

# 原发性舍格伦综合征患者外周血 Th22 细胞水平的变化及其临床意义\*

俞静<sup>1</sup>, 朱群英<sup>1</sup>, 陈燕<sup>2</sup>

(1. 上海市第六人民医院南院奉贤区中心医院检验科, 上海 201499;

2. 第二军医大学长海医院实验诊断科, 上海 200433)

**摘要:**目的 检测原发性舍格伦综合征(pSS)患者外周血辅助性T细胞22(Th22)水平,探讨其临床意义。方法 选取2014年1月~2015年11月期间收治的37例pSS患者为研究对象,归为观察组,并按照1:1的比例选取同期来上海市第六人民医院南院奉贤区中心医院体检的37例健康人为对照组。采用流式细胞术检测所有受试者外周血中Th22细胞水平,酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆IL-22蛋白水平。采用Pearson分析观察组中外周血中Th22细胞水平与血浆IL-22蛋白水平、C3、C4、抗SSA抗体、抗SSB抗体、抗ANA抗体、欧洲风湿病联盟制定的SS病情评估指数(ESSDAI)之间的关系,并比较不同唇腺病理分级患者的Th22细胞水平与血浆IL-22蛋白水平。结果 观察组的Th22细胞水平与血浆IL-22水平分别为 $(2.53 \pm 1.56)\%$ 、 $718.6 \pm 176.8$  pg/ml,显著高于对照组 $(1.24 \pm 0.51)\%$ 、 $258.9 \pm 72.4$  pg/ml,差异有统计学意义( $t=4.781, P<0.001$ ;  $t=14.636, P<0.001$ )。观察组患者的Th22细胞水平与血浆IL-22水平、抗SSA抗体、抗SSB抗体、ESSDAI总分等呈显著正相关,与C3、C4含量呈显著负相关( $P<0.05$ )。观察组中不同病理分级患者的Th22细胞水平、血浆IL-22水平比较,差异无统计学意义( $F=1.124, P=0.354>0.05$ ;  $F=1.332, P=0.281>0.05$ )。结论 pSS患者外周血Th22细胞水平与血浆IL-22水平显著升高,且其与其他炎症指标与病情有关,可能参与了pSS的发生发展。

**关键词:**原发性舍格伦综合征;辅助性T细胞22;白介素-22;流式细胞术

**中图分类号:** R593.2; R392.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2016)05-069-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.05.018

## Change of Th22 Cells in Peripheral Blood of Patients with Primary Sjogren's Syndrome and Clinical Significance

YU Jing<sup>1</sup>, ZHU Qun-ying<sup>1</sup>, CHEN Yan<sup>2</sup> (1. Department of Clinical Laboratory,  
Fengxian District Central Hospital, Shanghai No. 6 People's Hospital, Shanghai 201499, China;  
2. Department of Laboratory Diagnosis, Changhai Hospital,  
the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the change of Th22 cells in peripheral blood of patients with Primary sjogren's syndrome (pSS) and evaluate clinical significance. **Methods** 37 patients with pSS from January 2014 to November 2015 were enrolled the study as the observation group. Then 37 healthy adults receiving check-up during the same period were selected as control groups in accordance with the proportion of 1:1. Flow cytometry was performed to evaluate the levels of Th22 cells in peripheral blood, and tenzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) was used to measure the serum IL-22 levels. Pearson analysis was performed to investigate the relationship between Th22 level and serum IL-22 level, C3, C4, anti-SSA, anti-SSB, ANA antibody, EULAR Sjogren's syndrome disease activity index (ESSDAI) score in observation group. Then the levels of Th22 cells and serum IL-22 were compared among different labial gland pathologic stage in patients with pSS. **Results** The levels of Th22 cells and serum IL-22 in the observation group were  $(2.53 \pm 1.56)\%$ ,  $718.6 \pm 176.8$  pg/ml respectively, and significantly higher than  $(1.24 \pm 0.51)\%$ ,  $258.9 \pm 72.4$  pg/ml in control group ( $P<0.05$ ). Th22 cell level was positively related with the level of serum IL-22, anti-SSA, anti-SSB and ESSDAI score, and negatively related with the content of C3 and C4 ( $P<0.05$ ). There were no significant differences in the levels of Th22 cells and serum IL-22 different labial gland pathologic stage in patients with pSS ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The levels of Th22 cells and serum IL-22 significantly increased in patients with pSS, and related to other inflammatory indexes and disease activity, so they may participate in the genesis and development of pSS.

