

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.18.010

特应性皮炎 Th1/Th2/Th17 平衡的研究*

蒋有让[△],刁庆春[△],史丙俊[▲],王樱霖,徐可佳,冯林
(重庆市中医院/重庆市第一人民医院皮肤科 400011)

[摘要] **目的** 探讨特应性皮炎(AD)外周血清 Th1/Th2/Th17 平衡的变化规律及相关细胞因子的变化规律,以进一步探讨 AD 发病的免疫机制。**方法** 采用流式荧光技术测定 47 例 AD 患者(AD 组)和 40 例健康自愿者(对照组)外周血清中的 γ -干扰素(IFN- γ)、白细胞介素(IL)-4、IL-17、IL-21、IL-23 水平并进行统计分析,从而分析 Th1/Th2/Th17/Treg 平衡在 AD 中变化规律。**结果** 在 AD 患者血清中,IL-4 水平较对照组升高($P < 0.05$),IL-17、IL-23 的水平显著高于对照组($P < 0.05$);IFN- γ /IL-4 和 IFN- γ /IL-17 较对照组明显降低($P < 0.01$);IL-17 与 AD 严重程度(SCORAD)评分呈正相关($P < 0.05$)。**结论** 在 AD 病程中 Th1/Th2、Th1/Th17 降低,Th1/Th2/Th17 平衡的漂移可能是 AD 发病的重要机制。

[关键词] 特应性皮炎;细胞因子类;Th1 细胞;Th2 细胞;Th17 细胞;流式荧光技术

[中图分类号] R751.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)18-2482-02

Study on Th1/Th2/Th17 balance in atopic dermatitis*

Jiang Yourang, Diao Qingchun[△], Shi Bingjun[▲], Wang Yinglin, Xu Kejia, Feng Lin
(Department of Dermatology, Chongqing Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine/
Chongqing Municipal First People's Hospital, Chongqing 400011, China)

[Abstract] **Objective** To research the change rule of peripheral serum Th1/Th2/Th17 balance and relevant cytokines in atopic dermatitis(AD) and to further study its immunologic mechanism. **Methods** The levels of peripheral serum IFN- γ , IL-4, IL-17, IL-21 and IL-23 in the patients with AD were detected by the flow immunofluorescence technology and the detection results were performed the statistical analysis, thus the change rule of Th1/Th2/Th17 balance in AD was analyzed. **Results** The IL-4 level in peripheral serum of the patients with AD was increased compared with the healthy control group ($P < 0.05$); the IFN- γ /IL-4 and IFN- γ /IL-17 in the AD group were significantly decreased compared with the control group ($P < 0.01$); IL-17 was positively correlation with SCORAD scores of AD severity ($P < 0.05$). **Conclusion** Th1/Th2 and Th1/Th17 are decreased in the AD course. Th1/Th2/Th17 balance drift may be the important mechanism of AD pathogenesis.

[Key words] atopic dermatitis; cytokines; Th1 cells; Th2 cells; Th17 cells; flow immunofluorescence technology

特应性皮炎(Atopic dermatitis, AD)被认为是一种复发性、瘙痒性、慢性炎症性皮肤病,其发病机制目前尚不完全清楚,特别是如何活化、维持活化功能紊乱的反应性 T 细胞的机制尚不明确。当抗原刺激信号刺激初始 CD4⁺ T 淋巴细胞后,相继发现并且认知了 Th1、Th2、Th17 等不同的 CD4⁺ T 细胞亚群,不同的细胞亚群在体内主要功能是在通过分泌不同的细胞因子来相互促进、相互制约,进而形成了一个 CD4⁺ T 细胞为主的免疫调节网络,在各种炎症性及自身免疫性疾病中扮演了重要作用。本课题使用流式荧光技术检测 AD 外周血清中 Th1、Th2、Th17 特异性细胞因子来探索它们在 AD 的变化规律,以进一步探讨 AD 发病的免疫机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2012 年 10 月至 2013 年 3 月在皮肤科门诊就诊并诊断为 AD 的患者 47 例(AD 组),其中男 25 例,女 22 例;年龄 4~20 岁,平均(9.09±4.53)岁,AD 严重程度(SCORAD)评分 24.1~91.1 分,平均(54.61±16.32)分。选择同期本院健康自愿者 40 例作为对照组,其中男 21 例,女 19 例;平均年龄(10.25±4.67)岁。两组对象性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂 Human Th17 Magnetic Kit 由美国 Lumi-

nex 公司生产。

1.2.2 检测方法 (1)血清标本的收集:两组对象均抽取外周静脉血 5 mL 留取血清,分装冻存(冻存时间不超过 6 个月),统一检测;(2)操作步骤:按试剂说明书操作步骤在流式荧光仪上进行细胞因子的检测。

