

# 系统性红斑狼疮患者血清中 IL-17 的检测及临床意义

张 静 慈春增<sup>△</sup> 王晓东 刘润荣 刘占诺

(潍坊医学院 山东 潍坊 261053)

**摘要** 目的 通过检测系统性红斑狼疮(SLE)患者外周血中 IL-17 的水平,探讨其临床意义。方法 用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测 61 例 SLE 患者及 30 例健康人血清 IL-17 水平,并收集整理 SLE 患者的临床资料及实验室数据,分析其与临床的关系。结果 活动期 SLE 患者血清 IL-17 水平明显高于正常对照组( $P<0.01$ ),与 SLE 非活动组相比,差异亦有统计学意义( $P<0.01$ )。但 SLE 非活动组与正常对照组间无统计学意义。结论 IL-17 水平在活动期 SLE 患者血清中表达明显增高,且与 SLEDAI 评分呈正相关,提示 IL-17 可能参与了 SLE 疾病的病理过程,可能与疾病活动的关系密切。

**关键词** 系统性红斑狼疮;白介素 17;系统性红斑狼疮疾病活动性指数;酶联免疫吸附

中图分类号 R593.241 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)09-1704-03

## The Detection and Clinical Significance of Serum IL-17 in Patients with Systemic Lupus Erythematosus

ZHANG Jing, CI Chun-zeng<sup>△</sup>, WANG Xiao-dong, LIU Run-rong, LIU Zhan-nuo

(Wei Fang Medical University, Wei Fang, 261053 China)

**ABSTRACT Objective:** To analyze the levels of interleukin 17 (IL-17) in the peripheral blood of patients with SLE, and to investigate the clinical significance. **Methods:** IL-17 levels were assessed in 61 SLE patients and 30 normal controls by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). And the clinical and laboratory data of the patients were collected. To explore the relationship between IL-17 and clinical of SLE patients. **Results:** The plasma concentration of IL-17 was significantly elevated in SLE patients as compared to the normal control group ( $P<0.01$ ). Compared with patients with inactive SLE, the levels of IL-17 had the statistic differences, and there showed no statistic differences between patients with inactive SLE and normal controls. **Conclusion:** IL-17 in the sera of untreated SLE patients is significantly higher, and the levels of them are positively correlated with SLEDAI scores. The results suggest that IL-17 may play an important role in the pathogenesis of SLE, especially in active SLE.

**Key words:** Systemic lupus erythematosus; Interleukin-17; SLEDAI; Enzyme linked immunosorbent assay

**Chinese Library Classification(CLC):** R593.241 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2012)09-1704-03

### 前言

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种临床表现有多系统损害症状的慢性系统性自身免疫性疾病,突出表现为体内辅助性 T 淋巴细胞和多克隆 B 淋巴细胞的高度活化,其血清具有以抗核抗体为主的大量不同的自身抗体。SLE 病因及发病机制尚未明了,可能与遗传易感基因、环境、病原体、雌激素、药物等因素有关,其发病机制涉及 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、单核细胞及补体系统等多个免疫组分的异常。

近年来,在研究自身免疫系统疾病的动物模型中发现了一群新的 CD4<sup>+</sup>T 细胞-Th17 细胞,他们高水平的分泌 IL-17,可诱导多种不同的细胞产生多种炎症介质<sup>[1]</sup>,如内皮细胞、成纤维细胞,从而引发局部或全身的炎症反应。如果阻断 Th17 细胞或 IL-17 的生成,则疾病病情得到很好的控制<sup>[2-4]</sup>。另有研究表明<sup>[5]</sup> Th17 细胞可促进 B 淋巴细胞产生免疫球蛋白,增强 B 淋巴

