

DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2013.08.002

论著·临床研究

IL-17 和 TGF- β 1 在支气管哮喘患儿血清及 支气管肺泡灌洗液中的变化及临床意义

蒋鲲¹ 陈和斌¹ 王莹¹ 林家惠² 胡艳¹ 方玉蓉¹

(武汉市儿童医院 1. 呼吸内科; 2. 耳鼻喉科, 湖北 武汉 430016)

[摘要] 目的 探讨白细胞介素-17 (IL-17) 和转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 在哮喘患儿血清和支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中的变化及临床意义。方法 56 例哮喘患儿为哮喘组, 依据病情严重程度分为中重度组 (37 例) 和轻度组 (19 例); 18 例非哮喘患儿为对照组。显微镜下计数各组 BALF 中细胞数, 采用 ELISA 法检测血清与 BALF 中 IL-17 和 TGF- β 1 含量。结果 中重度、轻度哮喘组患儿与对照组患儿 BALF 中细胞总数及巨噬细胞百分比的差异无统计学意义 ($P>0.05$), 中重度、轻度哮喘患儿与对照组患儿中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及上皮细胞百分比差异有统计学意义 ($P<0.05$); 哮喘患儿血清与 BALF 中 IL-17 和 TGF- β 1 水平较对照组高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 中重度哮喘患儿血清与 BALF 中 IL-17 和 TGF- β 1 水平高于轻度哮喘患儿, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 哮喘患儿血清中 IL-17 和 TGF- β 1 与相应的 BALF 中 IL-17 和 TGF- β 1 呈正相关 (均 $P<0.05$), 血清 IL-17 与 BALF 中中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及上皮细胞百分比呈正相关 (均 $P<0.05$), 血清中 IL-17 与 TGF- β 1 亦呈正相关 ($P<0.05$)。结论 哮喘患儿血清与 BALF 中 IL-17 和 TGF- β 1 水平明显升高, IL-17、TGF- β 1 可能参与了哮喘的发生发展, 在哮喘的急性发作与加重中起重要作用。

[中国当代儿科杂志, 2013, 15(8): 604-608]

[关键词] 哮喘; 白细胞介素-17; 转化生长因子- β 1; 儿童

Changes in IL-17 and TGF- β 1 levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid and their clinical significance among children with asthma

JIANG Kun, CHEN He-Bin, WANG Ying, LIN Jia-Hui, HU Yan, FANG Yu-Rong. Department of Respiratory Medicine, Wuhan Children's Hospital, Wuhan 430016, China (Wang Y, Email: 1216254374@qq.com)

Abstract: Objective To investigate the changes in the levels of interleukin-17 (IL-17) and transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and their clinical significance among children with asthma. **Methods** Fifty-six children with asthma were divided into moderate or severe asthma ($n=37$) and mild asthma groups ($n=19$) and 18 children without asthma were selected as the control group. Cells in BALF were counted under a microscope. The levels of IL-17 and TGF- β 1 in serum and BALF were measured using ELISA. **Results** There were no significant differences in total cell count and percentage of macrophages between the two asthma groups and the control group ($P>0.05$). The percentages of neutrophils, eosinophils and epithelial cells in BALF were significantly higher in the two asthma groups than in the control group ($P<0.05$). The two asthma groups had significantly higher levels of IL-17 and TGF- β 1 in serum and BALF than the control group ($P<0.05$), and the moderate or severe asthma group had significantly higher levels of IL-17 and TGF- β 1 in serum and BALF than the mild asthma group ($P<0.05$). Levels of IL-17 and TGF- β 1 in serum were significantly positively correlated with those in BALF ($r=0.935$ and 0.943 , $P<0.05$ for both). In children with asthma, serum IL-17 level was significantly positively correlated with the percentage of neutrophils, eosinophils and epithelial cells in BALF ($r=0.802$, 0.799 , and 0.674 , $P<0.05$ for all), and a significant positive correlation was also seen between serum levels of IL-17 and TGF- β 1 ($r=0.878$, $P<0.05$). **Conclusions** Levels of IL-17 and TGF- β 1 in serum and BALF are elevated in children with asthma. IL-17 and TGF- β 1 may be involved in the occurrence and development of asthma, and they play important roles in asthma attack and aggravation.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(8): 604-608]

