

IL-27 对哮喘患儿 IFN- γ 及 IL-4 的调节作用

陈杰¹ 袁岳沙¹ 李琦² 刘梅² 周少华² 靳伟³

(1. 长江大学临床医学院,湖北 荆州 434000; 2. 长江大学附属第一人民医院,湖北 荆州 434000;
3. 黄石第二人民医院,湖北 黄石 435002)

[摘要] 目的 探讨白介素 27 (IL-27)对哮喘患儿干扰素 γ (IFN- γ)及白介素 4(IL-4)的调节作用。方法 收集 23 例哮喘患儿外周血单个核细胞(PBMC),加入不同浓度(5 ng/mL 或 0.5 ng/mL)重组人白介素 27 (rh IL-27)进行体外培养 12 h,予酶联免疫吸附法(ELISA)测定其培养上清 IFN- γ 及 IL-4 浓度。结果 5 ng/mL 和 0.5 ng/mL 两个浓度的 rh IL-27 刺激 PBMC 进行体外培养后,IFN- γ 表达分别为 85.9 ± 12.2 和 8.9 ± 2.3 $\mu\text{g/L}$,较细胞刺激素组(7.2 ± 1.3 $\mu\text{g/L}$)均有显著升高($P < 0.01$ 或 0.05)。5 ng/mL rh IL-27 组 IL-4 表达较细胞刺激素组有明显降低(15.0 ± 1.9 $\mu\text{g/L}$ vs 77.0 ± 15.6 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.01$)。结论 IL-27 参与了哮喘的发病过程,它可通过调节 Th1/Th2 相关细胞因子活性为哮喘治疗提供一种新的途径。 [中国当代儿科杂志,2010,12(7):521-523]

[关键词] 哮喘;白介素 27;T 淋巴细胞;儿童

[中图分类号] R562.2⁺5 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2010)07-0521-03

Interleukin-27 affects IFN- γ and IL-4 activities in children with asthma

CHEN Jie, YUAN Yue-Sha, LI Qi, LIU Mei, ZHOU Shao-Hua, JIN Wei. Clinical Medical School of Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434000, China (Yuan Y-S, Email: yuesha1959@163.com)

Abstract: Objective To study the effect of interleukin (IL)-27 on INF and IL-4 activities in children with asthma. **Methods** The levels of IFN- γ and IL-4 in culture supernatants of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from 23 asthmatic children were measured using ELISA. PBMCs were cultured with recombinant IL-27 (5 ng/mL or 0.5 ng/mL) for 12 hrs *in vitro*. **Results** IFN- γ levels in both 5 ng/mL and 0.5 ng/mL IL-27 treatment groups (85.9 ± 12.2 and 8.9 ± 2.3 $\mu\text{g/L}$, respectively) increased compared with those in the cytokine stimulated control group ($P < 0.01$, $P < 0.05$ respectively). The group treated with 5 ng/mL IL-27 had decreased significantly IL-4 levels compared with the cytokine stimulated control group (15.0 ± 1.9 $\mu\text{g/L}$ vs 77.0 ± 15.6 $\mu\text{g/L}$; $P < 0.01$). **Conclusions** IL-27 may be involved in the pathogenesis of asthma. It may affect Th1/Th2 cell activities and might be a new option for the treatment of asthma. [Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (7):521-523]

Key words: Asthma; Interleukin-27; T lymphocyte; Child

哮喘是一种气道慢性变态反应性炎症,T淋巴细胞在发病过程中发挥重要的免疫调节作用^[1]。哮喘的发病机制及其调控措施也是国内外研究的热点,目前已证实 Th1/Th2 比例失衡是引起哮喘发病的主要原因^[2],其中 IFN- γ 及 IL-4 是 Th1/Th2 细胞分化中的特征因子。

IL-27 是近几年发现的一种新型 Th1 型细胞因子,它的主要作用是促使初始的 CD4⁺T 细胞向 Th1 方向的分化,抑制 Th2 型细胞因子的生成。已有报道详细阐述了 IL-27 对 Th1、Th2 相关疾病的发生、发展和转归有重要的双向调节作用^[3]。本研究通

过检测哮喘患儿急性发作期 Th1/Th2 特征因子 IFN- γ 和 IL-4 浓度表达水平,分析其与哮喘发病因素的关系,以及运用重组人白介素 27 (rh IL-27)干预所发挥的调控作用,进一步探讨 IL-27 作为一种新型细胞因子抑制剂应用于哮喘病治疗的可行性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

