男, 1 女) 分别在随访 17.9、19.1、21.1 个月后失访, 随访期间未出现临床复发。

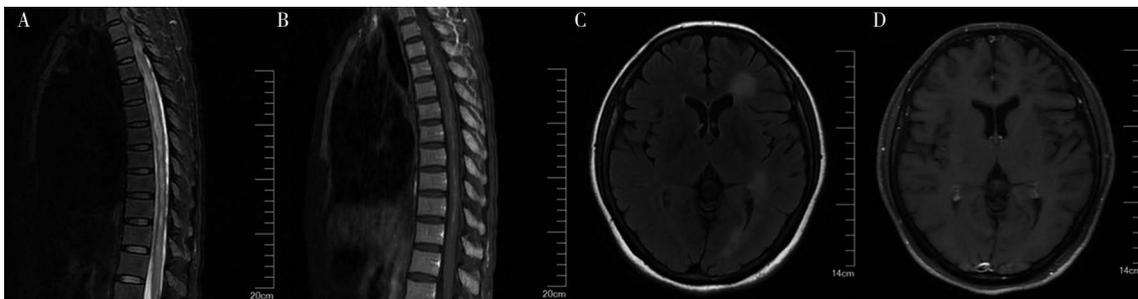
33 例患者中, 11 例(33.3%) 在随访期出现临床复发, 中位复发时间距首次发时间 9.7(5.5, 23.0) 个月, 其中 4 例诊断为 MS, 6 例诊断为 NMOSD(1 例复发时血清 AQP4 抗体阳性), 1 例诊断为复发性脑干脑炎。2 例患者未出现临床复发, 但随访 MRI 发现新发病灶, 最终诊断为 MS。见图 1, 图 2。

2. 复发与未复发 CIS 患者临床特征比较: 随访期内复发及未复发患者的临床特征见表 1。复发患者首次发病急性期 EDSS 评分显著高于未复发患者($P=0.006$)。其余临床特征差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。



注: A 示右侧小脑半球 T2 斑片状高信号; B 增强扫描示病灶轻度强化; C、D 随访 8.1 个月后, 患者复查头部 MRI, 示双侧脑室旁、放射冠多发 T2 加权成像高信号(C), 增强部分病灶强化(D)

图 1 16 岁女性临床孤立综合征患者首次发病及随访 MRI



注: A 首次发病胸部 MRI, 示胸 1 ~ 12 脊髓 T2 高信号; B 增强扫描, 示散在斑片状强化; C、D 11.1 个月后随访, 头部 MRI 见左侧侧脑室旁 FLAIR 高信号(C), 增强未见强化(D)

图 2 47 岁女性视神经脊髓炎谱系疾病患者首次发病及随访 MRI

表1 复发与未复发临床孤立综合征患者临床特征比较

临床特征	复发组(n=11)	未复发组(n=22)	Z值	P值
女性(例)	8	16	-	1.000
年龄[岁, M(P ₂₅ , P ₇₅)]	47.0(24.0, 51.0)	34.5(30.0, 48.8)	-0.249	0.804
病灶位置(例)				
单部位	6	13	-	1.000
多部位	5	9		
首发部位(例)				
视神经	2	5	-	1.000
脊髓	8	13	-	0.703
大脑	4	6	-	0.696
脑干	3	8	-	0.709
脑脊液				
白细胞计数[×10 ⁶ /L, M(P ₂₅ , P ₇₅)]	8.0(2.0, 15.0)	3.0(2.0, 8.5)	-1.250	0.211
蛋白含量[mg/L, M(P ₂₅ , P ₇₅)]	328.0(237.7, 603.9)	278.0(202.1, 375.7)	-1.031	0.302
IgG指数[M(P ₂₅ , P ₇₅)]	0.6(0.5, 0.6)	0.5(0.5, 0.6)	-0.918	0.359
寡克隆带阳性(例)	6	10	-	0.721
EDSS[分, M(P ₂₅ , P ₇₅)]	5.0(4.0, 7.0)	3.0(2.0, 4.5)	-2.743	0.006

