

原发性开角型青光眼患者房水中 IL-37 和 IL-6 的表达及意义

于洋, 蒋沁, 曹国凡

引用: 于洋, 蒋沁, 曹国凡. 原发性开角型青光眼患者房水中 IL-37 和 IL-6 的表达及意义. 国际眼科杂志 2021; 21(3): 497-499

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No.81870679)

作者单位: (210029) 中国江苏省南京市, 南京医科大学附属眼科医院

作者简介: 于洋, 南京医科大学在读硕士研究生, 研究方向: 青光眼。

通讯作者: 曹国凡, 毕业于南京医科大学, 博士, 副教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 青光眼. caoguofan587@163.com

收稿日期: 2020-05-19 修回日期: 2021-01-29

摘要

目的: 检测原发性开角型青光眼 (POAG) 患者房水中 IL-37 和 IL-6 的含量, 并分析 IL-6 和 IL-37 含量与眼压或视野平均缺损的相关性。

方法: 采用前瞻性病例对照研究, 利用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 对 2019-06/2020-01 在南京医科大学附属眼科医院连续就诊的 25 例 POAG 患者和 25 例年龄相关性白内障 (ARC) 患者房水中 IL-37 和 IL-6 含量进行检测。同时测定 POAG 组患者眼压、视野平均缺损。

结果: 房水中 IL-37 和 IL-6 含量 POAG 组患者为 25.80 ± 2.87 、 43.87 ± 7.75 pg/mL, ARC 组患者为 23.75 ± 3.88 、 36.53 ± 7.60 pg/mL, 两组间 IL-37 和 IL-6 含量比较均有差异 ($P < 0.05$)。IL-6 与眼压正相关 ($r = 0.5817$, $P < 0.05$), IL-37 与视野缺损正相关 ($r = 0.4520$, $P < 0.05$)。

结论: POAG 患者房水中 IL-37、IL-6 含量均显著高于 ARC 组。IL-37 和 IL-6 介导的免疫炎症反应可能参与了 POAG 的发病机制。

关键词: 原发性开角型青光眼; 房水; IL-37; IL-6

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.3.24

Expression and significance of IL-37 and IL-6 in aqueous humor of patients with primary open angle glaucoma

Yang Yu, Qin Jiang, Guo-Fan Cao

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.81870679)

Nanjing Medical University Eye Hospital, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Guo-Fan Cao. Nanjing Medical University Eye Hospital, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. caoguofan587@163.com

Received: 2020-05-19 Accepted: 2021-01-29

Abstract

• **AIM:** To test concentrations of IL-37 and IL-6 in aqueous humor samples of patients with primary open angle glaucoma (POAG), and analyze the potential relationship to intraocular pressure (IOP) and mean defect of visual field.

• **METHODS:** Prospective consecutive non-randomized comparative cohort study was conducted. Totally 25 POAG patients and 25 age related cataract (ARC) patients in Nanjing Medical University Eye Hospital from June, 2019 to January, 2020 were collected. The levels of IL-37 and IL-6 in the aqueous humor were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The IOP and mean defect of visual field of patients in the POAG group were also measured.

• **RESULTS:** The IL-37 concentrations in aqueous humor of POAG group and control group were 25.80 ± 2.87 pg/mL and 23.75 ± 3.88 pg/mL respectively ($P < 0.05$). The IL-6 concentrations in aqueous humor of POAG group and control group were 43.87 ± 7.75 pg/mL and 36.53 ± 7.60 pg/mL respectively ($P < 0.05$). In POAG group, the concentration of IL-37 was significantly positively correlated with mean defect of visual field ($r = 0.4520$, $P < 0.05$), the concentration of IL-6 was significantly positively correlated with IOP ($r = 0.5817$, $P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Significant differences in aqueous humor levels of IL-37 and IL-6 between glaucoma and control patients support the hypothesis that immune inflammation are involved in the pathogenesis of POAG.

