

肠黏膜细胞因子在肠易激综合征患者回肠及升结肠组织中的表达

刘修波, 张巍巍, 解祥军, 王青

刘修波, 张巍巍, 解祥军, 王青, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院东区消化内科 山东省青岛市 266071

作者贡献分布: 刘修波与王青对此文所作贡献均等; 此课题由刘修波、解祥军及王青设计; 研究过程由刘修波与王青操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王青提供; 数据分析由刘修波完成; 本论文的写作由刘修波、张巍巍及王青完成。

通讯作者: 王青, 主任医师, 266071, 山东省青岛市东海中路5号, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院东区消化内科。
wangq2008001@163.com

电话: 0532-88905630

收稿日期: 2010-12-22 修回日期: 2011-03-15

接受日期: 2011-03-23 在线出版日期: 2011-04-08

Expression of IL-6, IL-23 and TGF- β 1 in the mucosa of the ileum and ascending colon of patients with irritable bowel syndrome: an analysis of 110 cases

Xiu-Bo Liu, Wei-Wei Zhang, Xiang-Jun Xie, Qing Wang

Xiu-Bo Liu, Wei-Wei Zhang, Xiang-Jun Xie, Qing Wang, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Correspondence to: Qing Wang, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, 5 Donghai Middle Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. wangq2008001@163.com

Received: 2010-12-22 Revised: 2011-03-15

Accepted: 2011-03-23 Published online: 2011-04-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of interleukin (IL)-6, IL-23 and transforming growth factor beta1 (TGF- β 1) in the mucosa of the ileum and ascending colon of patients with irritable bowel syndrome (IBS).

METHODS: One hundred and ten patients with IBS and 40 healthy volunteers were included in the study. Mucosal samples were taken from the ileum and ascending colon of these subjects to detect the expression of IL-6, IL-23 and TGF- β 1 by immunohistochemistry.

RESULTS: The expression levels of IL-6 and

IL-23 in the mucosa of the ileum and ascending colon were higher in IBS patients than in controls (IL-6: 106.45 ± 12.54 vs 82.45 ± 11.52 , $t = 10.58$; 107.48 ± 18.75 vs 91.32 ± 10.45 , $t = 5.16$; IL-23: 10.68 ± 3.35 vs 4.78 ± 2.54 , $t = 10.12$; 11.42 ± 2.87 vs 5.20 ± 1.85 , $t = 12.76$, all $P < 0.05$). No significant difference was found in the expression level of TGF- β 1 in the mucosa of the ileum and ascending colon between the two groups ($t = 1.57$, 1.69 , both $P > 0.05$).

CONCLUSION: High expression of proinflammatory cytokines in the mucosa of the ileum and ascending colon may have a correlation with visceral perception and altered bowel habits in patients with IBS.

Key Words: Irritable bowel syndrome; Cytokine; Interleukin; Transforming growth factor β 1

Liu XB, Zhang WW, Xie XJ, Wang Q. Expression of IL-6, IL-23 and TGF- β 1 in the mucosa of the ileum and ascending colon of patients with irritable bowel syndrome: an analysis of 110 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(10): 1085-1088

摘要

目的: 研究肠易激综合征(IBS)患者回肠末端及升结肠黏膜组织中炎症因子白介素(IL)-6、IL-23及TGF- β 1的表达, 探讨IBS的发病机制。

方法: 选取110例IBS患者, 另选40例健康体检者为对照, 内镜下取回肠及升结肠肠黏膜组织各1块, 用免疫组织化学法测定回肠末端及升结肠肠黏膜中IL-6、IL-23及TGF- β 1水平。

结果: IL-6及IL-23在IBS患者回肠末端及升结肠肠黏膜的表达高于对照组(IL-6: 106.45 ± 12.54 vs 82.45 ± 11.52 , $t = 10.58$; 107.48 ± 18.75 vs 91.32 ± 10.45 , $t = 5.16$; IL-23: 10.68 ± 3.35 vs 4.78 ± 2.54 , $t = 10.12$; 11.42 ± 2.87 vs 5.20 ± 1.85 , $t = 12.76$, 均 $P < 0.05$); TGF- β 1在IBS患者回肠末端及升结肠肠黏膜的表达与对照组比较差异无统计学意义($t = 1.57$, 1.69 ,

■背景资料

肠易激综合征(IBS)是一种病因和发病机制不明的常见功能性胃肠道疾病, 临床症状主要为腹痛、腹部不适和排便习惯的改变。近年研究发现, 部分IBS患者存在炎症或免疫功能的异常改变。

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 福建省立医院消化内科

■相关报道

李延青等研究结果显示, IBS患者肠黏膜中存在Th1/Th2比例失调。

$P>0.05$).

