

系统性红斑狼疮患者血清 IL-10 和 IL-17 水平检测的临床意义*

杨依骏, 杜建钢, 朱琴芳, 俞 钱, 徐红星

(南京医科大学附属苏州市立医院本部检验科, 江苏苏州 215002)

摘要:目的 通过系统性红斑狼疮(SLE)患者血清中 IL-10 和 IL-17 的水平,探讨 SLE 患者炎症反应情况及 Treg 细胞与 Th17 细胞在 SLE 发病中的作用。方法 选取 2013 年 7 月~2015 年 7 月南京医科大学附属苏州市立医院本部临床已经确诊的 SLE 患者 54 例为研究对象,同期健康体检者 19 例为对照组,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)双抗体夹心法检测两组血清 IL-10 和 IL-17 水平,采用间接免疫荧光法及免疫印迹法测定 SLE 患者 ANA, dsDNA 及 RNP, Sm, SSA, SSB, 并对 IL-10 和 IL-17 水平进行比较及相关性分析,同时分析 ANA, RNP, Sm, SSA 和 dsDNA 分组 IL-10 和 IL-17 的水平差异。结果 SLE 患者 IL-10 和 IL-17 水平为 63.7 ± 89.0 pg/ml 和 87.7 ± 123.0 pg/ml, 和对照组 20.8 ± 8.9 pg/ml 和 18.5 ± 111.6 pg/ml 比较,差异有统计学意义($t_{IL-10} = 3.484$, $t_{IL-17} = 4.076$, P 均 < 0.01); SLE 患者中 IL-10 和 IL-17 阳性组结果为 176.5 ± 93.2 pg/ml 和 237.2 ± 107.5 pg/ml, 阴性组为 16.2 ± 5.7 pg/ml 和 12.9 ± 8.3 pg/ml, 差异有统计学意义($t_{IL-10} = 6.875$, $t_{IL-17} = 8.843$, P 均 < 0.01); SLE 患者 IL-10 与 IL-17 水平呈正相关关系($r = 0.96$, $P < 0.05$)。ANA 高滴度组 IL-10 和 IL-17 水平为 91.8 ± 100.8 pg/ml 和 135.5 ± 140.9 pg/ml, ANA 低滴度组为 44.5 ± 76.7 pg/ml 和 54.4 ± 98.5 pg/ml, 差异有统计学意义($t_{IL-10} = 2.215$, $t_{IL-17} = 2.345$, P 均 < 0.05)。抗 ds-DNA 抗体阳性组 IL-10 和 IL-17 水平为 87.1 ± 101.1 pg/ml 和 122.4 ± 137.1 pg/ml, 抗 ds-DNA 抗体阴性组为 27.4 ± 50.1 pg/ml 和 28.6 ± 61.6 pg/ml, 差异有统计学意义($t_{IL-10} = 2.904$, $t_{IL-17} = 3.443$, P 均 < 0.05)。结论 系统性红斑狼疮患者的抗炎细胞因子 IL-10 和促炎细胞因子 IL-17 的高水平及高度正相关,说明 SLE 患者抗炎和促炎反应同时存在, SLE 患者 Treg 细胞与 Th17 细胞存在失衡,可能在 SLE 的发生和发展中同时起重要作用。

关键词: 系统性红斑狼疮; 白细胞介素-10; 白细胞介素-17

中图分类号: R593.241; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)03-071-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.03.019

Clinical Significance of Serum IL-10 and IL-17 in Patients with Systemic Lupus Erythematosus

