

# IL-18、IL-18BP、IL-18R在特应性皮炎患者外周血B淋巴细胞及单核细胞中的表达

李蕙彤,任鲁宁,王菲,杨冬梅,杜红阳  
(锦州医科大学附属第一医院皮肤科,辽宁 锦州 121000)

**摘要** 目的 探讨特应性皮炎(AD)患者外周血B淋巴细胞及单核细胞中白细胞介素(IL)-18、IL-18BP和IL-18R的表达。方法 收集28例AD患者和21例健康对照者外周静脉血,分别用大籽蒿过敏原提取物、尘螨过敏原提取物或梧桐花粉过敏原提取物刺激,采用流式细胞术检测B淋巴细胞及单核细胞中IL-18<sup>+</sup>、IL-18BP<sup>+</sup>和IL-18R<sup>+</sup>的表达。结果 与健康对照者比较,AD患者静息状态下B淋巴细胞群中IL-18<sup>+</sup>、IL-18BP<sup>+</sup>、IL-18R<sup>+</sup>细胞比例分别升高2.01、10.35、20.85倍,单核细胞群中IL-18<sup>+</sup>和IL-18BP<sup>+</sup>细胞比例分别升高5.51和41.88倍,IL-18R<sup>+</sup>细胞比例无明显变化。结论 B淋巴细胞及单核细胞中IL-18、IL-18BP和IL-18R可能在AD中起重要作用,可能是治疗AD的潜在靶点。

**关键词** 特应性皮炎; B淋巴细胞; 单核细胞; 白细胞介素-18; 白细胞介素-18BP; 白细胞介素-18R

中图分类号 R758.2 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2024)09-0782-06

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20240909.1728.028>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.09.003

## Expression of IL-18, IL-18BP, and IL-18R in peripheral blood B lymphocytes and monocytes of patients with atopic dermatitis

LI Huitong, REN Luning, WANG Fei, YANG Dongmei, DU Hongyang  
(Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China)

**Abstract Objective** To investigate the expression of IL-18, IL-18BP, and IL-18R in the peripheral blood B lymphocytes and monocytes of patients with atopic dermatitis (AD). **Methods** Peripheral venous blood was collected from 28 patients with AD and 21 healthy controls, and stimulated with *Artemisia sieversiana* wild allergen extract, house dust mite allergen extract, or *Platanus* pollen allergen extract. The expression of IL-18<sup>+</sup>, IL-18BP<sup>+</sup>, and IL-18R<sup>+</sup> in B lymphocytes and monocytes was measured using flow cytometry. **Results** Compared with the healthy control group, the proportions of IL-18<sup>+</sup>, IL-18BP<sup>+</sup>, and IL-18R<sup>+</sup> cells in the B lymphocyte group of patients with AD at rest increased 2.01-, 10.35-, and 20.85-fold, respectively. The proportions of IL-18<sup>+</sup> and IL-18BP<sup>+</sup> cells in monocytes increased 5.51- and 41.88-fold, respectively, whereas the proportion of IL-18R<sup>+</sup> cells did not differ significantly between the groups. **Conclusion** IL-18, IL-18BP, and IL-18R in B lymphocytes and monocytes may play an important role in AD. IL-18, IL-18BP, and IL-18R may be potential targets for the treatment of AD.

**Keywords** atopic dermatitis; B lymphocytes; monocyte; interleukin-18; interleukin-18BP; interleukin-18R

特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)是一种较为常见的慢性炎症性皮肤病,以皮肤瘙痒、反复发作的湿疹样皮损为主要临床特征<sup>[1]</sup>。其发病与遗传、环境、自身免疫等因素密切相关,其中外源性AD的加重与屏障功能障碍和外来过敏原渗透侵入有关,皮肤屏障破坏使患者的皮肤对环境过敏原(尘螨、

