

·论著·

小儿热性惊厥 T 淋巴细胞及 红细胞免疫功能的研究

邹峥¹,陈遂²,徐淑娟¹,梅魁敏²,陈志军²,傅颖媛³,曾小平³,杨慧³

(江西省儿童医院 1. 内科; 2. 中心实验室; 3. 江西医学院免疫教研室,江西 * 南昌 330006)

[摘要] 目的 探讨热性惊厥患儿外周血 T 淋巴细胞和红细胞免疫功能的变化。方法 对 82 例热性惊厥患儿、40 例上呼吸道感染患儿及 40 例正常小儿进行有关免疫检测。用微量全血氚标记胸腺嘧啶核苷掺入法,测 T 淋巴细胞增殖反应;用 McAb-APAAP 法测 T 淋巴细胞亚群的分布和 CD25 抗原、HLA-DR 抗原表达;用生物素-亲和素双抗夹心酶联免疫吸附测定法,测 γ -干扰素 (γ -IFN) 水平;用酵母花环实验,测红细胞免疫粘附功能。结果 单纯型热性惊厥的每分钟脉冲数(CPM)及刺激指数(SI)分别为 $5\ 609.4 \pm 3\ 587.4$, 20.5 ± 15.6 ;复杂型的 CPM 及 SI 分别为 $2\ 817.3 \pm 2\ 422.8$, 11.0 ± 8.40 ,均分别显著低于正常对照组 ($20\ 305.9 \pm 12\ 810.3$, 69.2 ± 45.2) 及上感组 ($9\ 785.2 \pm 7\ 509.8$, 44.5 ± 39.8),差异有显著性 ($P < 0.05$)。单纯型的 CD3, CD4 及 CD4/CD8 分别为 $(40.0 \pm 8.2)\%$, $(26.1 \pm 9.0)\%$, 1.1 ± 0.4 ;复杂型则分别为 $(32.8 \pm 6.9)\%$, $(17.8 \pm 4.9)\%$, 0.8 ± 0.1 ,均分别低于正常对照组 [$(64.1 \pm 6.7)\%$, $(47.7 \pm 5.5)\%$, 1.9 ± 0.8] 及上感组 [$(63.0 \pm 9.3)\%$, $(42.4 \pm 8.2)\%$, 1.6 ± 0.4],差异有显著性 ($P < 0.01$)。CD25 抗原及 HLA-DR 抗原表达结果,在自然状态下复杂型者分别为 $(6.3 \pm 1.9)\%$ 和 $(12.4 \pm 3.4)\%$,低于单纯型 [$(8.9 \pm 3.6)\%$, $(16.2 \pm 5.6)\%$],差异有显著性 ($P < 0.05$);两组 CD25, HLA-DR 均分别低于正常对照组 [$(12.8 \pm 2.5)\%$, $(20.2 \pm 5.2)\%$] 和上感组 [$(15.0 \pm 3.07)\%$, $(20.5 \pm 2.8)\%$],差异有显著性 ($P < 0.01$);在 PHA 刺激后,单纯型者分别为 $(57.0 \pm 5.1)\%$, $(57.8 \pm 6.0)\%$,复杂型者则分别为 $(53.0 \pm 12.0)\%$ 和 $(54.7 \pm 9.7)\%$,均分别低于正常对照组 [$(65.7 \pm 5.7)\%$, $(68.8 \pm 6.2)\%$] ($P < 0.05$) 及上感组 [$(64.3 \pm 6.4)\%$, $(67.1 \pm 8.6)\%$] ($P < 0.01$)。PBMC 之 γ -IFN 诱生水平检测,单纯型者为 (1.80 ± 0.4) ng/ml,复杂型为 (1.6 ± 0.1) ng/ml,二者均明显低于正常对照组 (2.4 ± 0.9) ng/ml ($P < 0.05$),但二者与上感组 (1.8 ± 0.7) ng/ml 比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。RBC-3bR 花环形成率复杂型为 $(9.1 \pm 4.4)\%$,显著低于正常对照组 $(15.8 \pm 5.7)\%$ 及上感组 $(13.5 \pm 5.1)\%$,差异有显著性 ($P < 0.05$)。RRC-IC 花环形成率单纯型为 $(3.0 \pm 1.0)\%$,复杂型为 $(2.6 \pm 0.7)\%$,均显著低于正常对照组 $(3.7 \pm 1.3)\%$ 及上感组 $(3.9 \pm 1.4)\%$ ($P < 0.05$)。结论 热性惊厥患儿的 T 淋巴细胞及红细胞免疫功能均受损,尤以复杂型热性惊厥患儿更明显。

