

正常眼压性青光眼患者外周血中 IL-6 和 IL-12 含量研究的意义

韦斌¹, 盛向东¹, 具尔提·哈地尔², 尹鸿燕¹

作者单位:¹(834000)中国新疆维吾尔自治区克拉玛依市中心医院眼科;²(830054)中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市,新疆医科大学第一附属医院眼科

作者简介:韦斌,男,硕士,副主任医师,研究方向:青光眼、白内障。

通讯作者:韦斌. klmyweibin@sina.com

收稿日期:2010-03-24 修回日期:2010-05-29

Significance of peripheral blood levels of IL-6 and IL-12 in patients with normal tension glaucoma

Bin Wei¹, Xiang-Dong Sheng¹, Juret · Kadir², Hong-Yan Yin¹

¹Department of Ophthalmology, Kelamayi Central Hospital, Kelamayi 834000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China;

²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumchi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Bin Wei. Department of Ophthalmology, Kelamayi Central Hospital, Kelamayi 834000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. klmyweibin@sina.com

Received: 2010-03-24 Accepted: 2010-05-29

Abstract

• **AIM:** To assess the role of the immune system in the pathophysiology of normal tension glaucoma (NTG) by analyzing the level difference of the cytokine interleukin-6 (IL-6) and IL-12 in peripheral blood between patients with NTG and cataract.

• **METHODS:** The concentrations of IL-6, IL-12 were assessed in 37 cases of NTG patients, 40 cases of cataract patients by Enzyme-Linked immunosorbent assay, 3mL peripheral blood was extracted separately to do the test. No significant differences existed in age or gender between the two groups.

• **RESULTS:** IL-6, IL-12 concentrations in NTG group and cataract group were (1.402 ± 2.297) pg/mL, (8.214 ± 5.355) pg/mL and (12.475 ± 3.973) pg/mL, (20.116 ± 4.216) pg/mL respectively. The mean concentrations of IL-6 and IL-12 in NTG group were significantly lower than these in cataract group ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** The levels of IL-6, IL-12 in peripheral blood of patients with NTG were lower than those of cataract group. The alteration of the cellular immune system in patients with NTG supports our hypothesis that the immune system may play an important role in the initiation and sustainment of glaucomatous optic neuropathy.

• **KEYWORDS:** normal tension glaucoma; immune; interleukin

Wei B, Sheng XD, Kadir J, *et al.* Significance of peripheral blood levels of IL-6 and IL-12 in patients with normal tension glaucoma.

Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi) 2010;10(6):1070-1072

摘要

目的:分析正常眼压性青光眼患者外周血中白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-12(IL-12)与白内障对照组测量值上有无差异,从而探讨免疫因素在正常眼压性青光眼发病机制中的意义。

方法:正常眼压性青光眼患者37例,白内障对照组40例。两组年龄、性别无显著性差异。分别抽取外周血3mL,采取双抗体夹心酶联免疫吸附法(ABC-ELISA)方法分别测量IL-6、IL-12含量。

结果:正常眼压性青光眼组IL-6、IL-12含量分别为(1.402 ± 2.297)pg/mL和(12.475 ± 3.973)pg/mL;白内障对照组含量分别为(8.214 ± 5.355)pg/mL和(20.116 ± 4.216)pg/mL。两组差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

结论:正常眼压性青光眼患者外周血中IL-6、IL-12含量低于白内障对照组,提示免疫因素可能在正常眼压性青光眼发病机制中起着重要的作用。

关键词:正常眼压性青光眼;免疫;白细胞介素

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.06.016

韦斌,盛向东,具尔提·哈地尔,等.正常眼压性青光眼患者外周血中IL-6和IL-12含量研究的意义.国际眼科杂志2010;10(6):1070-1072

0 引言

正常眼压性青光眼(normal tension glaucoma, NTG)是一种慢性、进行性视神经疾病,伴有特征性视杯扩大,视神经萎缩和视野缺损,前房角开放,眼压在正常统计学范围以内,且排除眼部或全身疾病引起的可能^[1,2]。关于该病的发病机制通常有以下几种解释:(1)眼球组织不能耐受正常眼压。(2)由于基压低,房水外流受阻眼压升高,虽未超出一般范围,但也足以引起视神经损害。(3)房水流系数低,房水生成量也低,因而眼压正常。(4)由于血压低,视乳头灌注压低,导致视野缺损。目前有研究^[3]表明NTG患者血清中热休克蛋白(HSP60)抗体水平明显提高,提示免疫因素在NTG发病机制中起着一定的作用。本研究拟通过对NTG与白内障对照组患者外周血中IL-6、IL-12含量进行测定,进而试图从免疫因素的角度来探讨其在NTG发病机制中的作用。

1 对象和方法

1.1 对象 由于住院环境对研究对象存在着影响,为使研

表 1 NTG 组和白内障对照组外周血中 IL-6、IL-12 含量

	例数	$(\bar{x} \pm s, \text{pg/mL})$	
		IL-6	IL-12
白内障组	40	8.21 ± 5.36	20.12 ± 4.22
NTG 组	37	1.40 ± 2.30	12.48 ± 3.97
<i>t</i>		1.712	1.992
<i>P</i>		<0.05	0.05