注: EDSS 扩展残疾状况评分量表; - 采用 Fisher 确切概率法

3. 复发与未复发 CIS 患者脑脊液细胞因子水平比较: 复发组 CIS 患者首次发病时脑脊液 IL-6 水平显著高于未复发的 CIS 患者(P=0.003; 表2)。复发组与未复发组脑脊液 IL-2、IL-4、IL-10、IL-13、IL-17A、IL-21、IL-23、IFN-γ、TGF-β 1 水平差异均无统计学意义(均 P > 0.05)。

表2 复发和未复发临床孤立综合征患者首次发病时脑脊液细胞因子水平比较[M(P₂₅, P₇₅)]

细胞因子	复发组(n=11)	未复发组(n=22)	Z值	P值
IL-21(ng/L)	4.7(4.0, 6.0)	3.9(2.5, 4.9)	-1.891	0.058
IL-23(ng/L)	20.2(19.3, 31.3)	20.0(17.6, 28.2)	-1.137	0.264
IFN-γ(ng/L)	0.5(0.5, 0.6)	0.5(0.4, 0.5)	-1.937	0.058
IL-10(ng/L)	3.4(2.5, 3.6)	2.2(1.7, 3.3)	-1.739	0.082
IL-13(ng/L)	0.7(0.6, 0.8)	0.7(0.6, 0.8)	-0.463	0.665
IL-17A(ng/L)	0.7(0.7, 0.9)	0.7(0.7, 0.8)	-0.886	0.396
IL-2(ng/L)	0.5(0.5, 0.6)	0.7(0.5, 0.7)	-1.817	0.069
IL-4(ng/L)	1.5(1.5, 1.5)	1.5(1.2, 1.6)	-0.219	0.836
IL-6(ng/L)	1.9(1.4, 7.9)	1.1(0.9, 1.5)	-2.904	0.003
TGF-β 1(μg/L)	102.8(53.8, 149.3)	73.8(36.6, 107.6)	-1.337	0.191

注: IL 白细胞介素; IFN 干扰素; TGF-β 转化生长因子 β

4. ROC 曲线分析: ROC 曲线分析结果显示, IL-6 在判断复发时的最佳临界点(cut off 值)为 1.37 ng/L, 其预测复发的敏感度为 0.818, 特异度为 0.727。脑脊液 IL-6 水平判断复发的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.81(95%CI: 0.66 ~ 0.97, P=0.004)。见图 3。

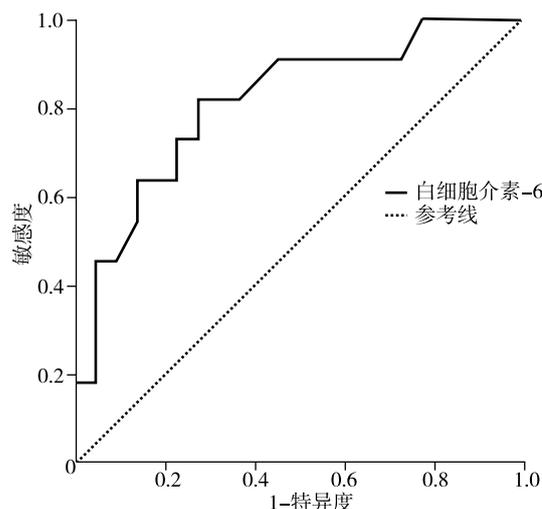


图3 临床孤立综合征患者脑脊液白细胞介素-6水平预测复发的受试者工作特征曲线

5. 影响 CIS 复发的 Cox 回归分析: 单因素分析显示, 首次发病急性期 EDSS 评分与复发相关, 脑脊液 IL-6 > 1.37 ng/L 不是 CIS 患者复发的预测因素。多因素分析结果显示, 基线 MRI 存在钆增强病灶、脑和脊髓 MRI T2 病灶数、首次发病急性期 EDSS 评分为复发风险的预测因子。见表 3。

