

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.16.011

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190614.1326.033.html(2019-06-14)

树突状细胞相关细胞因子在系统性红斑狼疮患者血清中的表达及意义*

陈方如,蒙 坚,刘群英,黄 熙[△]

(桂林医学院附属医院皮肤性病科,广西桂林 541001)

[摘要] **目的** 研究树突状细胞相关细胞因子在系统性红斑狼疮(SLE)患者血清中的表达及意义。**方法** 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 30 例 SLE 患者(SLE 组)及 15 例健康体检者(对照组)血清中 IL-6、IL-10 和 IL-23 水平,比较两组间的差异并分析其与临床的相关性。**结果** SLE 组血清 IL-6、IL-10 及 IL-23 水平均明显高于对照组($P<0.01$);SLE 疾病治疗指数(SLEDAI)评分与 IL-6($R^2=0.89, P<0.01$)、IL-10($R^2=0.85, P<0.01$)均呈显著正相关;SLE 患者 24 h 尿蛋白、抗核抗体(ANA)、抗双链 DNA(dsDNA)抗体及补体水平异常均与 IL-6 表达水平相关($P<0.01$),IL-10 水平与 24 h 尿蛋白、抗 dsDNA 抗体、补体水平异常也相关($P<0.05$)。**结论** 树突状细胞相关细胞因子参与 SLE 炎症形成过程,其中 IL-6、IL-10 可反映 SLE 病情轻重,并可作为临床表型的潜在生物学标记。

[关键词] 红斑狼疮,系统性;树突细胞;白细胞介素-6;白细胞介素-10;白细胞介素-23

[中图分类号] R593 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)16-2747-03

Expression and significance of dendritic cell related factors in serum of patients with systemic lupus erythematosus*

CHEN Fangru, MENG Jian, LIU Qunying, HUANG Xi[△]

(Department of Dermatology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541001, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression and significance of dendritic cell related factors in serum of patients with systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** Serum levels of IL-6, IL-10 and IL-23 were measured by ELISA in 30 patients with SLE (SLE group) and 15 healthy controls (control group). The difference in two groups and their correlations with clinic features were analyzed. **Results** The serum levels of IL-6, IL-10 and IL-23 in the SLE group were significantly higher than those in the control group($P<0.01$). The changes of levels of IL-6 ($R^2=0.89, P<0.01$) and IL-10($R^2=0.85, P<0.01$) were positive correlated with SLE disease activity index(SLEDAI). Furthermore, IL-6 level in SLE patients was associated with 24 h urine protein, ANA, anti-dsDNA antibody and complement levels ($P<0.01$), and IL-10 level was also associated with 24 h urine protein, anti-dsDNA antibodies, and complement levels ($P<0.05$). **Conclusion** Dendritic cell related factors are involved in the process of SLE inflammation. IL-6 and IL-10 can reflect the severity of SLE and may serve as a potential biomarker for clinical phenotype.

[Key words] lupus erythematosus, systemic; dendritic cells; interleukin-6; interleukin-10; interleukin-23

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是可以造成多系统、多器官功能损害的经典自身免疫性疾病,其发病机制仍有许多问题有待阐明^[1]。近年来固有免疫在 SLE 发生发展中的作用越来越受到重视,树突状细胞(dendritic cells, DCs)的相关研究便是其中之一。在各种炎症信号的刺激下,DCs 会产生各种细胞因子,从而诱导 T 细胞、B 细胞的增殖与活化,病理情况下则会导致严重的自身免疫反应,产生大量自身抗体^[2-3]。因此,本研究选择与

DCs 关系密切的细胞因子 IL-6、IL-10 和 IL-23,检测它们在 SLE 患者中的表达水平,及其与临床表型的联系,以探讨 SLE 炎症形成的机制,为临床开展个体化靶向治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 7 月至 2017 年 12 月在本院皮肤科就诊的 SLE 患者共 30 例作为 SLE 组,其中男 1 例,女 29 例,年龄 10~63 岁,平均 32.5 岁,病程 2 个月至 15 年。SLE 诊断符合美国风湿病协会

