

窄谱中波紫外线对寻常型银屑病患者外周血 IL-23/IL-17 轴表达的影响

王忠永 马蕾 邱会芬 韩兆东

【摘要】目的 观察窄谱中波紫外线(NB-UVB)治疗寻常型银屑病的临床疗效及其外周血白介素-17(IL-17)、白介素-23(IL-23)、白介素-22(IL-22)等细胞因子表达的变化,探讨 NB-UVB 治疗寻常型银屑病的作用机制。**方法** 选取 90 例寻常型银屑病患者(进行期患者 45 例,稳定期患者 45 例),使用 NB-UVB 照射治疗 8 周,采用双抗体夹心 ELISA 法检测光疗前后血清 IL-17、IL-23、IL-22、白介素-10(IL-10)、转化生长因子 β (TGF- β) 的含量,并对其临床疗效进行评价。同时选 50 例健康体检者作为健康对照组。**结果** 寻常型银屑病患者血清 IL-17、IL-23、IL-22 水平均显著高于健康对照组($P < 0.01$),而 IL-10 和 TGF- β 水平显著低于健康对照组($P < 0.01$);NB-UVB 治疗后 IL-17、IL-23、IL-22 水平明显降低,与治疗前相比,差异有统计学意义($P < 0.01$),而 IL-10 和 TGF- β 水平明显升高,与治疗前相比,差异亦有统计学意义($P < 0.01$)。90 例患者治疗前 PASI 评分为(19.57 \pm 8.36)分,经 NB-UVB 治疗 8 周后,PASI 评分较治疗前明显下降($P < 0.01$),其中治疗后进行期患者 PASI 评分为(3.57 \pm 3.02)分,稳定期患者为(3.71 \pm 3.26)分。90 例患者治疗后的总显效率为 87.78%,其中进行期患者显效率为 91.11%,稳定期患者的显效率为 84.44%。**结论** NB-UVB 照射可明显下调外周血 IL-17、IL-23 和 IL-22 的水平,上调 IL-10、TGF- β 的水平,从而调节 T 细胞亚群的失衡,可能是 NB-UVB 治疗银屑病的机制之一。NB-UVB 治疗各期寻常型银屑病疗效好,安全性高。

【关键词】 银屑病; 紫外线疗法; 白介素

Effects of narrow-band ultraviolet B on expression of IL-23/IL-17 axis and efficacy in patients with psoriasis vulgaris WANG Zhong-yong, MA Lei, QIU Hui-fen, HAN Zhao-dong. Department of Dermatology, the Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256603, China

Corresponding author: WANG Zhong-yong, Email: byzhongyong@sohu.com

【Abstract】Objective To observe clinical efficacy of NB-UVB in treating psoriasis vulgaris and its effects on expression of serum interleukin-17 (IL-17), interleukin-23 (IL-23) and interleukin-22 (IL-22) in patients with psoriasis vulgaris, and to study the underlying mechanisms of NB-UVB. **Methods** Ninety patients were recruited and treated with NB-UVB therapy for 8 weeks. Before and after treatment, the serum level of IL-17, IL-23, IL-22, interleukin-10 (IL-10) and transforming growth factor (TGF- β) were tested by use of ELISA method, meanwhile Psoriasis Area and Severity Index (PASI) were used to evaluate clinical efficacy. Fifty healthy volunteers were selected as control group. **Results** Compared to healthy controls, the level of serum IL-17, IL-23 and IL-22 was significantly higher in patients with psoriasis vulgaris ($P < 0.01$), and IL-10, TGF- β shown lower expression in psoriasis patients ($P < 0.01$). After 8 weeks of treatment with NB-UVB, serum levels of IL-17, IL-23 and IL-22 in psoriasis patients decreased significantly ($P < 0.01$), while IL-10, TGF- β elevated significantly ($P < 0.01$) in contrast. The Psoriasis Area and Severity Index (PASI) results indicated significantly clinical improvement after therapy, and the total effective rate was 87.78%. **Conclusion** NB-UVB could down-regulate serum IL-17, IL-23, IL-22 and up-regulate IL-10, TGF- β , which may help regulate imbalance of T lymphocytes cells of psoriasis patients. The clinical data demonstrate that the treatment of NB-UVB is a safe, effective method for psoriasis vulgaris.

