

· 临床研究 ·

支气管哮喘患者 TH 细胞的极化状态及临床意义

蒋玉红, 王亚秋, 孙宽周

(青岛市妇女儿童医疗保健中心, 山东 青岛 266011)

[摘要] 目的 研究支气管哮喘患者 TH 细胞的极化状态与免疫调控。方法 对 2003 年 1 月至 2004 年 3 月住院患儿进行 TH 细胞检测, 同时设正常儿童 29 人为对照组。对两组儿童应用 ELISA 法检测白细胞介素-2 (IL-2) 及 γ 干扰素 (IFN- γ) 水平, 用单细胞内染色法检测 TH1, TH2 百分率。结果 支气管哮喘患者 IL-2 为 $15.94 \pm 3.07 \mu\text{g/L}$, 与对照组的 $24.73 \pm 4.37 \mu\text{g/L}$ 比较, 差异有显著性 ($P < 0.01$); IFN- γ 为 $487.2 \pm 43.6 \text{ pg/mL}$, 水平也明显降低, 与对照组的 $654.07 \pm 14.64 \text{ pg/mL}$ 比较, 差异有显著性 ($P < 0.01$); 支气管哮喘患者 TH1 百分率 (11.24 ± 2.43)% 亦明显低于对照组的 (16.67 ± 2.73)%, 经 t 检验差异亦有显著性 ($P < 0.01$), 支气管哮喘患者 TH2 百分率明显升高 [$(19.85 \pm 4.46)\%$ vs $(16.08 \pm 6.17)\%$; $P < 0.05$]。结论 支气管哮喘患者机体 TH1 细胞数量及功能低下, TH1/TH2 值下降, TH1/TH2 极化异常, 导致细胞毒性 T 细胞 (CTL) 介导的细胞免疫功能抑制。

[中国当代儿科杂志, 2006, 8(5): 379-381]

[关键词] 支气管哮喘; TH; 免疫调控; 小儿

[中图分类号] R562.2⁺5

[文献标识码] A

[文章编号] 1008-8830(2006)05-0379-03

Polarization and immune regulation of TH cells in children with bronchial asthma

JIANG Yu-Hong, WANG Ya-Qiu, SUN Kuan-Zhou. Women and Children's Medical Center of Qingdao, Qingdao, Shandong 266011, China (Email: jyh05832@sohu.com)

Abstract: Objective To study the polarization and immune regulation of TH cells in patients with bronchial asthma. **Methods** Thirty-eight hospitalized children with bronchial asthma (ranging from 4-12 years old) and 29 age-matched healthy children (Control group) were enrolled in this study. Serum IL-2 and IFN- γ levels were detected using ELISA. The percentage of TH1 and TH2 cells was detected by intracellular staining. **Results** The serum levels of IL-2 ($15.94 \pm 3.07 \mu\text{g/L}$) and IFN- γ ($487.2 \pm 43.6 \text{ pg/mL}$) in asthmatic patients were significantly lower than those in the Control group ($24.73 \pm 4.37 \mu\text{g/L}$ and $654.07 \pm 14.64 \text{ pg/mL}$ respectively; $P < 0.01$). The percentage of TH1 in asthmatic patients decreased significantly compared with that in the Control group [$(11.24 \pm 2.43)\%$ vs $(16.67 \pm 2.73)\%$; $P < 0.01$]; in contrast, the percentage of TH2 increased compared with that in the Control group [$(19.85 \pm 4.46)\%$ vs $(16.08 \pm 6.17)\%$; $P < 0.05$]. **Conclusions** The serum levels of IL-2 and IFN- γ , and the number of TH1 cells decreased in asthmatic patients. The decreased number of TH1 cells and the ratio of TH1/TH2 suggest an abnormal polarization of TH1 and TH2 cells. The changes may be associated with the inhibition of cellular immune function in asthmatic patients.

[Chin J Contemp Pediatr, 2006, 8(5): 379-381]

Key words: Bronchial asthma; TH cell; Immune regulation; Child

支气管哮喘是临床常见病,多发病,严重影响患者身心健康,关于支气管哮喘患者的免疫功能早有研究报道,但关于支气管哮喘患者 TH 细胞免疫调控研究未见文献报道,我们自 2002 年至今做了这方面的研究工作,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

临床确诊的支气管哮喘患者 38 例,男 17 例、女 21 例,年龄最大 12 岁,最小 4 岁,平均年龄 7 岁。同时设健康组 29 例,平均年龄 7 岁,其中男 16 例、女 13 例,均来于健康儿童体检,临床、实验室无贫血之改变。

1.2 实验内容及方法

IL-2 检测采用 ELISA 法:取待测血浆样品 $100 \mu\text{L}$ 进行检测,采用 ELISA 法,试剂盒由美国 BIOSOURCE 公司提供。IFN γ 检测:PBMC 分离培

