

• 论 著 •

全身型幼年特发性关节炎患儿自身抗体和炎性细胞因子研究*

夏国新¹, 陈茜璐², 刘燕婕^{2△}

(1. 湖北省荣军医院检验科, 湖北武汉 430079; 2. 长江航运总医院/武汉脑科医院检验科, 湖北武汉 430010)

摘要:目的 探讨自身抗体和炎性细胞因子在全身型幼年特发性关节炎(So-JIA)中的变化。方法 分别采用间接免疫荧光法和酶联免疫吸附法检测活动期、缓解期 So-JIA 患儿血清抗角蛋白抗体(AKA)、抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP 抗体)、白细胞介素-17(IL-17)和白细胞介素-6(IL-6)的表达水平。以健康儿童作为健康对照组进行比较。结果 活动期组血清 AKA、抗 CCP 抗体阳性率分别为 29.4%、47.1%, 缓解期组分别为 17.2%、27.6%, 活动期组均高于缓解期组($P < 0.05$)。So-JIA 组 AKA 的灵敏度和特异度分别为 21.1% 和 97.2%, 抗 CCP 抗体的灵敏度和特异度分别为 41.3% 和 91.9%, 抗 CCP 抗体的灵敏度高于 AKA。活动期组抗 CCP 抗体、IL-17、IL-6 水平均高于健康对照组和缓解期组($P < 0.05$); 缓解期组抗 CCP 抗体、IL-17、IL-6 水平高于健康对照组, 但比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 自身抗体 AKA 和抗 CCP 抗体对 So-JIA 具有较高的特异度, 但灵敏度欠佳, 二者联合检测对提高 So-JIA 诊断特异度, 尤其对提高活动期 So-JIA 诊断阳性率有一定的临床价值。

关键词:全身型幼年特发性关节炎; 自身抗体; 炎性细胞因子**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.10.010**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)10-1344-03

Autoantibodies and inflammatory cytokines in children with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis*

Xia Guoxin¹, Chen Xilu², Liu Yanjie^{2△}

(1. Laboratory Department, Wuhan Disabled Soldier Hospital, Wuhan, Hubei 430079, China; 2. Laboratory Department, General Hospital of Yangtze River Shipping/Wuhan Brain Hospital, Wuhan, Hubei 430010, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of autoantibodies and inflammatory cytokines in children with system-onset juvenile idiopathic arthritis (So-JIA). **Methods** Serum concentrations of autoantibodies and inflammatory cytokines were measured in children with So-JIA at active phase or remission phase by using indirect immunofluorescence method and enzyme-linked immunosorbent assay. Healthy children were enrolled as control group. **Results** The assay positivity of antikeratin antibody (AKA) and anti-cyclic citrullinated peptide antibody (anti-CCP) was 29.4% and 47.1% in active phase group, and was 17.2% and 27.6% in remission group. The differences between the two groups were significant ($P < 0.05$). The diagnostic sensitivity of AKA and anti-CCP was 21.1% and 41.3%, and the diagnostic specificity was 97.2% and 91.9%. The diagnostic sensitivity of anti-CCP was higher than AKA. Serum levels of anti-CCP, interleukin-6 (IL-6) and interleukin-17 (IL-17) of active phase group were higher than remission phase group and control group ($P < 0.05$), and those of remission phase group were higher than control group, but the differences were not significant ($P > 0.05$). **Conclusion** AKA and anti-CCP might be with high diagnostic specificity to So-JIA, but the sensitivity could be low, and combined detection could increase the diagnostic positivity. Inflammatory cytokines, such as IL-6 and IL-17, might be associated with the activity of So-JIA, which could be important biomarkers of So-JIA.