Key words: Asthma; Interleukin-17; Transforming growth factor beta 1; Child

[收稿日期] 2013-02-08; [修回日期] 2013-03-04

[作者简介] 蒋鲲, 女, 本科, 主治医师。

[通信作者] 王莹, 主任医师。

支气管哮喘(简称哮喘)是由多种细胞和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病,以气道炎症和重塑为主要病理特征。白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)是一种前细胞因子,是T淋巴细胞诱导的炎症反应的早期启动因素,能诱导和激活中性粒细胞在呼吸道的募集;转化生长因子- β 1(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1)是一种多功能细胞调节因子,在机体免疫调节、细胞生长和分化、细胞外基质的合成和贮存等方面发挥着重要作用。本研究通过检测哮喘患儿血清及支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中IL-17和TGF- β 1水平,探讨IL-17和TGF- β 1在哮喘发病机制中的作用及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2011年1月至2012年6月在我院呼吸科病房确诊为哮喘的56例患儿为哮喘组,所有患儿严格按照儿童哮喘诊断标准确诊^[1],其中女18例,男38例,年龄1.4~11.0岁,体重14~32 kg;哮喘组患儿根据非发作期病情严重程度分为中重度发作37例,轻度发作19例。对照组18例,为同期因支气管异物(14例,病程1~3 d)、气道发育畸形(4例,病程3个月~2年)住院的患儿,近期均无感染和慢性疾病病史,且排除过敏性和免疫相关性疾病,其中女7例,男11例,年龄1.5~8.0岁,体重15~28 kg。两组患儿在性别、年龄和体重方面差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。以上各组患儿均经由家长同意并签署知情同意后行纤维支气管镜术及支气管肺泡灌洗术。

1.2 研究方法

1.2.1 标本采集 所有研究对象均取静脉血2 mL,离心后取血清置-70℃冰箱内保存待测。哮喘组患儿行纤维支气管镜术时均处于缓解期,且距前次发作1周以上,在完成支气管镜检查后行支气管肺泡灌洗术,取右肺中叶进行灌洗;对照组取右肺中叶(气道发育畸形)或非异物侧肺作为灌洗部位,当纤维支气管镜嵌入上述部位时,以无菌注射器经纤维支气管镜吸引孔注入37℃无菌生理盐水10~20 mL进行灌洗2~4次;体重<20 kg者,每次灌洗量1 mL/kg,共3次,体重 $\geq$ 20 kg者,每次灌洗量20 mL,使灌洗总量达3 mL/kg,并立即以100~150 mm Hg负压进行抽吸,手术操作时间20~40 min。第1次灌洗所得

BALF送检病原学培养,其余灌洗液混匀,每份标本均以4℃,1500 r/min,离心半径13.5 cm,离心10 min,其沉渣用于细胞学分析,上清液置于-70℃保存用于细胞因子分析。

1.2.2 细胞学检查 BALF离心后沉渣采用计数池法行细胞计数,结果以 $\times 10^6/\text{mL}$ 表示;细胞分类计数涂片的制备采用涂片法,沉渣涂片后以瑞氏染色法染色,每张涂片计数600个细胞,取两张涂片的平均值。

1.2.3 细胞因子测定 每周集中1次采用ELISA法测定血清与BALF中IL-17和TGF- β 1水平,试剂盒由武汉博士德公司提供,严格按说明书进行操作。

1.3 统计学分析

应用SPSS 17.0对结果进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间均数比较采用 t 检验;非正态分布计量资料以中位数(四分位间距)表示,组间比较采用秩和检验;相关分析用Pearson相关或Spearman相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患儿BALF细胞总数及分类计数