**Keywords:** primary sjogren's syndrome; Th22; interleukin-22; flow cytometry

\* 作者简介:俞静(1978-),女,大专,主管检验师,专业:生化,主要从事临床检验诊断学工作。

通讯作者:陈燕,女, Tel:021-31162075, E-mail:chenyan770628@163.com。

原发性舍格伦综合征(primary Sjögren's syndrome, pSS)是一类以泪腺、唾液腺等外分泌腺体的淋巴细胞浸润为特点的慢性自身免疫性疾病,好发于40~50岁的女性,临床上常表现为口干、干燥性角膜炎,也可累及甲状腺、肝、肾等多个器官,其具体发病机制尚不清楚,可能与CD4T<sup>+</sup>细胞亚群及其分泌的细胞因子有关。辅助性T细胞一直是临床疾病研究的重点<sup>[1,2]</sup>,其中辅助性T细胞22(Th22)是新近发现的CD4T<sup>+</sup>细胞功能亚群,主要分泌白介素22(IL-22),不产生IL-17, IFN- $\gamma$ ,在系统性红斑狼疮(SLE)<sup>[3]</sup>、类风湿性关节炎(RA)<sup>[4]</sup>、原发性胆汁性肝硬化<sup>[5]</sup>等多个自身免疫性疾病中表达上调,但国内尚未有研究探讨pSS患者的Th22的表达情况及其在发病机制中的作用。本研究采用流式细胞仪检测了pSS患者外周血中Th22的表达水平及其与相关指标的关系,初步了解其在pSS发病中的作用,为临床诊疗及相关机制的研究提供参考依据,现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2014年1月~2015年11月期间我院收治的37例pSS患者为研究对象,归为观察组,男性33例,女性4例,年龄18~75岁,平均年龄 $48.5 \pm 10.6$ 岁,病程11个月~9.5年,平均 $3.8 \pm 2.2$ 年。纳入标准:①符合2002年pSS的国际分类(诊断)标准<sup>[6]</sup>;②年龄 $\geq 18$ 岁;③临床资料完整可靠。排除标准:①并发SLE, RA, PBC等其他自身免疫性疾病;②并发病毒性肝炎、慢性鼻炎等其他炎症性疾病;③近1个月内曾患有感染性疾病。然后按照1:1的比例选取同期来我院体检的健康成人37例为对照组,配对者之间性别相同,年龄相差5岁。本研究符合伦理原则,已通过本院医学伦理委员会批准。采用欧洲风湿病联盟(EULAR)制定的SS病情评估指数(ESSDAI)标准<sup>[7]</sup>评估所有pSS患者的病情活动状况,该评分包括全身症状、淋巴结、腺体、关节等12个方面共15个指标,理论最高分为123分,ESSDAI总分越高,提示其病情越重。然后对所有pSS患者进行唇腺病理活检,根据经典标准<sup>[8]</sup>进行病理分级,分为I~IV级,级别越高提示唇腺病理变化越明显。

1.2 试剂和仪器 贝克曼库尔特公司提供的CytoFLEX流式细胞仪;上海蜜骏生物有限公司提供的人IL-22酶联免疫试剂盒;美国Beckman Array360特种蛋白仪及随机试剂。

## 1.3 方法

1.3.1 Th22细胞的检测:收集全部受试者的外周血,分离单个核细胞,加入50 ng/ml佛波醇酯、1  $\mu$ mol/L莫能霉素、1  $\mu$ g/ml离子霉素进行培养,5

h后收集细胞,用缓冲液清洗2次,加入抗人PE-CY7-CD4抗体,4℃孵育0.5 h,固定破膜后添加抗人PE-IL-22抗体、抗人FITC-IL-17抗体、抗人APC-IFN- $\gamma$ 抗体胞内染色,4℃孵育0.5 h,重悬后采用流式细胞仪检测,将外周血Th22细胞占CD4T<sup>+</sup>细胞的比例作为Th22的细胞水平。

1.3.2 血浆IL-22水平的测定:采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定受试者血浆IL-22的水平,具体步骤根据试剂盒说明书进行,显色后用酶标仪检测450nm波长的吸光度值,根据标准曲线确定IL-22的浓度。