结论: IBS患者回肠黏膜及升结肠炎性细胞因子表达水平升高, 促炎细胞因子与抑炎细胞因子失衡, 与IBS内脏感知及排便习惯的改变等症状的发生有一定相关性。

关键词: 肠易激综合征; 细胞因子; 白介素; 转化生长因子 $\beta 1$

刘修波, 张巍巍, 解祥军, 王青. 肠黏膜细胞因子在肠易激综合征患者回肠及升结肠组织中的表达. 世界华人消化杂志 2011; 19(10): 1085-1088

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1085.asp>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种病因和发病机制不明的常见功能性胃肠道疾病, 临床症状主要为腹痛、腹部不适和排便习惯的改变. 近年研究发现, 部分IBS患者存在炎症或免疫功能的异常改变^[1], 有报道认为IBS症状的出现与IBS患者中促炎作用的细胞因子和抑炎作用的细胞因子失衡有关^[2]. 李延青等^[3]研究结果显示在IBS患者肠黏膜存在Th1/Th2比例失调. 本文的主要目的是研究IBS患者升结肠及回肠黏膜促炎细胞因子IL-6、IL-23及抑炎细胞因子TGF- $\beta 1$ 的表达, 分析IBS患者的发病机制。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-08/2010-12青岛市市立医院消化科门诊及病房的IBS患者110例, 入组标准为符合罗马III诊断标准^[4,5], 且均为初诊病例, 无近期服药史, 其中男50例, 女60例, 年龄均18-80(平均 48.75 ± 13.44)岁, 所有患者大便常规和潜血检查结果均为阴性. 另取同期健康体检者40例为对照组, 其中男18例, 女22例, 年龄20-70(平均 51.24 ± 9.65)岁, 所入组者均无消化系统症状, 无免疫病及传染病史. IL-6、IL-23兔抗人多克隆抗体购自北京博奥森生物技术开发公司, TGF- $\beta 1$ 兔抗人多克隆抗体购自福建迈新生物制剂有限公司. 病理图像分析采用专业图像分析软件Image-ProPlus(IPP)6.0.

1.2 方法

1.2.1 结肠镜检查及黏膜活检: IBS患者组和对照组均接受Olympus260X型电子结肠镜检查排除器质性病变, 结肠镜检查者为有经验的内镜医师, 术中轻柔操作, 避免反复牵拉刺激, 进镜达回肠末端, 于距回盲瓣10 cm处用经高压蒸汽消

毒灭菌的活检钳钳取回肠黏膜组织1块, 退镜至距回盲瓣5 cm处钳取结肠黏膜组织1块, 组织大小在0.1-0.2 cm, 深达黏膜下层, 所取标本分别迅速置于1%中性甲醛中固定后石蜡包埋、切片, 用于免疫组织化学检查。

1.2.2 免疫组织化学染色: 采用免疫组织化学法检测回肠末端及升结肠黏膜组织中IL-6、IL-23及TGF- $\beta 1$ 的表达, IL-6、IL-23及TGF- $\beta 1$ 的阳性染色均主要位于胞质内, 为棕黄色颗粒沉积. 免疫组织化学结果定量判断标准: 染色后先在光镜下做定性观察. 然后于高倍镜下($\times 400$)观察肠黏膜IL-6、IL-23及TGF- $\beta 1$ 的阳性表达情况, 并随机选取互不重叠的5个视野. 用专业图像分析软件测定每个视野阳性染色的累积吸光度(累积吸光度 = 平均吸光度 \times 面积), 取其平均值作为该切片肠黏膜IL-6、IL-23及TGF- $\beta 1$ 表达的半定量指标. 操作严格按说明书进行。

统计学处理 应用SPSS13.0软件, 计量资料数据均以mean \pm SD表示, 两组间比较采用 t 检验, 以 $P<0.05$ 作为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-6在IBS患者组及对照组的表达 IL-6在IBS组回肠末端及升结肠肠黏膜的表达均显著高于对照组, 差异有统计学意义($t = 10.58, 5.16, P<0.05$, 表1)。

