

# 类风湿关节炎病人外周血中趋化因子受体 CXCR4 与其配体 SDF-1 $\alpha$ 的表达研究

任春风<sup>1</sup>, 段国庆<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的:**探讨类风湿关节炎病人外周血中趋化因子受体 CXCR4 与其配体 SDF-1 $\alpha$  的表达水平。**方法:**选取类风湿性关节炎病人 52 例为观察组。另外选取同期健康体检的健康人群 30 名为对照组。采集受试者静脉血,检测外周血 CXCR4、SDF-1 $\alpha$  及白细胞介素(IL)-8 表达水平。**结果:**观察组外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞表面 CXCR4 表达百分率和血清 SDF-1 $\alpha$ 、IL-8 表达水平均高于对照组( $P < 0.01$ )。随着病程的延长,外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞表面 CXCR4 表达百分率和血清 SDF-1 $\alpha$  表达水平上升( $P < 0.01$ )。直线相关性分析结果显示,外周血 CXCR4 及 SDF-1 $\alpha$  表达水平与 IL-8 均呈正相关关系( $P < 0.05$ )。**结论:**SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 信号转导通路和 IL-8 与类风湿性关节炎的发病和进展过程有关。

**[关键词]** 类风湿关节炎;趋化因子;CXCR4;SDF-1 $\alpha$ ;白细胞介素-8

[中图分类号] R 593.22

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.12.013

## Study on the expression of chemokine receptor CXCR4 and its ligand SDF-1 $\alpha$ in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis

REN Chun-feng<sup>1</sup>, DUAN Guo-qing<sup>2</sup>

(1. Department of Rheumatology and Immunology, The First People's Hospital of Jining, Jining Shandong 272000;

2. Department of Bone and Joint, The Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining Shandong 272000, China)

**[Abstract]** **Objective:**To investigate the expression levels of chemokine receptor CXCR4 and its ligand SDF-1 $\alpha$  in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. **Methods:**Fifty-two patients with rheumatoid arthritis and 30 healthy people were divided into the observation group and control group, respectively. The levels of CXCR4, SDF-1 $\alpha$  and IL-8 in peripheral blood of two groups were measured. **Results:**The expression rates of CXCR4 on the surface of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> and CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T lymphocytes, and levels of SDF-1 $\alpha$  and IL-8 in peripheral blood of observation group were significantly higher than those in control group( $P < 0.05$ ). With the prolonging of disease course, the expression rates of CXCR4 on the surface of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> and CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T lymphocytes, and level of SDF-1 $\alpha$  in peripheral blood of observation group increased( $P < 0.05$ ). Linear correlation analysis showed that the expression levels of CXCR4 and SDF-1 $\alpha$  were positive correlation with IL-8 in peripheral blood( $P < 0.05$ ). **Conclusions:**The signal transduction pathway of SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 and IL-8 may be involved in the pathogenesis and progression of rheumatoid arthritis.

**[Key words]** rheumatoid arthritis; chemotactic factor; CXCR4; SDF-1 $\alpha$ ; IL-8

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种自身免疫性疾病,目前其发病机制未完全明确,可能与职业、地理、代谢、内分泌、营养、心理和社会环境、细菌和病毒感染等因素有关<sup>[1]</sup>。RA 以对称性、慢性、多滑膜关节炎和关节外病变为主要临床表现,严重威胁病人的正常生活。趋化因子是 T 细胞和 B 细胞活化过程中分泌的一种重要细胞因子,参与了淋巴细胞和吞噬细胞的游走和活化过程,其表达水平与自身免疫性疾病紧密相关<sup>[2]</sup>。基质细胞衍生

因子 1(SDF-1)是趋化因子受体 CXCR4 的唯一生理配体,且 CXCR4 也是 SDF-1 的唯一受体,二者是一种单配关系,具有非常高的亲合力<sup>[3]</sup>。研究<sup>[1]</sup>证实,趋化因子受体 CXCR4 及其配体 SDF-1 $\alpha$  可能在自身免疫性疾病的发病过程中扮演重要角色。本研究探讨 RA 病人血清趋化因子受体 CXCR4 与其配体 SDF-1 $\alpha$  的表达水平,旨在为 RA 的发病机制研究提供科学依据。现作报道。

### 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取济宁市第一人民医院 2016 年 1-6 月收治的 RA 病人为观察组。纳入标准:(1)符合美国风湿病协会 2009 年修订的 RA 诊断标准;(2)年龄 18~70 岁;(3)近 1 月内未服用慢作用抗风湿药物、非甾体抗炎药和糖皮质激素等药物;(4)

