

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.001605

银屑病患者血液嗜酸性粒细胞中 IL-18、IL-18 结合蛋白和 IL-18 受体的表达变化及其相关性研究

黄义侠, 张慧云, 王 维, 杨蕊铭, 何韶衡

(锦州医科大学附属第一医院变态反应与临床免疫研究中心, 锦州 121001)

【摘要】目的:检测银屑病(psoriasis)患者血液嗜酸性粒细胞群中白介素-18(interleukin-18, IL-18)、IL-18 结合蛋白(binding protein, BP)和 IL-18 受体(receptor, R)的表达变化,并分析其相关性。**方法:**收集 17 例银屑病患者和 18 例健康人血液,用蒿草花粉、尘螨和梧桐花粉粗提液刺激,流式细胞术检测嗜酸性粒细胞富集群中 IL-18、IL-18BP 及 IL-18R 的表达,SPSS 分析其相关性。**结果:**静息状态下,银屑病患者血液嗜酸性粒细胞富集群中 IL-18⁺、IL-18R⁺ 细胞比例较正常人分别升高了 3.7 倍和 4.1 倍($Z=-3.070, P=0.002$; $Z=-4.753, P=0.000$),而 IL-18BP⁺ 细胞降低了 87%($Z=-4.556, P=0.000$);尘螨过敏原刺激银屑病患者血液后,嗜酸性粒细胞富集群中 IL-18⁺ 细胞比例升高约 1.5 倍($Z=-3.548, P=0.000$);梧桐花粉刺激银屑病患者血液后,嗜酸性粒细胞富集群 IL-18BP⁺ 细胞升高约 1.1 倍($Z=-3.445, P=0.000$)。此外,静息状态下银屑病患者血液嗜酸性粒细胞群中 IL-18BP⁺ 细胞比例和 IL-18⁺ 细胞比例均呈高度相关, Spearman 相关系数分别为 $r=0.587, P=0.013$ 。**结论:**上述结果提示嗜酸性粒细胞表达的 IL-18、IL-18BP 和 IL-18R 极可能参与银屑病。抗 IL-18 制剂和 IL-18R 阻断剂可能是治疗银屑病的潜在靶点。

【关键词】银屑病;嗜酸性粒细胞;白介素-18;白介素-18 结合蛋白;白介素-18 受体

【中图分类号】R392.8

【文献标志码】A

【收稿日期】2017-05-27

Expressions and correlations of IL-18, IL-18BP and IL-18R in eosinophil-enriched blood cells from psoriasis patients

Huang Yixia, Zhang Huiyun, Wang Wei, Yang Ruiming, He Shaoheng

(Allergy and Clinical Immunology Research Centre,

The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the expressions of interleukin-18 (IL-18), interleukin 18 binding protein (IL-18BP) and interleukin 18 receptor (IL-18R) in eosinophil-enriched cells from patients with psoriasis, and the correlation among them. **Methods:** Blood samples from psoriasis patients and healthy controls (HC) were collected and incubated with the extracts of Artemisia pollen, dust mite, and Platanus pollen. Expressions of IL-18, IL-18BP and IL-18R in blood eosinophils were detected by flow cytometry. SPSS software was employed to analyze the correlation among them. **Results:** Levels of IL-18⁺ and IL-18R⁺ blood eosinophils in psoriasis patients were increased up to 3.7 ($Z=-3.070, P=0.002$) and 4.1 folds ($Z=-4.753, P=0.000$), respectively. While IL-18 BP⁺ eosinophil was reduced by 87% compared with HC when cultured with medium only ($Z=-4.556, P=0.000$). Dust mite extracts induced approximately 1.5-fold increase in IL-18⁺ eosinophils of psoriasis patients ($Z=-3.548, P=0.000$), and Platanus pollen extracts induced approximately 1.1-fold elevation in IL-18BP⁺ expression ($Z=-3.445, P=0.000$). In addition, the proportions of IL-18BP⁺ and IL-18⁺ eosinophils in psoriasis patients were highly correlated ($r=0.587, P=0.013$). **Conclusion:** Increased expressions of IL-18, IL-18R, and decreased expression of IL-18BP in eosinophil-enriched blood cells from psoriasis patients may suggest that IL-18, IL-18R and IL-18BP expressed in eosinophils may be involved in the pathogenesis of psoriasis. Anti-IL-18 agents or IL-18R blockers might become potential targets for psoriasis treatment.

