

• 临床检验研究论著 •

慢性荨麻疹患者血清 IL-35 水平检测分析*

毕超¹, 梁艳华¹, 朱慧兰², 戴京萍², 李平¹, 颜景兰¹, 黄平¹

(广东省广州市皮肤病防治所: 1. 检验科; 2. 皮肤科, 广东广州 510095)

摘要:目的 探讨 IL-35 在慢性荨麻疹患者致病机制中的作用。方法 根据自身血清皮肤试验(ASST)将慢性荨麻疹患者分成两组,应用 ELISA 法检测两组患者血清 IL-35、IL-23 浓度,流式细胞仪检测患者外周血细胞免疫功能,同时设立对照组进行比较。结果 53 例慢性荨麻疹患者中,33 例患者 ASST 测试结果为阳性,20 例为阴性;两组患者与对照组比较血清 IL-35 浓度均升高,IL-23 浓度降低($P < 0.01$);外周血 CD8⁺ 细胞降低($P < 0.05$);B 细胞降低,差异有统计学意义,其中 ASST 阳性组 B 细胞降低更为明显。结论 慢性荨麻疹患者机体可能存在 Th17/Treg(调节性 T 细胞)不平衡,导致病情反复迁延。

关键词: 荨麻疹; 血清; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)07-0786-01

Analysis of IL-35 in serum from patients with chronic urticaria*

Bi Chao¹, Liang Yanhua¹, Zhu Huilan², Dai Jingping², Li Ping¹, Yan Jinglan¹, Huang Ping¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Dermatology, Guangzhou Institute of Dermatology, Guangzhou, Guangdong 510095, China)

Abstract: Objective To explore the significance of the detection of serum level of IL-35 for pathogenic mechanisms in the patients with chronic urticaria. **Methods** 3 patients with chronic urticaria based on the ASST test results were divided into positive and negative groups. ELISA assay in CU IL-23, IL-35 content, and the flow cytometry was used to detect T lymphocyte subsets, NK cells, B cells, while the establishment of normal control group. **Results** Of the 53 patients in patients with CU, 33 (62.26%) were positive for ASST, 20 (37.74%) were negative for ASST. Serum levels of IL-35 in patients with CU were significantly higher than the control normal group, and IL-23 level was lower ($P < 0.01$). The percentage of CD8⁺, B cells were lower in the patients with CU, and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ was higher ($P < 0.05$). B cells decreased, the difference was statistically significant, in which ASST positive group was lower in B cells. **Conclusion** The imbalance of Th17/Treg (Regulatory T-cells Treg) was probably one of the immunological pathogenesis with CU.

Key words: urticaria; serum; enzyme-linked immunosorbent assay

慢性荨麻疹是常见的变态反应性皮肤病,发病机制尚未完全清楚。研究表明慢性荨麻疹患者免疫功能异常,存在 Th1/Th2 失衡,约一半患者应属于自身免疫性荨麻疹^[1]。IL-35 是近年新发现的细胞因子,是 IL-12 家族成员,在自身免疫性疾病中发挥重要作用。IL-35 与慢性荨麻疹的关系值得探讨,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 1~9 月本所门诊皮肤科慢性荨麻疹患者 53 例[根据自身血清皮肤试验(ASST)分为阴性和阳性组],男 22 例,女 31 例,年龄(33.7±13.9)岁。门诊正常体检者 30 例作为对照组,其中男 14 例,女 16 例,均无过敏性疾病及自身免疫疾病,平均(39.9±17.8)岁。

1.2 ASST 方法和判定 抽取患者的静脉血 3 mL 离心后,取血清 50 μL 注射于患者肘前横脉下 2 cm 皮内,对侧用生理盐水做对照,30 min 后立即观察两个注射部位红斑-风团反应情况。注射血清出现的红斑-风团直径比注射生理盐水处不小于 1.5 mm 为阳性,反之为阴性。

1.3 IL-23、IL-35 测定 抽取患者及对照组人员静脉血 3 mL,留取血清备检。操作过程严格按照试剂说明书进行。

1.4 细胞免疫功能测定 抽取患者及对照组人员 EDTA 抗凝静脉血 2 mL 备检。美国 BD 公司 FACSC alibur 流式细胞仪,试剂采用 BD 公司 simultest IMK-Iymphocyte kit 试剂盒。

1.5 统计学处理 采用 SPSS10.0 软件统计。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ASST 检测结果 53 例慢性荨麻疹患者中,33 例患者测试结果为阳性,20 例位阴性。

