

IL-6、IL-23 在肠易激综合征患者肠黏膜的表达及意义

刘修波 卫红军 张巍巍 王 青[△]

(青岛大学医学院附属青岛市市立医院 山东 青岛 266071)

摘要 目的 研究肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者回肠末端及升结肠黏膜组织中白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-23(interleukin-23, IL-23)的表达。方法 70例腹泻型和40例便秘型IBS患者及30例健康人,用免疫组化法测定回肠末端及升结肠黏膜中IL-6及IL-23水平。结果 IL-6及IL-23在腹泻型及便秘型IBS患者回肠末端及升结肠的表达均高于对照组($P<0.05$)。结论 IBS患者回肠及升结肠黏膜炎性细胞因子表达水平升高,可能与IBS症状有关。

关键词 肠易激综合征 细胞因子 白介素

中图分类号 R574.4 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)07-1250-03

Expression of IL-6 and IL-23 in Bowel Mucosa of Patients with Irritable Bowel Syndrome

LIU Xiu-bo, WEI Hong-jun, ZHANG Wei-wei, WANG Qing[△]

(Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao, 266071, Shandong, China)

ABSTRACT Objective: To study expression of interleukin (IL)-6 and IL-23 in the mucosa of ileum as well as in the ascending colon. **Methods:** The ileum and ascending colon from 70 cases of diarrhea type of IBS, 40 cases of constipation group type of IBS and 30 cases of healthy volunteers as control were collected and detected the IL-6 and IL-23 expression using immunohistochemistry. **Results:** Both diarrhea group and constipation group, IL-6 and IL-23 were highly expressed in the mucosa of ileum and ascending colon than control group ($P<0.05$). **Conclusion:** The highly expression of IL-6 and IL-23 in the mucosa of ileum and ascending colon may be related to symptoms of IBS.

Key words: Irritable Bowel Syndrome; Cytokines; Interleukin

Chinese Library Classification(CLC): R574.4 **Docment code:** A

Article ID: 1673-6273 (2011) 07-1250-03

前言

肠易激综合征(Irritable Bowel Syndrome, IBS)是一种常见的功能性胃肠道疾病,人群发病率为14%-22%^[1],其发病机制尚不完全明确。有研究表明炎性细胞因子与IBS的发生有一定的关系^[2-3],其症状的出现与肠易激综合征患者中起促炎作用的细胞因子(Cytokines, CK)和起抑炎作用的细胞因子失衡有关^[4]。在IBS患者的结肠黏膜组织中发现一些中度非特异性炎症改变^[5]。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]。本文主要通过研究肠易激综合征患者升结肠及回肠末端肠黏膜中IL-6及IL-23的表达探讨肠易激综合征的发病机制。

1 材料与方法

1.1 病例的选取和试剂

选取2009年8月-2010年8月青岛市市立医院消化科门

诊及病房的患者共110例为研究对象,所入组的患者均按IBS罗马III标准^[7-8]诊断为IBS。且均为初诊病例,无服药治疗史,其中,男50例,女60例,年龄均在18岁-80岁之间,平均年龄 48.75 ± 13.44 岁。其中腹泻型IBS患者70例,便秘型患者40例,所有患者大便常规和潜血检查结果均为阴性。另取同期30例健康查体者作为对照组,所选患者均无消化道症状,无免疫疾病史,无痢疾、疟疾等传染病史,其中男14例,女16例,年龄均在20-70岁之间,平均年龄 52.54 ± 12.93 岁,入组前均签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 标本的采集和处理 肠易激综合征患者和正常对照者均接受结肠镜检查排除器质性病变,检查前2天食用易消化食物,禁食刺激性食物,于检查前一晚服用复方聚乙二醇电解质散(博福-益普生制药有限公司)行肠道准备(73.59g入2000ml水中溶解),检查当日早8点再服用上述复方聚乙二醇电解质散溶液,至检查前患者最后一次排便为淡黄色水样便,无粪质。结肠镜检查者为有经验的内镜医师,采用单人结肠镜操作技术,术中操作轻柔,避免反复牵拉刺激,进镜达回肠末端,于距回盲瓣10cm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5cm处钳取结肠黏膜组织1块,组织大小在0.1-0.2cm之间,深达黏膜下层,所取标本分别