【Key words】 psoriasis; eosinophil; interleukin-18; interleukin 18 binding protein; interleukin 18 receptor

作者介绍: 黄义侠, Email: 18840186827@163.com,

研究方向: 免疫学相关的疾病研究。

通信作者: 何韶衡, Email: shoahenghe@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81471592、81472016)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180614.1319.002.html>

(2018-06-14)

银屑病(psoriasis)是由遗传和环境因素共同作用而产生的慢性全身性炎症性皮肤病^[1]。银屑病不仅给患者带来皮肤损害和严重并发症,还可引起患者社会心理障碍,严重影响患者的生活质量^[2]。目前的研究证明,银屑病是以 Th1 反应为主的一种免疫失衡性疾病^[3]。研究报道显示,银屑病患者外周血嗜酸性粒细胞增多,并与银屑病的严重程度相关^[4],提示嗜酸性粒细胞可能参与银屑病发病。血液嗜酸性粒细胞可在多种趋化因子、黏附分子和细胞因子作用下募集至外周组织,进而发挥其生物学作用^[5]。此外,银屑病患者受损的局部皮肤可见大量嗜酸性粒细胞浸润^[6],进一步提示嗜酸性粒细胞参与银屑病的发病过程。

白介素-18(interleukin-18, IL-18)是 IL-1 家族的细胞因子,具有多种生物学功能。研究发现 IL-18 可通过诱导干扰素(interferon, IFN)- γ 的产生而发挥强烈的促炎作用^[7-8],此外,银屑病患者血浆 IL-18 水平升高^[9-10],且其水平与受损皮肤的面积高度相关^[10],提示 IL-18 可能参与银屑病。IL-18 通过与其相应的受体 IL-18 受体(receptor, R)结合发挥其生物学作用^[11]。IL-18 结合蛋白(binding protein, BP)是 IL-18 的天然抑制剂,可中和 IL-18 而抑制 IL-18 与 IL-18R 结合^[12],进而降低 IL-18R 表达的效应细胞的功能^[13]。有报道称体内的 IL-18 水平很大程度上取决于 IL-18BP 的水平^[14],很多疾病的发生发展都与这两者表达失衡有关^[14]。

螨虫和植物花粉如艾蒿花粉、梧桐花粉是室内外过敏原的重要来源,通过与过敏反应效应细胞如肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面的 IgE-Fc ϵ R I 复合物发生反应可诱导过敏性鼻炎、过敏性哮喘和过敏性皮肤病等过敏性疾病的发生^[15]。研究发现银屑病患者斑贴试验的阳性率一般为 20%~25%^[16-19],甚至高达 68%^[20],提示过敏原可能参与银屑病发病。

然而,目前人们对银屑病患者体内 IL-18 和 IL-18BP 表达是否失衡,尤其是血液嗜酸性粒细胞 IL-18、IL-18BP 和 IL-18R 表达情况及过敏原刺激前后其表达变化仍知之甚少。因此,本研究用流式细胞仪检测银屑病患者外周血静息状态下和过敏原刺激前后嗜酸性粒细胞表达 IL-18、IL-18BP 和 IL-18R 的情况,希望可以为以后银屑病的诊断及治疗

提供新的研究方向。

1 材料与方法

1.1 试验试剂和仪器

购自 Biolegend(San Diego, USA)的试剂:PercP/Cy5.5 耦合的鼠抗人 CCR3、Zombie Aqua Fixable Viability kit(死细胞去除染料)、BV510 耦合的驴抗兔 IgG 抗体、FcR 阻断剂、红细胞裂解液、BFA;购自 R&D Systems(Minneapolis, USA)的试剂:PE 耦合的抗人 IL-18、APC 耦合的抗人 IL-18R;购自 Novus(Abingdon, UK)兔抗人 IL-18BP;购自北京新华联协和药业有限责任公司(中国)的试剂:蒿草花粉提取液、屋尘螨提取液和梧桐花粉提取液;购自 BD Biosciences Pharmingen(Beldford, MA, USA)的试剂:Cytofix/CytopermTM 固定/透膜试剂盒;购自 ALK-ABELLO(Denmark)的试剂:皮肤点刺试验过敏原。其他常用的化学试剂如盐和缓冲液均为分析级纯度。其他仪器包括低温高速离心机(Thermo Scientific, USA)、水浴锅(精宏中国)和 FACSVerse 流式细胞仪(BD Biosciences, USA)。

表 1 研究对象的一般资料

组别	例数	性别		平均年龄(岁)
		男	女	
健康人组	18	9	9	47.000 $\pm$ 12.769
银屑病患者组	17	9	8	48.000 $\pm$ 13.960
<i>t</i> 值		-		0.221
<i>P</i> 值		1.000		0.826

1.2 研究对象

本研究募集了 17 例单纯性银屑病患者和 18 位健康志愿者,共 35 位无过敏史的研究对象。银屑病的诊断符合 Raychaudhuri 等^[21]提出的诊断标准,并排除服用影响免疫反应药物者。本研究获得了锦州医科大学附属第一医院伦理委员会的批准,并与每位志愿者签订了知情同意书。

1.3 试验方法

1.3.1 收集血液样本 募集急性发作期入院的银屑病患者和门诊正常人(门诊志愿者中皮肤点刺试验阴性的志愿者)为本研究的研究对象,每位志愿者均采集 2 mL 外周静脉血于含 EDTA 抗凝剂的采血管中。

1.3.2 流式细胞术分析血液嗜酸性粒细胞富集群中 IL-18、IL-18BP、IL-18R 表达情况 全血加入 BFA 与过敏原粗提液,37 $^{\circ}$ C 水浴震荡孵育 1 h;1 400 r/min 离心 6 min 后弃去上清,加入死细胞去除染料与 FcR 阻断剂,均匀混合后,避光孵育 15 min,然后加入抗 CCR3 和 IL-18R 抗体,避光孵育 15 min 后裂解红细胞,离心后用固定透膜液固定细胞,然后

