

· 临床研究 ·

系统性红斑狼疮患者血浆干扰素 α 的表达及临床意义*

王 涛, 江 超, 陈琳洁, 谢长好, 李志军 Δ

(蚌埠医学院第一附属医院风湿免疫科, 安徽蚌埠 233004)

摘要:目的 研究干扰素(IFN)- α 在系统性红斑狼疮(SLE)患者血浆中的变化,探讨 IFN- α 在 SLE 的临床意义。方法 应用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)方法检测 57 例 SLE 患者(患者组)及 31 例健康人(对照组)血浆的 IFN- α 水平,比较两组的差异。再根据狼疮疾病活动指数(SLEDAI)将患者组分成低活动组、高活动组,比较不同活动组 IFN- α 表达水平的差异。分析 IFN- α 水平与临床指标的关系。结果 SLE 患者组血浆 IFN- α 表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P=0.021$)。对照组、低活动组、高活动组三组 IFN- α 表达水平依次增高,组间比较差异有统计学意义($P=0.032$)。IFN- α 水平与 ANA 半定量、抗 ds-DNA 抗体半定量、C3、IgG 差异有统计学意义($P<0.05$);而与 ESR、C4、SLEDAI、24 h 尿蛋白定量等差异无统计学意义($P>0.05$)。在 SLE 患者中,血浆 IFN- α 表达水平在抗核小体抗体、抗 U1snRNP 抗体阳性组要分别高于阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$)。有肝酶升高组、有血液系统病变组要分别高于相应的无症状组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 SLE 患者血浆 IFN- α 表达水平比健康人高,与疾病活动程度及部分临床指标有一定的相关性。IFN- α 在 SLE 的发病中可能发挥着重要的作用。

关键词: 红斑狼疮, 系统性; 干扰素 α ; 酶联免疫吸附试验

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.17.011

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)17-1701-03

Expression and clinical significance of plasma interferon- α in systemic lupus erythematosus*

Wang Tao, Jiang Chao, Chen Linjie, Xie Changhao, Li Zhijun Δ

(Department of Rheumatology, First Affiliated Hospital, Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui 233004, China)

Abstract: Objective To investigate the change of plasma interferon(IFN)- α in the patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and its clinical implication. **Methods** The enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) was used to measure the plasma level of IFN- α from 57 SLE patients and 31 healthy persons. The relationship between IFN- α and clinical or laboratory parameters of SLE patients was explored. **Results** The expression of IFN- α was significantly elevated in the SLE patients($P>0.05$). Compared with the normal control and SLE patients with low disease activity, IFN- α levels were significantly elevated in the SLE patients with high disease activity($P<0.05$). The expression of IFN- α in the SLE group did not correlated with ESR, C4, SLEDAI or 24 h urine protein excretion($P>0.05$). The correlation was observed between IFN- α expression levels and clinical measure of the anti-dsDNA antibody, ANA, C3 and IgG($P<0.05$). Compared with the negative groups, IFN- α levels were significantly elevated in the SLE patients with anti-nucleosome antibody or anti-U1snRNP antibody positive groups, and elevated in the SLE patients with hematologic involvement or aminotransferase abnormal. **Conclusion** The level of plasma IFN- α in the SLE patients is higher than that of the normal controls. It has correlation with disease activity and clinical measures. IFN- α might play an important role in the pathogenesis of SLE.

Key words: lupus erythematosus, systemic; interferon- α ; enzyme linked immunosorbent assay

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种累及多系统的自身免疫病,患者体内存在多种自身抗体,抗体与抗原结合形成免疫复合物,沉积于靶组织、激活补体,引起一系列炎症介质释放而造成器官组织的损伤。其中干扰素(interferon, IFN)- α 与 SLE 发病及疾病活动密切相关。本研究通过检测 SLE 患者血清 IFN- α 水平,进一步分析其临床意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所选病例均为 2010 年 7~12 月本院风湿免疫科就诊的 SLE 患者,共 57 例,诊断符合 1997 年美国风湿病协会标准^[1],其中,女 55 例,男 2 例;平均(34.03 \pm 12.81)岁;对照组 31 例为本院健康志愿者,其中,女 30 例,男 1 例,平均(32.94 \pm 7.46)岁。两组性别、年龄均衡,差异无统计学意义。本实验获得本单位伦理委员会批准,所有受试对象均知情同意。SLE 活动性指数(SLE disease activity index, SLEDAI)的评分标准参见文献方法^[2]。

1.2 方法 采清晨空腹静脉血 5 mL,肝素抗凝。离心后,取血浆,置 PC 管中-80 $^{\circ}$ C 保存,IFN- α 的检测采用双抗体夹心 ELISA 法,试剂盒购自美国 Bender 公司,具体操作步骤严格按试剂盒说明书进行。分别根据 SLE 患者特异性抗体和典型症状的有无,将其分成不同组别。