[收稿日期] 2005-11-07; [修回日期] 2006-04-28

[作者简介] 蒋玉红,男,硕士,副主任技师。主攻方向:免疫调控。

养:按常规制取 PBMC,调整细胞浓度至 $1 \times 10^6/\text{mL}$,接种于 24 孔细胞培养板上,置 37°C 5% CO_2 的培养箱中加 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ PHA-P 培养液,72 h 后收集上清液。取上述上清液 $100 \mu\text{L}$,采用 ELISA 法测定所得上清液中 IFN- γ 含量,试剂盒由美国 BIOSOURCE 公司提供。Th1/Th2 检测应用荧光单细胞内染色法:抽取肝素抗凝血 2~3 mL,用含 5% 小牛血清的 PBS(自配)按 1:1 稀释。用淋巴细胞分离液(自配),将稀释的抗凝血进行淋巴细胞分离,调整细胞浓度至 1 百万/mL 悬液。取细胞悬液 $100 \mu\text{L}$ 加入相应抗体,检测 Th1/Th2 活性。

1.3 统计学处理方法

应用 SPSS 统计软件。结果用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。支气管哮喘患者与对照组 IL-2, IFN γ , Th 间的比较用 t 检验。 $P < 0.05$ 定为差别有显著性。

2 结果

支气管哮喘患者 IL-2、IFN- γ 明显降低,与健康组比较差异有显著性。支气管哮喘患者 Th1 百分率水平明显降低,与健康组比较差异有显著性;支气管哮喘患者 Th2 百分率水平明显升高,与同期的健康组比较差异亦有显著性。见表 1,2。

表 1 38 例支气管哮喘患者与健康组 IL-2 水平比较
($\bar{x} \pm s, \mu\text{g}/\text{L}$)

组别	例数	IL-2	IFN- γ
健康组	29	24.73 ± 4.37	654.07 ± 14.64
哮喘组	38	15.94 ± 3.07	487.20 ± 43.60
t		9.66	48.79
P		< 0.01	< 0.01

表 2 支气管哮喘患者 Th1, Th2 检测结果比较
($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	Th1	Th2	Th1/Th2
健康组	29	16.67 ± 2.73	16.08 ± 6.17	1.0375 ± 0.2240
哮喘组	38	11.24 ± 2.43	19.85 ± 4.46	0.5664 ± 0.1942
t		6.47	2.904	15.35
P		< 0.01	< 0.01	< 0.01

3 讨论

早在 1986 年,有报道^[1,2]依据小鼠 CD4^+ Th 细胞分泌的细胞因子谱的不同,将 Th 细胞分为 Th1 和 Th2 两个功能不同的独立的亚群。Th1 主要分泌 IL-2, IFN- γ 和 TNF- α 等 I 型细胞因子,参与细胞毒性 T 细胞(CTL)介导的细胞免疫,在抗细胞内感染(如病毒感染,结核分枝杆菌感染等)中发挥重要的作用^[3]。Th2 主要分泌 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 等 II 型细胞因子,参与体液免疫^[4]。现已证实 Th1, Th2 细胞是 Th 前体细胞(pTh)在特定抗原刺激及多种信号综合作用下发生功能性极化的结果。PTh 在抗原刺激后分化为中间状态的 Th0 细胞,Th0 又在多种因素的综合作用下选择性地向 Th1 或 Th2 方向分化。越来越多的证据表明,Th1/Th2 极化是免疫应答调节的关键环节,Th1/Th2 极化异常或缺陷均可导致疾病,如慢性感染、自身免疫性疾病或变态反应等^[5]。

Th1/Th2 功能性极化是在多种因素的综合调节下完成的。其中 Th 细胞所在局部微环境中的细胞因子类型是影响 Th1/Th2 极化的关键因素,支气管

哮喘患者 IL-2, IFN- γ 等 I 型细胞因子水平降低,不利于 Th0 向 Th1 分化,从而引起 Th 细胞极化异常,本试验结果中的 Th1 百分率降低,Th2 百分率升高, Th1/Th2 值下降,提示 Th1/Th2 极化异常,Th1 的分化被抑制,机体处在 Th2 优势应答的状态,也说明支气管哮喘患者 Th 细胞的极化功能紊乱,IL-2, IFN- γ 因子水平降低,而 IL-2, IFN- γ 为 B 细胞增殖活化及产生 IgE 所必需主要辅助因素,其异常分泌导致 IgE 过量产生,在 I 型变态反应中起重要作用。

在淋巴因子调节免疫反应的分支网络中,IL-2 处于中心部位^[6],它具有多种免疫调节功能,IL-2 具有维持激活的 T 细胞在体外生长并保持功能活性的作用,能促进已被激活的 T 细胞上 IL-2 受体的表达,促进 T 细胞增殖,IL-2 能诱导 T 细胞分泌 IFN γ , IL-2 能促进细胞毒性 T 前体(CTL-p)分化为细胞毒性 T 细胞(CTL),并增加其杀伤效应。IL-2 可增强 NK 细胞的活性,是 NK 的生长因子,NK 之所以能够维持其正常的自然活性,依赖于体内持续存在的少剂量的 IL-2,如果清除 IL-2, NK 的活性也随之消失了。