动物皮屑、草花粉等)高度易感<sup>[2]</sup>。

白细胞介素(interleukin, IL)-18是IL-1家族细胞因子<sup>[3]</sup>,在许多过敏性疾病表达增加,能引起严重的过敏性炎症反应<sup>[4]</sup>。IL-18与IL-18受体(interleukin-18 receptor, IL-18R)结合能促进Th1细胞相关因子的释放,导致Th1/Th2失衡。IL-18结合蛋白(interleukin-18 binding protein, IL-18BP)是一种糖蛋白,能抑制IL-18诱导Th1细胞产生γ干扰素(interferon-γ, INF-γ),是IL-18的天然拮抗剂,与IL-18协调作用参与细胞免疫反应<sup>[5]</sup>,二者在多种炎症性皮肤病和自身免疫性疾病中表达增加<sup>[4,6]</sup>。体内多种免疫细胞

基金项目:辽宁省自然科学基金(2021-MS-328)

作者简介:李蕙彤(1993-),女,硕士研究生。

通信作者:杜红阳, E-mail: 4197123@163.com

收稿日期:2023-11-15

网络出版时间:2024-09-10 15:46:01

(如单核细胞、巨噬细胞、T细胞、B细胞、NK细胞和中性粒细胞)及肥大细胞和嗜碱性粒细胞可表达IL-18<sup>[7]</sup>。但是,关于过敏原对AD患者血液单核细胞和B淋巴细胞中IL-18、IL-18BP和IL-18R的表达情况却知之甚少。因此,本研究拟探讨AD患者外周血B淋巴细胞和单核细胞中IL-18、IL-18BP和IL-18R的表达情况,以及过敏原对其表达的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

主要试剂:Zombie Green™ Fixable Viability Kit、Human TruStain FcX™、PE/Cy7-CD14、APC/Cy7-CD19、BV510驴抗兔IgG抗体、红细胞裂解液、布雷非德菌素A (Brefeldin A, BFA),购自美国Biolegend公司;APC-IL-18R $\alpha$ 、APC-IL-18R $\alpha$ 同型、PE-IL-18、PE-IL-18同型,购自美国R&D Systems公司;兔抗人IL-18BP抗体、兔IgG同型对照抗体,购自美国NOVUS公司;大籽蒿过敏原提取物(*Artemisia sieversiana* wild allergen extract, ASWE)、尘螨过敏原提取物(house dust mite allergen extract, HDME)、梧桐花粉过敏原提取物(*Platanus pollen allergen extract*, PPE),购自北京新华协和药业有限责任公司(中国);Cytotfix /Cytoperm™固定/透膜试剂盒购自美国BD Biosciences Pharmingen公司。主要仪器:低温高速离心机购自美国Thermo Scientific公司,FACSVerser 流式细胞仪购自美国BD Biosciences公司。

### 1.2 方法

1.2.1 研究对象和样本采集:选取2021年11月至2022年12月就诊于锦州医科大学附属第一医院皮肤科的AD患者28例(AD组),其中,女17例,男11例,年龄17(1~64)岁;ASWE阳性25例,HDME阳性25例,PPE阳性25例。选取同期我院健康体检志愿者21例作为健康对照组,其中,女11例,男10例,年龄33(29~41)岁。AD诊断符合AD Williams诊断标准,入组患者要求停止服用抗过敏药物 $\geq 2$ 周。本研究获得锦州医科大学附属第一医院医学伦理委员会批准(审批号202397),所有研究对象知情同意。采集所有研究对象的外周静脉血于含有EDTA抗凝剂的采血管中,用于流式细胞检测。

1.2.2 流式细胞术检测外周静脉血B淋巴细胞和单核细胞IL-18、IL-18BP和IL-18R的表达:取100  $\mu$ L外

周静脉血标本,置入2 mL EP管中;分别加入1.0  $\mu$ g/mL的ASWE、HDME、PPE 3  $\mu$ L,并加入2  $\mu$ L BFA,37  $^{\circ}$ C孵育1 h;每管加入FITC去死细胞染料和人Fc受体阻断剂,室温避光孵育15 min;依次加入表面抗体PE/Cy7-CD14、APC/Cy7-CD19和APC-IL-18R $\alpha$ ,荧光减一(fluorescence minus one, FMO)对照管加入相应的表面同型抗体,室温避光孵育15 min;裂解红细胞后用固定/透膜液固定细胞,加入PE-IL-18和抗人IL-18BP一抗,FMO对照管加入相应的胞内同型抗体,4  $^{\circ}$ C避光孵育30 min;透膜洗液清洗,加入BV510 Secondary Ab驴抗兔抗体,4  $^{\circ}$ C避光孵育30 min;透膜洗液清洗,PBS重悬细胞,流式上机检测。使用FlowJo v10.6.2软件进行数据分析。

