

- [6] Qi F, Li A, Inagaki Y, et al. Chinese herbal medicines as adjuvant treatment during chemo- or radio-therapy for cancer[J]. *Biosci Trends*, 2010, 4(6): 297~307.
- [7] Zhou L, Song Z, Zhou L, et al. Protective role of astragalus injection in spinal cord ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Neurosciences*, 2018, 23(2): 116~121.
- [8] Wang BB, Wang XH, Liu K. Enhanced radiosensitivity of H22 ascitic tumor to 12C6+ ions radiation in ultra-filtration extract mixture from *Astragalus mongholicus*-treated mice [J]. *Yao Xue Xue Bao*, 2015, 50(12): 1596~1620.
- [9] 张海静, 胡兆秋, 报孙玉卿, 等. 黄芪多糖对大鼠急性放射性肺损伤的治疗作用[J]. *中国生化药物杂志*, 2015, 35(9): 8~11.
- [10] Piao YL, Liang XC. *Astragalus membranaceus* injection combined with conventional treatment for viral myocarditis: a systematic review of randomized controlled trials [J]. *Chin Integr Med*, 2014, 20(10): 787~791.
- [11] 张浩. 黄芪多糖注射液对支气管哮喘患者肺泡灌洗液炎症因子及T细胞亚群的影响[J]. *河北医学*, 2017, 23(3): 480~483.
- [12] 许敬. 注射用黄芪多糖联合甲地孕酮对晚期恶性肿瘤患者生活质量的改善作用[J]. *中草药*, 2012, 43(7): 1385~1386.
- [13] Jung Koo H, Sohn EH, Kim YJ, et al. Effect of the combinatory mixture of *rubus coreanus miquel* and *astragalus membranaceus bunge* extracts on ovariectomy-induced osteoporosis in mice and anti-RANK signaling effect [J]. *Ethnopharmacol*, 2014, 151(2): 951~959.

【文章编号】1006-6233(2019)06-1027-04

外周血 Th22 细胞在类风湿性关节炎中的作用及临床意义

唐艳¹, 朱良琼², 周丽¹, 徐春美¹

(1.陆军军医大学(第三军医大学)大坪医院(野战外科研究所), 重庆 400042

2.重庆市中医院手术室, 重庆 400011)

【摘要】目的:探讨外周血 Th22 细胞在类风湿性关节炎(RA)中的作用及临床意义。**方法:**以 190 例 RA 患者为研究对象,根据 DAS28 评分,将 RA 患者按病情活动程度分为 DAS28 ≤ 3.2 两组(52 例)、3.2 < DAS28 ≤ 5.1 组(63 例)、DAS28 > 5.1 组(75 例),同时选取 60 例健康体检人群为对照组。采用流式细胞仪检测各组外周血 Th22 细胞水平;酶联免疫吸附法检测相关细胞因子(IL-22、IL-17)水平,分别比较各组外周血 Th22 细胞水平的差异,评价外周血 Th22 细胞水平对 RA 患者病情活动程度的预测价值。**结果:**与健康对照组比较,RA 组患者外周血 Th22 细胞及细胞因子 IL-22 水平显著升高(P < 0.05);不同活动程度 RA 组间外周血 Th22 细胞、IL-22 及 IL-17 水平比较,差异具有统计学意义(P < 0.05)。其中,DAS28 > 5.1 组上述指标水平最高,3.2 < DAS28 ≤ 5.1 组次之,DAS28 ≤ 3.2 两组最低,(P < 0.05)。RA 组患者外周血 Th22 细胞水平与 IL-22、IL-17 及 DAS28 评分呈显著正相关(r = 0.831, P = 0.000; r = 0.575, P = 0.025; r = 0.673, P = 0.014)。ROC 曲线分析显示,外周血 Th22 细胞水平曲线下面积为 0.874(95%CI 0.801~0.948),其最佳工作点为 8.5%,此时预测 RA 患者病情活动程度的敏感性和特异性分别为 84.38%和 81.48%。**结论:**外周血 Th22 细胞水平与 RA 患者的发生、发展密切相关,对于 RA 患者病情活动程度的预测,具有一定的应用价值。

