

网络出版时间: 2017-9-8 12:37 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170908.1237.030.html>

IL-23/IL-17 轴因子在初诊 Graves 病患者治疗前后的变化

杨 铭, 潘天荣, 钟 兴

摘要 目的 检测 IL-23/IL-17 轴在 Graves 病(GD) 患者外周血中的表达水平, 以及¹³¹I 或抗甲状腺药物(ATD) 治疗后的变化趋势。方法 收集初诊 GD 患者 40 例作为 GD 组, 其中¹³¹I 治疗组(20 例) 和 ATD 治疗组(20 例); 40 例性别、年龄匹配的健康者设为对照组。使用 ELISA 法检测 GD 组治疗前后及对照组 IL-17、IL-23 水平。结果 ① 两组比较, 治疗前 GD 组血清 IL-23、IL-17 表达水平明显高于对照组($P < 0.05$); ② ¹³¹I 治疗后第 6 个月 IL-23、IL-17 的外周血水平较治疗前有明显降低($P < 0.05$), 仍明显高于对照组($P < 0.05$)。ATD 组治疗前后差异无统计学意义。结论 IL-23、IL-17 在初诊 GD 患者外周血中高表达, 提示 IL-23/IL-17 轴可能参与 Graves 发病, 同时放射性¹³¹I 治疗甲亢改善病情可能与 IL-23/IL-17 轴因子变化部分相关。

关键词 Graves 病; ¹³¹I; 抗甲状腺药物; IL-23/IL-17 轴
中图分类号 R 581.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)11-1718-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.11.030

Graves 病(Graves disease, GD) 是一种发病率逐渐呈上升趋势, 以高代谢症候群为临床表现, 以弥漫性甲状腺肿为主要体征, 临床主要以抗甲状腺药物(antithyroid drugs, ATD) 或放射性¹³¹I 为主要治疗方法的自身免疫性疾病, 考虑与免疫、遗传及环境因素有关, 其具体机制尚未完全阐述清楚。过往认为 Th1 与 Th2 细胞比例失衡引起的免疫紊乱在发病中起主要作用, 但近年越来越多的研究^[1] 提示以细胞因子白介素(interleukin, IL)-17 为主要效应因子的 CD4 新亚型 Th17 细胞可能参与 GD 发病, 而主要由树突状细胞分泌的细胞因子白介素 23(IL-23) 则在 Th17 细胞的增殖及细胞因子 IL-17 释放中起到重要作用^[2], 为探寻 IL-23/IL-17 轴在 GD 的发病、治疗过程中是否发挥作用, 该研究观察初诊 GD 患者 IL-

23/IL-17 轴细胞因子治疗前后的变化趋势, 探讨其在 GD 发病和治疗过程中的意义。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2015 年 11 月~2016 年 3 月安徽医科大学第二附属医院内分泌门诊、住院部初诊的抗甲状腺药物治疗(设为 ATD 组, 以甲巯咪唑为治疗药物, 根据甲状腺激素水平调整剂量)、碘 131 治疗(设为¹³¹I 组) 患者各 20 例作为 GD 组。其中¹³¹I 组 20 例, 男 5 例, 女 15 例; ATD 组 20 例, 男 4 例, 女 16 例。两治疗组之间年龄、性别差异无统计学意义。同时选择 40 例年龄、性别相匹配、甲状腺激素正常且无新近感染及自身免疫疾病的健康体检者作对照组。

按照中华医学会内分泌学分会 2008 年颁布的《中国甲状腺疾病诊治指南》GD 诊断标准: ① 临床高代谢症状和体征; ② 甲状腺弥漫性肿大(经触诊和 B 超证实); ③ 总三碘甲状腺原氨酸及总甲状腺素的水平升高、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH) 浓度减低; ④ 促甲状腺激素受体抗体(thyrotropin receptor antibody, TRAb) 阳性。同时排除 GD 合并眼病、使用免疫抑制剂、其他自身免疫性及炎症性疾病。

1.2 试剂及仪器 检测 IL-23、IL-17 的 ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司; 酶标仪购自荷兰雷勃公司。

1.3 检测方法 ATD 组及¹³¹I 组分别于治疗前、治疗后 6 个月抽取空腹静脉血并检测以下指标。同时征求对照组健康者知情同意后一次性留取静脉血检测以下指标。

