

chemerin在克罗恩病患者血清中的水平及其临床意义

顾 颖, 庞 智, 皇甫照, 华 江, 周春立, 沈必武

顾颖, 庞智, 周春立, 沈必武, 江苏省苏州市立医院北区消化内科 江苏省苏州市 215008

庞智, 皇甫照, 华江, 苏州市消化系疾病与营养研究中心 江苏省苏州市 215008

作者贡献分布: 此课题由顾颖与庞智设计; 病例收集由庞智、顾颖、周春立及沈必武完成; 研究所用试剂与分析工具由顾颖、华江及皇甫照提供; 研究过程由庞智与皇甫照操作完成; 本论文写作由庞智与顾颖完成。

通讯作者: 庞智, 医学博士, 主任医师, 硕士生导师, 215008, 江苏省苏州市广济路242号, 江苏省苏州市立医院北区消化内科。pangzhi0273@sina.com

电话: 0512-62363008 传真: 0512-65332028

收稿日期: 2010-05-10 修回日期: 2010-06-29

接受日期: 2010-07-05 在线出版日期: 2010-08-18

Clinical significance of serum chemerin levels in patients with Crohn's disease

Wei Gu, Zhi Pang, Zhao Huangfu, Jiang Hua, Chun-Li Zhou, Bi-Wu Shen

Wei Gu, Zhi Pang, Chun-Li Zhou, Bi-Wu Shen, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital (North Area), Suzhou 215008, Jiangsu Province, China
Zhi Pang, Zhao Huangfu, Jiang Hua, Digestive Disease & Nutrition Research Center of Suzhou, Suzhou 215008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Zhi Pang, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital (North Area), 242 Guangji Road, Jinchang District, Suzhou 215008, Jiangsu Province, China. pangzhi0273@sina.com

Received: 2010-05-10 Revised: 2010-06-29

Accepted: 2010-07-05 Published online: 2010-08-18

Abstract

AIM: To analyze the clinical significance of serum chemerin levels in patients with Crohn's disease (CD) by evaluating the correlation of serum chemerin with gender, age and CD activity index (CDAI).

METHODS: Serum samples were collected from 50 CD patients and 50 healthy controls to determine chemerin levels by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The *t*-test was used to compare the statistic difference in serum chemerin levels between the two groups. The correlation of serum chemerin with gender, age and CDAI were analyzed by the *t* test, one-way analysis of variance, and Pearson's correlation.

RESULTS: Serum chemerin level was significantly higher in CD patients than in healthy controls ($124.18 \mu\text{g/L} \pm 21.32 \mu\text{g/L}$ vs $95.38 \mu\text{g/L} \pm 11.22 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$). There was a significant positive correlation between serum chemerin level and CDAI ($r = 0.438$, $P < 0.05$) though no correlation was noted between serum chemerin level and gender or age in CD patients (both $P > 0.05$).

CONCLUSION: These findings indicate that the potential regulatory function of chemerin in intestinal inflammation may be associated with the immunopathogenesis of CD.

Key Words: Chemerin; Crohn's disease; Enzyme-linked immunosorbent assay

Gu W, Pang Z, Huangfu Z, Hua J, Zhou CL, Shen BW. Clinical significance of serum chemerin levels in patients with Crohn's disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(23): 2483-2486

摘要

目的: 分析克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者血清chemerin的浓度与性别、年龄和疾病活动指数的关系, 探讨chemerin在CD中的临床意义。

方法: 选取CD患者50例与健康对照者50名作为研究对象, 应用ELISA法检测两组对象血清chemerin的浓度, 采用*t*检验比较两组间统计学差异。应用*t*检验、单因素方差分析及直线相关分析比较CD患者外周血中chemerin的浓度与性别、年龄和疾病活动指数的关系。

