

• 论 著 •

IL-37 在慢性肾脏疾病患者中表达及临床意义*

李超强¹, 张俊爱², 朱凯欣¹, 徐军发^{2△}

(1. 中山大学附属东华医院生殖中心, 广东东莞 523110; 2. 广东医科大学检验医学研究所, 广东东莞 523808)

摘要:目的 探讨慢性肾脏病(CKD)患者和肾病综合征(NS)患者血浆白细胞介素 37(IL-37)水平的变化及临床意义。方法 选取 2016 年 9—11 月中山大学附属东华医院收治的 CKD 患者 57 例(CKD 组)和 NS 患者 13 例(NS 组)作为研究对象, 并将 CKD 组分为 CKD 1 期组、CKD 3 期组和 CKD 5 期组, 同时选取健康体检者 22 例作为健康对照组。采用酶联免疫吸附试验夹心法检测血浆 IL-37 水平, 对检测结果进行统计分析。结果 CKD 组和 NS 组血浆 IL-37 水平明显高于健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$); CKD 1 期组、CKD 3 期组和 CKD 5 期组血浆 IL-37 水平差异无统计学意义($P > 0.05$); CKD 组和 NS 组治疗后血浆 IL-37 水平低于治疗前, 差异有统计学意义($P < 0.01$); CKD 患者血浆 IL-37 水平与白细胞、淋巴细胞水平呈正相关。结论 CKD 和 NS 患者血浆 IL-37 呈高水平表达, 对 CKD 和 NS 具有很好的辅助诊断价值。

关键词:慢性肾脏病; 肾病综合征; 白细胞介素 37; 酶联免疫吸附试验; 血浆

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.21.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)21-2947-03

Expression and clinical significance of interleukins-37 in patients with chronic kidney disease*

LI Chaoqiang¹, ZHANG Jun'ai², ZHU Kaixin¹, XU Junfa^{2△}

(1. Department of Reproductive Center, Affiliated Donghua Hospital of Sun Yat-sen University, Dongguan, Guangdong 523110, China; 2. Institute of Laboratory Medicine, Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong 523808, China)

Abstract: Objective To investigate the level change of interleukin-37 (IL-37) and its clinical significance in the patients with chronic kidney disease (CKD) and nephrotic syndrome (NS). **Methods** 57 cases of CKD (CKD group) and 13 cases of NS (NS group) in the Affiliated Donghua Hospital of Sun Yat-sen University from September to November 2016 were selected. The CKD group was redivided into the CKD stage 1, stage 3 and stage 5 groups. At the same time 22 individuals undergoing physical examination were selected as the healthy control group. The ELISA sandwich method was adopted to detect the plasma IL-37 level. Then the detection results were statistically analyzed. **Results** The level of plasma IL-37 in the CKD group and NS group was significantly higher than that in the healthy control group, the difference was statistically significant ($P < 0.01$); the level of plasma IL-37 had no statistical difference among the CKD stage 1 group, CKD stage 3 group and CKD stage 5 group ($P > 0.05$); the plasma IL-37 level after treatment in the CKD group and NS group was decreased compared with before treatment, the difference was statistically significant ($P < 0.01$); the plasma IL-37 level in CKD patients was positively correlated with the WBC and lymphocyte cells levels. **Conclusion** The patients with CKD and NS have high level expression of plasma IL-37, which might have good auxiliary diagnostic value for CKD and NS.

