

慢性阻塞性肺病患者 IL-21 表达及其与其他细胞因子的相关性^{*}

吴莹莹¹, 许浦生² (1. 广东省佛山市南海区第三人民医院 528000; 2. 广州医科大学附属第二医院, 广州 510000)

【摘要】 目的 探讨白细胞介素-21(IL-21)在慢性阻塞性肺疾病(COPD)炎性反应中的作用。**方法** 采用辅助性 T 细胞 1/2/17(Th1/Th2/Th17)定量抗体芯片检测稳定期 COPD 组、健康吸烟组、健康无吸烟组研究对象的血清 IL-21、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-17(IL-17)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)等细胞因子的表达水平,并同时检测各组的肺通气功能。**结果** 稳定期 COPD 组患者 IL-21 的表达水平与 IL-6、IL-10、TGF- β 1 呈显著正相关(r 值分别为 0.902、0.589、0.683,均 $P < 0.01$);与 IL-17 也呈正相关($r = 0.313, P < 0.05$)。**结论** IL-21 在 COPD 的发病过程中起重要促炎作用,可作为一种有效治疗手段。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病; IL-6; IL-10; IL-17; TGF- β 1; IL-21

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.11.002 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)11-1501-03

The level of IL-21 in serum of patients with stable COPD and its correlation with IL-6, IL-10, IL-17, IL-21, TGF- β 1^{*}

WU Ying-ying¹, XU Pu-sheng² (1. The Third People's Hospital of Nanhai, Foshan, Guangdong 528000, China; 2. Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510000, China)

【Abstract】 Objective Explore the role of IL-21 in COPD inflammatory reaction, improve the understanding of the pathogenesis of the disease. **Methods** Using the Th1/Th2/Th17 Quantibody Array Glass Chip to test the level of IL-21, IL-6, IL-10, IL-17, TGF- β 1 in serum of stable COPD group, healthy smoking group and healthy non-smoking group, and simultaneous detection of pulmonary function in each group. **Results** In stable group of COPD, the expression of IL-21 in blood and IL-6, IL-10, TGF- β 1 expression showed a significant positive correlation (r values were 0.902, 0.589, 0.683, all $P < 0.01$). IL-21 and IL-17 were positively correlated (r value of 0.313, $P < 0.05$). **Conclusion** IL-21 plays a pro-inflammatory role in the development process in COPD.

【Key words】 chronic obstructive pulmonary disease; IL-6; IL-10; IL-17; TGF-beta1; IL-21

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种可以预防和治疗常见病、多发病, COPD 是以持续存在的气流受限为特征的呼吸道疾病,其气流受限为不完全可逆,病情呈逐年进展,且反复急性加重^[1]。有研究表明, COPD 的发生、发展与一些炎性细胞及其相关因子的失调密切相关,尤其是对辅助性 T 细胞 17(Th17)/Treg 相关因子^[2-3]。目前 Th17/Treg 相关细胞因子白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-17(IL-17)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)等在 COPD 发病机制中已有较明确的报道,但 Th17 分泌的细胞因子白细胞介素-21(IL-21)在 COPD 发病机制中尚未明确。本研究检测稳定期 COPD 患者血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-21、TGF- β 1 等细胞因子水平,以及 IL-21 与 IL-6、IL-10、IL-17、TGF- β 1 的相关性分析,探讨 IL-21 在 COPD 炎性反应中的作用,提高对该病发生机制的认识。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 1 月至 2014 年 1 月在广州医科大学附属第二医院呼吸内科门诊确诊为 COPD(标准参照 2011 年 COPD 全球倡议发布的“慢性阻塞性肺疾病全球策略”)、且 3 个月内无咳嗽、咳痰症状急性加重的患者为稳定期 COPD 组,共 40 例。收集同期该院体检中心健康体检者为健康对照

组,再根据是否有吸烟史分为健康吸烟组(20 例)、健康无吸烟组(20 例)。所有研究对象均已被告知需研究的内容,并签署知情同意书。所有受试者均排除各种可能影响实验结果的疾病,如支气管扩张、支气管哮喘、肺结核、充血性心力衰竭、自身免疫性疾病等,且 3 个月内无使用全身激素(包括口服及静脉应用),可使用 β 受体激动剂、抗胆碱能药物等支气管舒张剂。