Key words:system-onset juvenile idiopathic arthritis; autoantibodies; inflammatory cytokines

全身型幼年特发性关节炎(So-JIA)好发于 16 岁以下儿童, 是以关节炎伴全身临床症状, 如弛张热、皮疹、浆膜炎等为主要表现的自身免疫性疾病。So-JIA 患儿若未接受及时诊治, 可致残疾, 因此早期诊治对缓解症状和改善预后十分关键^[1]。So-JIA 病因和发病机制尚未完全明确, 确诊主要依赖于临床查体和影像学检查, 实验室指标如类风湿因子、抗可溶性核抗原和抗核抗体等均无较高的特异度和灵敏度。目前普遍认为 So-JIA 的发生、发展与免疫系统功能紊乱密切相关, 例如患儿血清中可检出自身抗体, 如抗角蛋白抗体(AKA)、抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP 抗体)等^[2]。另有研究表明, 炎性细胞因子能引起免疫调节障碍, 致使炎性细胞及包含自身抗体在内的免疫复合物等共同引起组织和器官损伤^[3]。CD4⁺ T

淋巴细胞亚型 Th17 细胞可分泌炎性细胞因子白细胞介素-17(IL-17), 介导特异性针对自身抗原的炎性反应, 引起自身免疫性疾病^[4]。炎性细胞因子白细胞介素-6(IL-6)由 T 淋巴细胞分泌, 可参与炎性反应细胞的增殖、分化。IL-17 可诱导 IL-6 生成^[5]。本研究对 So-JIA 患儿活动期、缓解期血清 AKA、抗 CCP 抗体、IL-17 和 IL-6 水平进行了分析, 旨在探讨自身抗体和炎性细胞因子在 So-JIA 病因、发病机制中的作用。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2014 年 6 月确诊的 So-JIA 患儿 63 例, 男 31 例、女 32 例, 年龄 5.0~15.5 岁, 平均(8.5±5.5)岁, 病程 0.6~3.0 年, 平均(1.55±1.3)年; 其中, 活动期

* 基金项目:武汉市卫计委临床医学科研项目(WX13C44)。 作者简介:夏国新,男,主管技师,主要从事临床免疫学研究。 △ 通讯作者, E-mail:liuyanjie0411@aliyun.com。

患儿 34 例(So-JIA 活动期组)、缓解期患儿 29 例(So-JIA 缓解期组)。所有患儿符合国际风湿病学联盟(ILRA)儿科专家组制订的 So-JIA 诊断和分类标准^[6]。同期与 So-JIA 患儿性别、年龄相匹配的体检健康儿童 32 例纳入健康对照组,男 17 例、女 15 例,年龄 5.5~16 岁,平均(7.5±5.0)岁。

1.2 仪器与试剂 AKA、抗 CCP 抗体间接免疫荧光法检测试剂盒购自德国欧蒙公司,人 IL-17 酶联免疫吸附法检测试剂盒购自美国 R&D Systems 公司,人 IL-6 酶联免疫吸附法检测试剂盒购自比利时 Innogenetics 公司。ELx800 型全自动酶标分析仪购自美国 BIO-TEK 公司,1575 型全自动洗板机购自美国 Bio Rad 公司。

1.3 方法 采集所有受试对象晨起空腹静脉血 3~5 mL,常规方法分离血清标本用于 AKA、抗 CCP 抗体、IL-17 和 IL-6 检测。检测操作步骤和结果判读标准均严格参照试剂盒说明书。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件进行数据处理和统计学分析。计量资料首先进行正态分布检验,正态分布资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;非正态分布资料采用中位数和四分位数表示,组间比较及多组间比较采用非参数检验。计数资料以例数和(或)百分率表示,组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。AKA、抗 CCP 抗体诊断灵敏度、特异度计算采用四格表法。

2 结 果

2.1 AKA、抗 CCP 抗体阳性率及诊断效能 活动期 So-JIA 患儿血清 AKA、抗 CCP 抗体阳性率高于缓解期患儿($P < 0.05$);血清 AKA 诊断 So-JIA 的灵敏度和特异度分别为 21.1% 和 97.2%,抗 CCP 抗体分别为 41.3% 和 91.9%,见表 1~2。

表 1 不同临床期 So-JIA 患儿 AKA、抗 CCP 抗体阳性率比较[% (n)]

