

支气管哮喘患者血清白细胞介素 35 水平变化及意义

张耀源¹, 张 孔^{2*}

(1. 江门市中心医院//中山大学附属江门医院急诊科, 广东 江门 529030;

2. 中山大学附属第一医院呼吸内科, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】探讨支气管哮喘患者血清白细胞介素 35 水平变化及意义。【方法】将 45 例受试者分为支气管哮喘组(25 例)和健康对照组(20 例),测定支气管哮喘组患者未控制、部分控制后 1 周、控制后 1 周的血清白细胞介素 35(IL-35)水平及各项主要肺功能指标[包括第一秒用力呼气容积(FEV₁)与预计值的比值、用力肺活量(FVC)与预计值的比值、FEV₁与 FVC 的比值、呼气峰流量(PEF)与预计值的比值],以及未控制阶段的 FEV₁ 下降 20%的吸入药物累积浓度(PC20-FEV₁),测定健康对照组血清 IL-35 水平,分析哮喘患者与健康人血清 IL-35 水平的差异及其与哮喘控制水平、气道反应性的相关性。【结果】支气管哮喘组未控制、部分控制以及控制阶段血清 IL-35 浓度(pg/mL)分别为 141 ± 45 、 260 ± 84 、 366 ± 94 ,健康对照组血清 IL-35 浓度(pg/mL)为 396 ± 120 ,支气管哮喘组未控制、部分控制阶段血清 IL-35 水平均低于健康对照组(P 值均小于 0.001),支气管哮喘组控制阶段与健康对照组血清 IL-35 水平差异无统计学意义($P = 0.36$)。血清 IL-35 水平在未控制阶段低于部分控制阶段(95%置信区间为 $-163.10 \sim -73.65$, $P < 0.001$),部分控制阶段低于控制阶段(95%置信区间为 $-151.41 \sim -61.97$, $P < 0.001$)。哮喘患者血清 IL-35 水平与哮喘控制水平呈正相关,与 PC20-FEV₁ 无相关性。【结论】健康人与哮喘患者血清中均存在 IL-35 表达,血清 IL-35 水平可能可以作为哮喘控制水平评估的免疫学参考指标。

关键词: 支气管哮喘, 白细胞介素 35, FEV₁ 下降 20%的吸入药物累积浓度

中图分类号: R562.2+5

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2012)03-0398-04

Change of Serum Interleukin 35 Concentration in Asthma and Its Significance

ZHANG Yao-yuan¹, ZHANG Kong^{2*}

(1. Department of Emergency, Jiangmen Center Hospital//Jiangmen Affiliate Hospital, Sun Yat-sen University, Jiangmen 529030, China; 2. Department of Respiratory Medicine, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】 To explore changes and significance of serum interleukin-35 concentration in patients with bronchial asthma. 【Method】 Forty-five subjects were divided into two groups: bronchial asthma group with 25 patients and control group with 20 healthy subjects. To detect serum IL-35 concentrations of those uncontrolled, partly controlled and controlled after a week in the asthma group and their main pulmonary function indicators (including FEV₁/FEV₁ predicted value, FVC/FVC predicted value, FEV₁/FVC, PEF/PEF predicted value) and PC20-FEV₁ during uncontrolled period, and detect the serum IL-35 concentration of control group, and then analyze the difference of serum IL-35 concentration between both groups and the relevance of serum IL-35 concentration with asthma controlled level and airway reactivity. 【Result】 Serum IL-35 concentrations (pg/mL) during uncontrolled period, partly controlled period and controlled period were 141 ± 45 , 260 ± 84 , 366 ± 94 . Serum IL-35 concentration (pg/mL) in control group was 396 ± 120 . Serum IL-35 concentrations of asthma group during uncontrolled and partly controlled periods are lower than control group (t were respectively -9.427 and -4.458 , $P < 0.001$). There exists no significance difference between serum IL-35 concentrations in asthma group during controlled period and control group ($P = 0.36$). Serum IL-35 concentration during uncontrolled period is lower than that during partly controlled period (95% Confidence Interval: $-163.10 \sim -73.65$, $P < 0.001$), and serum IL-35 concentration during partly controlled period is lower than that during controlled period (95% Confidence Interval: $-151.41 \sim -61.97$, $P < 0.001$). IL-35 level of asthma patients shows positive correlation with asthma controlled level and shows no correlation with PC20-FEV₁. 【Conclusion】 There expresses IL-35 in serum of asthma patients and healthy persons. Serum IL-35 concentration may be

收稿日期: 2011-09-26

作者简介: 张耀源, 医学硕士, 医师, 研究方向: 支气管哮喘的诊治, E-mail: 529005793@qq.com; * 通信作者: 张孔, 主任医师, 研究方向: 呼吸系统疾病诊治, E-mail: zhangkong_sysu@163.com

used as index to test asthma controlled level.

