

树突细胞、白介素-23与溃疡性结肠炎的关系

江 勇, 吕宗舜, 张志广, 韩 涛

□背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种非特异性的结直肠炎症性器质性疾病。其发病机制尚不明确, 治疗效果差, 病情迁延反复, 有较高的致残率, 给患者家庭及社会带来沉重的负担。

江勇, 张志广, 天津医科大学第二医院消化内科 天津市 300121

吕宗舜, 天津医科大学总医院消化内科 天津市 300070

韩涛, 天津医科大学第三中心医院肝脏与消化科 天津市 300400

江勇, 主治医师, 主要从事胃肠道疾病的研究。

作者贡献分布: 本研究由江勇设计; 研究过程由吕宗舜与张志广指导, 由江勇完成; 结果判读由江勇与张志广完成; 数据分析及论文撰写由江勇、韩涛及张志广共同完成。

通讯作者: 张志广, 主任医师, 300121, 天津市河西区平江道 23 号, 天津医科大学第二医院消化内科。

zhiguang_zh@sina.com

电话: 022-88328825

收稿日期: 2014-11-21 修回日期: 2014-12-19

接受日期: 2014-12-30 在线出版日期: 2015-02-18

Relationship between dendritic cells, interleukin-23 and ulcerative colitis

Yong Jiang, Zong-Shun Lv, Zhi-Guang Zhang, Tao Han

Yong Jiang, Zhi-Guang Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300121, China

Zong-Shun Lv, Department of Gastroenterology, the General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Tao Han, Department of Hepatology and Gastroenterology, the Third Central Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300400, China

Correspondence to: Zhi-Guang Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, 23 Pingjiang Road, Hexi District, Tianjin 300121, China. zhiguang_zh@sina.com

Received: 2014-11-21 Revised: 2014-12-19

Accepted: 2014-12-30 Published online: 2015-02-18

Abstract

AIM: To evaluate the expression of dendritic cell (DCs) and interleukin (IL)-23 in ulcerative colitis (UC) to improve the diagnosis and treatment of UC.

METHODS: Sixty UC and 60 irritable bowel syndrome (IBS) colon tissue sections were used to detect the expression of S100⁺ DCs, CD83⁺ DCs and IL-23P19 by immunohistochemistry. The expression of IL-23P19 in the mucosa was compared between acute and chronic stages, between mild and severe type diseases, and between before and after mesalazine treatment in the UC group.

RESULTS: There was a statistical difference in the infiltrated densities of S100⁺ DCs, CD83⁺ DCs and IL-23P19 cells between the UC group and IBS group (27.48 cells/mm² ± 9.23 cells/mm² vs 9.20 cells/mm² ± 3.91 cells/mm², 6.62 cells/mm² ± 2.59 cells/mm² vs 3.20 cells/mm² ± 1.59 cells/mm², 105.97 cells/mm² ± 25.30 cells/mm² vs 32.48 cells/mm² ± 11.61 cells/mm², *P* < 0.05). In the UC group, there was a statistical difference in the expression of IL-23P19 between acute and chronic stages, between mild and severe type diseases, and between before and after mesalazine treatment (113.83 cells/mm² ± 28.83 cells/mm² vs 49.35 cells/mm² ± 8.11 cells/mm², 75.03 cells/mm² ± 21.39 cells/mm² vs 117.38 cells/mm² ± 28.32 cells/mm², 109.89 cells/mm² ± 25.73 cells/mm² vs 47.25 cells/mm² ± 8.67 cells/mm², *P* < 0.05).

CONCLUSION: In UC colon tissue, the production of IL-23P19 increases with the increase in the infiltrated density and activity of DCs. The expression of IL-23P19 may be used as an indicator for evaluation of the disease stage, the degree of pathological changes and treatment efficacy in UC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

□同行评议者
阴赓宏, 研究员,
首都医科大学附
属北京友谊医院
感染与急救医学

Key Words: Ulcerative colitis; Dendritic cells; Interleukin-23

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/834.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i5.834>

Jiang Y, Lv ZS, Zhang ZG, Han T. Relationship between dendritic cells, interleukin-23 and ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(5): 834-838 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/834.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i5.834>

摘要

目的: 探讨树突细胞(dendritic cell, DC)和白介素(interleukin, IL)-23对提高溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)诊治水平的价值和意义。

