

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.22.006
文章编号: 1005-8982 (2021) 22-0028-05

泌尿系统疾病专题·论著

Th22细胞及血清IL-22水平与狼疮性肾炎患者 疾病活动度评分的相关性*

杜宇, 赵佰桥, 张谊雯, 张娜, 曹微

(连云港市第一人民医院 肾内科, 江苏 连云港 222000)

摘要: **目的** 初步探索狼疮性肾炎(LN)患者外周血Th22细胞及血清白细胞介素22(IL-22)的表达, 及其与系统性红斑狼疮疾病活动度评分(SLEDAI)的相关性。**方法** 该研究纳入健康志愿者作为健康对照组(HC组)10例, LN组20例, 系统性红斑狼疮(但肾脏未受到侵袭)SLE组20例, 通过流式细胞术检测各组淋巴细胞亚群Th1和Th22水平, 酶联免疫吸附试验检测各组血清IL-22水平, 并分析LN患者IL-22与Th22的相关性, 以及两项指标与SLEDAI评分的相关性。**结果** LN组和SLE组的C反应蛋白、红细胞沉降率及免疫球蛋白高于HC组($P < 0.05$), 血清补体C3和C4低于HC组($P < 0.05$)。3组Th1比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); LN组和SLE组Th22、IL-22水平高于HC组($P < 0.05$), 但LN组与SLE组的Th22、IL-22水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。LN患者Th22与IL-22水平呈正相关($r = 0.804, P = 0.002$), 且Th22、IL-22与SLEDAI评分呈正相关($r = 0.342$ 和 $0.448, P = 0.032$ 和 0.016)。**结论** Th22、IL-22参与SLE和LN的发病, 同时LN患者Th22与IL-22水平呈正相关, 且均与SLEDAI评分呈正相关。

关键词: 狼疮性肾炎; 淋巴细胞亚群; Th22; 系统性红斑狼疮活动性评分
中图分类号: R593.242 **文献标识码:** A

Correlation of Th22 cells and serum IL-22 levels with disease activity score in patients with lupus nephritis*

Yu Du, Bai-qiao Zhao, Yi-wen Zhang, Na Zhang, Wei Cao

(Department of Nephrology, The First People's Hospital of Lianyungang,
Lianyungang, Jiangsu 222000, China)

Abstract: Objective To preliminarily explore the frequency of T-helper 22 (Th22) cells in the peripheral blood and the serum level of interleukin-22 (IL-22) in patients with lupus nephritis (LN) and their correlation with Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI). **Methods** In our study, 10 healthy people were assigned into the healthy control group (HC group), 20 patients with LN the LN group, and 20 patients with systemic lupus erythematosus (SLE) but intact kidneys the SLE group. The frequency of Th1 and Th22 cells was detected by flow cytometry, and the serum level of IL-22 was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Pearson correlation analysis was used to evaluate the relationship between the level of IL-22 and the frequency of Th22 cells in LN group, as well as the relationship between the two and SLEDAI. **Results** The levels of C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), and immunoglobulin in LN group and SLE group were significantly higher than those in HC group, while the serum levels of complement component 3 (C3) and 4 (C4) were significantly lower in the LN group and SLE group compared with the HC group ($P < 0.05$). There was no

收稿日期: 2021-07-27

* 基金项目: 江苏省卫生健康委科研课题 (No: H2015083)

[通信作者] 曹微, E-mail: vivicwei@163.com; Tel: 18961327056

significant difference in the frequency of Th1 cells among the three groups ($P > 0.05$). The frequency of Th22 cells and the level of IL-22 in LN group and SLE group were higher than those in HC group ($P < 0.05$), but there was no significant difference in the frequency of Th22 cells and the level of IL-22 between LN group and SLE group ($P > 0.05$). In addition, there was a positive correlation between the level of IL-22 and the frequency of Th22 cells in LN patients ($r = 0.804, P = 0.002$), and they were also positively correlated with SLEDAI score ($r = 0.342$ and $0.448, P = 0.032$ and 0.016). **Conclusions** Th22 cells and IL-22 are involved in the development of SLE and LN, and both of them are positively correlated with SLEDAI score.