加入抗 IL-18 和抗 IL-18BP 抗体孵育,透膜洗液清洗后加入 BV510 耦合的驴抗兔 IgG 抗体,最后上流式细胞仪检测嗜酸性粒细胞富集中 IL-18、IL-18BP 和 IL-18R 的表达。

1.4 统计方法

所有数据均采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,非正态分布计量资料数据以中位数(上四分位间距)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,计数资料以构成比表示。健康人组和银屑病患者组年龄和性别分别采用两独立样本 t 检验和 Fisher 确切概率法;相关性分析采用 Spearman 相关性分析;健康人静息组同银屑病患者静息组比较采用 Wilcoxon 秩和检验;银屑病患者静息组和银屑病患者过敏原刺激组各组间每两组均采用两独立样本的 Wilcoxon 秩和检验,用 Bonferroni 法调整 α 水准,检验水准调整为 $\alpha' = 0.008$, $P \leq \alpha'$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 屋尘螨刺激银屑病患者血液前后 IL-18⁺嗜酸性粒细胞比例升高

为了探讨 IL-18 可能的细胞来源,本实验用流式细胞术检测银屑病患者和正常人群血液中嗜酸性粒细胞富集中 IL-18 的表达,设门方法如图 1 所示。结果显示,与正常人群比

较,银屑病患者嗜酸性粒细胞富集中 IL-18⁺ 细胞的比例升高达 3.7 倍($Z = -3.070$, $P = 0.002$, 图 2、图 3, 表 2);银屑病患者血液经尘螨过敏原刺激后,嗜酸性粒细胞富集中 IL-18⁺ 细胞的比例升高约 1.5 倍($Z = -3.548$, $P = 0.000$, 图 2、图 3, 表 3)。

表 2 正常人和银屑病患者血液嗜酸性粒细胞中

IL-18 表达的百分比				
组别	例数 (n)	IL-18 [$M(P_{25}, P_{75})$]	Z 值	P 值
健康人组	18	2.145 (0.722, 7.180)	-3.07	0.002
银屑病患者组	17	10.10 (6.25, 13.50)		

注: $P < 0.05$ 具有统计学差异

2.2 银屑病患者 IL-18R⁺嗜酸性粒细胞比例升高

流式细胞术检测银屑病患者血液经过敏原刺激前后嗜酸性粒细胞富集中 IL-18R 的表达,结果如图 4 和图 5 所示。与正常人群比较,银屑病患者血液嗜酸性粒细胞富集中 IL-18R⁺ 细胞比例升高 4.1 倍($Z = -4.753$, $P = 0.000$, 图 4、图 5, 表 4)。

