

系统性红斑狼疮患者外周血 IL-17 和 IL-35 水平变化及与疾病活动度的关系

齐振勇¹ 李宏博¹ 朱会娟¹ 葛俊丽¹ 桂花²

1.山东省寿光市人民医院,山东 寿光 262700;2.寿光市东城医院,山东 寿光 262700

【摘要】 目的 本课题主要检测系统性红斑狼疮(SLE)患者体内细胞因子 IL-17 和 IL-35 的表达。方法 随机选取 2020 年 8 月—2021 年 3 月在寿光市人民医院风湿免疫科就诊的 SLE 病人 183 例、体检中心健康体检者 50 例作为研究对象,探讨两种细胞因子与 SLE 疾病进展的关系。结果 (1)与对照组相比,SLE 组患者血清 IL-17 浓度增高明显($P<0.05$);(2)SLE 组 IL-35 表达水平下降($P<0.05$),活动组 IL-35 血清浓度明显低于稳定组和正常对照组(P 均 <0.05)。 (3)不同病理分型的 LN 组间 IL-17、IL-35 的蛋白和基因水平表达差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 :IL-17 在 SLE 患者中表现为蛋白和基因水平的高表达,并随着病情加重而增高;IL-35 在 SLE 患者体内分泌减少,并与常见 SLE 病情评估指标有一定相关性;狼疮肾炎(LN)患者体内存在 IL-17 的高表达和 IL-35 的低表达,提示二者均与 LN 的疾病进展相关,但在 LN 进展为不同病理类型的过程中所发挥的作用还有待验证。

【关键词】 系统性红斑狼疮;狼疮肾炎;白细胞介素 17;白细胞介素 35;酶联免疫吸附试验;实时荧光定量聚合酶链反应

1 引言

SLE 作为病因不明,侵犯多个器官、组织的自身免疫类疾病,多发于育龄期妇女。LN 作为 SLE 普遍且危害极大的并发症,发病概率高达 60%。细胞因子分泌失调在 SLE 疾病进程中发挥了至关重要的作用^[5]。细胞因子在 SLE 发病机制中的作用有待验证。本文以 2020 年 8 月—2021 年 12 月我院就诊的 SLE 患者为研究对象,对 IL-17 和 IL-35 的表达水平进行了评估。具体分析如下:

2 资料与方法

2.1 一般资料 选取 2020 年 8 月—2021 年 3 月在我院风湿免疫科确诊的 SLE 病人 183 例,根据 SLE 的疾病活动度指数(SLEDAI)分为活动组(≥ 10 分,127 例)和稳定组(<10 分,56 例);根据是否存在肾脏损害分为狼疮肾炎组(98 例)和非狼疮肾炎组(85 例),狼疮肾炎组根据病理类型进一步分型;选取慈铭健康查体中心的健康体检者 40 例作为对照组。研究对象的一般资料无

明显差异,可以进行统计分析。

2.2 研究方法 留取研究对象的空腹血液标本,应用荧光标记的实时定量多聚酶链反应评估静脉血的单个核细胞 IL-35、IL-17 两种亚基的基因表达水平;应用酶联免疫吸附技术评估血清 IL-17、IL-35 的蛋白表达水平。应用胶体金快速斑点渗滤技术评估患者血清中抗 ds-DNA 的抗体水平,免疫透射比浊法评估血清 C3、C4 浓度及 24h 尿蛋白含量,收集试验结果,进行数据的统计和分析。

3 结果

(1)IL-17 在 SLE 患者中表现为蛋白和基因水平的高表达,并随着病情加重而增高,提示 IL-17 与 SLE 疾病发生发展关系密切。

(2) IL-35 在 SLE 患者体内分泌减少,并与常见 SLE 病情评估指标有一定相关性,提示 IL-35 参与了 SLE 的发病。

(3)LN 患者体内存在 IL-17 的高表达和 IL-35 的低表达,提示二者均与 LN 的疾病进展相关,但在 LN

进展为不同病理类型的过程中所发挥的作用还有待验证。

4 讨 论

作为侵犯机体多种器官以及组织的自身免疫疾病,细胞因子间的相互作用逐步被认为是影响 SLE 疾病进展的关键因素之一。细胞因子可以调控 SLE 患者的固有以及适应性的免疫应答系统。