### 1.3 统计学分析

采用GraphPad Prism 5.0软件和SPSS 17.0软件进行统计分析。用非参数Mann-Whitney检验评估静息状态和不同过敏原刺激后健康对照组和AD组指标的差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

流式细胞术分别检测B淋巴细胞和单核细胞IL-18、IL-18BP和IL-18R的表达,设门方法见图1。

### 2.1 B淋巴细胞富集群中IL-18、IL-18BP和IL-18R的表达

与健康对照组比较,AD组静息状态下血液中CD19<sup>+</sup>B淋巴细胞比例增加,差异有统计学意义( $P = 0.003$ ),3种过敏原对B淋巴细胞比例的影响不显著(图2)。

与健康对照组比较,AD患者静息状态下B淋巴细胞群中IL-18<sup>+</sup>细胞比例升高2.01倍(图3A),IL-18BP<sup>+</sup>细胞比例升高10.35倍(图3B),IL-18R<sup>+</sup>细胞比例升高20.85倍(图3C),过敏原ASWE、HDME和PPE对B淋巴细胞上的IL-18、IL-18BP和IL-18R表达影响不显著。

### 2.2 单核细胞富集群中IL-18、IL-18BP和IL-18R的表达

静息状态下健康对照组和AD组CD14<sup>+</sup>单核细胞比例无统计学差异( $P > 0.05$ ),3种过敏原对单核细胞比例的影响不显著(图4)。与健康对照组比较,AD组静息状态下单核细胞群中IL-18<sup>+</sup>细胞比例升高5.51倍(图5A),IL-18BP<sup>+</sup>细胞比例升高41.88倍(图

5B), 而IL-18R<sup>+</sup>细胞比例无明显变化(图5C), 过敏原 ASWE、HDME和PPE对单核细胞IL-18、IL-18BP和IL-18R表达影响不显著。