细胞的功能。本研究通过测定 SLE 患者及健康者外周血中的 IL-17 水平,来探讨其与 SLEDAI 的关系及可能的致病机制。

### 1 材料与方法

#### 1.1 研究对象

61 例 SLE 患者均来自 2005 年 6 月-2010 年 7 月潍坊医学院附属医院门诊及住院的患者,诊断均符合 1997 年美国风湿病协会修正的 SLE 分类诊断标准<sup>[6]</sup>。其中,男 9 例,女 52 例,年龄 18~55 岁,平均年龄(32.49±11.80)岁。所有患者入院前未使用免疫抑制剂或停用免疫抑制剂至少 3 个月以上。30 例正常对照组,均为潍坊医学院附属医院同期间健康体检者。其中,男 6 例,女 24 例,年龄 21~56 岁,平均年龄(31.32±8.65)岁。所有 SLE 患者均按照系统性红斑狼疮疾病活动指数(SLEDAI)进行计分, SLEDAI≥10 分为病情活动期, SLEDAI<10 分为非病情活动期;其中活动组 31 例,非活动组 30 例。经 SPSS17.0 统计软件分析,一般资料差异无统计学意义。

#### 1.2 诊断标准

SLEDAI 评分内容:抽搐(8 分)、精神异常(8 分)、脑器质性症状(8 分)、视力下降(8 分)、颅神经受累(8 分)、狼疮头痛(4 分)、脑血管意外(8 分)、血管炎(8 分)、关节炎(4 分)、肌炎

作者简介 张静(1985-),女,硕士研究生,电话:13696365384,主要研究方向:细胞因子与 RA、SLE 等风湿性疾病的关系  
<sup>△</sup>通讯作者 慈春增,潍坊医学院附属医院风湿科,电话:13905361033, E-mail:13905361033@163.com  
(收稿日期:2011-07-09 接受日期:2011-08-06)

(4分)、管型尿(4分)、血尿(4分)、蛋白尿(4分)、脓尿(4分)、新出皮疹(2分)、脱发(2分)、发热(1分)、血小板减少(1分)、白细胞减少(1分)。根据患者前10天内是否出现上述症状而定,凡总分在10分或10分以上者则考虑为疾病活动。

### 1.3 研究方法

1.3.1 标本收集 用肝素钠抗凝管采集所有受试者空腹静脉血2mL,全血以3000r/min离心8分钟,吸出上层血浆,低温冰箱保存待测。

1.3.2 主要实验仪器及试剂 超低温冰箱(青岛海尔特种电器有限公司)、低速台式自动平衡离心机LD5-2B型(北京京立离心机有限公司)、DG5031型酶联免疫检测仪(北京华运安特科技有限责任公司)、微量移液器(深圳市赛泰克生物科技有限公司)、人IL-17 ELISA试剂盒(美国Chemicon公司),酶标仪(model550型,美国Bio-rad公司)。

1.3.3 检测原理及方法 原理 ELISA检测试剂盒应用定性夹心免疫检测技术,用合成的HEV多肽抗原包被微孔板板条,这些多肽是中国型HEV毒株核心氨基酸序列中抗原性很强的肽段,分别来自于该毒株的开放阅读框2和开放阅读框3。将样品或标准品加入孔中并孵育,如果其中存在HEV IgM抗体,这些抗体就会与HEV的多肽抗原结合,并固定在上面,洗板除去其它非特异性抗体和样品中的其它成份。然后加入羊抗人IgM-HRP(辣根过氧化物酶)酶结合物,经第二次孵育后,酶结合物就会与第一次孵育结合上的HEV IgM抗体相结合,洗板除去未结合的酶结合物,加入TMB底物溶液,在第三次孵育时会发生酶-底物反应,只有那些含有HEV IgM抗体和酶结合物所形成的复合物的孔才会发生颜色变化,加入硫酸溶液终止酶和底物间的反应,并在波长:450nm处测量O.D.值,按照本HEV IgM抗体elisa试剂盒的测试标准,O.D.值大于或等于