1.2 方法

1.2.1 一般临床资料 所有研究对象的姓名、性别、年龄、电话、地址、职业、吸烟史、家族史、是否咳嗽、咳痰等相关症状。

1.2.2 外周血采集 抽取所有研究对象清晨空腹(禁食 8 h 或以上)外周血(肘部),约 5 mL,置于干燥管,自凝 30 min 后,3 000 r/min,离心 10 min,吸取上清液摇匀, -80 ℃ 冰箱保存,同时进行 IL-6、IL-10、IL-17、IL-21、TGF- β 1 检测。

1.2.3 白细胞介素检测 采用 Th1/Th2/Th17 定量抗体芯片检测血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-21、TGF- β 1 水平。试剂盒由美国 Ray Biotech 公司生产,按试剂盒操作说明书进行。

1.2.4 肺通气功能检查 标准及操作规程参照 2005 年美国胸科学会与欧洲呼吸学会(ATS/ERS)指南,使用院肺功能室 Jaeger 肺功能仪,每 1 次肺功能检查均由同一位熟练的技术人员进行操作,使用相同的技术指标,包括用力肺活量(FVC)、

^{*} 基金项目:广东省科技厅课题(TYX-20132001)。
作者简介:吴莹莹,女,硕士,医师,主要从事慢性阻塞性肺疾病研究。

FVC%、第 1 秒用力呼吸容积 (FEV1)、FEV1%、FEV1/FVC、呼气峰值流速 (PEF)、用力呼气流量 (FEF) 25%、FEF50%、FEF75%、FEF25~75% 等肺功能参数。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析,经检验数据符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较使用单因素方差分析。2 组间比较采用独立样本 t 检验。应用 Pearson 进行相关性检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组研究对象细胞因子结果比较 3 组研究对象血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-21、TGF- β 1 之间的水平,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。稳定期 COPD 组患者 IL-6 较健康无吸烟

组显著升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),较健康吸烟组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。稳定期 COPD 组 IL-10、IL-17、IL-21、TGF- β 1 较健康吸烟组、健康无吸烟组,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。健康吸烟组 IL-6、IL-10、IL-17、IL-21、TGF- β 1 较健康无吸烟组,差异也无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 细胞因子相关性分析结果 采用 Pearson 相关分析法进行相关性检验,结果显示稳定期 COPD 组患者血清 IL-21 的表达水平与 IL-6、IL-10、TGF- β 1 呈显著正相关 (r 分别为 0.902、0.589、0.683,均 $P < 0.01$);与 IL-17 呈正相关 ($r = 0.313$, $P < 0.05$)。见表 2。

表 1 3 组研究对象细胞因子结果比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	IL-6	IL-10	IL-17	IL-21	TGF- β 1
稳定期 COPD 组	7.64 $\pm$ 15.43*	30.80 $\pm$ 42.31	0.40 $\pm$ 0.84	1 588.76 $\pm$ 7 493.94	90.15 $\pm$ 266.71
健康吸烟组	4.01 $\pm$ 5.67	18.90 $\pm$ 20.67	0.82 $\pm$ 1.85	1 266.24 $\pm$ 2 264.94	53.67 $\pm$ 134.75
健康无吸烟组	1.50 $\pm$ 2.32	17.91 $\pm$ 14.01	0.48 $\pm$ 1.26	174.26 $\pm$ 359.08	18.46 $\pm$ 30.19
F	2.055	1.428	0.730	0.449	0.863
P	0.135	0.246	0.485	0.640	0.426

表 2 细胞因子相关性分析结果

变量 1	变量 2	r	P
IL-21	IL-6	0.902	< 0.01
IL-21	IL-10	0.589	< 0.01
IL-21	IL-17	0.313	< 0.05
IL-21	TGF- β 1	0.683	< 0.01

3 讨 论

COPD 的发生、发展与肺部吸入有害气体 (如烟草、烟雾等)或颗粒的异常炎性反应有关系,这些气体或颗粒不仅可以引起 COPD 患者肺部的局部炎性反应,同时还可引起全身炎性反应。有研究表明,COPD 的发生、发展与一些炎性细胞及其相关因子的失调有密切关系,尤其是 Th17/Treg 相关因子^[4-5]。

IL-21 是 2000 年被发现的、由 Th17 细胞分泌的新型细胞因子,是一种具有多功能的 I 型细胞因子,其在淋巴细胞的发育、增殖和分化过程中发挥着关键作用,尤其是在抗体产生和浆细胞成熟过程。目前很多研究也证明 IL-21 参与了多种自身免疫性炎性疾病的发生、发展,如风湿性关节炎、感染性肠病、系统性红斑狼疮、糖尿病、肿瘤等,所以 IL-21 也被作为自身免疫性炎性疾病治疗中的一种关键因子和治疗靶位。气道、肺实质和肺血管的慢性炎性是 COPD 的特征性改变,IL-21 在慢性炎性过程中,是否也起到相关作用,目前仍未见相关报道。