方法: 以UC、肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者的肠黏膜蜡块标本为研究对象, 应用免疫组织化学SP法检测两种病变肠黏膜中S100⁺DC、CD83⁺DC及IL-23P19的表达情况, 并分析UC组中急性发作期与慢性迁延期、轻型组与重型组, 美沙拉嗪治疗前后IL-23P19的浸润密度。

结果: UC与IBS患者肠黏膜中S100⁺DC、CD83⁺DC、IL-23P19的浸润密度(个/mm²)比较, 分别为27.48±9.23 vs 9.20±3.91, 6.62±2.59 vs 3.20±1.59, 105.97±25.30 vs 32.48±11.61, 差异有统计学意义($P<0.05$); UC组中, 急性发作期与慢性迁延期、轻型组与重型组、美沙拉嗪治疗前后IL-23P19浸润密度(个/mm²)比较, 分别为113.83±28.83 vs 49.35±8.11, 75.03±21.39 vs 117.38±28.32, 109.89±25.73 vs 47.25±8.67, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论: UC患者肠黏膜中, 随着DC表达的增多及分化能力增强, IL-23分泌增多; IL-23可作为UC判断疾病发作、病情轻重及疗效的监测指标。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 树突细胞; 白介素-23

核心提示: 本文详细阐述了不同时期、不同病变程度以及治疗前后溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)肠黏膜中白介素(interleukin)-23的表达的异同, 为UC的病情判断及其疗效判断提供了一种新的可能的指标。

江勇, 吕宗舜, 张志广, 韩涛. 树突细胞、白介素-23与溃疡性结肠炎的关系. *世界华人消化杂志* 2015; 23(5): 834-838

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种非特异性的结直肠炎症性器质性疾病, 病变主要局限在大肠黏膜及黏膜下层。其发病机制尚不明确, 治疗效果差, 病情迁延反复, 有较高的致残率, 给患者家庭及社会带来沉重的负担^[1]。因临床上患者的症状常与肠镜下的表现不一致, 即部分患者临床症状较轻而内镜下表现极重, 且目前对于UC病情的评估主要参照临床症状及多项临床化验指标, 有没有一种指标可以反映UC的病情? 近年来发现, 白介素(interleukin, IL)-23与UC关系密切, 可能给患者的病情评估及治疗带来希望。鉴于腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)与UC临床症状上极为相似, 但其为一种非器质性疾病, 故本实验以腹泻型IBS为对照组, 以IL-23及分泌IL-23的树突细胞(dendritic cell, DC)为研究对象, 观察其在两种疾病中的表达及其意义, 以提高UC的诊治水平。

1 材料和方法

1.1 材料 入选标准: 2004-05/2007-09天津医科大学总医院消化科门诊和病房行结肠镜及病理确诊为UC且病史完整的患者60例, 以其肠黏膜蜡块为研究对象。纳入标准参照2012年中华医学会消化病学分会炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)组修订的标准^[2]。以天津医科大学总医院同期收治的腹泻型IBS患者60例为对照组。患者均剔除合并恶性肿瘤、慢性肝病、细菌性痢疾、风湿免疫性疾病的患者。同时, 60例患者中选取其中经美沙拉嗪1.0 g tid(艾迪莎, 上海信谊药厂有限公司, 规格: 500 mg/袋)治疗1.5年的UC患者40例(有治疗前治疗后组织蜡块的患者)肠黏膜蜡块为研究对象。Ultrasentive SP免疫组织化学染色试剂盒及小鼠单抗S100购自福州迈新公司, 小鼠CD83及小鼠IL-23P19购自SEROTEC公司。

1.2 方法

1.2.1 实验: 免疫组织化学方法: 4 μm厚组织切片脱蜡水化, PBS冲洗; 热微波法修复10 min,

□研究前沿

因临床上UC患者的症状常与肠镜下的表现不一致, 且目前对于UC病情的评估主要参照临床症状及多项临床化验指标, 临床工作中极其需要一种指标可以反映UC的病情以及判断其疗效。

□相关报道

近年来发现, 白介素(interleukin, IL)-23与UC关系密切, 在UC患者血清及肠黏膜中呈高表达, 与病情的轻重关系密切, 可能给患者的病情评估及治疗带来希望。

创新亮点

本文应用免疫组化化学法检测UC和肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)肠黏膜中S100⁺DC、CD83⁺DC及IL-23P19的表达情况, 并分析UC组中不同时期、不同病变程度及治疗前后UC肠黏膜中IL-23的表达情况。

表 1 UC组与IBS组肠黏膜中各细胞浸润密度比较 ($n = 60$, mean \pm SD, 个/mm²)