6. 转归 MS 和未转归 MS 的 CIS 患者临床特征及急性期脑脊液细胞因子水平比较: 6 例转归为 MS 的 CIS 患者及 27 例未转归为 MS 的患者的临床特征及脑脊液细胞因子水平差异均无统计学意义(均 P > 0.05), 见表 4、5。

表3 预测临床孤立综合征患者复发的单因素和多因素Cox回归分析结果

因素	单因素分析					多因素分析				
	B值	标准误	Wald χ^2 值	HR(95%CI)	P值	B值	标准误	Wald χ^2 值	HR(95%CI)	P值
性别	-0.16	0.69	0.06	0.85(0.22 ~ 3.31)	0.814	-	-	-	-	-
年龄	<0.01	0.03	<0.01	0.98(0.95 ~ 1.05)	0.979	-	-	-	-	-
脑脊液IL-6 > 1.37 ng/L	0.43	0.69	0.39	1.54(0.40 ~ 5.92)	0.533	-	-	-	-	-
脑脊液OB阳性	-0.18	0.61	0.08	0.84(0.25 ~ 2.78)	0.774	-	-	-	-	-
强化病灶有无	1.74	1.07	2.65	5.71(0.70 ~ 46.55)	0.104	2.54	1.25	4.12	12.66(1.09 ~ 146.94)	0.042
MRI T2 病灶	0.10	0.06	2.26	1.10(0.97 ~ 1.24)	0.133	0.14	0.06	5.34	1.15(1.02 ~ 1.29)	0.021
入院EDSS	0.32	0.16	4.34	1.38(1.02 ~ 1.87)	0.037	0.54	0.22	6.40	1.72(1.13 ~ 2.62)	0.011

注: HR 风险比; IL-6 白细胞介素6; OB 寡克隆区带; EDSS 扩展残疾状况评分量表; - 无数据

表4 转归MS和未转归MS的临床孤立综合征临床特征比较

临床特征	转归MS组(n=6)	未转归MS组(n=27)	Z值	P值
女性(例)	4	20	-	1.000
年龄[岁, $M(P_{25}, P_{75})$]	37.0(17.3, 52.5)	34.0(30.0, 50.0)	-0.164	0.870
病灶位置(例)				
单部位	2	17		
多部位	4	10	-	0.363
首发部位(例)				
视神经	2	5	-	0.584
脊髓	3	18	-	0.643
大脑	4	6	-	0.053
脑干	1	10	-	0.637
脑脊液				
白细胞计数[$\times 10^6/L, M(P_{25}, P_{75})$]	5.5(1.8, 13.5)	4.0(2.0, 13.0)	-0.024	0.981
蛋白含量[mg/L, $M(P_{25}, P_{75})$]	251.5(94.8, 485.6)	300.8(222.9, 436.0)	-0.934	0.351
IgG指数[$M(P_{25}, P_{75})$]	0.6(0.5, 0.7)	0.5(0.5, 0.6)	-0.374	0.708
寡克隆带阳性(例)	4	12	-	0.398
EDSS[分, $M(P_{25}, P_{75})$]	3.0(2.0, 4.6)	4.0(3.0, 5.5)	-1.204	0.229

注: MS 多发性硬化; EDSS 扩展残疾状况评分量表; - 采用 Fisher 确切概率法

表5 转归MS和未转归MS的临床孤立综合征患者脑脊液细胞因子水平比较[$M(P_{25}, P_{75})$]