1.3.1 临床指标检测 采取化学发光法测定三碘甲状腺原氨酸(total triiodothyronine, T3)、四碘甲状腺原氨酸(total thyroxine, T4)、TSH、TRAb 外周血水平。

1.3.2 细胞因子测定 收集各组外周血血清, -80 °C 保存备用, 待检测时, 取出解冻后, 1 000 r/min 离心 15 min 后, 严格按照试剂盒说明书操作, 采用 ELISA 法检测血清 IL-17、IL-23 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件进行

2017-07-06 接收

基金项目: 2011 年度国家中医药管理局重点学科 - 中医内分泌学科
开放基金项目(编号: 2011nfmxk009)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院内分泌科, 合肥 230601

作者简介: 杨 铭 男, 硕士研究生;

潘天荣 男, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: ptr1968@163.com

数据分析,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 样本间性别、年龄比较采用 χ^2 检验,各样本均数比较采用独立样本 t 检验的方差分析; 相关性分析采用 Pearson 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 初诊 GD 组与对照组各项指标对比 80 例研究对象中,对照组 40 例(男 15 例,女 25 例),GD 组 40 例(男 9 例,女 31 例); 两组间性别、年龄差异无统计学意义; GD 组 T3、T4、TRAb 显著高于对照组($P < 0.05$),TSH 明显低于对照组($P < 0.05$); GD 组 IL-23、IL-17 水平显著高于对照组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 GD 组与对照组各项指标比较($n = 40$ $\bar{x} \pm s$)

项目	GD 组	对照组	t 值	P 值
年龄(岁)	41.65 ± 12.17	43.90 ± 9.57	-0.91	>0.05
T3(nmol/L)	5.87 ± 1.98	2.01 ± 0.65	11.71	<0.05
T4(nmol/L)	219.80 ± 40.62	116.54 ± 25.14	13.67	<0.05
TSH(mIU/L)	0.010 ± 0.004	2.620 ± 0.810	-20.38	<0.05
TRAb(IU/L)	20.35 ± 9.75	0.92 ± 0.43	12.59	<0.05
IL-23(pg/ml)	38.35 ± 7.21	15.32 ± 5.38	15.94	<0.05
IL-17(pg/ml)	95.78 ± 16.45	47.78 ± 9.28	15.81	<0.05

2.2 ^{131}I 和 ATD 两种治疗方法对 IL-23/IL-17 水平的影响 治疗后 6 个月,ATD 组的 20 例患者中 18 例甲状腺激素控制在正常范围,IL-23、IL-17 细胞因子水平治疗前后无明显变化,见表 2; ^{131}I 治疗组

的 20 例患者中 19 例甲状腺素激素水平控制在正常范围,4 例出现甲减给予平均每日(68.75 ± 23.94) μg 左甲状腺素钠补充,IL-23、IL-17 较治疗前有显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

2.3 血清 IL-23 和 IL-17 表达的相关性分析

Pearson 相关分析显示,在 GD 患者中 IL-23 和 IL-17 水平呈正相关性($r = 0.712$, $P < 0.05$)。见图 1。

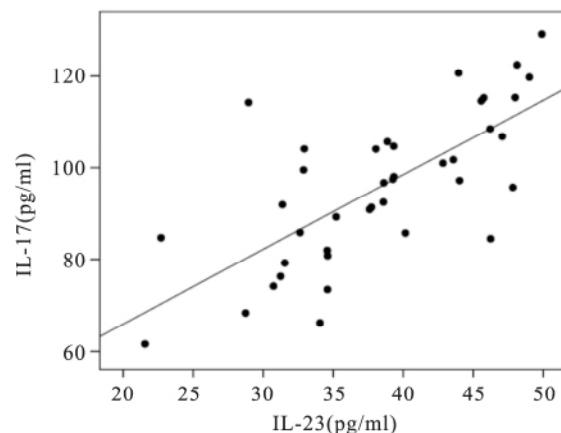


图 1 血清 IL-23 和 IL-17 表达的相关性分析

3 讨论

GD 的免疫机制尚未明确,传统观点认为主要分泌干扰素 γ 的 Th1 及分泌 IL-4 等细胞因子的 Th2 共同介导免疫炎症反应,因新的 CD4 $^+$ T 细胞亚型 Th17 细胞出现而需要对发病机制进行重新认识。