中重度、轻度哮喘组患儿与对照组患儿BALF中细胞总数及巨噬细胞的差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组患儿相比,中重度、轻度哮喘患儿中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及上皮细胞显著增加,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。其中,中重度哮喘患儿与轻度哮喘患儿相比,中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及上皮细胞显著增加(分别 $Z=5.731$ 、 5.660 、 5.227 ,均 $P<0.01$)。见表1。

2.2 2组患儿血清及BALF中IL-17和TGF- β 1水平的比较

与对照组患儿比较,哮喘组患儿血清及BALF中的IL-17和TGF- β 1的水平均升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表2。哮喘组患儿中,中重度患儿血清及BALF中的IL-17和TGF- β 1的水平较轻度患儿高,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表3。

2.3 哮喘组患儿血清IL-17与BALF中中性粒细胞数、嗜酸性粒细胞数和上皮细胞数相关性

秩相关分析显示,血清IL-17水平与BALF中中性粒细胞数、嗜酸性粒细胞数和上皮细胞数均呈正相关(分别 $r=0.802$ 、 0.799 和 0.674 ,均 $P<0.01$)。见图1~3。

表1 哮喘及对照组患儿BALF细胞总数及分类计数 [中位数(四分位间距)]

组别	例数	细胞总数($\times 10^6/\text{mL}$)	巨噬细胞(%)	中性粒细胞(%)	嗜酸性粒细胞(%)	上皮细胞(%)
对照组	18	0.7(0.5~0.9)	91.4(87.3~96.2)	0.3(0.2~1.4)	0.2(0.1~0.5)	0.4(0.2~1.9)
轻度组	19	0.9(0.6~1.3)	91.3(86.8~96.2)	0.8(0.4~1.7) ^b	2.7(0.9~4.2) ^b	2.6(0.9~4.1) ^b
中重度组	37	1.4(1.1~1.9)	87.9(38.5~94.8)	1.7(1.4~4.5) ^{a,c}	4.6(3.5~9.6) ^{a,c}	3.8(2.4~12.4) ^{a,c}
<i>H</i> 值		2.172	0.246	44.841	52.520	46.231
<i>P</i> 值		0.069	0.819	<0.001	<0.001	<0.001

a: 与对照组比较, $P<0.01$; b: 与对照组比较, $P<0.05$; c: 与轻度组比较, $P<0.01$

表2 2组患儿血清及BALF中IL-17、TGF- β 1水平
($\bar{x}\pm s$, ng/L)

组别	例数	血清		BALF	
		IL-17	TGF- β 1	IL-17	TGF- β 1
对照组	18	0.85 $\pm$ 0.18	119 $\pm$ 4	0.95 $\pm$ 0.03	121 $\pm$ 7
哮喘组	56	2.66 $\pm$ 0.92	186 $\pm$ 47	4.63 $\pm$ 0.89	215 $\pm$ 46
<i>t</i> 值		8.287	5.856	17.518	8.520
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表3 不同程度哮喘患儿血清及BALF中IL-17和
TGF- β 1水平 ($\bar{x}\pm s$, ng/L)

组别	例数	血清		BALF	
		IL-17	TGF- β 1	IL-17	TGF- β 1
轻度组	19	1.39 $\pm$ 0.04	128 $\pm$ 3	3.44 $\pm$ 0.15	164 $\pm$ 21
中重度组	37	3.32 $\pm$ 0.08	215 $\pm$ 28	5.24 $\pm$ 0.26	241 $\pm$ 32
<i>t</i> 值		6.094	6.083	6.084	5.702
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