【Key words】 Psoriasis; Ultraviolet therapy; Interleukin

银屑病是一种慢性、复发性、炎症性皮肤病,其病因及发病机制复杂。目前认为,银屑病是一种多基因

遗传背景下,T 细胞免疫介导的自身免疫性疾病;T 细胞及其产生的细胞因子是银屑病发病的中心环节;辅助性 T 细胞 17 (T help cell 17, Th17) 是一种新型 CD4⁺ T 细胞亚群,主要分泌白介素-17 (interleukin-17, IL-17) 等细胞因子而参与炎症反应,在银屑病的发病中发挥着重要的作用^[1];白介素-23 (interleukin-23, IL-23) 主要作用于 Th17 细胞,维持其表达。近年来,

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.07.014

基金项目:山东省科技发展计划(2011YD18008);山东省医药卫生科技发展计划(2011HW003)

作者单位:256603 滨州,山东省滨州医学院附属医院皮肤科

通信作者:王忠永,Email:byzhongyong@sohu.com

国内外有报道^[2-3]使用窄谱中波紫外线(narrow-band ultraviolet B, NB-UVB)治疗银屑病取得较好的疗效,但其治疗机制尚不很清楚,本研究通过检测寻常型银屑病患者经 NB-UVB 照射治疗前后血清 IL-17、IL-23、白介素-22(interleukin-22, IL-22)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)的变化情况,探讨 NB-UVB 治疗银屑病的作用机制。

资料与方法

一、临床资料

入选标准:①符合《临床皮肤病学》的寻常型银屑病诊断标准^[4];②诊断为中度和(或)重度寻常型银屑病,银屑病面积和严重指数(psoriasis area and severity index, PASI)评分 >9 分^[5];③入选前1个月内未接受过局部外用药物,3个月内未系统使用过免疫抑制剂、糖皮质激素和维A酸等药物;④签署知情同意书。

排除标准:①患有高血脂、肝肾及其它系统的严重疾病;②妊娠和哺乳期妇女。

选取2011年7月至2012年6月本院皮肤科收治且符合上述标准的寻常型银屑病患者90例设为病例组,其中进行期45例,稳定期45例;男51例,女39例;年龄19~56岁,平均 (26.32 ± 15.16) 岁;病程1个月~20年,平均 (3.17 ± 5.33) 年。全部患者PASI评分为10~41分,平均 (19.57 ± 8.36) 分,其中进行期患者平均PASI评分为 (18.86 ± 7.11) 分,稳定期患者平均 (19.71 ± 7.63) 分。另选本院体检中心健康体检者50例设为健康对照组,男29例,女21例;年龄20~55岁,平均 (25.35 ± 13.62) 岁。2组在性别和年龄等病例资料经统计学分析比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

二、治疗方法

NB-UVB照射治疗:采用德国Waldmann公司生产的UV100L系统光疗仪,波长310~313 nm,峰值为311 nm,照射器强度经Waldmann紫外光强度测试仪测定为 9.06 mW/cm^2 。照射时充分暴露治疗部位,戴专用护目镜及遮盖保护外生殖器,尽量遮盖非皮损区,照射距离为20 cm。SUV-1000日光紫外线模拟器(上海Sigma公司)测定患者皮肤NB-UVB的最小红斑量(minimal erythema dose, MED)为参考初始剂量。患者MED平均值为 0.81 J/cm^2 ,NB-UVB照射的初始剂量为MED的50%,即 0.4 J/cm^2 ,每周照射3次。如照射皮肤无红斑反应,每次增加剂量 0.1 J/cm^2 ,若出现淡红斑则维持该剂量,共治疗8周,照射24次,最大照射剂量 2.0 J/cm^2 。若出现疼痛性红斑则停止照射,在红斑消退后恢复照射,剂量较前减少50%,但照射总次