Key words: bronchial asthma; interleukin 35; PC20FEV1

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2012, 33(3): 398-401]

支气管哮喘是一种慢性非特异性气道炎症性疾病,其病程的始终由多种炎症细胞和炎症介质参与,其中起主要作用的是Th2型细胞因子。Th1型细胞因子减少,Th2型细胞因子增多,可能是哮喘发病的关键机制^[1]。白细胞介素35(interleukin-35, IL-35)是近年发现的细胞因子,Collison^[2]等认为,IL-35可能是由调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)特异性产生的一种新的抑制性细胞因子,并且是其发挥最大的抑制效应所必需的一种细胞因子。该研究在小鼠身上证明CD4⁺CD25⁺Treg细胞表达IL-35,IL-35可以促使CD4⁺CD25⁺Treg细胞增殖且不会降低其抑制Th2细胞的能力,同时对Th2细胞的增殖有直接抑制作用。因此,可以推断IL-35在支气管哮喘的发生、发展过程中可能发挥重要作用。IL-35发现至今已经有14年,但发现之后对它的研究并不多,直到2007年Niedbala^[3]等和Collison^[2]等报道IL-35的生物学功能,我们对它才有一个初步的认识,目前国内外对于IL-35的研究仍处于起步阶段,无论是动物模型还是人体,尚无关于支气管哮喘与IL-35关系的研究报道。本研究通过测定、比较支气管哮喘患者不同控制阶段和健康人血清IL-35水平以及测定支气管哮喘患者未控制阶段的PC20FEV1,从蛋白水平层面初步了解IL-35在健康人以及哮喘患者血清中的表达、血清IL-35水平与哮喘控制水平和气道反应性的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

研究支气管哮喘组和健康对照组。支气管哮喘组来源于2010年7月-2011年4月就诊于中山大学附属第一医院呼吸内科门诊及收治呼吸内科病房的新发支气管哮喘患者,共入组34人,最后选择依从性好、能够完成完整随访计划的25人,其中男性14人,女性11人,哮喘组患者均无吸烟史,其诊断符合2008年中华医学会呼吸病学分会哮喘组支气管哮喘防治指南的诊断标准^[4],其控制水平分级符合2009年版的全球哮喘防治

创议(Global Initiative for Asthma,GINA)^[5]。各控制阶段治疗方案均按照2009版GINA制定。健康对照组来源于中山大学附属第一医院体检中心健康体检者,共20人,男性11人,女性9人,健康对照组20人均无吸烟史。排除近四周内使用过类固醇类药物、白三烯调节剂等炎症介质拮抗剂和其他细胞膜稳定剂,近3d使用过茶碱类、H₁受体拮抗剂、长效β₂受体激动剂。近1个月有上呼吸道感染病史,合并呼吸系统其他慢性疾病、心、肝、肾等其他系统疾病史,有肿瘤、自身免疫性疾病及其他慢性炎症疾病史,器官移植术后,妊娠及哺乳期妇女。

1.2 方法

1.2.1 血清IL-35水平的测定 取支气管哮喘患者及健康人外周血3 mL加入EDTA抗凝的一次性真空采血管中,4℃、3 000 r/min($r=13.5$ cm)离心10 min,取上清存放于-80℃冰箱统一测定。IL-35浓度的测定采用人IL-35 ELISA试剂盒(美国Groundwork Biotechnology Diagnosticate公司)按照说明书操作进行测定。

1.2.2 肺功能及PC20-FEV1的测定 使用美国SENSORMEDICS2100肺功能仪由本院肺功能技师操作测定支气管哮喘组患者未控制阶段的PC20FEV1以及不同控制阶段的肺通气功能,肺通气功能主要包括FEV1(Forced expiratory volume in one second)/FEV1预计值、FVC(Forced vital capacity)/FVC预计值、FEV1/FVC、PEF(Peak expiratory flow)/PEF预计值)

1.3 统计学分析

运用SPSS16.0统计软件,以 $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。哮喘组与健康对照组数据均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)来表示,支气管哮喘组与健康对照组数据比较采用 t 检验,哮喘各控制阶段数据间两两比较采用Bonferroni法,率的比较采用卡方检验,相关性研究采用Pearson相关分析。

2 结果

2.1 支气管哮喘组与健康对照组一般情况

支气管哮喘组与健康对照组的性别、年龄、身高、体质量差异均无统计学意义(表 1)。

表 1 支气管哮喘组与健康对照组一般情况
Table 1 Clinical characteristics in asthma group and control group

Clinical characteristics	Study group	Control group	<i>t</i> or χ^2	<i>P</i>
Sex, n (M/FM)	25(14/11)	20(11/9)	0.005	0.944
Age/year	38 ± 13	36 ± 8	0.481	0.633
Height/cm	165 ± 7	163 ± 8	0.708	0.483
Mass/kg	56 ± 7	57 ± 7	-0.742	0.462