Key words: chronic kidney disease; nephrotic syndrome; IL-37; ELISA; plasma

慢性肾脏病(CKD)和肾病综合征(NS)是以血尿、蛋白尿为基本特征的肾小球性疾病。在病理情况下, 肾组织可分泌多种细胞因子诱导炎症细胞浸润肾组织, 刺激系膜细胞增生和细胞外基质蛋白合成, 造成肾组织损伤和纤维化, 损伤足细胞, 最终导致慢性肾衰竭。细胞因子间相互促进、相互抑制, 在 CKD 和 NS 疾病的发生和发展中有着重要作用。白细胞介素-37 (IL-37) 是近些年发现的抑炎细胞因子, 在人体大部分组织中均有表达^[1-2]。研究证实, IL-37 可在多种疾病中检出, 与疾病的发生和发展密切相关^[3-6]。本文采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 夹心法检测比较 CKD 患者、NS 患者及健康体检者血浆 IL-37 水平, 探讨 IL-37 在 CKD 和 NS 疾病中的诊断价值和临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 9—11 月中山大学附属东华医院收治的 CKD 患者 57 例(CKD 组)和 NS 患者 13 例(NS 组)。

入选标准: 依据 2014 年美国慢性肾脏病指南^[7] 确诊 CKD 患者; 依据文献^[8] 确诊 NS 患者。排除标准: 有糖尿病、肝炎、肺结核、人类免疫缺陷病毒感染及自身免疫性疾病的患者。同时选取健康体检者 22 例作为健康对照组, 平均年龄 (40.18 ± 10.82) 岁。按文献^[7] 将 CKD 组分为 CKD 1 期组 (8 例)、CKD 3 期组 (16 例) 和 CKD 5 期组 (28 例)。本研究经广东医科大学伦理委员会批准实施, 所有研究对象均知情同意并签署知情同意书。CKD 组、NS 组和健康对照组一般资料差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 仪器与试剂 IL-37 检测试剂盒购自美国 Uscn Life Science 公司, COBAS C501 生化分析仪及尿酸 (URCA)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (CREA) 检测试剂盒购自瑞士罗氏公司, IM-MAGE 蛋白分析仪、LH755 全自动血细胞分析仪及白细胞 (WBC)、淋巴细胞 (LYM)、单核细胞 (MONO) 检测试剂盒购自美国贝克曼库尔特公司, 多功能酶标仪购自瑞士 Tecan 公司。

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81570009)。

作者简介: 李超强, 男, 副主任技师, 主要从事疾病免疫机制研究。△ 通信作者, E-mail: xujunfa@gdmu.edu.cn。

1.3 方法

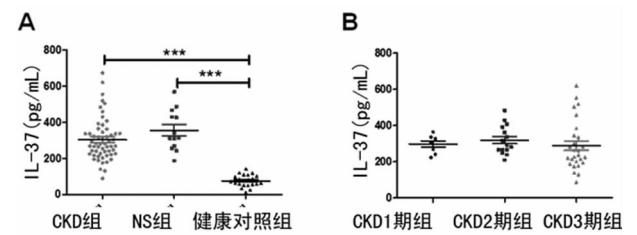
1.3.1 标本采集 对 CKD 组和 NS 组的治疗进行随访,未使用药物治疗时为治疗前,经药物治疗大于 14 d 时为治疗后。CKD 组和 NS 组治疗前后的血液标本由肾病科护士采集,健康对照组血液标本由体检中心护士采集,分别用肝素抗凝管抽取空腹外周血 2 mL,6 h 内分离血浆,300×g 离心 10 min,然后用无菌巴氏吸管吸取 1.5 mL 血浆于无菌 EP 管中,于-20℃冰箱中保存。患者入院时同时进行肾功能生化及血液常规检测。

1.3.2 检测方法 把冻存于-20℃冰箱中的标本取出,常温下复融,然后严格按照 IL-37 试剂盒提供的说明方法进行操作。用酶标仪测出标准品和标本的吸光度值,依据标准品吸光度值与水平关系计算出回归方程,然后计算出每个标本的血浆 IL-37 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行统计学处理,计量资料采用配对 *t* 检验,相关性分析采用 Spearman 秩相关进行分析,采用 GraphPad Prism 5.0 绘制图形,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