YANG Yi-jun, DU Jian-gang, ZHU Qin-fang, YU Qian, XU Hong-xing

(Department of Clinical Laboratory,

Suzhou Municipal Hospital, Nanjing Medical University, Jiangsu Suzhou 215002, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of Treg cells and Th17 cells on the pathogenesis of SLE in patients with SLE, by detecting levels of serum IL-10 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** Selected 54 patients with SLE diagnosed in Suzhou Municipal Hospital Affiliated to Nanjing Medical University from July 2013 to July 2015 as subjects, and 19 healthy persons were selected as control group. Using double antibody sandwich method (ELISA) to detect the levels of IL-10 and IL-17 in two groups. Using indirect immunofluorescence and western blot method to detect ANA, dsDNA, RNP, Sm, SSA and SSB in patients with SLE. Then compared and correlation analysed the level of IL-10 and IL-17, the levels of IL-10 and IL-17 in ANA, RNP, Sm, SSA and dsDNA groups were analyzed simultaneously. **Results** The level of IL-10 and IL-17 in SLE were 63.7 ± 89.0 pg/ml and 87.7 ± 123.0 pg/ml, and control group were 20.8 ± 8.9 pg/ml and 18.5 ± 111.6 pg/ml, with the statistically significant difference ($t_{IL-10} = 3.484$, $t_{IL-17} = 4.076$, $P < 0.01$). The level of positive group in SLE were 176.5 ± 93.2 pg/ml and 237.2 ± 107.5 pg/ml, and negative group were 16.2 ± 5.7 pg/ml and 12.9 ± 8.3 pg/ml, with the statistically significant difference ($t_{IL-10} = 6.875$, $t_{IL-17} = 8.843$, $P < 0.01$). The level of IL-10 was positively correlated with IL-17 level in SLE ($r = 0.96$, $P < 0.05$). The level of IL-10 and IL-17 in ANA high titer group were 91.8 ± 100.8 pg/ml and 135.5 ± 140.9 pg/ml, ANA low titer group were 44.5 ± 76.7 pg/ml and 54.4 ± 98.5 pg/ml, with the statistically significant difference ($t_{IL-10} = 2.215$, $t_{IL-17} = 2.345$, $P < 0.05$). The level of IL-10 and IL-17 in anti ds-DNA antibody positive group were 87.1 ± 101.1 pg/ml and 122.4 ± 137.1 pg/ml, negative group were 27.4 ± 50.1 pg/ml and 28.6 ± 61.6 pg/ml, with the statistically significant difference ($t_{IL-10} = 2.904$, $t_{IL-17} = 3.443$, $P < 0.05$). **Conclusion** The lev-

* 作者简介: 杨依骏(1991-), 女, 大学本科, 检验技师, 从事临床检验研究, Tel: 0512-62362379, E-mail: 441726930@qq.com。
通讯作者: 杜建钢(1977-), 男, 大学本科, 副主任技师, 从事临床检验研究, Tel: 0512-62362370, E-mail: djg0320@163.com。

els of IL-10 and IL-17 were significantly increased and there was positive correlation. It was explained that the anti-inflammatory and pro-inflammatory response existing at the same time in SLE patients and Treg cell and Th17 cell may also play an important role in the occurrence and development in SLE.

Keywords: systemic lupus erythematosus; IL-10; IL-17

系统性红斑狼疮(SLE)是由自身抗体介导,免疫复合物沉积造成多器官功能损伤为特征的慢性自身免疫性疾病。SLE的发病机理目前仍不是很清楚,近年研究发现其发病机制与多种细胞因子作用有密切关系^[1]。Treg细胞和Th17细胞是新近发现的两群CD4+T细胞亚群,Treg细胞是通过释放抗炎免疫抑制细胞因子IL-10和TGF- β 而发挥免疫效应,Th17细胞是通过分泌促炎症细胞因子IL-17引起组织的免疫炎症。两群细胞的分化和功能存在相互抑制,在正常状态下能保持平衡,以维持机体的免疫稳定,然而一旦失衡则导致疾病的发生。有研究发现,活动性SLE患者存在Treg细胞和Th17细胞的免疫失衡,与疾病活动呈负相关^[2]。本文采用酶联免疫吸附试验(ELISA)双抗体夹心法检测SLE患者血清中IL-10和IL-17的水平来探讨Treg细胞与Th17细胞在SLE患者发病中的作用。

1 材料与方法

1.1 研究对象 SLE患者组:选取自2013年7月~2015年7月本院门诊及住院SLE患者54例,所有病例均符合美国风湿病学会(American College of Rheumatology)推荐的诊断标准^[3],年龄18~81岁,平均年龄42岁,其中男性6例,女性48例。正常对照组:本院同期健康体检者19例,均排除各类自身免疫性疾病,且近期无感染性疾病,性别与年龄与SLE患者组相匹配。

1.2 试剂和仪器 试剂:IL-10及IL-17试剂盒由上海沪尚生物技术有限公司提供,免疫标志物指标(ANA,RNP,Sm,SSA,dsDNA)检测试剂由欧蒙公司提供。仪器:瑞士TECAN infinite F50酶标仪。

1.3 方法 采集受检者静脉血3 ml,3 000 r/min离心5 min,留取血清分装-20℃备用。IL-10及IL-17检测采用酶联免疫吸附试验(ELISA)双抗体夹心法,抗核抗体(ANA)、双链DNA(dsDNA)采用间接免疫荧光法测定,可提取核抗原抗体(RNP,Sm,SSA,SSB)采用免疫印迹法检测,所有操作步骤严格按照试剂盒说明书要求进行。

