

# 尿液相关细胞因子在系统性红斑狼疮肾脏病情评估中的意义

吴永卓, 曹文婷, 邓丹琪<sup>\*</sup>

(昆明医科大学第二附属医院皮肤科, 云南 昆明 650101)

**【摘要】目的** 明确尿液细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平在系统性红斑狼疮 (SLE) 肾脏病情评估中的临床意义。**方法** 选取 2018 年 2 月至 2019 年 2 月在昆明医科大学第二附属医院住院的 SLE 患者 30 例, 同期纳入性别、年龄相匹配的非红斑狼疮者 30 例作为对照。采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 测定患者和对照组的尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达水平, 并收集 SLE 患者的相关临床数据及资料。评估尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平与 SLE 肾脏病情的关系。**结果** 相对于对照组, SLE 患者尿中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平明显升高, 其差异具有统计学意义; 且 SLE 患者尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平与尿微量蛋白尿肌酐比均呈正相关; SLE 患者尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平与 SLEDAI 评分均无相关性。**结论** 检测尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平在 SLE 患者的肾脏病情评估中有重要意义。

**【关键词】** 系统性红斑狼疮; 尿 TNF- $\alpha$ ; 尿 IL-6; 尿微量蛋白尿肌酐比; SLEDAI 评分

中图分类号: R446.62; R563.24<sup>3</sup> 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1002-1310.2021.04.004

## Clinical significance of urinary cytokines in the evaluation of kidney damage in systemic lupus erythematosus

WU Yong-zhuo, CAO Wen-ting, DENG Dan-qi

(Department of Dermatology, The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650101, China)

**【Abstract】Objective** To investigate the clinical significance of urinary cytokines TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in the evaluation of kidney damage in systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** The clinical data and urinary sample of 30 SLE patients and 30 healthy controls were collected in the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University from February 2018 to February 2019. The level of urinary TNF- $\alpha$  and IL-6 was detected using ELISA, and clinical data of SLE patients were collected, so as to evaluate the relationship between urine TNF- $\alpha$ , IL-6 levels and SLE kidney damage. **Results** Urinary TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in SLE patients were significantly higher than those in the control group; Urinary TNF- $\alpha$ , IL-6 and urine microalbuminuria-creatinine ratio were positively correlated. There was no correlation between urinary TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in SLE patients with SLEDAI score. **Conclusion** The detection of urinary TNF- $\alpha$  and IL-6 levels is of great significance in the evaluation of renal damage in SLE patients.

**【Key words】** Systemic lupus erythematosus; Urinary TNF- $\alpha$ ; Urinary IL-6; Microalbuminuria and urinary creatinine ratio; SLEDAI score

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是一种以自身抗体异常产生、补体激活和免疫复合物沉积为特征, 导致多组织器官损伤的慢性自身免疫性疾病<sup>[1-3]</sup>; 狼疮性肾炎 (lupus nephritis, LN) 是 SLE 常见也是重要的临床表现之一, 也是影响 SLE 预后的主要危险因素之一<sup>[4-6]</sup>。细胞因子在自身免疫反应中具有重要作用, 可由 T 细胞、B 细胞及巨噬细胞等分泌产生, 通过调节固有免疫和适应性免疫诱导局部炎症反应及全身急性期炎症反应<sup>[7]</sup>; IL-6、TNF- $\alpha$  属于前炎症因子, 它们主要由 T 淋巴细胞分泌, 在炎症、肿瘤的发生中扮演重要角色<sup>[8-10]</sup>。本研究通过检测红斑狼疮患者尿液尿细胞因子 IL-6、TNF- $\alpha$  水平, 以探讨其与红斑狼疮肾脏病情的相关性。现将结果报告如下。

### 1 资料与方法

1.1 一般资料 依据美国风湿病学会 1997 年修订的 SLE 分类标准, 选取 2018 年 2 月至 2019 年 2 月在昆明医科大学第二附属医院住院的、诊断明确的 SLE 患者 30 例, 其中女性 24 例, 男性 6 例, 年龄 (17~56) 岁,