Keywords: lupus nephritis; lymphocyte subset; Th22; Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)最常见的受累器官为肾脏, 最常见的并发症为狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)^[1]。辅助性T细胞22(helper T cell 22, Th22)是一种独立的淋巴细胞亚群, 可分泌功能性细胞因子白细胞介素22(Interleukin-22, IL-22), 当机体发生炎症感染时, 可促进伤口愈合, 维持机体屏障的稳定性^[2]。LN的发病机制尚不明确, 因诊断LN的金标准为肾活检, 为有创性检查, 故临床上探索LN相关指标与系统性红斑狼疮疾病活动度评分(systemic lupus erythematosus disease activity index, SLEDAI)的相关性以指导临床应用。

有研究表明, Th22及其功能细胞因子IL-22在皮肤疾病^[3-4](包括皮炎、银屑病)、感染类疾病^[5-6]、肠道炎症类疾病(包括溃疡性结肠炎、Crohn病等)^[7-8]患者中均有表达。随着相关研究的深入, 部分学者发现, Th22、IL-22也影响SLE和LN的发生、发展, 但结论尚不统一^[9-10]。鉴于此, 本研究探讨LN患者外周血Th22细胞及血清IL-22水平, 及其与SLEDAI评分的相关性, 以期为临床诊疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2018年1月—2020年6月连云港市第一人民医院收治的SLE患者40例。其中, 男性12例, 女性28例; 年龄18~50周岁。本研究参照2009年美国风湿病协会修订的SLE诊断标准, 所有患者的病情采用系统性红斑狼疮活动性评分(systemic lupus erythematosus disease activity index, SLEDAI)进行测评。其中肾活检发现切片有>8个肾小球的患者纳入LN组, 共20例, 剩余20例纳入SLE组。另取同期本院健康体检者10例为HC组。其中,

女性7例, 男性3例; 年龄20~47岁。HC组血常规、生物化学检查、凝血功能均正常或异常但无临床意义, 自身抗体均阴性, 无脏器相关的急性或慢性疾病, 无自身免疫类疾病等。本研究经医院伦理委员会批准, 所有受试者自愿签署知情同意书。

1.2 主要试剂和仪器

人IL-22酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)kit、鼠抗人IL-22-PE、鼠抗人CD4-PerCP购自美国eBioscience公司, 鼠抗人IL-17-Alexa Fluor、鼠抗人 γ 干扰素(Interferon- γ , IFN- γ)/异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)、淋巴细胞分离液、胎牛血清购自美国BD公司。流式细胞仪购自美国BD公司, 低温高速离心机、二氧化碳恒温培养箱、微型离心机购自德国Heraeus公司, 细胞培养超净工作台购自上海力申科学仪器公司, 细胞培养板购自美国Corning Incorporated公司。

1.3 淋巴细胞亚群的检测

通过流式细胞术检测淋巴细胞亚群Th1和Th22水平。Th22的荧光标记为IFN- γ -IL-17-IL-22⁺CD4⁺。通过ELISA试剂盒检测各组血清IL-22水平。

所有研究对象禁食>8h后第2天采集外周血2ml, 置于含新鲜肝素钠抗凝的真空采血管中, 3500r/min离心10min, 弃上清。根据细胞数加入对应的固定剂, 置于室温条件下避光孵育, 15min后离心取血清, 吸取上层的淋巴细胞分离液4ml置于离心管中, 3500r/min离心20min, 可见4层分离层, 用毛细吸管抽取中间的灰白色层(即淋巴细胞和单核细胞的聚集层), 置于恒温箱中孵育4h。将收集的细胞加入有荧光标记的10 μ l抗体CD4中, 轻微震荡混合后, 避光孵育15min, 反应体积为