IL-17 作为主要由 Th17 细胞生成的加剧炎症反应的细胞因子,在人体固有的免疫调节和对外来病原体的免疫防御中发挥了关键作用。IL-17 能够促进各种趋化因子的生成并能诱导前列腺素-2 和 IL-6 的产生,增强局部组织炎症浸润。本研究通过 ELISA 和 RT-PCR 两种方式对 SLE 患者静脉血里的 IL-17 进行了蛋白和基因水平的检测,并对其与 SLE 的疾病活动性指数和常用的实验室检测指标进行了相关分析发现:在 SLE 组患者血清中 IL-17 的水平明显升高。IL-17mRNA 的水平也显著高于健康对照组,说明 IL-17 参与了 SLE 发病;统计相关分析后发现 IL-17 浓度与 SLEDAI 正相关,说明 IL-17 与 SLE 疾病活动度关系密切,并能够在一定程度上反映 SLE 病情严重程度,有望作为判断 SLE 病情的检测指标之一。

IL-12 家族具备异源二聚体的结构特点,不同成员共用部分亚基,相应的受体也存在交叉和重叠,这一特殊性赋予 IL-12 家族独特的免疫学性能,使其成为感染和自身免疫调控的关键因素。IL-12 家族的成员有 IL-12、IL-23、IL-27 以及最近确认的 IL-35。与家族中的促炎因子 IL-12、IL-23 相比,IL-35 作为主要由 Tregs 细胞产生的强效免疫抑制细胞因子,能够影响淋巴细胞分化,并在感染性和自身免疫类疾病的免疫调控中发挥重要作用。IL-35 通过与其受体结合发挥生物学作用。IL-35 的受体为 IL-12R β 2 与 gp130 两种亚基组成,IL-35 跟对应的受体接合后,经 STAT1 及 STAT4 传导生物学信号,并通过正反馈调节机制增强 IL-35 的生成。多项研究表明 IL-35 通过刺激 Tregs 的增殖,减少致炎细胞因子的产生从而缓解炎症反应,防止发生针对健康细胞核组织的免疫损伤,在活化 T 细胞,诱导 T 淋巴细胞的进一步增殖以及调控细胞因子的生成方面发挥重要作用。作为 Treg 细

胞发挥其免疫负向调控作用的主要因子,IL-35 在多种疾病中参与炎症反应免疫调节,如胶原诱导性的关节炎、实验性的结肠炎、自身免疫性的脱髓鞘炎、肿瘤以及糖尿病等,与疾病进展关系密切。

本研究通过对 183 例 SLE 患者体内 IL-35 蛋白和基因水平的检测,探讨 IL-35 在 SLE 疾病进程中所起到的作用和临床意义。检测结果显示:与正常对照组相比,IL-35 在 SLE 患者体内的血清浓度明显降低,疾病活动组明显低于疾病稳定组。可见 IL-35 在阻止 SLE 疾病进程中起到了非常关键的作用,与 SLE 的病情进展密切相关。低浓度的 IL-35 不能有效的抑制 IL-17 介导的自身免疫反应,使得免疫平衡被破坏,免疫炎症反应过度扩散,加剧了 SLE 病情。外源补充 IL-35 或加强其生物学活性能否改善 SLE 病情值得进一步探讨。另外虽然 IL-35 血清含量与 SLEDAI 评分不相关,但与反映 SLE 病情的常用实验室检测指标如补体 C3、24h 尿蛋白含量及抗 ds-DNA 水平间存在一定的相关性,可见 IL-35 有望成为反映 SLE 病情变化的实验室检测指标之一。研究结果还表明 SLE 患者 IL-35 和 IL-17 血清蛋白浓度水平存在负相关,提示 IL-35 可能通过协助 Treg 细胞增殖和抑制 Th17 细胞的分化与成熟达到抑制炎症扩散的目的。IL-35 与 SLE 的特征性致病抗体抗 ds-DNA 抗体^[4]负相关,提示 IL-35 可能通过抑制效应 T 细胞介导的细胞溶解作用,减少自身抗原的释放,从而削减免疫复合物的累积^[5],减慢 SLE 的病情发展。

此外,实验还发现构成 IL-35 的两种亚基的 mRNA 表达水平并不平行,EIB3 的基因表达水平低于 p35。EIB3 缺陷可引起 Th1 和 Th17 细胞应答增强,多种致炎因子分泌增多,推测 EIB3 亚基是 IL-35 发挥免疫抑制功能必不可少的关键因素。本研究中 SLE 患者外周血中 EIB3 亚基的 mRNA 相对表达水平下调,与 IL-35 的血清表达情况一致。SLE 患者体内 EIB3 mRNA 下调后转录合成的 EIB3 亚基减少,相应的与 P35 亚基结合形成的 IL-35 也减少,致使 Treg 细胞无法充分扩增,IL-35 的正反馈分泌调节受阻,IL-17 过度表达,引发免疫损伤。研究发现 p35 亚基在 SLE 患者外周血中 mRNA 的表达增高,推测 EIB3 和 p35 两种亚基的表达分别受到不同的信号通路的调控,在表达动