平均年龄 (42 $\pm$ 6.3) 岁, 重度活动者 2 例 (SLEDAI 评分  $\geq$  15), 中度活动者 9 例 (15 > SLEDAI 评分  $\geq$  10), 轻度活动者 14 例 (10 > SLEDAI 评分  $\geq$  5), 无病情活动者 5 例 (SLEDAI 评分 < 5); 排出糖尿病肾病等非狼疮肾病患者。同期纳入性别、年龄相匹配的非狼疮及其他自身免疫性疾病患者 30 例作为对照, 其中男 11 例, 女 19 例, 年龄 (19~58) 岁, 平均 (39 $\pm$ 5.7) 岁; 两组一般资料比较, 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。分别收集实验组和对照组尿液, 并对两组的尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平进行比较。

### 1.2 方法

1.2.1 标本采集 采集系统性红斑狼疮患者和对照组受检者晨尿 5ml, 于 4℃ 条件下 1 200r/min 离心 5min, 提取上清液至 1.5ml EP 管内, 并分装后于 -80℃ 超低温冰箱保存。

1.2.2 指标检测 采用联科生物预包被特异性抗人 IL-6、TNF- $\alpha$  单克隆抗体 ELISA 试剂盒测定尿液中 IL-6、TNF- $\alpha$  表达水平。

1.2.3 SLE 患者临床和实验室数据资料收集 收集

患者的基本资料,包括年龄、性别和病程及实验室指标尿微量蛋白尿肌酐比及 SLEDAI 评分等。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析,偏态分布计量资料用  $M(P25,P75)$  表示。SLE 组与对照组间尿 IL-6、TNF- $\alpha$  水平差异比较采用 Mann-Whitney U 检验。尿 IL-6、TNF- $\alpha$  值与尿微量蛋白尿肌酐比的关系及尿 IL-6、TNF- $\alpha$  值与 SLEDAI 评分的相关性评估采用 Spearman 相关分析,并对相关系数进行假设检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 SLE 患者与对照组尿 IL-6、TNF- $\alpha$  值比较 结果显示: SLE 患者尿 IL-6、TNF- $\alpha$  水平均高于对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 尿中细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 测定结果  $M(P25,P75)$

| 分组    | 例数 | 尿                     |                       |
|-------|----|-----------------------|-----------------------|
|       |    | IL-6(pg/ml)           | TNF- $\alpha$ (pg/ml) |
| SLE 组 | 30 | 123.345(61.09,304.26) | 100.42(55.47,144.70)  |
| 对照组   | 30 | 77.22(77.22,193.45)   | 55.75(43.75,71.65)    |
|       | Z  | -2.853                | -3.149                |
|       | P  | 0.004*                | 0.002*                |

注: \* 表示  $P < 0.05$ 。

2.2 SLE 组尿 IL-6、TNF- $\alpha$  值与尿微量蛋白尿肌酐比的相关分析 结果显示: IL-6 表达水平与尿微量蛋白尿肌酐比呈正相关,相关系数为 0.90,具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); TNF- $\alpha$  表达水平与尿微量蛋白尿肌酐比也呈正相关,相关系数为 0.84,具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 SLE 患者尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平与尿微量蛋白尿肌酐比的相关性

| 组别    | TNF- $\alpha$ |         | IL-6  |         |
|-------|---------------|---------|-------|---------|
|       | $r_s$         | P       | $r_s$ | P       |
| SLE 组 | 0.84          | <0.001* | 0.90  | <0.001* |

注: \* 表示  $P < 0.05$ 。

2.3 SLE 组尿 IL-6、TNF- $\alpha$  值与 SLEDAI 评分的相关分析 结果显示: 尿 IL-6 和尿 TNF- $\alpha$  表达水平与 SLEDAI 评分均无相关性 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 3 SLE 患者尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平与 SLEDAI 评分的相关性

| 组别    | TNF- $\alpha$ |       | IL-6  |       |
|-------|---------------|-------|-------|-------|
|       | $r_s$         | P     | $r_s$ | P     |
| SLE 组 | 0.02          | 0.895 | 0.20  | 0.394 |