100 μl , 舍弃上清液后向试管中加入 100 μl 破膜试剂和各种抗体 1 μl (包括鼠抗人 IL-22-PE、鼠抗人 IL-17-Alexa Fluor、鼠抗人 IFN- γ /FITC), 1 d 内上流式细胞仪检测。

1.4 血清 IL-22 水平检测

按照 1 : 20 比例稀释血清, 分别将 100 μl 稀释后的样本或标准品加入微孔板中, 20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 25 min, 丢弃液体, PBS 清洗 5 次, 每孔加入反应底物 100 μl , 避光条件下室温孵育 20 min, 每孔加入终止液 50 μl , 轻微震荡混匀后, 用酶标仪测量 450 nm 波长处的 OD 值。根据标准曲线, 绘制出对应的浓度。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验或方差分析, 进一步两两比较用 LSD- t 检验; 计数资料以构成比或率 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验; 相关性分析用 Pearson 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组一般资料比较

HC 组、LN 组、SLE 组性别构成、年龄比较, 经方差分析, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。LN 组与 SLE 组的 SLEDAI 评分、抗 Sm 抗体 (-)、抗双链脱氧核糖核酸 (double-stranded DNA, dsDNA) 抗体 (-)、

抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA) (-) 比较, 经 t 检验, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。3 组 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C3、C4、免疫球蛋白比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 进一步两两比较结果: LN 组和 SLE 组 CRP、ESR、免疫球蛋白高于 HC 组 ($P < 0.05$), C3 和 C4 低于 HC 组 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 3组 Th1、Th22 及 IL-22 水平的变化

HC 组、LN 组、SLE 组 Th1 比较, 经方差分析, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。3 组 Th22、IL-22 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 进一步两两比较结果: LN 组和 SLE 组 Th22、IL-22 水平高于 HC 组 ($P < 0.05$), 但 LN 组与 SLE 组 Th22、IL-22 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 LN 患者外周血 Th22 与 IL-22 的相关性

Pearson 相关性分析结果显示, LN 患者外周血 Th22 与 IL-22 呈正相关 ($r = 0.804$, $P = 0.002$)。见图 1。

2.4 LN 患者外周血 Th22、IL-22 与 SLEDAI 评分的相关性

Pearson 相关性分析结果显示, Th22、IL-22 与 SLEDAI 评分呈正相关 ($r = 0.342$ 和 0.448 , $P = 0.032$ 和 0.016)。见图 2。

表 1 3组一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	男/女/ 例	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	SLEDAI 评分 ($\bar{x} \pm s$)	抗 Sm 抗体(-)/ 例	抗 dsDNA 抗体(-)/ 例	ANA(-)/ 例
HC 组	10	3/7	33.22 \pm 13.54	-	-	-	-
LN 组	20	7/13	37.23 \pm 10.25	33 \pm 11.26	15	35	16
SLE 组	20	5/15	35.23 \pm 11.31	29 \pm 5.34	12	53	17
$F/t/\chi^2$ 值		0.476	0.435	1.435	0.597	0.621	0.372
P 值		0.788	0.650	0.163	0.633	0.589	0.735

组别	CRP/(mg/L, $\bar{x} \pm s$)	ESR/(mm/h, $\bar{x} \pm s$)	C3/(u/ml, $\bar{x} \pm s$)	C4/(u/ml, $\bar{x} \pm s$)	免疫球蛋白/($\times 10^9$ /L, $\bar{x} \pm s$)
HC 组	7.1 \pm 3.2	2.1 \pm 1.0	0.82 \pm 0.35	0.32 \pm 0.12	4.34 \pm 2.14
LN 组	48.32 \pm 30.23	63 \pm 30	0.26 \pm 0.12	0.09 \pm 0.03	8.35 \pm 4.12
SLE 组	45.82 \pm 25.46	54 \pm 26	0.35 \pm 0.17	0.08 \pm 0.03	7.34 \pm 3.44
$F/t/\chi^2$ 值	10.138	20.601	26.889	63.527	4.331
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.019