组别	n	AKA	抗 CCP 抗体
So-JIA 活动期组	34	29.4(10)	47.1(16)
So-JIA 缓解期组	29	17.2(5)	27.6(8)

表 2 AKA、抗 CCP 抗体 So-JIA 诊断效能

指标	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性 预测值	阴性 预测值	受试者工作 特征曲线下面积
AKA	21.1	97.2	97.0	41.0	0.602
抗 CCP 抗体	41.3	91.9	94.0	52.0	0.691

表 3 各研究组各指标检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-17 (ng/L)	IL-6 (ng/L)	抗 CCP 抗体 (RU/mL)
So-JIA 活动期组	34	14.78±4.51* #	11.25±4.31* #	6.99±4.06* #
So-JIA 缓解期组	29	9.35±3.99	6.96±3.73	3.87±3.11
健康对照组	32	7.18±3.15	5.33±3.27	2.01±1.02

* : $P < 0.05$, 与健康对照组比较; # : $P < 0.05$, 与 So-JIA 缓解期组比较。

2.2 各研究组各指标检测结果比较 活动期 So-JIA 患儿血清 IL-17、IL-6 水平高于健康对照组及缓解期患儿($P < 0.05$);缓解期患儿血清 IL-17、IL-6 水平高于健康对照组,但比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。活动期 So-JIA 患儿血清抗 CCP 抗体水平高于健康对照组及缓解期患儿($P < 0.05$);缓解期患儿血清抗 CCP 抗体水平高于健康对照组,但比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

3 讨 论

So-JIA 是幼年特发性关节炎(JIA)中病情较为严重的特殊类型,临床表现复杂,诊断困难,治疗选择有限,预后较差^[1]。So-JIA 病因和发病机制尚未完全明确。有研究认为,异常免疫反应、免疫复合物沉积导致的组织损伤可能是 So-JIA 发病的关键环节^[7]。

So-JIA 患儿血清和关节液中可检出自身抗体 AKA 和抗 CCP 抗体,因此二者对 So-JIA 的诊断有参考价值。其中,受累关节越多、病情越严重的 So-JIA 患儿,抗 CCP 抗体检出率越高,是判断 So-JIA 疾病活动程度、病理损伤程度和患儿预后的较好的标志物^[2]。本研究结果也显示,不同临床期 So-JIA 患儿均可检出 AKA、抗 CCP 抗体,且不同临床期患儿二者的阳性率存在差异,说明 AKA、抗 CCP 抗体均具有较高的特异度,但抗 CCP 抗体的敏感度高于 AKA,对 So-JIA 的诊断更有帮助。然而,对于抗 CCP 抗体检测结果与临床表现不符合的患者,有必要进行 AKA、抗 CCP 抗体联合检测,以进一步提高诊断阳性率。

IL-17 是重要的炎性细胞因子,具有较强的促炎作用,能介导自身免疫性疾病,诱发多种促炎细胞因子、趋化因子和急性期反应蛋白的产生,引起组织细胞浸润和组织破坏。已有研究证实,IL-17 在 So-JIA 和关节损伤中起着一定的作用^[8]。IL-6 能诱导 B 淋巴细胞分化和产生抗体,并诱导 T 淋巴细胞活化增殖、分化,参与机体的免疫应答,是炎性反应的促发剂。IL-6 在 So-JIA 中具有致病作用^[9]。本研究结果显示,活动期 So-JIA 患儿血清 IL-17、IL-6 水平高于缓解期患儿和健康儿童,提示炎性细胞因子的变化与 So-JIA 疾病活动程度有关。获得性免疫参与 So-JIA 的发病机制,因此分析炎性细胞因子的改变,能够为 So-JIA 的诊断、判断疾病活动程度和确定诊治方案提供一定的参考依据,具有十分重要的临床意义。

