

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.22.001

系统性红斑狼疮患者外周血 IL-31 水平与自身抗体的关系研究^{*}

石 渝,何应中,钱 媛,伍小雪,苟晓琴,黄俊琼[△]

遵义医学院附属医院检验科,贵州遵义 563000

摘 要:**目的** 检测系统性红斑狼疮(SLE)患者血浆白细胞介素(IL)-31、IL-6 水平,探讨 IL-31 水平和自身抗体的关系。**方法** 选取 SLE 患者 42 例和健康体检者 25 例,采用 ELISA 检测血浆 IL-31 水平,电化学发光法测定血浆 IL-6 水平,间接免疫荧光法检测抗核抗体(ANA)水平,免疫印迹法检测自身抗体[抗双链 DNA 抗体、抗 Sm 抗体、抗干燥综合征 A 抗体、抗干燥综合征 B 抗体、抗核糖体 P 蛋白抗体、抗干燥综合征(Ro-52)抗体、抗组蛋白抗体、抗核小体抗体、抗核糖核蛋白(RNP)抗体、抗拓扑异构酶抗体、抗着丝点抗体、抗着丝点 B 抗体]。**结果** SLE 组 IL-31 和 IL-6 水平明显高于健康对照组($P<0.05$),SLE 患者血浆 IL-31 水平与 IL-6 无明显相关性($P>0.05$);抗 Sm 抗体阳性组和阴性组、抗 Ro-52 抗体阳性组和阴性组、抗 RNP 抗体阳性组和阴性组各组的 IL-31 水平差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** IL-31 可能参与 SLE 发病,患者外周血 IL-31 和自身抗体水平检测有助于 SLE 的诊断。

关键词: 系统性红斑狼疮; 白细胞介素-31; 白细胞介素-6; 自身抗体

中图分类号: R446.62

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)22-3233-04

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Relationship between peripheral blood IL-31 level with autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus^{*}

SHI Yu, HE Yingzhong, QIAN Yuan, WU Xiaoxue, GOU Xiaoqin, HUANG Junqiong[△]

Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563000, China

Abstract:**Objective** To detect the plasma interleukin (IL)-31 and IL-6 levels in the patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and to investigate the relationship between IL-31 with autoantibodies.**Methods** Forty-two cases of SLE and 25 people undergoing healthy physical examination were selected. The plasma IL-31 level was measured by ELISA. The plasma IL-6 level was detected by electrochemiluminescence method. The ANA level was detected by the indirect immunofluorescence method. The autoantibodies [ds-DNA, anti-Sm antibody, anti-Sjogren's A antibody, anti-Sjogren's B antibody, anti-ribosome P antibody, anti-Sjogren's Ro-52 (anti-Ro-52) antibody, anti-histone antibody, anti-nucleosome antibody, anti-ribonucleoprotein (anti-RNP) antibody, topoisomerase I antibody, centromere antibody, anti-centromere B antibody] were detected by western blot.**Results** The levels of IL-31 and IL-6 in the SLE group were significantly higher than those in the healthy control group ($P<0.05$). No significant correlation was detected between plasma IL-31 level and IL-6 level in the patients with SLE. The IL-31 levels had statistical difference between the anti-Sm antibody positive group and negative group, between the anti-Ro-52 antibody positive group and negative group, between anti-RNP antibody positive group and negative group ($P<0.05$).**Conclusion** IL-31 may participate in mediating SLE pathogenesis. The peripheral blood IL-31 and autoantibodies detection is conducive to diagnose SLE.