作者简介 刘修波(1983),女,硕士研究生,研究方向炎症性肠病,电话:15165280235, E-mail: liuxiubo551@163.com

[△]通讯作者 王青, E-mail: wangq2008001@163.com

(收稿日期 2010-12-16 接受日期 2011-01-10)

迅速置于4%中性甲醛中固定、石蜡包埋、切片,用于免疫组化检查。

1.2.2 免疫组化染色 IL-6、IL-23 兔抗人多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司。主要步骤如下:切片脱蜡水化,于3%过氧化氢孵育10分钟以消除内源性过氧化氢酶活性, PBS液洗3次,每次各5分钟,滴加山羊血清封闭液,置室温封闭30分钟,清去多余液体,滴加浓度为1:200的I抗50μl, 37℃恒温孵育1小时, PBS液洗3次,每次各5分钟,滴加酶标单抗鼠/兔IgG聚合物50μl, DAB显色1分钟,于显微镜下根据染色程度,苏木素复染1分钟,脱水、固定、封片、镜检。用PBS代替I抗做阴性对照。

1.2.3 结果判定 IL-6及IL-23的阳性染色主要位于胞质内,为棕黄色颗粒沉积。免疫组化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(×400)观察肠黏膜IL-6及

IL-23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Image-ProPlus(IPP)6.0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×面积),取其平均值。

1.2.4 统计学处理 应用SPSS13.0软件,计量资料数据均以mean±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及正常人组表达

IL-6的阳性染色主要位于胞质内,呈黄色或棕色颗粒沉积(图1)。无论在腹泻型或者便秘型组,回肠末端及升结肠肠黏膜的表达均显著高于对照组(P<0.05),差异有统计学意义,见表1。

表1 各组不同部位肠黏膜IL-6的吸光度

Table 1 OD Value of IL-6 in different part of bowel mucosa in each group

Groups	n (cases)	Ileum	Ascending colon
Diarrhea type	70	107.75± 15.62*	110.21± 20.65*
Constipation type	40	100.25± 10.35*	102.30± 15.20*
Control group	30	82.75± 10.32	90.25± 11.35

* compared with control group P<0.05

2.2 IL-23在IBS及正常人组的表达

IL-23的阳性染色位于胞质内,为黄色或棕色颗粒沉积(图

2),无论在腹泻型或者便秘型组,回肠末端及升结肠肠黏膜的表达均显著高于对照组(P<0.05),差异有统计学意义,见表2。

表2 各组不同部位肠黏膜IL-23的吸光度

Table 2 OD Value of IL-23 in different part of bowel mucosa in each group

Groups	n (cases)	Ileum	Ascending colon
Diarrhea type	70	11.43± 2.54*	11.86± 3.15*
Constipation type	40	10.42± 2.35*	11.25± 2.46*
Control group	30	4.86± 1.84	5.21± 1.95

* compared with control group P<0.05

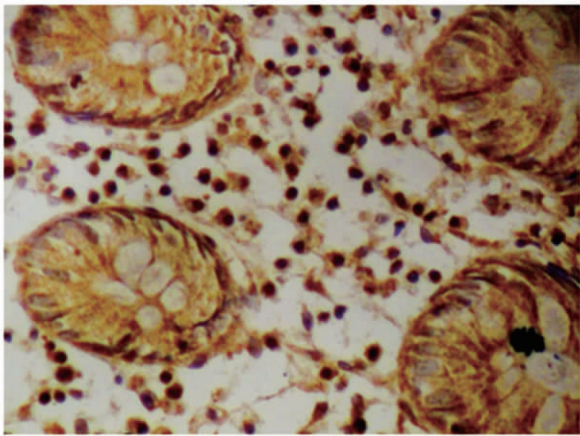


图1 IL-6在IBS患者肠黏膜表达,胞质呈阳性(×400)
Fig.1 The expression of IL-6 in bowel mucosa with IBS (×400)