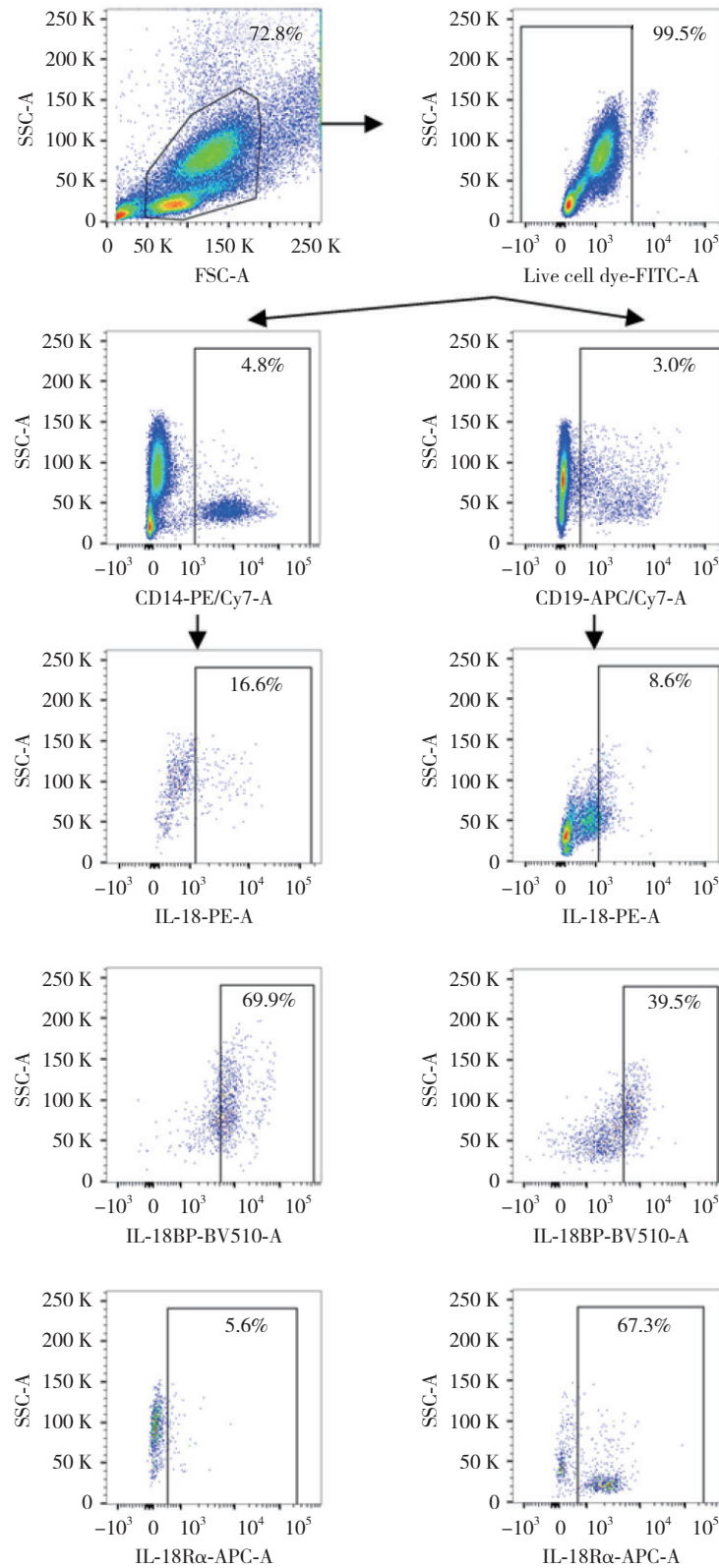
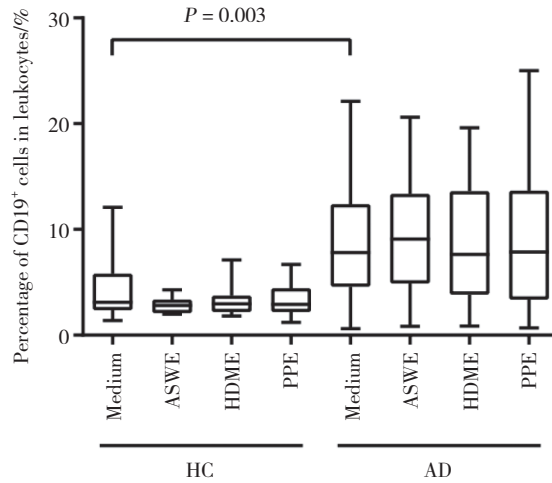


