

强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子及 miR-155 与脊柱活动度的关系^{*}

顾维杰 郑冰 汪池 吴旭强

(成都市第五人民医院, 四川 成都 611130)

【摘要】 目的 探讨强直性脊柱炎患者辅助性 T 细胞 17(Th17)/调节性 T 细胞(Treg)相关细胞因子、微小核糖核酸-155(miR-155)与脊柱活动度的关系。**方法** 回顾性分析 2018 年 1 月~2021 年 3 月我院收治的强直性脊柱炎患者 116 例为观察组,根据强直性脊柱炎疾病活动指数(BASDAI)分为活动期(BASDAI $\geq$ 4, $n=52$)、稳定期(BASDAI $<$ 4, $n=64$);另选取同期于我院进行健康体检的健康志愿者 97 例为对照组。对比各组 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 表达水平;对比活动期和稳定期的脊柱活动度 Bath AS 测量指数(BASMI),分析强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 与脊柱活动度的相关性。**结果** 观察组 IL-17、IL-23、miR-155 表达水平明显高于对照组($P<0.05$)。活动期 IL-17、IL-23、miR-155 表达水平明显高于稳定期($P<0.05$)。活动期强直性脊柱炎患者 BASMI 评分明显高于稳定期($P<0.05$)。经 Pearson 相关系数分析显示,强直性脊柱炎患者 IL-17、IL-23、miR-155 表达水平与 BASMI 评分呈正相关,IL-10、TGF- β 表达水平与 BASMI 评分呈负相关($P<0.05$)。**结论** 强直性脊柱炎患者高表达 miR-155、Th17 相关细胞因子、低表达 Treg 相关细胞因子, Th17/Treg 呈失衡状态,且 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 与强直性脊柱炎患者脊柱活动度具有一定的相关性,可作为临床评估病情的辅助检查。

【关键词】 强直性脊柱炎; Th17/Treg 相关细胞因子; miR-155; 脊柱活动度; 活动期

【中图分类号】 R593.23 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.12.023

The relationship between Th17/Treg-related cytokines, miR-155 and spinal mobility in patients with ankylosing spondylitis

GU Weijie, ZHENG Bing, WANG Chi, WU Xuqiang

(The Fifth People's Hospital of Chengdu, Chengdu 611130, China)

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between helper T cell 17 (Th17)/regulatory T cell (Treg) related cytokines, miR-155 (miR-155) and spinal activity in patients with ankylosing spondylitis. **Methods** A total of 116 patients with ankylosing spondylitis admitted to our hospital from January 2018 to March 2021 were enrolled as observation group, and parameter N was divided into active stage (BASDAI $\geq$ 4, $N=52$) and stable stage (BASDAI $<$ 4, $N=64$) according to BASDAI disease activity index (BASDAI). Another 97 healthy volunteers who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as control group. The expression levels of Th17/Treg related cytokines and miR-155 in each group were compared. The Bath AS index (BASMI) of spinal activity was compared between active and stable periods, and the correlation of Th17/Treg related cytokines, miR-155 and spinal activity was analyzed in ankylosing spondylitis patients. **Results** The expression levels of IL-17, IL-23, and miR-155 in the study group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The expression levels of IL-17, IL-23, and miR-155 in the active phase were significantly higher than those in the stable phase ($P<0.05$). The BASMI score of patients with active ankylosing spondylitis was significantly higher than that in the stable phase ($P<0.05$); ④Pearson correlation coefficient analysis showed that the expression levels of IL-17, IL-23, miR-155 in patients with ankylosing spondylitis were positively correlated with the BASMI score, and the expression levels of IL-10 and TGF- β were negative-

基金项目:四川省卫生厅课题(170503)

引用本文:顾维杰,郑冰,汪池,等.强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子及 miR-155 与脊柱活动度的关系[J].西部医学,2022,34(12):1839-1842. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2022.12.023

ly correlated with the BASMI score ($P < 0.05$). **Conclusion** Patients with ankylosing spondylitis have high expression of miR-155 and Th17-related cytokines, low expression of Treg-related cytokines, Th17/Treg imbalance, and Th17/Treg-related cytokines and miR-155 have a certain correlation with the patient's spinal mobility, which can be used as an auxiliary examination for clinical assessment of the condition.