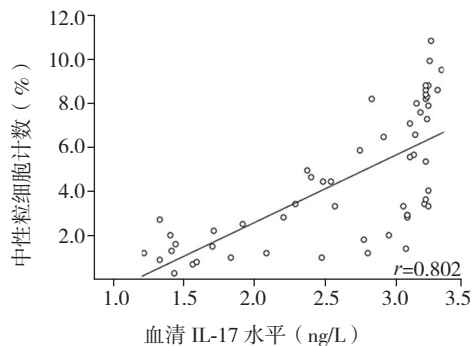


图1 哮喘患儿血清IL-17与BALF中性粒细胞计数相关性

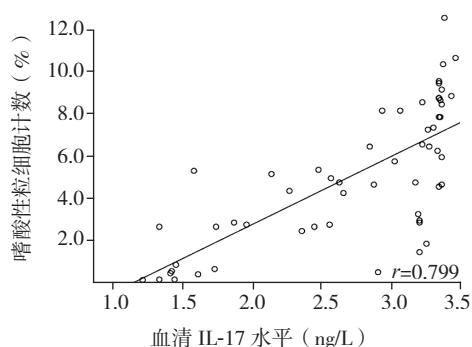


图2 哮喘患儿血清IL-17与BALF嗜酸性粒细胞计数相关性

2.4 哮喘组患儿血清与BALF中IL-17和TGF- β 1水平的相关性

直线相关分析显示,哮喘组患儿血清IL-17、TGF- β 1水平与BALF中IL-17、TGF- β 1水平呈正相关(分别 $r=0.935$ 、 0.943 ,均 $P<0.05$)。哮喘组患儿血清IL-17水平与TGF- β 1亦呈正相关($r=0.878$, $P<0.01$)。见图4。

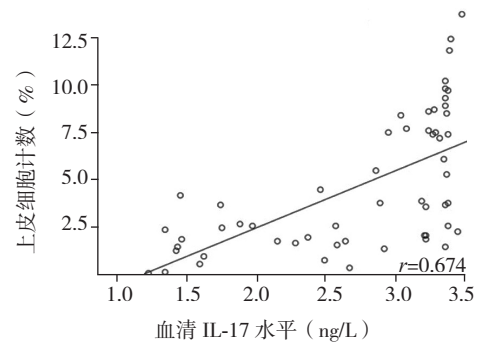


图3 哮喘患儿血清IL-17与BALF中上皮细胞计数相关性

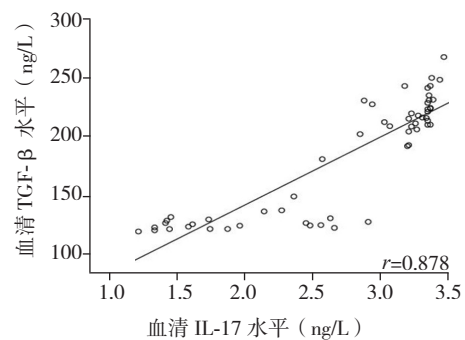


图4 哮喘患儿血清IL-17与TGF- β 1相关性

3 讨论

气道炎症和气道重构是哮喘的两个主要病理特征。IL-17是T细胞诱导的炎症反应的早期启动因素,对炎症细胞有强大的化学趋化作用,可以显著增加气道内炎症细胞募集。活化的IL-17还可激活上皮细胞、成纤维细胞和巨噬细胞,释

放粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、IL-1、IL-6 和 IL-8 等, 不仅促进气道炎症的进一步加剧, 还能参与气道的重构。IL-17 可通过多种途径参与气道炎症: 通过诱导支气管上皮细胞、支气管成纤维细胞、静脉内皮细胞等释放促炎性因子, 如 IL-6、IL-8、GM-CSF 和 TNF- γ 等刺激炎症组织, 间接导致组织浸润和组织损害^[2]; 促进树突状细胞的成熟, 刺激相关细胞产生一系列炎性介质和趋化细胞因子等, 导致炎症反应^[3]; Th17 细胞可通过产生 IL-17 介导内皮细胞、成纤维细胞和巨噬细胞等分泌一系列炎症趋化因子, 促进炎性细胞的聚集和慢性炎症, 造成免疫炎性损伤等^[4]。本研究结果显示, 中重度哮喘组、轻度哮喘组与对照组比较, 中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和上皮细胞均升高; 哮喘患儿血清及 BALF 中 IL-17 水平明显高于对照组患儿, 而中重度哮喘患儿的血清及 BALF 中 IL-17 水平又明显高于轻度哮喘患儿, 且 IL-17 水平与 BALF 中中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和上皮细胞均呈正相关, 提示 IL-17 在哮喘的急性发作和加重过程中起着重要作用。陈伟超等^[5]以卵蛋白刺激小鼠致哮喘小鼠模型, 发现与对照组比较, BALF 中细胞总数、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞比例均明显高于对照组; Bajoriuniene 等^[6]以屋尘螨刺激未发作哮喘患者和正常对照组, 发现哮喘组 24 h 后哮喘发作且血清 IL-17 高于对照组, 认为 IL-17 在哮喘发作中起着重要作用; 王鑫等^[7]研究也发现, 哮喘中重度发作组、轻度发作组血清 IL-17 水平较健康对照组高, 哮喘组与对照组外周血中性粒细胞百分比比较差异有统计学意义。