## 3 讨论

SLE 临床表现多样,多系统受累<sup>[11-12]</sup>; 狼疮肾炎 (lupus nephritis, LN) 是 SLE 最常见且严重的临床表现之一,进行性肾功能损害仍是 SLE 患者死亡的主要

原因,尤其是活动性狼疮,临床预后差<sup>[12-15]</sup>。肾活检是评估狼疮性肾炎病情严重程度或狼疮确诊的重要检查手段,但是存在出血、损伤周围组织、穿刺失败等风险,导致部分患者不愿接受该检查,或因病情过重不能行肾活检检查,因此,临床急需无创的检测方法来明确 LN 的诊断及评估病情活动度或判断预后; 如果能通过尿液无创性检测一些生物标志物作为 LN 患者疾病活动性以及预后判断的指标,将会给患者的病情判断和治疗方案选择提供帮助。

白介素-6 (IL-6) 是由活化的 T 细胞和成纤维细胞产生的细胞因子,是一种多效细胞因子,在免疫调节、造血、炎症、肿瘤发生、代谢和控制睡眠的过程中起作用; 有研究认为 IL-6 的基因多样性与 SLE 易感性相关<sup>[16]</sup>,并有研究显示 SLE 患者血清 IL-6 水平高于对照组,并与 SLE 病情相关<sup>[17-18]</sup>。肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumour necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 是巨噬细胞分泌的小分子蛋白,作为机体对组织损伤或对病原性刺激的免疫应答,其与两种受体 (TNFR<sub>1</sub>、TNFR<sub>2</sub>) 相互作用,可以诱导炎症、细胞增殖、细胞凋亡等多种信号转导途径<sup>[19-21]</sup>。在 SLE 患者中,机体异常免疫复合物可刺激巨噬细胞表达分泌 TNF- $\alpha$ ,其可进一步致 T 细胞反应性降低并促进抗凋亡分子表达,从而促进炎症反应,并使新的致病性自身抗体产生<sup>[22-23]</sup>。有研究发现, SLE 患者血浆中 TNF- $\alpha$  显著高于对照组<sup>[24-26]</sup>,说明 TNF- $\alpha$  在 SLE 的发病中具有一定作用; 并有学者研究发现, TNF- $\alpha$  相关基因 TNF-376G/A、tf-1031T/C 的多态性与 SLE、LN 易感性具有相关性<sup>[27-28]</sup>。国内外多项研究也发现 LN 患者尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平明显高于 SLE 不伴肾损害患者的水平<sup>[29-33]</sup>。本研究结果也显示,与对照组比较, SLE 患者尿中细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达水平均有明显升高; 且 SLE 患者尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达水平与尿微量蛋白尿肌酐比呈正相关; 上述结果均表明尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平可能是评估 SLE 肾脏病情的潜在指标。本研究中 SLE 患者尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达水平与 SLEDAI 评分均无相关性,考虑可能因为 SLEDAI 评分是根据 SLE 患者整体病情评估,肾脏病情只占评分中的一部分,也不排除是本研究样本量较少的原因。样本量较小是本研究存在一定的局限性,且其中大部分患者并未进行肾组织活检以明确病理分型,因此本研究只发现尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平可能有望用于评价 SLE 肾脏病情,而对于是否可区分 LN 的病理分型则未进行相应研究,仍需要进一步临床探究。另外,本研究为横断面研究,未进行随访分析,对患者预后的估测未能进行相应的研究。综上所述,尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平在本研究的 SLE 患者中均显著升高,是有可能成为评估 SLE 肾脏病情良好生物学指标,有望为 SLE 临床治疗方案的制定提供参考,将早

期肾损伤患者的相关指标控制在理想范围内,以改善肾脏功能。尿 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的检测具有无创性及可普及性高等的优点,值得我们进一步针对此指标进行大样本且深入的研究。