表 2 ATD 治疗组 IL-23、IL-17 水平的变化($\bar{x} \pm s$)

项目	ATD 组($n = 20$)		t 值	P 值	对照组($n = 40$)	t 值	P 值
	治疗前	治疗后 6 个月					
T3(nmol/L)	5.55 ± 1.72	2.97 ± 1.56	4.97	<0.05	2.01 ± 0.65 [*]	3.37	<0.05
T4(nmol/L)	219.05 ± 42.21	169.90 ± 37.82	3.89	<0.05	116.5 ± 25.14 [*]	6.52	<0.05
TSH(mIU/L)	0.011 ± 0.003	0.170 ± 0.080	-8.88	<0.05	2.620 ± 0.810 [*]	-13.44	<0.05
TRAb(IU/L)	19.95 ± 8.31	13.51 ± 2.11	3.36	<0.05	0.92 ± 0.43 [*]	36.54	<0.05
IL-23(pg/ml)	37.65 ± 6.34	39.13 ± 6.90	-0.70	>0.05	15.32 ± 5.38 [*]	14.68	<0.05
IL-17(pg/ml)	94.91 ± 14.32	93.47 ± 12.31	0.34	>0.05	47.78 ± 9.28 [*]	16.09	<0.05

与 ATD 组治疗后 6 个月比较: ^{*} $P < 0.05$

表 3 ^{131}I 治疗组 IL-23、IL-17 水平的变化($\bar{x} \pm s$)

项目	^{131}I 组($n = 20$)		t 值	P 值	对照组($n = 40$)	t 值	P 值
	治疗前	治疗后 6 个月					
T3(nmol/L)	6.20 ± 2.11	2.53 ± 1.12	6.87	<0.05	2.01 ± 0.65 [*]	2.28	<0.05
T4(nmol/L)	220.55 ± 34.71	154.32 ± 27.13	6.72	<0.05	116.5 ± 25.14 [*]	5.34	<0.05
TSH(mIU/L)	0.009 ± 0.003	1.320 ± 0.630	-9.31	<0.05	2.620 ± 0.810 [*]	-6.28	<0.05
TRAb(IU/L)	20.75 ± 10.31	21.34 ± 9.31	-0.19	>0.05	0.92 ± 0.43 [*]	13.96	<0.05
IL-23(pg/ml)	39.05 ± 8.13	20.60 ± 8.52	7.01	<0.05	15.32 ± 5.38 [*]	2.93	<0.05
IL-17(pg/ml)	96.65 ± 17.31	55.18 ± 12.31	8.73	<0.05	47.78 ± 9.28 [*]	2.61	<0.05

与 ^{131}I 组治疗后 6 个月比较: ^{*} $P < 0.05$

当 CD4⁺ T 细胞接受外界抗原刺激后, 不适当的 T 细胞免疫或持续的 T 细胞亚群激活可引起自身免疫性疾病。研究^[3]显示, IL-6 及转化生长因子 β 通过激活 ROR γ t 从而使原始 CD4⁺ T 细胞分化为主要分泌 IL-17 的 Th17 细胞, IL-17 为分子量 20~30 ku 的糖蛋白^[4], 具有 IL-23 依耐性^[5], 可与受体结合产生瀑布样炎症效应, 造成组织损伤, 同时通过动员、招募、活化中性粒细胞而在固有免疫及防御过程发挥作用^[6]。IL-23 主要由树突状细胞分泌, 为 p40 和 p19 两个亚单位构成的二聚体, 通过与 Th17 细胞表面的 IL-23R 受体结合促进体内 Th17 细胞的进一步分化、增殖以及功能完善, 也即分泌 IL-17 等效应因子^[7]。IL-23/IL-17 轴因子水平在强直性脊柱炎^[8]、系统性红斑狼疮^[9]、系统性硬化^[10]等自身免疫性疾病中的表达上调已得到多次论证。作为新型的细胞亚群, 对 GD 患者 Th17 细胞的研究有助于进一步认识 GD 的免疫发病机制。