IFN γ 是 Th1 分泌的最重要的细胞因子,是 Th1 细胞的重要标志。IFN γ 又可促进 IL-12 的产生,而

形成正反馈调节。因此 $\text{IFN}\gamma$ 自身虽无促进 Th1 分化的作用,但它可协同 IL-12 促进 Th1 分化。 $\text{IFN}\gamma$ 可活化巨噬细胞,刺激其吞噬活性,参与迟发型超敏反应(DTH)形成,与 IL-2 协同促进 CTL 的杀伤活性^[7]。

在本研究中发现,支气管哮喘患者 IL-2 、 $\text{IFN}\gamma$ 水平及 Th1 百分率降低,它们互为因果,最终导致细胞免疫功能低下,我们还发现支气管哮喘患者 Th1 百分率降低, $\text{Th1}/\text{Th2}$ 值下降,提示 $\text{Th1}/\text{Th2}$ 极化异常, Th1 的分化被抑制,机体处在 Th2 优势应答的状态,这提示我们在支气管哮喘患者免疫功能低下,机体免疫功能紊乱时,可诱导 Th 细胞极化的不平衡,诱导 Th2 细胞的优势极化,或特异性诱导内源性 Th 型细胞因子产生。这提示临床治疗改变 Th 类细胞的极化状态也是治疗的重要手段。

[参 考 文 献]

- [1] 王莉. $\text{Th1}/\text{Th2}$ 极化:多因素的参与和调控[J]. 上海免疫学杂志 2001,21(6):376-378.
- [2] Grakoui A, Donermeyer DL, Kanagawa O, Murphy KM, Allen PM. TCR-independent pathways mediate the effects of antigen dose and altered peptide ligands on Th cell polarization [J]. J Immunol, 1999, 162(4): 1923-1930.
- [3] Kapsenberg ML, Hilkens CM, Wierenga EA, Kalinski P. The role of antigen-presenting cells in the regulation of allergen-specific T cell responses [J]. Curr Opin Immunol, 1998, 10(6): 607-613.
- [4] Caspi RR, Roberge FG, Chan CC, Wiggert B, Chader GJ, Rozenszajn LA, et al. A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens[J]. J Immunol, 1998, 140(5): 1490-1495.
- [5] 王燕平. $\text{Th1}/\text{Th2}$ 极化:实验性自身免疫性葡萄膜炎[J]. 上海免疫学杂志 2001,21(6):383-386.
- [6] 余传霖,熊思东. 分子免疫学[M]. 上海:复旦大学出版社、上海医科大学出版社,2001,5(8):719-726.
- [7] Cheung TW, Teich SA. Cytomegalovirus infection in patients with HIV infection [J]. Mt Sinai J Med, 1999, 66(2): 113-124.

(本文编辑:吉耕中)

· 消息 ·

欢迎订阅《国际儿科学杂志》

《国际儿科学杂志》(原刊名为国外医学儿科学分册)是中华人民共和国卫生部主管,中华医学会主办的国家级医学学术类期刊,儿科学类核心期刊。2004 年荣获卫生部首届全国医药卫生优秀期刊二等奖。2005 年被评为中华医学会系列杂志优秀期刊三等奖。主要栏目有论著、述评、综述、经验交流等。报道内容涉及儿科各专业,是国内专门介绍国内外儿科学界最新进展的国家级医学学术期刊之一,所刊文章基本代表了国内外近 10 年来,特别是近 5 年儿科学术发展的水平。

杂志为大 16 开本,双月刊,72 页,每期定价 6 元,年定价 36 元。通过邮局发行,邮发代号 8-73。也可随时汇款至《国际儿科学杂志》编辑部邮购,地址:沈阳市和平区三好街 36 号,邮编 110004。汇款时,请填写收件人的姓名、详细地址、邮编及所订杂志的期号和册数,不另寄邮费。咨询电话/传真:024-83956563 /23845727 Email:ekfcbjb@yahoo.com.cn

《国际儿科学杂志》编辑部

· 消息 ·

欢迎订阅《中国小儿急救医学》杂志

《中国小儿急救医学》原名《小儿急救医学》,是由中华人民共和国卫生部主管,中华医学会主办的国内儿科领域唯一的一本有关急危重症诊治、急救方面的国家级专业学术期刊。是中华医学会系列杂志之一。为中国科技论文统计源期刊,中国科技类核心期刊。本刊设有专题讨论、论著、经验交流、综述、讲座、儿科急诊室、教学查房、继续教育园地、临床病例(理)讨论、短篇报道等栏目。

《中国小儿急救医学》杂志主要读者对象为全国各级医院的儿科医生,尤其是 PICU, NICU 或急诊室的儿科医生。本刊为双月刊,双月 20 日出版,国内外公开发行,刊号为 CN11-5454/R. ISSN1673-4912. 每期定价 8.00 元,年定价 48 元。通过邮局发行,欢迎广大读者订阅。邮发代号 8-72。漏订者可汇款至沈阳市和平区三好街 36 号《中国小儿急救医学》杂志编辑部,邮编 110004。电话:024-83956553,024-23926295。传真:024-23926295。汇款时,请填写收件人的姓名、详细地址、邮编及所订杂志的期号和册数,不另寄邮费。