Cut-Off值的样品被认为是初试阳性。

方法:1)使用前,将所有试剂充分混匀。2)根据待测样品数加上标准品的数决定所需的板条数。标本按标本稀释液1:1稀释后加入50 $\mu$ l于反应孔内。3)加入稀释好后的标准品50 $\mu$ l于反应孔,加入待测样品50 $\mu$ l于反应孔内。立即加入50 $\mu$ l的生物素标记的抗体。盖上膜板,轻轻振荡混匀,37 $^{\circ}$ C温育1小时。4)甩去孔内液体,每孔加满洗涤液,振荡30秒,甩去洗涤液,用吸水纸拍干。重复此操作3次。5)每孔加入80 $\mu$ l的亲链酶素-HRP,轻轻振荡混匀,37 $^{\circ}$ C温育30分钟。6)甩去孔内液体,每孔加满洗涤液,振荡30秒,甩去洗涤液,用吸水纸拍干。重复此操作3次。7)每孔加入底物A、B各50 $\mu$ l,轻轻振荡混匀,37 $^{\circ}$ C温育10分钟。避免光照。8)取出酶标板,迅速加入50 $\mu$ l终止液,加入终止液后应立即测定结果。9)在450nm波长处测定各孔的OD值。根据标准品浓度及OD值得出规律,最后根据待测样品的OD值计算出相应的IL-17含量。

1.3.4 统计方法 采用SPSS17.0统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析,计数资料用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SLE患者血浆IL-17水平及其与疾病活动度的关系

SLE活动组患者血浆IL-17水平明显高于非活动组和正常对照组( $P < 0.01$ 和 $P < 0.01$ );而SLE非活动组患者血浆IL-17水平与正常对照组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

### 2.2 SLE患者血浆IL-17水平与SLEDAI评分的关系

SLE活动组和非活动组IL-17的升高与疾病活动评分SLEDAI之间存在正相关关系( $P < 0.01$ ),见表1。

表1 SLE患者血浆IL-17的检测水平及与SLEDAI的相关关系( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 SLE patients plasma IL-17 detection level and the SLEDAI correlation( $\bar{x} \pm s$ )

指标 The indicators	正常对照组 The normal control group(n=30)	SLE患者 SLE patients	
		活动组 The active group(n=31)	非活动组 The inactive group(n=30)
IL-17水平(pg/ml)	16.38 $\pm$ 4.62	40.77 $\pm$ 14.29 <sup>##</sup>	
SLEDAI	19.79 $\pm$ 7.46*	18.08 $\pm$ 7.01	8.60 $\pm$ 4.15

Note: <sup>※</sup> compared with the normal control group  $P < 0.01$ ; <sup>#</sup> compared with the inactive group  $P < 0.01$ ; \* compared with the inactive group  $P < 0.05$

## 3 讨论

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种可累及全身多个器官、组织的自身免疫性疾病,好发于青春期和育龄女性,病因尚不清楚,其致病机制十分复杂,目前普遍认为可能与遗传、环境、病毒等因素有关。众多研究已经发现T细胞来源的细胞因子在人类SLE发病机制中的潜在作用。目前认为IL-17是由一独立的CD4<sup>+</sup>T细胞亚群所分泌,这一亚群细胞既不同于Th1也不同于Th2,它们不表达IL-4或IFN- $\gamma$ ,却高水平分泌IL-17,因此被命名为Th17细胞<sup>[7]</sup>。目前在

RA、系统性硬化、银屑病及哮喘等自身免疫系统或过敏性疾病的患者体内都已发现有IL-17的高表达<sup>[8]</sup>,提示IL-17参与这类疾病的发生或发展。文献<sup>[9]</sup>认为SLE活动期患者外周血经完全刺激培养后,IL-17蛋白水平明显升高,与SLE活动指数呈正相关。然而Kurasawa等<sup>[10]</sup>报道在狼疮患者血清中并未测到IL-17水平升高,却发现系统性硬化患者血清中IL-17水平明显升高。目前SLE患者体内是否存在高水平的IL-17仍未得到公认。