全部哮喘患儿均来自 2009 年 1 月至 2010 年 2 月本院儿科住院及门诊治疗的支气管哮喘急性作

[收稿日期]2009-12-24;[修回日期]2010-02-20
[基金项目]湖北省教育厅自然科学研究重点基金项目(No. 2004X055)。
[作者简介]陈杰,男,硕士研究生,现在黄石市二医院呼吸内科工作。
[通信作者]袁岳沙,教授。

期儿童,均符合中华医学会儿科学分会呼吸学组2008年修订的儿童哮喘诊断及分级标准^[4]。共23例,其中男18例,女5例,年龄1~11岁(平均年龄4.52±0.46岁)。在纳入研究前均签署知情同意书。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 rh IL-27(美国R&D公司,货号:14-8271-63)、佛波酯(PMA,美国Sigma公司,货号:P1269)、离子霉素(ionomycin,美国Sigma公司,货号:I9657)、台酚兰、Hanks液、淋巴细胞分离液、RPMI 1640培养液、灭活小牛血清均购自(上海活乐生物科技有限公司),IFN-γ、IL-4 ELISA试剂盒(美国R&D公司),二甲基亚砷(DMSO)。

1.2.2 主要试验仪器 37℃CO₂培养箱、光学显微镜、450 mm全自动酶标分析仪、高速低温离心机均由长江大学附属荆州第一人民医院检验科细胞免疫室提供。

1.3 试验方法

1.3.1 单个核细胞的分离 无菌取静脉血2 mL肝素抗凝,加等量Hanks液稀释、混匀,用Ficoll淋巴细胞分离液分离出单个核细胞(PBMC),存活率≥95%。

1.3.2 不同浓度的IL-27干预PBMC培养 用10% RPMI 1640(含10%小牛血清)将重悬PBMC调至1×10⁹/L,每份标本分为4组,即空白对照组、细胞刺激素对照组(PMA 25 mg/L + ionomycin 20 mg/L)、低浓度IL-27组(PMA 25 mg/L + ionomycin 20 mg/L + rh IL-27 0.5 ng/L)、高浓度IL-27组(PMA 25 mg/L + ionomycin 20 mg/L + rh IL-27 5 ng/L),种入24孔培养板内(各组做好标记),37℃,50 mL/L CO₂培养,12 h后收集上清液,-20℃冰箱待测。

1.3.3 IL-4、IFN-γ的测定 细胞培养上清液IL-4、IFN-γ浓度的测定均严格按照ELISA试剂盒说明书,专人操作。

1.4 统计学分析

所得数据采用SPSS 11.0分析软件进行分析,实验数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,均数比较前进行方差齐性检验,组间比较采用t检验,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度的rh IL-27对PBMC产生IFN-γ和IL-4的影响

给予高、低不同浓度rh IL-27刺激PBMC进行体外培养后,Th1型细胞因子IFN-γ表达均较细胞

刺激素组显著升高,差异有统计学意义,P<0.05或0.01;高浓度rh IL-27组Th2型细胞因子IL-4表达较细胞刺激素组明显降低,差异有统计学意义,P<0.01;高浓度rh IL-27组IL-4表达较低浓度rh IL-27组明显降低,差异有统计学意义,P<0.01;而低浓度rh IL-27组IL-4表达与细胞刺激素组比较,差异无统计学意义,P>0.05。高浓度rh IL-27组IFN/IL-4比值显著高于细胞刺激组和低浓度rh IL-27组(P<0.01)。见表1。

表1 rh IL-27刺激后IFN-γ和IL-4检测结果
($\bar{x} \pm s$, μg/L)

组别	例数	IFN-γ	IL-4	IFN-γ/IL-4
空白对照组	23	未测出	未测出	-
细胞刺激素组	23	7.3±1.3	77.0±15.6	0.165±0.076
高浓度IL-27组	23	85.9±12.2 ^{a,b}	15.0±1.9 ^{a,b}	4.674±0.983 ^{a,b}
低浓度IL-27组	23	8.9±2.3 ^c	82.2±3.7	0.108±0.332