众多研究表明,由 Th17/Treg 细胞分泌的 IL-6、IL-10、IL-17、TGF- β 1 在 COPD 发病中起重要作用,其中 IL-6、IL-17 为促炎因子,IL-10 为抑炎因子,TGF- β 1 为调节因子。现在已有学者把这些因子作为治疗靶位,并进行研究,取得一定成果。而 Th17 细胞分泌的 IL-21 是否也起到一定作用,有待进一步研究。本组检测稳定期 COPD 患者、健康吸烟者、健康无吸烟者血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-21、TGF- β 1 表达水平,发现稳定

期 COPD 患者血中 IL-21 的表达水平与 IL-6、IL-10、IL-17、TGF- β 1 有明显的相关性,说明同样由 Th17 细胞分泌的 IL-21 在 COPD 的发病中起到一定的作用,这些细胞因子之间存在相互关系,最终导致 COPD 的发生、发展。

促炎因子 IL-17 具有强大的促进免疫功能作用,可直接募集中性粒细胞至气道,进一步加重炎性^[6]。有研究报道,IL-6 可诱导 Th17 细胞分泌 IL-17,同时 IL-6 可以上调 IL-21 mRNA 的表达,而 IL-21 也可以上调 IL-21 mRNA 表达,说明 IL-21 有自分泌调节作用^[7]。IL-21 一方面以自分泌方式分化 Th17 细胞,增大 Th17 细胞反应,且高表达,启动和(或)维持 Th17 或 Th1 等细胞介导的炎性反应^[8-10];另一方面可通过 IL-21/IL-21R 系统,引起 CD8+T 细胞增殖和调亡,产生高水平的 γ -干扰素、穿孔素和粒酶 B,提高细胞毒性反应,使其在肺部 Th1/Tc1 炎性中起重要促进作用^[11]。IL-21 同时可以增加体外由活化的 T 细胞产生的 IL-17,显示 IL-21 在 COPD 的发病机制中扮演了一个潜在的角色^[12]。本研究表明,稳定期 COPD 组、健康吸烟组 IL-21 水平均较健康无吸烟组高,稳定期 COPD 组 IL-21 与同期 IL-6、IL-17 呈正相关,提示 IL-21 在 COPD 的发生发展过程中起促炎作用,为促炎因子。

大鼠试验中,IL-21 能抑制 Treg 细胞分化和刺激 Th17 细胞分化^[13]。目前相关研究认为,Treg 细胞分泌的 IL-10 及 TGF- β 1 在免疫调节作用中起至关重要作用。IL-21 能抑制 Treg 细胞分化,从而减少 Treg 细胞分泌 IL-10 和 TGF- β 1 的数量,破坏 COPD 发病过程中 Th17/Treg 免疫调节平衡,促进 COPD 和肺气肿发生、发展。本研究结果显示,稳定期 COPD 组 IL-21 与同期 IL-10、TGF- β 1 也呈正相关,可能原因为促炎性细胞因子和抑炎性细胞因子共同参与 COPD 炎性过程,在疾病发展的稳定期,机体通过自身调节,使 IL-10、TGF- β 1 数量升高,从而减少组织损伤,起抗炎作用。因此,IL-21 在 COPD 的发病过程中起重要的促炎作用,对 IL-21 的阻断和抑制可作为一种有效治疗手段。

综上所述,IL-21 可通过对 IL-6、IL-10、IL-17、TGF- β 1 等因子的调节在稳定期 COPD 中发挥作用,而其具体作用机制仍有待进一步的研究。本研究并未对稳定期 COPD 患者进行分级研究,了解 IL-21 在 COPD 各级的表达水平,有助于进一步明确其在 COPD 发病中的作用,可作为今后的研究方向之一。

参考文献

[1] Pauwels RA, Buist AS, Calverley PMA, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respirat Crit Care Med, 2012, 163(5): 216-218.

[2] Eisenstein EM, Williams CB. The Treg/Th17 cell balance: a new paradigm for autoimmunity [J]. Pediatric Res, 2009, 65(24): 26-31.

[3] 黄慧, 陆志伟, 姜纯国, 等. T 辅助细胞 17 在结节病发病中的作用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(9): 655-658.

[4] 赵庆琪, 姚加平. COPD 患者血清 IL-6, IL-8, hs-CRP 和 IL-18 检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2012, 25(4): 404-406.