1.4 统计学分析 采用SPSS16.0统计软件t检验统计分析,实验数据采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示;采用Pearson相关分析进行统计相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SLE患者组与正常对照组血清IL-10,IL-17水平比较 见表1。SLE患者组血清IL-10及IL-17水平均明显高于正常对照组,两组比较差异均有统计学意义($P<0.01$)。

表1 SLE患者组与正常对照组IL-10,IL-17水平比较($\bar{x}\pm s$,pg/ml)

项目	正常对照组(n=19)	SLE患者组(n=54)	t值	P
IL-10	20.8±8.9	63.7±89.0	3.484	<0.01
IL-17	18.5±11.6	87.7±123.0	4.076	<0.01

2.2 SLE患者血清中IL-10及IL-17检测定性结果分析 SLE患者组IL-10及IL-17检测结果显示s值高于均值,以正常对照组 $\bar{x}\pm 2s$ 作为正常值范围,血清IL-10>38.6 pg/ml,IL-17>41.7 pg/ml判定为阳性结果,血清IL-10≤38.6 pg/ml,IL-17≤41.7 pg/ml判定为阴性结果。SLE患者中IL-10和IL-17阳性组结果为176.5±93.2 pg/ml和237.2±107.5 pg/ml,均明显高于阴性组16.2±5.7 pg/ml和12.9±8.3 pg/ml,差异有统计学意义($t_{IL-10}=6.875$, $t_{IL-17}=8.843$, P 均<0.01)。

2.3 SLE患者血清IL-10与IL-17水平的相关性分析 见图1。SLE患者IL-10与IL-17水平间呈高度正相关关系($r=0.96$, $P<0.05$)。

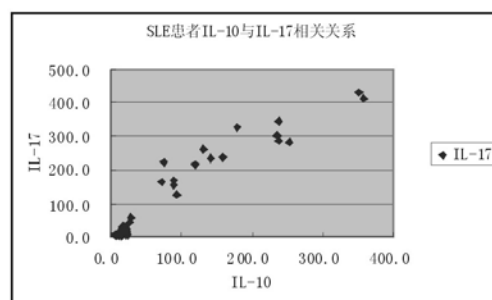


图1 SLE患者IL-10与IL-17相关关系图

2.4 SLE患者免疫指标(ANA,RNP,Sm,SSA,dsDNA)阳性组与阴性组IL-10,IL-17水平的比较 见表2。54例SLE患者中ANA高滴度组IL-10和IL-17水平均高于ANA低滴度组,抗dsDNA抗体阳性组IL-10和IL-17水平也高于抗dsDNA抗体阴性组,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$);RNP,Sm,SSA阳性组与阴性组两细胞

因子水平差异无统计学意义(P 均 >0.05)。

表 2 SLE 患者免疫指标阳性与阴性组间 IL-10, IL-17 水平比较

免疫指标	n	IL-10			IL-17			
		$\bar{x} \pm s$ (pg/ml)	t 值	P 值	$\bar{x} \pm s$ (pg/ml)	t 值	P 值	
ANA 滴度	$>1:1000$	23	91.8 \pm 100.8	2.215	0.048	135.5 \pm 140.9	2.345	0.024
	$\leq 1:1000$	31	44.5 \pm 76.7			54.4 \pm 98.5		
RNP	阳性	38	66.5 \pm 95.5	0.755	0.445	86.1 \pm 124.9	0.437	0.666
	阴性	16	56.6 \pm 68.8			104.0 \pm 137.0		
Sm	阳性	20	63.4 \pm 84.4	0.143	0.887	81.9 \pm 123.1	0.372	0.711
	阴性	34	27.5 \pm 95.1			94.9 \pm 132.7		
dsDNA	阳性	20	87.1 \pm 101.1	2.904	0.006	122.4 \pm 137.1	3.443	0.001
	阴性	34	27.4 \pm 50.1			28.6 \pm 61.6		
SSA	阳性	38	58.1 \pm 81.6	0.831	0.415	78.1 \pm 115.7	0.808	0.427
	阴性	16	84.1 \pm 109.9			110.0 \pm 140.0		

3 讨论 系统性红斑狼疮(SLE)是一种多系统、多器官受累为特征的慢性自身免疫性疾病,自身反应性 T 细胞异常活化,机体的免疫耐受和免疫平衡被打破是 SLE 的主要发病机制,目前病因尚未完全明确,主要是免疫调节异常,机体产生大量的自身抗体,导致抗原抗体复合物形成,沉积于器官引起相关的临床表现。