表 2 3 组 Th1、Th22 和 IL-22 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Th1/%	Th22/%	IL-22/(pg/ml)
HC 组	10.12 ± 0.45	2.68 ± 0.24	40.23 ± 2.93
LN 组	10.09 ± 0.42	6.92 ± 0.45	59.91 ± 2.93
SLE 组	10.07 ± 0.26	6.86 ± 0.35	58.51 ± 2.45
F 值	0.071	489.004	192.384
P 值	0.932	0.000	0.000

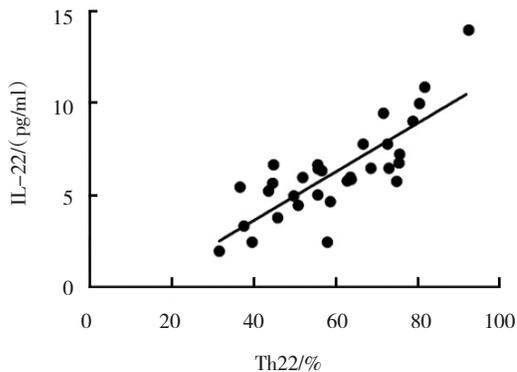


图 1 LN 患者外周血 Th22 与 IL-22 的相关性

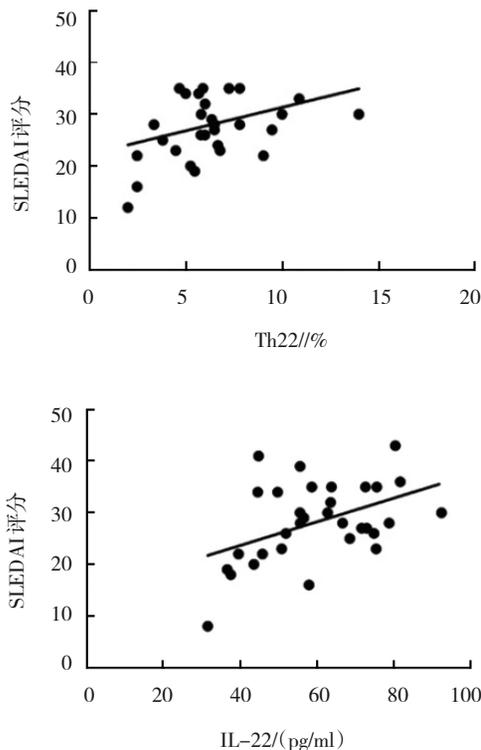


图 2 LN 患者外周血 Th22、IL-22 与 SLEDAI 评分的相关性

3 讨论

SLE 属于一种自身免疫类疾病, 可累及身体的各个脏器, 因肾脏血管丰富, 易引发炎症反应,

故 LN 是 SLE 主要的并发症^[11]。LN 患者久治不愈后导致的进行性肾衰竭是致死的重要因素^[12]。SLE 的发病机制尚不明确, 有研究表明其可能与环境因素、性激素等有关^[13]。目前临床上主要采用激素类药物或免疫抑制类药物治疗 LN, 但都具有一定的毒副作用, 故临床需继续探索更有效的治疗方案。