2.2 支气管哮喘组与健康对照组 IL-35 水平

支气管哮喘组与健康对照组血清中均能检测出 IL-35 表达。支气管哮喘组未控制阶段血清 IL-35 水平为(141 ± 45) pg/mL,部分控制阶段为(260 ± 84) pg/mL,控制阶段为(366 ± 94) pg/mL,健康对照组为(396 ± 120) pg/mL。支气管哮喘组未控制阶段、部分控制阶段血清 IL-35 水平均低于健康对照组,差异有统计学意义(*t* 分别为-9.427、-4.458, *P* 均小于 0.001),支气管哮喘组控制阶段与健康对照组血清 IL-35 水平差异无统计学意义 (*t* =-0.921, *P*=0.36)。支气管哮喘组不同控制阶段比较显示,血清 IL-35 水平在未控制阶段低于部分控制阶段和控制阶段 (95%置信区间为-186.60 ~ -50.14, *P* <0.001),部分控制阶段低于控制阶段 (95%置信区间为-174.92 ~ -38.46, *P* < 0.001)。

2.3 血清 IL-35 水平与 PC20FEV1 的相关性

支气管哮喘组未控制阶段血清 IL-35 水平与未控制阶段 PC20FEV1 未见明显相关性 (*r*=-0.1, *P*=0.633)。

2.4 血清 IL-35 水平与 FEV1/FEV1 预计值、FVC/FVC 预计值、FEV1/FVC、PEF/PEF 预计值的相关性

支气管哮喘组血清 IL-35 水平与 FEV1/FEV1 预计值(*r*=0.487, *P*<0.001)、FVC/FVC 预计值(*r*=0.322, *P*=0.005)、PEF/PEF 预计值 (*r*=0.527, *P*< 0.001)呈正相关,与 FEV1/FVC 无明显相关性(*r*=0.034, *P*=0.77)。

2.5 支气管哮喘组不同控制水平 FEV1/FEV1 预计值、FVC/FVC 预计值、FEV1/FVC、PEF/PEF 预计值的变化

哮喘未控制阶段 FEV1/FEV1 预计值低于部分控制阶段 (95%置信区间-0.131 ~ -0.040, *P*< 0.001),部分控制阶段低于控制阶段 (95%置信区间-0.105 ~ -0.014, *P*=0.011)。哮喘未控制阶段 FVC/FVC 预计值低于控制阶段 (95%置信区间-0.179 ~ -0.045, *P*<0.001),未控制阶段和部分控制阶段、部分控制阶段和控制阶段差异均无统计学意义(*P* 值分别为 0.094、0.175)。哮喘未控制阶段 PEF/PEF 预计值低于部分控制阶段 (95%置信区间-0.213 ~ -0.064, *P*<0.001),部分控制阶段和控制阶段差异无统计学意义 (*P*=0.082)。FEV1/FVC 在各个控制阶段差异均无统计学意义 (*P* 值均大于 0.05,表 2)。

表 2 支气管哮喘组不同控制阶段 FEV1/FEV1 预计值、FVC/FVC 预计值、FEV1/FVC、PEF/PEF 预计值
Table 2 FEV1/FEV1 predicted value, FVC/FVC predicted value, FEV1/FVC, PEF/PEF predicted value of asthma patients in different controlled level (%)

Controlled level	FEV1/FEV1 predicted value	FVC/FVC predicted value	FEV1/FVC	PEF/PEF predicted value
Uncontrolled	90 ± 9	95 ± 10	85 ± 9	79 ± 15
Partly controlled	97 ± 8	101 ± 9	87 ± 7	93 ± 8
Controlled	105 ± 7	106 ± 10	88 ± 7	100 ± 7

2.6 血清 IL-35 水平与年龄的相关性

健康对照组血清 IL-35 水平与年龄未见明显相关性(*r*=0.294, *P*=0.209)

2.7 血清 IL-35 水平与性别的关系

健康对照组男性血清 IL-35 水平为 (406 ± 97) pg/mL,女性为(387 ± 141) pg/mL,男女之间血清 IL-35 水平的差异无统计学意义 (*t*=0.337, *P*=

0.74)。

3 讨 论

IL-35 是目前我们知道的为数不多的抑炎因子之一。Collison^[2]等认为,IL-35 可能是 CD4⁺CD25⁺ Treg 特异性分泌, 而且是其发挥最大的抑制效应