数不变。记录不良反应并于治疗前后进行血、尿常规及肝、肾功能检查。

三、血清细胞因子检测

所有患者均于治疗前和治疗8周后(治疗后)抽取肘静脉血5 ml,1000 r/min(离心半径12.5 cm)离心15 min,吸取上层血清,置 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存待测。健康对照组体检时采血,处理方法同前。采用双抗体夹心ELISA法检测光疗治疗前和治疗后血清IL-17、IL-23、IL-22、IL-10和TGF- β 的含量,所有免疫检测试剂盒均为美国R&D公司产品。操作步骤严格按试剂盒说明书进行。用酶标仪在450 nm处测A值。建立标准曲线求出样品中含量。

四、疗效评定标准

将人体分为头部、躯干、上肢、下肢四部分,然后对红斑、浸润、鳞屑的程度和面积采用PASI评分法进行加权评分^[2]。对所有患者治疗前和治疗后进行PASI评分,计算患者治疗前后PASI评分下降的百分比。

疗效评价:①痊愈——PASI评分下降 $\geq 90\%$;②显效——PASI评分下降 $60\% \sim 89\%$;③有效——PASI评分下降 $20\% \sim 59\%$;④无效——PASI评分下降 $< 20\%$ 或皮损无变化。按照公式(1)计算显效率:

$$\text{显效率} = \frac{\text{痊愈例数} + \text{显效例数}}{\text{总例数}} \times 100\% \quad (1)$$

五、统计学方法

采用SPSS 19.0版统计软件进行处理,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用配对 t 检验,相关性分析采用Pearson相关检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、血清细胞因子检测比较

健康对照组的血清IL-17、IL-23、IL-22、IL-10和TGF- β 水平分别为 (15.7 ± 6.1) 、 (28.8 ± 9.3) 、 (15.5 ± 5.9) 、 (23.5 ± 9.2) 和 $(673.1 \pm 72.6) \text{ ng/L}$ 。

病例组患者治疗前血清IL-17、IL-23和IL-22水平明显高于健康对照组($P < 0.01$),而血清IL-10和TGF- β 水平则明显低于健康对照组($P < 0.01$)。NB-UVB照射治疗后患者血清IL-17、IL-23和IL-22含量明显降低,与组内治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);而NB-UVB照射治疗后患者血清IL-10和TGF- β 含量明显升高,与组内治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。详见表1。

二、细胞因子与PASI的相关性

本研究中所选90例患者PASI评分为 (19.57 ± 8.36) 分。银屑病患者治疗前血清IL-17、IL-23、IL-22水平与疾病严重程度之间均呈显著正相关, r 值分别为 0.713 、 0.859 和 0.522 ($P < 0.01$);IL-10、TGF- β 水

表 1 银屑病患者与健康对照组血清细胞因子水平的比较(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-17	IL-23	IL-22	IL-10	TGF- β
健康对照组	50	15.7 \pm 6.1	28.8 \pm 9.3	15.5 \pm 5.9	23.5 \pm 9.2	673.1 \pm 72.6
病例组治疗前						
进行期	45	61.2 \pm 12.3 ^a	110.5 \pm 20.1 ^a	71.2 \pm 13.6 ^a	11.4 \pm 4.7 ^a	526.3 \pm 56.1 ^a
稳定期	45	65.5 \pm 13.8 ^a	117.9 \pm 22.6 ^a	67.6 \pm 10.7 ^a	9.9 \pm 5.1 ^a	511.2 \pm 45.7 ^a
病例组治疗后						
进行期	45	17.3 \pm 7.1 ^b	31.9 \pm 9.5 ^b	17.3 \pm 6.6 ^b	21.4 \pm 7.9 ^b	656.2 \pm 62.3 ^b
稳定期	45	19.6 \pm 5.9 ^c	36.7 \pm 10.3 ^c	19.6 \pm 7.9 ^c	19.1 \pm 6.2 ^c	637.5 \pm 65.8 ^c

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.01$;与进行期患者治疗前比较,^b $P < 0.01$;与稳定期患者治疗前比较,^c $P < 0.01$