Key words: systemic lupus erythematosus; interleukin-31; interleukin-6; autoantibodies

系统性红斑狼疮(SLE)是一种累及多器官、多系统的自身免疫性疾病,以机体产生自身抗体和出现免疫复合物沉积为主要特点^[1]。SLE 的发病机制尚不完全明确,炎症细胞因子在 SLE 的发生、发展中发挥着重要作用^[2-6]。有研究报道,白细胞介素(IL)-6 在 SLE 患者外周血中高表达,且与病情严重程度呈正相

关^[2]。IL-31 作为 IL-6 细胞因子家族的新型促炎症因子,于 2004 年由 DILLON 等^[7]发现并报道。IL-31 广泛作用于非免疫细胞及免疫细胞,诱导免疫细胞产生细胞因子和趋化因子,调节炎症反应和免疫应答^[8]。IL-31 在 SLE 中的表达及作用尚缺乏较深入的研究。本研究通过分析 SLE 患者血浆 IL-31 表达水平及与自

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81260266)。

作者简介:石渝,女,技师,主要从事临床免疫方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: junqiongh@aliyun.com。

身抗体的关系,探讨 IL-31 在 SLE 中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 2 月至 2017 年 2 月本院门诊部或住院部收治的 SLE 患者 42 例(SLE 组)作为研究对象,SLE 诊断均符合 1997 年美国风湿学会(ARA)修订的 SLE 分类诊断标准。42 例患者中男 7 例、女 35 例,平均年龄(33.5±10.5)岁。选取同期来本院体检的健康体检者 25 例纳入健康对照组,其中男 14 例、女 11 例,平均年龄(37.4±9.3)岁,抗核抗体(ANA)和抗核抗体谱检测结果均为阴性。

1.2 仪器与试剂 ANA 和抗核抗体谱检测使用德国欧蒙公司抗核抗体 IgG 和抗核抗体谱 IgG 检测试剂盒(批号:CF180927AG、CF8228AC),IL-31 检测试剂盒购自 R&D Systems Europe 公司(批号:332125),IL-6 检测试剂盒为瑞士罗氏公司提供的配套试剂盒(批号:31774901)。分析仪为北京普朗新技术有限公司的 DNM-9602G 型酶标仪、DNX-96 型电脑洗板机,瑞士罗氏公司 Cobas e601 全自动电化学发光免疫分析仪。

1.3 方法

1.3.1 标本收集 抽取 SLE 患者和健康对照者静脉血约 3 mL,分离血浆,取 10 μL 用于 ANA 和抗核抗体谱检测,剩余血浆冻存于-80℃冰箱,用于 IL-31 和 IL-6 检测。

1.3.2 ELISA 检测 IL-31 将羊抗人 IL-31 抗体固定于 96 孔板备用。将标准品稀释为 7 个水平梯度,每孔加 100 μL 稀释的标记抗体,孵育 2 h。每孔加酶 100 μL,避光孵育 20 min,每孔加显色剂 100 μL,避光孵育 20 min 后终止反应,于波长 450 nm 处测 A 值。根据测定结果制作标准曲线,并拟合出待测标本的 IL-31 水平。

1.3.3 电化学发光法检测 IL-6 按 Cobas e601 仪器的操作流程和 IL-6 试剂盒说明书检测 IL-6。

1.3.4 间接免疫荧光法检测 ANA 取用喉癌细胞 Hep-2 包被的玻片,待检血浆以 1:100、1:1 000 的比例稀释并滴加于玻片反应区,然后滴加 FITC 标记的抗人 IgG,室温温育 30 min 后封片,荧光显微镜下观察。

1.3.5 免疫印迹法检测抗核抗体谱 首先预处理抗原标记的检测膜条,标记抗原主要包括双链 DNA(ds-DNA)抗原、Sm 抗原、干燥综合征 A(SSA)抗原、干燥综合征 B(SSB)抗原、核糖体 P 蛋白抗原、干燥综合征(Ro-52)抗原、组蛋白抗原、核小体抗原、核糖核蛋白(RNP)抗原、拓扑异构酶(SCL-70)抗原、着丝点抗原、着丝点抗原 B(CENP B),抗核抗体谱所检测抗体为与膜条标记抗原发生反应的抗体。加入稀释标本温育 30 min,加入碱性磷酸酶标记的抗人 IgG,温育后加入底物,终止反应后将膜条放置于结果判定模板中判断结果。所有操作按检测试剂盒说明书进行。根据自身抗体(抗 ds-DNA 抗体、抗 Sm 抗体、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、抗核糖体 P 蛋白抗体、抗 Ro-52 抗体、抗组蛋白抗体、抗核小体抗体、抗 RNP 抗体、抗