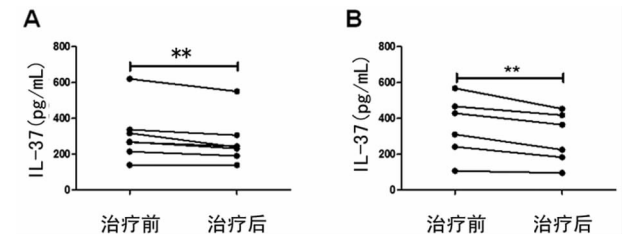
2.1 治疗前各组血浆 IL-37 水平比较 CKD 组和 NS 组血浆 IL-37 水平分别为 303.42、354.57 pg/mL,明显高于健康对照组的 75.60 pg/mL, (*t* 值分别为 8.974、11.010, *P*<0.01)。CKD 1 期组、CKD 3 期组和 CKD 5 期组血浆 IL-37 水平分别为 298.82、320.19 和 288.54 pg/mL,差异无统计学意义 (*P*>0.05)。见图 1。



注:A 为 CKD 组,B 为 NS 组;与健康对照组比较,*** *P*<0.01。

图 1 CKD 组和 NS 组血浆 IL-37 水平

2.2 治疗后各组血浆 IL-37 水平比较 对 CKD 组中 6 例患者和 NS 组中 6 例患者进行跟踪治疗 2 周后,其血浆 IL-37 水平均下降,差异有统计学意义 (*t* 值分别为 3.659、4.507, *P*<0.05)。见图 2。



注:与治疗前比较,** *P*<0.05。

图 2 治疗前、后血浆 IL-37 水平变化

2.3 CKD 组血浆 IL-37 水平与其他检测指标的关系 CKD 组中,血浆 IL-37 水平与血液中 WBC、LYM、URCA 水平呈正相关(*r* 分别为 0.041 71、0.048 87、0.053 28, *P*>0.05),与 MONO、BUN、CREA 水平无相关关系(*r* 分别为 0.000 79、0.010 05、0.012 91, *P*>0.05)。见图 3。

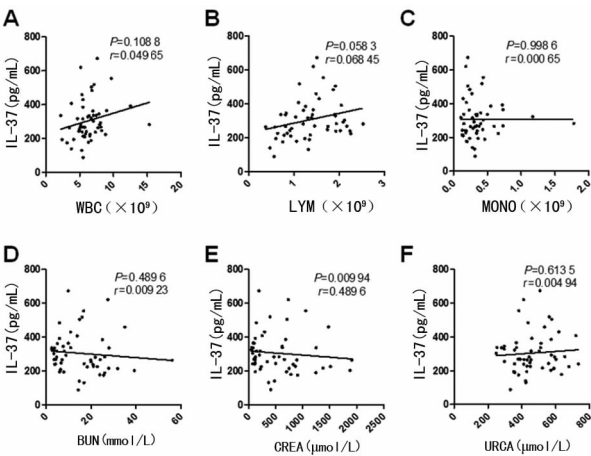


图 3 CKD 患者血清 IL-37 与其他检测指标的关系

3 讨 论

CKD 和 NS 是肾小球性疾病中最常见的两种肾脏疾病,也是中国乃至全球的研究热点。细胞因子异常变化和激活是疾病形成和发展的重要机制。在病理情况下,机体内促炎因子和抑炎因子的失衡在慢性肾脏病和肾病综合征的进展中起重要作用^[9-10]。

