

复发性阿弗他溃疡患者血清中 IL-17 和 IL-23 的表达*

彭于治^{1,2}, 蔡 扬^{1**}

(1. 贵阳医学院附院 口腔内科, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳中医学院第一附院 口腔科, 贵州 贵阳 550001)

[摘要] 目的: 探讨 IL-17 及 IL-23 在复发性阿弗他溃疡(RAU)患者血清中的表达及意义。方法: RAU 患者 40 例(其中轻型 30 例, 重型 10 例)及健康对照 20 例, 分析其免疫功能状态, 采用 ELISA 法检测其溃疡发作期外周血血清中 IL-17、IL-23 蛋白表达水平, 分析二者的相关性。结果: (1) RAU 患者 CD4、CD4/8、CD16 + 56 低于对照组; IgM、CH50 高于对照组, 而 C3 低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); (2) RAU 患者发作期外周血中 IL-17 及 IL-23 蛋白表达水平高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 但在轻型及重型 RAU 间差异无统计学意义($P > 0.05$), IL-17 与 IL-23 表达水平间不存在相关性($r = -0.038, P > 0.05$)。结论: RAU 患者存在细胞免疫功能降低和体液免疫功能紊乱的症状, RAU 患者溃疡发作期外周血中 IL-17 及 IL-23 蛋白表达增高, 这可能在 RAU 患者溃疡发生中起一定作用。

[关键词] 口腔溃疡; 免疫, 细胞; 白细胞介素 17; 白细胞介素 23

[中图分类号] R781.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2014)01-0018-03

The Expression of Interleukin-17 and Interleukin-23 Proteins in Peripheral blood of Patients with Recurrent Aphthous Ulcer

PENG Yuzhi^{1,2}, CAI Yang¹

(1. Department of Stomatology, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China;

2. Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital of Guiyang Traditional Chinese Medicine College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expressions of IL-17 and IL-23 proteins in the serum of patients with recurrent aphthous ulcers (RAU) and elucidate the possible role of IL-17 and IL-23 in the pathogenesis of RAU. **Methods:** 40 patients with RAU (30 cases of minor aphthous ulcer named MiAU and 10 cases of major aphthous ulcer named MjAU) were enrolled in research group and 20 healthy people served as control. The expressions of IL-17 and IL-23 proteins in peripheral blood were investigated by using ELISA and their clinical significance in RAU was analyzed by SPSS11.5. **Results:** The CD4, CD4/CD8, CD16 + 56 and C3 levels in patients with RAU were significantly lower than those in healthy control, and IgM and CH50 levels in patients with RAU were significantly higher than those in healthy control ($P < 0.05$); The levels of IL-17 and IL-23 proteins in the serum of patients with RAU were significantly higher than those in healthy control ($P < 0.01$), while there was no significant difference between MiAU and MjAU ($P > 0.05$). **Conclusions:** There are immune dysfunctions in patients with RAU. IL-17 and IL-23 up-regulating may play some role in the immune pathogenesis of RAU.

[Key words] oral ulcer; immunity, cellular; interleukin-17; interleukin-23

复发性阿弗他溃疡(recurrent aphthous ulcer, RAU), 又称复发性口腔溃疡, 是一种最常见的口腔黏膜疾病, 免疫因素在 RAU 的发生发展中起重要作用, 但具体的机制仍不十分清楚^[1]。IL-17 是

* [基金项目] 国家自然科学基金项目(304601397); 贵州省自然科学基金(黔科合丁字[2010]2165)

** 通信作者 E-mail: caiyang85@163.com

网络出版时间: 2014-02-26 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20140226.1304.014.html>