【关键词】 Th22 细胞; 白介素-22; 白介素-17; 类风湿性关节炎

【文献标识码】A 【doi】10.3969/j.issn.1006-6233.2019.06.039

The Role and Clinical Value of Th22 Cells in Peripheral in Rheumatoid Arthritis

TANG Yan, et al

(Daping Hospital & Institute of Surgery Research, Army Medical University /

The Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

【Abstract】Objective: To study the role and clinical value of Th22 cells levels in peripheral blood in rheumatoid arthritis (RA). **Methods:** According to the DAS28 score, 190 patients with RA were divided into DAS28 ≤ 3.2 (52 cases), 3.2 < DAS28 ≤ 5.1 (63 cases), DAS28 > 5.1 (75 cases), 60 healthy subjects were selected as the control group. The levels of Th22 cells in peripheral blood of each group were detected by flow

cytometry. The levels of related cytokines (IL-22, IL-17) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The differences of Th22 cells in peripheral blood were compared. The predictive value of Th22 cell in peripheral blood was evaluated in the degree of activity in RA. **Results:** Compared with healthy controls, the levels of Th22 cells and cytokine IL-22 in peripheral blood in patients with RA were significantly increased ($P < 0.05$); The levels of Th22 cells, IL-22 and IL-17 in peripheral blood in different activity degrees of RA were statistically significant ($P < 0.05$). Among them, the level of the above indicators in the $DAS28 > 5.1$ group was the highest, the $3.2 < DAS28 \leq 5.1$ group was the second, and the $DAS28 \leq 3.2$ group was the lowest. The level of Th22 cells in peripheral blood in patients with RA group was positively correlated with IL-22, IL-17 and DAS28 ($r = 0.831, P = 0.000$; $r = 0.575, P = 0.025$; $r = 0.673, P = 0.014$). ROC curves analysis showed that the area under curve of Th22 cells was 0.874 (95%CI 0.801~0.948), and optimal operating point (OOP) was 8.5%, which had 84.38% sensitivity and 81.48% specificity in predicting the activity degree of RA patients. **Conclusions:** The level of Th22 cells in peripheral blood is closely related to the occurrence of development of RA patients, and there is certain application value for predicting the activity degree of RA.

【Key words】 Th22 cell; Interleukin-22; Interleukin-17; Rheumatoid arthritis

类风湿性关节炎(RA)是临床常见的一类自身免疫性疾病,主要以关节慢性炎症为主。有研究报道,RA 我国的发病率为 0.32%~0.36%,是人群致残的重要疾病之一^[1]。因此,明确 RA 发病机制,针对 RA 病情的准确评估与治疗,是提高该病治疗效果的关键。近年来,已有研究表明,RA 的发病与自身免疫功能紊乱密切相关,不同类型的 CD4+T 细胞亚群在 RA 的发生、发展过程中扮演了重要作用^[2]。其中,Th17 细胞通过分泌 IL-6、IL-17 等细胞因子,促进炎症反应的过度活化,导致关节滑膜持续炎症,引起软骨和骨质的破坏,是引起 RA 发生、发展的重要原因^[3]。与 Th17 细胞同类型的 Th22 细胞,是一类新的 CD4+T 细胞亚群,其特异性分泌 IL-22,激活相应信号通路如 JAK-STAT 信号通路,参与了多种疾病如自身免疫学疾病及恶性肿瘤的发病过程^[4]。然而,在 RA 患者体内 Th22 细胞及相关细胞因子 IL-22 与其疾病活动程度的相关性如何,目前尚未阐明。本研究通过流式细胞术检测 RA 患者外周血 Th22 细胞水平,通过 ELISA 检测相关细胞因子的水平,评估其与疾病发生、发展的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象:选取 2014 年 5 月至 2018 年 5 月于第三军医大学大坪医院风湿免疫科就诊住院的 RA 患者 190 例作为研究对象,其中男 75 例,女 115 例,年龄 34 岁~75 岁,平均年龄(57.4±11.7)岁,所有患者均符合 RA 诊断与治疗指南。排除标准:合并恶性肿瘤、严重感染的患者;存在其他自身免疫性疾病和免疫缺陷的患者。根据 RA 患者的临床表现及相关检验结果,计算 DAS28 评分,按分值高低分为三组,其中 $DAS28 \leq 3.2$ 两组(病情缓解)52 例; $3.2 < DAS28 \leq 5.1$ 组(疾病活动)63 例; $DAS28 > 5.1$ 组(疾病高度活动)75 例。同