# 参考文献:

- [1] Qi S,Chen Q,Xu D,et al.Clinical application of protein biomarkers in lupus erythematosus and lupus nephritis[J].Lupus,2018,27(10):1582-1590.
- [2] 冯艳,李志军.系统性红斑狼疮易感基因的研究进展[J].蚌埠医学院学报,2011,(11):1284-1287.
- [3] 陈芳,刘淑毓,吴秀华,等.系统性红斑狼疮并发银屑病 15 例临床特点[J].中华临床免疫和变态反应杂志,2016,10(1):52-56.
- [4] Tian S Y,Feldman B M,Beyene J,et al.Immunosuppressive Therapies for the Maintenance Treatment of Proliferative Lupus Nephritis:A Systematic Review and Network Meta-analysis[J].J Rheumatol,2015,42(8):1392-1400.
- [5] Yang,J,Liang D,Zhang H,et al.Long-term renal outcomes in a cohort of 1814 Chinese patients with biopsy-proven lupus nephritis[J].Lupus,2015,24(14):1468-1478.
- [6] 徐安平,吕军,梁艳仪,等.他克莫司治疗狼疮性肾炎的前瞻性研究[J].中山大学学报(医学科学版),2007,28(6):683-687+717.
- [7] Holdsworth S R,Gan,Poh Y.Cytokines:Names and numbers you should care about[J].Clinical Journal of the American Society of Nephrology,2015,10(12):2243-2254.
- [8] Kariyawasam K.W.J.C,Sirisena P.D.N.N.a,Nanayakkara H.L.C,et al. Leaf extract inhibits IL-6 and TNF- $\alpha$  secretion and phagocytosis in human leukocytes[J].Journal of Herbal Medicine,2020(21):100341.
- [9] Sushama S,Niharika D,Ram K G,et al.Cytokine profile (IL-2,IL-6,IL-17,IL-22,and TNF- $\alpha$ ) in vitiligo—New insight into pathogenesis of disease[J].Journal of Cosmetic Dermatology,2019,18(1):337-341.
- [10] 王安.血清炎症因子与不伴有继发性干燥综合征的系统性红斑狼疮患者的干眼发生的相关性研究[D].合肥:安徽医科大学,2019.
- [11] Shuaihantian L,Hai L,Qianjin L.Recent advances in understanding pathogenesis and therapeutic strategies of Systemic Lupus Erythematosus[J].International Immunopharmacology,2020,89(Part A):107028.
- [12] 李鑫,刘蕊.狼疮肾炎患者尿中 NGAL、MCP-1、TGF- $\beta$  及 IL-17 的检测[J].中国皮肤性病学杂志,2019,33(3):285-288.
- [13] Jakiela B.a,Kosaka J.a,Plutecka H.a,et al.Urinary cytokines and mRNA expression as biomarkers of disease activity in lupus nephritis[J].Lupus,2018,27(8):1259-1270.
- [14] Jacob J E K,Helmut G R,Cianna L,et al.Renal deposits of complement factors as predictors of end-stage renal disease and death in patients with lupus nephritis[J].Rheumatology(Oxford),2020,59(12):3751-3758.
- [15] Ritchie J.a,Smyth A.b,Tower,et al.f.Maternal deaths in women with lupus nephritis:A review of published evidence[J].Lupus,2012,21(5):534-541.
- [16] Paradowska-Gorycka A,Rozsak M,Stypinska B,et al.IL-6 and TGF- $\beta$  gene polymorphisms,their serum levels,as well as HLA profile,in patients with systemic lupus erythematosus[J].Clin Exp Rheumatol,2019,37(6):963-975.
- [17] Tang Y,Tao H,Gong Y,et al.Changes of Serum IL-6,IL-17,and Complement in Systemic Lupus Erythematosus Patients[J].