细胞因子	转归MS组(n=6)	未转归MS组(n=27)	Z值	P值
IL-21(ng/L)	4.7(3.7, 5.0)	4.1(2.9, 5.4)	-0.490	0.624
IL-23(ng/L)	21.4(19.6, 27.5)	20.0(17.6, 28.2)	-0.636	0.525
IFN- γ (ng/L)	0.5(0.4, 0.6)	0.5(0.4, 0.5)	-0.947	0.344
IL-10(ng/L)	3.5(3.0, 3.6)	2.4(1.9, 3.4)	-1.775	0.076
IL-13(ng/L)	0.7(0.5, 0.8)	0.7(0.6, 0.7)	-0.236	0.814
IL-17A(ng/L)	0.7(0.7, 0.8)	0.7(0.7, 0.8)	-0.659	0.510
IL-2(ng/L)	0.6(0.4, 0.7)	0.6(0.5, 0.7)	-0.842	0.400
IL-4(ng/L)	1.5(1.5, 1.5)	1.5(1.2, 1.5)	-0.851	0.395
IL-6(ng/L)	1.2(0.9, 1.7)	1.2(1.0, 2.1)	-0.934	0.350
TGF- β 1(μ g/L)	80.8(65.6, 105.1)	77.5(40.3, 120.2)	-0.187	0.852

注: MS 多发性硬化; IL 白细胞介素; IFN 干扰素; TGF- β 转化生长因子 β

讨论 60% ~ 70%的CIS患者在20年内会再发临床脱髓鞘事件, 85%的MS患者以CIS的形式起病^[2, 4]。笔者所在课题组前期研究中探讨了CIS患者急性期

使用免疫治疗前血清细胞因子水平对临床复发的预测价值, 结果显示, 血清IL-10水平降低是CIS患者出现二次临床脱髓鞘事件的预测因子^[14]。本研究进一步探讨了脑脊液细胞因子对CIS患者复发和向MS转归的预测价值, 但未发现所观察脑脊液细胞因子对CIS复发和向MS转归有预测作用。

CIS的诊断常提示患者日后转化为MS的可能^[2, 15]。相比MS, NMOSD的研究史相对较短。自1894年首次总结报道后的很长一段时间内, 视神经脊髓炎被认为是MS的一种变异型。直到2004年AQP4抗体发现, 学者们将视神经脊髓炎从MS中分离, 并提出NMOSD的概念^[16-17]。NMOSD和MS的临床特点与治疗存在诸多不同^[18-23], 故CIS患者的复发和转归问题有待于进一步阐明。本研究中, 33例CIS患者, 中位随访时间23.4个月, 11例(33.3%)出现复发, 转归为MS和NMOSD的患者均为6例(18.2%)。然而, 本研究样本量小, 随访时间较短, CIS转归为NMOSD和MS的比例问题还有待大样本长期随访的

研究进一步证实。

既往研究显示,多种细胞因子水平在MS患者中出现变化^[24-27]。细胞因子水平在CIS和MS各亚型中存在差异,可以作为鉴别CIS和MS各亚型的生物标志物^[8-10],而CIS患者脑脊液细胞因子水平对患者复发和转归为MS的预测作用目前尚无研究报告。在本研究中,复发的CIS患者脑脊液IL-6水平显著高于未复发的患者。IL-6是一种促炎细胞因子。IL-6水平的升高是更活跃的炎性反应的表现^[28],与脑脊液白细胞计数和组织损伤程度相关^[29]。在动物实验中,IL-6缺陷小鼠不能被诱导出实验性自身免疫性脑脊髓炎^[30];而IL-6受体抗体或IL-6传导通路阻滞可以减轻自身免疫性脑脊髓炎小鼠症状^[31]。不仅如此,仅中枢IL-6升高,而外周IL-6缺乏时依然可成功诱导自身免疫性脑脊髓炎模型^[32]。可见IL-6,尤其是中枢IL-6在疾病进展中的重要作用,故复发患者脑脊液IL-6水平更高。但本研究中IL-6水平并不能作为预测CIS复发的预测因子,这可能与部分CIS患者向MS转归有关。IL-6为辅助性T细胞(T helper cell, Th) 17相关细胞因子^[33-34],Th17细胞是一种高度致炎细胞,可以促进B细胞增殖并产生抗体从而诱发慢性炎性反应和自身免疫疾病^[35-37]。IL-6可以促进原始T细胞向Th17或细胞毒性T细胞分化,并能促进激活的B细胞合成免疫球蛋白^[28, 38-39]。在AQP4抗体阳性的NMOSD患者中,IL-6可以提高浆母细胞的存活率,并且促进AQP4抗体的生成^[40]。既往研究已显示,IL-6水平在NMOSD患者中显著升高^[33-34]。在本课题组的前期研究中,NMOSD首次发病时脑脊液IL-6水平已明显高于MS患者^[29]。与NMOSD不同,MS是细胞免疫为主的自身免疫性疾病,抗体的产生并非其发病的主要诱因。既往研究也显示,MS患者脑脊液IL-6水平并无显著升高^[27, 34],故对于整个CIS群体,脑脊液IL-6不能作为预测复发的标志物。此外,近期有研究报告,类风湿关节炎患者在使用抗IL-6治疗时出现MS,可见IL-6在MS中可能并非仅发挥促炎作用^[41],其在MS发生发展中的作用还有待进一步研究。