平与疾病严重程度之间均呈负相关, r 值为 -0.645 和 -0.580 ($P < 0.01$)。银屑病患者治疗后血清 IL-17、IL-23、IL-22 水平与疾病严重程度之间亦均呈显著正相关, r 值分别为 0.532 、 0.695 和 0.503 ($P < 0.01$); IL-10、TGF- β 水平与疾病严重程度之间均呈负相关, r 值为 -0.452 和 -0.363 ($P < 0.01$)。

三、PASI 评分及临床疗效比较

90 例病例组患者均完成 NB-UVB 照射治疗,进行期患者和稳定期患者治疗后的 PASI 评分分别为 (3.57 ± 3.02) 分和 (3.71 ± 3.26) 分,均较治疗前明显下降 ($P < 0.01$)。详见表 2。病例组经 NB-UVB 照射治疗 8 周后,总显效率为 87.78% ($79/90$),其中进行期患者痊愈 15 例,显效 26 例,有效 4 例,无效 0 例,显效率为 91.11% ;稳定期患者痊愈 13 例,显效 25 例,有效 6 例,无效 1 例,显效率为 84.44% 。

四、不良反应

90 例患者治疗 8 周后检查血、尿常规和肝、肾功能均未发现异常。有 8 例患者出现轻度皮肤干燥及瘙痒等症状,给予润肤剂后明显缓解,不影响继续治疗;2 例患者出现轻度全身红斑、灼痛反应,经用炉甘石洗剂及停止照射 1 次后消失,未见明显疼痛性红斑及水疱。

讨 论

以往研究认为,银屑病患者存在着 Th1/Th2 细胞比例失衡的情况,Th1 型细胞占优势,而 Th2 型细胞功能降低,故认为银屑病属于 Th1 介导的自身免疫性疾病^[6]。但这一观点随着 Th17 细胞的发现而受到严重挑战。Li 等^[7]的研究发现,与 Th1 相比,Th17 反应在银屑病的发病中更具重要作用。Th17 细胞能特异性分泌 IL-17、IL-22 及 IL-21 等细胞因子,其中最主要的效应因子是 IL-17。IL-17 的主要生物学功能是诱导

IL-6、IL-8、TNF- α 的表达,促进炎症反应,参与中性粒细胞的增殖、成熟和趋化^[8]。有研究发现,虽然 IL-23 不参与 Th17 细胞的早期分化,但在 Th17 表型稳定、存活及增殖等方面起重要作用^[9],从而形成了 IL-23/IL-17 免疫应答途径。Antonella 等^[10]提出 IL-23/IL-17 轴在银屑病的发病机制中发挥重要作用。IL-22 是 Th17 细胞产生的另一种效应细胞因子,它可以促进角质形成细胞的增殖,并介导 IL-23 诱导的炎症和表皮增殖。研究发现,银屑病模型小鼠注入 IL-22 拮抗剂后可见皮损棘层肥厚及炎症浸润明显改善,Th17 细胞数目减少,降低 Th17 细胞在血浆和皮肤中的转录水平^[11]。

研究发现,银屑病患者皮损区 IL-17 表达水平明显高于非皮损区,外周血中 IL-17 水平明显高于健康对照者,且 IL-17 水平与疾病严重程度相关^[12]。Yawalkar 等^[13]证实,IL-23 是银屑病重要的致炎细胞因子;银屑病与 IL-23 的相关性研究表明,银屑病患者皮损区角质形成细胞和真皮中 IL-23 mRNA 的表达高于非皮损区及正常人^[14]。目前认为,IL-23/IL-17 轴可能是自身免疫性疾病的核心因子。本实验结果显示,银屑病患者血清中 IL-17 和 IL-23 水平明显高于健康对照组,并与 PASI 评分呈正相关,说明寻常型银屑病患者血清中 IL-17、IL-23 水平与病情轻重有关,可望成为评估银屑病严重程度的指标。笔者认为,由于 IL-23 在银屑病患者外周血的高表达,刺激 Th17 的扩增及维持存活,从而使 IL-17 等细胞因子的分泌异常增加,可能是银屑病免疫发病机制中的重要环节,提示对其进行调节,可能为银屑病临床治疗提供新思路。Liu 等^[15]报道,银屑病患者血中 IL-22 水平升高并与疾病严重程度相关,可见 IL-22 参与了银屑病的发病。在银屑病治疗过程中,血中 IL-22 的表达水平亦下调^[16],故推测针对 IL-22 的治疗有可能会改善银屑病的病情。本研究发现,银屑