1.3 统计学处理 试验结果采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态分布的计量资料统计学描述的差异性分析采用成组 t 检验。而偏态资料的统计学的描述采用的是中位数(最小值、最大值)表示, Mann-Whitney U 检验差异性;相关性检验分析则采用 Spearman,所有的统计检验设定为双侧,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组对象血清 IL-4、IL-17、IL-23 等水平比较 AD 组患者血清中 IL-4 水平较对照组升高($P < 0.05$),IL-17、IL-23 水平明显高于对照组($P < 0.01$),AD 组 IL-21、IFN- γ 的水平较对照组无明显差异($P > 0.05$),AD 组 IFN- γ /IL-4 和 IFN- γ /IL-17 水平明显低于对照组($P < 0.01$),见表 1。

2.2 AD 组患者 T 细胞亚群相关细胞因子与 SCORAD 评分严重程度的相关性 IL-17 与 AD 呈正相关($P < 0.01$),IFN- γ 、IL-4、IL-21、IL-23 与 SCORAD 评分严重程度无明显相关性($P > 0.05$),见表 2。

* 基金项目:重庆市卫生局中医科研计划立项目录(2011-2-102,2012-2-182);重庆市自然科学基金资助项目(cstc 2012jjA 10141)。作者简介:蒋有让(1987-),住院医师,硕士研究生,主要从事免疫性皮肤病、性病方向研究。△ 通讯作者,E-mail:qchdiao@vip.sina.com;▲ 通讯作者,E-mail:www.1806740182.qq.com。

表 1 两组对象各细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

分组	n	IFN- γ	IL-4	IL-17	IL-21	IL-23	IFN- γ /IL-4	IFN- γ /IL-17
AD 组	47	11.33 \pm 3.50	13.72 \pm 3.30	212.81 \pm 56.89	157.95 \pm 30.72	196.16 \pm 45.28	0.87 \pm 0.32	0.06 \pm 0.02
对照组	40	12.38 \pm 3.35	11.62 \pm 2.17	157.87 \pm 45.30	144.96 \pm 27.99	165.52 \pm 24.20	1.11 \pm 10.38	0.09 \pm 0.04
Z		-0.376	-3.025	-4.257	-1.614	-3.322	-3.058	-3.858
P		0.169	0.020	0.000	0.107	0.001	0.002	0.000

表 2 AD 组患者各细胞因子与 SCORAD 评分的相关性

项目	IFN- γ	IL-4	IL-17	IL-21	IL-23
r	0.086	-0.045	0.460	-0.011	0.107
P	0.566	0.763	0.010	0.942	0.473

3 讨论

IFN- γ 、IL-4 分别是 Th1、Th2 细胞的特征性细胞因子^[1], Th17 最主要的效应分子为 IL-17A(即 IL-17),其次有 IL-21 和 IL-23^[2]。本实验检测出 IFN- γ 无明显变化,IL-4 升高,且 IFN- γ /IL-4 明显变化,提示 Th1/Th2 平衡的改变参与 AD 的病程。有学者在 1986 年首次提出了 CD4⁺ T 细胞可分为 Th1 细胞、Th2 细胞两种独立的各具有不同的特殊的细胞因子谱和生物学功能的细胞亚群,并且用之解释获得性免疫相关现象^[3]。而 AD 就被认为是经典的 Th1/Th2 失衡类型的皮肤疾病,Th1、Th2 细胞参与免疫主要是通过分泌不同的细胞因子,细胞因子间相互交叉调节、相互抑制,从而形成动态平衡。一旦此动态平衡被打破,机体便会因为 Th1 占优势或 Th2 占优势形成 Th1/Th2“漂移”状态而发病。