SCL-70 抗体、抗着丝点抗体、抗 CENP B 抗体)检测结果分为抗体阳性组和抗体阴性组,对各组 IL-31 水平进行比较。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 和 Origin 统计软件分析数据,非正态分布计量资料以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间差异比较采用两独立样本的 Mann-Whitney U 检验,相关性分析采用 Spearman 相关。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SLE 组和健康对照组 IL-31、IL-6 水平比较 SLE 组和健康对照组 IL-31 水平分别为 418.02(309.83~773.61)、199.08(187.99~211.21)pg/mL, SLE 组 IL-31 水平明显高于健康对照组,差异有统计学意义($Z = -6.301, P < 0.01$)。SLE 组和健康对照组 IL-6 水平分别为 4.23(2.69~8.62)、2.39(2.04~2.96)pg/mL, SLE 组 IL-6 水平高于健康对照组,差异有统计学意义($Z = -4.188, P < 0.01$)。

2.2 SLE 患者 IL-31 水平和 IL-6 的相关性分析 SLE 患者 IL-31 水平与 IL-6 无相关性($r_s = 0.157, P > 0.05$)。见图 1。

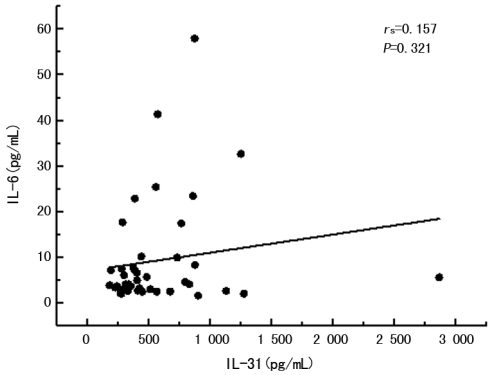


图 1 SLE 患者 IL-31 水平与 IL-6 的相关性

2.3 SLE 患者 IL-31 水平与自身抗体的关系 ANA 起始稀释倍数为 100,稀释倍数 ≥ 100 且 $< 1 000$ 为低滴度, $\geq 1 000$ 为高滴度。42 例 SLE 患者 ANA 高滴度 36 例,低滴度 5 例,ANA 阴性 1 例。高、低滴度患者的 IL-31 水平分别为 431.76(331.24~757.68)、308.07(238.22~2 071.93)pg/mL,差异无统计学意义($P > 0.05$)。IL-31 水平在抗 Sm 抗体阳性组和阴性组、抗 Ro-52 抗体阳性组和阴性组、抗 RNP 抗体阳性组和阴性组之间,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。其他自身抗体阳性组与阴性组间 IL-31 水平的差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 SLE 患者各种自身抗体阴、阳性时的外周血 IL-31 水平 [$M(P_{25} \sim P_{75})$, pg/mL]

自身抗体	n	IL-31 水平	Z	P
抗 ds-DNA 抗体				
阳性	14	454.93(385.40~863.90)	-0.800	>0.05
阴性	28	408.43(291.31~717.58)		
抗 Sm 抗体				
阳性	14	565.22(385.40~883.77)	2.228	<0.05

续表 1 SLE 患者各种自身抗体阴、阳性时的外周血 IL-31 水平[$M(P_{25} \sim P_{75})$, pg/mL]

