

# 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 $(32.49 \pm 11.80)$ 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健康体检者。其中,男 6 例,女 24 例,年龄 21~56 岁,平均年龄 $(31.32 \pm 8.65)$ 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  $\geq 10$  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 等风湿疾病的关系  
**△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分,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 50μl 于反应孔内。3) .加入稀释好后的标准品 50μl 于反应孔、加入待测样品 50μl 于反应孔内。立即加入 50μl 的生物素标记的抗体。盖上膜板,轻轻振荡混匀,37℃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 80μl 的亲链酶素 -HRP,轻轻振荡混匀,37℃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 50μl,轻轻振荡混匀,37℃温育 10 分钟。避免光照。8) .取出酶标板,迅速加入 50μl 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 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<br>The indicators | 正常对照组<br>The normal controlgroup (n=30) | SLE 患者<br>SLE patients         |                                   |
|----------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
|                      |                                         | 活动组<br>The active group (n=31) | 非活动组<br>The inactive group (n=30) |
| IL-17 水平 (pg/ml)     | 16.38± 4.62                             | 40.77± 14.29 ※#                |                                   |
| SLEDAI               | 19.79± 7.46*                            | 18.08± 7.01                    | 8.60± 4.15                        |

Note ※ compared with the normal control group P<0.01 # 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+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-γ,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 Th17-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