1997 年修正的分类标准^[4]。对照组 15 例为本院健康体检者,其中男 1 例,女 14 例,年龄 22~50 岁,平均 28.1 岁。各组年龄、性别构成差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究获得本院伦理委员会批准,并得到患者知情同意。

1.2 标本及临床资料采集 清晨采集 SLE 组患者和对照组体检者空腹静脉血 5 mL,置于乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝试管中,静置 30 min 后,3 000 r/min 离心 5 min,留取上层血清分装于 1 mL EP 管,置于-80 °C 冰箱冻存待测。所有患者均采集临床资料,包括 SLE 疾病活动指数(SLE disease activity index, SLE-DAI)^[5]、24 h 尿蛋白、抗核抗体(ANA)、抗双链 DNA(ds-DNA)抗体、补体等。所有研究对象相关实验室检查均由本院检验科完成。

1.3 细胞因子的测定 人血清 IL-6、IL-10 和 IL-23 细胞因子水平测定采用酶联免疫吸附试验(ELISA),试剂盒由北京达科为公司提供,严格按说明书操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据统计分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。两变量之间的相关性采用 Spearman 相关分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SLE 组与对照组 IL-6、IL-10 和 IL-23 表达差异的比较 SLE 组血清 IL-6、IL-10 及 IL-23 水平均明显高于对照组,两组比较差异均有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 SLE 患者血清中 IL-6、IL-10 及 IL-23 表达水平($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

项目	SLE 组($n=30$)	对照组($n=15$)	P
IL-6	28.03±9.02	9.59±4.42	<0.01
IL-10	40.46±15.23	16.82±7.73	<0.01
IL-23	114.46±15.60	66.42±21.28	<0.01

2.2 IL-6、IL-10 和 IL-23 表达与 SLE 患者病情活动的关联性 SLE 病情活动按 SLEDAI 评分来判断,30 例患者中 7 例大于或等于 15 分,9 例 10~14 分,10 例 5~9 分,4 例小于 5 分。将每例 SLE 患者相应的 IL-6、IL-10 和 IL-23 水平与 SLEDAI 评分进行直线相关分析,结果显示, SLEDAI 评分与 IL-6($R^2=0.89$, $P<0.01$)、IL-10($R^2=0.85$, $P<0.01$)均呈显著正相关,见图 1。

2.3 IL-6、IL-10 和 IL-23 表达与实验室指标的关联性 SLE 患者中,24 h 尿蛋白量 ≥ 500 mg 组的血清 IL-6($P<0.01$)及 IL-10($P=0.02$)水平显著高于 24 h 尿蛋白量 <500 mg 组。ANA 滴度 $\geq 1:320$ 组的血清 IL-6($P<0.01$)水平显著高于 ANA 滴度 <320 组。抗 dsDNA 抗体阳性组血清 IL-6 及 IL-10($P<0.01$)水平显著高于阴性组。补体水平低下组的血清 IL-6($P<0.01$)及 IL-10($P=0.03$)水平显著高于正常组。IL-23 的表达水平与 24 h 尿蛋白、ANA、抗 dsDNA 抗体及补体指标均无相关性($P>0.05$)。见表 2。

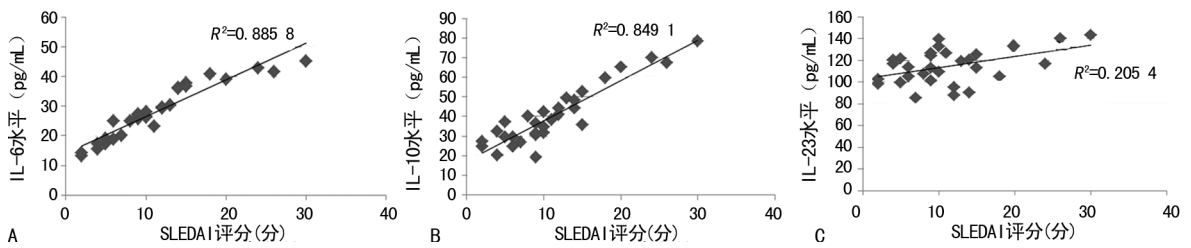


图 1 IL-6、IL-10、IL-23 表达水平与 SLEDAI 评分的关系

表 2 IL-6、IL-10 和 IL-23 表达与实验室指标的关联性($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