时选取 60 例健康体检人群为对照组。健康对照组和 RA 组间在性别、年龄等方面无统计学差异($P > 0.05$)。该研究获得了第三军医大学大坪医院伦理委员会的批准并征得了患者书面知情同意。

1.2 主要设备及试剂:主要设备:流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司);主要试剂:RPMI1640 细胞培养液、胎牛血清(美国 Hyclone 公司);佛波酯、莫能霉素及离子霉素(美国 Sigma 公司);淋巴细胞分离液、细胞固定液及细胞破膜剂(美国 GE 公司);单克隆抗体(CD4 和 IL-22)(美国 Invitrogen 公司);IL-22 和 IL-17 酶联免疫试剂盒(中国博士德公司)。

1.3 方法

1.3.1 外周血 Th22 细胞水平检测:制备样本,抽取 RA 组患者及健康对照组空腹静脉血 4mL,经肝素抗凝后,充分肝素抗凝后,提取单核细胞。在无菌操作台中,将上述单核细胞接种于培养板,培养板中含 RPMI-1640 培养基,同时加入抗菌素(佛波酯,剂量 30μL,浓度 1μg/mL),培养箱中孵育 5h。收集上述细胞,加入抗人 CD4 单克隆抗体 10μL,震荡混匀,室温避光孵育 30min 后,加入 2mL 破膜液,静置离心后(1000g, 5min, 室温),吸去上清,加入 IL-22 单克隆抗体 10μL,震荡混匀后,加入多聚甲醛固定,待上机检测。

1.3.2 外周血炎性细胞因子(IL-22、IL-17)的检测:取 RA 患者及健康对照组清晨空腹静脉血 4mL,离心后收集上清,采用 ELISA 法测定不同 RA 组间外周血 IL-22 和 IL-17 水平及健康对照组 IL-22 水平。

1.4 统计学分析:采用专业统计学软件(SPSS19.0)进行数据分析与处理。计量资料以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间(健康对照组与 RA 组)比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。采用 Spearman 相

关法分析外周血 Th22 细胞与 IL-22、IL-17 及 DAS28 评分的相关性。运用 Graphpad 软件做 ROC 曲线分析,计算外周血 Th22 细胞的 ROC 曲线下面积(AUC)、最佳工作点(OOP)、敏感性、特异性,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 健康对照组与 RA 组患者外周血 Th22 细胞及细胞因子 IL-22 水平:与健康对照组比较,RA 组患者外周血 Th22 细胞及细胞因子 IL-22 水平显著升高($P < 0.05$)。见表 1 及图 1。

表 1 健康对照组与 RA 组外周血 Th22 细胞及 IL-22 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Th22(%)	IL-22(ng/L)
健康对照组	60	1.4±0.3	15.6±5.7
RA 组	190	8.9±1.5*	47.2±13.2*

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$

表 2 不同 DAS28 评分组间 Th22 细胞及相关细胞因子水平的比较($\bar{x} \pm s, n(\%)$)

组别	例数	Th22(%)	IL-22(ng/L)	IL-17(ng/L)
DAS28≤3.2	52	7.4±0.5	34.2±6.2	12.1±5.4
3.2<DAS28≤5.1	63	8.2±0.4*	42.6±7.6*	20.3±7.6*
DAS28>5.1	75	9.4±0.7**	51.4±8.6**	31.1±7.4**

注:与 DAS28≤3.2 两组比较,* $P < 0.05$;与 3.2<DAS28≤5.1 组比较,# $P < 0.05$

2.3 RA 组外周血 Th22 细胞与相关细胞因子的相关性分析:RA 组患者外周血 Th22 细胞水平与 IL-22、IL-17 及 DAS28 评分呈显著正相关($r = 0.831, P = 0.000$; $r = 0.575, P = 0.025$; $r = 0.673, P = 0.014$);IL-22 与 IL-17、DAS28 评分呈显著正相关($r = 0.609, P = 0.021$; $r = 0.696, P = 0.011$);IL-17 与 DAS28 呈显著正相关($r = 0.590, P = 0.023$)。