有研究表明, LN 患者发病时, 多种免疫因子和炎症因子共同激活机体的免疫炎症反应, 免疫复合物累积在肾脏, 肾小球系膜呈爆发性增生, 发生固定细胞增生, 单核巨噬细胞、T 细胞发生浸润等, 各种细胞因子共同参与致病过程, 其中 Th 细胞及其分泌的细胞因子作用于 B 细胞, 产生相应的抗体, 损伤自身的器官和组织^[14]。早期有研究表明, SLE 发作时 Th1/Th2 处于失衡的状态, 有“Th1 优势”或“Th2 优势”等学说^[15], 但目前各报道结论尚不统一。另有研究表明, SLE 患者若合并中枢神经系统疾病, 则外周血 IL-4 升高^[16]; 若合并有关节炎时, 则 IFN- γ 升高^[17], 而 dsDNA 抗体阳性的 SLE 患者外周血 IL-10 水平也会升高^[18]。动物实验结果显示, SLE 模型动物体内在早期是 Th1 细胞因子占据主导地位, 后期则是 Th2 细胞因子主导^[15]。随着研究的深入, 逐渐出现独立的 T 细胞亚群, 具有分泌 IL-22 细胞因子的作用成为 Th22 细胞。有研究表明, 当组织发生感染性炎症时, Th-22 可分泌各种趋化因子, 促使 CD4⁺ T 细胞聚集, 增强抗菌能力, 同时诱导角质细胞中的免疫细胞分泌 IL-22 等, 以增强机体的免疫抵抗能力, 其中 IL-22 的靶器官主要是皮肤和肾脏^[19], 且 IL-22 和 Th22 细胞因子具有预测 SLE 亚型的价值^[20]。有报道称, 银屑病患者 Th17、Th2 及 Th1 水平均较正常健康人升高^[21], 而类风湿性关节炎患者滑膜液中的单核细胞中 IL-22 和 IL-22R1 mRNA 表达较其他细胞明显升高, 对其行免疫组织化学分析后结果显示, IL-22 和 IL-22R1 阳性细胞均存在于滑膜细胞中, 但巨噬细胞中主要是 IL-22 阳性细胞^[22]。

本研究结果显示, LN 组和 SLE 组外周血 CRP、ESR 及免疫球蛋白水平显著高于 HC 组, 而 C3 和 C4 低于 HC 组, 且 3 组 Th1 均无明显差异。此外, LN 组和 SLE 组 Th22、IL-22 水平显著高于 HC 组, 但 LN 组与 SLE 组 Th22、IL-22 水平无明显差异。相关性分析结果显示, LN 患者 Th22 与 IL-22 呈正相关,

且两项指标也与 SLEDAI 评分呈正相关, 与上述研究结果基本一致^[9,15,19]。

综上所述, Th22、IL-22 参与 SLE 和 LN 的发生、发展, 同时 LN 患者 Th22 与 IL-22 呈正相关, 且两项指标均与 SLEDAI 评分呈正相关。但本研究样本量较小, 可能影响结果的外推, 有关 LN 在免疫治疗方面的机制仍需进一步深入探索, 为以后临床诊治提供新的路径。

参 考 文 献 :