2.2 IL-23、IL-35 测定 ASST 阳性组 [IL-35 (55.78±34.42) ng/mL、IL-23(35.60±16.16) ng/mL], ASST 阴性组 [IL-35 (61.25±31.89) ng/mL、IL-23(33.30±18.24) ng/mL]与对照组比较,两组患者血清 IL-35 浓度均升高,IL-23 浓度降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。两组患者检测结果相比较差异无统计学意义。

2.3 细胞免疫功能检测 与对照组相比,两组患者外周血 CD8⁺ 细胞降低,CD4⁺/CD8⁺ 升高,B 细胞降低,差异有统计学意义,其中 ASST 阳性组 B 细胞降低更为显著。两组患者结果相比较差异无统计学意义。见表 1。

表 1 慢性荨麻疹患者细胞免疫功能检测结果(%)

项目	ASST 阳性组 (n=33)	ASST 阴性组 (n=20)	对照组 (n=30)
CD3 ⁺	65.03±6.61	65.85±9.20	68.23±10.46
CD4 ⁺	41.70±6.23	42.15±8.70	41.50±7.06
CD8 ⁺	23.33±5.71*	23.10±4.80*	26.73±5.87
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.91±0.64*	1.92±0.56*	1.61±0.35
B	13.06±3.57**	13.55±4.41*	16.10±4.09
NK	19.82±6.60	20.45±3.97	18.07±5.28

*:与对照组相比, $P < 0.05$; **:与对照组相比, $P < 0.01$ 。

(下转第 788 页)

* 基金项目:广东省广州市医药科技卫生资助项目(2009-YB-233)。

作者简介:毕超,女,副主任技师,主要从事皮肤病性病实验室诊断研究。

受精时,胚胎仅 2/18 的可能具有正常表型,而 16/18 则可能为染色体缺失或重复而发生自然流产、死胎或畸胎;罗伯逊易位 1 例,该异常核型虽然有易位染色体短臂的缺失,但该短臂基本无编码基因,其遗传效应不明显,携带者的表型和智力也一般发育正常,如果为同源罗伯逊易位其配子皆为异常,无生育正常后代的可能,本例为非同源罗伯逊易位,理论上可形成 6 种配子,其中只有 1/6 可能为正常,1/6 为平衡易位携带者,4/6 为异常配子,收集后有 2/6 的可能生育表型正常的后代,余为染色体异常患者,多发生流产。

9 号染色体臂间倒位虽然被认为是群体中的多态现象,在人群中的发生率为 1%~3%^[7],与不良妊娠密切相关^[8]。本研究臂间倒位染色体理论上可形成 4 种配子,1/4 正常,1/4 为倒位携带,2/4 为异常染色体(部分重复或缺失),与婚后不育、月经期延长、早期流产和死产的关系密切;染色体长臂异染色质增加亦属于染色体多态现象,本流产群体中发现 3 例 9 号染色体长臂异染色质增加和 1 例 Y 染色体长臂异染色质增加,均行 C 带检测证实。目前关于 Y 染色体长臂异染色质增加与流产的关系尚存在争议。晋学飞等^[9]研究认为,Y 染色体中异染色质过度重复的 DNA 可能与有丝分裂发生错误、基因调节和细胞分化等有关,从而导致不良妊娠,应重视 Y 染色体异常。

综上,父母的染色体异常与流产密切相关,临床上应重视对自然流产患者尤其是原因不明的反复自然流产的夫妻双方进行外周血染色体检查,以明确病因,指导优生优育^[10-12]。

参考文献

[1] 孟茜,王绪云,骆秀翠,等. 早期自然流产胚胎染色体核型分析

[J]. 山东医药,2011,51(51):37-38.
 [2] 张静,刘丽益. 平衡易位伴不良妊娠两例[J]. 中华医学遗传学杂志,2006, 23(5):560.
 [3] 张亚杰,许宗革,高元奇,等. 124 例反复自然流产病例临床病因分析[J]. 中国妇幼保健,2008,23(35):5029-5032.
 [4] 钟小焯,崔艳萍. 复发性自然流产 150 例病因分析[J]. 当代医学,2012,18(23):86-87.
 [5] 曹芳,虞斌,张晓青,等. 反复自然流产夫妇染色体核型分析[J]. 现代生物医学进展,2010,10(24):4707-4709.
 [6] Keify F, Zhiyan N, Mirzaei F, et al. Two novel familial balanced translocations t(8;11)(p23;q21) and t(6;16)(q26;p12) implicated in recurrent spontaneous abortion[J]. Arch Iran Med,2012,15(4):249-252.
 [7] Dana M, Stoian V. Association of pericentric inversion of chromosome 9 and infertility in romanian population[J]. Maedica (Buchur),2012,7(1):25-29.
 [8] 耿茜,罗福薇,李娟,等. 167 例胎儿先天畸形与染色体异常的相关性研究[J]. 中华医学遗传学杂志,2011,28(5):589-590.
 [9] 晋学飞,刘楠,那万里,等. 染色体异常男性不育实验诊断分析[J]. 中国实验诊断学,2010,14(9):1470-1471.
 [10] 高久春,祁聪阳,郑贤红,等. Y 染色体异常对男性生育力的影响[J]. 中国妇幼保健,2007,22(35):5011-5013.
 [11] 米莹,刘春莲,徐仙. 男性因素与复发性流产关系的研究进展[J]. 宁夏医学杂志,2012,34(9):935-937.
 [12] 兰旭青,张明,陈志英. 染色体核型异常所致反复流产的分析[J]. 标记免疫分析与临床,2011,18(6):382-384.