• **KEYWORDS:** primary open angle glaucoma; aqueous humor; IL-37; IL-6

Citation: Yu Y, Jiang Q, Cao GF. Expression and significance of IL-37 and IL-6 in aqueous humor of patients with primary open angle glaucoma. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021; 21(3): 497-499

0 引言

青光眼是一类以视神经萎缩和视野缺损为特点的不可逆性、致盲性眼病。原发性开角型青光眼 (primary open angle glaucoma, POAG) 是最常见的一种类型, 约占全世界青光眼病例的 70%^[1]。目前, POAG 的发病机制尚不清楚, 但是越来越多的证据表明, 免疫反应在青光眼发病机制中起重要作用。许多患者尽管眼压得到控制, 但是视神经损伤、视野丢失程度仍然不断加重, 因此有研究者认为青光眼性病理损伤不仅仅是由高血压引起的, 炎症因子介导的免疫反应可能也参与其中^[2]。

房水的动态平衡与眼压密切相关,房水为眼前节组织带来营养物质,也带走了代谢废物,因而房水中细胞因子的变化可以反映眼前节组织的代谢状态和病理改变。由于血-眼屏障的存在,房水比血液更能反映眼内环境情况,房水中细胞因子的检测更有助于青光眼发病机制的研究^[3]。

IL-6是IL-1家族的一种多效性细胞因子。IL-6在诸如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病中表达增加,且与疾病病理生理状况密切相关^[4]。IL-37是新近发现IL-1家族成员,是一种具有广泛免疫抑制活性的炎症因子,对包括炎症性肠病在内的多种自身免疫性疾病具有保护作用^[5]。本研究的目的是检测POAG患者房水中IL-37和IL-6的含量,并试图从免疫角度分析POAG的发病机制。

1 对象和方法

1.1 对象 采用前瞻性病例对照研究,纳入2019-06/2020-01在南京医科大学附属眼科医院连续就诊的25例POAG患者,其中男12例,女13例,平均年龄为54.64±5.73岁,平均眼压为23.32±4.30mmHg,平均视野缺损为15.46±3.04dB;同时选取25例无全身及其他眼局部疾病的年龄相关性白内障(ARC)患者作为对照组,其中男13例,女12例,平均年龄为60.38±8.22岁。纳入标准:(1)POAG诊断参照《我国原发性青光眼诊断和治疗专家共识》中有关POAG诊断标准^[6],ARC诊断参照白内障诊断指南;(2)选择小梁切除术或白内障超声乳化手术为治疗方式;(3)自愿加入本研究并签署知情同意书。排除标准:(1)合并有其他眼病如葡萄膜炎、虹膜新生血管、外伤、肿瘤、黄斑变性等;(2)患者合并有糖尿病、全身感染、自身免疫性疾病、神经退行性病变等其他全身性疾病;(3)既往有眼内手术史;(4)房水量不足50 μL及其他数据不完整者。两组患者性别构成差异无统计学意义($\chi^2=0.08, P>0.05$),平均年龄比较差异有统计学意义($t=2.784, P<0.05$)。本研究经我院伦理委员会批准,遵循《赫尔辛基宣言》原则。

1.2 方法

1.2.1 视野检查 采用Humphrey视野计,选择SITA-FAST30-2程序检测视野平均缺损。

1.2.2 眼压检查 采用非接触眼压计测量。患者取舒适坐位,连续测量3次,取平均值。

1.2.3 房水收集 所有POAG患者在行抗青光眼手术前抽取房水。具体操作流程如下:结膜囊内清洁消毒后以25G注射器针头行前房穿刺,5:00方向进针,针尖朝向7:00方向,缓缓抽取50~100 μL房水。收集过程中避免血液和其他液体混入。取出房水后迅速转移至1.5mL无菌Eppendorf管中,放入-80°C超低温冰箱中避光保存直至检测。ARC患者房水收集:手术医师在未破坏血-房水屏障前,抽取房水,具体抽取方法同POAG患者。所有取房水操作均由同一手术医生完成。

1.2.4 细胞因子分析 主要试剂:人IL-6 ELISA试剂盒,人IL-37 ELISA试剂盒,购自上海酶联生物。操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。主要步骤有:房水常温解冻,离心后取上清液加入96孔板,将包被好的抗体稀释后加入96孔板,混匀后编号,封住反应孔,37°C恒温箱内孵育1h。再用稀释好的PBST洗涤液洗板5次,甩干。在各孔中加入酶标试剂50 μL,用封板胶纸封住反应孔,37°C温