2.3 梧桐花粉过敏原诱导银屑病患者嗜酸性粒细胞富集中 IL-18BP⁺细胞比例下降

流式细胞术检测银屑病患者和正常人群过敏原刺激前后血液嗜酸性粒细胞富集中 IL-18BP 的表达结果显示,与正常人群比较,银屑病患者血液嗜酸性粒细胞富集中 IL-

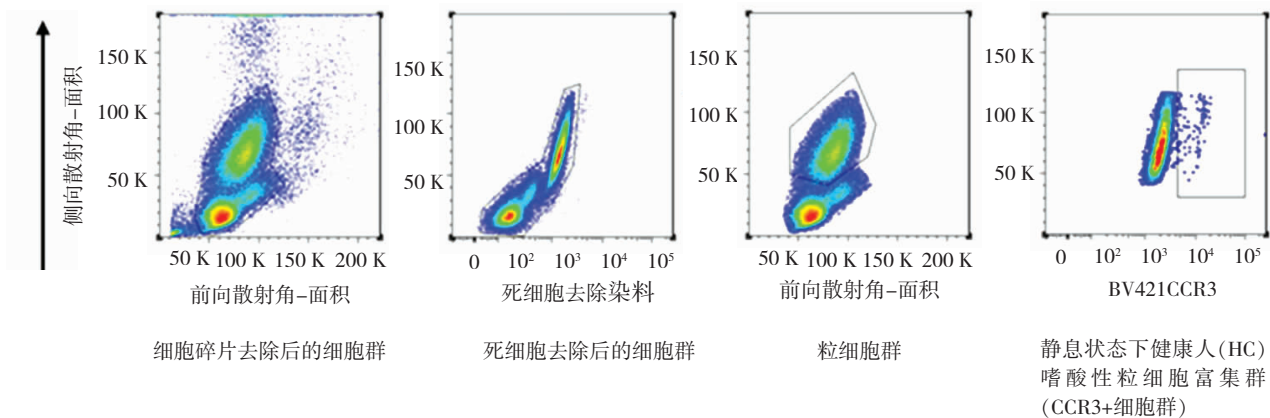


图 1 嗜酸性粒细胞富集的设门方法

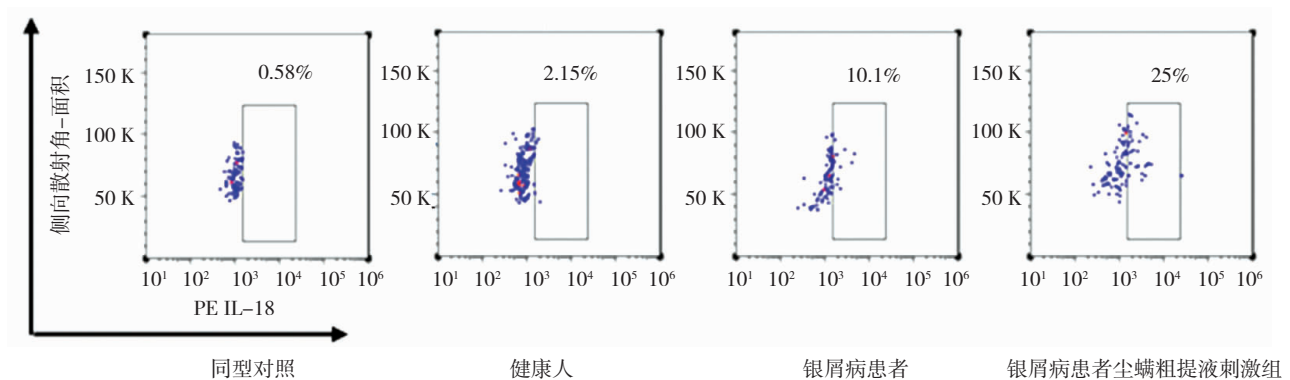


图 2 人外周血嗜酸性粒细胞富集中 IL-18 表达水平的流式细胞仪代表图

IL-18BP⁺ 细胞比例降低 87% ($Z=-4.556, P=0.000$, 图 6、图 7, 表 5)。银屑病患者血液经梧桐花粉过敏原刺激后, 嗜酸性粒细胞富集群中 IL-18BP⁺ 细胞的比例升高约 1.1 倍 ($Z=-3.445, P=0.000$, 图 6、图 7, 表 6), 但仍明显低于正常人的水平。

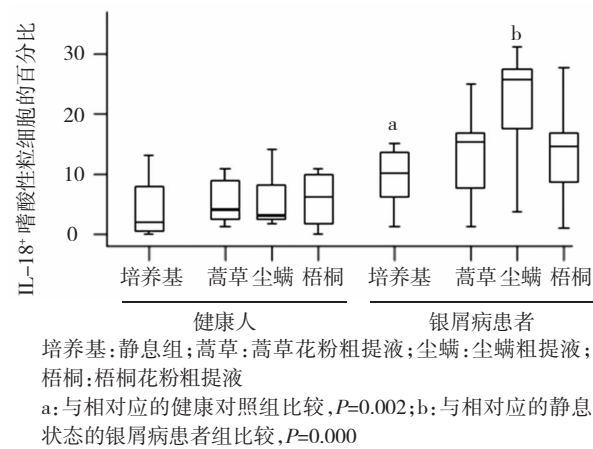


图 3 人外周血嗜酸性粒细胞富集群 IL-18⁺ 细胞的百分比

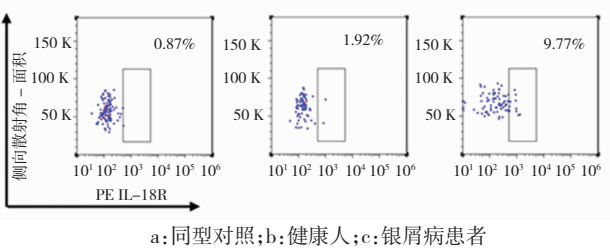
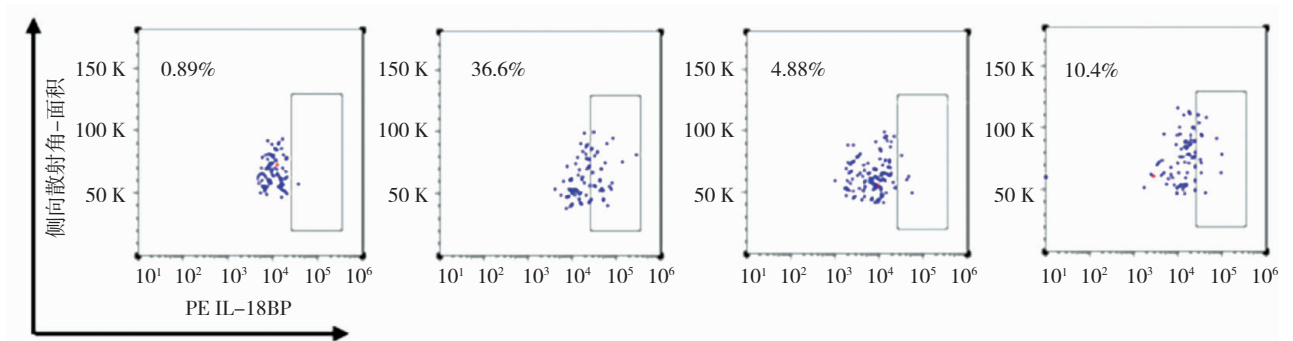