为探索脑脊液细胞因子对CIS患者转归为MS的预测价值,本研究比较了转归为MS和未转归为MS的CIS患者的部分脑脊液细胞因子水平,遗憾的是并未发现二者存在显著差异。这可能是由于本研究样本量较小,且随访时间较短,尚不能得出统计学差异,也可能是由于CIS发生后部分患者免疫状态的改变造成了病情的进展,而在CIS阶段复发者和未复发者之间并无显著不同。今后有待扩大样本量,延长随访时间,定期复查细胞因子的水平深入

阐释,从而进一步明确CIS患者脑脊液细胞因子水平及其改变对患者转归为MS的意义。

综上所述,本研究结果显示,复发的CIS患者脑脊液IL-6水平显著高于未复发的患者,本研究所检测脑脊液细胞因子水平可能不能作为预测CIS患者复发或转归为MS的生物标志物。但本研究也存在一定局限性,如样本量较少,且来自同一中心,随访时间较短等,本研究虽然排除了合并感染和其他自身免疫性疾病的患者,但亦可能造成入组偏倚;仅检测了首次发病时的脑脊液细胞因子水平,未对细胞因子水平进行多时间点跟踪复查,并未检测淋巴细胞亚型。故今后应进行多中心、大样本、延长随访时间的研究,同时纳入合并感染及其他自身免疫性疾病的患者进行分组讨论,检测淋巴细胞亚型,不仅关注首次发病期,还要考察复发期淋巴细胞亚型及细胞因子的变化情况。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 构思与设计为张星虎、尹琳琳、魏玉楨,研究准备、数据及标本收集为魏玉楨、杜利、李昕岷、刘翕然、徐芸,标本检测为裴浩晓,数据分析、绘制图表、论文撰写为魏玉楨,数据解释、论文修订为张星虎、尹琳琳

参 考 文 献

- [1] Miller DH, Weinshenker BG, Filippi M, et al. Differential diagnosis of suspected multiple sclerosis: a consensus approach [J]. *Mult Scler*, 2008, 14(9): 1157-1174. DOI: 10.1177/1352458508096878.
- [2] Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes [J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(2): 157-169. DOI: 10.1016/S1474-4422(11)70274-5.
- [3] Kakalacheva K, Munz C, Lunemann JD. Viral triggers of multiple sclerosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1812(2): 132-140. DOI: 10.1016/j.bbdis.2010.06.012.
- [4] Fisniku LK, Brex PA, Altmann DR, et al. Disability and T2 MRI lesions: a 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis [J]. *Brain*, 2008, 131(Pt 3): 808-817. DOI: 10.1093/brain/awm329.
- [5] Kuhle J, Disanto G, Dobson R, et al. Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: a large multicentre study [J]. *Mult Scler*, 2015, 21(8): 1013-1024. DOI: 10.1177/1352458514568827.
- [6] Borrás E, Canto E, Choi M, et al. Protein-based classifier to predict conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2016, 15(1): 318-328. DOI: 10.1074/mcp.M115.053256.
- [7] West T, Wyatt M, High A, et al. Are initial demyelinating event recovery and time to second event under differential control? [J]. *Neurology*, 2006, 67(5): 809-813. DOI: 10.1212/01.wnl.0000234031.30756.a0.
- [8] Tejera-Alhambra M, Casrouge A, De Andres C, et al. Plasma biomarkers discriminate clinical forms of multiple sclerosis [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128952. DOI: 10.1371/journal.pone.0128952.
- [9] Hagman S, Raunio M, Rossi M, et al. Disease-associated inflammatory biomarker profiles in blood in different subtypes of multiple sclerosis:

- prospective clinical and MRI follow-up study [J]. *J Neuroimmunol*, 2011, 234(1/2): 141-147. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2011.02.009.
- [10] Arellano G, Acuna E, Reyes LI, et al. Th1 and Th17 cells and associated cytokines discriminate among clinically isolated syndrome and multiple sclerosis phenotypes [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 753. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00753.
- [11] Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria [J]. *Ann Neurol*, 2011, 69(2): 292-302. DOI: 10.1002/ana.22366.
- [12] Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS) [J]. *Neurology*, 1983, 33(11): 1444-1452. DOI: 10.1212/wnl.33.11.1444.
- [13] Wingerchuk DM, Banwell B, Bennett JL, et al. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders [J]. *Neurology*, 2015, 85(2): 177-189. DOI: 10.1212/WNL.0000000000001729.
- [14] Wei Y, Chang H, Feng H, et al. Low Serum interleukin-10 is an independent predictive factor for the risk of second event in clinically isolated syndromes [J]. *Front Neurol*, 2019, 10: 604. DOI: 10.3389/fneur.2019.00604.
- [15] Scalfari A, Neuhaus A, Degenhardt A, et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study 10: relapses and long-term disability [J]. *Brain*, 2010, 133(Pt 7): 1914-1929. DOI: 10.1093/brain/awq118.
- [16] Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, et al. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel [J]. *J Exp Med*, 2005, 202(4): 473-477. DOI: 10.1084/jem.20050304.
- [17] Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis [J]. *Lancet*, 2004, 364(9451): 2106-2112. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)17551-X.
- [18] Torres J, Pruitt A, Balcer L, et al. Analysis of the treatment of neuromyelitis optica [J]. *J Neurol Sci*, 2015, 351(1/2): 31-35. DOI: 10.1016/j.jns.2015.02.012.
- [19] Min JH, Kim BJ, Lee KH. Development of extensive brain lesions following fingolimod (FTY720) treatment in a patient with neuromyelitis optica spectrum disorder [J]. *Mult Scler*, 2012, 18(1): 113-115. DOI: 10.1177/1352458511431973.
- [20] Kleiter I, Hellwig K, Berthele A, et al. Failure of natalizumab to prevent relapses in neuromyelitis optica [J]. *Arch Neurol*, 2012, 69(2): 239-245. DOI: 10.1001/archneurol.2011.216.
- [21] Uzawa A, Mori M, Hayakawa S, et al. Different responses to interferon beta-1b treatment in patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis [J]. *Eur J Neurol*, 2010, 17(5): 672-676. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2009.02897.x.
- [22] Yamout B, Sahraian M, Bohlega S, et al. Consensus recommendations for the diagnosis and treatment of multiple sclerosis: 2019 revisions to the MENACTRIMS guidelines [J]. *Mult Scler Relat Disord*, 2020, 37: 101459. DOI: 10.1016/j.msard.2019.101459.
- [23] Sahraian MA, Moghadasi AN, Azimi AR, et al. Diagnosis and management of Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder (NMOSD) in Iran: a consensus guideline and recommendations [J]. *Mult Scler Relat Disord*, 2017, 18: 144-151. DOI: 10.1016/j.msard.2017.09.015.
- [24] Gobel K, Ruck T, Meuth SG. Cytokine signaling in multiple sclerosis: Lost in translation [J]. *Mult Scler*, 2018, 24(4): 432-439. DOI: 10.1177/1352458518763094.
- [25] Palle P, Monaghan KL, Milne SM, et al. Cytokine signaling in multiple sclerosis and its therapeutic applications [J]. *Med Sci (Basel)*, 2017, 5(4): DOI: 10.3390/medsci5040023.