TGF- β 1 是一种多功能细胞因子, 能够诱导上皮细胞层破坏、气道炎症、平滑肌细胞增殖、杯状细胞增生以及促进血管重构等多种细胞反应, 并可通过促使杯状细胞增生、诱导释放血管内皮细胞生长因子导致血管重塑、促进气道平滑肌的增生肥大、迁移以及破坏上皮细胞层等多种途径参与气道重塑^[8]。哮喘患者可出现气道重构现象, 表现为气道壁增厚、气道平滑肌增生肥厚、基底膜增厚、血管生成和黏膜化生成等。本研究结果显示, 哮喘患儿血清及 BALF 中 TGF- β 1 水平明显高于对照组患儿, 而中重度组哮喘患儿的血清及 BALF 中 TGF- β 1 水平又明显高于轻度哮喘患儿, 表明 TGF- β 1 水平高低与哮喘的严重程度密切相关, 哮喘患儿可能存在不同程度的气道重构。Minshall 等^[9]用荧光标记原位杂交的方法发现, 哮

喘患者支气管黏膜和 BALF 中 TGF- β 1 与病情严重程度呈正相关。本研究发现, 血清及 BALF 中 IL-17 水平与 TGF- β 1 水平呈正相关, 提示血清及 BALF 中 TGF- β 1 升高可能是 IL-17 升高的结果。IL-17 导致气道和肺组织重构可能与下列因素相关: IL-17 通过活化中性粒细胞产生中性粒细胞弹性蛋白酶, 后者能降解弹性蛋白并促进气道腺细胞的分泌, 从而影响气道和肺组织的结构^[10]; 活化的中性粒细胞释放基质金属蛋白酶 -8、-9, 导致细胞外基质成分大量降解, 气道结构发生改变^[11]; IL-17 刺激哮喘患者支气管纤维母细胞产生并分泌 IL-11, 引起胶原蛋白和组织基质金属蛋白酶抑制剂 -1 的聚集, 从而抑制细胞外基质的降解, 间接促进纤维化, 或直接诱导气道平滑肌细胞迁移, 有助于哮喘患者气道重构^[12]。

本研究结果同时显示, 哮喘患儿 BALF 中 IL-17 和 TGF- β 1 水平高于血清中 IL-17 和 TGF- β 1 水平, 且两者呈正相关。因此, 可推测血清中 IL-17 和 TGF- β 1 升高为继发性, 当支气管肺泡中 IL-17 和 TGF- β 1 升高时, 通过血行途径导致血清中 IL-17 和 TGF- β 1 继发性升高。故而可通过检测血清中 IL-17 和 TGF- β 1 水平可间接反应支气管肺泡中 IL-17 和 TGF- β 1 水平。

综上所述, IL-17 和 TGF- β 1 参与了哮喘患儿气道炎症反应及气道重构过程, 与哮喘的发生发展密切相关, 但 IL-17 和 TGF- β 1 引起哮喘气道炎症反应及气道重构的具体机制错综复杂, 仍需进行更深入的研究。

[参 考 文 献]