图 4 人外周血嗜酸性粒细胞富集群 IL-18R 表达水平的流式细胞仪代表图

表 3 银屑病患者培养基和过敏原刺激后血液嗜酸性粒细胞中 IL-18 表达的百分比

组别	IL-18[M (P ₂₅ , P ₇₅)]	两两比较的 Z 值、P 值					
		培养基		蒿草		尘螨	
		Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值
培养基	10.10 (6.25, 13.50)	-2.050	0.040	-3.548	0.000	-1.895	0.058
蒿草	15.30 (7.63, 16.70)			-2.584	0.009	-0.379	0.705
尘螨	25.7 (17.5, 27.3)					-2.463	0.014
梧桐	14.5 (8.7, 16.7)						



a: 同型对照; b: 健康人; c: 银屑病患者; d: 银屑病患者梧桐花粉粗提液刺激组

图 6 人外周血嗜酸性粒细胞富集群 IL-18BP 表达水平的流式细胞仪代表图

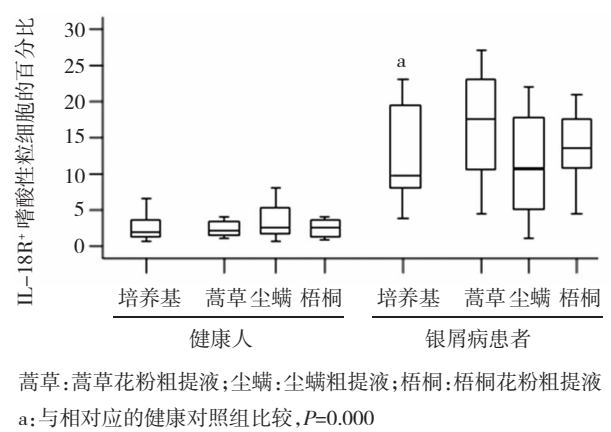


图 5 人外周血嗜酸性粒细胞富集群 IL-18R⁺ 细胞的百分比

2.4 银屑病患者 IL-18⁺、IL-18BP⁺ 和 IL-18R⁺ 嗜酸性细胞的相关性

生理状态下 IL-18、IL-18BP 和 IL-18R 三者处于平衡状态, 本研究发现银屑病患者血液嗜酸性粒细胞 IL-18 和 IL-18R 表达增强, 而 IL-18BP 表达降低, 因此对嗜酸性粒细胞中 IL-18、IL-18BP 和 IL-18R 的表达水平进行了相关性分析。结果显示银屑病患者血液静息状态下, 其嗜酸性粒细胞群中 IL-18BP⁺ 细胞比例和 IL-18⁺ 细胞比例均呈中度相关, Spearman 相关系数为 $r_s=0.587, P=0.013$; 经屋梧桐过敏原刺激后, 其嗜酸性粒细胞群中 IL-18⁺ 细胞比例和 IL-18R⁺ 细胞比例呈中度相关, Spearman 相关系数 $r_s=-0.519, P=0.033$, 见表 7。

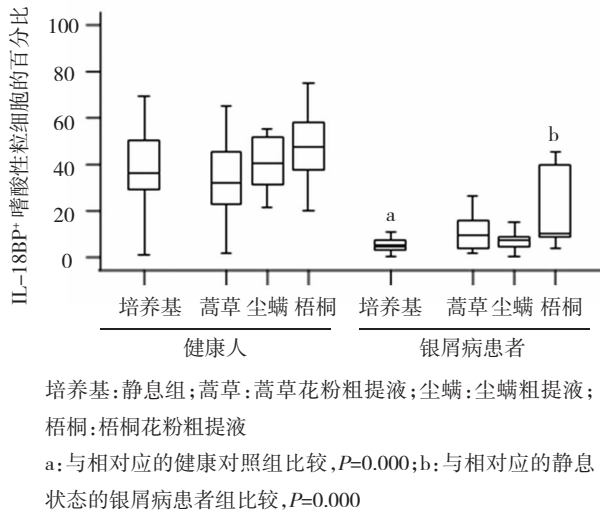
图7 人外周血嗜酸性粒细胞富集群 IL-18BP⁺ 细胞的百分比

表4 正常人和银屑病患者血液嗜酸性粒细胞中 IL-18 R 表达的百分比

组别	例数 (n)	IL-18R[M(P_{25} , P_{75})]	Z 值	P 值
健康人组	18	1.925 (1.415, 3.508)	-4.753	0.000
银屑病患者组	17	9.760 (7.700, 19.200)		

表5 正常人和银屑病患者血液嗜酸性粒细胞中 IL-18BP 表达的百分比

组别	例数 (n)	IL-18BP[M(P_{25} , P_{75})]	Z 值	P 值
健康人组	18	36.50 (30.35, 49.68)	-4.556	0.000
银屑病患者组	17	4.88 (3.12, 7.58)		

表6 银屑病患者培养基和过敏原刺激后血液嗜酸性粒细胞中 IL-18BP 表达的百分比

组别	IL-18BP[M(P_{25} , P_{75})]	两两比较的 Z 值、P 值					
		培养基		蒿草		尘螨	
		Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值
培养基	4.88 (3.12, 7.58)	-1.671	0.095	-1.946	0.052	-3.445	0.000
蒿草	9.52 (3.50, 16.00)			-0.258	0.796	-1.791	0.073
尘螨	7.04 (5.00, 9.00)					-2.480	0.013
梧桐	10.40 (8.7, 39.7)						