- Journal Of Interferon&Cytokine Research:The Official Journal Of The International Society For Interferon And Cytokine Research, 2019,39(7):410-415.
- [18] 张文兰,胡同平,王慧,等.系统性红斑狼疮患者单核细胞中 TLR-4,IRAK-M 的表达及意义[J].免疫学杂志,2013,29(6):510-513.
- [19] Baharak H,Nynke M.S.v.d.A,Daniel G.M.M,et al.(Sub) populations of extracellular vesicles released by TNF- $\alpha$  triggered human endothelial cells promote vascular inflammation and monocyte migration[J].Journal of Extracellular Vesicles,2020,9(1):1801153.
- [20] 冯馨锐,崔雨舒,何志涛,等.肿瘤坏死因子- $\alpha$  的生物学功能研究进展[J].吉林医药学院学报,2019,40(1):66-68.
- [21] 李浙萌,聂英坤.细胞因子在系统性红斑狼疮中的研究进展[J].疑难病杂志,2020,19(11):1174-1178.
- [22] Lyubomir A D,Maria H H,Zornitsa G K,et al.Genetically Determined TNF- $\alpha$  Secretion Influences the Development of Dermatomyositis and Systemic Lupus Erythematosus[J].Folia Medica,2018,60(2):216-220.
- [23] Postal M.,Appenzeller S.The role of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J].Cytokine,2011,56(3):537-543.
- [24] Chun y M,Yu l J,Jie Z,Qing r Y,et al.Elevated plasma level of HMGB1 is associated with disease activity and combined alterations with IFN- $\alpha$  and TNF- $\alpha$  in systemic lupus erythematosus[J].Rheumatology International,2012,32(2):395-402.
- [25] John J.Connolly,Hakon H.Role of Cytokines in Systemic Lupus Erythematosus:Recent Progress from GWAS and Sequencing[J].Journal of Biomedicine and Biotechnology,2012(2012):798924.
- [26] 许赞兴,陈佳.SLE 患者外周血 25(OH)D 水平对免疫细胞 Th/Ts 平衡及 TNF- $\alpha$  的影响[J].标记免疫分析与临床,2019,26(12):2043-2047+2129.
- [27] Ramirez B,Julian,Cadena S,Daniel,et al.Tumor necrosis factor gene polymorphisms are associated with systemic lupus erythematosus susceptibility or lupus nephritis in Mexican patients[J].Immunologic Research,2018,66(3):348-354.
- [28] Azizah M R,Kuak S H,Ainol S S,et al.Association of the tumor necrosis factor alpha gene polymorphism with susceptibility and clinical-immunological findings of systemic lupus erythematosus[J].Asian Pacific journal of allergy and immunology,2004,22(2-3):159-163.
- [29] Jin T,Almehed K,Carlsten H,et al.Decreased serum levels of TGF- $\beta$  are associated with renal damage in female patients with systemic lupus erythematosus[J].Lupus,2012,21(3):310-318.
- [30] Brugos B,Vincze SSipka Z,et al.Serum and urinary cytokine levels of SLE patients[J].Die Pharmazie,2012,67(5):411-413.
- [31] Ad-hiah A.H.,Al-Sheikh S.K.F.,Jasim A.N.,et al.Assessment of Urinary Tract Infection and Cytokine(IL-2,IL-4andIL-17A) Serum Levels in Iraqi Samples of Systemic Autoimmune Diseases(Rheumatoid Arthritis,Ankylosing Spondylitis and Systemic Lupus Erythematosus) Patients[J].International Medical Journal Malaysia,2013,12(1):11-18.
- [32] Luk C.C.W.a,Tam L.S.a,Kwan B.C.H.a,et al.Intrarenal and urinary Th<sub>1</sub> and Th<sub>22</sub> cytokine gene expression in lupus nephritis[J].Journal of Rheumatology,2015,42(7):1150-1155.
- [33] 鹿艳红,卢金金,马特安.系统性红斑狼疮患者尿液相关细胞因子的检测及临床意义探讨[J].医学研究杂志,2014,43(5):152-155.