结果: 50例CD患者外周血中chemerin的浓度与50名健康对照者血清chemerin的浓度具有明显统计学差异, CD患者外周血中chemerin的浓度显著高于健康对照者($124.18 \mu\text{g/L} \pm 21.32 \mu\text{g/L}$ vs $95.38 \mu\text{g/L} \pm 11.22 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$)。CD患者血清chemerin浓度与疾病活动指数间存在显著的正相关($r = 0.438$, $P < 0.05$), 而与性别和年龄间均不存在显著的相关关系($P > 0.05$)。

■背景资料

chemerin是孤独G蛋白偶联受体chemerin R的内源性配体, 在组织中分布广泛, 具有调节先天性及获得性免疫反应, 调节骨骼的发育和代谢, 维持皮肤正常生理功能等多种生物学效应。最近的研究表明chemerin是一种脂肪因子, 其表达水平与肥胖相关, 并有调节脂肪细胞的分化、脂解, 促进脂肪细胞内胰岛素信号传导途径等生物学效应。因此chemerin是一种重要的生理调节肽。

■同行评议者

白爱平, 副教授, 南昌大学第一附属医院消化内科

■ 研发前沿

chemerin是一种新发现的脂肪因子,作为chemerin R的天然配体,具有多种生物学效应。克罗恩病是一种慢性非特异性肠道炎症状态,由脂肪细胞分泌的chemerin是否可以导致肠黏膜局部和全身的炎症反应增强,加重肠黏膜的功能障碍并对其他组织造成影响等问题尚未明确。深入研究chemerin和chemerin R系统的生物学功能,为寻找预防和治疗克罗恩病提供新的分子生物学靶点。

结论: CD患者chemerin水平明显升高,与疾病活动指数间存在显著的正相关。

关键词: Chemerin; 克罗恩病; 酶联免疫吸附试验

顾颖, 庞智, 皇甫照, 华江, 周春立, 沈必武. chemerin在克罗恩病患者血清中的水平及其临床意义. 世界华人消化杂志 2010; 18(23): 2483-2486

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/2483.asp>

0 引言

炎症性肠病主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎,是一种慢性非特异性的胃肠道炎症性疾病^[1,2]。CD患者腹腔内脂肪积聚,肠系膜脂肪组织肥大和黏膜下脂肪沉积是该病的特征^[3,4]。chemerin可由脂肪组织释放^[5,6],但至今尚未在CD患者中进行分析。血液中chemerin的活化形式含有134个氨基酸,其前体在结构上属于杀菌肽/半胱氨酸蛋白酶抑制剂家族。chemerin通过碳末端的处理后,具有趋化白细胞的功能,其受体ChemR23(chemokine like receptor 1, CMKLR1)属于G蛋白偶联受体,主要分布在单核细胞衍生的树突状细胞和巨噬细胞膜上^[7-9]。机体在正常状态下,除周血白细胞,其他组织产生的chemerin是以其前体形式分泌到细胞外的,chemerin前体活性很低,在蛋白水解酶的作用下去除碳末端的6个氨基酸转化为chemerin,即为ChemR23的强激动剂。chemerin-ChemR23通路在炎症反应、脂肪代谢等方面都具有重要作用。ChemR23的表达由促炎症性细胞因子,TLR配体和转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β)进行调节,而这些因子在IBD致病机制中起着重要作用^[10-13]。

本研究通过检测CD患者和健康者血清chemerin的水平,并对chemerin与临床指标进行统计学分析,从而探讨chemerin与CD之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2007-2010年在苏州市立医院北区消化科门诊就诊或住院的临床诊断资料完整、彼此无血缘关系的CD患者50例(诊断标准依据中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组制定的《中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》)^[14],其中男22例,女28例,平均年龄34.63岁 \pm 12.54岁;患者的疾病活动指数(CD activity index, CDAI)为179.25分 \pm 62.45分;平均病史7.24年 \pm 3.68年;疾病分类(维也纳分类)^[15]: A1为39例,

