

白细胞介素-21 及其受体在类风湿关节炎患者血清及外周血单个核细胞中的表达

章 荣(江苏省连云港市妇幼保健院中心实验室 222006)

【摘要】 目的 检测类风湿关节炎(RA)患者血清、外周血单个核细胞(PBMC)中白细胞介素-21(IL-21)及其受体(IL-21R)的表达水平,探讨二者之间的相关性及其在 RA 病理机制中的作用。**方法** 血清 IL-21 含量采用酶联免疫吸附试验检测,套式实时荧光定量聚合酶链反应法测定 PBMC 中 IL-21R mRNA 水平。**结果** RA 患者组血清中 IL-21 含量和 PBMC 中 IL-21R mRNA 表达水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);RA 活动期 IL-21、IL-21R mRNA 水平明显高于非活动期,RA 患者经治疗症状改善者 IL-21、IL-21R 含量明显下调,分别下降 21.0%、30.3%,治疗前后比较差异有统计学意义($P < 0.01$);IL-21 和 IL-21R 表达水平与 RA 患者关节功能分级有显著相关性,Ⅲ级以上与 I 级、II 级相比 2 项指标差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** IL-21 与 IL-21R 水平检测对 RA 的诊断和治疗有重要的临床意义。

【关键词】 白细胞介素-21; 白细胞介素-21 受体 mRNA; 类风湿关节炎; 外周血单个核细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.23.020 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)23-2854-02

The expression of IL-21 and its receptor in serum and PBMC of patients with RA ZHANG Rong (Central Laboratory, Lianyungang Women and Children Health Hospital, Jiangsu 222006, China)

【Abstract】 Objective To measure the expression of IL-21 protein and its receptor (IL-21R) mRNA in serum and PBMC of patients with RA, and to explore the correlation between them and its clinical roles in RA. **Methods** IL-21 protein in serum and IL-21R mRNA in PBMC were measured by ELISA and real-time PCR respectively in patients with RA and the controls. **Results** The expression of IL-21 protein in serum and IL-21R mRNA in PBMC in patients with RA were higher than those of the controls. There was a significant difference between the two groups ($P < 0.01$). The expression of IL-21 protein and IL-21R mRNA in active RA were much more frequent than those in paracastic RA ($P < 0.01$), with IL-21 and IL-21R decreased by 30.3% and 21.0% respectively after being effectively treated. Furthermore, there was a close correlation between IL-21 and IL-21R and joint functional classification. The contents of IL-21 and IL-21R at III phase and above were different from that at I or II phase ($P < 0.01$). **Conclusion** IL-21 and IL-21R mRNA are highly expressed in RA and correlated with the inflammation degree of the joint of RA. The measurements of IL-21 and IL-21R have important clinical value for the diagnosis and therapy of RA.

【Key words】 IL-21; IL-21R mRNA; RA; PBMC

近年来,大量研究证实白细胞介素-21(IL-21)及其受体(IL-21R)表达水平与多种疾病的发生、发展密切相关^[1-2]。IL-21 具有广泛的生物学功能,如促进炎症反应、免疫调节等,而这些功能的发挥又必须依赖其与 IL-21R 间的相互作用。进一步研究表明,调节 IL-21 和 IL-21R 的表达水平或(和)阻断其结合后的信号传导,有助于多种疾病症状的缓解。为分析类风湿关节炎(RA)患者血清中 IL-21 含量及外周血单个核细胞(PBMC)中 IL-21R mRNA 的表达水平,并了解 2 项指标之间的相关性及其在 RA 病理机制中的作用,作者对此进行了初步探讨,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 RA 患者组均为 2007 年 9 月至 2008 年 8 月在本院确诊的患者,诊断均符合 1987 年美国风湿病学会修订的标准;按 RA 患者的性别、年龄收集治疗前、后的血清和 PBMC 标本 60 例。健康对照组为同时收集的本院健康体检者标本 30 例。

1.2 试剂及仪器 Trizol 裂解液(Invitrogen 公司),逆转录试剂(TaKaRa 公司),实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)试剂(Promega 公司),血清 IL-21 检测试剂盒(ADI 公司),ABI7500

