

类风湿关节炎湿热痹阻型患者血清和滑膜液 IL-17 与 ESR、CRP 的相关性研究

刘德芳¹ 晏 姣¹ 郭明阳¹ 王 超² 呼永河¹ 杨 敏¹
贡明东¹ 罗 勇¹ 张 俊¹ 李 华³

摘要 **目的** 通过检测类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)湿热痹阻型患者血清和滑膜液中白细胞介素-17(IL-17)表达水平,及炎性活动指标血沉(ESR)、C反应蛋白(CRP)的相关性分析,探讨IL-17在RA发病中的作用。**方法** 选择2011年1月—2013年1月成都军区总医院中西医结合风湿科住院的RA湿热痹阻型患者90例(28例伴有膝关节积液)作为研究对象,以30名健康体检者作为健康对照组,以30例膝关节积液的骨性关节炎(OA)患者作为滑膜液对照组,采用ELISA法检测血清和滑膜液中IL-17表达水平,及RA患者ESR、CRP含量,将IL-17水平与ESR、CRP进行相关性分析。**结果** RA湿热痹阻型患者血清中IL-17表达水平较健康对照组明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);RA滑膜液较RA血清和OA滑膜液中IL-17表达水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);RA血清IL-17表达与炎性活动指标ESR、CRP无相关性($r = 0.092, -0.082; P > 0.05$);RA滑膜液IL-17表达与炎性活动指标ESR、CRP亦无相关性($r = 0.113, -0.034; P > 0.05$)。**结论** IL-17作为Th17细胞的主要效应性细胞因子,RA湿热痹阻型患者不同病程中血清和滑膜液中IL-17的表达水平皆明显升高,但与ESR、CRP无相关性,说明IL-17参与了RA的发生发展,但具体作用机制还需更多大样本研究证实。

关键词 类风湿关节炎;湿热痹阻证;白细胞介素17;红细胞沉降率;C-反应蛋白

Correlation Study between Interleukin-17 and ESR and CRP in Serum and the Synovial Fluid of Rheumatoid Arthritis Patients of Accumulated Dampness-heat Obstruction in Joints Syndrome
LIU De-fang¹, YAN Jiao¹, GUO Ming-yang¹, WANG Chao², HU Yong-he¹, YANG Min¹, YUN Ming-dong¹, LUO Yong¹, ZHANG Jun¹, and LI Hua³ 1 Department of Integrative Medical Rheumatism, General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu (610083), China; 2 Department of Central Laboratory of General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu (610083), China; 3 Department of Oncology, General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu (610083), China

ABSTRACT **Objective** To probe the function of interleukin-17 (IL-17) in rheumatoid arthritis (RA) patients of accumulated dampness-heat obstruction in joints syndrome (ADOJS) by detecting levels of IL-17 in serum and the synovial fluid and analyzing its correlation with erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C reactive protein (CRP). **Methods** From January 2011 to January 2013, recruited were 90 RA inpatients of ADOJS at Department of Integrative Medical Rheumatism, General Hospital of Chengdu Military Region, of which 28 patients had knee joint effusion. Besides, 30 healthy volunteers who received physical examination at our hospital were recruited as the normal control group, and 30 patients with osteoarthritis (OA) who had knee joint effusion were recruited as the synovial fluid control group. The expression levels of IL-17 in serum and the synovial fluid were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and contents of ESR and CRP were detected in RA patients. Then correlation analyses were performed between levels of IL-17 and contents of ESR and CRP. **Results** Compared with

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No.81072455);四川省卫生厅课题资助项目(No.120573)

作者单位:1.中国人民解放军成都军区总医院中西医结合风湿科(成都 610083);2.中国人民解放军成都军区总医院中心实验室(成都 610083);3.中国人民解放军成都军区总医院肿瘤科(成都 610083)