- [1] 中华医学会儿科分会呼吸学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南[J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(10): 745-753.
- [2] Tanaka S, Yoshimoto T, Naka T, Nakae S, Iwakura Y, Cua D, et al. Natural occurring IL-17 producing T cells regulate the initial phase of neutrophil mediated airway responses[J]. J Immunol, 2009, 183(11): 7523-7530.
- [3] Besnard AG, Togbe D, Guillou N, Erard F, Quesniaux V, Ryffel B. IL-33-activated dendritic cells are critical for allergic airway inflammation[J]. Eur J Immunol, 2011, 41(6): 1675-1686.
- [4] Bettelli E, Korn T, Oukka M, Kuchroo VK. Induction and effector functions of T (H) 17 cells[J]. Nature, 2008, 453(7198): 1051-1057.
- [5] 陈伟超, 刘恩梅, 邓昱, 何云, 陈杰华, 李欣, 等. 新生期卡介苗接种对实验性哮喘小鼠肺 Th17 细胞和 IL-17 的影响[J]. 中国当代儿科杂志, 2010, 12(8): 650-653.
- [6] Bajoriuniene I, Malakauskas K, Lavinskiene S, Jerock J, Gasuniene E, Vitkauskienė A, et al. Response of peripheral blood Th17 cells to inhaled dermatophagoides pteronyssinus in patients

- with allergic rhinitis and asthma[J]. *Lung*, 2012, 190(5): 487-495.
- [7] 王鑫, 马春艳, 张亚京, 宁立华, 陈华, 周芳, 等. 支气管哮喘患儿血清白细胞介素-17、白三烯 B₄ 水平表达的临床意义[J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 27(4): 257-259.
- [8] 李涛, 黄茂. 转化生长因子 β 在支气管哮喘气道平滑肌重塑中的作用[J]. *国际呼吸杂志*, 2010, 30(3): 169-172.
- [9] Minshall EM, Leung DY, Martin RJ, Song YL, Cameron L, Ernst P, et al. Eosinophil associated TGF- β 1 mRNA expression and airway fibrosis in bronchial asthma[J]. *Am Respir Cell Mol Biol*, 1997, 17(3): 326-333.
- [10] Wilson RH, Whitehead GS, Nakano H, Free ME, Kolls JK, Cook DN. Allergic sensitization through the airway primes Th-17-dependent neutrophilia and airway hyperresponsiveness[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 180(8): 720-730.
- [11] Linden A. Interleukin-17 and airway remodeling[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2006, 19(1): 47-50.
- [12] Al-Alwan LA, Chang Y, Bagloli CJ, Risse PA, Halayko AJ, Martin JG, et al. Autocrine-regulated airway smooth muscle cell migration is dependent on IL-17-induced growth-related oncogenes[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 130(4): 977-985.
- (本文编辑: 周勇)

· 消息 ·

2014 年《中国当代儿科杂志》征订征稿启事

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管, 中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊), 中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊, 北京大学图书馆中文核心期刊和国际权威检索机构美国 MEDLINE、美国《化学文摘》(CA)和荷兰《医学文摘》(EM)收录期刊。同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊, 并被《中国期刊网》《中国学术期刊(光盘版)》全文收录。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重, 反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有国外儿科研究、论著(临床研究、实验研究、儿童保健、疑难病研究)、临床经验、病例讨论、病例报告、专家讲座、综述等栏目。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为月刊, 每月15日出版, 向国内外公开发行人。从2014年开始本刊将全新改版, 版面编排、设计更加美观, 且全本杂志改为彩色印刷, 欢迎全国各高等医学院校, 各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位, 各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价20元, 全年240元。邮发代号: 国内42-188; 国外3856(BM)。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。

向本刊投稿一律通过网上稿件远程处理系统, 免收审稿费。审稿周期4~6周。欲浏览本刊或投稿, 请登录本刊网站。网站提供免费全文下载。

为更好地与读者、作者进行沟通互动, 我刊于2012年2月入驻国内著名医学媒体丁香园博客, 网址: <http://i.dxy.cn/cjcp>。

联系地址: 湖南省长沙市湘雅路87号《中国当代儿科杂志》编辑部, 邮编: 410008

电话: 0731-84327402 传真: 0731-84327922 Email: ddek7402@163.com 网址: <http://www.cjcp.org>

中国当代儿科杂志编辑部

2013年7月