[收稿日期] 2017-09-30 [修回日期] 2018-09-09

[基金项目] 山东省济宁市医疗卫生科技计划项目(2015-57-48)

[作者单位] 1. 山东省济宁市第一人民医院 风湿免疫科,272000;

2. 济宁医学院附属医院 骨关节科,山东 济宁 272000

[作者简介] 任春风(1982-),女,硕士,主治医师。

知情同意。排除标准:(1)合并恶性肿瘤者;(2)合并其他自身免疫性疾病者;(3)哺乳、怀孕以及伴发严重感染者;(4)处于各种感染急性期者;(5)合并严重肝病、肾功能损害者;(6)合并血液系统疾病者。共纳入 52 例 RA 病人,其中男 32 例,女 20 例;年龄 22~68 岁;病程 2~16 年。另外选取同期于我院健康体检的健康人群 30 名为对照组,其中男 18 名,女 12 名;年龄 20~66 岁。2 组病人性别、年龄均具有可比性。

## 1.2 研究方法

1.2.1 标本采集 采集所有受试对象清晨空腹静脉血 8 mL,平均分为 2 管,其中一管离心获得血清,-80 °C 保存,一起行 ELISA 检测,另一管肝素抗凝,于 2 h 内行流式细胞术检测。

1.2.2 ELISA 检测 采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法于贝克曼库尔特 UniCelDxC 800 Synchron 全自动生化分析仪检测血清 SDF-1 $\alpha$  水平,试剂盒为欣博盛生物科技有限公司产品,采用 ELISA 法检测白细胞介素(IL)-8 水平,试剂盒为欣博盛生物科技有限公司产品,严格按照试剂盒的说明书进行操作和步骤完成。

1.2.3 流式细胞术检测 于一支流式管中加入 CD3PerCP/CD4FITC/CD8PE、CXCR4APC 荧光抗体各 10  $\mu$ L,于另外一支流式管中加入 CD3PerCP/CD4FITC/CD8PE、IgG2 $\alpha$ APC 荧光抗体各 10  $\mu$ L,分别加入抗凝全血 50  $\mu$ L,混匀后室温下避光反应 15 min,分别加入 2 mL 溶血剂,充分混匀后室温避光反应 15 min,离心(1 000 r/min  $\times$  5 min),弃掉上清液,PBS 洗涤 2 次,200  $\mu$ L PBS 悬浮细胞,于 BD LSRFortessaTM X-20 流式细胞仪上机检测。

1.3 统计学方法 采用  $t'$  检验、方差分析、 $q$  检验和相关分析。

## 2 结果

2.1 2 组外周血 CXCR4、SDF-1 $\alpha$  及 IL-8 表达水平比较 观察组外周血 CD3 $^+$ CD4 $^+$ 和 CD3 $^+$ CD8 $^+$ T 淋巴细胞表面 CXCR4 表达百分率和血清 SDF-1 $\alpha$ 、IL-8 表达水平均明显高于对照组( $P < 0.01$ )(见表 1)。

2.2 不同病程 RA 病人外周血 CXCR4 及 SDF-1 $\alpha$  表达水平 不同病程 RA 病人外周血 CD3 $^+$ CD4 $^+$ 和 CD3 $^+$ CD8 $^+$ T 淋巴细胞表面 CXCR4 表达百分率和血清 SDF-1 $\alpha$  表达水平差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );随着病程的延长,外周血 CD3 $^+$ CD4 $^+$ 和 CD3 $^+$ CD8 $^+$ T 淋巴细胞表面 CXCR4 表达百分率和

血清 SDF-1 $\alpha$  表达水平上升( $P < 0.01$ )(见表 2)。

表 1 2 组外周血 CXCR4、SDF-1 $\alpha$  及 IL-8 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	$n$	CD3 $^+$ CD4 $^+$ CXCR4 $^+$ /%	CD3 $^+$ CD8 $^+$ CXCR4 $^+$ /%	SDF-1 $\alpha$ / (pg/mL)	IL-8/ (ng/L)
观察组	52	4.33 $\pm$ 1.28	3.02 $\pm$ 0.98	329.50 $\pm$ 87.55	35.78 $\pm$ 6.50
对照组	30	0.82 $\pm$ 0.15	0.79 $\pm$ 0.19	83.22 $\pm$ 12.56	7.90 $\pm$ 3.22
$t'$	—	19.54	15.90	19.93	25.91
$P$	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表 2 不同病程 RA 病人外周血 CXCR4 及 SDF-1 $\alpha$  表达水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