通讯作者:刘德芳, Tel:028-86571107, E-mail:liudefang199@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.03.0272

the normal serum control group, the expression levels of IL-17 in serum of RA patients significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the serum of RA patients and the synovial fluid of OA patients, the expression levels of IL-17 in the synovial fluid of RA patients significantly increased ($P < 0.05$). The expression levels of IL-17 in serum of RA patients were not correlated with ESR or CRP ($r = 0.092, -0.082; P > 0.05$), and the expressional levels of IL-17 in the synovial fluid of RA patients were not correlated with ESR or CRP ($r = 0.113, -0.034; P > 0.05$). Conclusions IL-17 was the main effector cytokine of Th17 cells. The expressional levels of IL-17 significantly increased in serum and the synovial fluid of RA patients of ADOJS, but with no correlation to ESR or CRP. It indicated that IL-17 participated in the occurrence and development of RA. Concrete mechanisms needed to be further proved in larger samples.

KEYWORDS rheumatoid arthritis; accumulated dampness-heat obstruction in joints syndrome; interleukin-17; erythrocyte sedimentation rate; C reactive protein

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节滑膜炎表现为主的自身免疫性疾病,发病率占世界总人口数的 0.5% ~ 1%, 中国患病率约为 0.32% ~ 0.36%^[1]。目前, RA 的病机尚不是很清楚, T 细胞, 尤其 CD4⁺ Th 细胞在疾病调控中起着关键性作用^[2]。Th17 细胞是一种新型 CD4⁺ Th 细胞亚群, 在白细胞介素(IL)-6、转化生长因子- β (TGF- β) 和 IL-23 的诱导下, 产生 IL-17、IL-6、IL-21、IL-22、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等, 而 IL-17 是其主要的效应性细胞因子^[3], 在 RA 由急性炎症转变成慢性炎症中起着潜在作用^[4]。红细胞沉降率(ESR)、C-反应蛋白(CRP)是临床上常用的反映 RA 病情活动性的实验室指标。

本研究通过酶联免疫吸附法(ELISA)检测 RA 湿热痹阻型患者血清及滑膜液中细胞因子 IL-17 的表达水平, 炎性活动指标 ESR、CRP, 分析其变化及相互关系, 从而探讨 IL-17 在 RA 发病中的作用, 现将其报告如下。

资料与方法

1 诊断标准

1.1 西医诊断标准 RA 诊断符合美国风湿病学会 1987 年的 RA 诊断标准^[5]或 ACR/EULAR 2009 年的 RA 诊断标准^[6]。骨性关节炎(osteoarthritis, OA)诊断参照美国风湿病学会 1986 年 OA 诊断标准^[7]。

1.2 痹证(湿热痹阻型)中医证候诊断标准具备以下主症 3 项、次症 2 项加舌脉即可辨为此证。主症:(1)关节红肿热痛;(2)关节晨僵;(3)关节肿胀;(4)关节压痛;(5)关节变形。次症:(1)关节有沉重感;(2)关节局部触之灼热;(3)口渴不欲饮。舌象、脉象:舌质红或暗红, 苔白腻或黄、黄腻, 脉濡数或滑数。

2 纳入及排除标准

2.1 纳入标准 (1)符合 RA 及 OA 诊断标准;

(2)符合中医痹证(湿热痹阻型)辨证标准;(3)年龄 45 ~ 65 岁;(4)纳入对象均知情同意, 并签署知情同意书。

2.2 排除标准 (1)妊娠或哺乳期妇女, 过敏体质者;(2)其他自身免疫系统疾病者;(3)有严重心、脑、肝、肾、血液、内分泌系统及胃肠道疾病者;(4)有意识障碍或精神异常者。