荧光实时循环仪(ABI 公司),PE9600 扩增仪(PE 公司),BIO-RAD680 酶标仪(BIO 公司)。

1.3 方法

1.3.1 IL-21 检测 抽取两组清晨空腹静脉血 2 mL,分离血清,置 EP 管中-20℃保存,留做检测。IL-21 定量检测采用商用的酶联免疫吸附试验(ELISA)免疫竞争抑制法,严格按试剂盒说明书进行操作。

1.3.2 IL-21R mRNA 检测 收集两组清晨空腹静脉血 2 mL,检测采用套式 PCR^[1]。

1.3.3 结果分析 按 1987 年美国风湿病学会制订的关节功能分级标准将 RA 患者关节功能分级,分为 I 级、II 级、III 级以上,分析各级患者血清中 IL-21 含量和 PBMC IL-21R mRNA 水平的变化趋势。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS13.0 统计软件包进行分析,两组间的差异比较采用两独立样本 t 检验;治疗前、后的比较采用配对 t 检验;两组间的相关性分析采用 Pearson 直线相关分析。

2 结 果

2.1 RA 患者血清中 IL-21 含量和 PBMC 中 IL-21R mRNA

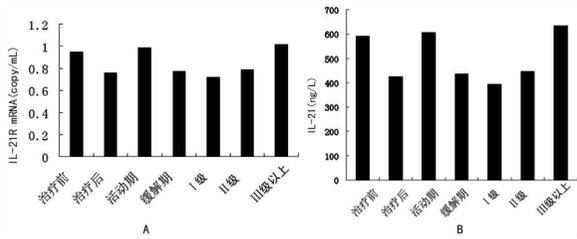
表达水平 采用 ELISA 法和套式实时荧光定量 PCR 分别检测了 60 例 RA 患者和 30 例健康人群血清中 IL-21 含量以及 PBMC 中 IL-21R mRNA 表达,发现 RA 患者血清中 IL-21 的含量和外周血 PBMC 中 IL-21R mRNA 的表达水平均明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

表 1 RA 患者与健康对照组 IL-21 含量与 IL-21R mRNA 表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-21(ng/L)	IL-21R mRNA(copy/ μ L)
RA 患者组	60	514.73 \pm 130.11	0.87 \pm 0.15
健康对照组	30	358.90 \pm 68.88	0.78 \pm 0.12
P		<0.01	<0.01

注:—表示无数据。

2.2 IL-21、IL-21R mRNA 表达与 RA 患者病情活动及关节功能分级的关系分析 实验结果显示,与非活动期相比,RA 患者活动期 IL-21 和 IL-21R mRNA 表达均明显增高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。RA 患者经有效治疗后,IL-21、IL-21R mRNA 分别下降约 21.0%、30.3%;差异有统计学意义($P < 0.01$)。两指标表达水平均随临床分级增加而逐渐增高,其中 I 级与 II 级间相比差异无统计学意义($P > 0.05$),而 I 级、II 级分别与 III 级以上相比,差异有统计学意义($P < 0.01$);两指标表达水平与年龄、性别无显著相关性。见图 1、表 2。



注:A 为 RA 患者各组间外周血 PBMC 中 IL-21R 表达水平的比较;B 为 RA 患者各组间血清中 IL-21 含量的比较。

图 1 RA 患者不同组别 PBMC 中 IL-21R 表达水平及血清中 IL-21 含量比较

表 2 RA 患者 PBMC 中 IL-21R mRNA 表达水平与血清中 IL-21 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-21R mRNA (copy/ μ L)	IL-21 (ng/L)	P
RA 患者治疗前	21	0.96 \pm 0.11	593.14 \pm 92.19	<0.01
RA 患者治疗后	21	0.76 \pm 0.08	423.52 \pm 66.66	
临床活动期	29	0.98 \pm 0.13	606.28 \pm 118.44	<0.01
临床非活动期	31	0.77 \pm 0.07	429.19 \pm 67.15	
关节功能 I 级	8	0.72 \pm 0.07 ^a	392.38 \pm 62.06 ^a	>0.05
关节功能 II 级	28	0.79 \pm 0.09 ^a	446.68 \pm 77.48 ^a	
关节功能 III 级以上	24	1.02 \pm 0.10	635.04 \pm 96.01	<0.01

注:与 III 级以上相比,^a $P < 0.01$ 。

2.3 PBMC 中 IL-21R mRNA 表达水平及血清中 IL-21 含量相关性分析 本研究对 60 例 RA 患者和 30 例健康对照人群 PBMC 中 IL-21R mRNA 表达水平及血清中 IL-21 含量进行了 Pearson 直线相关性分析,结果显示,IL-21R mRNA 表达水平及血清中 IL-21 含量之间呈显著正相关($r = 0.937$)。见图 2。