2.2 IL-23在IBS患者组及对照组的表达 IL-23在IBS组回肠末端及升结肠的表达均显著高于对照组, 差异有统计学意义($t = 10.12, 12.76, P<0.05$, 表1)。

2.3 TGF- $\beta 1$ 在IBS患者组及对照组的表达 TGF- $\beta 1$ 在IBS组回肠末端及升结肠的表达与对照组比较无明显差异, 差异无统计学意义($t = 1.57, 1.69, P>0.05$, 表1)。

3 讨论

目前普遍认为IBS是在特殊基质的基础上, 以神经系统、免疫系统和内分泌系统为中介, 社会心理因素刺激共同作用的身心性疾病^[6]. 免疫细胞在解剖结构上与肠神经系统的轴突纤维紧密相连, 说明肠道神经肌肉功能的改变可能与免疫细胞的活性有关. 细胞因子是由免疫细胞和非免疫细胞经刺激合成、分泌的一类具有广泛生物学活性的小分子蛋白质, 主要功能为调节免疫应答、参与炎症细胞分化发育、介导炎症反应等. 肠道炎症和IBS的关系已有很好的认识^[7], 致

表 1 各组不同部位肠黏膜IL-6、IL-23和TGF- β 1的表达

分组	n	IL-6		IL-23		TGF- β 1	
		回肠末端	升结肠	回肠末端	升结肠	回肠末端	升结肠
IBS患者组	110	106.45 \pm 12.54 ^a	107.48 \pm 18.75 ^a	10.68 \pm 3.35 ^a	11.42 \pm 2.87 ^a	9.35 \pm 4.59	10.35 \pm 2.78
对照组	40	82.45 \pm 11.52	91.32 \pm 10.45	4.78 \pm 2.54	5.20 \pm 1.85	10.62 \pm 3.78	11.25 \pm 3.17

^aP<0.05 vs 对照组.

炎细胞因子及抗炎细胞因子的失衡是导致免疫异常的重要因素。鞠辉等^[8]发现, 感染后IBS与溃疡性结肠炎缓解期患者肠黏膜细胞因子的表达差异无统计学意义, 但均高于正常对照组。常见的促炎细胞因子有IL-1、IL-1 β 、IL-8、TNF等, IL-6及IL-23均属于促炎细胞因子, IL-6属细胞因子家族, 可促进T淋巴细胞增殖, 刺激细胞毒性T淋巴细胞反应, 还可促进B淋巴细胞分化和诱导B淋巴细胞最终分化为浆细胞, 浆细胞可以分泌多种免疫球蛋白。IL-6基因的多态性能够改变患者对IBS的个体的敏感性, 对了解IBS的病理过程有一定的意义^[9]。

IL-23是近年来关注较多的细胞因子, 有研究表明, IL-23是自身免疫介导的炎症反应所必需的, IL-23由巨噬细胞及树突状细胞分泌, 是一个由亚单位p19和p40通过二硫键形成的异源二聚体分子, 结构为p19/p40, 任何一个单独的亚单位都不具有生物学活性, 只有两个亚单位结合在一起时, 才能发挥他的生物功能^[10], 可以对多种细胞发挥作用, 促进细胞因子的分泌, 其在体内调节作用主要是通过影响Th17细胞分泌IL-17及与其他细胞因子相互作用完成。IL-23在Th17的生长存活中起重要作用, IL-23能增加Th17细胞表达IL-17, 诱导IL-22, 抑制IL-10, 对稳定Th17的表型是必不可少的^[11], 但在体外, 因原始T淋巴细胞不表达IL-23受体, 因此高度纯化的原始T淋巴细胞在IL-23存在的情况下不能分化为Th17^[12], 只有在TGF及IL-6共同存在的情况下才能诱导原始T淋巴细胞向Th17细胞的分化^[12-14]。Th17细胞主要分泌IL-17, IL-17能诱导其他炎性细胞因子如IL-6、TNF及趋化因子MCP-1、MIP-2等表达, 介导炎症细胞到局部的浸润及组织损伤^[15]。

TGF- β 是一个多功能的细胞因子超家族, 有多种异构体, 其中最常见的是TGF- β 1几乎为所有的白细胞分泌, 主要作用为调节细胞增殖和分化、抑制免疫反应等, 能促进白细胞的分化、抑制其增殖, 能为白细胞的移动提供趋化刺激, 并调节其黏附^[16], 有研究表明TGF- β 缺失

