

论著·临床研究

类风湿关节炎患者血清白细胞介素-39 变化及临床意义*

桂 菲¹, 楚金申^{1△}, 潘 京¹, 薛国辉¹, 梅寒颖²

(九江市第一人民医院:1. 检验科;2. 风湿免疫科, 江西 九江 332001)

[摘要] **目的** 探究白细胞介素-39(IL-39)在类风湿关节炎(RA)患者中的变化及临床价值。**方法** 收集 2019 年 1 月至 2021 年 8 月该院收治的 RA 患者 46 例(RA 组),另选取同期在该院健康体检者 30 例作为对照组。采用酶联免疫吸附试验测定血清 IL-39 水平,同时检测 C 反应蛋白、类风湿因子、抗环瓜氨酸抗体、红细胞沉降率等炎症指标,分析 RA 患者血清 IL-39 水平的变化及与疾病活动度的关系。**结果** RA 组患者 IL-39、类风湿因子、抗环瓜氨酸抗体、C 反应蛋白、红细胞沉降率均明显高于对照组,且活动期患者血清 IL-39 水平明显高于稳定期患者,差异均有统计学意义($P<0.05$);IL-39 与疾病活动度评分 28 明显相关($r=0.675\ 7, P<0.05$)。**结论** IL-39 在 RA 患者中表达异常且与疾病活动度相关,具有一定的临床辅助诊断价值。

[关键词] 类风湿关节炎; 白细胞介素-39; C 反应蛋白; 类风湿因子; 抗环瓜氨酸抗体; 红细胞沉降率

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2023.21.014

中图法分类号:R593.22

文章编号:1009-5519(2023)21-3665-04

文献标识码:A

Changes of serum interleukin-39 concentration in patients with rheumatoid arthritis and its clinical significance*

GUI Fei¹, CHU Jinshen^{1△}, PAN Jing¹, XUE Guohui¹, MEI Hanying²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Rheumatology and Immunology, the First People's Hospital of Jiujiang, Jiujiang, Jiangxi 332001, China)

[Abstract] **Objective** To explore the changes and clinical value of interleukin-39(IL-39) in patients with rheumatoid arthritis(RA). **Methods** A total of 46 patients with RA admitted to this hospital from January 2019 to August 2021(RA group) were collected, and another 30 healthy patients in this hospital during the same period were selected as the control group. Serum IL-39 level was determined by ELISA, and inflammatory indexes such as C-reactive protein, rheumatoid factor, anti-cyclic citrulline antibody and erythrocyte sedimentation rate were detected. The changes of serum IL-39 in RA patients and its relationship with disease activity were analyzed. **Results** IL-39, rheumatoid factor, anti-cyclic citrulline peptide antibody, C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in RA group were significantly higher than those in the control group, and serum IL-39 level in active patients was significantly higher than that in stable patients, the differences were statistically significant($P<0.05$). IL-39 was significantly correlated with disease activity score 28($r=0.675\ 7, P<0.05$). **Conclusion** IL-39 expression is abnormal in RA patients and correlated with disease activity, which has a certain value in clinical auxiliary diagnosis.

[Key words] Rheumatoid arthritis; Interleukin-39; C-reactive protein; Rheumatoid factor; Anti-cyclic citrulline peptide antibody; Erythrocyte sedimentation rate

类风湿关节炎(RA)是一种常见的慢性多因素自身免疫性炎症疾病。其特点为持续性滑膜炎、全身性炎症和自身抗体异常表达。RA 发病率为 0.5%~1.0%,并以每年 5/10 000 的速度递增。持续发作的 RA 极易导致关节和肌腱损伤,以及心血管疾病和其他并发症,严重者甚至导致残疾和死亡,严重影响患者的生活质量,为患者带来极大的痛苦,因此,早期诊治

显得尤为关键^[1-2]。但至今其病因尚不清晰。目前,研究较为成熟的白细胞介素-12(IL-12)、IL-23、IL-27、IL-35 家族细胞因子在多种自身免疫性疾病中均起着重要作用,同时,还可作为包括 RA 在内的多种自身免疫性疾病的治疗靶点^[3-4]。IL-39 作为 IL-12 家族新成员,由 B 淋巴细胞分泌。已有研究表明,IL-39 参与介导了动物体内多种炎症反应,是一种重要的促炎性细胞因