1.3.3 C3, C4与自身免疫性抗体的检测:采用免疫散射比浊法测定观察组患者的外周血C3, C4含量,采用免疫印迹法测定抗SSA抗体、抗SSB抗体,采用免疫荧光法测定抗ANA抗体。

1.4 统计学分析 所有资料均采用SPSS18.0统计学软件进行统计分析,定量资料若呈正态分布以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组比较用 $t$ 检验,多组比较采用方差分析,然后进行两两比较;若呈偏态分布则用非参数检验。定性资料以 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验。采用Pearson法分析各指标之间的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组Th22细胞水平与血浆IL-22水平比较

结果表明,观察组的Th22细胞水平与血浆IL-22水平分别为 $(2.53 \pm 1.56)\%$ ,  $718.6 \pm 176.8$  pg/ml,显著高于对照组 $(1.24 \pm 0.51)\%$ ,  $258.9 \pm 72.4$  pg/ml,差异均有统计学意义( $t = 4.781$ ,  $P < 0.001$ ;  $t = 14.636$ ,  $P < 0.001$ )。

2.2 Pearson相关性分析 结果表明,观察组患者的Th22细胞水平与血浆IL-22水平、抗SSA抗体、抗SSB抗体、ESSDAI总分等呈显著正相关( $r$ 分别为0.402, 0.352, 0.338, 0.226, 0.373;  $P$ 值分别为0.014, 0.033, 0.041, 0.179, 0.023),与C3, C4含量呈显著负相关( $r$ 分别为-0.330, -0.341, 均 $P < 0.05$ )。

2.3 不同病理分级患者的Th22细胞水平及血浆IL-22水平比较 见表1。结果表明,观察组中不同病理分级患者的Th22细胞水平、血浆IL-22水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

3 讨论 2009年Duhon等与Eyerich等两个研究团队同时报道了一个能由TNF- $\alpha$ 与IL-6诱导的能分泌IL-22的新型效应性T细胞亚群,后来研究发现这个细胞亚群不产生IL-17, IL-4和IFN- $\gamma$ ,且不表达任何已知的转录因子<sup>[9]</sup>。由于其主要分泌IL-22,故将其命名为Th22细胞。以往认为IL-22是Th17类细胞因子,但自从Th22细胞亚群发

现以来,关于 Th22 细胞与自身免疫性疾病的关系 研究越来越多,学者也开始重新探讨原本归于

表 1 不同病理分级患者的 Th22 细胞水平及血浆 IL-22 水平比较

项 目	I 级(n=3)	II 级(n=8)	III 级(n=14)	IV 级(n=12)	F 值	P 值
Th22 细胞水平(%)	1.55±0.50	1.89±0.87	2.68±1.12	3.03±1.23	1.124	0.354
血浆 IL-22 水平(pg/ml)	581.3±120.0	637.0±125.6	720.0±151.7	805.7±181.3	1.332	0.281

Th17 细胞所导致的生理或病理改变的相关机制。彭桢平等<sup>[3]</sup>研究表明 PBC 患者的 Th22 细胞比例显著高于健康人群,肝硬化的 PBC 患者的比例更高,且 PBC 患者的 Th22 细胞比例与 ALT,AST,GGT,CRP 等多个血生化指标呈正相关,提示 Th22 细胞可能参与了 PBC 的发病机制,有可能成为下一个潜在的治疗靶点。扈煜<sup>[10]</sup>的研究表明原发性血小板减少性紫癜(ITP)患者的外周血中 Th2 细胞亚群百分比与血浆 IL-22 水平均显著高于正常对照组,且 Th22 与 Th1,Th17 细胞呈正相关,但其与外周血血小板计数无明显相关。但国内尚未见 pSS 患者中外周血 Th22 细胞水平的研究。