表7 银屑病患者静息状态下以及过敏原刺激后嗜酸性粒细胞群中 IL-18⁺ 细胞比例、IL-18R⁺ 细胞比例和 IL-18BP⁺ 细胞比例之间的 r_s 值 (Spearman 相关系数)

物质	IL-18 ⁺ 细胞比例、IL-18R ⁺ 细胞比例和 IL-18BP ⁺ 细胞比例之间的 r 值					
	IL-18 ⁺ 细胞比例		IL-18R ⁺ 细胞比例		IL-18BP ⁺ 细胞比例	
	静息状态	梧桐	静息状态	梧桐	静息状态	梧桐
IL-18 ⁺ 细胞比例	1	-	-	-0.519 ^a	0.587 ^a	-
IL-18R ⁺ 细胞比例	-	-0.519 ^a	-	1	-	-
IL-18BP ⁺ 细胞比例	0.587 ^a	-	-	-	1	-

注: a, 组内两物质相关性比较, $P < 0.05$

3 讨论

银屑病是一种慢性的累及多系统的炎症性疾病,全球发病率为 2%~3%^[22]。有报道称银屑病患者血浆 IL-18 水平升高^[23],皮肤病变处 IL-18 水平高于健侧,患者皮损处 IL-18 表达水平同病程及病情的严重程度相关^[24],提示 IL-18 参与银屑病发病。本研究首次发现嗜酸性粒细胞表达 IL-18,且银屑病患者嗜酸性粒细胞 IL-18 的表达增加高达 7.4 倍,提示升高的血浆 IL-18 水平可能来自嗜酸性粒细胞,嗜酸性粒细胞源的 IL-18 参与银屑病的发生和发展过程。此外,有文献报道角质细胞源的 IL-18 可协同 IL-12 诱导 IFN- γ 的产生进而参与银屑病发病^[25],而本研究发现银屑病患者中 IL-18 的一个新的细胞来源,嗜酸性粒细胞将会为以后进行银屑病发病机制的相关研究提供新方向。此外,本研究首次发现尘螨过敏原可诱导银屑病患者血液嗜酸性粒细胞富集中 IL-18⁺ 细胞比例升高,提示过敏原可能通过诱导嗜酸性粒细胞分泌 IL-18 参与银屑病的发病机制。

IL-18BP 是 IL-18 的天然抑制剂,可与 IL-18 以 1:1 的高亲和力结合,抑制 IL-18 的生物功能^[26]。IL-18BP 来源广泛,单核细胞是主要来源^[27],体内的多种细胞如肿瘤细胞^[28]、内皮细胞、巨噬细胞等均可分泌^[29],然而目前尚无嗜酸性粒细胞分泌 IL-18BP 的

报道。本研究首次发现嗜酸性粒细胞表达 IL-18BP, 且银屑病患者嗜酸性粒细胞富集中 IL-18BP⁺细胞较健康对照组降低 87%, 这一发现提示 IL-18BP 可能是治疗银屑病的新方法。IL-18BP KO 鼠模型的肠上皮细胞高表达 IL-18R, 并可诱导结肠炎的发生^[30], 进一步提示 IL-18BP 在炎症疾病治疗中具有抗炎作用^[31]。然而由于目前尚无银屑病患者血浆 IL-18BP 降低的报道, 所以 IL-18BP 在银屑病中的治疗价值尚需进一步研究。

IL-18 通过与细胞表面的 IL-18R 相互作用在机体防御及致病过程中发挥其生物学功能。本课题组首次发现银屑病患者血液中 IL-18R⁺嗜酸性粒细胞显著增多。结合课题组最近的发现即 OVA 致敏鼠腹腔注射 IL-18 后可诱导肥大细胞 IL-18R 表达上调^[32], 提示肥大细胞表面的 IL-18R 可能在过敏性疾病中起重要作用。因此推断嗜酸性粒细胞源的 IL-18 可能通过自分泌途径作用于 IL-18R, 进而诱导银屑病发病。

有报道称类风湿关节炎滑膜成纤维细胞^[33]、哮喘患者血浆^[32]、心衰患者 IL-18 及 IL-18R α 水平增加, 但 IL-18BP 明显降低, 此外, IL-18 与 IL-18BP 的表达高度相关, 提示 IL-18 和 IL-18BP 之间有潜在的联系^[34]。本研究结果显示银屑病患者血液静息状态下和经过过敏原刺激后嗜酸性粒细胞群中 IL-18BP⁺细胞比例和 IL-18⁺细胞比例均呈高度相关。银屑病患者血液经过过敏原刺激后嗜酸性粒细胞群中 IL-18BP⁺细胞比例和 IL-18R⁺细胞比例均有相关性, 进一步证实三者之间的潜在联系, 然而此种联系尚需进一步研究。总之, 银屑病患者血液嗜酸性粒细胞 IL-18 和 IL-18R 水平升高、IL-18BP 表达降低和三者的相关性, 提示 IL-18/IL-18BP/IL-18R 的平衡在银屑病发病中起重要作用, IL-18、IL-18BP 或者 IL-18R 可能是治疗银屑病的潜在靶点。