项目	组别	IL-6	IL-10	IL-23
24 h 尿蛋白	≥ 500 mg	33.53±7.63	46.64±17.46	114.03±16.86
	<500 mg	21.73±5.87	33.39±8.05	114.94±14.64
P		<0.01	0.02	0.88
ANA 滴度	$\geq 1:320$	33.08±6.80	46.83±15.43	117.88±16.74
	$<1:320$	19.29±4.51	29.45±5.79	108.54±11.85
P		<0.01	0.15	0.12
抗 dsDNA 抗体	阳性	33.83±6.81	48.16±15.82	116.51±17.18
	阴性	20.44±4.98	30.39±5.78	11.77±13.44
P		<0.01	<0.01	0.42
补体水平	低下	33.38±8.10	45.98±18.15	117.17±15.05
	正常	21.90±5.48	34.15±7.53	111.35±16.18
P		<0.01	0.03	0.32

3 讨 论

SLE 临床表型复杂,其发病机制与遗传异质性、免疫调节异常等多种因素有关。天然免疫系统是人体保护自身的第一道防线,其中 DCs 连接着天然免疫与获得性免疫,其释放的各种细胞因子参与了诱导免疫耐受或启动免疫应答过程。本研究发现 SLE 患者血清中 IL-6、IL-10 和 IL-23 水平均较健康人群明显升高,它们与 DCs 有着较为密切的关系,在 SLE 炎症反应过程中可能发挥着重要的作用。

本研究中 SLEDAI 评分与 IL-6、IL-10 水平存在显著正相关关系,表明这两个指标对 SLE 的疾病活动情况具有一定的预测价值。同时 24 h 尿蛋白、ANA、抗 dsDNA 抗体及补体水平低下均与血清 IL-6 表达水平升高相关,而 IL-10 水平与 SLE 患者 24 h 尿蛋白、抗 dsDNA 抗体、补体水平异常也相关,这提示 IL-6 和 IL-10 可能主要从促进自身抗体的形成及肾脏损害两个方面参与了 SLE 的发病过程。既往研究发现,IL-6 可以促进细胞中心的活化和分化,参与系统性自身免疫及炎症反应的形成。在 DCs 中,IL-6 水平异常升高可造成细胞的功能缺陷,打破免疫耐受平衡^[6-7]。狼疮鼠模型中 IL-6 缺陷,可以延缓疾病的发展,减少 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的数量,减少肾小球 IgG 和 C3 的沉积。外源性 IL-6 可以促使 B 细胞产生的 DNA 增加,目前鼠人嵌合抗人 IL-6R 单抗 Tocilizumab 被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于类风湿关节炎(RA)治疗,但感染风险的增加限制了它的应用^[8-9]。DCs 分泌的 IL-10 是一个关键调节分子,如其表达异常则无法终止过度 T 细胞反应所造成的慢性炎症和组织损伤^[10]。TEITZ-TENNENBAUM 等^[11]发现,如果阻断 IL-10 信号通路,则不同类型 DCs 比例将发生变化,进而可抑制免疫性炎症反应的程度。目前,在中国 SLE 人群中证实了 IL-10 的基因易感性,有研究提出 IL-10 可以作为 SLE 疾病活动度的预测指标^[12-13]。

DCs 在受到炎症信号刺激后会产生产生 IL-23,这对效应细胞 Th1 和 Th17 的活化有十分重要的影响,而且还参与了自身免疫性滤泡 Th 细胞的扩增^[14-15]。FISCHER 等^[16]报道,IL-23 与狼疮肾、SLE 患者肥胖及外周血管炎有关,还有研究报道 IL-23 的表达水平与 SLE 病情活动度密切相关^[17]。但是本研究发现 IL-23 的表达水平与 SLE 病情活动、24 h 尿蛋白、ANA、抗 dsDNA 抗体及补体指标无明显相关性,研究结果的差异性可能与种族人群不同有关,且本研究样本量较小,还需大样本研究进一步验证。