* 基金项目:江西省卫生健康委员会科技计划项目支撑项目(202140262)。

作者简介:桂菲(1988—),硕士研究生,主管技师,主要从事临床检验诊断学研究。△ 通信作者, E-mail:chujinshen@126.com。

子^[5]。目前,IL-39 在 RA 患者中的表达变化的研究较少见。本研究通过检测 RA 患者血清 IL-39 水平,探讨了 IL-39 在 RA 患者中的变化及与疾病活动度的关系,以期为临床诊疗 RA 提供新的参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2021 年 8 月本院风湿免疫科收治的 RA 患者 46 例(RA 组),其中男 28 例,女 18 例;平均年龄(53.53±12.71)岁;符合 2010 年美国风湿病学会和欧洲抗风湿病联盟更新的分类标准,排除其他自身免疫性疾病、肿瘤、严重心血管疾病患者。依据疾病活动度评分 28(DAS28)分为活动期(19 例)和稳定期(27 例,DAS28≥2.6 分)。DAS28 是评估 RA 患者疾病活动度的常用方法,临床常用的为基于肿胀关节数、压痛关节数、红细胞沉降率(ESR)或 C 反应蛋白(CRP)值计算得出的 DAS28-3,是对患者疾病活动度的整体评价,得分越高表示疾病活动度越高。另选取同期健康体检者 30 例作为对照组,其中男 18 例,女 12 例;平均年龄(51.48±11.87)岁。2 组研究对象性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经本院伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 血液标本采集及处理 采集 2 组研究对象空腹静脉血,其中干燥管 2 管,枸橼酸钠 ESR 试验管 1 管。干燥管中的一管给予 3 500 r/min 离心 10 min 分离血清,并于-80℃冰箱保存,采用酶联免疫吸附

试验测定血清 IL-39 水平。人 IL-39 酶联免疫试剂盒购自广东恒远生物公司,所有步骤严格按试剂盒操作说明书执行。干燥管中的另一管用于检测 CRP、类风湿因子(RF)和抗环瓜氨酸抗体(CCP),枸橼酸钠 ESR 试验管用于测定 ESR。CRP、RF 采用美国贝克曼特定蛋白分析仪 IMMAGE800 原装配套检测系统进行测定,CCP 采用深圳亚辉龙 iflash3000 化学发光免疫分析仪原装配套检测系统测定。

1.2.2 观察指标 观察 2 组研究对象血清 IL-39 变化和炎症指标(包括 RF、CCP、CRP、ESR 等)。

1.3 统计学处理 应用 SPSS27.0 统计软件进行数据分析,符合正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以率或构成比表示,组间比较采用 χ^2 检验。相关性采用斯皮尔曼相关性分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组研究对象血清 IL-39、炎症指标比较 与对照组比较,RA 组患者 IL-39、RF、CCP、CRP、ESR 均明显增高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 不同分期患者血清 IL-39 水平比较 活动期患者血清 IL-39 水平[(41.00±6.77)pg/mL]明显高于稳定期[(24.84±5.15)pg/mL],差异有统计学意义($t=7.158,P<0.001$)。

2.3 血清 IL-39 水平与疾病活动度的相关性 血清 IL-39 水平与 DAS28 明显相关($r=0.6757,P<0.05$)。见图 1。

表 1 2 组研究对象血清 IL-39、炎症指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-39(pg/mL)	RF(IU/mL)	CCP(RU/mL)	CRP(mg/L)	ESR(mm/h)
RA 组	46	31.85±10.33	61.31±29.13	31.34±12.12	34.86±10.85	54.25±16.47
对照组	30	8.14±0.75	7.36±4.27	3.37±1.88	3.93±2.27	10.73±5.36
<i>t</i>	—	12.945	10.036	12.483	15.275	13.757
<i>P</i>	—	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:—表示无此项。