图1 门控策略图

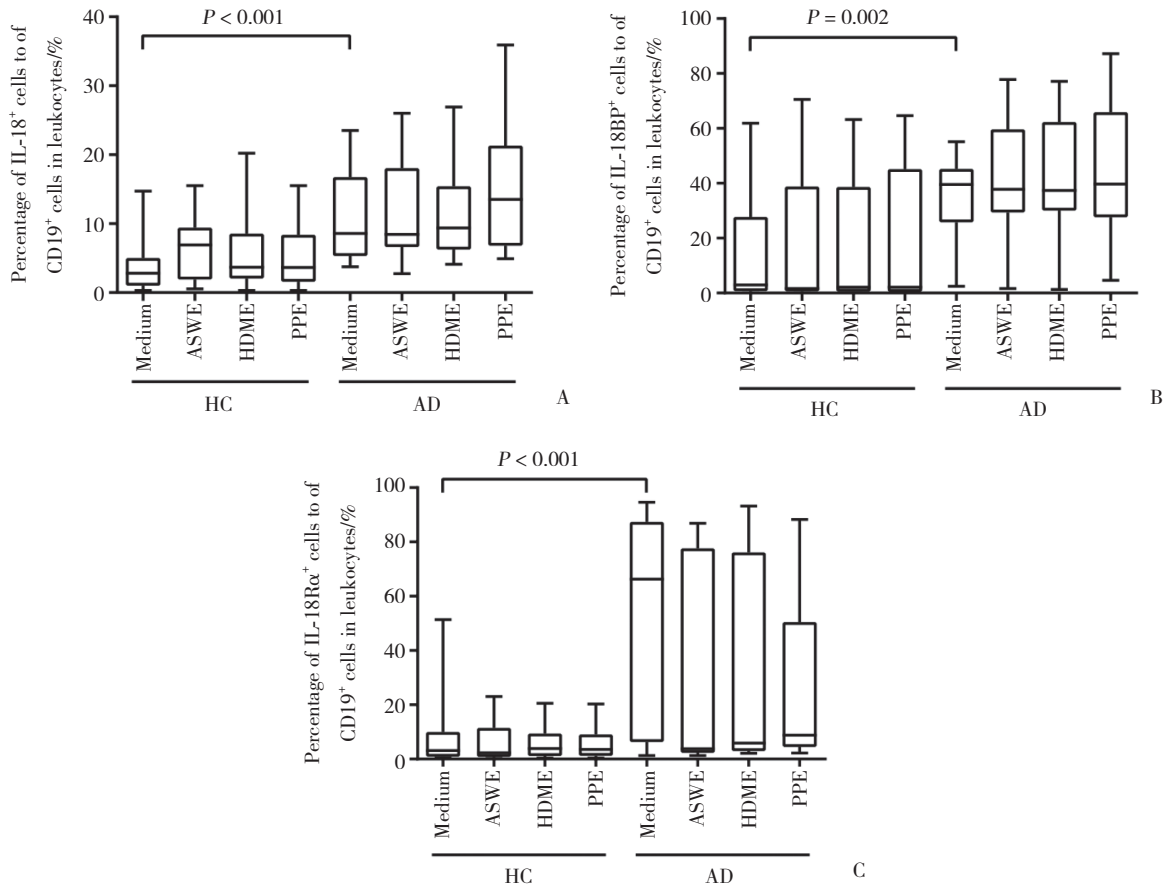
Fig.1 Gating strategies



HC, health control group; AD, atopic dermatitis group.

图2 CD19<sup>+</sup>细胞占白细胞百分比

Fig.2 Percentage of CD19<sup>+</sup> cells in leukocytes



A, IL-18<sup>+</sup>; B, IL-18BP<sup>+</sup>; C, IL-18Rα<sup>+</sup>.

图3 IL-18<sup>+</sup>、IL-18BP<sup>+</sup>、IL-18Rα<sup>+</sup>细胞占白细胞中CD19<sup>+</sup>细胞百分比

Fig.3 Percentage of IL-18<sup>+</sup>, IL-18BP<sup>+</sup>, and IL-18Rα<sup>+</sup> cells to CD19<sup>+</sup> cells in leukocytes

### 3 讨论

AD也称为特应性湿疹、遗传过敏性湿疹等,曾

称为异位性皮炎。其特征为本人或其家族中具有明显的“特应性”特点,是最常见的皮肤科疾病之一<sup>[8]</sup>。

AD患者血清中IL-18水平升高,本研究结果显示,AD

患者血液中B淋巴细胞和单核细胞IL-18<sup>+</sup>细胞的比例明显升高,提示炎症性皮肤病患者血液IL-18水平的升高可能与B淋巴细胞和单核细胞有关<sup>[6]</sup>。

IL-18是一种多效促炎性细胞因子,在炎症过程中起双相调节作用,可以调控Th1和Th2型免疫应答,调节IgE的合成,主要由活化的单核巨噬细胞产生<sup>[9]</sup>。