人体内各种免疫细胞产生了大量的细胞因子,反之细胞因子又影响着免疫细胞的分化、成熟和活化;它们之间相互作用形成了维持免疫平衡的复杂网络。DCs 是天然免疫和获得免疫之间的重要桥梁,与 DCs

功能有关的细胞因子中,IL-6、IL-10 及 IL-23 与之存在何种调控关系,以及在免疫网络中与其他细胞因子、免疫细胞之间的联系都还需深入探究。综上所述,IL-6、IL-10 在 SLE 中的表达水平改变可以考虑作为新的潜在生物学标记应用于评估 SLE 的疾病活动,且为 SLE 个体化治疗的靶点提供了新的线索。

参考文献

- [1] LISNEVSKAIA L, MURPHY G, ISENBERG D. Systemic lupus erythematosus [J]. *Lancet*, 2014, 384 (9957): 1878-1888.
- [2] SAAS P, VARIN A, PERRUCHE S, et al. Recent insights into the implications of metabolism in plasmacytoid dendritic cell innate functions: Potential ways to control these functions [J]. *F1000Res*, 2017, 6: 456.
- [3] MOK M Y. Tolerogenic dendritic cells: role and therapeutic implications in systemic lupus erythematosus [J]. *Int J Rheum Dis*, 2015, 18(2): 250-259.
- [4] HOCHBERG M C. Updating the american college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(9): 1725.
- [5] GLADMAN D D, IBANEZ D, UROWITZ M B. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000 [J]. *J Rheumatol*, 2002, 29(2): 288-291.
- [6] TANG M, DIAO J, GU H, et al. Toll-like receptor 2 activation promotes tumor dendritic cell dysfunction by regulating IL-6 and IL-10 receptor signaling [J]. *Cell Rep*, 2015, 13(12): 2851-2864.
- [7] ESMAEILI S A, MAHMOUDI M, MOMTAZI A A, et al. Tolerogenic probiotics: potential immunoregulators in Systemic Lupus Erythematosus [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(8): 1994-2007.
- [8] TANAKA T, NARAZAKI M, KISHIMOTO T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 6(10): a16295.
- [9] JORDAN S C, CHOI J, KIM I, et al. Interleukin-6, a cytokine critical to mediation of inflammation, autoimmunity and allograft rejection; therapeutic implications of IL-6 receptor blockade [J]. *Transplantation*, 2017, 101(1): 32-44.
- [10] SCHULKE S. Induction of interleukin-10 producing dendritic cells as a tool to suppress allergen-specific T helper 2 responses [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 455.
- [11] TEITZ-TENNENBAUM S, VIGLIANTI S P, ROUSSEY J A, et al. Autocrine IL-10 signaling promotes dendritic cell type-2 activation and persistence of murine cryptococcal lung infection [J]. *J Immunol*, 2018, 201(7): 2004-2015.
- [12] LV T T, WU J, LI J, et al. Association of interleukin-10 gene single nucleotide polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in a Chinese population [J]. *Gene*, 2018, 642: 549-554.
- [13] REYNOLDS J A, MCCARTHY E M, (下转第 2754 页)

测量 30 s 吸吮负压,而非监测完整的哺乳过程,可能导致结果的偏倚;此外,产后早期大量配方奶的添加可能影响新生儿吸吮模式;本研究局限于一家医院,样本量有限,还需要进一步多中心大样本研究。