育30min,再用稀释好的洗涤液洗板5次,甩干。PBST清洗后加入显影液,室温下反应10min。采用酶标仪在450nm处测定吸光度值,得出IL-37或者IL-6的含量。

统计学分析:采用Graphd Prism 8.0统计学软件处理数据进行数据分析。年龄、眼压、视野平均缺损、IL-6含量和IL-37含量,采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用独立样本 t 检验进行组间比较;性别比采用卡方检验;各细胞因子之间、细胞因子含量与视野平均缺损、眼压之间的相关性用Pearson相关分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者房水中IL-6和IL-37含量比较 POAG组IL-37含量为25.80±2.87pg/mL,ARC组IL-37含量为23.75±3.88pg/mL,两组比较差异有统计学意义($t=2.087, P<0.05$)。POAG组IL-6含量为43.87±7.75pg/mL,ARC组IL-6含量为36.53±7.60pg/mL,差异有统计学意义($t=3.311, P<0.05$)。

2.2 POAG组眼压水平与房水中IL-6和IL-37相关性 Pearson分析显示POAG患者眼压水平与房水中IL-6含量呈正相关($r=0.5817, P<0.05$),与房水中IL-37含量无相关性($r=-0.2313, P>0.05$)。

2.3 POAG组视野平均缺损与房水中IL-6和IL-37相关性 Pearson分析显示POAG患者视野平均缺损与房水中IL-37含量呈正相关($r=0.4520, P<0.05$),与房水中IL-6含量无相关性($r=-0.2652, P>0.05$)。

3 讨论

由于血-眼屏障的存在,睫状体上皮细胞分泌的房水较血清更能反应眼部微环境的变化。目前,房水中细胞因子检测已经成为眼科研究领域的热点内容。多项研究表明房水中的细胞因子不仅与青光眼病理改变密切相关,甚至可能影响青光眼患者预后^[7-8]。本研究发现,POAG组患者房水中IL-37和IL-6含量较ARC组明显增加,POAG患者房水中IL-6含量与眼压具有正相关性,IL-37含量与视野平均缺损具有正相关性。

IL-6是一种具有多种生物功能的细胞因子,主要通过IL-6受体和gp130结合,激活JAK-STAT、ERK-MAPK等细胞内信号通路,产生多种生物学效应,广泛参与免疫应答、急性期反应、炎症、肿瘤生成等病理生理过程^[9]。目前有关房水中IL-6的来源尚不清楚。Taurone等^[10]认为在POAG患者房水中,IL-6来源于小梁网内皮细胞。临床和动物实验证据均表明,IL-6在包括类风湿关节炎在内的多种自身免疫性疾病发病机制中发挥着重要作用,多个国家已经批准使用IL-6R特异性单克隆抗体tocilizumab中和IL-6活性治疗自身免疫性疾病^[11]。因此,我们研究房水中IL-6表达水平对于理解免疫反应在青光眼发病机制中的作用有重要意义。有研究发现IL-1a可以降低人眼小梁细胞吞噬功能,IL-6可以激活STAT3信号通路,影响成纤维细胞的增殖,介导细胞外基质的产生^[12]。先前已有研究报道IL-6在炎症性青光眼和新生血管性青光眼中存在明显高表达^[13-14],但是IL-6在POAG患者房水中的表达情况尚不清楚。本研究发现POAG组患者房水中IL-6含量明显高于ARC组,并且IL-6与眼压具有显著正相关关系,说明IL-6很有可能以某种机制介导眼压的增高,参与POAG发病机制。

IL-37 是新近发现的具有广泛抑制活性的炎症因子,主要由单核细胞和树突状细胞分泌。在炎症反应和自身免疫性疾病发生发展过程中,IL-37 可以被激活,被激活的 IL-37 通过抑制促炎性细胞因子的表达抑制炎症反应^[15]。现已发现,IL-37 在多种慢性炎症及自身免疫性疾病中表达上调,例如类风湿关节炎、红斑狼疮、动脉粥样硬化,IL-37 表达水平与这些疾病的严重程度正相关^[16]。Zhang 等^[17]研究发现慢性闭角型青光眼患者房水中 IL-36、IL-37、IL-38 等细胞因子含量较白内障对照组明显升高,并且三种细胞因子含量与视野平均缺损均具有显著相关性。这与本研究结果是相一致的,表明 IL-37 可能不仅仅参与青光眼的发病过程,甚至可能影响疾病预后。