a: 与细胞刺激素组比较,P<0.01; b: 与低浓度IL-27组比较,P<0.01; c: 与细胞刺激素组比较,P<0.05。

3 讨论

IL-27是由两条多肽链EB病毒诱导基因3(Epstein-Barrvirus induced gene3, EB13)和螺旋亚基P28(IL-12 P35相关多肽)通过二硫键组成,归属IL-12分子家族^[5]。IL-27在维持机体免疫系统的自身稳定、抗感染及抗肿瘤中起着重要的作用。最近有研究发现IL-27可促使初始的CD4⁺T细胞向Th1方向的分化^[6],同时抑制Th2型细胞因子的产生和Th2型细胞极化,还可引起特异的生物学效应,影响多种免疫效应性细胞^[7]。本研究结果显示,rh IL-27刺激后,可使PBMC产生IFN-γ增多,同时抑制IL-4的产生,但低浓度的rh IL-27刺激后对IL-4的抑制作用不明显,可能与IL-27未达相应的效应浓度有关。空白对照组未测出IFN-γ和IL-4,这可能是由于分离出的PBMC在没有加PMA及ionomycin时,Th1/Th2细胞均未受到刺激,因而分泌的因子量极少,导致不能被测出。

本研究中哮喘患儿PBMC体外培养后,经培养上清液内细胞因子含量的检测发现,哮喘患儿确实存在Th1/Th2相关细胞因子INF/IL-4比例失衡的情况。与细胞刺激素组比较,IL-27可有效抑制Th2类细胞因子IL-4的分泌,促进Th1类细胞因子IFN-γ的生成,调节INF/IL-4比例且IL-27浓度由0.5 ng/mL增加至5 ng/mL,上述作用明显增强,呈剂量依赖性。有研究证实IL-27影响Th2细胞极化的原因可能与

它抑制转录因子 GATA-3 (GATA结合蛋白 3) 和诱导 T-bet 的表达有关。IL-27 可通过下调 GATA-3, 并上调 T-bet 并同时刺激 NK 细胞促进 IFN- γ 的生成, 抑制 Th2 型细胞因子的生成, 这可能是 IL-27 调节 Th1、Th2 细胞的一个重要机制。另国外也有研究证实了用 IL-27 鼻腔给药途径能有效缓解由卵清蛋白致敏引起气道高反应炎症的动物模型^[8]。

综上所述, IL-27 在哮喘气道炎症中发挥了重要作用, 参与了哮喘发病的过程, 而运用外源性的 IL-27, 可增加 Th1 型细胞因子的生成, 减低 Th2 类细胞因子的产生, 调控 Th1/Th2 比例, 以维持机体免疫的自身稳定, 为 IL-27 作为一种新型的细胞因子抑制剂应用于哮喘病的防治提供了一定的实验室理论依据。因此, 进一步研究 IL-27 在哮喘发病中对相关的转录因子调控以及具体的转导途径, 以期能应用于哮喘及其他免疫性疾病的治疗。

[参 考 文 献]

[1] Lourenço O, Mafalda Fonseca A, Taborda-Barata L. T cells in sputum of asthmatic patients are activated independently of disease severity or control [J]. *Allergol Immunopathol*, 2009, 37(6):

285-292.
[2] Nakanishi K, Tsutsui H, Yoshimoto T. Importance of IL-/18-induced super Th1 cells for the development of allergic inflammation [J]. *Allergol Int*, 2010, 59(2): 137-141.
[3] 陈杰, 袁岳沙. 白细胞介素-27 与哮喘疾病的研究前景[J]. *中国医师进修杂志*, 2009, 32(7): 73-75.
[4] 中华医学会儿科学会呼吸学组. 儿童支气管哮喘诊断及防治指南[J]. *中华儿科杂志*, 2009, 42(1): 1-3.
[5] Pflanz S, Timans JC, Cheung J, Rosales R, Kanzler H, Gilbert J, et al. IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EB 13 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4⁺ T cells[J]. *Immunity*, 2002, 16(6): 779-790.
[6] Batten M, Li J, Kljavin NM, Danilenko DM, Lucas S, Lee J, et al. Interleukin 27 limits autoimmune encephalomyelitis by suppressing the development of interleukin 17-producing T cells. [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(9): 929-936.
[7] Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH, Huang E, Tato CM, Johnson LM, et al. Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(9): 937-945.
[8] Yoshimoto T, Yoshimoto T, Yasuda K, Mizuguchi J, Nakanishi K. IL-27 suppresses Th2 cell development and Th2 cytokines production from polarized Th2 cells: a novel therapeutic way for Th2-mediated allergic inflammation[J]. *J Immunol*, 2007, 179(7): 4415-4423.

(本文编辑: 黄 榕)