分组	S100 ⁺ DC	CD83 ⁺ DC	IL-23P19
UC组	27.48 \pm 9.23	6.62 \pm 2.59	105.97 \pm 25.30
IBS组	9.20 \pm 3.91	3.20 \pm 1.59	32.48 \pm 11.61
<i>t</i> 值	5.751	5.026	11.348
<i>P</i> 值	<0.05	<0.05	<0.05

UC: 溃疡性结肠炎; IBS: 肠易激综合征; DC: 树突细胞; IL: 白介素。

表 2 急性发作期、慢性迁延期UC的IL-23P19浸润密度比较 (mean \pm SD, 个/mm²)

分组	<i>n</i>	IL-23P19
急性发作型	41	113.83 \pm 28.83
慢性迁延型	19	49.35 \pm 8.11
<i>t</i> 值		4.030
<i>P</i> 值		<0.05

UC: 溃疡性结肠炎; IL: 白介素。

过氧化物酶阻断溶液, 室温10 min, PBS冲洗; 小牛血清50 μ L, 室温10 min, 去血清, 加单抗体(S100, CD83, IL-23P19)50 μ L, 4 $^{\circ}$ C过夜; 生物素标记的第二抗体, 室温10 min; DAB溶液显色, 苏木素复染1 min封片。

1.2.2 结果的判定: DC的判断标准^[2,3]: 高倍镜($\times 400$)下胞质具有树状突起, S100或CD83蛋白标记阳性细胞为细胞质内或细胞核呈棕色颗粒着色; IL-23P19的阳性结果判断标准: IL-23P19蛋白标记阳性细胞胞质内或细胞核呈棕色颗粒着色。阴性表达的判断标准: 以高倍镜下($\times 400$)浏览整张切片, 均未发现阳性细胞着色者即为阴性。标记阳性细胞的计量: (1)于阳性表达的病例, 随机选取10个高倍镜($\times 400$)视野观察, 以上述标准, 对每个视野进行阳性细胞计数: 计数不同区域标记阳性细胞数。每高倍镜视野的面积为0.25 mm², 阳性细胞的浸润密度以单位面积下的阳性细胞数计算(个/mm²); (2)标记阳性细胞的计量结果: 阳性细胞数数据以mean \pm SD表示。标记阳性细胞密度 = 10 \times 高倍镜视野标记阳性细胞计数总和/2.5 mm²(每高倍镜视野的面积为0.25 mm²)。

统计学处理 采用SPSS17.0软件包对数据进行统计学处理, 计量数据服从正态分布者采用

表 3 轻、中、重度UC的IL-23P19浸润密度比较 (mean \pm SD, 个/mm²)

分组	<i>n</i>	IL-23P19
轻度UC组	30	75.03 \pm 21.39
中度UC组	22	88.46 \pm 25.25
重度UC组	8	117.38 \pm 28.32
<i>F</i> 值		48.700
<i>P</i> 值		<0.05

UC: 溃疡性结肠炎; IL: 白介素。

mean \pm SD表示, 多组间比较采用方差分析, 两组间比较采用*t*检验。 *P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 (1)UC组男性24例, 女性36例; 中位年龄43.5(28.3-62.5)岁, 病程4 mo-11年, 平均5.3年 \pm 1.9年。并对UC组进一步分组, 根据疾病所处的时期分为急性缓解期41例、慢性缓解期19例, 根据疾病严重程度又分为轻型30例、中型22例、重型8例; (2)IBS组男性22例, 女性38例; 中位年龄42.7(21.1-59.5)岁。两组患者性别、年龄差异均无统计学意义(*P*>0.05)。40例UC患者经美沙拉嗪治疗后, 33例(33/40)症状明显缓解; 7例(7/40)部分缓解或症状复发, 其中2例(2/40)于外科行全结肠切除术。

2.2 UC组与IBS组的S100⁺DC、CD83⁺DC、IL-23P19浸润密度(个/mm²)比较 浸润密度分别为: 27.48 \pm 9.23 vs 9.20 \pm 3.91, 6.62 \pm 2.59 vs 3.20 \pm 1.59, 105.97 \pm 25.30 vs 32.48 \pm 11.61, 差异均有统计学意义(*P*<0.05)(表1)。

2.3 UC组中急性发作期、慢性迁延期UC的IL-23P19浸润密度(个/mm²)比较 浸润密度为113.83 \pm 28.83 vs 49.35 \pm 8.11, *t* = 4.030, 差异有统计学意义(*P*<0.05)(表2)。