自身抗体	<i>n</i>	IL-31 水平	<i>Z</i>	<i>P</i>
阴性	28	396.36(282.93~648.56)		
抗 SSA 抗体				
阳性	34	443.79(309.83~838.74)	-1.329	>0.05
阴性	8	396.36(286.88~466.17)		
抗 SSB 抗体				
阳性	9	567.65(400.79~782.21)	-1.027	>0.05
阴性	33	404.65(306.32~781.30)		
抗核糖体 P 蛋白抗体				
阳性	22	443.79(365.45~838.74)	-1.171	>0.05
阴性	20	370.80(281.93~718.61)		
抗 Ro-52 抗体				
阳性	31	557.83(329.69~860.60)	-2.560	<0.05
阴性	11	337.44(280.98~404.65)		
抗组蛋白抗体				
阳性	5	439.72(405.94~1799.96)	-1.088	>0.05
阴性	37	406.53(293.98~781.30)		
抗核小体抗体				
阳性	15	486.05(388.07~860.60)	-1.824	>0.05
阴性	27	377.38(280.98~572.60)		
抗 RNP 抗体				
阳性	21	557.83(396.36~846.03)	-2.390	<0.05
阴性	21	337.44(273.03~594.23)		
抗 SCL-70 抗体				
阳性	2	—	-0.945	>0.05
阴性	40	431.76(302.81~788.99)		
抗着丝点抗体				
阳性	1	—	-1.526	>0.05
阴性	41	423.81(321.52~781.30)		
抗 CENP B 抗体				
阳性	1	—	-1.526	>0.05
阴性	41	423.81(321.52~781.30)		

注：—为样本例数小于 3，不能计算 M 、 P_{25} 、 P_{75}

3 讨 论

SLE 是一种以 Th1/Th2 比例失衡为主要特征，发病机制尚未完全明确的自身免疫性疾病，Th2 细胞过度活化引起患者体液免疫功能亢进^[9]，使 B 细胞产生大量抗体，促进 SLE 的发生、发展^[10]。炎症细胞因子如 IL-1、IL-6、IFN- γ 、IL-17、IL-18 和 IL-23 等在 SLE 的发生和发展中亦发挥着重要的作用^[2-6,11]。IL-6 作为多功能炎症细胞因子，在 SLE、类风湿关节炎、克罗恩病和感染等多种疾病中水平均有不同程度上升。有研究报道，IL-6 在 SLE 患者外周血中呈高表达，与 SLE 的诊断、疾病活动性和病情严重程度密切相关^[2,12-13]。IL-6 可诱导自身抗体产生，降低 CD8⁺抑制性 T 细胞活性^[14]，促进 IL-17 的分泌^[15]，而 IL-17 水平的升高可促进 SLE 的发生和发展^[6]。

IL-31 为 IL-6 家族成员，主要由活化的 CD4⁺ Th2 细胞、单核/巨噬细胞、树突状细胞产生^[7,16]。IL-31 及其受体通路在炎症和免疫反应中发挥多种生物功能，引起各种自身免疫疾病和变态反应性疾病，如炎症性肠病、类风湿关节炎、支气管哮喘和各种皮炎等^[7]。王颖等^[17]报道，IL-31 在类风湿关节炎中高表

达，且与疾病活动相关。IL-31 可抑制嗜酸性粒细胞凋亡，诱导细胞释放促炎因子 IL-6^[18]。黄海良等^[19]报道，IL-31 可诱导 IL-17 活化，促进 IL-6、TNF- α 表达。本研究中 SLE 患者 IL-31、IL-6 水平明显升高，但 IL-6 与 IL-31 之间无明显相关性，可能与两者细胞来源不同有关（IL-6 主要由成纤维细胞、内皮细胞、单核细胞和淋巴细胞合成、分泌^[20]）。

自身抗体在 SLE 发病中发挥了重要作用^[21]。自身抗体与相应抗原结合形成免疫复合物，局部沉积后激活细胞导致炎症因子释放、炎症细胞浸润。本研究结果显示，IL-31 水平在抗 Sm 抗体阳性组和阴性组、抗 Ro-52 抗体阳性组和阴性组、抗 RNP 抗体阳性组和阴性组之间，差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。其他自身抗体阳性组与阴性组间 IL-31 水平的差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。有研究报道，抗 Sm 抗体具有高度特异性，对 SLE 有较高的诊断价值；抗 Ro-52 抗体、抗 RNP 抗体特异性较差，在非 SLE 患者中也可升高；抗 Ro-52 抗体可出现在皮肤炎、系统性硬化病、新生儿红斑狼疮、自身免疫性肝炎和病毒性肝炎，抗 RNP 抗体可见于系统性硬化症和皮肤炎^[22]。