一种主要由 Th17 细胞分泌的促炎症反应的细胞因子,目前正在诸多炎症性疾病和自身免疫性疾病中发现 IL-17 表达上调^[2]。由于发现 IL-23 基因敲除小鼠体内 IL-17 的分泌被明显抑制,因此认为 IL-23 可刺激 Th17 细胞表达 IL-17。目前的观点是 Th17 细胞的维持需 IL-23 的存在,IL-23 是促进 IL-17 的表达、介导 Th17 细胞效应的重要细胞因子^[3]。本研究通过了解 RAU 患者溃疡发作期外周血中 IL-17 及 IL-23 蛋白表达水平,探讨 IL-17 及 IL-23 在 RAU 发病机制中的作用及意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选择 2009 年 5 月~2010 年 8 月口腔内科黏膜病专科门诊初诊为 RAU 患者 40 例,其中重型 10 例,轻型 30 例;男 14 例,女 26 例,年龄 21~69 岁。纳入标准:(1)符合 RAU 临床诊断标准(参考卫生部规划教材《口腔黏膜病学》第 3 版);(2)溃疡频繁发作病史 1 年以上(溃疡复发频率每月至少 1 次),本次溃疡发作不超过 72 h。排除标准:(1)1 个月内局部或全身使用过抗生素,3 个月内局部或全身使用过免疫制剂者;(2)伴有全身系统性疾病(糖尿病、心血管疾病、肝炎、精神病)或免疫性疾病者;(3)有牙龈炎、牙周炎或其它口腔黏膜疾病者;(4)月经期、妊娠期妇女。20 例正常对照来自体检中心,为年龄、性别与 RAU 组匹配的健康人。所有研究对象均被告知研究内容并签署知情同意书。

1.2 仪器和试剂

超低温冰箱(日本 SANYO MOF-382E 型)、80-2 台式低速离心机(上海医疗器械厂)、W21.420S 型三用电热恒温水浴箱(上海跃进医疗器械厂)、

TS-1 脱色摇床(其林贝尔仪器制造有限公司)、ep-endorf 微量移液器(芬兰 Ladsystems 公司)、680 型酶标仪(美国 BIO-RAD)、WP-VP-II-40 分析型实验室专用纯水机(沃特尔科技发展有限公司)、进口分装人 IL-17 及 IL-23 ELISA 试剂盒(美国 R&D 公司),检测范围均为 10~300 ng/L。

1.3 观察指标及检测方法

采集清晨 9 点前患者空腹外周静脉血 6 mL (3 mL EDTA 抗凝,3 mL 普通管),常规流式细胞术及散射比浊法了解患者细胞免疫(包括 CD3、CD4、CD8、CD19、CD16+56 和 CD4/8 细胞)和体液免疫(包括 IgG、IgA、IgM、C3 和 CH50 水平)功能状况(由贵医附院中心实验室完成)。1 500 r/min 离心 15 min 提取普通管外周血上清液,分装后迅速置于 -80°低温冰箱保存,采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中 IL-17 及 IL-23 蛋白水平,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。观察血清 IL-17 及 IL-23 水平的相关性。

1.4 统计学分析

采用统计学软件 SPSS 11.5 进行数据分析,数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验,血清 IL-17 及 IL-23 水平的关系采用 Pearson 相关性分析,*P*<0.05 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RAU 患者免疫功能状况

RAU 患者 CD4、CD4/8、CD16+56 低于对照组,差异有统计学意义 (*P*<0.05),见表 1;IgM、CH50 高于对照组,C3 低于对照组,差异有统计学意义 (*P*<0.05),见表 2。

表 1 两组患者细胞免疫检测结果(%)

Tab. 1 Test results of cellular immunity of the patients in the two groups

分组	<i>n</i>	CD3	CD4	CD8	CD19	CD16+56	CD4/8
对照组	20	70.85±6.23	38.46±5.77	30.40±5.59	9.42±3.04	22.37±7.90	1.38±0.34
RAU 组	40	68.84±9.04	32.88±7.09 ⁽¹⁾	33.45±10.07	8.93±3.59	19.26±8.36 ⁽²⁾	1.10±0.48 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与对照组比较 *P*<0.01, ⁽²⁾与对照组比较 *P*<0.05

表 2 两组患者体液免疫检测结果($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Test results of humoral immunity of the patients in the two groups

分组	<i>n</i>	IgG (mg/L)	IgA (mg/L)	IgM (mg/L)	C3 (mg/L)	CH50 (kU/L)
对照组	20	12 870±1 350	2 350±340	1 080±240	1 140±270	75±25
RAU 组	40	135 301±4 936	2 051±1 221	1 598±770 ⁽¹⁾	1 009±331 ⁽²⁾	99±22 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与对照组比较 *P*<0.01, ⁽²⁾与对照组比较 *P*<0.05

2.2 RAU 患者外周血 IL-17 及 IL-23 表达情况

RAU 患者外周血中 IL-17 及 IL-23 蛋白表达水平平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),但在轻型 RAU 及重型 RAU 之间差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。Pearson 相关性分析显示 RAU 组 IL-17 与 IL-23 表达水平间不存在相关性($r = -0.038, P > 0.05$)。

表 3 两组患者血清 IL-17 及 IL-23 表达水平(ng/L)

