

IL-17 和 IL-23 在变应性鼻炎患者血清中的表达及意义

黄雪琨, 陈玉莲, 张革化, 王 涛, 杨钦泰*, 李 源
(中山大学附属第三医院耳鼻咽喉科, 广东 广州 510630)

摘要:【目的】探讨白细胞介素-17(IL-17)和白细胞介素-23(IL-23)在变应性鼻炎患者血清中的表达及其与血清特异性 IgE 的相关性。【方法】研究对象分为变应性鼻炎组 (24 例) 和正常对照组 (12 例), 分别收集受试者的血清, 采用瑞典 Pharmacia 公司 UniCAP 100E 全自动免疫荧光定量分析系统检测常见吸入性变应原血清特异性 IgE, ELISA 法检测血清中 IL-17 和 IL-23 表达情况。【结果】12 例正常对照组者血清 sIgE 结果均为 0 级, 24 例变应性鼻炎患者血清 sIgE 的浓度为 2~6 级。IL-17 和 IL-23 在变应性鼻炎患者组血清中的水平分别为 (165 ± 39) pg/mL 和 (79 ± 26) pg/mL, 在正常对照组分别为 (68 ± 18) pg/mL, 和 (14 ± 4) pg/mL, 变应性鼻炎患者血清 IL-17 和 IL-23 含量高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。变应性鼻炎患者血清 IL-17 与 IL-23、血清 sIgE 呈正相关 (相关系数分别为 0.533 和 0.687, $P < 0.01$), IL-23 含量与血清 sIgE 浓度呈正相关 (相关系数为 0.513, $P < 0.05$)。【结论】IL-17 和 IL-23 在变应性鼻炎的发病机制中可能起重要的作用。

关键词: 白细胞介素-17; 白细胞介素-23; 变应性鼻炎

中图分类号: R76 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2011)02-0253-04

Expression Levels and Significance of IL-17 and IL-23 in Serum of Patients with Allergic Rhinitis

HUAN Xue-kun, CHEN Yu-lian, ZHANG Ge-hua, WANG Tao, YANG Qin-tai*, LI Yuan
(Department of Otolaryngology, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】 To investigate the expression levels of IL-17 and IL-23 in the serum of patients with allergic rhinitis and the correlation of levels of serum specific IgE, IL-17, and IL-23. 【Methods】 The samples were divided into two groups: the allergic rhinitis group (24 cases) and the normal control group (12 cases). The serum samples were obtained. The levels of serum specific IgE (sIgE) were detected by UniCAP system. The levels of IL-17 and IL-23 in serum were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 【Results】 The levels of serum sIgE were 0 grade in the normal control and were 2 to 6 grades in the allergic rhinitis. The levels of IL-17 and IL-23 in serum were (165 ± 39) pg/mL and (79 ± 26) pg/mL in patients with allergic rhinitis, and were (68 ± 18) pg/mL and (14 ± 4) pg/mL in the normal controls. The levels of IL-17 and IL-23 were significantly elevated in the allergic rhinitis group as compared with the normal control group ($P < 0.05$). In the allergic rhinitis group, correlation analysis showed that the level of IL-17 was significantly positively correlated with the level of IL-23 and serum sIgE ($r = 0.533$ and 0.687 , both $P < 0.01$) and the level of IL-23 was significantly positively correlated with the level of serum sIgE ($r = 0.513$, $P < 0.05$). 【Conclusion】 IL-17 and IL-23 may play an important role in the pathogenesis of allergic rhinitis.

Key words: interleukin -17; interleukin -23; allergic rhinitis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2011, 32(2):253-255, 262]

变应性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是机体接触变应原后主要由 IgE 介导的鼻黏膜非感染性疾病, 许多研究已证实 Th1 和 Th2 细胞免疫失衡与

AR 关系密切, 但新近发现的另一个 CD4+T 细胞亚群, 即 Th17 也参与变应性疾病的发病机制^[1], 使得对变应性鼻炎有新的认识。Th17 分泌白细胞介

收稿日期: 2010-11-30

基金项目: 广东省科技计划项目 (2009B030801087)

作者简介: 黄雪琨, 博士, 主治医师, 研究方向: 鼻科学, E-mail: xuekunhuang@163.com; * 通信作者: 杨钦泰, 博士, 副主任医师, E-mail: yang.qt@163.com

素-17(interleukin-17, IL-17)等细胞因子,促进多种细胞分泌趋化因子和基质金属蛋白酶等促进嗜中性粒细胞和巨噬细胞在炎症局部的募集而导致炎症的发生^[2]。白细胞介素-23(interleukin-23, IL-23)为 Th17 发育分化的主要促动因子^[3]。目前研究发现在获得性免疫和天然免疫间可能存在 IL-23/IL-17 轴,但 IL-23/IL-17 轴在变应性鼻炎中的相关研究报告甚少。本文拟通过研究 IL-17 和 IL-23 在变应性鼻炎患者和正常人血清中的表达情况及其与特异性 IgE(specific IgE, sIgE)的关系,以期探讨 IL-17/IL-23 轴在变应性鼻炎发病过程中的可能作用机理。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