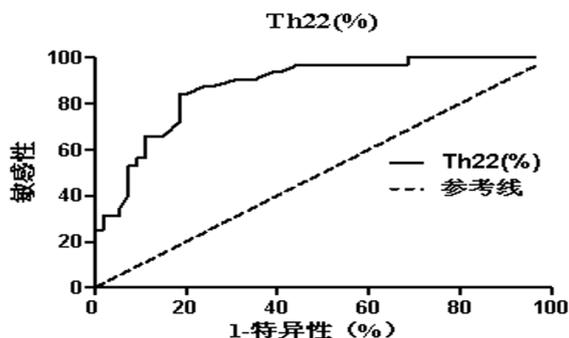


图 2 RA 组患者外周血 Th22 细胞指标的 ROC 曲线

2.4 外周血 Th22 细胞水平对 RA 患者疾病活动程度

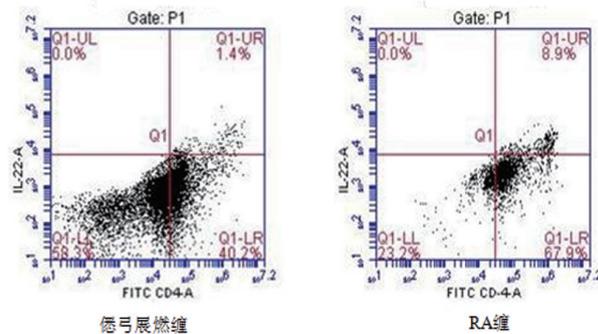


图 1 健康对照组与 RA 组外周血 Th22 细胞水平比较

2.2 不同 DAS28 评分组间 Th22 细胞及相关细胞因子水平的比较:不同 DAS28 评分间外周血 Th22 细胞、IL-22 及 IL-17 水平比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。其中,DAS28>5.1 时外周血 Th22 细胞、IL-22 及 IL-17 水平明显高于 3.2<DAS28≤5.1 和 DAS28≤3.2;而 3.2<DAS28≤5.1 上述指标显著高于 DAS28≤3.2, ($P < 0.05$),见表 2。

预测的 ROC 曲线分析:通过以外周血 Th22 细胞水平来评估 RA 患者病情活动程度,绘制 ROC 曲线。其结果显示,外周血 Th22 细胞水平的曲线下面积(AUC)为 0.874(95%CI 0.801~0.948),其最佳工作点(OOP)分别为 8.5%,提示外周血 Th22 细胞水平>8.5%,此时预测 RA 患者病情活动程度的精确率较高(敏感性为 84.38%和特异性为 81.48%),见图 2。

3 讨论

RA 是一类自身免疫功能异常引起的慢性炎症性自身免疫性疾病,其具体发病机制尚不完全清楚。目前,对于 RA 病情活动程度,临床常采用 DAS28 评分对其进行评估,但该方法往往存在一定的滞后性,无法提前进行评估。传统的炎症指标如 C 反应蛋白、白细胞介素-6 等,对于 RA 病情活动程度的评估,有一定的参考价值,但特异性偏低^[5]。因此,探寻特异性指标,准确预测 RA 患者病情活动程度,对于提高 RA 患者治疗效果及预后,具有重要的临床意义。

最近研究表明,机体免疫功能的异常,其中 CD4+T 细胞亚群失衡与 RA 的发病密切相关^[6]。已有研究表

明,机体通过固有免疫,激活 Toll 样受体 2,进而促进外周血单核细胞分泌相关细胞因子(IL-12、IL-1 β 、TNF- α),聚集于关节部位,在局部形成炎症反应,发挥免疫应答作用^[7]。除了固有免疫参与 RA 的发病以外,有研究显示,IL-17 是一种促进中性粒细胞活化的重要细胞因子,RA 患者体内 IL-17 水平明显升高,同时 IL-17 与 RA 活动程度呈正相关,而 IL-17 是 Th17 细胞特异性分泌的细胞因子,提示 Th17 细胞是介导 RA 发生、发展的重要因素^[8]。除类风湿性关节炎外,研究显示,Th17 细胞及相关细胞因子 IL-17 还与其他自身免疫性疾病如银屑病、系统性红斑狼疮等的发病机制密切相关^[9]。而 Th22 细胞是一类与 Th17 细胞作用类似的 CD4+ 淋巴细胞亚群,主要分泌 IL-22,发挥促进炎症的作用。有研究显示,外周血 Th22 细胞除了特异性分泌 IL-22 以外,还可巨噬细胞分泌 IL-6 及 TNF- α 等,在自身免疫性疾病及恶性肿瘤患者中明显升高,并且与病情的严重程度及预后相关^[10]。外周血 Th22 细胞是否参与了 RA 的发病,同时与病情活动程度如何,目前尚不清楚。在本研究中,与健康对照组比较,RA 患者外周血 Th22 细胞及 IL-22 水平明显升高,表明 RA 的发生可能与 Th22 细胞活化有关。进一步根据 RA 患者病情活动程度进行分组,其结果显示,RA 患者外周血 Th22 细胞及相关细胞因子 IL-22 及 IL-17 随着 DAS28 评分的增加,而显著增加。进一步对外周血 Th22 细胞做 ROC 曲线分析,分析其对 RA 患者病情活动程度的预测价值,其结果显示,ROC 曲线下面积较大,预测价值较高。Th22 细胞是炎症反应放大的重要环节,有研究显示,抑制 Th22 细胞分化,可显著降低体内炎症细胞因子水平,从而降低炎症反应^[11]。针对 RA 患者,外周血 Th22 细胞及相关细胞因子水平不仅与患者发病及评估病情活动程度有关,同时还可能为 RA 的治疗提供新的靶点。