病程/年	$n$	CD3 $^+$ CD4 $^+$ CXCR4 $^+$ /%	CD3 $^+$ CD8 $^+$ CXCR4 $^+$ /%	SDF-1 $\alpha$ / (pg/mL)
<5	14	2.09 $\pm$ 0.78	1.89 $\pm$ 0.56	289.50 $\pm$ 67.30
5~10	28	3.78 $\pm$ 1.02 $^{**}$	2.87 $\pm$ 0.76 $^{**}$	311.53 $\pm$ 85.09
>10	10	6.16 $\pm$ 2.08 $^{***\#}$	5.11 $\pm$ 1.29 $^{***\#}$	413.49 $\pm$ 102.46 $^{***\#}$
$F$	—	31.59	43.96	7.10
$P$	—	<0.01	<0.01	<0.01
$MS_{组内}$	—	1.529	0.707	7 119.420

$q$  检验:与 <5 年比 $^{**}P < 0.01$ ;与 5~10 年比 $^{\#}P < 0.01$

2.3 相关性分析 外周血 CD3 $^+$ CD4 $^+$ CXCR4 $^+$ 和 SDF-1 $\alpha$ 、IL-8 均呈正相关关系( $P < 0.05$ ),CD3 $^+$ CD8 $^+$ CXCR4 $^+$ 和 SDF-1 $\alpha$ 、IL-8 均呈正相关关系( $P < 0.05$ )。SDF-1 $\alpha$  和 IL-8 呈正相关关系( $P < 0.05$ )(见表 3)。

表 3 外周血 CXCR4 及 SDF-1 $\alpha$  表达水平与 IL-8 的相关性分析

	CD3 $^+$ CD4 $^+$ CXCR4 $^+$	CD3 $^+$ CD8 $^+$ CXCR4 $^+$	SDF-1 $\alpha$	IL-8
CD3 $^+$ CD4 $^+$ CXCR4 $^+$	—			
CD3 $^+$ CD8 $^+$ CXCR4 $^+$	$r = 0.512, P = 0.045$	—		
SDF-1 $\alpha$	$r = 0.833, P = 0.015$	$r = 0.856, P = 0.011$	—	
IL-8	$r = 0.709, P = 0.026$	$r = 0.745, P = 0.022$	$r = 0.787, P = 0.020$	—

## 3 讨论

作为一种自身免疫性疾病,RA 的发病机制与多种源自滑膜组织和免疫系统的细胞及其细胞因子相关。近年来研究<sup>[4]</sup>显示,自身抗原刺激、炎症因子网络持续的激活是 RA 病人关节慢性炎症持续存在的原因之一。然而,RA 的病因和发病机制十分复杂,目前对其确切发病机制仍在不断探索中。随着免疫学和分子生物学的不断发展,越来越多的研究<sup>[5]</sup>表明 RA 与自身免疫密切相关。

趋化因子是一组对某些细胞具有趋化作用的小

分子蛋白质,可分为 CC(不插入氨基酸残基)类、CXC(插入一氨基酸残基)类、C3XC(插入 3 个氨基酸残基)类和 C(N 端只有一个 Cys)类 4 个亚类<sup>[6]</sup>。SDF1 属于 CXC 类趋化因子,在体内主要以 SDF-1 $\alpha$  和 SDF-1 $\beta$  两种形式存在。CXCR4 是趋化因子 SDF-1 的特异性受体,属于 CXCR 类趋化因子受体<sup>[7]</sup>。SDF-1 $\alpha$  与 CXCR4 结合后,可导致 CXCR4 二聚体形以及激活与其相偶联的 G 蛋白,从而激活多种信号通路,参与细胞的趋化、运动、血管生成、黏附、分泌等过程<sup>[8]</sup>。SDF-1 $\alpha$  和 CXCR4 与多种免疫疾病和恶性肿瘤相关,如系统性红斑狼疮、银屑病、大肠癌、乳腺癌、胃癌等<sup>[9-10]</sup>。本研究结果显示,RA 病人外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞表面 CXCR4 表达百分率和血清 SDF-1 $\alpha$ 、IL-8 表达水平均显著高于健康人群,提示 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 信号转导通路可能参与了 RA 的发病过程。在正常免疫应答过程中,趋化因子直接参与淋巴细胞和吞噬细胞的游走和活化,从而起到保护机体防御外来抗原刺激的作用,但当免疫系统过度激活时,免疫细胞也会可能攻击自身组织,导致自身免疫性疾病<sup>[11-12]</sup>。SDF-1 $\alpha$  及其受体 CXCR4 是表达最广泛的趋化因子和受体之一,当 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 表达水平上升时,其可通过招募、趋化并活化免疫细胞,导致免疫系统过度激活,分泌更多的自身抗体和致炎因子,这可能是 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 参与 RA 发病过程的机制之一。