[关键词] 热性惊厥;T 淋巴细胞;红细胞;免疫功能;小儿

[中图分类号] R446.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008 - 8830(2001)04 - 0377 - 04

1997 年 1 月至 1999 年 12 月,我们系统地进行了热性惊厥(febrile convulsion, FC)患儿、上呼吸道感染(以下简称上感)患儿及正常小儿 3 组的外周血 T 淋巴细胞免疫功能和红细胞免疫粘附功能的检测,旨在比较全面地了解 FC 患儿 T 淋巴细胞免疫和红细胞免疫功能变化的特点,并探讨其与 FC 发病的关系以及防治对策。

1 材料与方法

1.1 研究对象及分组

患儿组:1997 年 1 月至 1999 年 12 月于我院住院的 FC 患儿 82 例,均符合 1983 年全国第 1 届小儿神经学术会议制定的 FC 诊断标准^[1],其中男 58 例,女 24 例,平均年龄 2.5 岁。本组病例均为上呼

[收稿日期] 2000 - 07 - 10; [修回日期] 2001 - 07 - 06
[基金项目] 江西省科委立项资助课题(赣科鉴字[1999]第 171 号)
[作者简介] 邹峥(1958 -),女,大学,副主任医师。

吸道感染(上感)合并 FC 的患儿,均经脑电图检查排除癫痫。将惊厥发作呈局灶性,发作持续 15 min 以上,或 24 h 内重复发作^[2]的患儿归为复杂型(complex febrile convulsion, CFC),共 41 例,其余 41 例为单纯型(simple febrile convulsion, SFC)。FC 患儿均于抽搐发作后 24 h 内抽取静脉血送检。

对照组:为排除感染和发热本身对细胞免疫的影响,选择同期住院上呼吸道感染(upper respiratory infection, URI)患儿 40 例为上感组,其中男 26 例,女 14 例,平均年龄 2.6 岁。正常对照组 40 例,为体格检查正常,近 1 个月内无疾病史的健康儿童,其中男 28 例,女 12 例,平均年龄 2.8 岁。对照组于清晨空腹抽血送检。

所有研究对象在受试前一个月均未接受免疫抑制剂或免疫增强剂治疗。

1.2 主要试剂与仪器

³H-TdR,中国科学院上海原子能研究所提供;鼠抗人 CD25 单克隆抗体、HLA-DR 单克隆抗体与 APAAP 试剂盒,鼠抗人 CD3,CD4,CD8 单克隆抗体与 APAAP 试剂盒均由军事医学科学院提供。⁻IFN 试剂盒由上海第二军医大学微生物教研室提供;酵母菌为上海酵母总厂产品。

1.3 方法

1.3.1 T 淋巴细胞增殖反应 采用微量全血氚标记胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)掺入法^[3],结果用液闪仪测定,以每分钟脉冲数(CPM)和刺激指数(SI)表示。

1.3.2 T 淋巴细胞亚群检测 采用单克隆抗体 APAAP 法检测 T 淋巴细胞亚群 CD3,CD4 细胞百分率及 CD4/CD8 细胞比值。

1.3.3 T 淋巴细胞活化检测 采用单克隆抗体 APAAP 法检测 CD25 细胞及 HLA-DR 细胞分别在自然状态和 PHA 激活后的活化状态(以含 20% 小牛血清和 400 mg/L PHA 的 RPMI1640 培养液,在 37^oC,5% CO₂ 条件下培养 72 h)百分率。

1.3.4 ⁻IFN 水平检测 按常规分离 PBMC,用含 20% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液调细胞浓度为 2×10^6 /ml,加 PHA(200 μg/ml) 1 ml,培养 72 h 后,收集上清液待测。采用 ABC-ELISA 法,绘制出 ⁻IFN 标准曲线,经回归分析,回归方程 $Y = -0.017 + 0.385X$, $r = 0.9874$,线性回归良好。

1.3.5 红细胞免疫粘附功能检测 采用郭峰等^[4]改良红细胞酵母菌花环实验检测红细胞粘附功能,测定红细胞 C3b 受体花环率(RBC-C3bRR)及红细胞免疫复合物花环率(RBC-ICR)。结果以阳性花环百分率表示。