表 2 进行期患者和稳定期患者 NB-UVB 照射治疗后的 PASI 评分及临床疗效比较

组别	例数	PASI 评分(分)		临床疗效(例)				显效率(%)
		治疗前	治疗后	痊愈	显效	有效	无效	
进行期患者	45	18.86 \pm 7.11	3.57 \pm 3.02 ^a	15	26	4	0	91.11
稳定期患者	45	19.71 \pm 7.63	3.71 \pm 3.26 ^a	13	25	6	1	84.44

注:与组内治疗前比较,^a $P < 0.01$

病患者血清中 IL-22 水平明显升高,而 IL-10、TGF- β 水平明显降低,且均与 PASI 评分相关,这表明它们与银屑病的发病及病情严重程度之间关系密切。

NB-UVB 因其生物活性较强、不良反应少、患者依从性较好等特点,已在临床得到较为广泛的应用。在银屑病的治疗过程中,NB-UVB 治疗过程简单,不需要提前应用光敏剂,在产生最佳治疗效果的同时不会导致皮肤灼伤。国内外报道 NB-UVB 单独或联合其它方法治疗银屑病虽然疗效确切,但目前对 NB-UVB 治疗银屑病的机制尚不很清楚,研究证明,NB-UVB 能诱导 T 淋巴细胞凋亡,抑制朗格汉斯细胞呈递抗原,减轻皮肤炎症反应^[17]。Sigmundsdottir 等^[3]报道 NB-UVB 具有诱导 T 淋巴细胞凋亡及抑制前炎症因子的释放和转运。Piskin 等^[18]研究发现,NB-UVB 可使皮损中 IL-23 及 IFN- γ 的表达减少,并推测 NB-UVB 治疗后皮损 IFN- γ 的表达减少,可能是由于受损皮肤中 IL-23 表达减少所致。本实验发现,银屑病患者在进行期和稳定期经 NB-UVB 治疗后血清 IL-17、IL-23、IL-22 的含量明显降低,与治疗前相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$),且治疗后水平与健康对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。其结果与 Coimbra 等^[19]的研究基本一致。这提示 IL-17、IL-23 和 IL-22 可作为评价银屑病病情及预后的重要指标;而 IL-10 及 TGF- β 水平治疗后明显升高,与健康对照组比较,差异亦无统计学意义($P > 0.05$),说明 NB-UVB 可能通过抑制 IL-17、IL-23 和 IL-22 的表达,上调 IL-10 及 TGF- β 的水平,调节 IL-23/IL-17 免疫通路及相关细胞因子状态,纠正 Th17/Treg 失衡,从而达到治疗目的。动物实验已经证实,阻断 IL-23/Th17 细胞通路,可以中止自身免疫反应^[20]。本研究应用 NB-UVB 治疗寻常型银屑病进行期和稳定期患者各 45 例,显效率分别为 91.11% 和 84.44%,总显效率达 87.78%,说明 NB-UVB 对进行期及稳定期银屑病患者均有着较好的治疗效果,且疗效相当。治疗后 PASI 评分明显下降,未见明显不良反应,提示 NB-UVB 治疗寻常型银屑病安全、有效,值得临床推广应用。