综上所述，患者外周血 IL-31 和自身抗体水平检测有助于 SLE 的诊断。IL-31 是否可影响自身抗体的产生，或 IL-31 升高仅仅是炎症细胞激活后的伴随反应，有待进一步研究。

参考文献

[1] HEINLEN L D, MCCLAIN M T, MERRILL J, et al. Clinical criteria for systemic lupus erythematosus precede diagnosis, and associated autoantibodies are present before clinical symptoms[J]. Arthri Rheumatol, 2007, 56(7): 2344-2351.

[2] 吴实, 刘赛君, 何咏, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血 IL-6 的表达及临床意义[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2016, 37(2): 164-168.

[3] 徐雪, 邹和建, 吕玲. 系统性红斑狼疮患者外周血 IL-17 表达及其与疾病活动性的关系[J]. 复旦学报(医学版), 2010, 37(1): 71-75.

[4] WONG C K, LIT L W, TAM L S, et al. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus; implications for Th17-mediated inflammation in autoimmunity[J]. Clin Immunol, 2008, 127(1): 385-393.

[5] 吴瑾滨, 周厚清, 李卓成, 等. 系统性红斑狼疮患者血清 IL-10 和 IL-18 的检查及意义[J]. 热带医学杂志, 2011, 11(8): 944-945.

[6] 严瑾, 胡丽华. 系统性红斑狼疮患者 Th17 相关 4 种细胞因子的研究[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2017, 19(6): 913-916.

[7] DILLON S R, SPRECHER C, HAMMOND A, et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice[J]. Nat Immunol, 2004, 5(7): 752-760.

[8] ASHER I, PEARCE N. Global burden of asthma among children[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2014, 18(11): 1269-1278.

- [2] BUSE J B,RODBARD H W,TRESCOLI S C,et al. Randomized clinical trial comparing basal insulin peglispro and insulin glargine in patients with type 2 diabetes mellitus previously treated with basal insulin; imagine 5[J]. Diabetes Care,2016,39(1):92-100.
- [3] 庞雅玲,张艳慧,林燕,等. 2 型糖尿病患者甲状腺激素水平及其与糖脂代谢相关性研究[J]. 陕西医学杂志,2017,46(8):1037-1040.
- [4] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中华内分泌代谢杂志,2014,30(10):893-942.
- [5] 钱鹏. 2 型糖尿病患者胰岛自身抗体阳性分布及 C 肽和相关生化指标的变化[J]. 检验医学,2016,31(1):9-12.
- [6] 张保振,蔡晓凌,韩学尧,等. 中国成人新诊断 2 型糖尿病伴胰岛自身抗体阳性患者临床特征的荟萃分析[J]. 中国糖尿病杂志,2017,25(12):1097-1102.
- [7] 何华,杨晓洁,吕霞飞,等. 胰岛素抗体阳性和阴性的 2 型糖尿病患者血糖波动水平比较[J]. 中华老年多器官疾病杂志,2012,11(9):645-648.
- [8] 胡萍,周翔海,庞梦端,等. 住院 2 型糖尿病患者白蛋白尿与甲状腺激素水平的相关性[J]. 中国糖尿病杂志,2016,24(8):473-477.
- [9] HO C J,JIN K H,HO L J,et al. Poor glycemic control is associated with the risk of subclinical hypothyroidism in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Korean J Intern Med,2016,31(4):703-711.
- [10] 童利伟,侯雨,罗富琼,等. 初诊 2 型糖尿病患者甲状腺激素水平与糖代谢水平的关系研究[J]. 标记免疫分析与临床,2017,24(12):1386-1389.
- [11] 马娜敏,王敏,聂圆圆,等. 老年 2 型糖尿病病人甲状腺激素的变化及相关因素分析[J]. 首都医科大学学报,2017,38(2):172-177.
- [12] TRUMPF C,SCHPEPPER J D,VANDERFAEILLIE J,et al. Neonatal thyroid-stimulating hormone concentration and psychomotor development at preschool age[J]. Arch Dis Child,2016,101(12):1100-1106.
- [13] 贾维娜,葛军,俞春芳,等. 促甲状腺激素水平与老年 2 型糖尿病患者骨密度的相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2017,23(2):150-153.
- [14] CERESINI G,MARINA M,LAURETANI F,et al. Relationship between circulating thyroid-stimulating hormone,free thyroxine,and free triiodothyronine concentrations and 9-year mortality in euthyroid elderly adults[J]. J Am Geriatr Soc,2016,64(3):553-560.
- [15] 高静媛,杨雨暘,邢磊,等. 促甲状腺激素与老年糖尿病患者合并冠心病相关性分析[J]. 中国循证心血管医学杂志,2017,9(6):674-676.