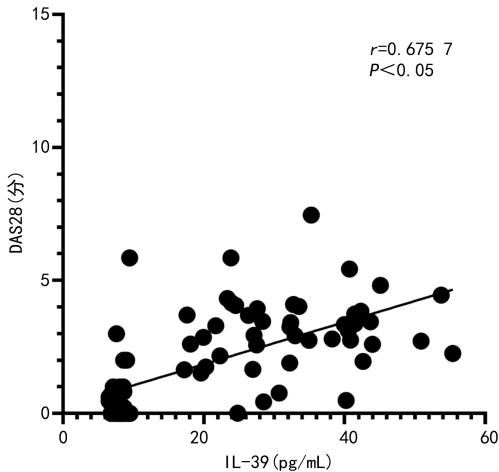


图 1 血清 IL-39 水平与疾病活动度的相关性

3 讨论

RA 是一种病因不明的多因子、慢性炎症过程相关的全身自身免疫性疾病,可损伤关节和关节外器官,包括心脏、肾脏、肺、消化系统、眼睛、皮肤和神经系统。RA 发病机制复杂,与体内多种免疫细胞及细胞因子均相关,但其病理生理机制尚未完全阐明^[6-7]。且易与其他类型关节炎混淆,如骨关节炎、假性关节炎、细菌和病毒感染引起的炎症性关节炎等。RA 的活动度评价目前主要依赖基于机体临床症状的 DAS28,存在较大的主观性。虽然近年来将炎症指标 ESR、CRP 等血清标志物引入了活动度评分中,但这两项指标对 RA 并无特异性,且易受感染等因素的影响^[8]。因此,找寻其他更适合评价 AS 疾病活动度的血清标志物显得尤为重要。

众所周知,炎症介质在驱动滑膜细胞活动中起着关键作用,进而导致关节炎症和关节破坏。越来越多的证据表明,肿瘤坏死因子 α 、IL-6、IL-12 等多种促炎性细胞因子水平在 RA 患者的血清和滑膜液中明显增高。IL-12 家族细胞因子是一组独特的异二聚体细胞因子,包括 IL-12、IL-23、IL-27,以及 IL-35 和最近的 IL-39。IL-12 家族参与体内多种炎症反应,在多种自身免疫性疾病中均起着重要作用。目前,研究较为成熟的 IL-12 家族细胞因子有 IL-12、IL-23、IL-27 和 IL-35。其中 IL-12、IL-23 和 IL-27 主要由激活的抗原提呈细胞如树突状细胞和巨噬细胞产生。IL-12 是该家族最早发现的炎性细胞因子,主要通过促进辅助性 T 淋巴细胞 1 分泌 γ 干扰素激活巨噬细胞发挥抗细胞内病原体感染及抗肿瘤作用;IL-23 在维持辅助性 T 淋巴细胞 17 增殖分化并促进其分泌 IL-17 参与慢性炎症及自身免疫性疾病进程中均发挥着重要作用;IL-27 可诱导调节性 T 淋巴细胞分泌 IL-10,具有促炎及抗炎双重作用^[9]。IL-35 作为一种新型免疫抑制细胞因子,主要由叉头状螺旋转录因子 3 的调节性 T 淋巴细胞产生。也有研究表明,某些调节性 B 淋巴细胞可产生 IL-35,发挥负向免疫调节作用,诱导免疫耐受^[10]。有研究发现,IL-12 家族成员(IL-12、IL-23、IL-27 和 IL-35)在多种自身免疫性疾病中均起着重要作用,还可作为多种自身免疫性疾病的治疗靶点。如优特克单抗作为一种针对 IL-12/IL-23p40 的治疗药物,已被批准用于治疗银屑病和银屑病关节炎。另外,至少有 10 种针对 IL-12、IL-23 或 IL-23 相关信号通路的治疗药物正在 17 种人类免疫介导的疾病中接受临床检查。IL-27、IL-35 也均为具有免疫抑制活性的细胞因子,对免疫反应具有惊人的不同影响,也可利用其可行的治疗靶点治疗人类炎症性疾病。因此,针对 IL-12 家族成员的药物研究是治疗多种自身免疫性疾病的有效方法。

IL-12 家族细胞因子是 α/β 异二聚体,由一个 α 亚基(IL-23p19、IL-27p28、IL-12p35)和一个 β 链(IL-12p40、EBI3)组成。虽然目前 IL-12 家族中有 4 个已知的成员,但预测的组合为 6 个。因此,额外的配对,如 IL-23p19/EBI3 是可能的。已有研究通过在体外结合不同的 α 亚基和 β 链蛋白,从而形成一种新的稳定的 p19/ebi3 异质二聚体,并命名为 IL-39,并已证明其在体内外具有生物活性。IL-39 作为 IL-12 家族的新成员,与 IL-35 共享 EBI3 亚基,由 B 淋巴细胞产生及分泌体外感染 EB 病毒的人类 B 淋巴瘤母细胞系高表达 EBI3 蛋白。且已有研究表明,无论在体内还是体外,激活的 B 淋巴细胞均能产生及分泌 IL-39。已有研究发现,与其他 IL-12 家族细胞因子比较,介导 MRL/LPR 小鼠狼疮样疾病的活化 B 淋巴细胞分泌 IL-39(IL-23p19 和 EBI3)水平明显升高。为进一步研究 IL-39 在狼疮样疾病中的潜在作用,有研究从狼疮

