

• 临床检验研究论著 •

系统性红斑狼疮患者血清诱骗受体 3 和细胞因子间关系的探讨

杨惠林<sup>1</sup>,程珊珊<sup>2</sup>,安邦全<sup>3</sup>

(1. 德江县人民医院, 贵州铜仁 565200; 2. 贵阳医学院医学检验系, 贵州贵阳 550004; 3. 贵州省人民医院检验科, 贵州贵阳 550002)

**摘要:**目的 探讨诱骗受体 3(DcR3)与  $\gamma$ -干扰素/白细胞介素-4(IFN- $\gamma$ /IL-4)分泌模式在系统性红斑狼疮(SLE)患者免疫紊乱过程中发生的变化及两者的关系。方法 采用 ELISA 双抗体夹心法检测 36 例 SLE 患者和 32 例健康者血清中 DcR3、IL-4 和 IFN- $\gamma$  的水平。结果 SLE 患者血清 DcR3、IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平显著升高( $P<0.01$ ); DcR3 与 IL-4 呈正相关( $r=0.340, P<0.05$ ), 与 IFN- $\gamma$  无明显相关关系( $r=-0.105, P>0.05$ ), 与 IFN- $\gamma$ /IL-4 呈负相关( $r=-0.332, P<0.05$ )。结论 SLE 患者血清 DcR3 水平显著升高, 可能参与 SLE 的发生发展过程; SLE 患者 Th1/Th2 细胞因子分泌模式复杂, 不同患者可能分别表现为 Th1 细胞或 Th2 细胞优势; SLE 中 DcR3 具有一定的促 Th2 偏移作用。

**关键词:** 红斑狼疮, 系统性; 受体, 肿瘤坏死因子; 细胞因子类

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.016 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)22-2726-02

Study on the relationship between DcR3 and cytokines pattern in patients with systemic lupus erythematosus

Yang Huilin<sup>1</sup>, Cheng Shanshan<sup>2</sup>, An Bangquan<sup>3</sup>

(1. People's Hospital of Dejiang County, Tongren, Guizhou 565200, China; 2. Department of Clinical Laboratory Science of Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou 550004, China; 3. Guizhou People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550002, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the level of decoy receptor 3(DcR3) and the characteristics of IFN- $\gamma$ /IL-4 pattern in patients with systemic lupus erythematosus(SLE). **Methods** 36 patients with SLE and 32 healthy volunteers as controls were included in the study. Serum levels of DcR3, IL-4 and IFN- $\gamma$  were determined by double-antibody-sandwich enzyme linked immunosorbent assay(ELISA). **Results** Compared with the healthy volunteers, significantly higher serum DcR3, IFN- $\gamma$  and IL-4 concentrations were detected in SLE patients( $P<0.01$ ). DcR3 correlated positively with IL-4( $r=0.340, P<0.05$ ) and negatively with IFN- $\gamma$ /IL-4 ratio( $r=-0.332, P<0.05$ ), while no correlation was observed between DcR3 and IFN- $\gamma$ ( $r=-0.105, P>0.05$ ). **Conclusion** DcR3 might be involved in the development of SLE. Th1/Th2 cytokines pattern might be complex in SLE and different in individual SLE patients. DcR3 might promote T helper cells transforming into Th2 cells to some extent in SLE patients.

**Key words:** lupus erythematosus, systemic; receptors, tumor necrosis factor; cytokines

诱骗受体 3(DcR3)是近年来发现的一种新型免疫分子,被认为是可溶性肿瘤坏死因子受体(TNFR)超家族成员<sup>[1]</sup>。对于 DcR3 作用机制至今尚未完全阐明,但有资料表明, DcR3 可能抑制活化 T 淋巴细胞凋亡<sup>[2]</sup>,或抑制 T 淋巴细胞分泌  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ ),诱导其向 Th2 细胞(Th2)分化<sup>[3-4]</sup>。SLE 是一种常见而复杂的自身免疫病(AID),大量资料表明, SLE 患者体内 T 淋巴细胞识别自身抗原,参与疾病发生发展的各个环节<sup>[5]</sup>。DcR3 可否通过促 Th2 效应或抑制 T 淋巴细胞的凋亡等机制,影响或调节自身反应性 T 淋巴细胞功能,从而参与 SLE 的发生发展机制值得深入探讨。本文以 SLE 患者为研究对象,检测其血清 DcR3 含量,结合外周血 IFN- $\gamma$  和白细胞介素-4(IL-4)水平,分析 DcR3 与 IFN- $\gamma$ /IL-4 分泌模式在免疫紊乱过程中发生的变化。

1 资料与方法

1.1 一般资料

**1.1.1 SLE 组** SLE 患者 36 例,均为贵阳医学院附属医院住院或门诊患者,其中男 1 例,女 35 例,年龄 13~68 岁,平均 34.6 岁,病程 10 d 至 9 年不等。SLE 患者的入选标准为美国风湿病学会(ACR)1997 年修订的 SLE 分类诊断标准<sup>[6]</sup>,排除伴有其他 AID、超敏反应性疾病和肿瘤、移植、感染等免疫相关疾病患者。