究两组相互匹配,根据患者病历号按数字表随机抽取的两组病例来自同一病区同期的 NTG 和单纯白内障住院患者。正常眼压性青光眼组 37 例,男 15 例,女 22 例。平均年龄(49.4 ± 18.6)岁。入选标准:均是经常规眼部检查、眼压、前房角镜、视野(Humphrey750 型视野计 SITA 程序)确诊的符合 NTG 诊断标准的患者。NTG 诊断标准为:(1)多次眼压测量和 24h 眼压测量均 < 21mmHg (1mmHg = 0.133kPa);(2)房角开放;(3)青光眼性视野损害或无视野损害但有视盘形态学改变或视神经纤维层缺失;(4)排除其他疾病引起的眼底和视神经改变。此外,研究对象排除眼部手术和外伤史,排除眼部免疫相关疾病如 Behcet 病,干燥综合征等,排除全身免疫系统疾病和自身免疫性疾病如甲亢, I 型糖尿病等。白内障对照组 40 例,男 18 例,女 22 例。平均年龄(50.3 ± 10.5)岁。入选标准为不伴有其他眼部疾患,无眼部手术史的单纯白内障患者。受检对象中,有眼部免疫相关疾病、全身免疫系统疾病和自身免疫性疾病、有长期吸烟、过量饮酒、严重的心肝肾疾病、血液病者均除外。各组患者在年龄、性别相匹配,统计学分析,差异无显著性($P > 0.05$)。

1.2 方法 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ABC-ELISA)法。试剂盒由上海贝西生物技术有限公司提供,批号:20060112。分别取研究对象外周血 3mL,4 000r/min 离心 5min,取血清,冻存于 -20℃ 冰箱中。分别将抗人 IL-6, IL-12 单抗包被于酶标板上,标准品和样品中的 IL-6, IL-12 与单抗结合,加入生物素化的抗人抗体,形成免疫复合物连接在板上,辣根过氧化物酶标记的链酶卵白素与生物素结合,绘制标准曲线,从中求出标本中的抗原浓度。所有病例检测均由同一位医师操做完成。

统计学分析:采用计算机 SPSS 12.0 统计软件分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本的 *t* 检验, $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

正常眼压性青光眼组 IL-6,IL-12 含量分别为(1.40 ± 2.30)pg/mL 和(12.48 ± 3.97) pg/mL;白内障对照组含量分别为(8.21 ± 5.35) pg/mL 和(20.12 ± 4.22) pg/mL。从中可见两组在 IL-6,IL-12 含量上都有着显著的统计学差异($P < 0.05$,表 1)。

3 讨论

NTG 是指眼压在正常统计学范围,但具有青光眼性视乳头凹陷和视野缺损及视网膜神经节细胞进行性丢失的一类开角型青光眼。其人群发病率为 0.15% ~ 2.1%,多见于中老年人。其概念的提出和描述至今已有一百多年的历史,但其病因和发病机制尚不完全清楚。国内的一项研究证实:约 40% NTG 患者在诊断 10a 以后,眼压继续上升并超过 21mmHg,转为高眼压性青光眼(high pressure

glaucoma, HPG)。另一些患者,发病时眼压与发病前眼压无显著差异,却出现了青光眼性视神经和视功能损害,而且降眼压治疗不能缓解病程进展。以上情况表明,NTG 可能包含着两种不同的发病机制。目前有研究显示大约 30% 的 NTG 患者同时伴有自身免疫缺陷性疾病,如 Behcet 病,干燥综合征,关节炎,甲状腺炎等。同时血清中抗异型蛋白抗体水平增高。NTG 患者血清中热休克蛋白(HSP60)抗体水平明显提高,部分原发性开角形青光眼(primary open-angle glaucoma, POAG)患者对血清 HSP60 也呈现较高水平的表达^[3]。提示免疫因素在 NTG 的发病机制中发挥着重要的作用。有学者^[4]在摘除胸腺的大鼠上制做青光眼高眼压模型,发现摘除胸腺的大鼠视网膜神经节细胞的存活数量明显下降,进一步提示免疫因素在青光眼的发病机制中占有一定的地位。天然免疫和获得性免疫不是简单的相继和补充,而是通过细胞间接触和分泌可溶性介质彼此调节。天然免疫应答中产生的细胞因子指导 T 细胞向 Th1 或 Th2 细胞分化。细胞因子在细胞免疫中发挥着重要的作用,细胞因子是由活化的免疫细胞和某些基质细胞分泌、介导和调节免疫、炎症反应的小分子多肽,是除免疫球蛋白和补体外的另一类非特异性免疫效应物质。IL-6 是一种由免疫活性细胞及其相关细胞分泌的多功能细胞因子。人 IL-6 分子量为 21-26kDa,是由 184 个氨基酸残基组成的糖蛋白。IL-12 主要由单核/巨噬细胞产生的一种异二聚体细胞因子,也来源于 B 细胞,EB 病毒转化的 B 细胞株。巨噬细胞及脂多糖等诱导的 Th1 细胞也可产生 IL-12。而 IL-10 及 TGF-β 则抑制 IL-12 的产生。