收集 2010 年 3 月至 2010 年 6 月在我院耳鼻喉科门诊诊治的 24 例变应性鼻炎患者为变应性鼻炎组,选取 12 例本院健康志愿者为正常对照组。变应性鼻炎组年龄为 5 ~ 53 岁,平均 27.33(S = 13.57)岁,其中男 11 例,女 13 例。患者不伴鼻-鼻窦炎、哮喘及阿司匹林耐受不良。依照 2009 年武夷山会议制定的诊断标准^[4]确诊。所有患者 1 个月内均未接受激素、抗组胺药物治疗及免疫治疗。正常对照组男 7 例,女 5 例,年龄 22 ~ 34 岁,平均年龄 26.08(S = 3.63)岁,既往无变应性鼻炎、鼻-鼻窦炎、哮喘、阿司匹林耐受不良和其他系统疾病,未接受过激素治疗、抗组胺药物治疗及免疫治疗,体格检查均正常,血清特异性 IgE 阴性。所有受试者均在征求知情同意后接受试验。

1.2 收集标本

分别无菌抽取受试者静脉血 3 mL,静置并 2 000 r/min 离心,留取血清分成 2 份,一份并保存于 -20℃ 冰箱保存备用,另一份立即进行常见吸入性变应原 sIgE 含量检测。

1.3 血清 sIgE 检测方法

采用瑞典 Pharmacia 公司 UniCAP 100E 全自动免疫荧光定量分析系统,对患者血清中常见吸入性变应原的 sIgE 含量进行检测,主要试剂均为瑞典产品。检测按照试剂说明和操作步骤执行。检测结果按浓度分为 0 级到 6 级:0 级, < 0.35 kU/L;1 级, 0.35 ~ 0.70 kU/L;2 级, 0.71 ~ 3.5 kU/L;3 级, 3.6 ~ 17.5 kU/L;4 级, 17.6 ~ 50 kU/L;5 级, 51 ~ 100

kU/L;6 级, > 100 kU/L。结果判断:1 级(0.35 kU/L)以上为阳性,反应越强,级数越高。

1.4 IL-17、IL-23 检测方法

实验采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法。分别用抗人 IL-17(美国 Biosource)、IL-23(奥地利 Bender)单抗包被于酶标板上,标准品和样品中的 IL-17、IL-23 与单抗结合,加入生物素化的抗人 IL-17、IL-23 抗体,形成免疫复合物连接在板上,辣根过氧化物酶标记的抗生物素蛋白链菌素(Streptavidin)与生物素结合,加入酶底物工作液,出现蓝色,加终止液硫酸,在酶标仪(MK3,芬兰)450 nm 处测光密度(optical density, D_{450nm})值,IL-17、IL-23 浓度与 D_{450nm} 值成正比,可通过绘制标准曲线求出标本中 IL-17、IL-23 浓度。

1.5 统计学方法

各组所得结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间均数用 SPSS 15.0 软件进行 *t* 检验及 Pearson 相关分析,当 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 IL-17 和 IL-23 的检测结果

IL-17 和 IL-23 在变应性鼻炎患者组和正常对照组血清中的表达水平见表 1,变应性鼻炎患者血清 IL-17 和 IL-23 含量高于正常对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。变应性鼻炎组血清中 IL-17 和 IL-23 呈正相关,相关系数为 0.533,差异具有统计学意义($P = 0.001$)。

表 1 IL-17 和 IL-23 在变应性鼻炎组和正常对照组血清中的表达

Table 1 Expression levels of IL-17 and IL-23 in the serum of the allergic rhinitis group and the normal group ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

Groups	<i>n</i>	IL-17	IL-23
Allergic rhinitis	24	165 ± 39	79 ± 26
Normal	12	68 ± 18	14 ± 4
<i>t</i> value		2.24	2.46
<i>P</i> value		0.033	0.022

2.2 血清 sIgE 和 IL-17、IL-23 的相关分析

12 例正常对照组者血清 sIgE 结果均为 0 级。24 例变应性鼻炎患者血清 sIgE 的浓度:2 级 9 例,

3级4例,4级8例,5级1例,6级2例。变应性鼻炎患者血清 IL-17 与血清 sIgE 呈正相关($r=0.687$, $P=0.000$),IL-23 含量与血清 sIgE 浓度呈正相关($r=0.513$, $P=0.010$)。