本研究通过ELISA检测方法对SLE患者血浆中IL-17水平进行了检测,也对其临床意义进行了研究,发现IL-17在活

动组 SLE 患者血浆中的水平明显增高,而非活动组 SLE 患者血浆 IL-17 水平略高于正常对照组,但差异无明显统计学意义。为进一步明确血浆 IL-17 水平与 SLE 疾病活动度的关系,将 IL-17 水平与 SLEDAI 评分进行了相关性分析,结果发现二者存在着正直线相关关系,说明 SLE 患者血浆 IL-17 水平与疾病活动度关系密切。该结果与 Wong<sup>[11,12]</sup>等的研究结果相似,与 Zhao 等<sup>[13]</sup>的实验结果不同,后者虽然发现 SLE 患者体内 IL-17 水平是增高的,但认为 IL-17 与 SLEDAI 无相关性。

本研究对 IL-17 在 SLE 患者血浆中的水平进行了检测,同时对其临床意义进行了初步探讨,发现 SLE 患者体内 IL-17 水平明显升高,与疾病活动明显相关,提示 IL-17 在 SLE 发病过程中起重要作用,且其水平高低可反映 SLE 疾病的活动性。由于目前对 Th17 细胞及其相关细胞因子在 SLE 患者中的研究较少,对于其在 SLE 发病过程中的意义尚无定论。并且更多的研究表明<sup>[14,15]</sup>Th17 细胞及其相关细胞因子在 SLE 患者中表达率升高,可能参与了 SLE 的病理过程,深入研究 Th17 细胞的功能将有助于对 SLE 发病机制的了解,可为今后 SLE 的治疗提供新的思路。

#### 参考文献(References)

- [1] Ghilardi N, Ouyang W. Targeting the development and effector function of Th17 cells[J]. *Semin Immunol*, 2007,19(6):383-393
- [2] Nakae S, Nambu A, Sudo K, et al. Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice [J]. *J Immunol*, 2003, 171(11):6173-6177
- [3] Cua DJ, Scherlock J, Chen Y, et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain[J]. *Nature*, 2003, 421(6924):744-748
- [4] Murphy CA, Langrish CL, Chen Y, et al. Divergent pro-and anti-inflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation[J]. *J Exp Med*, 2003, 198(12): 1951-1957
- [5] Dong GF, Ye RG, Li YJ, et al. Systemic lupus erythematosus outside individual nucleus cell IL-17 express preliminary observation [J]. *Bacteriol*, 2001, 21(4):435-436
- [6] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 1997,40:1725
- [7] Harrington LE, Mangan PR, Weaver CT. Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage [J]. *Curr Opin Immunol*, 2006,18: 349-356
- [8] Chang SH, Dong C. A novel heterodimeric cytokine consisting of IL-17 and IL-17F regulates inflammatory responses [J]. *Cell Res*, 2007,17: 435-440
- [9] Komiya Y, Nakae S, Matsuki T, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 2006,177:566-573
- [10] Kurasawa K, Hirose K, Sano H, et al. Increased interleukin-17 production in patients with systemic sclerosis [J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43: 2455-2463
- [11] Wong CK, Lit LC, Tam LS, et al. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: Implications for Th 17-mediated inflammation in auto-immunity [J]. *Clin Immunol*, 2008, 127(3):385-393
- [12] Bettelli E, Korn T, Oukka M, et al. Induction and effector functions of T(H)17 cells[J]. *Nature*, 2008, 453(7198):1051-1057
- [13] Zhao XF, Pan HF, Yuan H, et al. Increased serum interleukin-17 in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37: 81-85
- [14] Xu Xue, Xue Yu, Lv Ling, et al. Systemic lupus erythematosus peripheral blood IL-17 and auxiliary T cells of detection and significance of 17 [J]. *Chinese Journal of Rheumatology*, 2010, 14(10):672-676
- [15] Liu GX, Ye RG, Dong GF et al. Interleukin 17 in a systemic lupus erythematosus outside individual expression of nuclear cells [J]. *Chinese Journal of Internal Medicine*, 2002, 41(1):47