【Key words】 Ankylosing spondylitis; Th17/Treg related cytokines; miR-155; Spinal mobility; Active phase

强直性脊柱炎是一类慢性炎症性的关节病变,累及的关节以髋部、颈部、腰部为主^[1]。此外,由于强直性脊柱炎患者的骶髂关节、肌腱及其周围附着点受到炎症细胞的浸润致使外周关节炎的发生,严重影响其生存质量^[2-3]。强直性脊柱炎发病原因较为复杂,目前考虑与感染、免疫、环境以及遗传等因素有关^[4]。相关研究发现 T 淋巴细胞免疫反应在机体自身免疫疾病发生、发展过程中发挥着关键作用^[5]。辅助性 T 细胞 17(Th17)是近年新发现的一种 CD4⁺ 细胞亚群,可特异性产生白细胞介素,其和具有抑制炎症反应的调节性 T 细胞(Treg)在自身免疫性疾病和机体防御反应中具有重要的意义^[6]。微小核糖核酸-155(miRNA-155, miR-155)属于微小核糖核酸(miRNA)家族中的一员,能调节 T 细胞的增殖、分化,在自身免疫疾病患者中呈异常表达状态^[7]。本研究就强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 与脊柱活动度关系进行分析,现将研究结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2018 年 1 月~2021 年 3 月我院收治的强直性脊柱炎患者 116 例,并将其归为观察组。根据强直性脊柱炎疾病活动指数(BASDAI)^[8]分为活动期(BASDAI ≥ 4 , $n = 52$)与稳定期(BASDAI < 4 , $n = 64$)。纳入标准:①所有患者的诊断均符合 1984 年制定的强直性脊柱炎纽约标准^[9]。②近三个月未接受过免疫调节治疗。③患者及家属均知晓同意。④本研究经医院伦理委员会批准。排除标准:①存在自身免疫、血液疾病者。②心、脑、肝、肾等脏器功能严重不全者。③存在精神疾患、意识障碍等依从性差的情况。④存在其他类型风湿性疾病者。⑤处于妊娠期或哺乳期女性。⑥存在感染性疾病者。另选取同期于我院进行健康体检的健康志愿者 97 例,设为对照组。

1.2 方法 检测 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 表达水平 观察组在入院第 2 天、对照组在体检当日分别抽取空腹静脉血 5 mL, 3000 r/min 离心 15 min, 离心半径 10 cm, 分离血清, 置 -80℃ 保存。采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测 Th17/Treg 相关细胞因子, 即 IL-10、TGF- β 、IL-17、IL-23 水平, 仪器为美国贝克曼库尔特全自动免疫分析仪, 试剂盒由深圳欣博

盛生物科技有限公司生产。使用人淋巴细胞分离液将外周血单个核细胞分离, 采用实时荧光定量反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测外周血单个核细胞中 miR-155 的表达, 以 U6 为内参, 上游引物: 5'-GCGA AAGCATTTGCCAAGAA-3', 下游引物: 5'-GCGAA AGCATTTGCCAAGAA-3'。皆严格按照说明书进行操作。

1.3 观察指标 ①对比观察组和对照组 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 表达水平。②对比活动期和稳定期强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 表达水平。③采用 Bath AS 测量指数(BASMI)^[10]评价强直性脊柱炎患者的脊柱活动度, 包括耳壁距、颈椎旋转度、腰椎前屈、腰椎侧屈、以及内踝间距 5 个项目, 分值越低代表患者脊柱活动度越佳, 并对比活动期和稳定期的脊柱活动度。④分析强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 与脊柱活动度的相关性。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述, 行 t 检验; 计数资料通过率或构成比(%)表示, 行 χ^2 检验; 强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 与脊柱活动度的相关性使用 Pearson 相关系数分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 观察组男性 64 例, 女性 52 例, 年龄 23~69 岁, 平均(36.71 ± 5.98)岁; 病程 1~9 年, 平均(3.48 ± 1.72)年。对照组男 54 例, 女 43 例, 年龄 22~73 岁, 平均(37.24 ± 7.56)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 两组 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 表达水平比较 观察组 IL-17、IL-23、miR-155 表达水平明显高于对照组($P < 0.05$); 两组 IL-10、TGF- β 比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