3 讨论

人类 IL-17 为由 155 个氨基酸组成的同型二聚体,分子质量为 3 ku,N 端为 19~23 个残基组成的信号多肽,定位于染色体 2q31,重组 IL-17 (rIL-17)以糖基化和非糖基化两种形式表达。IL-17 不仅由 Th17 细胞产生,而且多种细胞也可产生 IL-17,如胸腺细胞、上皮细胞、血管内皮细胞。IL-17 受体基因定位于第 22 对染色体,IL-17 受体分布广泛,在肠上皮细胞、成骨细胞、成纤维细胞、肌细胞、T 淋巴细胞及脾、肾、肺、肝等的多种细胞和组织中不同程度表达^[5]。IL-17 可促进中性粒细胞的发育成熟,具有强大的招募中性粒细胞的作用,促进多种细胞的成熟与分化,使多种细胞因子产生协同作用以放大炎症反应^[6-8]。目前认为,IL-17 发挥生物学作用主要通过两条途径: NF- κ B-DNA 途径和 MAP 激酶途径。研究显示 IL-17 与气道变应性疾病的发病机制有密切关系。在哮喘患者的痰液、支气管灌洗液及血清中 IL-17 表达水平明显增多,其增高的水平与气道高反应性炎症程度相关^[9]。Klemens 等^[10]报道病毒性鼻炎患者和变应性鼻炎患者鼻分泌物均可检测 IL-17 蛋白含量,但前者 IL-17 表达水平明显高于后者。另有 Ciprandi 等^[11]报道变应原为花粉的变应性鼻炎,在花粉季节中患者血清中 IL-17 水平与临床症状的严重程度相关。在本研究中,变应性鼻炎患者血清中 IL-17 水平明显高于正常对照组($P<0.05$),提示 IL-17 在变应性鼻炎的发病中可能起着重要的作用。

IL-23 是一种异源二聚体蛋白,是 IL-12 细胞因子家族的成员,除了具有与 IL-12 相同的 p40 亚基外,还具有特殊的 p19 亚基^[12]。p19mRNA 可见于各种组织和细胞,包括内皮细胞、髓样细胞和活化的巨噬细胞和树突状细胞等,而 p40 却表达受限,由于有生物活性的异二聚体的形成需要两种亚单位共同表达在同一细胞内,因而 IL-23 主要来源于活化的巨噬细胞和树突状细胞。IL-23 具有多种生物学功能,不仅促进 h17 细胞生长和存活,

还促进 T 细胞、抗原提呈细胞产生 IFN- γ 与 IL-12,对树突状细胞的共刺激功能起调节作用,具有抗肿瘤和抗转移活性,而且与自身免疫和炎症反应疾病密切相关^[13]。有研究表明,IL-23 靶基因缺失小鼠的体液免疫严重受损,IL-23 缺陷的抗原提呈细胞(antigen-presenting cells,APCs)刺激 T 细胞分泌前炎症因子 IL-17 的能力显著下降,并且 IL-23 缺失小鼠与 IL-17 缺失小鼠表型相似。提示在小鼠 T 细胞中,IL-23 通过 CD4+T 细胞诱导 IL-17 产生。因此,IL-23 在 T 细胞依赖的免疫反应中起关键作用,在获得性免疫和天然免疫间可能存在 IL-23/IL-17 轴^[14]。本研究结果示变应性鼻炎患者血清 IL-23 和 IL-17 水平均高于正常对照组,而且变应性鼻炎患者血清 IL-23 和 IL-17 浓度具有明显相关性,提示 IL-23/IL-17 轴在变应性鼻炎发病机制中可能发挥重要作用,两者之间有密切关系。

变应性鼻炎是机体接触变应原后主要由 IgE 介导的鼻黏膜的非感染性疾病。变应原进入机体后,可活化浆细胞产生 sIgE,后者与嗜碱性粒细胞及肥大细胞表面的 IgE Fc 受体结合。当致敏个体再次接触过敏原时,sIgE 发生桥联,促使上述细胞脱颗粒,释放组胺、白三烯、过敏性中性白细胞趋化因子等化学介质,这些化学介质可作用于鼻黏膜,引起毛细血管扩张、血管通透性增加、腺体分泌增加等过敏性表现^[15]。检测血清 sIgE 可以判断是否产生了针对变应原的特异性免疫球蛋白 E。本研究结果血清 sIgE 浓与 IL-17、IL-23 的浓度具有正相关,从本研究结果及相关资料推测,IL-17/IL-23 轴可能促进 IgE 的产生增加以及嗜酸性粒细胞的趋化,从而参与了鼻炎发病机制的构成,提示 IL-17/IL-23 可能促进机体的过敏反应。

本研究结果提示 IL-23 和 IL-17 可能是变应性鼻炎发病机制中的重要细胞因子,推测 IL-23/IL-17 轴有可能成为免疫治疗变应性鼻炎的新靶点。

参考文献:

- [1] Fujiwara M, Hirose K, Kagami S, et al. T-bet inhibits both TH2 cell-mediated eosinophil recruitment and TH17 cell-mediated neutrophil recruitment into the airways [J]. J Allergy Clin Immunol, 2007,119(3):