1.3 统计学处理 所有数据采用相关统计软件处理,定量资料正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,偏态分布以中位数(P25~P75)表示。两样本均数的比较采用 t 检验或 Mann-Whitney 检验。多样本均数的比较采用 ANOVA 检验或 Kruskal-Wallis 检验。相关分析采用 Pearson 检验或 Spearman 检验。检验水准 α 取 0.05。

2 结果

SLE 患者组血浆 IFN- α 表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P=0.021$),见表 1。根据 SLEDAI 将 57 例 SLE 分成两组:低活动组(27 例, SLEDAI<10)和高活动组(30 例, SLEDAI \geq 10)。将对照组、低活动组、高活动组患者血清 IFN- α 表

达水平进行比较,差异有统计学意义($P=0.032$),见表 1。将 60 例 SLE 患者血浆 IFN- α 水平与临床定量指标 ESR、24 h 尿蛋白定量、补体(C3 和 C4)、血 IgG、抗核抗体(antinuclear antibodies, ANA)半定量、抗 ds-DNA 抗体半定量、SLEDAI 等作相关性分析。IFN- α 水平与 ANA 半定量、抗 ds-DNA 抗体半定量、C3、IgG 差异有统计学意义($P<0.05$);而与 ESR、C4、SLEDAI、24 h 尿蛋白定量等差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。比较不同组别之间血浆 IFN- α 表达水平的差异,见表 3。其中血浆 IFN- α 表达水平在抗核小体抗体、抗 U1snRNP 抗体阳性组要分别高于阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$)。在 SLE 患者中,有肝酶升高组、有血液系统病变组要分别高于相应的无症状组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 各组 IFN- α 表达水平

组别	<i>n</i>	IFN- α (pg/mL) 中位数($P_{25} \sim P_{75}$)	<i>P</i>
对照组	31	11.63(6.91~27.71)	0.021* 0.032▲
患者组	57	15.50(11.63~38.79)	
低活动组	27	13.18(10.85~29.24)	
高活动组	30	21.24(13.18~40.14)	

*:为对照组与患者组相比;▲:为对照组与低活动组、高活动组 3 组相比。

表 2 IFN- α 表达水平与临床指标的相关性分析

检测指标	<i>r</i>	<i>P</i>
ESR (mm/h)	-0.049	0.754
24 h 尿蛋白定量(g/L)	0.090	0.663
IgG(g/L)	0.423	0.002
ANA 半定量	0.401	0.017
抗 ds-DNA 半定量	0.445	0.014
C3(mg/L)	-0.342	0.012
C4(mg/L)	-0.188	0.179
SLEDAI(分)	0.226	0.101

表 3 SLE 患者不同组别之间血浆 IFN- α 表达水平的差异

组别	<i>n</i>	IFN- α (pg/mL) 中位数($P_{25} \sim P_{75}$)	<i>P</i>
抗 SmD1 抗体	阳性 18	26.95(12.80~43.02)	0.580
	阴性 15	15.50(13.18~45.19)	
抗 dsDNA 抗体	阳性 18	27.71(17.41~68.67)	0.088
	阴性 16	13.96(11.63~40.71)	
抗核小体抗体	阳性 11	39.18(20.85~217.28)	0.040
	阴性 22	15.50(12.40~40.33)	
抗 U1snRNP 抗体	阳性 11	41.48(21.62~78.73)	0.044
	阴性 22	15.50(13.18~34.58)	
肝酶升高组	有 13	34.58(15.11~62.20)	0.033
	无 44	13.96(10.85~27.33)	
血液系统病变组	有 19	34.58(13.18~58.62)	0.019
	无 38	13.96(10.85~22.95)	
关节炎组	有 34	19.33(10.85~39.94)	0.531
	无 23	14.34(11.63~35.54)	
肾脏病变组	有 37	18.56(13.18~36.88)	0.412
	无 20	13.57(10.85~40.71)	

3 讨论

SLE 是自身免疫性疾病的原型代表,其患者体内存在明显的免疫调节紊乱及多种细胞因子的异常表达。其中 IFN- α 是一类具有抗病毒和免疫调节作用的细胞因子。以往文献报道,SLE 患者 IFN- α 在血浆中水平升高^[3],而且一些本身不伴有自身免疫性疾病的患者经 IFN- α 治疗后会出现抗 ANA、抗 dsDNA 抗体,甚至 SLE 综合征^[4-5]。