1.4 统计学处理

使用《医用统计程序集》软件,POMS-5 程序统计分析。检测结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组之间差异运用单因素方差分析(*F* 检验)进行统计学处理。在两组之间的差异用 *q* 检验。

2 结果

2.1 各组 T 淋巴细胞增殖反应结果比较

单纯型与复杂型 FC 组患儿 T 淋巴细胞增殖反应均明显下降,CPM 均分别低于对照组及上感组($P < 0.05$);SI 亦分别低于对照组及上感组($P < 0.05$)。复杂型 FC 组与单纯型 FC 组间 CPM,SI 差异有显著性($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组 T 淋巴细胞增殖反应及 T 淋巴细胞亚群分布比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CPM	SI	CD3(%)	CD4(%)	CD4/CD8
对照组	40	20 305.9 ±12 810.3	69.2 ±45.5	64.1 ±6.7	47.7 ±5.5	1.9 ±0.3
上感组	40	9 785.2 ±7 509.8	44.5 ±39.8	63.0 ±9.3	42.4 ±8.2	1.6 ±0.4
FC 组						
单纯组	41	5 609.4 ±3 587.4 ^{a,b}	20.5 ±15.6 ^{a,b}	40.0 ±8.2 ^{a,b}	26.1 ±9.0 ^{a,b}	1.1 ±0.4 ^{a,b}
复杂型	41	2 817.3 ±2 422.8 ^{a,b,c}	11.0 ±8.4 ^{a,b,c}	32.8 ±6.9 ^{a,b,c}	17.8 ±4.9 ^{a,b,c}	0.8 ±0.1 ^{a,b,c}

注: a * 与对照组比较 $P < 0.05$; b * 与上感组比较 $P < 0.05$; c * 与单纯型比较 $P < 0.05$

2.2 各组 T 淋巴细胞亚群结果比较

FC 组患儿 CD3,CD4 细胞数及 CD4/CD8 比值均显著降低,且 65% (54/82) 的患儿呈现 CD4/CD8 比值倒置。单纯型 FC 组患儿外周血中,T 淋巴细胞亚群的 CD3,CD4 细胞数及 CD4/CD8 比值均较

对照组及上感组明显下降($P < 0.05$),复杂型 FC 组患儿之 CD3,CD4 细胞数及 CD4/CD8 比值亦明显低于对照组及上感组($P < 0.05$)。复杂型 FC 组与单纯型 FC 组比较,前者 CD3,CD4 细胞数及 CD4/CD8 比值更明显下降($P < 0.05$)。见

表 1。

2.3 PHA 激活前后,各组 CD25 抗原、HLA - DR 抗原表达率比较

单纯型 FC 组与复杂型 FC 组患儿 T 淋巴细胞在自然状态下的 CD25 抗原及 HLA - DR 抗原表达率明显低于对照组 ($P < 0.01$),亦明显低于上感组 ($P < 0.01$)。经 PHA 激活后,两组之 CD25 及

HLA - DR 抗原表达率与刺激前比较均显著增多, ($P < 0.01$),但仍低于对照组 ($P < 0.05$)及上感组 ($P < 0.01$)。复杂型 FC 组与单纯型 FC 组比较,在自然状态下前者之 CD25 抗原与 HLA - DR 抗原表达率明显降低 ($P < 0.05$);在 PHA 刺激后,CD25 抗原及 HLA - DR 抗原表达率无显著差异 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 PHA 刺激前后各组 T 淋巴细胞 CD25 及 HLA-DR 抗原表达比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	刺激前		例数	刺激后	
		CD25	HLA-DR		CD25	HLA-DR
对照组	22	12.8 ±2.5	20.2 ±5.2	12	65.7 ±5.7	68.8 ±6.2
上感组	22	15.0 ±3.0	20.5 ±2.8	12	64.3 ±6.4	67.1 ±8.6
FC 组						
单纯型	26	8.9 ±3.6 ^{a,b}	16.2 ±5.6 ^{a,b}	12	57.0 ±5.1 ^{c,f,g}	57.8 ±6.0 ^{c,f,g}
复杂型	14	6.3 ±1.9 ^{a,b,c}	12.4 ±3.4 ^{a,b,c}	10	53.0 ±12.0 ^{d,f,g}	54.7 ±9.7 ^{d,f,g}