2.4 UC组中轻、中、重度UC的IL-23P19浸润密度(个/mm²)比较 轻度UC与中度UC比较差异无统计学意义(*F* = 48.7, *P*>0.05); 轻度、中度与重度UC比较差异有统计学意义(*P*<0.05)(表3)。

2.5 UC患者治疗前后(共40例)IL-23P19浸润密度(个/mm²)比较 浸润密度为109.89 \pm 25.73 vs 47.25 \pm 8.67, *t* = 4.265, 差异有统计学意义(*P*<0.05)(表4)。

应用要点

本文详细阐述了不同时期、不同病变程度及治疗前后UC肠黏膜中IL-23的表达情况, 为UC的病情判断及疗效判断提供了一种新的可能的指标。

表 4 UC患者治疗前后IL-23P19浸润密度比较 ($n = 40$, mean \pm SD, 个/ mm^2)

分组	IL-23P19
治疗前	109.89 \pm 25.73
治疗后	47.25 \pm 8.67
<i>t</i> 值	4.265
<i>P</i> 值	<0.05

UC: 溃疡性结肠炎; IL: 白介素.

3 讨论

DC是体内细胞免疫的重要抗原呈递细胞, 在体内发育过程需要经过不成熟和成熟两个阶段. S100几乎表达于所有DC^[3]; CD83是DC的成熟标志性蛋白^[3,4], 在DC培养早期不表达CD83分子, 当成熟时才表达CD83分子; IL-23主要由成熟的DC分泌产生^[5,6]. IL-23是由P19和IL-12的P40亚单位通过二硫键相连组成的异二聚体, P19为IL-23的特异性蛋白^[5,7]. Krajina等^[8]也发现慢性结肠炎小鼠模型结肠黏膜固有层组织内DC可表达大量的IL-23P19, 但所研究的成熟的DC为CD11c⁺DC, 而非CD83⁺DC. 本研究发现, IL-23P19的大量表达与DC的高表达相一致(包括S100及成熟的标志性蛋白CD83), 证实了随着DC的表达增多及分化能力增强, IL-23P19分泌增多; 同时, 还发现IL-23P19在UC、IBS两种疾病肠黏膜中均有表达, 说明IL-23在UC肠黏膜中不具有特异性; 但其在UC组织中的表达明显高于IBS组, 说明IL-23参与了UC的发病过程.

研究^[9]证实, IL-23可以诱导初始CD4⁺T细胞分化为具有致病性的Th17细胞, 并生成IL-17、IL-6和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 引发UC. Cayatte等^[10]对克罗恩病模型的小鼠给予IL-23抗体药物治疗后, 无论是结肠黏膜还是血清中促炎性因子均明显降低. Izcue等^[11]在T细胞移植诱导的慢性结肠炎小鼠模型中, 给予IL-23特有的P19亚单位克隆抗体或利用基因敲除P19可以有效地缓解T细胞依赖型的结肠炎的发生. 这些均提示IL-23在UC的发生、发展中起到了重要的作用, 可能成为UC治疗的一个新的靶点.

本实验发现, UC组中IL-23P19的表达在急性发作期比慢性迁延期要高, 差异有统计

学意义($P < 0.05$), 说明IL-23参与了UC的急性炎症反应, 也为监测UC的急性发作提供了可能. 本实验还发现局部肠黏膜中的IL-23P19的表达量与UC的病变程度存在正相关关系, 为判断UC的严重程度提供了新的可能的方向, 即监测局部肠黏膜中的IL-23P19的表达量以判断UC的严重程度. 这与Uhlig等^[12]相一致, Uhlig等^[12]在IBD肠黏膜内也发现, IL-23P19 mRNA水平比正常黏膜组织有较明显增高, 且IL-23P19 mRNA水平与结肠镜下炎症分级成正相关关系. 也与Mirsattari等^[13]及Mohammadi等^[14]研究基本一致, 他们发现UC患者外周血中的IL-23明显增多, 且与疾病的严重程度密切相关. 对于UC治疗前后IL-23的表达情况如何, 目前未见报道, 本实验发现IL-23P19的表达, 随着治疗的好转表达明显减少, 这也印证了在慢性缓解期其表达要明显少于急性发作期, 为判断UC的疗效以及停药的时机提供一种可能的指标.