参 考 文 献

- [1] Chandran V, Raychaudhuri SP. Geoeidemiology and environmental factors of psoriasis and psoriatic arthritis[J]. J Autoimmun, 2010, 34(3): J314-321.
- [2] Zeichner JA, Armstrong A. The role of IL-17 in the pathogenesis and treatment of psoriasis[J]. J Clin Aesthet Dermatol, 2016, 9(6s1): S3-6.
- [3] Ohta Y, Hamada Y, Katsuoka K. Expression of IL-18 in psoriasis[J]. Arch Dermatol Res, 2001, 293(7): 334-342.
- [4] Mansur AT, Göktay F, Yasar SP. Peripheral blood eosinophilia in association with generalized pustular and erythrodermic psoriasis[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2008, 22(4): 451-455.
- [5] Fulkerson PC, Rothenberg ME. Targeting eosinophils in allergy, inflammation and beyond[J]. Nat Rev Drug Discov, 2013, 12(2): 117-129.
- [6] Voskas D, Babichev Y, Ling LS, et al. An eosinophil immune response characterizes the inflammatory skin disease observed in Tie-2 transgenic mice[J]. J Leukoc Biol, 2008, 84(1): 59-67.
- [7] Lee JH, Cho DH, Park HJ. IL-18 and Cutaneous Inflammatory Diseases[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(12): 29357-29369.
- [8] Kanda N, Shimizu T, Tada Y, et al. IL-18 enhances IFN- γ -induced production of CXCL9, CXCL10, and CXCL11 in human keratinocytes[J]. Eur J Immunol, 2007, 37(2): 338-350.
- [9] Pietrzak A, Janowski K, Chodorowska G, et al. Plasma interleukin-18 and dendritic cells in males with psoriasis vulgaris[J]. Mediators Inflamm, 2007, 2007: 61254.
- [10] Pietrzak A, Leciewicz-Torun B, Chodorowska G, et al. Interleukin-18 levels in the plasma of psoriatic patients correlate with the extent of skin lesions and the PASI score[J]. Acta Derm Venereol, 2003, 83(4): 262-265.
- [11] Koizumi H, Sato-Matsumura KC, Nakamura H, et al. Distribution of IL-18 and IL-18 receptor in human skin; various forms of IL-18 are produced in keratinocytes[J]. Arch Dermatol Res, 2001, 293(7): 325-333.
- [12] Marotte H, Ahmed S, Ruth JH, et al. Blocking ERK-1/2 reduces tumor necrosis factor α -induced interleukin-18 bioactivity in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by induction of interleukin-18 binding protein A[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(3): 722-731.
- [13] Talamonti M, D'Adamio S, Bianchi L, et al. The role of pharmacogenetics in chronic plaque psoriasis; update of the literature[J]. Mol Diagn Ther, 2017, 21(5): 1-14.
- [14] Dinarello CA, Novick D, Kim S, et al. Interleukin-18 and IL-18 binding protein[J]. Front Immunol, 2013, 4: 289.
- [15] He SH, Zhang HY, Zeng XN, et al. Mast cells and basophils are essential for allergies; mechanisms of allergic inflammation and a proposed procedure for diagnosis[J]. Acta Pharmacol Sin, 2013, 34(10): 1270-1283.
- [16] Engebretsen KA, Thyssen JP. Skin barrier function and allergens[J]. Curr Probl Dermatol, 2016, 49: 90-102.
- [17] Fedler R, Stromer K. Nickel sensitivity in atopics, psoriatics and healthy subjects[J]. Contact Dermatitis, 1993, 29(2): 65-69.
- [18] Barile M, Cozzani E, Anonide A, et al. Is contact allergy rare in psoriatics? [J]. Contact Dermatitis, 1996, 35(2): 113-114.
- [19] Jovanovic M, Boza P, Karadaglic D, et al. Contact sensitivity in patients with psoriasis in Vojvodina[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2009, 148(4): 311-320.
- [20] Heule F, Tahapary GJ, Bello CR, et al. Delayed-type hypersensitivity to contact allergens in psoriasis. A clinical evaluation[J]. Contact Dermatitis, 1998, 38(2): 78-82.
- [21] Raychaudhuri SK, Mavarakis E, Raychaudhuri SP. Diagnosis and classification of psoriasis[J]. Autoimmun Rev, 2014, 13(4-5): 490-495.
- [22] Enamandram M, Kimball AB. Psoriasis epidemiology: the interplay of genes and the environment[J]. J Invest Dermatol, 2013, 133(2): 287-289.