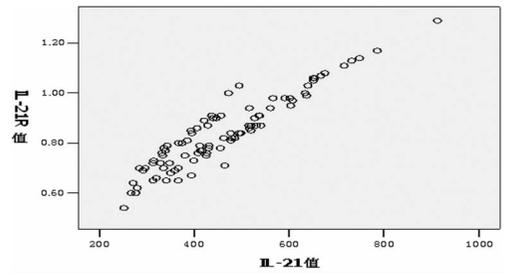


图 2 PBMC 中 IL-21R mRNA 表达水平及血清中 IL-21 含量相关性散点图

3 讨论

IL-21 是一种促炎性细胞因子,主要由 CD4⁺T 淋巴细胞分泌;IL-21R 在 CD4⁺T 淋巴细胞上显著高表达,当 IL-21 和 IL-21R 大量结合时,可促进 JAK/STAT 信号传导增强,从而使 B 淋巴细胞活性加强,合成的抗原特异性 IgG1、IgG2b 和 IgG3 数量明显增加^[3-4]。IL-21 与 IL-21R 结合后可通过自分泌途径影响 IL-21 的分泌,从而使两者表达水平相互影响^[5-6]。有研究显示,当 IL-21R 基因发生突变时,可以显著抑制 T 淋巴细胞诱导的 B 淋巴细胞活性及增殖,进而影响 IL-21 的表达^[7]。本研究对 RA 患者血清中 IL-21 含量与 PBMC 中 IL-21R mRNA 表达水平进行 Pearson 直线相关性分析,结果显示二者呈显著正相关($r = 0.937$)。

另外,Young 等^[4]证实 IL-21 与 IL-21R 结合除可促进 T 淋巴细胞的激活、增殖,还能增强促炎症因子(肿瘤坏死因子 α 和干扰素 γ 等)的分泌,从而诱发 RA 的发病。本研究表明 RA 患者 IL-21 和 IL-21R 的表达水平与健康对照组相比均明显增高,与病情发展密切相关,RA 患者经免疫抑制剂治疗有效后两指标显著降低,差异有统计学意义。本研究结果还显示,IL-21、IL-21R 表达水平和 RA 患者的关节组织损伤程度密切相关,RA 患者关节功能损伤程度越严重,IL-21 及 IL-21R 表达水平则越高。这可能和大量的免疫球蛋白及促炎症细胞因子的产生,加剧自身免疫反应,从而导致骨骼损伤加重有关。因此,检测 IL-21、IL-21R 水平可以作为 RA 的一种辅助诊断及临床治疗效果的监测指标。

综上所述,设想可以通过降低 IL-21、IL-21R 的表达水平或(和)阻断 IL-21/IL-21R 结合后信号传导通路治疗 RA,从而为 RA 的临床治疗、病情监测及预后提供新的途径和思路。

参考文献

- [1] 易本谊,朱红霞,江和. 白细胞介素-21 及其与相关疾病的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2009,25(11): 1065-1066.
- [2] 丁艳荣,黄长形. 白细胞介素 21 的生物学特性及其研究进展[J]. 国际流行病学传染病学杂志,2010,37(2): 121-124.
- [3] 崔玲玲,王礼文. 类风湿关节炎患者外周血单个核细胞 IL-21RmRNA 的检测及其临床意义[J]. 临床检验杂志,2009,27(1): 57-60.
- [4] Young DA, Hegen M, Ma HL, et al. Blockade of interleukin-21/interleukin-21 receptor pathway ameliorates disease in animal models of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum,2007,56(4): 1152-1163.

行配对样本 *t* 检验, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

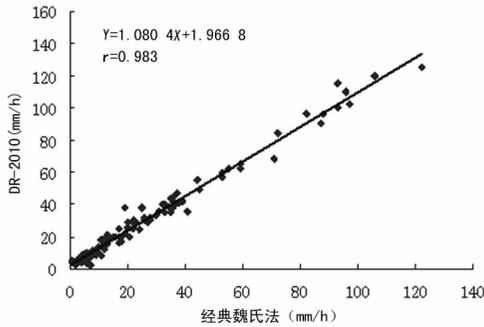


图 1 DR-2010 与魏氏法的相关性

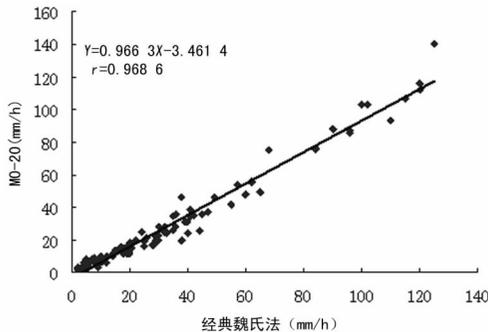


图 2 MO-20 与魏氏法的相关性

表 1 DR-2010 和 MO-20 自动化红细胞沉降仪法与经典魏氏法 ESR 结果总体比较 ($\bar{x} \pm s$)