参 考 文 献

- [1] 徐凌云,屠志强,薛海燕,等.全身型幼年特发性关节炎患儿 T 辅助细胞及细胞因子变化[J].临床儿科杂志,2014,32(2):140-143.
- [2] 郭桂梅,何威逊,朱光华,等.血清抗环瓜氨酸肽抗体水平对幼年特发性关节炎的诊断价值[J].上海交通大学学报医学版,2013,33(3):323-325.
- [3] 刘占举,申民强,任宏宇,等.肠黏膜免疫系统调节异常导致炎症性肠病发生[J].世界华人消化杂志,2008,16(28):3172-3177.
- [4] Zepp JA,Liu C,Qian W,et al.Cutting edge:TNF receptor-associated factor 4 restricts IL-17-mediated pathology and signaling processes[J].J Immunol,2012,189(1):33-37.
- [5] 唐雪梅.全身型幼年特发性关节炎免疫发病机制研究进展[J].中华实用儿科临床杂志,2013,28(9):644-646.
- [6] 何晓琥.幼年特发性关节炎[J].中华风湿病学杂志,2002,6(1):62-63.

3 讨 论

CHB 发病机制极其复杂, 目前普遍认为宿主免疫调节紊乱是其发病及病理损伤的主要原因^[5]。在免疫反应过程中, 各种免疫细胞和细胞因子参与免疫应答, 形成免疫调节网络, 是宿主抵御病毒感染的重要因素。

CD4⁺ CD25⁺ Treg 是具有免疫抑制功能的抑制性 T 淋巴细胞群^[6], 在健康者体内, 生理性 CD4⁺ CD25⁺ Treg 约占 CD4⁺ T 淋巴细胞总数的 5%~10%, 以免疫负向调节的方式抑制自身反应性 T 淋巴细胞的作用, 对多种刺激呈低反应状态, 对于维持免疫系统稳态及免疫耐受具有重要作用, 可通过非抗原特异性方式抑制免疫系统的功能, 但具体的作用机制尚不完全清楚^[7]。Stoop 等^[8]发现, CHB 患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 数量较健康者增多, 去除 CD4⁺ CD25⁺ Treg 后, HBV 特异性增殖反应增强。本研究发现, 与健康者相比, HBeAg(+) 与 HBeAg(-) ASC 患者和 HBeAg(+) 与 HBeAg(-) CHB 患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 表达水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。同时, HBeAg(+) 与 HBeAg(-) CHB 患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 表达水平较健康者有升高趋势, 提示 CD4⁺ CD25⁺ Treg 可通过抑制效应细胞的增殖, 调控机体对 HBV 感染的免疫应答, 增强抗病毒免疫反应, 促进病毒的清除。

细胞因子作为宿主产生的重要炎性反应调节介质, 在清除 HBV 的免疫应答过程中发挥重要的作用。Th1/Th2 型细胞因子具有相互调节、相互制约的作用, 共同调节机体的免疫状态。正常情况下, Th1/Th2 处于动态平衡状态, 如果 Th1/Th2 失衡, 可能导致免疫功能紊乱, 影响免疫防御功能。与健康者相比, HBeAg(+) 与 HBeAg(-) ASC 患者和 HBeAg(+) 与 HBeAg(-) CHB 患者外周血 IL-18、IFN-γ 及 TGF-β 水平明显升高($P < 0.05$), 提示 IL-18、IFN-γ 及 TGF-β 可能参与了 CHB 的发病过程, 与何登明等^[9]的报道一致。此外, HBeAg(+) ASC 患者外周血 TGF-β 水平高于 HBeAg(-) ASC 患者, 原因可能是 TGF-β 表达增加, 促进受损肝细胞、内皮细胞对 PLT 的聚集作用, 进而释放更多的 TGF-β。

关于 CD4⁺ CD25⁺ Treg 表达水平与 ALT 水平的关系, Lin 等^[10]认为肝细胞损伤可增强 CHB 患者 CD4⁺ CD25⁺ Treg 的抑制活性, 其研究显示, 外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 表达水平与 ALT 水平呈正比, 去除 CD4⁺ CD25⁺ Treg 后, ALT 水平较高的患者 HBV 特异性 CD8⁺ T 淋巴细胞的增殖反应明显高于 ALT 水平较低的患者。但国内有研究显示, 外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 表达水平与血清 ALT 水平无相关性^[11]。本研究发现, HBeAg(+) ASC 患者 CD4⁺ CD25⁺ Treg 与 A/P 呈正相关($P < 0.05$), 提示 ASC 患者体内 HBV 的增殖激活了细胞免疫, 通过攻击自身被感染了 HBV 的肝细胞, 引起肝细胞损伤,