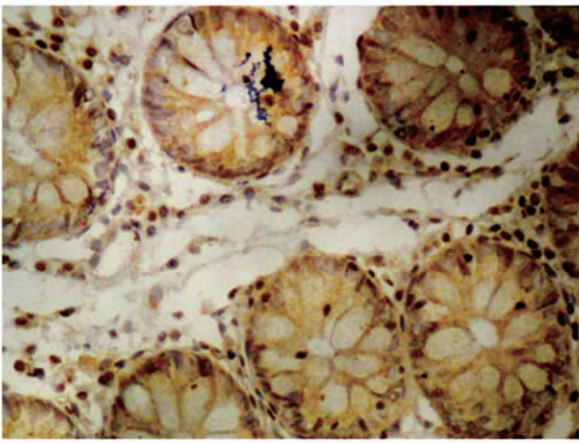


图2 IL-23在IBS患者肠黏膜表达,胞质呈阳性(×400)
Fig.2 The expression of IL-23 in bowel mucosa with IBS (×400)

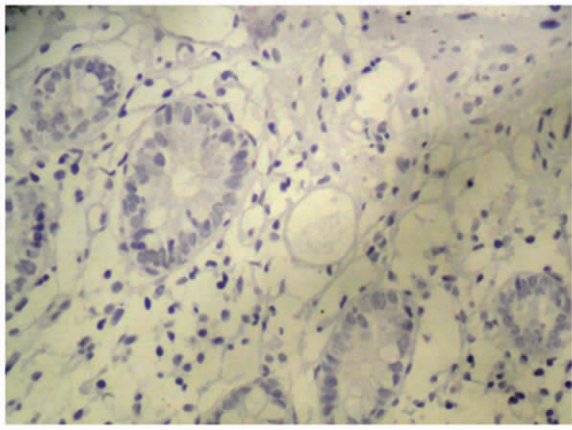


图3 阴性对照 (× 400)

Fig.3 The Negative control (× 400)

3 讨论

目前有研究认为肠道的低度炎症是产生 IBS 症状的重要因素之一^[9],王伟岸^[10]等发现,IBS 患者肠黏膜肥大细胞和肥大细胞的活化程度增加。炎症对肠黏膜屏障、传入神经及免疫功能均有影响,对中枢神经系统亦有一定的作用,最终导致肠道的分泌功能、运动功能及内脏感知的改变,同时激活肠道黏膜免疫系统,引起各种炎症细胞及免疫细胞增加,也使炎症介质表达增加^[11],释放多种细胞因子。细胞因子是由机体免疫细胞和非免疫细胞合成和分泌的具有多种生物活性的小分子蛋白质物质的组成,白介素 (IL) 是体内重要的细胞因子类型,参与免疫及炎症反应,致炎细胞因子及抗炎细胞因子的平衡失调是导致免疫异常的重要因素。

白介素-6(IL-6)属于细胞因子家族,主要由单核细胞、巨噬细胞分泌,很小一部分由成纤维细胞、上皮细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、软骨形成细胞和羊膜细胞分泌。IL-6 具有复杂的生物学功能,在机体免疫应答、血细胞生成、炎症反应以及促进肿瘤细胞生长中起重要作用。可促进 T 细胞增殖,刺激细胞毒性 T 细胞反应,还可促进 B 细胞活化、增殖分化,促进粒细胞、单核细胞和巨噬细胞增殖,并进一步释放细胞因子,引起机体的免疫炎症反应,与临床活动度和 C 反应蛋白相关,是一种适宜的肠道炎症性标记物。已有研究表明 IL-6 基因的多态性能够改变患者对肠易激综合症的个体的敏感性,对了解肠易激综合症的病理过程有一定的意义^[12]。与 IL-6 有密切相关性的 IL-23 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,亦属于细胞因子家族,其结构为 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,才能发挥它的生物功能^[13],在体内的免疫调节作用很复杂,其主要是通过影响 Th17 细胞及与其它细胞因子的相互作用完成。Th17 细胞是新近发现的一群以分泌 IL-17 为特征的 CD4 + T 细胞亚群^[14-15],其功能为清除特殊的传染源,诱导炎症反应及炎症细胞的分化,具有促进免疫反应的效应,只有在 TGF-β 及 IL-6 共同存在的条件下,Th0 细胞向 Th17 分化,IL-23 在 Th17 细胞的生长存活中起重要作用,能稳定 Th17 的表型,IL-23 主要作为一种促炎症细胞因子通过作用于记忆性 T 细胞和炎症