近年来 Th17 细胞和 Treg 细胞在自身免疫性疾病中的作用越来越受到人们的重视。Th17 细胞能分泌 IL-17, IL-21 及 IL-23 等细胞因子,与许多自身免疫性疾病及炎症性疾病有着密切的关系。IL-17 是 Th17 细胞亚群分泌的一种强大的促炎因子,具有多重生物学活性,能够刺激嗜中性粒细胞以及诱导活化 T 细胞,刺激巨噬细胞、上皮细胞和成纤维细胞产生多种炎症介质,诱导参与宿主的炎症反应,造成宿主免疫损伤。说明 Th17 可能通过分泌细胞因子 IL-17 参与了 SLE 疾病的发生,而且其水平高低可反映 SLE 疾病的活动性,与疾病病情活动密切相关^[4]。IL-17 除了由激活的人 CD4+T 记忆细胞(Th17 细胞)产生外,CD8+T 细胞、NK 细胞、CD3+ CD4- CD8- 细胞、中性粒细胞等亦能表达。

研究发现,表达 CD25 的 CD4+ T 细胞具有免疫抑制作用,且能抑制炎症细胞的活化和细胞因子的分泌^[5]。但随着研究的发现,该群细胞也能“主动”抑制自身反应性 T 细胞的免疫反应,具有调节免疫平衡的功能,因此,定义为调节性 T 细胞(Treg cell)。研究表明,CD4+CD25^{high} T 细胞仍是人 Treg 较特异的标志物^[6]。Treg 细胞通过释放细胞因子 IL-10 和 TGF- β 发挥抑制 T 细胞及抗原呈递细胞的功能,降低炎症细胞因子的产生及抗体分泌而发挥免疫效应。文献报道,初始 CD4+

T 细胞在 TGF- β 的单独诱导下,可以分化为 Treg 细胞,当 IL-6 同时存在时,能够诱导 ROR γ t 的表达,抑制 Treg 细胞产生,促进初始 CD4+T 细胞分化成 Th17 细胞^[7]。IL-10 是一种抑制炎症的细胞因子,它的重要来源是由单核巨噬细胞和 T 辅助细胞分泌,可促进天然和特异性免疫的功能,增强免疫系统的清道夫功能。这也说明 Treg 细胞能够通过分泌 IL-10 而抑制炎症反应,进而参与维持机体的免疫耐受^[8]。不仅能够预防 SLE 的发生,而且能够抑制 SLE 活动期的发展。

本文研究结果表明,SLE 患者 IL-10 及 IL-17 水平均显著高于正常对照组,两者之间呈明显正相关关系,说明 SLE 患者抗炎和促炎反应同时存在,Treg 细胞与 Th17 细胞可能在 SLE 的发生和发展中同时起重要作用。已有文献报道,全身炎症反应早期患者,可表达高水平促炎因子的同时也有抗炎因子如 IL-10 等超高水平的表达^[9],与本文研究 SLE 患者血清 IL-10 及 IL-17 的检测结果,以及两者之间的高度正相关关系相符合;SLE 患者 IL-10 和 IL-17 检测定性结果可发现 54 例 SLE 患者中 IL-10 有 16 例(29.6%)患者呈阳性结果,IL-17 有 18 例(33.3%)患者呈阳性结果,且其均处于高水平,而阴性患者 IL-10 和 IL-17 检测水平与正常组水平相当,亦与该文献报道一致;分析 SLE 患者免疫指标阳性组与阴性组的 IL-10, IL-17 水平发现,ANA 高滴度组 IL-10, IL-17 水平均高于 ANA 低滴度组,抗 dsDNA 抗体阳性组 IL-10, IL-17 水平也高于抗 dsDNA 抗体阴性组,组间比较差异有显著性,表明抗体滴度与疾病活动度存在相关性,且只有高滴度的抗 dsDNA 抗体才检测出阳性^[10],进一步说明 SLE 患者可能在疾病活动期同时存在抗炎和促炎反应,而到缓解期其抗炎 (下转 78 页)

- toring of mycophenolic acid in heart transplant patients[J]. *Ther Drug Monit*, 2015, 37(3):311-318.
- [13] 廉江平, 李小川, 张鹏, 等. EMIT 与 FPIA 法测定肾移植术后患者体内环孢素 A 血药浓度结果比较[J]. *安徽医药*, 2013, 17(12):2039-2041.
- Lian JP, Li XC, Zhang P, et al. Comparison of the result of the two methods to determine the concentration of cyclosporine A in patients after renal transplantation[J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2013, 17(12):2039-2041.
- [14] Clinical and Laboratory Standards Institute. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline [S]. Wayne, PA: CISI EPOP-A3, 2013.
- [15] 曾宪飞, 李军民, 谈昀, 等. 不同评价方案在临床比对试验应用的方法学探讨[J]. *现代检验医学杂志*, 2012, 27(2):66-69.
- Zeng XF, Li JM, Tan Y, et al. Method comparison study using different evaluation criteria[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2012, 27(2):66-69.
- 收稿日期:2016-12-18
修回日期:2017-02-27