4 参考文献

- Actis GC, Pellicano R, Rosina F. Inflammatory bowel diseases: Current problems and future tasks. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2014; 5: 169-174 [PMID: 25133045 DOI: 10.4292/wjgpt.v5.i3.169]
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012. 广州). *中华内科杂志* 2012; 51: 818-831
- Gulubova MV, Ananiev JR, Vlaykova TI, Yovchev Y, Tsoneva V, Manolova IM. Role of dendritic cells in progression and clinical outcome of colon cancer. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 159-169 [PMID: 22065108 DOI: 10.1007/s00384-011-1334-1]
- 詹俊, 孙小娟, 李楚强, 于钟. S100和CD83阳性树突状细胞与大肠肿瘤微环境的关系. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3061-3065
- Lee E, Trepicchio WL, Oestreicher JL, Pittman D, Wang F, Chamian F, Dhodapkar M, Krueger JG. Increased expression of interleukin 23 p19 and p40 in lesional skin of patients with psoriasis vulgaris. *J Exp Med* 2004; 199: 125-130 [PMID: 14707118 DOI: 10.1084/jem.20030451]
- Di Sabatino A, Pickard KM, Gordon JN, Salvati V, Mazzearella G, Beattie RM, Vossenaemper A, Rovedatti L, Leakey NA, Croft NM, Troncone R, Corazza GR, Stagg AJ, Monteleone G, MacDonald TT. Evidence for the role of interferon- α production by dendritic cells in the Th1 response in celiac disease. *Gastroenterology* 2007; 133: 1175-1187 [PMID: 17919493 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.08.018]
- Uhlig HH, McKenzie BS, Hue S, Thompson C, Joyce-Shaikh B, Stepankova R, Robinson N, Buonocore S, Tlaskalova-Hogenova H, Cua DJ, Powrie F. Differential activity of IL-12 and IL-23 in mucosal and systemic innate immune

■名词解释

S100: 几乎表达于所有的树突细胞中;
CD83: 是树突细胞的成熟标志性蛋白;
IL-23: 是由P19和IL-12的P40亚单位通过二硫键相连组成的异二聚体, P19为IL-23的特异性蛋白.

同行评价

本文设计合理、思路清晰, 在临床工作中对UC病情的判断及疗效的判断有一定的指导意义。

- 8 Krajina T, Leithäuser F, Möller P, Trobonjaca Z, Reimann J. Colonic lamina propria dendritic cells in mice with CD4⁺ T cell-induced colitis. *Eur J Immunol* 2003; 33: 1073-1083 [PMID: 12672074 DOI: 10.1002/eji.200323518]
- 9 Ahern PP, Izcue A, Maloy KJ, Powrie F. The interleukin-23 axis in intestinal inflammation. *Immunol Rev* 2008; 226: 147-159 [PMID: 19161422 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00705.x]
- 10 Cayatte C, Joyce-Shaikh B, Vega F, Boniface K, Grein J, Murphy E, Blumenschein WM, Chen S, Malinao MC, Basham B, Pierce RH, Bowman EP, McKenzie BS, Elson CO, Faubion WA, Malefyt Rde W, Kastelein RA, Cua D, McClanahan TK, Beaumont M. Biomarkers of Therapeutic Response in the IL-23 Pathway in Inflammatory Bowel Disease. *Clin Transl Gastroenterol* 2012; 3: e10 [PMID: 23238132 DOI: 10.1038/ctg.2012.2]
- 11 Izcue A, Hue S, Buonocore S, Arancibia-Cárcamo CV, Ahern PP, Iwakura Y, Maloy KJ, Powrie F. Interleukin-23 restrains regulatory T cell activity to drive T cell-dependent colitis. *Immunity* 2008; 28: 559-570 [PMID: 18400195 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.02.019]
- 12 Uhlig HH, Powrie F. Dendritic cells and the intestinal bacterial flora: a role for localized mucosal immune responses. *J Clin Invest* 2003; 112: 648-651 [PMID: 12952911 DOI: 10.1172/JCI200319545]
- 13 Mirsattari D, Seyyedmajidi M, Zojaji H, Haghighi M, Orimi PG, Shoushtarizadeh T, Almasi S. The relation between the level of interleukin-23 with duration and severity of ulcerative colitis. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2012; 5: 49-53 [PMID: 24834198]
- 14 Mohammadi M, Hayatbakhsh MM, Zahedi MJ, Jalalpour MR, Pakgohar A. Serum interleukin-23 levels in patients with ulcerative colitis. *Iran J Immunol* 2011; 8: 183-188 [PMID: 21931205]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