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.001807

锌离子依赖的金属蛋白酶-1 体内抑制分枝杆菌的抗原处理

吴宣艳,李 鹏,卢 楠,方陈城,杨 春,何永林

(重庆医科大学基础医学院分子医学与肿瘤研究中心、病原生物学教研室,重庆 400016)

【摘要】目的:在小鼠体内观察卡介苗的锌离子依赖的金属蛋白酶-1(Zinc metalloprotease-1,Zmp1)对结核分枝杆菌抗原 PPE68 处理的影响。**方法:**6~8 周龄 BALB/c 小鼠随机分为 5 组,分别为 pBudCE4.1 空质粒对照组($n=7$)、表达 PPE68 抗原肽的 pBudCE4.1-PPE68p 质粒组($n=9$)、表达 PPE68 抗原的 pBudCE4.1-PPE68 质粒组($n=9$)、PPE68 抗原和 Zmp1 共表达的 pBudCE4.1-PPE68-Zmp1 质粒组($n=10$)及 PPE68 抗原肽和 Zmp1 共表达的 pBudCE4.1-PPE68p-Zmp1 质粒组($n=8$)。各组质粒电转化减毒沙门菌株 SL7207 构建相应的重组沙门菌。以灌胃方式将各组沙门菌免疫小鼠 3 周。收集小鼠血液和肺肠灌洗液,采用 ELISA 法测定血清中 IFN- γ 、IL-12 含量及肺与肠道 sIgA 的含量;分离培养脾细胞,用 CCK-8 法检测脾淋巴细胞增殖情况。**结果:**与 PPE68 抗原组相比,PPE68 和 Zmp1 共表达组的 IFN- γ (117.29 ± 16.86 , $P=0.034$)、IL-12(40.46 ± 7.11 , $P=0.0037$)、淋巴细胞刺激指数 SI(3.30 ± 0.49 , $P=0.004$)均降低;与 PPE68 抗原肽组相比,PPE68 抗原肽和 Zmp1 共表达组相应因子含量下降不明显,IFN- γ (132.75 ± 28.40 , $P=0.070$)、IL-12(55.43 ± 11.78 , $P=0.198$)、SI(4.70 ± 1.57 , $P=0.124$)。**结论:**卡介苗的 Zmp1 影响结核分枝杆菌抗原 PPE68 的处理过程,这可能是影响 BCG 免疫效果的重要原因。

【关键词】卡介苗;PPE68;锌离子依赖的金属蛋白酶-1;抗原处理

【中图分类号】R378.91*1;R392-33;R521

【文献标志码】A

【收稿日期】2017-03-20

作者介绍:吴宣艳,Email:wxy565143@foxmail.com,

研究方向:微生物的感染与免疫。

通信作者:何永林,Email:heyonglinhyl@163.com。

基金项目:重庆市自然科学基金资助项目(编号: cstc2016jcyjA0196, cstc2012jjA10023);重庆市教委资助项目(编号: KJ1500203)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180704.1015.010.html>
(2018-07-05)

- [23] Gangemi S, Merendino RA, Guarneri F, et al. Serum levels of interleukin-18 and s-ICAM-1 in patients affected by psoriasis: preliminary considerations[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2003, 17(1): 42-46.
- [24] Rasmy H, Mikhael N, Ismail S. Interleukin-18 expression and the response to treatment in patients with psoriasis[J]. Arch Med Sci, 2011, 7(4): 713-719.
- [25] Yawalkar N, Karlen S, Hunger R, et al. Expression of interleukin-12 is increased in psoriatic skin[J]. J Invest Dermatol, 1998, 111(6): 1053-1057.
- [26] Novick D, Schwartzburd B, Pinkus R, et al. A novel IL-18BP ELISA shows elevated serum IL-18BP in sepsis and extensive decrease of free IL-18[J]. Cytokine, 2001, 14(6): 334-342.
- [27] Veenstra KG, Jonak ZL, Trulli S, et al. IL-12 induces monocyte IL-18 binding protein expression via IFN- γ [J]. J Immunol, 2002, 168(5): 2282-2287.
- [28] Carbotti G, Barisione G, Orengo AM, et al. The IL-18 antagonist IL-18-binding protein is produced in the human ovarian cancer microenvironment[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(17): 4611-4620.
- [29] Corbaz A, ten Hove T, Herren S, et al. IL-18-binding protein expression by endothelial cells and macrophages is up-regulated dur-

ing active Crohn's disease[J]. J Immunol, 2002, 168(7): 3608-3616.

- [30] Nowarski R, Jackson R, Gagliani N, et al. Epithelial IL-18 equilibrium controls barrier function in colitis[J]. Cell, 2015, 163(6): 1444-1456.
- [31] Kim SH, Eisenstein M, Reznikov L, et al. Structural requirements of six naturally occurring isoforms of the IL-18 binding protein to inhibit IL-18[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(3): 1190-1195.
- [32] Wang J, Zhang H, Zheng W, et al. Correlation of IL-18 with Tryptase in Atopic Asthma and Induction of Mast Cell Accumulation by IL-18[J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016: 4743176.
- [33] Marotte H, Tsou PS, Rabquer BJ, et al. Blocking of interferon regulatory factor 1 reduces tumor necrosis factor α -induced interleukin-18 bioactivity in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by induction of interleukin-18 binding protein a; role of the nuclear interferon regulatory factor 1-NF- κ B-c-jun complex[J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(11): 3253-3262.
- [34] Mallat Z, Heymes C, Cogeat D, et al. Evidence for altered interleukin 18(IL)-18 pathway in human heart failure[J]. FASEB J, 2004, 18(14): 1752-1754.

(责任编辑:张辉洁)