本研究发现 SLE 患者组血浆 IFN- α 表达水平高于对照组,这与 Ytterberg 和 Schnitzer^[3] 研究结果一致。虽未发现 IFN- α 与 SLEDAI 具有统计学意义的相关性,但发现 IFN- α 表达水平在病情高活动组与低活动组、对照组之间存在组间差异,说明 IFN- α 与 SLE 病情具有一定的相关性。这在邓姗等^[6] 的研究中表现更加充分,他们发现 IFN- α 与 SLEDAI 具有统计学意义的相关性。

本研究显示,IFN- α 水平与 ANA 半定量、抗 ds-DNA 抗体半定量、C3、IgG 有统计学意义相关性,而与红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C4、SLEDAI、24 h 尿蛋白定量等无相关性。另外,血浆 IFN- α 表达水平在抗核小体抗体、抗 U1snRNP 抗体阳性组要分别高于阴性组,有肝酶升高组、有血液系统病变组要分别高于相应的无症状组。国内外的相关研究也发现 IFN- α 水平与不同临床指标的相关性。例如,顾镛等^[7] 研究发现 IFN- α 水平与免疫学指标抗 ds-DNA 抗体水平亦呈正相关,与 C3 水平负相关。邓姗等^[6] 发现血浆 IFN- α 水平与 SLEDAI 积分和抗 dsDNA 抗体水平呈正相关,与补体 C3、C4 和白细胞数量呈负相关;血浆 IFN- α 水平与患者发热和面部红斑有关。最新 Weckerle 等^[8] 的研究也发现 IFN- α 水平与抗 ds-DNA 抗体、抗 RNP 抗体正相关。另外, Lovgren 等^[9] 发现从狼疮患者血浆中分离出的 IgG 同细胞坏死产物或纯化 snRNP 抗体共同存在时可刺激浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cells, pDC)产生 IFN- α ,这种激活 IFN- α 的作用是通过 pDC 内涵体膜表面的 Toll 样受体(Toll like receptor, TLR)7 受体来实现的。全基因扫描也证实大多数狼疮患者存在 IFN 基因标签^[10],与一些严重的并发症相关,比如狼疮肾炎和血液系统损害。相对成年患者,儿童 SLE 患者通常更易合并系统损害,在疾病早期阶段也显示出 IFN- α 的高关联性^[10]。这些均提示 IFN- α 的活化在疾病早期进程中的重要作用。

关于 IFN- α 参与 SLE 发病的具体机制,现有的研究结果表明, I 型 IFN 信号对 T 细胞、B 细胞及 DC 细胞具有调节效应,通过打破自身抗原免疫耐受、促进自身抗体和免疫复合物的形成,在 SLE 发病过程中起着重要作用^[11-12]。病毒感染或其他一些环境诱因可导致 IFN- α 的产生及死亡细胞成分的释放。这些凋亡和坏死细胞的胞外自身抗原启动 B 细胞产生自身抗体。同时会形成免疫复合物,作为内源性的诱导剂,免疫复合物可以通过 BCR 和 TLR 激活 B 细胞分泌自身抗体,还可通过 Fc γ R 和 TLR 诱导 pDC 分泌更多的 IFN- α 。IFN- α 可以促进 B 细胞分化以及向浆细胞的成熟,促进 Ig 类型的转化,延长记忆细胞的生存。IFN- α 还可以增加自身抗原(如 Ro52^[13]) 的暴露,诱导 DC 细胞成熟,成熟的 DC 可以捕获核抗原,并递呈给 CD4⁺ T 细胞。活化的 T 细胞刺激自身反应性 B 细胞产生自身抗体,结果导致核抗原耐受丧失、自身抗体分泌及自身免疫复合物的形成,免疫复合物又可以通过 TLR7、TLR9 进一步刺激 pDC 产生更多的 IFN- α 。另一方面成熟的 DC 细胞还可以激活 CD8⁺ T 细胞。细胞毒型 T 细胞在细胞炎性因子的作用下趋化到病原体存在的部位导致组织损伤产生大量核小

体,被 pDC 和成熟的 DC 捕获,进一步增强自身免疫反应过程。相应的,传统 DCs 和巨噬细胞上调表达共刺激分子,并更加有效地抗原呈递。另外,IFN- α 诱导的趋化因子也与 SLE 患者疾病活动密切相关^[14]。基于 IFN- α 在 SLE 患者体内的高表达以及在发病中的潜在机制,目前已有研究针对 IFN- α 对 SLE 进行干预^[15-16]。

本研究采用经典的双抗体夹心 ELISA 法检测到 IFN- α 在 SLE 患者中的异常表达,且与疾病活动程度及临床特异性指标有一定的相关性。进一步阐明了 IFN- α 及相关信号通路在 SLE 发病机制中的作用,对 SLE 患者病情活动判断、复发及治疗具有一定价值,也为诊断和治疗 SLE 了提供新的思路和方法。