Horie et al^[11] 研究不同遗传背景的小鼠模型, 发现只有 IL-17(+/+) NOD-H2(h4) 鼠发生 GD, 提示 Th17 主要效应因子 IL-17 在 GD 发病中起到一定作用。Nanba et al^[12] 亦发现 Th17 细胞在 GD 组中的比例明显高于对照组; 本研究初诊 GD 组患者血清 IL-23、IL-17 水平明显高于对照组, 差异有统计学意义, 说明 IL-23、IL-17 可能参与 GD 发病, 与 Horie et al^[11]、Nanba et al^[12] 观点一致。Pearson 相关分析显示 IL-23、IL-17 在 GD 患者血清中的表达水平显著相关, 与 Zheng et al^[13] 研究结果一致, 推测 IL-23 可在 GD 患者中作用于分化成熟的 Th17 细胞, 促进 IL-17 的产生。故本研究推测 IL-23/IL-17 轴可能参与 GD 发病, 但具体作用机制及调控因素有待进一步研究。

进一步分析两种治疗方法对 IL-23/IL-17 轴的作用, 在¹³¹I 组中, 治疗后 6 个月 IL-23/IL-17 轴因子水平均明显下降, 差异有统计学意义, 与马学芹等^[14] 研究一致, 故推测放射性¹³¹I 改善病情可能与 IL-23/IL-17 轴因子变化有关, 提示利用 β 射线使甲状腺滤泡细胞破裂死亡, 从而减少甲状腺激素合成及分泌减少的¹³¹I 治疗法可能也具有改善 GD 患者免疫功能、调节免疫状态的作用。ATD 组中治疗 6 个月后 IL-23/IL-17 轴因子水平较初诊 GD 组差异无统计学意义, 与郭泽华等^[15]、Figueroa-Vega et al^[16] 得出的甲巯咪唑不能抑制 IL-17 因子分泌的结果一致, 但与 Klatka et al^[17] 研究观点不一致, 其发现甲巯咪唑治疗后患者外周血 Th17 细胞比例计数

下降, 推测甲巯咪唑免疫调节可能与 Th17 细胞有关, 其原因可能与种族差异、病情严重程度或随访时间长短等有关。

目前关于 GD 患者抗甲状腺药物及放射性¹³¹I 对体内免疫方面的影响尚存在争议, 今后将进一步扩大样本量及延长随访时间, 探讨 IL-23/IL-17 轴与甲亢复发之间的关系。治疗方面抗甲状腺药物存在疗程长、复发率高、不良反应等弊端, 而放射性¹³¹I 则利用射线直接损伤甲状腺组织来达到治疗作用, 很多患者因继发性甲减而长期药物补充, 目前通过阻断 IL-23/IL-17 轴来缓解病情在类风湿关节炎、系统性红斑狼疮都有深入研究, 故可进一步研究 IL-23/IL-17 轴在 GD 中的作用机制, 可能为治疗靶点提供新思路。

综上所述, 本研究提示 IL-23/IL-17 轴可能参与 GD 发病过程, 同时放射性¹³¹I 治疗甲亢改善病情可能与 IL-23/IL-17 轴因子变化部分有关。

参考文献

- Wilson N J, Boniface K, Chan J R, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells [J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(9): 950~7.
- Peng J, Yang X O, Chang S H, et al. IL-23 signaling enhances Th2 polarization and regulates allergic airway inflammation [J]. *Cell Res*, 2010, 20(1): 62~71.
- Mangan P R, Harrington L E, O'quinn D B, et al. Transforming growth factor- β induces development of the TH17 lineage [J]. *Nature*, 2006, 441(7090): 231~4.
- Gu Y, Hu X, Liu C, et al. Interleukin (IL)-17 promotes macrophages to produce IL-8, IL-6 and tumour necrosis factor-alpha in aplastic anaemia [J]. *Br J Haematol*, 2008, 142(1): 109~14.
- McGeachy M J, Cua D J. Th17 cell differentiation: the long and winding road [J]. *Immunity*, 2008, 28(4): 445~53.
- Gaffen S L, Jain R, Garg A V, et al. The IL-23-IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(9): 585~600.
- Langrish C L, Chen Y, Blumenschein W M, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation [J]. *J Exp Med*, 2005, 201(2): 233~40.
- Jethwa H, Bowness P. The interleukin (IL)-23/IL-17 axis in ankylosing spondylitis: new advances and potentials for treatment [J]. *Clin Exp Immunol*, 2016, 183(1): 30~6.
- Wong C K, Lit L C, Tam L S, et al. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in autoimmunity [J]. *Clin Immunol*, 2008, 127(3): 385~93.
- Celal D, Ali S, Orhan K, et al. Comparison of serum IL-23 and