(上接 73 页)和促炎反应趋于正常。

综上所述,可能在 SLE 患者的急性期,促炎因子和抗炎因子均处于高水平分泌状态, Treg 与 Th17 细胞均处于高水平表达,两者存在着相互促进作用;而一旦进入疾病缓解期, IL-10 和 IL-17 均恢复至正常水平。故有待于进一步研究不同疾病期的 SLE 患者 IL-10 和 IL-17 水平及其 Treg 与 Th17 细胞的比率,从而深入研究 Treg 细胞与 Th17 细胞在 SLE 发病中的作用。SLE 患者血清 IL-10 和 IL-17 水平增高且呈高度正相关,说明 SLE 患者同时存在抗炎和促炎反应,反映 Treg 细胞与 Th17 细胞在 SLE 中失衡及 SLE 的免疫紊乱,同时测定 IL-10 和 IL-17 水平对 SLE 的抗炎治疗具有重要意义。

参考文献:

- [1] 蒋巧雅, 迟秀文, 蓝宇萍. 系统性红斑狼疮血清 IL-17 和 ICAM-1 的检测及其免疫学意义[J]. *现代检验医学杂志*, 2012, 27(3):74-76.
- Jiang QY, Chi XW, Lan YP. Immunological significance of the detection of IL-17 and ICAM-1 in systemic lupus erythematosus[J]. *J Mod Lab Med*, 2012, 27(3):74-76.
- [2] 马纪林, 蔡龙, 施华萍, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血调节性 T 细胞与 Th17 细胞失衡的研究[J]. *医学研究杂志*, 2013, 42(3):27-30.
- Ma JL, Cai L, Shi HP, et al. Study on the imbalance CD4+ CD25^{high} regulatory T cells/Th17 cells in the peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus[J]. *J Med Res*, 2013, 42(3):27-30.
- [3] Feldman CH, Hiraki LT, Liu J, et al. Epidemiology and sociodemographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis among U. S. adults with medicare coverage, 2000-2004[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2013, 65(3):753-760.
- [4] 严静霞, 高丽霞, 吴霞, 等. Th17 细胞在系统性红斑狼疮伴发心血管疾病中的意义探讨[J]. *现代检验医学杂志*, 2014, 29(6):52-54, 58.
- Yan JX, Gao LX, Wu X, et al. Evaluate the significance of Th17 cells in systemic lupus erythematosus with cardiovascular disease [J]. *J Mod Lab Med*, 2014, 29(6):52-54, 58.
- [5] Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function[J]. *Annu Rev Immunol*, 2012(3):531-564.
- [6] Song X, Li B, Xiao Y, et al. Structural and biological features of Foxp3 dimerization relevant to regulatory T cell function[J]. *Cell Reports*, 2012, 1(6):665-675.
- [7] Lina C, ConghHa W, Nan L, et al. Combined treatment of etanercept and MTX reverses Th1/Th2, Th17/Treg imbalance in patients with rheumatoid arthritis[J]. *J Clin Immunol*, 2011, 31(4):596-605.
- [8] 汤雯剑, 罗浩, 赵金涛, 等. 银屑病血清中 IL-10 与 IL-21 水平监测的临床应用[J]. *现代检验医学杂志*, 2015, 30(2):65-67.
- Tang WJ, Luo H, Zhao JT, et al. Clinical application of IL-10 and IL-21 levels monitoring in patients with psoriasis[J]. *J Mod Lab Med*, 2015, 30(2):65-67.
- [9] 付丹, 李成荣, 何颜霞, 等. 婴幼儿脓毒症不同免疫状态细胞因子变化探讨[J]. *中国小儿急救医学*, 2009, 40(5):438-440.
- Fu D, Li CR, He YX, et al. Investigation of the changes of cytokines in infants with immunological activated or immunosuppressed status of sepsis[J]. *Chin Pediatr Emerg Med*, 2009, 40(5):438-440.
- [10] 马东来, 张少静, 文夫瑞德·斯特克. 自身抗体及其免疫荧光模式[M]. 北京:北京科学技术出版社, 2000:8.
- Ma DL, Zhang SJ, Winfried Stocker. Autoantibodies and their immunofluorescent patterns[M]. Beijing: Beijing Science Technology Press, 2008:8.
- 收稿日期:2016-09-20
修回日期:2017-03-12