性巨噬细胞的 IL-23 受体而发挥功能,影响免疫反应。

促炎细胞因子 IL-6 及 IL-23 通过不同的途径诱导炎症及免疫反应,炎性细胞因子作用于肠道神经元和平滑肌细胞,通过肠道局部的神经内分泌网络的复杂作用,引起感觉运动功能的可塑性改变,导致肠黏膜化学感受器和机械感受器对各种刺激的敏感性增高^[16],从而改变了人胃肠道动力系统^[17],引起肠道运动和感知的变化。

本研究发现 IBS 患者回肠末端及升结肠黏膜 IL-6 及 IL-23 的表达水平较健康人组均显著升高,推测其可能为肠易激综合症的重要致病因素并与肠易激综合症的临床症状有一定的相关性。

参考文献(References)

- [1] Talley NJ, Zinsmeister AR, Van Dyke C, et al. Epidemiology of colonic symptoms and the irritable bowel syndrome [J]. Gastroenterology, 1991,101(4):927 - 934
- [2] Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute campylobacter enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome [J]. Gut, 2000,47(6):804-811
- [3] Tornblom H, Lindberg G, Nyberg B, Verss B. Full-thickness biopsy of the jejunum reveals inflammation and enteric neuropathy in irritable bowel syndrome [J]. Gastroenterology. 2002,123(6):1972-1979
- [4] 陈浩,柯美云.肠易激综合症与炎症关系的研究现状[J].国际消化病杂志,2007,27 (3) :172-174
Chen Hao, Ke Mei-yun. Current research situation of the relationship between irritable bowel syndrome and inflammation [J]. International Journal Of Digestive Disease, 2007,27(3):172-174
- [5] Hadwick VS, Chen W, Shu D, et al. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome [J]. Gastroenterology, 2002,122 (7):1778-1783
- [6] Borowiec AM, Fedorak RN. The role of probiotics in management of irritable bowel syndrome [J]. Curr Gastroenterol Rep, 2007, 9 (5): 393-400
- [7] Tack J, Talley NJ, Camilleri M, et al. Functional gastroduodenal disorders [J]. Gastroenterology, 2006,130(5):1466-1479
- [8] 罗马委员会.功能性胃肠病的罗马III诊断标准 [J].现代消化及介入诊疗,2007,12(2):137-140
Rome Committee. Diagnostic Criteria of Rome III for Functional Gastrointestinal Disorders [J]. Modern Digestion & Intervention, 2007,12(2):137-140
- [9] Dinan TG, Quigley EM, Ahmed SM, et al. Hypothalamic-Pituitary-Gut Axis Dysregulation in Irritable Bowel Syndrome: Plasma Cytokines as a Potential Biomarker [J]. Gastroenterology, 2006,130(2):304-311
- [10] 王伟岸,钱家鸣,潘国宗.结肠黏膜肥大细胞活化在肠易激综合症发病中的作用[J].中华消化杂志,2003,23 (5) :263-266
Wang Wei-an, Qian Jia-ming, Pan Guo-zong. The role of activation of colonic mucosal mast cells in the pathophysiology of irritable bowel syndrome [J]. Chinese Journal of Digestion, 2003,23(5):263-266
- [11] Morise K, Farusawa A, Ymamoto H, Role of gut hormones in irritable bowel syndrome [J]. Nippon Rinshon, 1992,50(11):2697-2702
- [12] Barkhordari E, Rezaei N, Ansari-pour B, et al. Proinflammatory Cytokine Gene Polymorphisms in Irritable Bowel Syndrome [J]. Clin Immunol, 2010,30(1):74-79

(下转第 1288 页)

创外科杂志, 2007,1(1):1

Huang Zhi-qiang. from the concept of minimally invasive techniques to minimally invasive - - today and tomorrow Surgery Surgery[J]. Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery, 2007, 1 (1): 1

- [6] 张阳德, 黄知果, 刘勤, 等. 腹腔镜胆囊切除术中胆总管结石的处理[J]. 中国内镜杂志, 2004,10(12):426

Zhang Yang-de, Huang Zhi-guo, Liu Qin, et al. Laparoscopic cholecystectomy in the treatment of cystic duct stones [J]. China Journal of Endoscopy, 2004,10 (12): 426

- [7] 吴金术, 吕品, 蒋波, 等. 肝内胆管结石 276 例治疗经验[J]. 肝胆胰外科杂志, 2009,21(1):18-20

Wu Jin-shu, Lu Pin, Jiang Bo, et al. Intrahepatic bile duct stone treatment experience of 276 cases [J]. Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, 2009,21 (1):18-20

- [8] 李向红, 龚家明, 杨志明. 钬激光联合胆道镜在治疗难取性胆道残余结石中的价值[J]. 右江医学, 2007,35(6):648-649.