(下转第 1725 页)

implant, and the specific region of interest (ROI) selection method was used to analyze the osseointegration of implant-bone interface in different periods. Eight male Beagle dogs were used in this experiment. The bilateral mandibular third and fourth premolars were removed by minimally invasive operation. After the gingival flap. The implant (10.0 mm in length and 3.8 mm in diameter) was implanted in appropriate location immediately. Four experimental dogs were randomly assigned at 4 and 8 weeks postoperatively. A total of 32 implant samples were obtained. Micro CT scans were performed using the specific ROI selection method of this experiment, and the final results were compared. Compared 4 weeks with 8 weeks, BV/TV, JS, Tb, Th, Tb, N, BS/BV, Tb, Pf, SMI, Po were all displayed significantly difference ($P < 0.05$). The ROI method in this experiment was objective, reasonable and effective. The results of the final ROI analysis consistent with the traditional bone healing and implant-bone-binding theory, which provided guidance for clinical implant research.

Key words micro-CT; dental implant; bone trabecula; region of interest

(上接第 1720 页)

IL-17 levels in patients with systemic sclerosis and healthy subjects [J]. *J Clin Analy Med*, 2015, 6(1): 83-7.

[11] Horie I, Abiru N, Saitoh O, et al. Distinct role of T helper Type 17 immune response for Graves' hyperthyroidism in mice with different genetic backgrounds [J]. *Autoimmunity*, 2011, 44(2): 159-65.

[12] Nanba T, Watanabe M, Inoue N, et al. Increases of the Th1/Th2 cell ratio in severe Hashimoto's disease and in the proportion of Th17 cells in intractable Graves' disease [J]. *Thyroid*, 2009, 19(5): 495-501.

[13] Zheng L, Ye P, Liu C. The role of the IL-23/IL-17 axis in the pathogenesis of Graves' disease [J]. *Endocr J*, 2013, 60(5): 591-7.

[14] 马学芹, 于世鹏. 初诊 Graves 病患者¹³¹I 治疗前后 IL-23/Th17 轴相关因子水平的变化及意义 [J]. *中国免疫学杂志*, 2013, 29(7): 733-5.

[15] 郭泽华, 于世鹏, 班博, 等. Graves 病患者¹³¹I、甲巯咪唑治疗前后外周血 Th17 细胞及 IL-17 水平的变化 [J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(1): 117-21.

[16] Figueroa-Vega N, Alfonso-Pérez M, Benedicto I, et al. Increased circulating pro-inflammatory cytokines and Th17 lymphocytes in Hashimoto's thyroiditis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(2): 953-62.

[17] Klatka M, Grywalska E, Partyka M, et al. Th17 and Treg cells in adolescents with Graves disease. Impact of treatment with methimazole on these cell subsets [J]. *Autoimmunity*, 2014, 47(3): 201-11.

Change of IL-23/IL-17 axis in peripheral blood of patients with Graves disease treated by ¹³¹I or antithyroid drugs therapy

Yang Ming, Pan Tianrong, Zhong Xing

(Dept of Endocrinology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To detect the expression level of interleukin-17 (IL-17) /interleukin-23 (IL-23) axis in peripheral blood of patients with Graves disease (GD) before and after ¹³¹I or antithyroid drugs (ATD) treatment.

Methods The study groups included 40 patients with incipient GD (GD group) 20 of whom were treated by ¹³¹I, others were treated by ATD. Forty sex and age matched healthy subjects were recruited as control group. ELISA was used to detect interleukin-17 (IL-17), interleukin-23 (IL-23) level before and after the treatment of the GD group and control group. **Results** ① The expression of IL-23, IL-17 in GD group was significantly higher than the control group ($P < 0.05$); ② 6 months after ¹³¹I treatment, the level of serum IL-23, IL-17 were significantly lower than before ($P < 0.05$) but still higher than the control group ($P < 0.05$), which was not found in ATD treatment group. **Conclusion** IL-23/IL-17 axis may play a role in GD which may also be relevant to ¹³¹I treatment.

Key words Graves disease; Iodine 131; antithyroid drugs; IL-23/IL-17 axis