注: a * "与对照组比较 $P < 0.01$; b * "与上感组比较 $P < 0.01$; c * "与单纯型刺激前比较 $P < 0.01$; d * "与复杂型刺激前比较 $P < 0.01$; e * "与单纯型刺激前比较 $P < 0.05$; f * "与刺激后对照组比较 $P < 0.05$; g * "与刺激后上感组比较 $P < 0.01$

2.4 各组 PBMC 诱生 -IFN 水平结果比较

单纯型 FC 组 PBMC 的 -IFN 诱生水平低于对照组 ($P < 0.05$),复杂型 FC 组 -IFN 水平显著低于对照组 ($P < 0.05$),两组与上感组比较,差异均无显著性 (均 $P > 0.05$)。复杂型 FC 组与单纯型 FC 组比较,前者之 -IFN 水平下降较显著 ($P < 0.05$)。见表 3。

复杂型 FC 组与单纯型 FC 组比较,RBC - C3bR 花环形成率明显降低 ($P < 0.05$),RBC - IC 花环形成率差异无显著 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 3 各组 -干扰素的诱生水平比较 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/ml}$)

组别	例数	-IFN
对照组	18	2.4 ±0.9
上感组	18	1.8 ±0.7
FC 组		
单纯组	21	1.8 ±0.4 ^a
复杂型	17	1.6 ±0.1 ^{a,b}

注: a * "与对照组比较 $P < 0.05$; b * "与单纯型比较 $P < 0.05$

表 4 各组红细胞免疫粘附活性比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	RBC-C3bRR	RBC-ICR
对照组	24	15.8 ±5.7	3.7 ±1.3
上感组	32	13.5 ±5.1	3.9 ±1.4
FC 组			
单纯型	27	13.1 ±5.3	3.0 ±1.0 ^{a,b}
复杂型	20	9.1 ±4.4 ^{a,b,c}	2.6 ±0.7 ^{a,b}

注: a * "与对照组比较 $P < 0.05$; b * "与上感组比较 $P < 0.05$; c * "与单纯型比较 $P < 0.05$

2.5 各组红细胞免疫粘附活性结果比较

单纯型 FC 组患儿 RBC - C3bR 花环形成率与对照组及上感组差异无显著性 ($P > 0.05$),但 RBC - IC 花环形成率明显低于对照组及上感组 ($P < 0.05$);复杂型 FC 组患儿 RBC - C3b 花环形成率显著低于对照组及上感组 ($P < 0.05$),RBC - IC 花环形成率亦显著低于对照组及上感组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

近年来大量的研究工作证实,神经-内分泌-免疫系统是一个完整的网络,它们通过分泌细胞因子、表达表面蛋白、共享信息分子和其受体而相互联系、相互调控。热性惊厥是儿科的常见急症之一,而且可引发癫痫、智力低下等后遗症,其发病原因尚不完全清楚,可能与综合征特异性基因^[5]及神经系统不完全成熟或免疫系统损害有关。虽然文献中对 FC 患儿伴有低 IgA 血症等体液免疫功能紊乱有一些报导,但有关其细胞免疫状态的研究报导甚少。

1987年 Hafez 等^[6]报导,热性惊厥患儿的血浆 IgA 平均值及自然状态下的 T 淋巴细胞 E 花结形成率平均值均显著降低,与对照组相比, P 值 < 0.01 ; 1997年 Montelli 等^[7]报导,热性惊厥患儿的 T 淋巴细胞对 PHA 刺激的增殖反应降低,且 64% 患儿外周血中 CD8 细胞增多,60% 患儿 CD4/CD8 比值降低。本资料历时 3 年,对热性惊厥患儿从 T 淋巴细胞增殖反应、T 淋巴细胞亚群分布、T 淋巴细胞活化状态、T 淋巴细胞因子 $-IFN$ 水平检测等 4 个方面进行研究,均证实 FC 患儿存在着细胞免疫功能损害,而且其损害的程度以复杂型 FC 表现得更为严重。此外,这 4 项实验的结果也相互印证。T 淋巴细胞增殖反应水平是 T 淋巴细胞功能的指标,其反应水平低下即提示患儿的淋巴细胞受免疫原的作用而处于抑制状态。CD25 (IL-2R) 抗原和 HLA-DR 抗原的表达水平又是 CD4 T 淋巴细胞活化状态的标志; T 淋巴细胞的增殖需要这两种抗原的表达。故本研究中 FC 患儿 T 淋巴细胞增殖反应降低与淋巴细胞的这两种活化标记抗原的表达降低是一致的。其结果必然导致 CD4 T 细胞的数量及功能下降,并相继引起 CD4 T 细胞分泌 $-IFN$ 减少。 $-IFN$ 减少又会引起 T 淋巴细胞 Tac 抗原基因的表达减少和 DR 位点基因的转录减少,从而使 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的活化受损。本组 FC 患儿的 CD3, CD4 细胞明显下降,CD8 细胞无明显增多,但 CD4/CD8 细胞比值明显降低,CD8 细胞呈相对性增多,可能与 CD8 细胞中 T_s 增多及 T_c 减少有关。