所必需的一种细胞因子。而 Bardel E^[6]等研究发现,在儿童及胎儿的胸腺、淋巴结、扁桃体、脾、肠道组织以及外周血提纯出来的 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 均不表达 IL-35。Liu F^[7]等报道,在慢性乙型肝炎患者外周血提纯的 CD4⁺T 细胞中可检测出 IL-35 表达,但健康对照组的外周血提纯的 CD4⁺T 细胞中未检测出 IL-35 表达。本研究发现,健康对照组与支气管哮喘组血清中均可检测出 IL-35,且健康对照组比支气管哮喘组未控制以及部分控制阶段血清 IL-35 水平高,而随着哮喘的逐渐控制,血清 IL-35 水平呈逐渐上升趋势,当支气管哮喘组达到控制阶段时,其血清 IL-35 水平与健康对照组无明显差异,提示在哮喘患者及健康人体内存在 IL-35 表达,而对于哮喘患者来说,IL-35 可能是一种保护性因子,血清 IL-35 水平可能可以作为评估哮喘控制水平的参考指标。

PC20FEV1 是一个能很好地反映气道反应性的指标,本研究未发现支气管哮喘组血清 IL-35 水平与 PC20FEV1 存在明显相关,是说明血清 IL-35 水平不能反映气道反应性还是因样本量小、观察时间短等因素导致研究结果未能反映实际?有待今后进一步研究探讨。

哮喘的免疫学治疗处于起步阶段且发展缓慢,在国外,只有人工重组抗 IgE 单克隆抗体被较多地应用于临床治疗重症哮喘并取得较好效果,但价格昂贵^[8]。IL-35 作为一个重要的抑炎因子,今后是否有希望被用于哮喘的治疗呢?Huang 等^[9]发现,经肺给予 pVAX-IL-35 DNA 可以有效地减轻小鼠地塞米松敏感性嗜酸粒细胞性气道炎症,肌肉注射 pVAX-IL-35 可以持久性下调循环中特异性 IgE 与总 IgE 的表达。另外,还有人应用 IL-35 治疗药物诱导肝损害^[10]和关节炎^[3]的小鼠,均取得较好的效果。本研究初步探讨了 IL-35 与哮喘控制水平的关系,提示随着哮喘的控制,肺通气功能逐渐改善,血清 IL-35 水平逐渐升高,但这只能作为 IL-35 用于哮喘治疗提供初步依据。目前对于 IL-35 的研究尚处于起步阶段,其受体及信号传导通路等重要问题尚未清楚^[11],IL-35 用于哮喘治疗还言之尚早。

综上所述,本研究提示健康对照组与支气管哮喘组血清中均存在 IL-35 表达,支气管哮喘组不同控制阶段血清 IL-35 水平均有显著差异,因此血清 IL-35 水平有望作为评估哮喘控制水平的免疫

学参考指标,但仍有待今后进行样本量更大、观察时间更长的研究探讨,得出其具体量化标准。

参考文献:

- [1] Huang TJ, MacAry PA, Kemeny DM, et al. Effect of CD8⁺T-cell depletion on bronchial hyper-responsiveness and inflammation in sensitized and allergen-exposed Brown-Norway rats [J]. *Immunology*, 1999, 96 (3): 416-423.
- [2] Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T cell function [J]. *Nature*, 2007, 450(7169): 566-569.
- [3] Niedbala W, Wei XQ, Cai B, et al. IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulation T cells and suppression of Th17 cells [J]. *Eur J Immunol*, 2007, 37(11): 3021-3029.
- [4] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2008, 31 (3): 132-138.
- [5] Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention [R/OL]. 2009 (2010). <http://www.ginasthma.com>.
- [6] Bardel E, Larousserie F, Charlot-Rabiega P, et al. Human CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells do not constitutively express IL-35 [J]. *J Immunol*, 2008, 181 (10): 6898-6905.
- [7] Liu F, Tong F, He Y, Liu H. Detectable expression of IL-35 in CD4⁺ T cells from peripheral blood of chronic Hepatitis B patients [J]. *Clin Immunol*, 2011, 139(1): 1-5.
- [8] Sullivan SD, Turk F. An evaluation of the cost-effectiveness of omalizumab for the treatment of severe allergic asthma [J]. *Allergy*, 2008, 63(6): 670-684.
- [9] Huang CH, Loo EX, Kuo IC, et al. Airway inflammation and IgE production induced by dust mite allergen-specific memory/effector Th2 cell line can be effectively attenuated by IL-35 [J]. *J Immunol*, 2011, 187(1): 462-471.
- [10] 周艳春,李明才,牛青霞,等. 流体力学注射 IL-35 质粒对 Con A 诱导小鼠肝损伤的保护作用 [J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(6): 1068, 1097-1098.
- [11] 柳爱华,宝福凯. 新发现的抑制性细胞因子—白细胞介素 35 [J]. *中国免疫学杂志*, 2009, 25(3): 284-285.

(编辑 孙慧兰)