3 一般资料 120 例患者均为 2011 年 1 月—2013 年 1 月于成都军区总医院中西医结合风湿科住院的患者, 其中 90 例符合 RA 湿热痹阻证诊断标准, 30 例符合 OA 诊断标准。RA 病例组: RA90 例, 其中 28 例伴有膝关节滑膜液(简称 RA 滑膜液组)。其中女 80 例, 男 10 例; 年龄 45 ~ 65 岁, 平均(55.87 ± 6.59)岁; 病程 0.25 ~ 40 年, 平均(13.12 ± 13.21)年。健康对照组: 选取同期性别和年龄与 RA 患者相匹配的健康体检者 30 名, 其中女 26 名, 男 4 名; 年龄 46 ~ 64 岁, 平均(54.98 ± 7.34)岁。OA 滑膜液对照组: 为同期性别和年龄与病例组相匹配的有膝关节滑膜液的 OA 患者 30 例, 其中女 27 例, 男 3 例; 年龄 48 ~ 66 岁, 平均(57.23 ± 7.01)岁。3 组的年龄、性别的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

4 观测指标及检测方法

4.1 标本采集 清晨空腹采集 RA 患者和健康人的外周静脉血 2 ~ 3 mL, 3 000 r/min 离心 10 min, 吸出上层血清置于 -80 °C 冰箱保存。RA 患者滑膜液和 OA 患者滑膜液, 以 5 mL 注射器由髌骨外侧进针采取, 保存于 -80 °C 冰箱, 以备集中检测。

4.2 IL-17 检测 采用 ELISA 法检测, 试剂盒购自四川瑞生科技有限公司。

4.3 ESR 及 CRP 检测 ESR 采用魏氏法检测; CRP 采用全自动免疫速率散射比浊法测定(参考值: ESR: 0 ~ 15 mm/h; CRP: 0 ~ 3 mg/L)。

5 统计学方法 采用 SPSS 11.5 统计分析软

件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用成组 t 检验,相关性分析采用 *Pearson* 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 RA 病例组与健康对照组血清 IL-17 表达水平比较(表 1) 与健康对照组比较,RA 患者外周血中 IL-17 表达水平明显升高,差异有统计学意义($t = 9.6$, $P < 0.05$)。

表 1 RA 病例组与健康对照组血清 IL-17 表达水平比较(pg/mL , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-17
RA 病例	90	$21.95 \pm 6.55^*$
健康对照	30	6.21 ± 4.05

注:与健康对照组比较, $*P < 0.05$

2 RA 及 OA 患者滑膜液中 IL-17 表达水平比较(表 2) 与 OA 患者比较,RA 患者滑膜液中 IL-17 表达水平明显升高,差异有统计学意义($t = 1.306$, $P < 0.05$)。

表 2 RA 及 OA 患者滑膜液中 IL-17 表达水平比较 (pg/mL , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-17
RA 滑膜液	28	$44.22 \pm 26.96^*$
OA 滑膜液对照	30	26.47 ± 7.56

注:与 OA 滑膜液对照组比较, $*P < 0.05$

3 RA 滑膜液 IL-17 与血清 IL-17 表达水平比较(表 3) 与 RA 患者血清 IL-17 表达水平比较,RA 患者伴滑膜液中 IL-17 水平明显升高,差异有统计学意义($t = 3.459$, $P < 0.05$)。

表 3 RA 患者滑膜液及血清中 IL-17 表达水平比较 (pg/mL , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-17
RA 滑膜液	28	44.22 ± 26.96
RA 血清	90	$21.95 \pm 6.55^*$

注:与 RA 滑膜液组比较, $*P < 0.05$

4 RA 患者血清 IL-17 表达水平与 ESR、CRP 相关性分析 RA 患者血清 IL-17 表达水平(21.95 ± 6.55) pg/mL 与 ESR (60.60 ± 35.54) mm/h 、CRP (73.87 ± 60.65) mg/L 均无相关性($r = 0.092$, $r = -0.082$, $P > 0.05$)。

5 RA 患者伴滑膜积液患者 IL-17 表达水平与 ESR、CRP 相关性分析 RA 患者伴滑膜积液 IL-17 表达水平(44.22 ± 26.96) pg/mL 与 ESR ($60.60 \pm$

35.54) mm/h 、CRP (73.87 ± 60.65) mg/L 亦均无相关性($r = 0.113$, $r = -0.034$, $P > 0.05$)。