红细胞作为机体免疫系统的一部分,其与白细胞免疫之间的关系也是当前研究的热点。红细胞可通过其表面的淋巴细胞功能相关抗原-3 (LFA-3) 与淋巴细胞的 CD2 分子结合,促使 T 淋巴细胞增殖分化,促使 T 淋巴细胞表面 IL-2R 表达增加、干扰素分泌上升,同时还促使 B 细胞增殖分化^[8]。本研究检测热性惊厥患儿的红细胞免疫粘附功能时发现,其红细胞 C3b 受体花环形成率 (RBC-C3bRR) 及红细胞免疫复合物花环形成率 (RBC-ICR) 均较对照组为低,表明 FC 患儿红细胞免疫功能受损,尤其是复杂型 FC 组红细胞免疫粘附功能受损更甚,故红细

胞免疫功能损害可能在一定程度上反映神经系统一些疾病的发生、发展和预后^[9]。

由于免疫-神经-内分泌系统是一个相互联系和调控的网络,可以推断,T 淋巴细胞和红细胞免疫功能紊乱必然导致一些相关的细胞因子在患儿血液中和脑中的失衡,继之导致神经网络的兴奋性介质与抑制性介质的失衡,从而改变脑细胞的兴奋性,再加上小儿的脑组织发育尚未成熟,兴奋性高,发热更使其脑细胞兴奋性增高,从而引起临床上惊厥的发作,且惊厥所引起的组织缺血、缺氧,也会进一步加重氧自由基损伤与细胞因子失衡以及免疫功能紊乱,从而形成恶性循环。因此对于 FC 患儿尤其是复杂型 FC 者,在对症治疗的基础上,配合免疫调节剂,积极地纠正和改善患儿机体免疫功能尤其是细胞免疫功能,将可能成为防治 FC 的一个新的途径。

[参 考 文 献]

- [1] 林庆. 关于高热惊厥诊断和治疗的建议 [J]. 中华儿科杂志, 1984, 22(2): 102 - 103.
- [2] Verity CM, Jean G. Risk of epilepsy after febrile convulsions: a national cohort study [J], Brit Med J, 1991, 303(6814): 1373 - 1376.
- [3] 傅颖媛,胡有长,张成武. 转移因子对几种疾病患者淋巴细胞增殖反应的影响 [J]. 中国实验临床免疫学杂志, 1993, 5(4): 28 - 30.
- [4] 郭峰,虞紫茜,赵中平. 红细胞免疫功能的初步研究 [J]. 中华医学杂志, 1982, 62(12): 715 - 719.
- [5] Berkovic SF, Scheffer IE. Febrile seizures: genetics and relationship to other epilepsy syndromes [J]. Curr Opin Neurol, 1998, 11(2): 129 - 137.
- [6] Hafez M, Nagaty M, el - Ziny M. Immunogenetic aspects of febrile convulsions [J]. J Neurogenet, 1987, 4(5): 267 - 274.
- [7] Montelli TC, Soares AM, Parise-Fortes MR, et al. Alterations of cell mediated immune response in children with febrile seizures [J]. Arg Neuropsiquiatr, 1997, 55(2): 193 - 198.
- [8] 黄盛东. 红细胞免疫调控机理研究新进展 [J]. 国外医学免疫学分册, 1991, 4(4): 191 - 195.
- [9] 罗本燕. 红细胞免疫功能与神经系统疾病的研究进展 [J]. 国外医学神经病学神经外科学分册, 1994, 21(3): 139 - 141.

(本文编辑:曹励之 英文译文见本期 469 页)