参考文献

- [1] GERNAND E, KONIG S. Genetic relationships among female fertility disorders, female fertility traits and productivity of Holstein dairy cows in the early lactation period [J]. *J Anim Breed Genet*, 2017, 134(5): 353-363.
- [2] SRIRAMAN N K. The nuts and bolts of breastfeeding: anatomy and physiology of lactation [J]. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*, 2017, 47(12): 305-310.
- [3] YERGA J, CALZADA J, MANTECA X, et al. Lactation and suckling behavior in the Iberian lynx [J]. *Zoo Biol*, 2016, 35(3): 216-221.
- [4] GEDDES D T, KENT J C, MITOULAS L R, et al. Tongue movement and intra-oral vacuum in breastfeeding infants [J]. *Early Hum Dev*, 2008, 84(7): 471-477.
- [5] ZHANG F, YANG Y, BAI T, et al. Effect of pumping pressure on onset of lactation after caesarean section: a randomized controlled study [J]. *Matern Child Nutr*, 2017, 14(1): e12486.
- [6] THAKKAR P A, ROHIT H R, RANJAN D R, et al. Effect of oral stimulation on feeding performance and weight gain in preterm neonates: a randomised controlled trial [J]. *Paediatr Int Child Health*, 2018, 38(3): 181-186.
- [7] MCGUIRE E. Cleft lip and palates and breastfeeding [J]. *Breastfeed Rev*, 2017, 25(1): 17-23.
- [8] MIZUNO K, UEDA A. Changes in sucking performance from nonnutritive sucking to nutritive sucking during breast- and bottle-feeding [J]. *Pediatr Res*, 2006, 59(5): 728-731.
- [9] LINDNER A. Measurement of intra-oral negative air pressure during dummy sucking in human newborn [J]. *Eur J Orthod*, 1991, 13(4): 317-321.
- [10] PRIETO C R, CARDENAS H, SALVATIERRA A M, et al. Sucking pressure and its relationship to milk transfer during breastfeeding in humans [J]. *J Reprod Fertil*, 1996, 108(1): 69-74.
- [11] HUANG Y Y, LEE J T, HUANG C M, et al. Factors related to maternal perception of milk supply while in the hospital [J]. *J Nurs Res*, 2009, 17(3): 179-188.
- [12] SAKALIDIS V S, WILLIAMS T M, HEPWORTH A R, et al. A comparison of early sucking dynamics during breastfeeding after cesarean section and vaginal birth [J]. *Breastfeed Med*, 2013, 8(1): 79-85.
- [13] CANNON A M, SAKALIDIS V S, LAI C T, et al. Vacuum characteristics of the sucking cycle and relationships with milk removal from the breast in term infants [J]. *Early Hum Dev*, 2016, 96: 1-6.
- [14] KRON R E, STEIN M, GODDARD K E. Newborn sucking behavior affected by obstetric sedation [J]. *Pediatrics*, 1966, 37(6): 1012-1016.
- [15] NUGRAHA G I, HERMAN H, ALISJAHBANA A. Intergenerational effects of maternal birth weight, BMI, and body composition during pregnancy on infant birth weight: Tanjungsari Cohort Study, Indonesia [J]. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2017, 26(Suppl 1): S19-25.
- [16] RASMUSSEN K M, KJOLHEDE C L. Prepregnant overweight and obesity diminish the prolactin response to suckling in the first week postpartum [J]. *Pediatrics*, 2004, 113(5): e465-471.
- (收稿日期: 2019-03-04 修回日期: 2019-04-18)
- (上接第 2749 页)
- HAQUE S, et al. Cytokine profiling in active and quiescent SLE reveals distinct patient subpopulations [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 173.
- [14] LEAL R I, MOK W H, PEARSON F E, et al. Human blood CD1c(+) dendritic cells promote Th1 and Th17 effector function in memory CD4(+) T cells [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 971.
- [15] KIM H Y, KIM S K, SEO H S, et al. Th17 activation by dendritic cells stimulated with gamma-irradiated *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Mol Immunol*, 2018, 101: 344-352.
- [16] FISCHER K, PRZEPIERA-BEDZAK H, SAWICKI M, et al. Serum interleukin-23 in polish patients with systemic lupus erythematosus: association with lupus nephritis, obesity, and peripheral vascular disease [J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 1-9.
- [17] DAI H, HE F, TSOKOS G C, et al. IL-23 limits the production of IL-2 and promotes autoimmunity in lupus [J]. *J Immunol*, 2017, 199(3): 903-910.
- (收稿日期: 2019-03-01 修回日期: 2019-04-24)