讨 论

RA 属中医学“痹证”、“历节风”等范畴,是由风寒湿邪客于关节,气血痹阻,导致以小关节疼痛、肿胀、晨僵等为特点的一种系统性炎症性自身免疫性疾病,主要病理变化是炎性细胞浸润与滑膜细胞增生^[8]。由于关节滑膜的炎性增生,导致受累关节出现骨质侵蚀、关节破坏和畸形。蒋连泓等^[9]研究 316 例活动期 RA 患者,发现湿热阻络型与寒热错杂型患者 ESR 明显增速,而且以中、高度活动为主,寒湿阻络型与痰瘀阻络型以中、低活动为主;湿热阻络型与寒热错杂型患者 CRP 阳性率最高,其次为寒湿阻络型、痰瘀阻络型和肝肾两虚兼外感型。王志中等^[10]研究 322 例 RA 患者,发现湿热痹阻型多见于 RA 疾病高活动性,寒湿痹阻型多见于 RA 疾病中低活动性,指出 RA 疾病活动性评分(DAS28)、ESR、CRP、血小板(PLT)、白细胞(WBC)、球蛋白(Glb)及白蛋白(Alb)指标可作为湿热痹阻型与寒湿痹阻型 RA 的客观化分型参考指标。

Th1、Th17 是诱导 RA 发病的主要促炎性辅助性 T 细胞亚群^[11]。近年来很多证据提示 Th17 可能与 RA 的发病有关^[12]。通过 IL-23 诱导,Th17 细胞可产生 IL-17、IL-6 和 IL-22 等效应性细胞因子,在清除胞外菌、原虫和真菌等病原体感染及自身免疫性炎症中发挥重要作用^[13-19]。IL-17 是 Th17 细胞产生的主要效应因子^[20,21],可激活巨噬细胞、树突状细胞,产生 IL-1、TNF- α 、IL-6 和 CRP,导致炎症反应。

本研究发现,RA 湿热痹阻型患者外周血血清中 IL-17 较健康对照组明显升高,滑膜液中 IL-17 较外周血明显升高,较 OA 滑膜液中 IL-17 亦明显升高。有文献报道,RA 患者血清中 IL-17 水平的升高与健康组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)^[22]。RA 患者关节滑液中 IL-17 的含量明显高于 OA 患者 IL-17 水平^[23]。本研究结果与文献[22,23]报道一致。

史烨等^[24]研究显示,Th17 细胞及其分泌的细胞因子 IL-17 在胶原诱导性关节炎小鼠体内明显升高,并与疾病的发生密切相关。国外文献[25]报道,RA 关节液中 Th17 细胞的比例与 CRP、ESR 等炎症指标呈相关性。谢庆云等^[26]研究发现,活动期 RA 患者血清 IL-17 水平与 ESR、CRP 均呈正相关。陈海燕等^[27]研究报道,RA 患者血清中 IL-17 水平与 ESR、RF、CRP 无相关性。本研究显示,RA 湿热痹阻型患者外周血血清和滑膜液中 IL-17 的表达与 ESR、CRP