IL-6 作用于多种靶细胞,从而在细胞因子网络中发挥多种生物学功能。它不仅具有抗肿瘤和造血调控作用,而且具有明显的免疫调节作用。它可以促进 B 细胞增殖分化和分泌抗体,作为内源性致热原,参予炎症反应,在急性炎症的反应期和慢性炎症过程中起着不同的作用。IL-6 生成水平的下调在多种自身免疫缺陷性疾病的发病机制中扮演着重要角色。IL-6 的受体系统中有两种分子:IL-6 Ra 和 gp130^[5]。IL-6 通过与 gp130 的结合可激活 JAK 酪氨酸酶进而转导及转录活化因子 3(signal transducers and activators of transcription, STAT3),激活的 STAT3 使靶基因 BCL-2 和 BCL-XL 表达从而抑制凋亡。Sanchez 等^[6]对 IL-6 的内源性神经保护机制进行研究发现,缺血再灌注损伤后视网膜内的 IL-6 以及 IL-6R 水平均有所上调,而 gp130 无明显变化,加入 gp130 的抗体可加重损伤,即视网膜神经节细胞凋亡数量增加。当在玻璃体腔内注射外源性 IL-6 后视网膜神经节细胞凋亡明显减少。

本研究显示:NTG 患者外周血中 IL-6 含量较白内障对照组明显下降,提示 NTG 患者很可能因体内内源性 IL-6 的减少,通过 IL-6-gp130-JAK- STAT3 这一信号传导通路激活 STAT3 水平降低,从而使视网膜神经节细胞凋亡数量增加。

IL-12 不仅联系着辅佐细胞和淋巴细胞,而且是指导 Mφ 和 DC 发挥功能的关键因子^[7]。IL-12 还和 IFN-α 通过 IRF-1,4,8 基因表达促进天然免疫和 Th1 应答^[8]。IL-12 主要作用于 CTL 和 NK 细胞,它是迄今为止所发现的最有效的 CTL 和 NK 细胞活性刺激因子。其不能诱导静止的

T,NK 细胞增殖,但可促进异型抗原、抗 CD₃ 抗体和 PMA 等诱导的增殖,CD₂₈ 与 IL-12 协同诱导静止的 T 细胞增殖不受 CSA 抑制且无需抗原。IL-12 促进 CTL 和 LAK 生成,通过诱导穿孔素和颗粒酶基因转录和黏附分子表达而促进细胞毒作用。IL-12 对 T 细胞的作用机制可能为:(1) 直接促进 IL-2 受体表达;(2) 协同 IL-2 促进 IL-12R 表达;(3) 诱导其他细胞因子。IL-12 还可直接影响 B 细胞增殖、分化和 IFN- γ 产生,但也有认为其对 B 细胞激活和 Ig 同种型转化的影响是其诱导的 Th1 细胞及其产物如 IFN- γ 间接介导的。Durali 等^[9] 报道在静止 B 细胞中,IL-12 对 STAT1 活化或 T-bet 表达无直接影响。但能诱导 B 细胞分泌 IFN- γ ,从而使 STAT1 活化及 T-bet 高表达。由此可见,IL-12 在 B 细胞中启动一个类似于 Th1 定向分化的分子级联反应,包括激活 STAT4,上调 IL-12R β 2 表达,产生 IFN- γ 以及增强 T-bet 活性,导致 Th1 样分化。IL-12 具有多种重要的生物学活性,它在感染免疫、肿瘤免疫及自身免疫性疾病中起着十分重要的作用。

参考文献

1 Weineb RN, Khaw PT. Primary openangle glaucoma. *Lancet* 2004; 363(5):1711-1720

2 Stamper RL, Lieberman MF, Drake MV. Becker-Shaffer's diagnosis and therapy of the glaucomas. 7th ed, Beijing: Science press 2001;(3): 305-309

3 Wax MB, Tezel G, Saito I. Anti-Ro/SS-A positivity and heat shock protein antibodies in patients with normal-pressure glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1998;125(2):145-147

4 Bakalash S, Kipnis J, Yoles E. Resistance of retinal ganglion cells to an increase in intraocular pressure is immune-dependent. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(8):2648-2653

5 Ishihara K, Hirano T. IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. *Cyt Gro Fac Rev* 2002;13(3):357-368

6 Sanchez RN, Chan CK, Garg S. Interleukin-6 in retinal ischemia reperfusion injury in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(9):4006-4010

7 Bastos KB, Marinho CR, Barboza R, et al. What kind of message does IL-12/IL-23 bring to macrophages and dendritic cells? *Microbes infect* 2004;6(6):630-636

8 Lehtonen A, Lund R, Lahesmaa R, et al. INF-alpha and IL-12 activate IFN regulatory factor1 (IRF-1), IRF-4, and IRF-8 gene expression in human NK and T cells. *Cytokine* 2003;24(3):81-90

9 Durali D, de Goer de Herve MG, Giron-Michel J, et al. In human B cells, IL-12 triggers a cascade of molecular events similar to Th1 commitment. *Blood* 2003;102(12):4084-4089