2.3 活动期和稳定期强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 表达水平比较 活动期 IL-17、IL-23、miR-155 表达水平明显高于稳定期($P < 0.05$); 活动期与稳定期 IL-10、TGF- β 比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

表 1 两组 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 表达水平对比($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of Th17/Treg-related cytokines and miR-155 expression levels between the study group and the control group

组别	n	Th17 细胞因子(ng/L)		Treg 细胞因子(ng/L)		miR-155
		IL-17	IL-23	IL-10	TGF-β	
观察组	116	10.28±3.36	3219.68±1059.46	186.78±59.84	431.56±135.28	1.76±0.37
对照组	97	8.42±2.74	2319.26±685.06	203.22±62.15	458.33±143.56	1.02±0.23
t		4.370	7.204	1.962	1.399	17.121
P		<0.001	<0.001	0.051	0.163	<0.001

表 2 活动期和稳定期强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Th17/Treg-related cytokines and miR-155 expression levels in patients with active and stable ankylosing spondylitis

组别	n	Th17 细胞因子(ng/L)		Treg 细胞因子(ng/L)		miR-155
		IL-17	IL-23	IL-10	TGF-β	
稳定期	64	8.56±2.79	2532.14±695.65	194.32±64.33	442.56±143.28	1.23±0.41
活动期	52	13.14±4.28	4100.25±1258.35	172.43±55.46	389.72±123.89	2.39±0.78
t		9.386	11.489	1.927	1.957	13.890
P		<0.001	<0.001	0.056	0.053	<0.001

2.4 活动期和稳定期强直性脊柱炎患者 BASMI 评分比较 活动期强直性脊柱炎患者 BASMI 评分(1.74±0.58)分明显高于稳定期(2.08±0.69)分($t=2.883,P<0.05$)。

2.5 强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 与脊柱活动度的相关性 Pearson 相关系数分析显示,强直性脊柱炎患者 IL-17、IL-23、miR-155 表达水平与 BASMI 评分呈正相关,IL-10、TGF-β 表达水平与 BASMI 评分呈负相关($P<0.05$),见表 3。

表 3 强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 与脊柱活动度的相关性

Table 3 Analysis of the correlation between Th17/Treg-related cytokines, miR-155 and spinal mobility in patients with ankylosing spondylitis

指标	BASMI 评分	
	r	P
IL-17	0.625	<0.001
IL-23	0.574	<0.001
IL-10	-0.872	<0.001
TGF-β	-0.623	<0.001
miR-155	0.823	<0.001

3 讨论

强直性脊柱炎的发病较为隐匿,活动期和稳定期往往呈现为交替出现,并且无规律可言;其活动期是机体炎症反应加剧、病变复发的一种急性表现,每次病变活动发作皆会引起病变加重,致使组织损害、活动受限皆进一步发展,可引起患者脊柱活动度降低^[11]。强直性脊柱炎是与 HLA-B27 存在明确关联的自身免疫性病变,发病原因包括微生物与宿主间的相互作用、细胞因子网络的紊乱等多方面^[12]。分析强直性脊柱炎患者机体特异性指标的表达情况,不仅可进

一步了解发病机制,同时还可强直性脊柱炎患者的治疗提供思路^[13]。既往研究显示强直性脊柱炎患者外周血中 miR-155 表达可能影响 Th17/Treg 的平衡^[14],但有关上述指标与脊柱活动度关系的研究较少见。因此,本研究就强直性脊柱炎患者 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 与脊柱活动度的关系进行探讨,为临床防治提供理论依据。