- [26] Li R, Rezk A, Healy LM, et al. Cytokine-defined B cell responses as therapeutic targets in multiple sclerosis [J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 626. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00626.
- [27] Bonin S, Zanotta N, Sartori A, et al. Cerebrospinal fluid cytokine expression profile in multiple sclerosis and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy [J]. *Immunol Invest*, 2018, 47(2): 135-145. DOI: 10.1080/08820139.2017.1405978.
- [28] Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine-40 years in immunology [J]. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23: 1-21. DOI: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115806.
- [29] Wei YZ, Chang HX, Li XD, et al. Cytokines and tissue damage biomarkers in first-onset neuromyelitis optica spectrum disorders: significance of interleukin-6 [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2018, 25(4): 215-224. DOI: 10.1159/000494976.
- [30] Kleiter I, Azyzenberg I, Araki M, et al. Tocilizumab, MS, and NMOSD [J]. *Mult Scler*, 2016, 22(14): 1891-1892. DOI: 10.1177/1352458516643395.
- [31] Rothaug M, Becker-Paully C, Rose-John S. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(6 Pt A): 1218-1227. DOI: 10.1016/j.bbamer.2016.03.018.
- [32] Giralt M, Ramos R, Quintana A, et al. Induction of atypical EAE mediated by transgenic production of IL-6 in astrocytes in the absence of systemic IL-6 [J]. *Glia*, 2013, 61(4): 587-600. DOI: 10.1002/glia.22457.
- [33] Chang KH, Ro LS, Lyu RK, et al. Biomarkers for neuromyelitis optica [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 440: 64-71. DOI: 10.1016/j.cca.2014.11.004.
- [34] Melamed E, Levy M, Waters PJ, et al. Update on biomarkers in neuromyelitis optica [J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2015, 2(4): e134. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000134.
- [35] Korn T, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-17 and Th17 Cells [J]. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 485-517. DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132710.
- [36] Mitsdoerffer M, Lee Y, Jager A, et al. Proinflammatory T helper type 17 cells are effective B-cell helpers [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(32): 14292-14297. DOI: 10.1073/pnas.1009234107.
- [37] Moser T, Akgun K, Proschmann U, et al. The role of TH17 cells in multiple sclerosis: therapeutic implications [J]. *Autoimmun Rev*, 2020, 19(10): 102647. DOI: 10.1016/j.autrev.2020.102647.
- [38] Uzawa A, Mori M, Kuwabara S. Cytokines and chemokines in neuromyelitis optica: pathogenetic and therapeutic implications [J]. *Brain Pathol*, 2014, 24(1): 67-73. DOI: 10.1111/bpa.12097.
- [39] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells [J]. *Nature*, 2006, 441(7090): 235-238. DOI: 10.1038/nature04753.
- [40] Chihara N, Aranami T, Sato W, et al. Interleukin 6 signaling promotes anti-aquaporin 4 autoantibody production from plasmablasts in neuromyelitis optica [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(9): 3701-3706. DOI: 10.1073/pnas.1017385108.
- [41] Beauchemin P, Carruthers R. MS arising during tocilizumab therapy for rheumatoid arthritis [J]. *Mult Scler*, 2016, 22(2): 254-256. DOI: 10.1177/1352458515623862.

(收稿日期: 2020-07-13)

(本文编辑: 赵金鑫)