IL-37 是新型抗炎因子,与白细胞介素-18(IL-18)有高度的同源性,可与 IL-18 受体(IL-18R)、IL-18 结合蛋白(IL-18BP)形成复合物,可阻断 IL-18 信号转导,抑制白细胞介素-1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白细胞介素-6(IL-6)的表达^[11-12]。脂多糖可激活巨噬细胞分泌 IL-37^[12],细胞因子如 IL-1β、IL-18、TNF-α、干扰素-γ(IFN-γ)和转化生长因子-β(TGF-β)等异常也可刺激 IL-37 分泌增多^[13],p38 丝裂原活化蛋白激酶和细胞外信号调节激酶 1/2 的激活也可上调 IL-37 的表达^[14]。IL-37 通过抑制促炎因子表达、阻断信号转导和上调抑炎因子表达等途径在疾病过程中起着重要生物效应。有研究显示,IL-37 在多种炎症疾病中异常增高^[6,15-16]。炎症细胞浸润肾组织可产生多种细胞因子,如白细胞介素-1(IL-1)、IL-6、IL-8、IL-17 和 TNF-α 等^[17],诱导肾小球内皮细胞和系膜细胞分泌白细胞介素-2(IL-2)、IL-6 和单核细胞趋化蛋白 1 等,刺激系膜细胞增殖和细胞外基质合成,促进足细胞的凋亡,破坏肾小球滤过屏障,增加肾脏毛细血管通透性增强,改变了肾脏血流动力学,并继续诱发炎症细胞浸润,促进系膜细胞增生和纤维化,最终导致慢性肾衰竭^[18]。本研究结果显示,CKD 和 NS 组血浆 IL-37 水平明显高于健康对照组 (*P*<0.01),提示在 CKD 和 NS 疾病中炎症细胞浸润肾组织产生的 IL-1、TNF-α 和 IFN-γ 等细胞因子可刺激 IL-37 的分泌。IL-37 与 IL-18R 和 IL-18BP 相结合,抑制 IL-18 诱导 IL-2、IL-6 和 IFN-γ 等的表达,减少 T 淋巴细胞增殖^[19],降低炎症反应,延缓肾组织损伤,具有保护作用,其具体机制有待进一步阐明。

血浆中 IL-37 水平的变化有助于评估疾病的临床治疗效果^[16,20-21]。本研究随机跟踪部分 CKD 和 NS 患者,治疗 2 周后其血浆 IL-37 水平均有不同程度下降 (*P*<0.05)。这表明血浆 IL-37 水平的变化与临床治疗效果相关,血浆 IL-37 有可能成为观察 CKD 和 NS 治疗疗效的辅助指标,具有临床指导意义。同时,本研究发现 CKD 患者血浆 IL-37 水平与患者外周血 WBC、LYM、URCA 水平呈正相关,与 MONO、BUN、CREA 无相关性,CKD 1 期组、CKD 3 期组和 CKD 5 期组间血浆 IL-37 水平差异无统计学意义 (*P*>0.05)。这表明 CKD 患者血浆

IL-37 水平不随 BUN、CREA 水平升高而升高,与肾脏功能减退严重性相关性低,中性粒细胞和 LYM 参与肾脏组织炎症过程,IL-37 在炎症过程中起到负反馈调节作用。

综上所述,CKD 和 NS 患者血浆 IL-37 水平显著升高,IL-37 可能参与机体抗肾小球肾炎免疫的负向调节,与疾病的预后密切相关。但这种假设仍需要更大标本、更长时间的随访才能得以证实。

参考文献

[1] Bulau AM, Nold MF, Li S, et al. Role of caspase-1 in nuclear translocation of IL-37, release of the cytokine, and IL-37 inhibition of innate immune responses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(7):2650-2655.

[2] Luo Y, Cai X, Liu S, et al. Suppression of antigen-specific adaptive immunity by IL-37 via induction of tolerogenic dendritic cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(42):15178-15183.

[3] Fujita H, Inoue Y, Seto K, et al. Interleukin-37 is elevated in subjects with atopic dermatitis[J]. *J Dermatol Sci*, 2013, 69(2):173-175.

[4] Li C, Ji H, Cai Y, et al. Serum interleukin-37 concentrations and HBeAg seroconversion in chronic HBV patients during telbivudine treatment[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2013, 33(10):612-618.

[5] Wan ZY, Sun Z, Song F, et al. Downregulated interleukin 37 expression associated with aggravation of intervertebral disc degeneration[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(2):656-662.

[6] Zhao PW, Jiang WG, Wang L, et al. Plasma levels of IL-37 and correlation with TNF- α , IL-17A, and disease activity during DMARD treatment of rheumatoid arthritis [J/CD]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e95346.