表现为 ALT、AST、TBIL、A/P 升高, 而长期的慢性炎症导致肝细胞不断被破坏与修复, 逐渐出现肝纤维化, 进而可能发展为肝硬化和肝癌。本研究还发现, HBeAg(+) ASC 患者 CD4⁺ CD25⁺ Treg 表达水平与外周血 ALT 水平呈正相关($P < 0.05$), 说明 CD4⁺ CD25⁺ Treg 表达水平与肝炎的炎性反应程度有一定关系, CD4⁺ CD25⁺ Treg 对免疫稳态具有重要的调节作用。

综上所述, 各种 T 淋巴细胞和细胞因子之间的作用不是相互孤立的, 而是协调、有序的整体, 构成统一的网络, 相互协调又相互拮抗, 保护机体, 抵抗侵袭, 维持正常的免疫应答。因此, 监测 IL-18、IFN-γ、TGF-β 水平的变化在判断 CHB 患者病毒复制活跃程度、病情进展、预后及指导治疗方面具有一定意义。

参考文献

- [1] 肖光明, 姚细安, 连粤湘, 等. 乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. 实用肝脏病杂志, 2005, 8(1): 22-24.
- [2] 庄勤建, 邱隆敏, 姚新生, 等. CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞与乙型肝炎病毒感染的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(24): 2248-2253.
- [3] 曾志励, 吴健林, 吴继周. 乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群比例和 Th1/Th2 细胞因子水平检测及其临床意义[J]. 吉林大学学报, 2012, 38(3): 555-558.
- [4] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 临床肝胆病杂志, 2011, 27(1): 88-89.
- [5] 巫翠萍, 覃西, 王华民, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 与 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞亚群的相关研究[J]. 中国免疫学杂志, 2010, 26(4): 273-277.
- [6] 张政, 王福生. 慢性乙型肝炎免疫致病机制和免疫治疗现状[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(11): 801-804.
- [7] 吴银亚, 谭善忠. CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 淋巴细胞在慢性乙型肝炎发病机制中的作用[J]. 中华传染病杂志, 2012, 30(9): 563-565.
- [8] Stoop JN, van der Molen RG, Baan CC, et al. Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. Hepatitis, 2005, 41(4): 771-778.
- [9] 何登明, 毛青, 王宇明. 乙型肝炎病毒感染者血清 Th1/Th2 型细胞因子水平及意义[J]. 免疫学杂志, 2004, 20(5): 408-409.
- [10] Lin CY, Tsai MC, Huang CW, et al. Liver injury is associated with enhanced regulatory T-cell activity in patients with chronic hepatitis B[J]. J Viral Hepat, 2007, 14(7): 503-511.
- [11] 刘俊英, 杨京, 贾红云. 不同临床类型 HBV 感染者外周血 T 细胞亚群的差异[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(29): 3038-3042.

(收稿日期: 2015-03-02)

(上接第 1345 页)

- [7] Minoia F, Davi S, Horne A, et al. Clinical features, treatment, and outcome of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a multinational, multicenter study of 362 patients[J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(11): 3160-3169.
- [8] Yokota S, Kikuchi M, Nozawa T, et al. Pathogenesis of systemic inflammatory diseases in childhood: "Lessons from clinical trials of anti-cytokine monoclonal antibodies for Kawasaki disease, system-

ic onset juvenile idiopathic arthritis, and cryopyrin-associated periodic fever syndrome[J]. Mod Rheumatol, 2014, 5(20): 1-10.

- [9] 李瑞娟, 唐雪梅, 刘玮, 等. 幼年特发性关节炎白介素 6、γ 干扰素诱导蛋白 10 和白介素 17 的表达及意义[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(6): 472-476.

(收稿日期: 2015-01-11)