小鼠体内分离并筛选出 GL7+ 细胞,并利用相应的短夹 RNA 减少激活的 B 淋巴细胞中 IL-23p19、EBI3、IL-12p35、IL-12p40 蛋白表达构建相应的缺陷型。当过继转移 IL-27p28、IL-12p35、IL-12p40 缺陷型 GL7+B 淋巴细胞后,小鼠脾脏显著变大且伴随蛋白尿出现,而当过继转移 IL-23p19 或 EBI3 缺陷型 GL7+B 淋巴细胞后,小鼠脾脏明显变小且蛋白尿症状减轻。提示 IL-39 可能是一种重要的促炎性细胞因子,可参与介导动物体内多种炎症反应,同时,抗 IL-39 多克隆抗体还可改善狼疮样 MRL/LPR 小鼠自身免疫症状^[11]。提示 IL-39 可作为系统性红斑狼疮潜在的治疗靶点。

IL-39 作为一种新发现的 IL-12 家族成员,已发现可参与介导动物体内的多种炎症反应,且与 CRP、cTNT、proBNP 等炎性细胞因子呈正相关。有研究表明,其他免疫细胞,如树突状细胞和巨噬细胞均可表达 IL-39 RNA^[12]。而 RA 的免疫功能紊乱离不开相关免疫细胞的异常。固有免疫细胞(树突状细胞、巨噬细胞、NK 细胞、粒细胞等)和适应性免疫系统细胞(B、T 淋巴细胞)均与 RA 的疾病进展密切相关,在 RA 的免疫耐受异常、免疫应答调节机制中起到非常重要的作用^[13]。提示 IL-39 或在 RA 患者中发挥一定的生物学效应,本研究也证实了这一点,与对照组比较,RA 患者血清 IL-39 水平明显升高。此外,活动期 RA 患者血清 IL-39 水平明显高于稳定期,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。提示 IL-39 在 RA 发病过程中发挥了一定的作用,并有助于疾病活动度的评价,与 WANG 等^[12]在系统性红斑狼疮中的研究结果一致。另有研究表明,IL-39 水平在急性冠状动脉综合征患者中明显升高,且与超敏 CRP 呈正相关,间接表明 IL-39 介导了人体内多种炎症反应,或可作为一种新型的血清标志物。

B 淋巴细胞在 RA 的发病机制中起着多方面的作用,其可作为抗原递呈细胞活化 T 淋巴细胞、参与异位淋巴组织的生成和调节机体免疫反应。RA 患者的许多细胞均可在滑膜处产生细胞因子,如中性粒细胞分泌肿瘤坏死因子家族 B 淋巴细胞活化因子,可影响 B 淋巴细胞的存活、聚集、机化和转运。同时,肿瘤坏死因子家族 B 淋巴细胞活化因子可促进 B 淋巴细胞表达 IL-39,反之,IL-39 又可诱导中性粒细胞分化、发育。说明 IL-39 在 RA 的疾病过程中发挥着重要的促炎作用,与 CRP、ESR 等炎症指标比较,具有更高的特异性。同时,IL-39 与 RA 的疾病活动度密切相关,或可作为 RA 的活动度监测指标。

综上所述,本研究初步证实了 RA 患者血清 IL-39 水平升高,或可作为评价 RA 活动度的新型血清标志物,对 RA 患者具有一定的辅助诊断价值。但目前关于 IL-39 的研究尚处于初级阶段,许多问题尚未解决。除激活 B 淋巴细胞外,IL-39 与其他细胞的

关系及相互作用机制亟待进一步研究。同时,本研究具有一定的局限性:(1)研究对象来源较局限,研究结果可能有偏差;(2)样本量偏少,还需长期大样本临床研究进一步证实上述结论。

参考文献

[1] LIU E,PERL A. Pathogenesis and treatment of autoimmune rheumatic diseases[J]. *Curr Opin Rheumatol*,2019,31(3):307-315.