总之,本研究结果显示 POAG 患者房水中 IL-37 和 IL-6 水平明显高于 ARC 组,IL-6 与眼压具有正相关性,IL-37 与视野缺损具有正相关性。本研究结果说明免疫反应在 POAG 发病机制中有重要作用,IL-6 与 IL-37 可能以某种机制参与 POAG 的发生、发展。然而,我们的研究仍存在一些局限性:(1)由于传统的 ELISA 实验本身的限制,再加房水样本量有限,我们只测了总的 IL-37 的含量,未对其各亚型含量做进一步的检测。(2)样本量偏小、以 ARC 患者作为健康对照的缺陷也影响了本研究的外部真实性。未来,我们会通过细胞、动物实验进一步证明 IL-6 和 IL-37 在 POAG 发病过程中的生物学作用。

参考文献

- 1 Beidoe G, Mousa SA. Current primary open-angle glaucoma treatments and future directions. *Clin Ophthalmol* 2012;6(1):1699-1707
- 2 Chen H, Cho KS, Vu THK, et al. Commensal microflora-induced T cell responses mediate progressive neurodegeneration in glaucoma. *Nat Commun* 2018;9(1):3209
- 3 张勇, 谢琳. 青光眼患者房水中细胞因子的研究进展. *国际眼科杂志* 2017;17(10):1864-1866
- 4 Jones BE, Maerz MD, Buckner JH. IL-6: a cytokine at the crossroads of autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2018;55:9-14

- 5 陈琳, 叶于富. 白细胞介素-37 与自身免疫性疾病. *国际免疫学杂志* 2017;40(5):527-531
- 6 中华医学会眼科学分会青光眼学组, 中华医学会中华眼科杂志编辑委员会. 我国原发性青光眼诊断和治疗专家共识. *中华眼科杂志* 2008;44(9):862-863
- 7 Lee NY, Park HY, Park CK, et al. Analysis of systemic endothelin-1, matrix metalloproteinase-9, macrophage chemoattractant protein-1, and high-sensitivity C-reactive protein in normal-tension glaucoma. *Curr Eye Res* 2012;37(12):1121-1126
- 8 Sawada H, Fukuchi T, Tanaka T, et al. Tumor necrosis factor-alpha concentrations in the aqueous humor of patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(2):903-906
- 9 Tanaka T, Kishimoto T. The biology and medical implications of interleukin-6. *Cancer Immunol Res* 2014;2(4):288-294
- 10 Taurone S, Ripandelli G, Pacella E, et al. Potential regulatory molecules in the human trabecular meshwork of patients with glaucoma: immunohistochemical profile of a number of inflammatory cytokines. *Mol Med Rep* 2015;11(2):1384-1390
- 11 Scott LJ. Tocilizumab: A Review in Rheumatoid Arthritis. *Drugs* 2017;77(17):1865-1879
- 12 刘攀, 孟杰, 刘星, 等. 白细胞介素-6 在青光眼发病过程中的作用. *国际眼科杂志* 2018;18(10):1803-1805
- 13 唐靖, 白克吐尔·阿布力米提. 炎症性青光眼患者血清与房水 IL-34、IL16 水平的变化及意义. *国际检验医学杂志* 2018;39(19):2442-2445
- 14 阿依努尔·艾买尔, 克力木江·阿不拉. 新生血管性青光眼患者血清和房水中 IL-6、IL-8、TNF- α 的表达水平及意义. *国际眼科杂志* 2018;18(8):1393-1396
- 15 谢英东, 侯玉香, 高如秀, 等. IL-37b 与 TNF- α 在大肠癌患者中的关系及其临床意义. *国际检验医学杂志* 2019;40(11):1298-1301
- 16 Wang XY, Xu K, Chen SS, et al. Role of Interleukin-37 in Inflammatory and Autoimmune Diseases. *Iran J Immunol* 2018;15(3):165-174
- 17 Zhang JL, Song XY, Chen YY, et al. Novel inflammatory cytokines (IL-36, 37, 38) in the aqueous humor from patients with chronic primary angle closure glaucoma. *Int Immunopharmacol* 2019;71:164-168