Tab.3 The levels of IL-17and IL-23 proteins in the serum of patients with RAU

分组	n	IL-17	IL-23
对照组	20	17.069 ± 6.692	17.981 ± 10.694
RAU 组	40	53.577 ± 27.568	49.087 ± 25.249
t		5.814	5.261
P		<0.01	<0.01

3 讨论

RAU 是最常见的口腔黏膜病,临床上根据其溃疡特征分为轻型、重型及疱疹样,其中轻型最常见。研究表明,免疫因素在 RAU 发病中起重要的作用,其中 T 淋巴细胞亚群数量及功能异常在 RAU 中的发病机制中占有重要地位。迄今为止,很多研究显示 RAU 患者存在细胞免疫、体液免疫功能的缺陷或紊乱^[4]。本研究结果显示,RAU 患者外周血中 CD4、CD4/8、CD16 + 56 较对照组明显减少,提示 RAU 患者溃疡发作期细胞免疫功能降低;IgM、CH50 水平较对照组增加,而 C3 水平低于对照组,提示患者体液免疫功能发生紊乱,与现有报道基本一致。以上结果提示 RAU 发作期机体免疫状态是不正常的,不仅有免疫活性细胞的数量不足,而且还有细胞间的不平衡及细胞功能异常。

Th17 细胞是新发现的一群 T 细胞,其分泌 IL-17 参与炎症反应和自身免疫性疾病;IL-17 作为一种重要的炎症介质通过诱导其他炎症细胞因子如 IL-6,肿瘤坏死因子 α (TNF- α),以及趋化因子如单核细胞诱导蛋白-1、巨噬细胞炎性蛋白- α 等的表达,介导炎症细胞的浸润及组织损伤,具有强大促炎作用^[2]。Lewkowicz N 等^[5]发现在 RAU 病损局部主要的淋巴细胞为 Th1,而 Th17 相关细胞因子表达并没有明显增强,但 Th17 相关细胞因子在 RAU 患者外周血中表达情况仍未见报道。本研究中,与对照组相比 RAU 患者外周血血清中 IL-17

蛋白表达水平增高,但在轻型及重型 RAU 之间,IL-17 的表达水平差异并没有统计学意义。已有较多学者报道 RAU 患者外周血 IL-6、TNF- α 等细胞因子高表达,IL-6、TNF- α 由 Th-17 分泌的同时,IL-6 的存在还能促进 IL-17 的分泌。可以认为,IL-6、IL-17 与 Th17 细胞间形成 1 个正反馈的环路。在 RAU 发病期,由于机体 IL-17 表达水平增高,相应产生了更多的前炎症因子 IL-6、TNF- α 等,IL-6 的增高又促进了 IL-17 的分泌,从而加重了 RAU 患者发作时的免疫异常应答及炎症症状^[6]。

现已发现,Th17 细胞的维持需 IL-23 的存在,IL-23 是促进 IL-17 的表达、介导 Th17 细胞效应的重要细胞因子^[3,7]。因此,在许多关于免疫性、感染性疾病的研究中,IL-17、IL-23 和 Th17 细胞越来越多被学者们结合起来研究。Bamias G 等^[8]学者提出,IL-23 与 IL-17 在炎症性肠病的发病机制中可能处于关键地位,IL-23 通过诱导并驱动 Th17 细胞产生 IL-17、IL-6 和 TNF- α ,引起结肠炎症。本研究中,RAU 患者发作期外周血也存在 IL-23 蛋白水平增高,推测 IL-23 促进患者 Th17 细胞分泌 IL-17,从而加重了 RAU 发作期的免疫异常和炎症反应。但本研究中,经 Pearson 相关性分析,RAU 组 IL-17 与 IL-23 表达水平间并不存在相关性,推测一方面可能与样本例数较少有关,另一方面也说明细胞因子调控是一个复杂过程,可能受多种细胞因子网络的影响。

本研究结果显示,RAU 患者发作期存在细胞免疫功能降低及体液免疫紊乱,且有外周血中 IL-17 和 IL-23 蛋白表达水平增高。推测 RAU 患者细胞因子网络失衡可能导致机体的细胞免疫和体液免疫功能出现异常,引起机体免疫细胞亚群失衡或功能缺陷,从而导致 RAU 的发作并加重炎症反应。

4 参考文献

- [1] 陈谦明,周曾同. 口腔黏膜病学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2008:58-67.
- [2] Song X, Qian Y. The activation and regulation of IL-17 receptor mediated signaling[J]. Cytokine, 2013(2):175-182.
- [3] Iwakura Y, Ishigame H. The IL-23/IL-17axis in inflammation[J]. J Clin Invest, 2006(116):1218-1222.
- [4] 徐勤业,何克新. 复发性口腔溃疡免疫学因素的研究进展[J]. 广西医学, 2007(2):224-227.