Li Xiang-hong, Gong Jia-ming, Yang Zhi-ming. Holmium laser and mirror in the treatment of biliary tract refractory bile duct stones in the residual value of [J]. Youjiang Medicine, 2007,35 (6):648-649

- [9] 梁超群, 唐力. 经 T 管窦道纤维胆道镜取石 106 例体会[J]. 肝胆外科杂志, 2002,10(4):283-284

Liang Qie-qun, Tang Li. The T tube tract stone choledochofiberscopy experience of 106 cases [J]. Journal of Hepatobiliary Surgery, 2002,10 (4):283-284

- [10] 陈希纲, 刘家奇, 王文光. 肝胆管结石在胆道外科中的重要地位[J]. 肝胆外科杂志, 1998,6(3):167-169

Chen Xi-gang, Liu Jia-qi, Wang Wen-guang. Bile duct stones in the

biliary surgery in an important position [J]. Journal of Hepatobiliary Surgery, 1998,6 (3):167-169

- [11] 曹文声, 范钦桥, 吴新军, 等. 肝胆管结石的治疗模式选择与评价(附 703 例分析)[J]. 肝胆胰外科杂志, 2007,19(1):47-49

Cao Wen-sheng, Fan Qin-qiao, Wu Xin-jun, et al. Hepatolithiasis treatment mode selection and evaluation (with 703 cases analysis) [J]. Journal of Hepatopancreatobiliary Surgery, 2007,19 (1):47-49

- [12] 董家鸿, 黄志强, 蔡景修, 等. 规则性肝段切除术治疗肝内胆管结石病[J]. 中华普通外科杂志, 2002,17(7):418-420

Dong Jia-hong, Huang Zhi-qiang, Cai Jing-xun, et al. The rules of hepatic resection for intrahepatic bile duct stones [J]. Journal of General Surgery, 2002,17 (7):418-420

- [13] 何晓, 廖庚进, 王小农. 肝内胆管结石治疗体会(附 334 例报告)[J]. 肝胆胰外科杂志, 2007,19(2):106-108

He Xiao, Liu Geng-jin, Wang Xiao-nong. Treatment of intrahepatic bile duct stones (with 334 cases reported) [J]. Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, 2007,19 (2):106-108

- [14] 内山钾, 大西小时, 坦, 等. 指示和程序, 肝胆管结石研究[J]治疗. 拱杂志, 2002,137 (2):149 - 153

Uchiyama K, Onishi hours, Tanzania, et al. Instructions and procedures, bile duct stones of [J] treatment. Arch Journal, 2002,137 (2):149 - 153

- [15] Counaud 三肝脏外科解剖重新甲烷. 解剖肝脏的背部部门. 肝脏解剖的新思考[米]. 巴黎 Pers 的埃德, 1989:26 - 39

Counaud liver anatomy of the three re-methane. Anatomy of the liver on the back department. New Thinking on anatomy of the liver [m]. Paris: Pers Ed, 1989:26 - 39

(上接第 1252 页)

- [13] Oppmann B, Lesley R, Blom B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12 [J]. Immunity, 2000,13(5):715-725

- [14] Park H, Li Z, Yang XO, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17 [J]. Nat Immunol, 2005,6(11):1133-1141

- [15] Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD4+effector T cells develop via a lineage distinct from the T

helper type 1 and 2 lineages [J]. Nat Immunol. 2005,6 (11):1123-1132

- [16] Collins SM, Piche T, Rampal P. The putative rule of inflammation in the irritable bowel syndrome [J]. Gut, 2001,49:743-745

- [17] Ró ka R, Ait-Belgnaoui A, Salvador-Cartier C, et al. Dexamethasone prevents visceral hyperalgesia but not colonic permeability increase induced by luminal protease-activated receptor-2 agonist in rats [J]. Gut, 2007,56 (8):1072-1078