综上所述,外周血 Th22 细胞水平可能在 RA 患者的发病及病情活动程度密切相关,但有关 Th22 在其中的免疫调节机制还有待于进一步研究。通过检测外周血 Th22 及相关细胞因子水平,其可能成为 RA 诊断及病情活动程度评估的有效指标。

【文章编号】1006-6233(2019)06-1030-04

肠内营养对早期急性胰腺炎患者血清脂肪因子的影响

李光辉, 吕飞飞

(内蒙古医科大学附属医院急诊外科, 内蒙古 呼和浩特 010000)

【参考文献】

- [1] Li Z, Yang Y, Dong C, et al. The prevalence of suicidal ideation and suicide attempt in patients with rheumatic diseases: a systematic review and meta-analysis [J]. Psychol Health Med, 2018, 23(9):1025~1036.
- [2] Rao DA, Gurish MF, Marshall JL, et al. Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis [J]. Nature, 2017, 542(7639):110~114.
- [3] 周心怡, 骆耐香. Th17 细胞及其相关细胞因子在类风湿性关节炎中的作用[J]. 国际免疫学杂志, 2018, 41(2):217~221.
- [4] Liu X, Yang J, Deng W, et al. The inflammatory cytokine IL-22 promotes murine gliomas via proliferation [J]. Exp Ther Med, 2017, 13(3):1087~1092.
- [5] Silvestre-Rangil J, Bagún L, Silvestre FJ, et al. Periodontal, salivary and IL-6 status in rheumatoid arthritis patients. A cross-sectional study [J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2017, 22(5):e595~e600.
- [6] 徐学静, 高硕, 胡伟, 等. 外周血 CD4/CD8 双阳性 T 细胞在类风湿性关节炎中的表达及意义[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(8):612~614.
- [7] Alsousi AA, Igwe OJ. Redox-active trace metal-induced release of high mobility group box 1 (HMGB1) and inflammatory cytokines in fibroblast-like synovial cells is Toll-like receptor 4 (TLR4) dependent [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2018, 1864(11):3847~3858.
- [8] 王玉辉. 类风湿性关节炎患者血清 Th17 细胞变化特征及其相关细胞因子 IL-17 表达研究[J]. 中国地方病防治杂志, 2018, 33(1):47~48.
- [9] Xiao JP, Wang DY, Wang XR, et al. Increased ratio of Th17 cells to SIGIRR+CD4+ T cells in peripheral blood of patients with SLE is associated with disease activity [J]. Biomed Rep, 2018, 9(4):339~344.
- [10] Robat-Jazi B, Hosseini M, Shaygannejad V, et al. High frequency of Tc22 and Th22 cells in myasthenia gravis patients and their significant reduction after thymectomy [J]. Neuroimmunomodulation, 2018, 25(2):80~88.
- [11] Ro ADB, Simpson MR, Ro TB, et al. Reduced Th22 cell proportion and prevention of atopic dermatitis in infants following maternal probiotic supplementation [J]. Clin Exp Allergy, 2017, 47(8):1014~1021.

【基金项目】内蒙古医科大学附属医院基金项目, (编号:NYFY YB014)

【通讯作者】吕飞飞