力学上存在一定的差异。而且 IL-35 分别与 IL-12 家族的成员 IL-12 共享 p35 亚基,与 IL-27 共享 EBI3 亚基。EBI3 和 p35 两亚基基因表达水平也可能受 SLE 患者体内 IL-12 和 IL-27 的表达水平的影响。推测 SLE 病人体内有不止一种的细胞因子的反常分泌。

狼疮肾炎患者体内 IL-17、IL-35 表达水平。研究结果表明 LN 患者体内存在 IL-17 的高表达和 IL-35 的低表达,提示二者与 SLE 患者的肾脏损害关系密切。对于 IL-17 在 LN 发病中的作用,目前多数科研都是针对狼疮小鼠开展的。与健康小鼠相比,MRL/lpr 狼疮小鼠模型 IL-17 的表达水平明显升高,而应用抗 IL-17 多克隆抗体干预的小鼠体内,IL-17 的表达水平及肾脏病理损害程度较轻,提示 IL-17 密切参与 LN 的疾病进程。本研究中 LN 组与非 LN 组之间 IL-35 的表达水平存在明显差异,可见 IL-35 作为抑制炎症反应的细胞因子,在 LN 的疾病进程中也发挥了重要作用,但在不同病理类型的 LN 组间 IL-17 和 IL-35 的表达均无明显差异,二者具体如何干预 LN 的发生发展还有待更深层次的研究,目前国内外对 IL-35 与 LN 疾病进程是否相关也尚无定论,有待进一步的大样本、多层面的科学研究来论证。

SLE 的常规治疗手段以糖皮质激素、细胞毒药物和免疫抑制剂作为基础,同时注意控制和预防微生物感染,针对每位患者病情制定个体化治疗方案。尽管糖皮质激素类激素与免疫抑制制剂对 SLE 有非常明显的功效,但也存在很大弊端。伴随着 SLE 病因的不断清晰,大量生物制剂也应运而生。生物制剂能够根据疾病发生发展的机理,选择性地抑制自身反应的效应淋巴细胞,阻断信号转导,直接抑制或增强某些细胞因子活性,达到缓解疾病的目的。目前应用于 SLE 治疗的生物制剂一般从以下几个方面着手达到缓解 SLE 病情的目的:细胞因子的产生与调节,抑制 T、B 淋巴细胞活化,抑制补体活化与沉积等。有临床实验数据表明,针对 IL-17 的细胞因子治疗在免疫介导炎症性疾病中显示出治疗效果,并具有一定的安全性;IL-35 被证实是重要的

发挥负向免疫调节功能的细胞因子,在 Treg 细胞发挥其免疫应答的过程中起着十分关键的调控作用,并与多种临床疾病密切相关。拮抗或者促进 IL-35 的表达对维持机体免疫平衡具有重要意义,有望成为 SLE 生物治疗的新靶点。由于人体内的新陈代谢更为复杂,生物制剂的安全性和长期疗效尚有待验证。

5 结束语

综上所述,IL-17 和 IL-35 与 SLE 病情发展密切相关,但是由于多种限制条件的存在,基因和蛋白分泌水平的高低不一定能够反映其实际生物学效力的强弱。二者能否作为反映 SLE 病情的常规实验室检测指标,是否能够安全有效的应用于 SLE 的临床治疗,还有待于优化设计,加深研究层次,进行进一步的研究和探讨,以期 SLE 病情评估判断、生物制剂方向的靶向治疗提供更加可靠的理论参考依据。

参考文献

- [1] 王涛,赵皓,余暄,等.白介素 17A 受体在系统性红斑狼疮患者外周血 B 淋巴细胞的表达及意义[J].细胞与分子免疫学杂志,2012,28(3):301-303.
- [2] 牟琳,张卓莉.2015 年系统性红斑狼疮研究新进展[J].中华临床免疫和变态反应杂志,2016,10(3):276-280.
- [3] 何援军,黄德东,来晓维,施洁.狼疮性肾炎患者血清白细胞介素-17 和白细胞介素-23 表达及意义[J].中华临床免疫和变态反应杂志,2016,16(2):117-124.
- [4] Almogren A. Anti-double stranded antibody. Association with titers and fluorescence patterns of anti-nuclear antibody in systemic lupus erythematosus [J]. Saudi Medical Journal, 2010, 31(1): 32.
- [5] Mei S, Ma X. The immunobiology of interleukin-35 and its regulation and gene expression [M]. Springer Netherlands, 2016.