

· 临床研究 ·

黄芪对反复扁桃体炎患儿辅助性 T 淋巴细胞亚群功能状态的影响

杨勇¹, 王利东¹, 陈宗波²

(1. 榆林市第一医院儿科, 陕西 榆林 718000; 2. 青岛大学医学院附属医院儿科, 山东 青岛 266003)

[摘要] 目的 观察反复扁桃体炎(RT)患儿缓解期辅助性T淋巴细胞(Th)亚群的功能状态及黄芪对RT患儿Th细胞亚群功能状态的影响。方法 对27例RT缓解期患儿的外周血单个核细胞(PBMC)体外分别经植物血凝素(PHA)和PHA+黄芪刺激(即RT-PHA组和RT-黄芪组),同时对21例健康儿童的PBMC体外经PHA刺激(即正常儿童PHA组),各组培养48h,用ELISA法检测培养上清液中Th类细胞因子IL-4和IFN- γ 含量。结果 RT-PHA组IFN- γ 水平与IFN- γ /IL-4比值显著低于正常儿童PHA组($P < 0.01$);RT-黄芪组IFN- γ 水平及IFN- γ /IL-4比值虽然显著低于正常儿童PHA组($P < 0.05$),但也却显著高于RT-PHA组($P < 0.01$);各组间IL-4水平比较差异均无显著性($P > 0.05$)。结论 Th1亚群功能低下以及Th1/Th2平衡的紊乱在RT的发病中起重要作用;黄芪可显著提高RT患儿Th1亚群功能,改善RT患儿Th1/Th2功能失衡状态,对RT的治疗具有重要意义。

[中国当代儿科杂志, 2006, 8(5): 376-378]

[关键词] 黄芪;反复扁桃体炎;Th细胞亚群

[中图分类号] R766.18 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2006)05-0376-03

Effects of astragalus membranaceus on Th cell subset function in children with recurrent tonsillitis

YANG Yong, WANG Li-Dong, CHEN Zong-Bo. Department of Pediatrics, First People's Hospital of Yulin, Yulin, Shangxi 718000, China (Email: majunmei928@126.com)

Abstract: **Objective** To observe the Th cell subset function in children with recurrent tonsillitis (RT) at the remission stage and to study the effects of astragalus membranaceus (AM) on Th cell subset function. **Methods** The peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from 27 children with RT at the remission stage were stimulated with either phytohemagglutinin (PHA) (RT-PHA group) or PHA together with AM (RT-AM group) and were then cultured *in vitro* for 48 hrs. The samples from 21 healthy children stimulated with PHA were used as the Control group. The levels of interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-4 (IL-4) in the supernatants of PBMC were detected using ELISA. **Results** The IFN- γ level and the ratio of IFN- γ /IL-4 in the RT-PHA group were statistically lower than those in the Control group ($P < 0.01$). The level of IFN- γ and the ratio of IFN- γ /IL-4 in the RT-AM group were markedly higher than those in the RT-PHA group ($P < 0.01$), but were significantly lower than those in the Control group ($P < 0.05$). There were no differences in the IL-4 level among the three groups. **Conclusions** Th1 cell subset dysfunction may exist in RT children at the remission stage, suggesting that Th1 cell subset dysfunction plays an important role in the pathogenesis of RT. AM can improve Th1 cell subset function and therefore shows an important significance in treating RT.

[Chin J Contemp Pediatr, 2006, 8(5): 376-378]

Key words: Recurrent tonsillitis; Astragalus membranaceus; Th cell subsets; Child

反复扁桃体炎(recurrent tonsillitis, RT)是儿童时期的常见病,其临床特点是反复发作的扁桃体感染,到目前为止其确切的病因及发病机制尚不清楚,其相关的研究涉及方面较多,而机体免疫功能紊乱在RT的发生中占有重要地位^[1~4]。Th细胞在免

疫反应的调节中具有重要作用,检测Th细胞功能状态对于了解机体免疫应答类型和免疫调节状态,分析疾病的发生、发展,以及指导疾病的预防和治疗具有重要意义。本实验通过测定RT缓解期患儿和健康儿童外周血单个核细胞(PBMC)体外产生Th