参考文献:

- [1] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(9): 1725.
- [2] Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, et al. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE[J]. *Arthritis Rheum*, 1992, 35(6): 630-640.
- [3] Ytterberg SR, Schnitzer TJ. Serum interferon levels in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 1982, 25(4): 401-406.
- [4] Rizvi R, Hojjati M. Interferon-alpha induced lupus in a patient with chronic hepatitis C virus[J]. *J Clin Rheumatol*, 2011, 17(3): 152-153.
- [5] Niewold TB. Interferon alpha-induced lupus: proof of principle[J]. *J Clin Rheumatol*, 2008, 14(3): 131-132.
- [6] 邓珊,胡大伟,王元,等. 系统性红斑狼疮患者外周血 IFN- α 表达及其与疾病活动性的关系[J]. *中华风湿病学杂志*, 2006, 10(11): 654-657.
- [7] 顾镭,张戎,王慧娟,等. 系统性红斑狼疮患者血清中 α 干扰素和白介素 6、10 与临床及免疫学指标相关性研究[J]. *临床皮肤科杂志*, 2008, 37(9): 578-580.
- [8] Weckerle CE, Franek BS, Kelly JA, et al. Network analysis of associations between serum interferon-alpha activi-

ty, autoantibodies, and clinical features in systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(4): 1044-1053.

- [9] Lovgren T, Eloranta ML, Kastner B, et al. Induction of interferon-alpha by immune complexes or liposomes containing systemic lupus erythematosus autoantigen and Sjogren's syndrome autoantigen-associated RNA[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(6): 1917-1927.
- [10] Obermoser G, Pascual V. The interferon-alpha signature of systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2010, 19(9): 1012-1019.
- [11] Ronnblom L, Alm GV, Eloranta ML. The type I interferon system in the development of lupus[J]. *Semin Immunol*, 2011, 23(2): 113-121.
- [12] Ronnblom L, Pascual V. The innate immune system in SLE: type I interferons and dendritic cells[J]. *Lupus*, 2008, 17(5): 394-399.
- [13] Strandberg L, Ambrosi A, Espinosa A, et al. Interferon-alpha induces up-regulation and nuclear translocation of the Ro52 autoantigen as detected by a panel of novel Ro52-specific monoclonal antibodies[J]. *J Clin Immunol*, 2008, 28(3): 220-231.
- [14] Bauer JW, Petri M, Batliwalla FM, et al. Interferon-regulated chemokines as biomarkers of systemic lupus erythematosus disease activity: a validation study[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(10): 3098-3107.
- [15] Merrill JT, Wallace DJ, Petri M, et al. Safety profile and clinical activity of sifalimumab, a fully human anti-interferon α monoclonal antibody, in systemic lupus erythematosus: a phase I, multicentre, double-blind randomised study[J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(11): 1905-1913.
- [16] Morimoto AM, Flesher DT, Yang J, et al. Association of endogenous anti-interferon-alpha autoantibodies with decreased interferon-pathway and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(8): 2407-2415.

(收稿日期:2011-10-09 修回日期:2011-12-08)

(上接第 1700 页)

- ovaries in patients with endometrioma[J]. *Fertil Steril*, 2007, 88(2): 507-509.
- [12] Somigliana E, Ragni G, Benedetti F, et al. Does laparoscopic excision of endometriotic ovarian cysts significantly affect ovarian reserve? Insights from IVF cycles[J]. *Hum Reprod*, 2003, 18(11): 2450-2453.
- [13] Muzii L, Bellati F, Palaia I, et al. Laparoscopic stripping of endometriomas: a randomized trial on different surgical techniques. Part I: clinical results[J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(7): 1981-1986.
- [14] Canis M, Pouly JL, Tamburro S, et al. Ovarian response during IVF embryo transfer cycles after laparoscopic ovarian cystectomy for endometriotic cysts of >3 cm in di-

ameter[J]. *Hum Reprod*, 2001, 16(12): 2583-2586.

- [15] Garcia-Velasco JA, Mahutte NG, Corona J, et al. Removal of endometriomas before in vitro fertilization does not improve fertility outcomes: a matched, case-control study[J]. *Fertil Steril*, 2004, 81(5): 1194-1197.
- [16] Wong BC, Gillman NC, Oehninger S, et al. Results of in vitro fertilization in patients with endometriomas: is surgical removal beneficial? [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191(2): 597-606.
- [17] 刘冬娥,王小飞,李艳萍,等. 不同处理方案对卵巢子宫内膜异位症患者辅助生殖结局的影响[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2009, 25(5): 362-364.

(收稿日期:2011-10-09 修回日期:2011-11-22)