pSS 是一种侵犯泪腺、唾液腺为主要表现的自身免疫性疾病,除了引起口干、眼干外,还能累计肝、肾、甲状腺等多个系统,发病机制不清,主要依靠临床表现、唇腺病理活检及抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体等自身抗体检测来进行诊断,近年来,关于 pSS 与 Th 细胞的研究逐渐深入,发现 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群及其分泌的细胞因子在 pSS 的发生发展中可能起到重要作用。雷玲彦等<sup>[11]</sup>发现 pSS 患者唇腺组织中 CXCR5,IL-21 的表达水平显著增高,提示滤泡型辅助性 T 细胞(Tfh 细胞)可能参与了其发病,且 IL-21,CXCR5 的表达与唇腺组织中细胞凋亡数呈正相关,提示 Tfh 细胞可能与细胞凋亡的发生有关。王文军等<sup>[12]</sup>研究表明 pSS 患者的 Th17 细胞水平显著高于正常对照组,但其与 ANA 滴度、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、C3,C4 无显著相关性。本研究结果表明观察组的 Th22 细胞水平与血浆 IL-22 水平均显著高于对照组,且观察组患者的 Th22 细胞水平与血浆 IL-22 水平、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、ESSDAI 总分等呈显著正相关,与 C3,C4 含量呈显著负相关( $P<0.05$ ),提示 Th22 细胞通过分泌 IL-22 参与了 pSS 的发生和发展,虽然观察组中不同病理分级患者的 Th22 细胞水平、血浆 IL-22 水平比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但可能与本研究例数较少有关。IL-22 属于 IL-10 细胞因子家族,由 179 个氨基酸残基构成,其具有广泛的生物学活性,在自身免疫介导的组织损伤中起到关键作用。IL-22 与一个由 IL-22R1 和 IL-10R2 构成的二聚体结合成一个三元复

合物,以此激活 JAK/STAT 信号通路来表达不同的生物活性。此外,Notch 信号可通过刺激 AhR 来增强 Th22,Th17 等 CD4<sup>+</sup> T 细胞分泌 IL-22,增强其对炎症应答的免疫控制能力。本研究从临床方面证实了 Th22 这一新兴的 CD4<sup>+</sup> T 细胞与 pSS 的发生发展有关,但其具体作用机制仍远未明确,有待今后的研究进行深入探讨。

综上所述,pSS 患者外周血 Th22 细胞水平与血浆 IL-22 水平显著升高,且其与其他炎症指标与病情有关,可能参与了 pSS 的发生发展。

#### 参考文献:

- [1] 颌晓玲,胡兰文,张晓薇,等. 氟中毒患者机体 T 细胞亚群及 Th1/Th2 细胞因子的分析[J]. 现代检验医学杂志,2012,27(6):83-85.  
Xie XL, Hu LW, Zhang XW, et al. T lymphocytes and Th1/Th2 cytokine analyse in patients with endemic fluorosis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2012,27(6):83-85.
- [2] 赵俊桃,李勇军,王 娜,等. 强直性脊柱炎患者外周血 Th1,Th2 和 Th17 的表达研究[J]. 现代检验医学杂志,2013,28(4):43-45,47.  
Zhao JT, Li YJ, Wang N. Study of Th1/Th2/Th17 T helper cells in peripheral blood of patients with ankylosing spondylitis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013,28(4):43-45,47.
- [3] Yang XY, Wang HY, Zhao XY, et al. Th22, but not Th17 might be a good index to predict the tissue involvement of systemic lupus erythematosus[J]. J Clin Immunol, 2013,33(4):767-774.
- [4] Zhang L, Li JM, Liu XG, et al. Elevated Th22 cells correlated with Th17 cells in patients with rheumatoid arthritis[J]. J Clin Immunol, 2011,31(4):606-614.
- [5] 彭桢平,陈曲波,侯敬侠,等. 原发性胆汁性肝硬化患者外周血 Th22 细胞水平的变化及意义[J]. 实用医学杂志,2014,30(12):1987-1989.  
Peng AP, Chen QB, Hou JX, et al. Change of Th22 cells in peripheral blood of patients with primary biliary cirrhosis and clinical implication[J]. Journal of Practical Medicine, 2014,30(12):1987-1989.
- [6] 闫志敏,魏 攀,强 璐,等. 原发性干燥综合征国际分类标准中口腔诊断项目的临床评价[J]. 北京大学学报(医学版),2012,44(1):51-54.