[2] WU D,LUO Y,LI T,et al. Systemic complications of rheumatoid arthritis:Focus on pathogenesis and treatment [J]. *Front Immunol*, 2022,13:1051082.

[3] GLASSMAN C R,MATHIHARAN Y K,JUDE K M,et al. Structural basis for IL-12 and IL-23 receptor sharing reveals a gateway for shaping actions on T versus NK cells[J]. *Cell*,2021,184(4):983-999.

[4] ISSARANGGUN NA AYUTHAYA B,EVERTS V,PAVASANT P. The immunopathogenic and immunomodulatory effects of interleukin-12 in periodontal disease[J]. *Eur J Oral Sci*,2018,126(2):75-83.

[5] WANG X,WEI Y,XIAO H,et al. A novel IL-23p19/Ebi3(IL-39) cytokine mediates inflammation in lupus-like mice[J]. *Eur J Immunol*, 2016,46(6):1343-1350.

[6] WU F,GAO J,KANG J,et al. B cells in rheumatoid arthritis: Pathogenic mechanisms and treatment prospects[J]. *Front Immunol*,2021,12:750753.

[7] DING J T,HONG F F,YANG S L. Roles of autophagy in rheumatoid arthritis[J]. *Clin Exp Rheumatol*,2022,40(11):2179-2187.

[8] 张亚楠. 类风湿因子、CRP 及免疫球蛋白检测在类风湿关节炎诊断中的应用[J]. *中国冶金工业医学杂志*,2022,39(6):702-703.

[9] NATALE M A,MINNING T,ALBAREDA M C,et al. Immune exhaustion in chronic Chagas disease:Pro-inflammatory and immunomodulatory action of IL-27 in vitro [J]. *PLoS Negl Trop Dis*,2021,15(6):e0009473.

[10] DING J T,HONG F F,YANG S L. Roles of autophagy in rheumatoid arthritis[J]. *Clin Exp Rheumatol*,2022,40(11):2179-2187.

[11] WANG X,ZHANG Y,WANG Z,et al. Anti IL 39(IL 23p19/Ebi3) polyclonal antibodies ameliorate autoimmune symptoms in lupus like mice [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17 (1): 1660-1666.

[12] WANG X,LIU X,ZHANG Y,et al. Interleukin (IL)-39[IL-23p19/Epstein-Barr virus-induced 3 (Ebi3)] induces differentiation/expansion of neutrophils in lupus-prone mice[J]. *Clin Exp Immunol*,2016,186(2):144-156.

[13] 杨传刚,王冬. 免疫细胞参与类风湿关节炎发病的研究进展[J]. *国际老年医学杂志*,2020,41(1):62-64.

(收稿日期:2023-02-20 修回日期:2023-10-11)

(上接第 3664 页)

[14] NEGASH M,TSEGAYE A,MEDHIN A. Diagnostic predictive value of platelet indices for discriminating hypo productive versus immune thrombocytopenia purpura in patients attending a tertiary care teaching hospital in Addis Ababa,Ethiopia[J]. *BMC Hematol*,2016,16(1):18.

[15] KHAN M I,ULLAH I. Diagnostic importance of mean platelet volume, platelet distribution width and platelet large cell ratio as screening tool in immune thrombocytopenia[J]. *Porto Biomed J*,2020,5(6):e904.

[16] MCDONNELL A,BRIDE K L,LIM D,et al. Utility of the immature platelet fraction in pediatric immune thrombocytopenia: Differentiating from bone marrow failure and predicting bleeding risk[J]. *Pediatr Blood Cancer*,2018,

65(2):e26812.

[17] PEREIRA K N,DE CARVALHO J A M, PANIZ C,et al. Diagnostic characteristics of immature platelet fraction for the assessment of immune thrombocytopenia [J]. *Thromb Res*,2021,202:125-127.

[18] CYBULSKA A,MEINTKER L,RINGWALD J,et al. Measurements of immature platelets with haematologyanalysers are of limited value to separate immune thrombocytopenia from bone marrow failure[J]. *Br J Haematol*,2017,177(4):612-619.

[19] GRACE R,LAMBERT M. An update on pediatric immune thrombocytopenia (ITP): Differentiating primary ITP,IPD,and PID[J]. *Blood*, 2022,140(6):542-555.

(收稿日期:2023-02-03 修回日期:2023-08-28)