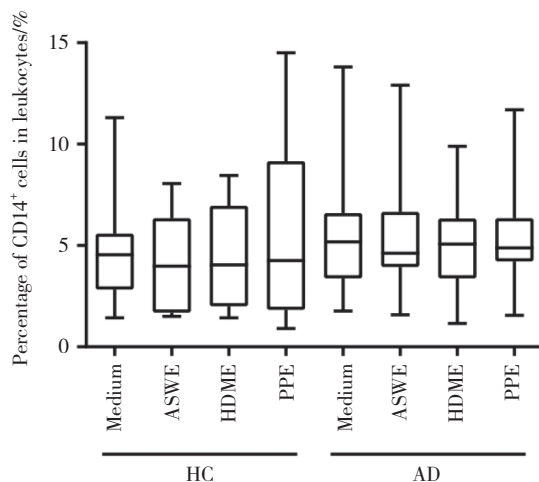
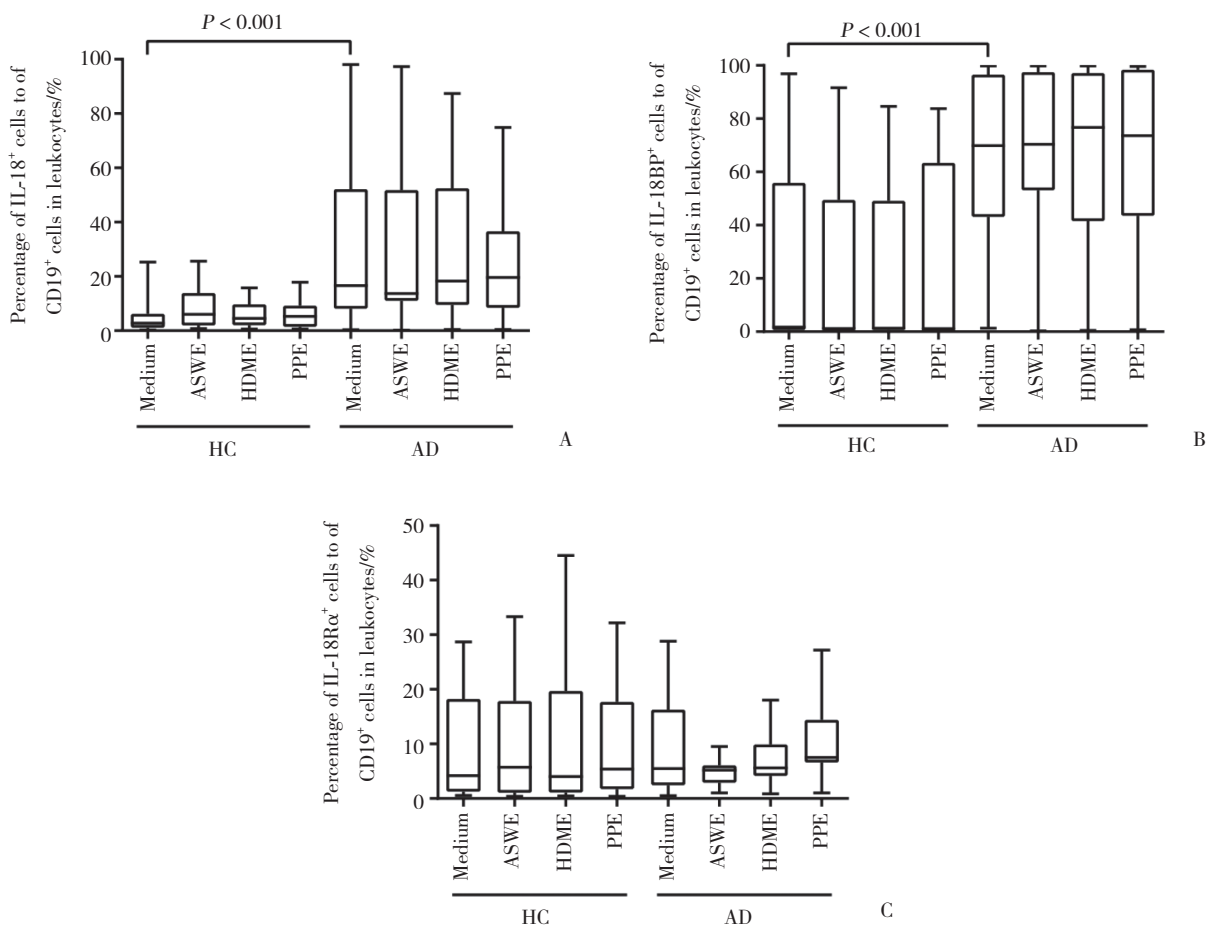