(收稿日期:2019-02-10 修回日期:2019-06-02)

(上接第 3235 页)

- [9] MOK M Y,WU H J,LO Y,et al. The relation of interleukin 17 (IL-17) and IL-23 to Th1/Th2 cytokines and disease activity in systemic lupus erythematosus [J]. J Rheumatol,2010,37(10):2046-2052.
- [10] 刘善凤,胡丽华. SLE 患者调节性 B 淋巴细胞的检测和临床意义[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2015,17(6):1025-1027.
- [11] APOSTOLIDIS S A,LIEBERMAN L A,KIS-TOTH K,et al. The dysregulation of cytokine networks in systemic lupus erythematosus[J]. J Interferon Cytokine Res,2011,31(10):769-779.
- [12] 沈茹,李艳君,林丽佳. 系统性红斑狼疮患儿外周血 IL-6、IL-10、IL-17 水平变化及其在单个核细胞中的表达研究[J]. 分子诊断与治疗杂志,2017,9(6):371-375.
- [13] BRUGOS B,VINCZE Z,SIPKA S,et al. Serum and urinary cytokine levels of SLE patients[J]. Pharmazie,2012,67(5):411-413.
- [14] 周末. IL-6 基因单核苷酸多态性及血清水平与系统性红斑狼疮的相关性研究[D]. 合肥:安徽医科大学,2013.
- [15] SAMSON M,AUDIA S,JANIKASHVILI N,et al. Brief Report: Inhibition of interleukin-6 function corrects Th17/Treg cell imbalance in patients with rheumatoid arthritis[J]. Arthr Rheumatol,2012,64(8):2499-2503.
- [16] CORNELISSEN C,BRANS R,CZAJA K,et al. Ultraviolet B radiation and reactive oxygen species modulate interleukin-31 expression in T lymphocytes,monocytes and dendritic cells[J]. Br Jo Dermatol,2011,165(5):966-975.
- [17] 王颖,苏娟. 白细胞介素 31 在自身免疫及变态反应性疾病中的研究进展[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志,2016,10(4):390-396.
- [18] BAO L,ZHANG H,CHAN L S. The involvement of the JAK-STAT signaling pathway in chronic inflammatory skin disease atopic dermatitis[J]. Jak Stat,2013,2(3):e24137.
- [19] 黄海良,罗欣,顾芳,等. 人白细胞介素-31 的真核表达及其对 HaCaT 细胞 IL-6 和 TNF α 表达的影响[J]. 中国生化药物杂志,2011,32(5):345-348.
- [20] 王宇昕. IL-6 受体与 EGF 受体相互作用增强 IL-6 诱导的 STAT3 信号转导作用研究[D]. 兰州:兰州大学,2013.
- [21] 王永芹,王胜玉,张雪峰. 抗核抗体谱检测对系统性红斑狼疮的诊断意义[J]. 现代预防医学,2015,42(4):753-754.
- [22] 王兰兰,许化溪. 临床免疫学检验[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2012:276-287.

(收稿日期:2019-01-20 修回日期:2019-04-12)