(收稿日期:2012-12-18)

(上接第 786 页)

3 讨 论

近年来,人们发现慢性荨麻疹中有约半数自身免疫性荨麻疹。根据患者向皮内注射自体血清(ASST)后出现红斑-风团的反应,可以提示患者体内存在功能性自身抗体。ASST 试验虽然不是自身免疫性荨麻疹的确证试验,但是当反应在 30 min 内,且红斑-风团直径比注射生理盐水处不小于 1.5 mm 时,该试验的敏感度和特异度分别可达 71%和 81%^[2]。因此,临床常将 ASST 作为自身免疫性荨麻疹的筛选试验。本次研究显示 53 例慢性荨麻疹患者中有 33 例(62.26%)为阳性,20 例(37.74%)为阴性,与国际报道几率接近^[3]。

调节性 T 细胞的主要功能是在体内和体外抑制 CD4、CD8 或 B 细胞的活化、增殖和免疫效应,在抑制自身免疫性疾病发展、移植耐受、肿瘤免疫逃逸等方面发挥重要作用。IL-35 是 2007 年新发现的细胞因子,它由 Treg 特异性产生,可能是促使 Treg 细胞发挥最大免疫抑制功能的关键细胞因子^[4]。在体外,IL-35 能促进 Treg 的分化,抑制 Th17 细胞的分化。因此,IL-35 是通过调节 CD4⁺ 细胞的分化实现对自身免疫疾病的调控。

IL-23 与 IL-35 虽同属 IL-12 家族,但功能不同。IL-23 有促进 Th1 型免疫反应,激活记忆性 T 细胞,记忆性 T 细胞被激活后,分泌大量 IFN- γ 、IL-17,从而调节 Th17 细胞的功能,引起机体炎症反应。IL-23 不仅是 Th17 细胞分化的促进者,也是 Th17 细胞增殖、存活和发挥免疫功效的必要因素。Th17 细胞和 Treg 细胞对免疫系统的调节作用相反,其分化过程相互抑制。许多研究显示 Th17/Treg 失衡是导致自身免疫性疾病的发病机制之一^[5]。

均明显升高,提示 Treg 细胞的分化有可能增高,CD4⁺、CD8⁺ 或 B 细胞的活化增殖可能受抑制。两组患者 IL-23 浓度明显降低,说明由 IL-23 介导 Th1 型免疫反应有可能降低,Th17 细胞免疫效应下降。从细胞免疫功能检测结果分析发现,两组患者 CD8⁺ 细胞百分比降低,提示 CD8⁺ 细胞活化增殖受抑制,间接导致 CD4⁺/CD8⁺ 比值上升,B 细胞比值下降,与 IL-35、IL-23 检测结果的变化相一致。以上说明慢性荨麻疹患者机体不仅存在 Th/Th2 失衡,还极有可能存在 Th17/Treg 不平衡,导致病情反复迁延。另外,患者和对照 CD4⁺ 细胞未显示出有差异,与 IL-35 的抑制功能似乎相矛盾,还需进一步研究。

ASST 阳性组说明患者体内有自身抗体存在,但检测结果显示与 ASST 阴性组均无差别,是否样本量较小的缘故,还需继续观察。

参考文献

[1] 马一平,姚煦. 慢性荨麻疹自身免疫发病机制研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志,2010,26(9):643-645.
 [2] Sabroe RA, Grattan CE, Francis DM, et al. The autologous serum skin test: a screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria[J]. Br J Dermatol,1999,140(3):446-452.
 [3] Kaplan AP, Greaves M. Pathogenesis of chronic urticaria[J]. Clin Exp Allergy,2009,39(6):777-787.
 [4] 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.
 [5] 王羽伦,王春霞,刘占国,等. 17 型辅助 T 细胞的生物学特性及免疫学效应研究进展[J]. 中国药房,2011,22(9):850-853.

(收稿日期:2012-11-07)