Th17 及 Treg 细胞是辅助性 T 细胞中的重要组成部分,参与机体的免疫反应过程^[15]。Zeng 等^[16]研究指出,健康者体内 Th17 和 Treg 在分化和成熟方面互相制约,二者呈平衡状态,并可通过某些细胞因子实施细胞转化,若体内细胞环境改变,Th17/Treg 与细胞免疫失衡,致使病情进一步发展。IL-23 属于促炎性细胞因子的一种,也是 Th17 的重要存活因子,其活化后可促进 IL-17、IL-6 的生成^[17]。此外,IL-23 由树突状细胞以及巨噬细胞分泌而来,仅于炎症刺激时分泌,说明 Th17 细胞的长期存活依赖于机体的炎症刺激^[18]。IL-17 具有强大的致炎性,能诱发促炎性细胞因子的表达,机体受炎性细胞的浸润,从而造成组织损害^[19]。本研究发现,观察组 IL-17、IL-23 表达水平明显高于对照组,且活动期 IL-17、IL-23 表达水平明显高于稳定期,而 IL-10、TGF-β 表达水平并无显著上升,说明强直性脊柱炎患者体内可能存在 Th17 与 Treg 细胞的紊乱。

miR-155 是位于 21 号染色体上因子,其与机体的炎症免疫反应存在一定的相关性,可通过调节 T 淋巴细胞的增殖、分化,推动炎症因子的表达致使机体的免疫反应出现失调^[20]。Zhu 等^[21]研究表明 miR-155 参与机体免疫性疾病的发生、发展过程。本研究结果显示,与对照组相比,观察组 miR-155 表达水平明显

增加,且活动期 miR-155 表达水平明显高于稳定期,这与既往研究结果报道相似^[22]。表明 miR-155 在强直性脊柱炎患者中呈高表达,且随着病情的进展 miR-155 表达水平也随之上升。BASMI 为用于评估患者脊柱功能状况的评分,能客观地反应患者脊柱活动度的情况^[23]。本研究通过相关性分析显示,强直性脊柱炎患者 IL-17、IL-23、miR-155 表达与 BASMI 评分呈正相关,而 IL-10、TGF- β 表达与 BASMI 评分呈负相关,提示 Th17、Treg 相关细胞因子及 miR-155 与患者病情的发生、发展有关,可在一定程度上反应患者的脊柱活动情况。但由于本研究纳入的样本量较少,可能导致研究结果出现一定偏倚,后续将扩大样本量进行深入研究。

4 结论

强直性脊柱炎患者 miR-155、Th17 相关细胞因子呈高表达状态、Treg 相关细胞因子呈低表达状态, Th17/Treg 呈失衡状态,且 Th17/Treg 相关细胞因子、miR-155 与患者脊柱活动度具有一定的相关性,可作为临床评估病情的辅助检查。

【参考文献】

- [1] 裴斐,金益军.强直性脊柱炎患者 Dickkopf-1 水平与疾病活动度、病情严重程度的相关关系[J].中国卫生检验杂志,2020,30(17):2116-2119.
- [2] 韩青,李强,朱平,等. SPECT/CT 在早期强直性脊柱炎中的诊断价值[J].西部医学,2017,29(11):1504-1506,1510.
- [3] AHMADI M, YOUSEFI M, ABBASPOUR-AGHDAM S, *et al.* Disturbed Th17/Treg balance, cytokines, and miRNAs in peripheral blood of patients with Behcet's disease[J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(4):1409-1421.
- [4] 白涛敏,王洁英,刘娜,等. 过敏性紫癜患儿外周血 miR-155 表达及与 Th17/Treg 平衡的关系[J].山西医科大学学报,2019,50(7):1017-1020.
- [5] PARADOWSKA G A, WAJDA A, K ROMANOWSKA P, *et al.* Th17/Treg-Related Transcriptional Factor Expression and Cytokine Profile in Patients With Rheumatoid Arthritis[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11(5):832-846.
- [6] 扎西吉,咸育婷. 自身免疫性肝病外周血 miR-21、miR-155 表达及其与 Th17、Treg 细胞平衡的关系[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2020,29(5):581-586.
- [7] LUI DTW T, LEE C H, TANG V, *et al.* Thyroid Immune-Related Adverse Events Among Cancer Patients Treated With Combination of Anti-PD1 and Anti-CTLA4 Immune-Checkpoint Inhibitors: Clinical Course and Outcomes[J]. Endocr Pract, 2021, 27(9):886-893.
- [8] 邓玲,陈永平,孙燕玲.强直性脊柱炎患者外周血单核细胞 miR-138 表达及与 Th1/Th2 失衡的关系[J].热带医学杂志,2019,19(8):1008-1011,1051.
- [9] LIU X, HU Z, ZHOU H. N-Acetylcysteine Improves Inflammatory Response in COPD Patients by Regulating Th17/Treg Bal-