[5] Pape HC, van Griensven M, Rice J, et al. Major secondary surgery in blunt trauma patients and perioperative cytokine liberation: determination of the clinical relevance of biochemical markers[J]. Journal of Trauma-Injury, Infection, and Critical Care, 2001, 50(6): 989-1000.

[6] Liang SC, Long AJ, Benneett F, et al. An IL-17F/A heterodimer protein is produced by mouse Th17 cells and in-

duces airway neutrophil recruitment[J]. J Immunol, 2007, 179(18): 7791-7799.

[7] 徐胜, 韩岩梅. IL-21 通过自分泌途径诱导 Th17 分化[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 4(2): 15-16.

[8] Zhou L, Ivanov I, Spolski R, et al. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways[J]. Nat Immunol, 2007, 8(5): 967-974.

[9] Korn T, Bettelli E, Gao W, et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H) 17 cells [J]. Nature, 2007, 448(82): 484-487.

[10] Monteleone G, Monteleone I, Fina D, et al. Interleukin-21 enhances T-helper cell type I signaling and interferon-gamma production in Crohn's disease[J]. Gastroenterology, 2005, 128(31): 687-694.

[11] White L, Krishnan S, Strbl N, et al. Differential effects of IL-21 and IL-15 on preforin expression, lysosomal degranulation, and proliferation in CD8 T cells of patients with human immunodeficiency virus-1 (HIV) [J]. Blood, 2007, 109(19): 387-3880.

[12] Hoeve MA, Savage NDL, de Boer T, et al. Divergent effects of IL-12 and IL-23 on the production of IL-17 by human T cells[J]. Eur J Immunol, 2006, 36(3): 661-670.

[13] 黄慧, 陆志伟, 姜纯国, 等. T 辅助细胞 17 在结节病发病中的作用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(9): 655-658.

(收稿日期: 2014-12-22 修回日期: 2015-02-11)

(上接第 1500 页)

断, 适合在肿瘤筛查中应用^[8-10]。在 SCLC 临床诊治中, 将 Pro-GRP 和 NSE 联合进行动态监测, 可以有助于 SCLC 患者的早期诊断及预后评价。Pro-GRP 患者治疗后的动态观察, 对于早期发现易转移复发的高危 SCLC 患者有重要意义^[11]。

参考文献

[1] 毛友生, 高燕宁, 赫捷, 等. 肺癌分子生物学特性与转移和预后的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 2006, 8(8): 632-634.

[2] 王慈杰, 李学祥, 高佳, 等. 血清 Pro-GRP、TPS 及 NSE 在小细胞肺癌患者治疗监测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 34(1): 12-15.

[3] 李学祥, 周善良, 王慈敏, 等. 四种肿瘤标志联合检测在小细胞肺癌中的临床价值[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(13): 1011-1015.

[4] Aoyagi K, Yamaguchi K, Urakami K, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay of pro-gastrin-releasing peptide for small cell lung cancer patients in comparison with neuron-specific enolase measurement[J]. J Cancer Res, 1995, 86(9): 698-705.

[5] Okusaka T, Eguchi K, Kasai T, et al. Serum levels of pro-gastrin-releasing peptide for follow-up of patients with small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 1997, 3(6):

123-127.

[6] 王敏, 吕萌, 史小芹, 等. 胃泌素释放肽前体和神经元特异性烯醇化酶对小细胞肺癌诊断的差异及联合检测[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 36(8): 1008-1012.

[7] Niho S, Nishiwaki Y, Goto K, et al. Significance of serum pro-gastrin-releasing peptide as a predictor of relapse of small cell lung cancer: comparative evaluation with neuron-specific enolase and carcinoembryonic antigen [J]. Lung Cancer, 2000, 27(2): 159-167.

[8] 马清光, 邓嘉佳, 沈丽, 等. 血清胃泌素释放肽前体诊断小细胞肺癌价值的系统评价[J]. 中国循证医学杂志, 2010, 10(7): 869-874.

[9] 秦家谦, 吴金燕. 胃泌素释放肽前体作为小细胞肺癌标记物的临床意义探讨[J]. 热带医学杂志, 2012, 12(7): 861-863.

[10] 金欣, 陈建魁, 佟雅丽, 等. 血清 Pro-GRP 对小细胞肺癌的诊断和疗效判断价值[J]. 军事医学科学院院刊, 2006, 30(4): 354-356.

[11] 荆结线, 杜丽莉, 徐晓琴, 等. Pro-GRP 对小细胞肺癌疗效与预后评价的价值[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(8): 711-712.

(收稿日期: 2014-12-25 修回日期: 2015-02-20)