A2为11例, L1、L2、L3和L4分别为8、12、26和4例, B1、B2和B3分别为28、16和6例;所有患者近1 mo未使用皮质激素治疗,近3 mo未使用过免疫抑制剂,近期无明确感染病史,无严重心、肺和神经、精神疾病,并除外糖尿病及其他内分泌疾病患者,肝、肾功能损害者,服用避孕药的女性育龄患者以及创伤者等。健康对照组50例,均为门诊体检健康者,其中男24例,女26例,平均年龄35.19岁 \pm 11.61岁;CD组和健康对照组的性别构成比、年龄差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 试剂与材料: 采用的人chemerin酶联免疫分析试剂盒由美国R&D Systems公司生产,chemerin抗体为小鼠抗人chemerin单克隆抗体,与人chemerin有完全交叉反应,与血浆胰岛素、瘦素、脂联素、抵抗素等肽类激素无交叉反应。

1.2.2 血清制备: 按常规采血并收集血清装于EP管中, -20°C 冻存,待测。

1.2.3 操作步骤: 严格按照试剂盒说明书进行操作应在加终止液后15 min内。以450 nm波长依次测定各孔的吸光度(A值)。用标准品的浓度与A值计算出标准曲线的直线回归方程式,将标本的A值代入方程式,计算出样品浓度,再乘以稀释倍数,即为样品的实际浓度(单位为 $\mu\text{g/L}$)。

统计学处理 采用统计软件分析(SPSS15.0 for Windows, Chicago, IL)。计量数据用mean \pm SD表示;采用 t 检验比较两组间统计学差异。应用 t 检验、单因素方差分析和直线相关分析比较CD患者外周血中chemerin的浓度与性别、年龄和疾病活动指数的关系。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清chemerin水平的比较 先将CD组和健康对照组的血清chemerin值经自然对数转换以符合正态分布。CD组血清chemerin水平显著地高于健康对照组($P<0.01$)。在健康对照组,女性比男性有较高的血清chemerin水平($P<0.05$);而在CD组,性别之间血清chemerin水平的差异无统计学意义($P>0.05$,表1)。

2.2 血清chemerin和临床资料间的相关性 先将血清chemerin经自然对数转换以符合正态分布。在所有观察对象中作简单直线相关分析,血浆chemerin与CDAI间存在显著的正相关关系($r=0.438, P<0.05$),而与性别和年龄间均不存在显著的相关关系($P>0.05$)。

表 1 CD组和健康对照组的血清chemerin的比较

分组	n	chemerin($\mu\text{g/L}$)	P值
CD组	50	124.18 \pm 21.32 ^b	<0.01
男	22	120.86 \pm 23.11 ^a	>0.05
女	28	126.79 \pm 20.69	
健康对照组	50	95.38 \pm 11.22	
男	24	92.27 \pm 12.34 ^c	<0.05
女	26	98.25 \pm 10.06	

^aP>0.05 vs CD组女; ^bP<0.01 vs 健康对照组; ^cP<0.05 vs 健康对照组女.