ance through Hypoxia Inducible Factor-1 α Pathway[J]. BioMed Research International, 2021, 5(12):1-7.

- [10] VEGA-CÁRDENAS M, URESTI-RIVERA E E, CORTÉS-GARCÍA J D, *et al.* Increased Levels of Adipose Tissue-Resident Th17 Cells in Obesity Associated with miR-326[J]. Immunology Letters, 2019, 211(3):348-357.
- [11] CHAKRABORTY S P, DERMENTZIS J, BRIJNATH B, *et al.* What clinical challenges are associated with diagnosing and managing work-related mental health conditions? A qualitative study in general practice[J]. BMJ Open, 2020, 10(8):562-568.
- [12] 李井华,张慧君,王红艳,等. miR-210、miR-155 和 miR-34a 在 SLE 患者外周血中的表达水平及其与病情严重程度的相关性分析[J].中国中西医结合肾病杂志,2020,21(4):333-337.
- [13] 黄旦,刘健,纵瑞凯,等. 湿热型强直性脊柱炎患者氧化应激相关指标的变化及相关性研究[J].中华中医药杂志,2020,35(2):995-998.
- [14] 李文清.强直性脊柱炎患者外周血 miR-155 表达及 Th17/Treg 平衡的关系[J].山西医科大学学报,2019,50(2):235-240.
- [15] LIU B, GAO W, ZHANG L, *et al.* Th17/Treg imbalance and increased interleukin-21 are associated with liver injury in patients with chronic severe hepatitis B[J]. International Immunopharmacology, 2017, 17(22):156-159.
- [16] ZENG J, ZHOU R, LUO Z, *et al.* Clinical evidence of acupuncture and related therapy in patients with cancer-pain: A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. Medicine, 2020, 99(45):239-245.
- [17] ZHU X M, SHI Y Z, CHENG M, *et al.* Serum IL-6, IL-23 profile and Treg/Th17 peripheral cell populations in pediatric patients with inflammatory bowel disease[J]. Pharmazie, 2017, 72(5):573-578.
- [18] 周燕,张媛媛. 系统性硬化症患者外周血中 miR-155 的表达与 Th17 细胞的关系[J].中国免疫学杂志,2019,35(16):2028-2031.
- [19] SHUAI L, CHENG Q, SHEN T, *et al.* CTLA4-Ig Abatacept Ameliorates Proteinuria by Regulating Circulating Treg/IL-17 in Adriamycin-Induced Nephropathy Rats[J]. BioMed Research International, 2020, 36(15):1426-1429.
- [20] 席卓娜,乔亚红,程方圆. miR-146a 和 miR-155 与慢性阻塞性肺炎病炎症表型的相关性分析[J].临床肺科杂志,2020,25(1):78-81,87.
- [21] ZHU F, LI H, LIU Y, *et al.* miR-155 antagomir protect against DSS-induced colitis in mice through regulating Th17/Treg cell balance by Jarid2/Wnt/ β -catenin[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 126(5):463-474.
- [22] KMIOEK T, RZESZOTARSKA E, WAJDA A, *et al.* The Interplay between Transcriptional Factors and MicroRNAs as an Important Factor for Th17/Treg Balance in RA Patients[J]. In J Mol Sci, 2020, 21(19):716.
- [23] HARJU E, RANTANEN A, HELMINEN M, *et al.* Health-related quality of life in patients with prostate cancer and in their spouses: A longitudinal clinical study[J]. Int J Clin Nurs, 2018, 27(13-14):2633-2639.