本研究结果显示,随着病程的延长,外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞表面 CXCR4 表达百分率和血清 SDF-1 $\alpha$  表达水平显著上升,表明 RA 病程越长,SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 表达水平越高。饶咏梅等<sup>[6]</sup>报道称,SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 在系统性红斑狼疮血液系统损害的发病过程中起重要作用,存在血液系统损害的系统性红斑狼疮病人外周血 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 水平显著上升。李婉丽等<sup>[13]</sup>报道称,在白血病患者血清中 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 高表达,参与了白血病的发生发展过程,二者在白血病的发生发展中具有协同作用。随着 RA 疾病的进展,外周血 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 表达水平随之上升,参与了 RA 的疾病进展过程。IL-8 是一种重要的促炎症细胞因子,对 T 细胞和中性粒细胞有较强的趋化作用,还具有促进中性粒细胞的呼吸爆发和脱颗粒<sup>[14]</sup>。本研究证实,外周血 CXCR4 及 SDF-1 $\alpha$  表达水平与 IL-8 均存在正相关性,表明 SDF-1 $\alpha$  及 CXCR4 与 IL-8 存在某种协同关系,共同参与了 RA 的发病进展

过程。

综上所述,SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 信号转导通路与 IL-8 存在协同效应,可能共同参与了 RA 的发病和进展过程。但本研究样本数量有限,该结论尚有待于进一步验证分析。

#### [参 考 文 献]

- [1] 马进,陈岷,李获,等. 中药联合抗风湿药治疗类风湿性关节炎活动期的临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(5):192.
- [2] NAGAFUCHI Y, SHODA H, SUMITOMO S, *et al.* Immunophenotyping of rheumatoid arthritis reveals a linkage between HLA-DRB1 genotype, CXCR4 expression on memory CD4<sup>+</sup> T cells, and disease activity[J]. *Sci Rep*,2016,16(6):29338.
- [3] 祖蓓蓓,饶咏梅,李美荣,等. 狼疮肾炎病人外周血中趋化因子受体 CXCR4 及其配体 SDF-1 $\alpha$  的表达研究[J]. 临床和实验医学杂志,2013,12(23):1884.
- [4] 姚血明,曹跃朋,马武开,等. 类风湿性关节炎病人外周血 Th17 细胞/调节性 T 细胞比例增加并与疾病活动相关[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2015,31(1):81.
- [5] 赵晓菲,安高,郭宜春,等. 细胞因子在类风湿性关节炎中的研究进展[J]. 承德医学院学报,2016,33(1):53.
- [6] 饶咏梅,祖蓓蓓,刘琳,等. 趋化因子基质细胞衍生因子-1 $\alpha$  及其受体 CXCR4 在系统性红斑狼疮血液系统损害中的表达研究[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),2013,7(9):3820.
- [7] BELORIBI-DJEFAFLA S, SIRET C, LOMBARDO D. Exosomal lipids induce human pancreatic tumoral MiaPaCa-2 cells resistance through the CXCR4-SDF-1 $\alpha$  signaling axis [J]. *Oncoscience*,2015,2(1):15.
- [8] 戴玉娟. 下调 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 轴对移植 BMSCs 在未成熟脑损伤模型中的归巢影响[D]. 南京:东南大学,2016.
- [9] 王朋,宋淑亮,梁浩,等. CXCL12/CXCR4 轴对 NPC 调节的研究进展[J]. 生命科学,2015,27(10):1261.
- [10] HECKMANN D, MAIER P, LAUFS S, *et al.* The disparate twins: a comparative study of CXCR4 and CXCR7 in SDF-1 $\alpha$ -induced gene expression, invasion and chemosensitivity of colon cancer [J]. *Clin Cancer Res*,2014,20(3):604.
- [11] 熊瑞华,孙继民,吕海涛. 川崎病患儿体内趋化因子 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 和 MCP-1 的表达研究[J]. 中国生化药物杂志,2015,16(1):119.
- [12] DAVIDSON SM, SELVARAJ P, HE D, *et al.* Remote ischaemic preconditioning involves signalling through the SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 signalling axis[J]. *Basic Res Cardiol*,2013,108(5):377.
- [13] 李婉丽,杨惠军,郑敏翠,等. SDF-1/CXCR4 和 hs-CRP 在儿童急性白血病中的表达[J]. 现代肿瘤医学,2010,18(4):793.
- [14] SHARMA J, GRAY KP, HARSHMAN LC, *et al.* Elevated IL-8, TNF- $\alpha$ , and MCP-1 in men with metastatic prostate cancer starting androgen-deprivation therapy (ADT) are associated with shorter time to castration-resistance and overall survival [J]. *Prostate*,2014,74(8):820.