参 考 文 献

- [1] Zaba LC, Fuentes-Duculan J, Eungdamrong NJ, et al. Psoriasis is characterized by accumulation of immunostimulatory and Th1/Th17 cell-polarizing myeloid dendritic cells. *Invest Dermatol*, 2009, 129: 79-88.
- [2] 贺红霞, 白莉. 窄谱中波紫外线治疗寻常性银屑病的疗效观察. *中华皮肤科杂志*, 2008, 41: 194-195.
- [3] Sigmundsdottir H, Johnston A, Gudjonsson JE, et al. Narrowband UVB irradiation decreases the production of pro-inflammatory cytokines by stimulated T cells. *Arch Dermatol Res*, 2005, 297: 39-42.
- [4] 赵辨. 临床皮肤病学. 3 版. 南京: 江苏科学技术出版社, 2001: 762-763.
- [5] Schmitt J, Wozel G. The psoriasis area and severity index is the adequate criterion to define severity in chronic plaque-type psoriasis. *Dermatology*, 2005, 210: 194-199.
- [6] Murphy KM, Reiner SL. The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2: 933-944.
- [7] Li J, Chen X, Liu Z, et al. Expression of Th17 cytokines in skin lesions of patients with psoriasis. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2007, 27: 330-332.
- [8] McGeachy MJ, Chen Y, Tato CM, et al. The interleukin 23 receptor is essential for the terminal differentiation of interleukin 17-producing effector T helper cells in vivo. *Nat Immunol*, 2009, 10: 314-324.
- [9] Thakker P, Leach MW, Kuang W, et al. IL-23 is critical in the Induction But not in the effector phase of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*, 2007, 178: 2589-2598.
- [10] Antonella DC, Paola DM, Frank ON. The IL-23/Th17 axis in the immunopathogenesis of psoriasis. *J Invest Dermatol*, 2009, 129: 1339-1350.
- [11] Ma HL, Liang S, Li J, et al. IL-22 is required for Th17 cell-mediated pathology in a mouse model of psoriasis-like skin inflammation. *J Clin Invest*, 2008, 118: 597-607.
- [12] Arican O, Aral M, Sasmaz S, et al. Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17 and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity. *Mediators Inflamm*, 2005, 5: 273-279.
- [13] Yawalkar N, Tschanner GG, Hunger RE, et al. Increased expression of IL-12p70 and IL-23 by multiple dendritic cell and macrophage subsets in plaque psoriasis. *J Dermatol Sci*, 2009, 54: 99-105.
- [14] Piskin G, Sylva-Steenland RM, Bos JD, et al. In vitro and in situ expression of IL-23 by keratinocytes in healthy skin and psoriasis lesions: enhanced expression in psoriatic skin. *J Immunol*, 2006, 176: 1908-1915.
- [15] Liu H, Huang K, Wu Y, et al. The expression of interleukin-22 and S100A7, A8, A9 mRNA in patients with psoriasis vulgaris. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2007, 27: 605-607.
- [16] Wolk K, Witte E, Wallace E, et al. IL-22 regulates the expression of genes responsible for antimicrobial defense, cellular differentiation, and mobility in keratinocytes: a potential role in psoriasis. *Eur J Immunol*, 2006, 36: 1309-1323.
- [17] Aufiero BM, Talwar H, Young C, et al. Narrowband UVB induces apoptosis in human keratinocytes. *J Photochem Photobiol B*, 2006, 82: 132-139.
- [18] Piskin G, Tursen U, Sylva-Steenland RM, et al. Clinical improvement in chronic plaque-type psoriasis lesions after narrow-band UVB therapy is accompanied by a decrease in the expression of IFN-gamma inducers IL-12, IL-18 and IL-23. *Exp Dermatol*, 2004, 13: 764-772.
- [19] Coimbra S, Oliveira H, Reis F, et al. Interleukin (IL)-22, IL-17, IL-23, IL-8, vascular endothelial growth factor and tumour necrosis factor-alpha levels in patients with psoriasis before, during and after psoralen-ultraviolet A and narrowband ultraviolet B therapy. *Br J Dermatol*, 2010, 202: 108-115.
- [20] Chen Y, Langrish CL, McKenzie, et al. Anti-IL-23 therapy inhibits multiple inflammatory pathways and ameliorates autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest*, 2006, 116: 1317-1326.

(修回日期: 2013-06-26)

(本文编辑: 汪 玲)