3 讨论

2003年, Wittamer等^[7]在卵巢癌患者腹腔积液中分离、鉴定出G蛋白偶联受体ChemR23的配体,发现该配体是一种趋化蛋白,遂将其命名为chemerin,并同时将其ChemR23称作chemerin受体(chemerin receptor, chemerin R). 在炎症早期, chemerin能够趋化携有chemerin R的未成熟树突状细胞和巨噬细胞,起着联络天然性免疫与适应性免疫的作用^[8,9]. Prochemerin(相对分子质量约为18 000 Da)是chemerin(相对分子质量约为16 000 Da)的直接前体,其生物活性较chemerin显著降低. 凝血、纤溶、炎症反应中的丝氨酸蛋白酶(因子XII a、纤溶蛋白酶、弹性蛋白酶、组织蛋白酶G等)能去除prochemerin羧基端的数个氨基酸残基而使其激活,成为具有生物活性的chemerin. 研究^[16]表明chemerin在炎症部位的血管内皮细胞高表达,从而通过chemerin与ChemR23的特异性结合使ChemR23阳性的不成熟的浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cells, pDC)跨过单层的血管内皮到达炎症部位,然后不成熟的pDC和巨噬细胞与微生物产物TLR或炎症因子相互作用,从而使pDC成熟^[17]. 在成熟过程中, pDC失去了吞噬能力,却获得了抗原递呈能力,将抗原递呈给T淋巴细胞^[18]. T淋巴细胞到达炎症部位杀死病原体. 在以上这一过程中chemerin的活化是限速步骤^[19]. 最近有研究^[19,20]表明在炎症中一些天然杀伤细胞也表达ChemR23,且与树突状细胞同时存在. 提示在炎症过程中, chemerin同时趋化了自然杀伤细胞到达炎症部位,自然杀伤细胞通过单独分泌细胞因子或与树突状细胞相互作用来参与免疫反应. 最近研究^[21]发现除趋化作用外,脂肪细胞可以通过自分泌作用合成并分泌chemerin到胞外,作用于脂肪细胞及其周围细胞上的

ChemR23受体,在调节脂肪细胞分化和脂肪代谢中发挥重要作用.

chemerin是一种新发现的脂肪因子,作为chemerin R的天然配体,具有多种生物学效应. 然而, chemerin的确切生理作用目前并不十分清楚. CD患者腹腔内脂肪积聚,肠系膜脂肪组织肥大和黏膜下脂肪沉积是该病的特征^[3,4], chemerin可由脂肪组织释放^[5,6],参与机体的免疫应答过程,而促炎症性因子和多种免疫细胞在CD致病机制中起着重要作用^[10-13]. 为探讨chemerin在CD发生发展中的可能作用,本研究通过酶联免疫吸附试验检测了CD患者及健康者血清chemerin水平,并与健康对照者进行了比较,同时分析了血清chemerin与其他临床指标的关系. 结果表明CD患者血清chemerin水平显著高于健康者,提示血清chemerin水平变化与患者免疫功能紊乱的发生和发展有一定的关系,患者肠黏膜组织局部的慢性炎症反应加速了中性粒细胞产生各种蛋白酶进而活化prochemerin的过程,从而使局部chemerin浓度增加,继而导致入血的chemerin增加; CD患者血清chemerin水平与CDAI间存在显著的正相关关系,似可佐证这种推测. 外周血中chemerin浓度与年龄和性别之间未发现统计学意义,可能与试验的样本量不足有关. 本试验也显示了chemerin可能具有作为CD的诊断指标的潜力. 本研究选择CD患者作为研究对象,并且严格限制存在感染、应激状态的患者入组,目的是尽可能排除引起体内chemerin水平变化的其他因素,特别是排除感染性炎症对体内活性chemerin水平的干扰,这样使得chemerin测定值能更好的反映体内的真实情况和疾病的本质特征.

总之,外周血chemerin水平的明显升高,提示其与CD有明确相关性,可能这种因子在CD的发生、发展、及转归的病理生理机制中发挥重要作用,对于chemerin的深入研究,有望为阐明和治疗该疾病提供全新的途径.

4 参考文献

- 1 Cho JH. The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 458-466
- 2 Comalada M, Peppelenbosch MP. Impaired innate immunity in Crohn's disease. *Trends Mol Med* 2006; 12: 397-399
- 3 Schäffler A, Schölmerich J, Büchler C. Mechanisms of disease: adipocytokines and visceral adipose tissue--emerging role in intestinal and mesenteric diseases. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2:

■相关报道

2003年, Wittamer等在卵巢癌患者腹腔积液中分离、鉴定出G蛋白偶联受体ChemR23的配体,发现该配体是一种趋化蛋白,遂将其命名为chemerin,并同时将其ChemR23称作chemerin受体.