的老鼠死于心脏病、肺炎及胃肠道感染, 表明TGF- β 在抑制炎症细胞的活化、增殖中起重要作用^[17], 本研究发现IBS患者回肠末端及升结肠肠黏膜IL-6及IL-23的表达增加, TGF- β 1阳性表达较对照组差别无统计学意义, 从而造成肠道黏膜促炎和抗炎细胞因子的表达失衡, 导致IBS肠道炎症及其持续存在。但仍不能否认TGF- β 在IBS发病中的作用, 其在IBS发病机制中可能通过非直接的方式发挥作用。

肠道黏膜是机体免疫机制的一部分, 本研究表明IBS患者小肠及结肠黏膜内免疫细胞数增多, 这些免疫细胞与肠神经系统的轴突在解剖学上有着紧密连接, 细胞因子等炎症介质可直接作用于肠道初级传入纤维引起内脏感觉的高敏感性^[18], 同时还可通过脑-肠轴影响肠道运动和分泌功能^[19]。肠道的低度炎症能破坏肠黏膜的屏障功能, 引起分泌、吸收障碍。促炎细胞因子与抗炎细胞因子失衡, 以促炎因子的反应为特征, 引起肠道感觉异常, 排便性状改变等症状。可能为IBS的一致病因素, 但仍需大样本临床研究以证实。

4 参考文献

- Ohman L, Isaksson S, Lundgren A, Simrén M, Sjövall H. A controlled study of colonic immune activity and beta7+ blood T lymphocytes in patients with irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 980-986
- 陈浩, 柯美云. 肠易激综合征与炎症关系的研究现状. *国际消化病杂志* 2007; 27: 172-174
- 李延青, 张海燕, 左秀丽, 袁海鹏, 卢雪峰, 李君曼. 肠易激综合征患者肠黏膜Th1/Th2漂移的研究. *中华消化杂志* 2004; 24: 728-731
- Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1466-1479
- 功能性胃肠病的罗马Ⅲ诊断标准. *现代消化及介入诊疗* 2007; 12: 137-140
- Borowiec AM, Fedorak RN. The role of probiotics in management of irritable bowel syndrome. *Curr Gastroenterol Rep* 2007; 9: 393-400
- 刘雁冰, 刘菲, 袁耀宗. 肠道炎症与肠易激综合征. *国外医学·消化系疾病分册* 2004; 24: 326-329
- 鞠辉, 刘希双, 王光兰, 尹晓燕, 刘华, 戴素美. 感染后

■应用要点

IBS患者回肠黏膜及升结肠炎性细胞因子表达水平升高, 促炎细胞因子与抑炎细胞因子失衡, 与IBS内脏感知及排便习惯的改变等症状的发生有一定相关性。

■同行评价

本文科学性较好,方法先进,结果可靠,对IBS的临床防治有参考意义。

- 肠易激综合征与溃疡性结肠炎缓解期患者肠黏膜细胞因子表达的相关性. 世界华人消化杂志 2007; 15: 844-848
- 9 Dinan TG, Quigley EM, Ahmed SM, Scully P, O'Brien S, O'Mahony L, O'Mahony S, Shanahan F, Keeling PW. Hypothalamic-pituitary-gut axis dysregulation in irritable bowel syndrome: plasma cytokines as a potential biomarker? *Gastroenterology* 2006; 130: 304-311
- 10 Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B, Vega F, Yu N, Wang J, Singh K, Zonin F, Vaisberg E, Churakova T, Liu M, Gorman D, Wagner J, Zurawski S, Liu Y, Abrams JS, Moore KW, Rennick D, de Waal-Malefyt R, Hannum C, Bazan JF, Kastelein RA. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity* 2000; 13: 715-725
- 11 McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, Cua DJ. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol* 2007; 8: 1390-1397
- 12 Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-234
- 13 Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006; 24: 179-189
- 14 Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441: 235-238
- 15 Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004; 21: 467-476
- 16 Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 137-161
- 17 Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M, Allen R, Sidman C, Proetzel G, Calvin D. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 1992; 359: 693-699
- 18 Cenac N, Andrews CN, Holzhausen M, Chapman K, Cottrell G, Andrade-Gordon P, Steinhoff M, Barbara G, Beck P, Bunnett NW, Sharkey KA, Ferraz JG, Shaffer E, Vergnolle N. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome. *J Clin Invest* 2007; 117: 636-647
- 19 Drossman DA, Camilleri M, Mayer EA, Whitehead WE. AGA technical review on irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; 123: 2108-2131

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

●消息●

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿,保证稿件尽快公平、公正的处理,《世界华人消化杂志》编辑部研究决定,从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费.审稿周期及发表周期不变.(编辑部主任:李军亮 2011-01-01)