无明显相关性。因此,此研究结果与文献报道不尽一致。但 IL-17 与 ESR、CRP 究竟是否有相关性,相关性如何,尚需更大临床样本量的研究证实。

参 考 文 献

- [1] 左晓霞,陶立坚,高洁生.凯利风湿病学[M].北京:人民卫生出版社,2006:853.
- [2] Dong C. Differentiation and function of pro-inflammatory Th17 cells[J]. *Mirobes Infect*, 2009, 11(5): 584-588.
- [3] Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, et al. Phenotypic and functional features of human Th17 cells[J]. *J Exp Med*, 2007, 204(8): 1849-1861.
- [4] Ferraccioli G, Zizzo G. The potential role of Th17 in mediating the transition from acute to chronic autoimmune inflammation: rheumatoid arthritis as a model[J]. *Discov Med*, 2011, 11(60): 413-424.
- [5] Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 1988, 31(3): 315-324.
- [6] Daniel A, Tuhina N, Alan JS, et al. 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 69(9): 2569-2581.
- [7] 蒋明, David Yu, 林孝义等主编.中华风湿病学[M].北京:华夏出版社,2004:1280.
- [8] Pap T, Mullerlander H, Gay RE, et al. Fibroblast biology: role of synovial fibroblasts in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res*, 2000, 2(5): 361-367.
- [9] 蒋连泓,胡晓慧,赵亚莉.316 例活动期类风湿性关节炎患者辨证规律分析[J]. *中医药通报*, 2002, 1(4): 22-26.
- [10] 王志中,方勇飞,罗彦,等.322 例湿热痹阻型及寒湿痹阻型类风湿性关节炎中医证型的客观化研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2011, 31(4): 466-470.
- [11] Ferraccioli G, Gremese E. Pathogenetic, clinical and pharmaco-economic assessment in rheumatoid arthritis (RA)[J]. *Intern Emerg Med*, 2011, 6(Suppl 1): 11-15.
- [12] Lundy SK, Sarkar S, Tesmer LA, et al. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis T lymphocytes[J]. *Arthritis Res Ther*, 2007, 9(1): 202.
- [13] Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, et al. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells[J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(6): 639-646.
- [14] Happel KI, Dubin PJ, Zheng M, et al. Divergent roles of IL-23 and IL-12 in host defense against *Klebsiella pneumoniae* [J]. *J Exp Med*, 2005, 202(6): 761-769.
- [15] Leibund Gut-Landmann S, Gross O, Robinson MJ, et al. Syk and CARD9-dependent coupling of innate immunity to the induction of T helper cells that produce interleukin 17 [J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(6): 630-638.
- [16] Uhlig HH, McKenzie BS, Hue S, et al. Differential activity of IL-12 and IL-23 in mucosal and systemic innate immune pathology[J]. *Immunity*, 2006, 25(2): 309-318.
- [17] Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation[J]. *J Exp Med*, 2005, 201(2): 233-240.
- [18] Chen Y, Langrish CL, McKenzie B, et al. Anti-IL-23 therapy inhibits multiple inflammatory pathways and ameliorates autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(5): 1317-1326.
- [19] Rudner XL, Happel KI, Young EA, et al. Interleukin-23 (IL-23)-IL-17 cytokine axis in murine *Pneumocystis carinii* infection[J]. *Infect Immun*, 2007, 75(6): 3055-3061.
- [20] Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells[J]. *Mechanisms Dis*, 2009, 361(9): 888-898.
- [21] Hue S, Ajern P, Buonocore S, et al. Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(11): 2473-2483.
- [22] 李妍,康辉. Th1、Th2 和 Th17 型细胞在类风湿关节炎和系统性红斑狼疮中的活化特点[J]. *微生物学杂志*, 2008, 28(5): 98-101.
- [23] Cho ML, Yoon CH, Hwang SY, et al. Effector function of type II collagen-stimulated T cells from rheumatoid arthritis patients: cross-talk between T cells and synovial fibroblasts[J]. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(3): 776-784.
- [24] 史烨,马洁,苏兆亮,等.胶原诱导性关节炎小鼠 Th17 细胞的检测及意义[J]. *江苏大学学报*, 2010, 20(4): 299-301.
- [25] Zizzo G, De Santis M, Bosello SL, et al. Synovial fluid-derived T helper 17 cells correlate with inflammatory activity in arthritis, irrespectively of diagnosis[J]. *Clin Immunol*, 2011, 138(1): 107-116.
- [26] 谢庆云,魏萌,张波,等.外周血炎性细胞因子与类风湿关节炎[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(42): 7945-7950.
- [27] 陈海燕,韩捷,范璐,等.类风湿性关节炎患者 Th17 细胞相关细胞因子的表达及临床意义[J]. *同济大学学报(医学版)*, 2009, 30(4): 61-63.

(收稿:2013-06-23 修回:2013-11-21)