[收稿日期] 2006-02-28; [修回日期] 2006-04-12

[作者简介] 杨勇,男,硕士,主治医师。主攻方向:儿科感染性疾病。

类细胞因子 IFN- γ , IL-4 的水平以及黄芪对 RT 患儿 PBMC 体外产生 IFN- γ , IL-4 水平的影响,以了解 RT 患儿缓解期 Th 细胞亚群功能状态及黄芪对 RT 患儿 Th 细胞亚群功能状态的影响,为临床使用黄芪治疗 RT 提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

27 例 RT 患儿为每次呼吸道感染以扁桃体炎为临床表现的患儿,其诊断标准参照 1987 年成都“全国呼吸道疾病会议”制定的反复上呼吸道感染的诊断标准^[5],均为青岛大学医学院附属医院儿科门诊患儿,所有病例均无合并风湿热、肾炎、心脏病及原发性免疫缺陷病,其中男 15 例,女 12 例,年龄 2 岁 9 月至 14 岁,平均 4 岁 9 个月;所选病例均为出现 RT 一年以上的患儿,于急性期发作治疗后持续 4 周无呼吸道感染症状,采集标本前 2 周无使用免疫调节剂史,为缓解期纳入标准。27 例 RT 患儿分别进行体外植物血凝素(PHA)诱导 PBMC (RT-PHA 组)和 PHA + 黄芪诱导 PBMC (RT-黄芪组)。

对照儿童为 21 例同期门诊体检健康儿童,男 12 例,女 9 例,年龄 3 岁 6 个月至 14 岁,平均 4 岁 6 个月;所有对照组均不符合 RT 的诊断,近期无感染,无个人及家族过敏性疾患及其他变态反应性疾病史。与 RT 患儿比较两组儿童性别、年龄等对比无差异。21 例健康儿童进行体外 PHA 诱导 PBMC (正常儿童 PHA 组)。

1.2 方法

1.2.1 PBMC 分离及培养 采取 RT 患儿及健康儿童早晨空腹外周静脉血 5 mL,肝素抗凝,用密度梯度离心法分离 PBMC,细胞活力 95% 以上,用 RPMI-1640 培养液配制成 1×10^{10} /L 细胞悬液,取健康儿童上述细胞悬液 200 μ L,加入含有 1.8 mL (含 10% 灭活小牛血清) RPMI-1640 培养液并加有 PHA 的无菌细胞培养瓶中,配制成 1×10^9 /L 的细胞悬液培养瓶,设为儿童 PHA 组;取 RT 患儿上述细胞悬液 400 μ L,均分 2 份,各 200 μ L,1 份加入含有 1.8 mL RPMI-1640 培养液并加有 PHA 的无菌细胞培养瓶中,设为 RT-PHA 组;另一份加入含有 1.8 mL RPMI-1640 培养液并加有 PHA + 黄芪的无菌细胞培养瓶中,配制成 1×10^9 /L 的细胞悬液培养瓶,设为 RT-黄芪组。上述培养瓶中 PHA 终浓度均为 100 μ g/mL,黄芪终浓度为 1 mg/mL (以生黄芪计,由四川百利药业有限公司提供),上述加有不同刺

激物的细胞悬液培养瓶均置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养箱中培养 48 h,收集培养上清液 300 μ L, -80 $^{\circ}$ C 保存以备测。

1.2.2 细胞因子检测 培养上清液中 IFN- γ 与 IL-4 水平采用双抗体夹心 ELISA 法检测,操作严格按试剂盒说明进行,实验所用 ELISA 试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司,3550 型酶标仪为美国 BIO-RAD 公司生产。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 10.0 统计软件进行分析,数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间差异显著性用 *t* 检验。