**1.1.2 健康对照组** 健康志愿者 32 例,其中男 1 例,女 31

例,年龄 21~65 岁,平均 37.8 岁,与 SLE 组的性别、年龄相匹配(分别用 Fisher 确切概率法和 Mann-Whitney 秩和检验证明)。健康对照组的人选标准:肝肾功能、血脂、血常规、尿常规、影像学检查均正常,并排除有 AID、超敏反应性疾病及近期感染史者。

**1.2 试剂与仪器** Human DcR3 ELISA Kit(BMS2031)购自奥地利 Bender MedSystems 公司;人 IFN- $\gamma$  ELISA 试剂盒(EK0373)和 IL-4 ELISA 试剂盒(EK0404)购自武汉博士德公司。全自动酶标仪 Wellsan k3 来自芬兰雷勃公司。

1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 静脉采血约 2 mL,1 500 r/min 离心 10 min 分离血清,-80℃ 冻存备用。

**1.3.2 血清 DcR3、IL-4 和 IFN- $\gamma$  测定** 采用 ELISA 双抗体夹心法,按试剂盒说明书操作。

**1.4 统计学处理** 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,数据用 SPSS11.5 统计软件分析,两组间均数比较方差齐者用独立样本  $t$  检验,方差不齐者用独立样本  $t'$  检验;相关性分析线性相关者用 Pearson 相关性分析,非线性相关者用 Spearman 相关性分析, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 SLE 患者血清 DcR3、IFN- $\gamma$  和 IL-4 含量检测结果,见表 1。**

**2.2** SLE 患者 DcR3 与 IFN- $\gamma$ /IL-4 分布特征的关系,见表 2。SLE 患者 IFN- $\gamma$ /IL-4 呈两极化分布特点,以健康者 IFN- $\gamma$ /IL-4 均值 0.76 为界,分为具有统计学差异( $P<0.01$ )的高值组( $n=19,1.93\pm1.14$ )和低值组( $n=17,0.53\pm0.09$ ),低值组与高值组相比,DcR3 和 IL-4 显著升高( $P<0.05$  和  $P<0.01$ ),IFN- $\gamma$  显著降低( $P<0.01$ )。而健康对照组未见此两极分布特征。与健康对照组相比,低值组 IFN- $\gamma$ /IL-4 显著降低( $P<0.01$ ),DcR3 和 IL-4 均显著升高( $P<0.01$ ),IFN- $\gamma$  差异无统计学意义( $P>0.05$ );高值组 IFN- $\gamma$ /IL-4 和 IFN- $\gamma$  均显著升高( $P<0.01$ ),其 DcR3 和 IL-4 接近正常水平。

**2.3** SLE 患者 DcR3 与 IL-4、IFN- $\gamma$  及 IFN- $\gamma$ /IL-4 间相关性

表 2 SLE 患者 IFN- $\gamma$ /IL-4 高值组与低值组及健康对照组各指标检测结果比较( $\bar{x}\pm s$ )

指标	IFN- $\gamma$ /IL-4 低值组( $n=17$ )	IFN- $\gamma$ /IL-4 高值组( $n=19$ )	健康对照组( $n=32$ )
DcR3(pg/mL)	1 667.41 $\pm$ 642.65* <sup>#</sup>	1 150.11 $\pm$ 699.58	859.67 $\pm$ 425.33
IL-4(pg/mL)	52.63 $\pm$ 13.91* <sup>#</sup>	34.21 $\pm$ 20.85	29.77 $\pm$ 10.46
IFN- $\gamma$ (pg/mL)	28.17 $\pm$ 10.62 <sup>#</sup>	55.66 $\pm$ 28.48*	22.82 $\pm$ 10.07
IFN- $\gamma$ /IL-4	0.53 $\pm$ 0.09* <sup>#</sup>	1.93 $\pm$ 1.14*	0.76 $\pm$ 0.21

\*: $P<0.01$ ,与健康对照组比较;<sup>#</sup>: $P<0.05$ ,<sup>#</sup>: $P<0.01$ ,与 IFN- $\gamma$ /IL-4 高值组比较。

表 3 36 例 SLE 患者 DcR3 与 IL-4、IFN- $\gamma$  及 IFN- $\gamma$ /IL-4 间相关性分析( $n=36$ )

指标	DcR3 与 IL-4	DcR3 与 IFN- $\gamma$	DcR3 与 IFN- $\gamma$ /IL-4
$r$ 值	0.340	-0.105	-0.332
$P$ 值	$<0.05$	$>0.05$	$<0.05$

4 讨 论

Fas 又称作 APO-1/CD95,属 INFR 家族。T 淋巴细胞上可诱导表达的、与单纯疱疹病毒糖蛋白 D 竞争结合的单纯疱疹病毒侵入介体的淋巴毒素类似物(LIGHT)和 FasL 蛋白(即 Fas 蛋白的配体)是 DcR3 的两种主要配体。DcR3 作为诱骗受体,主要作用体现在竞争性抑制 LIGHT 和 FasL 与其功能性受体结合介导的生物学功能上<sup>[7-8]</sup>。目前研究认为,活化 T 淋巴细胞表面的 LIGHT 可能通过与组成性表达在相邻 T 淋巴细胞上的疱疹病毒侵入介体(HVEM)结合,在诱导活化 T 淋巴细胞的凋亡中起重要作用<sup>[9]</sup>。