[7] Carville S, Wonderling D, Stevens P, et al. Early identification and management of chronic kidney disease in adults: summary of updated NICE guidance [J]. *BMJ*, 2014, 349(7):g4507.

[8] 叶任高, 陆再英, 谢毅, 等. 内科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004:508.

[9] Ferrer MF, Scharrig E, Alberdi L, et al. Decay-accelerating factor 1 deficiency exacerbates leptospiral-induced murine chronic nephritis and renal fibrosis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):e102860.

[10] Patel FJ, Volkmann DT, Taylor GW, et al. IL-37 reduces inflammatory response after cerebral ischemia and reperfusion injury through down-regulation of pro-inflammatory

cytokines[J]. *Cytokine*, 2014, 69(2):234-239.

[11] Lunding L, Webering S, Vock C, et al. IL-37 requires IL-18 Ralpha and SIGIRR/IL-1R8 to diminish allergic airway inflammation in mice[J]. *Allergy*, 2015, 70(4):366-373.

[12] Bufler P, Gamboni-Robertson F, Azam T, et al. Interleukin-1 homologues IL-1F7b and IL-18 contain functional mRNA instability elements within the coding region responsive to lipopolysaccharide[J]. *Biochem J*, 2004, 381(1):503-510.

[13] Quirk S, Agrawal DK. Immunobiology of IL-37: mechanism of action and clinical perspectives [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2014, 10(12):1703-1709.

[14] He L, Liang Z, Zhao F, et al. Modulation of IL-37 expression by triptolide and triptonide in THP-1 cells[J]. *Cell Mol Immunol*, 2015, 12(4):515-518.

[15] Ye L, Ji L, Wen Z, et al. IL-37 inhibits the production of inflammatory cytokines in peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic lupus erythematosus; its correlation with disease activity[J]. *J Transl Med*, 2014, 12(1):69.

[16] Zhang JA, Liu GB, Zeng JC, et al. Clinical detection and significance of plasma IL-37 in patients with active pulmonary tuberculosis[J]. *Chin J Cell Mol Immunol*, 2015, 31(4):520-523.

[17] Amdur RL, Mukherjee M, Go A, et al. Interleukin-6 is a risk factor for atrial fibrillation in chronic kidney disease: findings from the CRIC study[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2):e0148189.

[18] Hofmann JN, Corley DA, Zhao WK, et al. Chronic kidney disease and risk of renal cell carcinoma: differences by race[J]. *Epidemiology*, 2015, 26(1):59-67.

[19] Calabrese LH, Rose-John S. IL-6 biology: implications for clinical targeting in rheumatic disease[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014, 10(12):720-727.

[20] Zhao PW, Jiang WG, Wang L, et al. Plasma levels of IL-37 and correlation with TNF- α , IL-17A, and disease activity during DMARD treatment of rheumatoid arthritis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e95346.

[21] Song L, Qiu F, Fan Y, et al. Glucocorticoid regulates interleukin-37 in systemic lupus erythematosus[J]. *J Clin Immunol*, 2013, 33(1):111-117.

(收稿日期:2017-03-19 修回日期:2017-06-25)

(上接第 2946 页)

[9] Zheng XQ, Gao Y, Zhang Q, et al. Identification of transcription factor AML-1 binding site upstream of human cy-tomegalovirus UL111A gene[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2):e0117773.

[10] 黄蓉. HLA-G 与病毒感染免疫[J]. *中国麻风皮肤病杂志*, 2013, 29(3):181-183.

[11] 黄丹倩, 金玲芝, 徐丹萍. HLA-G 基因表观遗传学调控研究进展[J]. *现代免疫学*, 2016, 35(5):424-429.

[12] 廖贵益, 钟金彪, 赵飞, 等. HLA-G 基因转录因子的生物信息学分析[J]. *山东医药*, 2016, 56(30):37-39.

(收稿日期:2017-03-26 修回日期:2017-07-02)