■同行评价

本文选题准确、设计合理、数据详实、结论可靠,为相关临床研究提供了可靠的实验资料。

- 103-111
- 4 Ahualli J. The double duct sign. *Radiology* 2007; 244: 314-315
- 5 Roh SG, Song SH, Choi KC, Katoh K, Wittamer V, Parmentier M, Sasaki S. Chemerin—a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 362: 1013-1018
- 6 Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, Zimmet P, Jowett J, Collier G, Walder K, Segal D. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology* 2007; 148: 4687-4694
- 7 Wittamer V, Franssen JD, Vulcano M, Mirjolet JF, Le Poul E, Migeotte I, Brézillon S, Tyldesley R, Blanpain C, Detheux M, Mantovani A, Sozzani S, Vassart G, Parmentier M, Communi D. Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *J Exp Med* 2003; 198: 977-985
- 8 Wittamer V, Bondue B, Guillaubert A, Vassart G, Parmentier M, Communi D. Neutrophil-mediated maturation of chemerin: a link between innate and adaptive immunity. *J Immunol* 2005; 175: 487-493
- 9 Zabel BA, Allen SJ, Kulig P, Allen JA, Cichy J, Handel TM, Butcher EC. Chemerin activation by serine proteases of the coagulation, fibrinolytic, and inflammatory cascades. *J Biol Chem* 2005; 280: 34661-34666
- 10 Monteleone G, Boirivant M, Pallone F, MacDonald TT. TGF-beta1 and Smad7 in the regulation of IBD. *Mucosal Immunol* 2008; 1 Suppl 1: S50-S53
- 11 Bleich A, Janus LM, Smoczek A, Westendorf AM, Strauch U, Mähler M, Hedrich HJ, Fichtner-Feigl S, Schölmerich J, Falk W, Hofmann C, Obermeier F. CpG motifs of bacterial DNA exert protective effects in mouse models of IBD by antigen-independent tolerance induction. *Gastroenterology* 2009; 136: 278-287
- 12 Zabel BA, Ohyama T, Zuniga L, Kim JY, Johnston B, Allen SJ, Guido DG, Handel TM, Butcher EC. Chemokine-like receptor 1 expression by macrophages in vivo: regulation by TGF-beta and TLR ligands. *Exp Hematol* 2006; 34: 1106-1114
- 13 Brown SJ, Mayer L. The immune response in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2058-2069
- 14 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *中华内科杂志* 2008; 47: 73-79
- 15 Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, Jewell DP, Rachmilewitz D, Sachar DB, Sandborn WJ, Sutherland LR. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6: 8-15
- 16 Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol* 2004; 5: 1219-1226
- 17 Vermi W, Riboldi E, Wittamer V, Gentili F, Luini W, Marrelli S, Vecchi A, Franssen JD, Communi D, Massardi L, Sironi M, Mantovani A, Parmentier M, Facchetti F, Sozzani S. Role of ChemR23 in directing the migration of myeloid and plasmacytoid dendritic cells to lymphoid organs and inflamed skin. *J Exp Med* 2005; 201: 509-515
- 18 Gilliet M, Liu YJ. Generation of human CD8 T regulatory cells by CD40 ligand-activated plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med* 2002; 195: 695-704
- 19 Moretta A, Marcenaro E, Parolini S, Ferlazzo G, Moretta L. NK cells at the interface between innate and adaptive immunity. *Cell Death Differ* 2008; 15: 226-233
- 20 Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, Zabel BA, Butcher EC, Parlee SD, Muruganandan S, Sinal CJ. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *J Biol Chem* 2007; 282: 28175-28188
- 21 Mårtensson UE, Fenyö EM, Olde B, Owman C. Characterization of the human chemerin receptor-ChemR23/CMKLR1—as co-receptor for human and simian immunodeficiency virus infection, and identification of virus-binding receptor domains. *Virology* 2006; 355: 6-17

编辑 曹丽鸥 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE 权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)