2 结果

2.1 RT 患儿和健康儿童 PHA 诱导 PBMC 产生 IFN- γ 与 IL-4 水平比较

RT 患儿缓解期 PHA 诱导的 PBMC 产生 IFN- γ 水平显著低于健康儿童,IFN- γ /IL-4 比值低下,差异有显著性 ($P < 0.01$);而两组间 IL-4 水平则无显著差异 ($P > 0.05$)。提示 RT 患儿缓解期 Th1 细胞亚群功能不足,Th1/Th2 平衡紊乱。见表 1。

2.2 黄芪对 PHA 诱导的 PBMC 产生 IFN- γ 与 IL-4 的影响

经黄芪刺激后,RT 患儿 PBMC 体外分泌 IFN- γ 水平以及 IFN- γ /IL-4 比值显著提高 ($P < 0.01$),而对 IL-4 分泌则无显著影响 ($P > 0.05$),提示黄芪能通过提高 RT 患儿 PBMC 分泌 IFN- γ ,纠正患儿 Th1 细胞亚群功能低下状态,上调 Th1/Th2 比值。见表 1。

3 讨论

CD₄⁺ 细胞根据其细胞因子分泌模式的不同分为 Th1 和 Th2 两个主要功能亚群。Th1 细胞分泌 IL-2、IFN- γ 等 Th1 类细胞因子,参与细胞免疫的调节。Th2 细胞主要分泌 IL-4, IL-5, IL-10 等 Th2 类细胞因子,参与体液免疫的调节^[6]。正常情况下 Th1/Th2 处于平衡状态,以便完成正常免疫反应,Th1/Th2 功能失衡可引起免疫功能紊乱,是某些疾病发生或加重的根源。已有研究表明^[7],扁桃体炎反复发作的患儿缓解期外周血 CD₄⁺ 细胞数减少、CD₄⁺/CD₈⁺ 比值失调、Th1 类细胞因子 IFN- γ 和 IL-2 产生水平不足、Th1 细胞亚群功能低下,而关于患儿 Th2 细胞功能状态的报道尚不多见。本实验结果显示,RT 患儿缓解期 PBMC 培养上清液中 IFN- γ 细胞因子表达水平显著低于健康儿童,而 Th2 类细胞因子

表1 3组儿童PBMC产生IFN- γ ,IL-4水平比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IFN- γ	IL-4	IFN- γ /IL-4
正常儿童PHA组	21	1 341.91 $\pm$ 238.92	97.15 $\pm$ 14.51	14.08 $\pm$ 3.24
RT-PHA组	27	812.91 $\pm$ 142.59 ^a	105.46 $\pm$ 24.42	8.13 $\pm$ 2.47 ^a
RT-黄芪组	27	1 218.56 $\pm$ 169.20 ^{b,c}	106.61 $\pm$ 17.80	11.82 $\pm$ 2.64 ^{b,c}

与儿童PHA组比较 a $t=9.541, 7.224, P<0.01$; b $t=2.094, 2.66, P<0.05$; c 与RT-PHA组比较 $t=9.526, 5.304, P<0.01$

IL-4水平却与健康儿童无显著差异,提示RT患儿缓解期Th1细胞数量或功能低下是导致IFN- γ 水平降低的主要原因。由于RT患儿缓解期Th1细胞亚群功能低下以及Th1/Th2平衡紊乱,导致机体抗感染能力降低,对病原微生物易感性增高,这可能是扁桃体感染反复发作、难以治愈的重要原因。