- [1] HANY M, ANDREW K, YASEEN A, et al. Lupus enteritis, a severe and potentially fatal complication of systemic lupus erythematosus[J]. American Journal of Clinical Pathology, 2019, 152(Supplement_1): S64-S64.
- [2] AZIZI G, YAZDANI R, MIRSHAFIEY A. Th22 cells in autoimmunity: a review of current knowledge[J]. Eur Ann Allergy Clin Immunol, 2015, 47(4): 108-117.
- [3] HUANG R M, CHEN X L, LONG Y D, et al. miR-31 promotes Th22 differentiation through targeting Bach2 in coronary heart disease[J]. Biosci Rep, 2019, 20, 39(9): BSR20190986.
- [4] MARIE R, GOMAA A H A. Serum level of interleukin-22 in patients with cutaneous warts: a case-control study[J]. J Cosmet Dermatol, 2021, 20(6): 1782-1787.
- [5] ZHONG Y, TANG R, LU Y, et al. Irbesartan may relieve renal injury by suppressing Th22 cells chemotaxis and infiltration in Ang II-induced hypertension[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 87: 106789.
- [6] REN T T, XIONG J Y, LIU G L, et al. Imbalance of Th22/Treg cells causes microinflammation in uremic patients undergoing hemodialysis[J]. Biosci Rep, 2019, 39(10): BSR20191585.
- [7] 鲁霞, 罗黎. 炎症性肠病患者 Th22 细胞亚群和 IL-22 水平变化及其临床意义[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(10): 93-96.
- [8] BHAUMIK S, BASU R. Cellular and molecular dynamics of th17 differentiation and its developmental plasticity in the intestinal immune response[J]. Front Immunol, 2017, 8: 254.
- [9] 顾丽萍, 杨贵丽, 陈幼发, 等. Th22 细胞及其功能分子 IL-22 在狼疮性肾炎中的作用研究[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(5): 755-758.
- [10] 梁华, 邱明亮, 李晓芳, 等. Th22 细胞在系统性红斑狼疮免疫炎症反应中的作用机制研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(12): 1431-1434.
- [11] 尹宗发, 赵永荣, 庄艳, 等. 尿肾损伤分子-1 与狼疮肾炎患者肾小管间质病变的关系及临床意义[J]. 中华风湿病学杂志, 2017, 21(7): 461-465.
- [12] LI L, LIU Z N. Rhabdomyolysis with acute anuria renal failure caused by surgical injection-induced tetanus in an adult[J]. Clin Med (Lond), 2021, 21(1): e103-e105.
- [13] ZHANG L H, XIAO B, ZHONG M, et al. LncRNA NEAT1 accelerates renal mesangial cell injury via modulating the miR-146b/TRAF6/NF- κ B axis in lupus nephritis[J]. Cell Tissue Res, 2020, 382(3): 627-638.
- [14] 刘瑞华, 余学清, 阳晓. 狼疮肾炎发病机制的研究进展[J]. 中华肾脏病杂志, 2019, 35(12): 950-953.
- [15] TALAAT R M, MOHAMED S F, BASSYOUNI I H, et al. Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: correlation with disease activity [J]. Cytokine, 2015, 72(2): 146-153.
- [16] KATO H, PERL A. Mechanistic target of rapamycin complex 1 expands Th17 and IL-4⁺ CD4⁺ CD8⁻ double-negative T cells and contracts regulatory T cells in systemic lupus erythematosus[J]. J Immunol, 2014, 192(9): 4134-4144.
- [17] RAHEEM S S. Role of TNF- α and IL-10 in rheumatoid arthritis disease and the association with some HLA-11 DR and DQ alleles[J]. Pakist J Bio, 2019, 16(1): 1-4.
- [18] RADMANESH F, MAHMOUDI M, YAZDANPANA H, et al. The immunomodulatory effects of mesenchymal stromal cell-based therapy in human and animal models of systemic lupus erythematosus[J]. IUBMB Life, 2020, 72(11): 2366-2381.
- [19] RU Y, LI H J, ZHANG R X, et al. Role of keratinocytes and immune cells in the anti-inflammatory effects of Tripterygium wilfordii Hook. f. in a murine model of psoriasis[J]. Phytomedicine, 2020, 77: 153299.
- [20] SEKIMATA M, YOSHIDA D, ARAKI A, et al. Runx1 and rory2 cooperate to upregulate IL-22 expression in Th cells through its distal enhancer[J]. J Immunol, 2019, 202(11): 3198-3210.
- [21] CARMEN R C, MÓNICA C R, CARNERO G M, et al. Biomarkers of inflammation in obesity-psoriatic patients[J]. Mediators Inflamm, 2019, doi: 10.1155/2019/7353420.
- [22] FAN J Y, LUO Y, QIN Y, et al. The expression of β -Defensin-2, IL-22, IL-22R1 and IL-10R2 in rat model of Klebsiella pneumonia and their correlation with histological grades[J]. Exp Lung Res, 2020, 46(5): 109-116.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 杜宇, 赵佰桥, 张谊雯, 等. Th22 细胞及血清 IL-22 水平与狼疮性肾炎患者疾病活动度评分的相关性[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(22): 28-32.

Cite this article as: DU Y, ZHAO B Q, ZHANG Y W, et al. Correlation of Th22 cells and serum IL-22 levels with disease activity score in patients with lupus nephritis[J]. China Journal of Modern Medicine, 2021, 31(22): 28-32.