Otsuki 等<sup>[10]</sup>首先在 SLE 患者的外周血单个核细胞(PBMC)中发现 DcR3 mRNA 高表达。本文检测了 SLE 患者血清 DcR3 水平,结果显示其水平显著高于健康者,作为 LIGHT 和 FasL 的诱骗受体,SLE 患者体内高水平的 DcR3 可能通过竞争性抑制经 LIGHT/HVEM 和 FasL/Fas 诱导的活化自身反应性 T 淋巴细胞的克隆清除,从而有利于 SLE 的发生发展。

检测 SLE 患者血清 Th1 类细胞因子 IFN- $\gamma$  和 Th2 类细胞因子 IL-4 的分泌情况,SLE 患者血清 IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平均高于健康者,表现为 Th1 细胞功能下降及 Th2 细胞功能亢进,从而出现 B 淋巴细胞过度活化,产生多种自身抗体,导致组织损伤。分析 SLE 患者 IFN- $\gamma$ /IL-4 值的分布情况发现,以健康者 IFN- $\gamma$ /IL-4 均值为界值,SLE 患者 IFN- $\gamma$ /IL-4 呈明显两极化分布,提示 SLE 患者可分为 Th1 优势和 Th2 优势的两个群体,SLE 患者的 Th1/Th2 偏移情况复杂,在不同病程时期、累及器官或病理类型不同而呈现不同的细胞因子分泌模式。此外,IFN- $\gamma$ /IL-4 低值组血清 DcR3 水平显著高于 IFN- $\gamma$ /IL-4 高值组,且 SLE 患者血清 DcR3 含量与 IL-4 水平呈正相关,与 IFN- $\gamma$ /IL-4 呈负相关,提示 SLE 患者 DcR3 水平的升高有利于细胞因子分泌模式向 Th2 方向倾斜。

分析,见表 3。经 Pearson 相关性分析,SLE 患者中,DcR3 与 IL-4 呈正相关( $r=0.340,P<0.05$ ),DcR3 与 IFN- $\gamma$  无明显相关关系( $r=-0.105,P>0.05$ );经 Spearman 相关性分析,DcR3 与 IFN- $\gamma$ /IL-4 呈负相关( $r=-0.332,P<0.05$ )。

表 1 血清 DcR3、IL-4 和 IFN- $\gamma$  检测结果( $\bar{x}\pm s$ ,pg/mL)

组别	$n$	DcR3	IL-4	IFN- $\gamma$
SLE 组	36	1 394.39 $\pm$ 713.51*	42.91 $\pm$ 19.98*	42.68 $\pm$ 25.74*
健康对照组	32	859.67 $\pm$ 425.33	29.77 $\pm$ 10.46	22.82 $\pm$ 10.07

\*: $P<0.01$ ,与健康对照组比较。

参考文献

[1] 钟智强,兰小鹏,杨湘越,等.诱骗受体 3 基因在原发性肺癌的扩增表达及临床意义[J].中华检验医学杂志,2007,30(4):435-436.

[2] Pitti RM,Marsters SA,Lawrence DV,et al.Genomic amplification of a decoy receptor for Fas ligand in lung and colon cancer[J].Nature,1998,396(6712):699-703.

[3] Hsu TL,Chang YC,Chen SJ,et al.Modulation of dendritic cell differentiation and maturation by decoy receptor 3[J].J Immunol,2002,168(10):4846-4853.

[4] Wu SF,Liu TM,Lin YC,et al.Immunomodulatory effect of decoy receptor 3 on the differentiation and function of bone marrow-derived dendritic cells in nonobese diabetic mice: from regulatory mechanism to clinical implication[J].J Leukoc Biol,2004,75(2):293-306.

[5] 周广宇,杨永净.系统性红斑狼疮中 T 细胞作用的研究进展[J].国外医学免疫学分册,2005,28(5):274-277.

[6] Hochberg MC.Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J].Arthritis Rheum,1997,40(9):1725.

[7] Yu KY,Kwon B,Ni J,et al.A newly identified member of tumor necrosis factor receptor superfamily(TR6) suppresses LIGHT-mediated apoptosis[J].J Biol Chem,1999,274(20):13733-13736.

[8] Zhang J,Salcedo TW,Wan X,et al.Modulation of T-cell responses to alloantigens by TR6/DcR3[J].J Clin Invest,2001,107(11):1459-1468.

[9] Motarini R,Scarito A,Nonaka D,et al.Constitutive expression and costimulatory function of LIGHT/TNFSF14 on human melanoma cells and melanoma-derived microvesicles[J].Cancer Res,2005,65(8):3428-3436.

[10] Otsuki T,Tomokuni A,Sakaguchi H,et al.Over-expression of the decoy receptor 3(DcR3) gene in peripheral blood mononuclear cells(PBMC) derived from silicosis patients[J].Clin Exp Immunol,2000,119(2):323-327.