图4 CD14<sup>+</sup>细胞占白细胞百分比  
Fig.4 Percentage of CD14<sup>+</sup> cells in leukocytes



A, IL-18<sup>+</sup>; B, IL-18BP<sup>+</sup>; C, IL-18Rα<sup>+</sup>.

图5 IL-18<sup>+</sup>、IL-18BP<sup>+</sup>、IL-18Rα<sup>+</sup>细胞占白细胞中CD14<sup>+</sup>细胞百分比  
Fig.5 Percentage of IL-18<sup>+</sup>, IL-18BP<sup>+</sup>, and IL-18Rα<sup>+</sup> cells to CD14<sup>+</sup> cells in leukocytes

AD患者外周血中单核细胞可产生大量前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE2), 后者又可直接刺激B淋巴细胞产生IgE<sup>[10]</sup>。研究<sup>[11]</sup>发现, AD的发病机制部分由Th2介导, Th2促进IL-4和IL-13的产生并诱导IgE, 而IL-18能够增强Th2应答。IgE和肥大细胞可以促进多种炎症介质的产生, 故IL-18有助于评估AD发生发展, 抑制IL-18可能是AD潜在的治疗靶点。

IL-18成熟活化后, 通过IL-18R参与多种生物学功能。IL-18R由异源二聚体组成, 即 $\alpha$ 链(IL-18R $\alpha$ )和 $\beta$ 链(IL-18R $\beta$ )<sup>[12]</sup>。IL-18R $\alpha$ 在大多数细胞中表达, 而IL-18R $\beta$ 链只有少数细胞如T细胞、树突状细胞和肥大细胞表达<sup>[13]</sup>。IL-18通过与细胞表面的IL-18R $\alpha$ 相互作用, 在机体防御及致病过程中发挥其生物学功能。有研究<sup>[14]</sup>发现, 儿童过敏性哮喘患者肺组织中嗜酸性粒细胞增多, 并伴有IL-18R<sup>+</sup>表达增加。也有研究<sup>[15]</sup>显示, 过敏性鼻炎合并哮喘患者血液中嗜酸性粒细胞IL-18R<sup>+</sup>细胞的比例与正常对照组比较无统计学差异。本研究结果显示, AD患者血液单核细胞中IL-18R<sup>+</sup>细胞的比例与健康对照组相比无统计学差异, 而B细胞中IL-18R<sup>+</sup>细胞的比例明显升高。提示B细胞表面的IL-18R可能在AD中起重要作用, 但其机制需进一步研究。

IL-18BP是一种受体样可溶性蛋白, 是IL-18的内源性拮抗剂, 通过抑制IL-18与IL-18R的结合, 减少IFN- $\gamma$ 的产生, 从而抑制Th1免疫应答<sup>[16]</sup>。而IL-18/IL-18BP平衡的失调可能有助于Th1慢性炎症的发生<sup>[6]</sup>。研究<sup>[17]</sup>发现, IL-18BP在炎症和自身免疫性疾病患者中表达增加, 通常与IL-18水平升高同时发生。本研究结果表明, AD患者血液中B淋巴细胞和单核细胞中IL-18<sup>+</sup>细胞和IL-18BP<sup>+</sup>细胞的比例均明显升高, 提示IL-18与IL-18BP的失衡可能诱导AD的发生, 为AD的治疗提供了新思路。

综上所述, 本研究发现, B淋巴细胞及单核细胞中IL-18、IL-18BP和IL-18R可能在AD中起重要作用, 这3种IL可能是治疗AD的潜在靶点。

#### 参考文献:

[1] YU L, LI LF. Potential biomarkers of atopic dermatitis [J]. *Front Med*, 2022, 9: 1028694. DOI: 10.3389/fmed.2022.1028694.  
[2] 周杰, 陈曙光, 宋志强. 特异性免疫疗法治疗特应性皮炎 [J]. 中