Th17 细胞是近年来新发现的 CD4⁺ T 细胞亚群,其在免疫应答、自身免疫中均有重要的意义^[4]。Th17 细胞以分泌在 IL-17 和 IL-21、IL-23 等因子为主要特征,IL-17 的生理作用主要表现在炎症反应的介导,中性粒细胞的动员、募集和活化,以及参与自身免疫性、感染性疾病的病程等^[5-6]。本研究得出 IL-17、IL-23 在 AD 中明显升高,且 IL-17 的升高与 AD 严重程度(SCORAD 评分)明显相关,提示 AD 患者的发病免疫学机制不但有 Th1/Th2 细胞失衡的因素,同时有 Th17 细胞失衡的因素。马蕾等^[7]通过检测外周血中 Th17 细胞,也发现并推测其高表达可能是 AD 发病中异常免疫反应重要原因。在 AD 病程中,慢性期至急性期发展过程中 Th1/Th2 平衡的“漂移”可能与 Th17 细胞增多有关。IL-23 也主要是 Th17 细胞所分泌,它的主要作用在于调节促进 Th17 细胞的生长、促进分泌 IL-17 等^[8]。本研究检测到 IL-23 明显升高,从而使 Th1/Th2/Th17 平衡向 Th17 细胞方向,即炎症加重方向“漂移”,促进了 AD 的病程。IFN- γ 、IL-4 和 IL-21 是 Th17 细胞的负性调节因子^[9];在本研究中 IFN- γ 、IL-21 无明显变化,但 IFN- γ /IL-17 明显降低,可见机体无法产生足够的 Th17 细胞抑制因子,在整个免疫调节机制中也使 Th1/Th2/Th17 平衡向炎症加重方向“漂移”,免疫反馈调节已经受到一定的破坏,无法改变机体过度免疫的状态,炎症的产生与加重在所难免。

本研究所采用新型生物学检测方法-流式荧光技术,符合科学技术发展的需要。被国内外学者应用于检测血浆、泪液、痰等不同标本中不同的细胞因子,其检测结果与 ELISA 法比较,两者相关性好,流式荧光技术动力学线性范围也比 ELISA 宽、灵敏度更高^[10-13]。

综上所述,AD 患者外周血清细胞因子中,无论 Th1/Th2、Th1/Th17 均存在相应的平衡的“漂移”,提示平衡的打破在 AD 的病程中起了相应的重要作用,其相应的细胞因子相互作用、相互抑制,构成了一个复杂的细胞因子网络。由此得出,Th1/Th2/Th17 失衡可能是 AD 发病的重要免疫学机制。而本试验不足在于没有同时使用流式荧光技术检测 AD 外周血中的 Th1、Th2、Th17 细胞的具体数量的变化,有待于进一

步检测和扩大样本检测。

参考文献

- [1] Magombedze G, Reddy PB, Eda S, et al. Cellular and population plasticity of helper CD4⁺ T cell responses [J]. *Frontiers Physiology*, 2013(4):206.
- [2] Qu N, Xu M, Mizoguchi I, et al. Pivotal roles of T-helper 17-related cytokines, IL-17, IL-22, and IL-23, in inflammatory diseases [J]. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013(14):293.
- [3] Ichiyama K, Yoshida H, Wakabayashi Y, et al. Foxp3 inhibits ROR γ mediated IL-17A mRNA transcription through direct interaction with ROR γ [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(25):17003-17008.
- [4] Tokura Y. Th17 cells and skin diseases. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2012; 35(5):388-392.
- [5] Yu Y, Liu Y, Shi FD, et al. Cutting edge: Leptin-induced ROR γ t expression in CD4⁺ T cells promotes Th17 responses in systemic lupus erythematosus [J]. *J Immunol*, 2013, 190(7):3054-3058.
- [6] Niino M. Recent prognosis on etiology and pathophysiology of multiple sclerosis [J]. *Nihon Rinsho*, 2013, 71(5):807-810.
- [7] 马蕾,薛海波,周荣佼,等. 特应性皮炎患者外周血调节性 T 细胞与 Th17 细胞平衡状态分析 [J]. *中华皮肤科杂志*, 2012, 45(7):481-484.
- [8] Yu J, Oh MH, Park JU, et al. Epicutaneous exposure to staphylococcal superantigen enterotoxin B enhances allergic lung inflammation via an IL-17A dependent mechanism [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):e39032.
- [9] Noh G, Lee J. Atopic dermatitis and cytokines: the immunoregulatory and therapeutic implications of cytokines in atopic dermatitis—part II: negative regulation and cytokine therapy in atopic dermatitis [J]. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, 2012, 6(3):248-261.
- [10] Coppola D, Szabo M, Boulware D, et al. Correlation of osteopontin protein expression and pathological stage across a wide variety of tumor histologies [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(10):184-190.
- [11] 王敏仪,洪顺家,江燕,等. 液相芯片技术检测卵泡液中细胞因子水平的可行性研究 [J]. *中国妇幼保健*, 2012(11):1696-1702.
- [12] Takano S, Tsuboi K, Tomono Y, et al. Tissue factor, osteopontin, alphavbeta3 integrin expression in microvasculature of gliomas associated with vascular endothelial growth factor expression [J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(12):1967-1973.
- [13] Staples E, Ingram RJ, Atherton JC, et al. Optimising the quantification of cytokines present at low concentrations in small human mucosal tissue samples using Luminex assays [J]. *Immunol Methods*, 2013, 394(1/2):1-9.