研究表明,黄芪中分离出的黄芪多糖具有明显的免疫活性,黄芪注射液可明显增加荷瘤小鼠的T细胞总数与Th细胞数,体内注射可以促进Con. A诱导的T淋巴细胞增殖与转化,而且还能显著提高免疫抑制小鼠的IL-2,TNF- α ,IFN- γ 的诱生水平^[8]。有文献报道^[9],黄芪对健康儿童仅选择性诱生PBMC产生IFN- γ 增加,而对IL-4无明显影响。本实验结果显示,黄芪同样能明显促进RT患儿Th1类细胞因子IFN- γ 的分泌,纠正RT患儿Th1细胞亚群功能低下状态,上调Th1/Th2比值,而对Th2类细胞因子IL-4的分泌无明显影响,提示黄芪可以通过选择性影响PBMC的Th1细胞数量或功能来完成其对RT患儿的免疫调节作用,这从新的角度揭示了黄芪的免疫调节功能,对临床应用黄芪改善RT患儿细胞免疫功能紊乱具有重要意义。临床口服黄芪水剂治疗反复呼吸道感染发现,黄芪能明显增加反复呼吸道感染患儿CD₄⁺L淋巴细胞数量,提高主要由Th1细胞分泌的IFN- γ 水平及血清免疫球蛋白水平,使其呼吸道感染频率明显降低^[10],提示黄芪在体内具有与体外试验类似的效应。但黄芪促进RT患儿PBMC产生IFN- γ 的机制远未清楚,考虑其原因可能为:①黄芪可能通过上调或协同Th1细胞相关转录因子的表达,影响Th0细胞分化过程中的某个或几个环节,阻断Th2细胞优势活化,促使Th0细胞向Th1方向分化,Th1细胞数量增加。②黄芪能促进机体淋巴系统中IL-2 mRNA和IL-2R mRNA的表达,降低Ts细胞对淋巴细胞IL-2 mRNA和IL-2R mRNA的抑制,从而对IFN- γ 产生明确的

诱生作用^[11]。黄芪促进RT患儿PBMC产生IFN- γ ,却对IL-4产生无明显影响的机制尚不清楚,可能因为IFN- γ 对IL-4的拮抗作用主要作用在肥大细胞等靶细胞水平而非IL-4的主要产生细胞-Th2细胞水平所致。

综上所述,RT患儿体内IFN- γ 水平低下,机体抗病毒免疫功能抑制,黄芪对机体Th1细胞因子低下状态具有明显的上调作用,这一结果从Th1/Th2途径评价了黄芪在免疫调节中的地位,也为该药临床治疗RT提供了理论依据。

[参 考 文 献]

[1] Ebenfelt A. Neutrophils are hyperactive in recurrent tonsillitis[J]. Acta Otolaryngol, 2002, 122 (2): 206-209.
[2] 朱南方,关克涛,赵春玲,余惠华,陈秉孟,刘云峰,等. 拔火罐穴位注射对反复扁桃体炎T淋巴细胞亚群的影响[J]. 中医药学刊,2003,21(5):660-661.
[3] 庄丽宝,刘诗强,阮善. 急性上呼吸道感染定位诊断的初步研究[J]. 中国当代儿科杂志,2004,6(4):143-144.
[4] 邹峰,陈遂,徐淑娟,梅魁敏,陈志军,傅颖媛,等. 小儿热性惊厥T淋巴细胞及红细胞免疫功能的研究[J]. 中国当代儿科杂志,2001,3(4):377-380.
[5] 胡仪吉. 反复呼吸道感染诊断标准[J]. 中华儿科杂志,1988,26(1):41.
[6] Spellberg B, Edwards JE Jr. Type 1/Type 2 Immunity in infectious diseases[J]. Clin Infect Dis, 2001, 32 (1): 76-102.
[7] 陈宗波,曹永献,孙秀芳,万顺兰. 慢性扁桃腺炎患儿T淋巴细胞表型及功能分析[J]. 中国当代儿科杂志,2005,7(1):51-53.
[8] 王红梅,姚小曼. 黄芪的免疫调节作用研究进展[J]. 中国食品与卫生杂志,2000,12(3):37-39.
[9] 姜红,张秋业. 黄芪对新生儿脐血Th1/Th2功能平衡的影响[J]. 中华围产医学杂志,2003,6(4):225-228.
[10] 赵晓东,杨锡强,李成荣,王莉佳,张远维. 口服黄芪治疗IgG亚类缺陷病的临床及实验室研究[J]. 中华儿科杂志,1998,36(6):363.
[11] 茅苏萍,程凯灵,韵芬. 黄芪对单疱病毒性角膜炎患者Th1/Th2细胞因子的调节作用[J]. 中国中西医结合杂志,2004,24(2):121-123.

(本文编辑:吉耕中)