(下转第 26 页)

组织排列形态、矿化程度均较对照组均匀,骨痂的成熟度也要明显好于对照组;在成骨细胞数量上,实验 B 组中骨小梁周围成骨细胞数量明显多于对照组。虽然隔日皮下注射 rhPTH(1-84)10 μg 和 25 μg 均可促进下颌骨缺损修复,但间隙性皮下注射 rhPTH(1-84)25 μg 对下颌骨缺损愈合的促进作用更明显。外源性 rhPTH(1-84)给予后可增加成骨细胞数量而发挥其促下颌骨缺损修复作用,但有关调控机制和适宜 rhPTH(1-84)剂量还需要进一步深入研究。

4 参考文献

- [1] Aleksyniene R, Hvid I. Parathyroid hormone——possible future drug for orthopedic surgery[J]. *Medicina*, 2004(9):842-849.
- [2] Chalidis B, Tzioupis C, Tsiridis E, et al. Enhancement of fracture healing with parathyroid hormone: preclinical studies and potential clinical applications[J]. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2007(4):441-449.
- [3] Roberts MD, Santner TJ, Hart RT, et al. Local bone formation due to combined mechanical loading and intermittent hPTH-(1-34) treatment and its correlation to mechanical signal distributions[J]. *J Biomech*, 2009(15):2431-2438.
- [4] Body JJ, Gaich GA, Scheele WH, et al. A randomized double-blind trial to compare the efficacy of Teriparatide [Recombinant human parathyroid hormone(1-34)] with alendronate in postmenopausal women with osteoporosis[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002(10):4528-4535.
- [5] Brixen KT, Christensen PM, Charlotte E, et al. Teriparatide (Biosynthetic Human Parathyroid Hormone 1-34): A new paradigm in the treatment of osteoporosis[J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2004(94):260-270.
- [6] Obermayer-Pietsch BM, Marin F, McClosky EV, et al. Effects of two years of daily teriparatide treatment on bone mineral density in postmenopausal women with severe osteoporosis with and without prior antiresorptive treatment[J]. *J Bone Miner Res*, 2008(10):1591-1600.
- [7] Miller SC, Hunziker J, Mecham M, et al. Intermittent parathyroid hormone administration stimulates bone formation in the mandibles of aged ovariectomized rats[J]. *J Dent Res*, 1997(8):1471-1476.
- [8] Andressen TT, Cassiafesta VC. Intermittent parathyroid hormone treatment enhances guided bone regeneration in rat calvarial bone defects[J]. *J Craniofac Surg*, 2004(3):424-427.
- [9] Bashutski JD, Eber RM, Kinney JS, et al. Teriparatide and osseous regeneration in the oral cavity[J]. *N Engl J Med*, 2010(16):2396-2405.
- [10] Masi L, Brandi ML. Molecular, biochemical and cellular biology of PTH anabolic action[J]. *J Endocrinol Invest*, 2005(8 Suppl):37-40.
- [11] Kousteni S, Bilezikian JP. The cell biology of parathyroid hormone in osteoblasts[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2008(2):72-76.
- (2013-10-15 收稿,2013-12-13 修回)
- 中文编辑:周 凌;英文编辑:Walid Bin Hosain
-
- (上接第 20 页)
- [5] Lewkowicz N, Kur B, Kurnatowska A, et al. Expression of Th1/Th2/Th3/Th17-related genes in recurrent aphthous ulcers[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2011(5):399-406.
- [6] 王栋. 细胞因子与复发性口腔溃疡关系的研究[J]. *滨州医学院学报*, 2011(1):66-68.
- [7] Haines CJ, Chen Y, Blumenschein WM, et al. Autoimmune memory T helper 17 cell function and expansion are dependent on interleukin-23[J]. *Cell Rep*, 2013(5):1378-1388.
- [8] Bamias G, Cominelli F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2007(23):365-369.
- (2013-10-30 收稿,2013-11-20 修回)
- 中文编辑:周 凌;英文编辑:Walid Bin Hosain