- Yan ZM, Wei P, Qiang L, et al. Clinical assessment of oral diagnostic items in 2002 classification criteria for primary Sj(o)gren's syndrome[J]. Journal of Peking University(Health Sciences), 2012, 44(1): 51-54.
- [7] 徐东, 赵岩. 干燥综合征疾病活动及脏器损伤指数的研究进展[J]. 实用医院临床杂志, 2015, 12(5): 22-26.
- Xu D, Zhao Y. Disease activity index and damage index in Sjogren's syndrome[J]. Practical Journal of Clinical Medicine, 2015, 12(5): 22-26.
- [8] 陈晓磊, 杨继文, 葛俊亮, 等. 干燥综合征核素唾液腺动态显像结果与病理分级的相关性研究[J]. 皖南医学院学报, 2015, 34(6): 591-593.
- Chen XL, Yang JW, Ge JL, et al. Dynamic features of salivary gland scintigraphy and pathological grading for Sjogren's syndrome[J]. Acta Academiae Medicinae Wannan, 2015, 34(6): 591-593.
- [9] 陈达. Th22细胞与自身免疫性疾病[J]. 中外健康文摘, 2012, 9(30): 9-11.
- Chen D. Th22 cells and autoimmune diseases[J]. Worldhealth Digest Medical Periodical, 2012, 9(30): 9-11.
- [10] 扈煜. Tc17, Th22, Treg/Th17 细胞亚群在 ITP 发病中的意义及机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2013.
- Hu Y. The effects of Tc17, Th22, Treg/Th17 subsets in primary immune thrombocytopenia [D]. Jinan: Shandong University, 2013.
- [11] 雷玲彦. Tfh 细胞在原发性干燥综合征中的致病作用[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
- Lei LY. The role of Tfh cells in the pathogenesis of primary Sjogren's syndrome[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2013.
- [12] 王文军, 温江涛. 原发性干燥综合征患者外周血 Th17 细胞的检测及意义[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(6): 1039-1040.
- Wang WJ, Wen JT. Expression and significance of Th17 cell from peripheral blood of patients with primary sjogren's syndrome[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2011, 15(6): 1039-1040.
- 收稿日期: 2016-04-14 修回日期: 2016-08-30
- 
- (上接 68 页) 2012, 21(3): 179-182.
- [2] Woodson. Epidemic Trend and Countermeasures of Cancer[J]. Colorectal Cancer, 2011(09): 897-902.
- [3] 郑民华. 腹腔镜结直肠癌手术的现状与展望[J]. 中国实用外科杂志, 2011, 31(9): 841-843.
- Zheng MH. The Present Situation and Prospect of Laparoscopic Colorectal Cancer Surgery[J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2011, 31(9): 841-843.
- [4] 蒋蔚茹, 刘杰. 结直肠癌化疗进展[J]. 中国肿瘤, 2011, 20(3): 200-203.
- Jiang WR, Liu J. Progress in chemotherapy for colorectal cancer[J]. Chinese Cancer, 2011, 20(3): 200-203.
- [5] 黄佳莹, 张文. 基因多态性预测结直肠癌化疗效果和不良反应[J]. 肿瘤, 2012, 30(2): 164-169.
- Huang JY, Zhang W. Gene polymorphisms predict efficacy and toxicity of chemotherapy for colorectal cancer[J]. Tumor, 2012, 30(2): 164-169.
- [6] 刘杨. DNA 修复基因 XRCC1 和 XRCC3 在结直肠癌中的表达及其多态性与化疗后患者生存期关系的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- Liu Y. The expression of DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 in the colorectal cancer and prediction of genetic[D]. Chongqing: Central South University, 2013.
- [7] 沈冬亚, 周宏灏. MTHFR, GSTP1, ERCC1 基因多态性与结直肠癌 FOFLOX 化疗方案疗效相关性研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.
- Shen DY, Zhou HH. Association of MTHFR, GSTP1, ERCC1 polymorphisms and response to FO-FLOX in colorectal cancer patients[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2014.
- [8] Kumamoto K, Ishibashi K, Okada N, et al. Polymorphisms of GSTP1, ERCC2, and TS-3'UTR are association with the clinical outcome of mFOLFOX in colorectal cancer patients[J]. Oncol Lett, 2013, 6(3): 648-654.
- [9] Polimanti R, Carbonic C, Baesso I, et al. Genetic variability of glutathione S-transferase enzymes in human populations functional inter-ethnic differences in detoxification systems[J]. Gene, 2013, 512(1): 102-107.
- [10] Holley SL, Rajagopal R, Hoban PR, et al. Polymorphisms in the glutathione S-transferase mu cluster are associated with tumour progression and patient outcome in colorectal cancer[J]. Int J Oncol, 2006, 28(1): 231-236.
- [11] Lü H, Li Q, Qiu W, et al. Genetic polymorphism of XRCC1 correlated with response to oxaliplatin-based chemotherapy in advanced colorectal cancer [J]. Cancer Invest, 2013, 31(1): 24-28.
- [12] Lamas MJ, Duran G, Gomez A, et al. X-ray cross complementing group1 and thymidylate synthase polymorphisms might predict response to chemotherapy in rectal cancer patients[J]. Int J Radiat Oncol Biophys, 2012, 82(1): 138-144.
- 收稿日期: 2016-04-05 修回日期: 2016-07-12