方法	ESR 结果 (mm/h)
DR-2010 法	28.03 ± 27.59
MO-20 法	27.70 ± 29.52
魏氏法	32.25 ± 30.06

3 讨论

ESR 传统的检测方法有魏氏法、温氏法、潘氏法等^[4], 因其方法学存在许多不足, 影响因素较多, 如试剂的质量、血液与抗凝剂的比例、红细胞沉降管内径的误差及其反复使用、实验室的温度和湿度难以控制, 很难开展质量控制工作。随着检验医学的飞速发展, 各种型号的进口和国产自动红细胞沉降仪具有操作简单、检测快速、影响因素少及生物危害小等优点, 而受到检验工作人员的青睐^[5]。其检测原理主要是红外线阻挡、光电比浊和摄像机自动扫描分析法等^[6]。本组所评价的 DR-2010 和 MO-20 自动红细胞沉降仪就是根据红外线阻挡原理来检测的新型自动红细胞沉降仪。

ICSH 推荐魏氏法为 ESR 测定的标准方法, 故对其器材、

操作方法和环境温度作出了严格的规定, 但在实际工作中标准化操作很难。由于魏氏法在检测过程中受到诸多因素的影响, 尤其在一些基层医院, 很难达到实验要求的环境条件, 故其结果的准确性也很难保证。而自动红细胞沉降仪的影响因素则相当较少, 无论从实验的原理、设计、环境要求, 还是对实验操作者的安全以及节约人力资源等方面都具有许多优点。仪器可以自动进行室温修正, 当工作温度为 15~30 °C 时, 仪器会自动将结果转换为 18 °C 的数据, 这样可使不同温度条件下的检测结果具有可比性, 去除了室温对结果的影响, 从而保证了不同室温下 ESR 结果的一致性。1 h 自动计时, 报告 ESR 值, 避免了时间上的误差, 仪器还可以选择 0.5 h 报告 ESR 值, 大大缩短了临床等候报告的时间; 并且可以同时检测 40 份标本, 满足了标本量大的医院的检测要求。本研究结果显示, DR-2010 和 MO-20 自动红细胞沉降仪检测结果分别为 (28.03 ± 27.59) mm/h 和 (27.70 ± 29.52) mm/h, 结果稳定, 与魏氏法所测结果有很好的相关性, 与国内报道基本一致^[7]。且两种不同型号的自动红细胞沉降仪具有重复性好、准确性高、快速出结果、维护简便等优点, 适合在临床推广使用。

参考文献

- [1] 熊立凡, 李树仁. 临床检验基础[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 29-30.
- [2] Jou JM, Lewis SM, Briggs C, et al. ICSH review of the measurement of the erythrocyte sedimentation rate[J]. Int J Lab Hematol, 2011, 33(2): 125-132.
- [3] Subramanian A, Rangarajan K, Pandey RM, et al. Evaluation of an automated erythrocyte sedimentation rate analyzer as compared to the Westergren manual method in measurement of erythrocyte sedimentation rate[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2011, 54(1): 70-74.
- [4] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 121.
- [5] 唐吉斌, 张卓才, 王京荣, 等. 两种方法检测红细胞沉降率的性能比较[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(19): 1160-1161.
- [6] 郑文芝, 温晓艳, 李立宏, 等. PrecilXC-20 型自动红细胞沉降仪的应用评价[J]. 检验医学, 2005, 20(5): 490-491.
- [7] 黄秋兰, 蔡徐山. DRAGONMED 2010 型自动红细胞沉降仪性能评价[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(13): 1374-1375.

(收稿日期: 2011-06-09)

(上接第 2855 页)

- [5] Tzartos JS, Craner MJ, Friese MA, et al. IL-21 and IL-21 receptor expression in lymphocytes and neurons in multiple sclerosis brain[J]. Am J Pathol, 2011, 178(2): 794-802.
- [6] Caprioli F, Sarra M, Caruso R, et al. Autocrine regulation of IL-21 production in human T lymphocytes[J]. J Immu-

nol, 2008, 180(3): 1800-1807.

- [7] Kuchen S, Robbins R, Sims GP, et al. Essential role of IL-21 in B cell activation, expansion, and plasma cell generation during CD4⁺ T cell-B cell collaboration[J]. J Immunol, 2007, 179(9): 5886-5896.

(收稿日期: 2011-06-18)