华临床免疫和变态反应杂志, 2021, 15 (1): 76-81. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8705.2021.01.014.  
[3] VECCHIÉ A, BONAVENTURA A, TOLDO S, et al. IL-18 and infections: is there a role for targeted therapies? [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236 (3): 1638-1657. DOI: 10.1002/jcp.30008.  
[4] IHIM SA, ABUBAKAR SD, ZIAN Z, et al. Interleukin-18 cytokine in immunity, inflammation, and autoimmunity: biological role in induction, regulation, and treatment [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 919973. DOI: 10.3389/fimmu.2022.919973.  
[5] YASUDA K, NAKANISHI K, TSUTSUI H. Interleukin-18 in health and disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (3): 649. DOI: 10.3390/ijms20030649.  
[6] WANG XY, WANG L, WEN X, et al. Interleukin-18 and IL-18BP in inflammatory dermatological diseases [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 955369. DOI: 10.3389/fimmu.2023.955369.  
[7] 王君灵, 何韶衡. IL-18在过敏性气道疾病中的作用研究进展 [J]. *西安交通大学学报 (医学版)*, 2023, 44 (4): 654-659. DOI: 10.7652/jdyxb202304024.  
[8] 赵辩. 中国临床皮肤病学 [M]. 南京: 江苏凤凰科学技术出版社, 2019: 765-774.  
[9] 崔夫波, 柴文成, 张慧云, 等. 过敏性鼻炎患者外周血嗜酸性粒细胞富集群中IL-18、IL-18BP和IL-18R的表达 [J]. *郑州大学学报 (医学版)*, 2018, 53 (1): 125-128. DOI: 10.13705/j.issn.1671-6825.2016.12.010.  
[10] CHEN JL, NIU XL, GAO YL, et al. IL-18 knockout alleviates atopic dermatitis-like skin lesions induced by MC903 in a mouse model [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46 (2): 880-888. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4630.  
[11] VOSS GT, DE OLIVEIRA RL, DAVIES MJ, et al. Suppressive effect of 1, 4-anhydro-4-seleno-D-talitol (SeTal) on atopic dermatitis-like skin lesions in mice through regulation of inflammatory mediators [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2021, 67: 126795. DOI: 10.1016/j.jtemb.2021.126795.  
[12] ZHOU T, DAMSKY W, WEIZMAN OE, et al. IL-18BP is a secreted immune checkpoint and barrier to IL-18 immunotherapy [J]. *Nature*, 2020, 583 (7817): 609-614. DOI: 10.1038/s41586-020-2422-6.  
[13] SHIMIZU M, TAKEI S, MORI M, et al. Pathogenic roles and diagnostic utility of interleukin-18 in autoinflammatory diseases [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 951535. DOI: 10.3389/fimmu.2022.951535.  
[14] WANG JL, ZHANG HY, ZHENG WJ, et al. Correlation of IL-18 with tryptase in atopic asthma and induction of mast cell accumulation by IL-18 [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 4743176. DOI: 10.1155/2016/4743176.  
[15] 王玲, 胡雅琳, 杨蕊铭, 等. 过敏性鼻炎合并哮喘患者血液嗜酸性粒细胞富集群中IL-18、IL-18BP及IL-18R的表达 [J]. *郑州大学学报 (医学版)*, 2017, 52 (5): 598-602. DOI: 10.13705/j.issn.1671-6825.2017.05.020.  
[16] ITALIANI P, MANCA ML, ANGELOTTI F, et al. IL-1 family cytokines and soluble receptors in systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20 (1): 27. DOI: 10.1186/s13075-018-1525-z.  
[17] GABAY C, FAUTREL B, RECH J, et al. Open-label, multicentre, dose-escalating phase II clinical trial on the safety and efficacy of tadekinig Alfa (IL-18BP) in adult-onset Still's disease [J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 77 (6): 840-847. DOI: 10.1136/annrheumdis-2017-212608.