

·论著·

儿童激素敏感性肾病综合征 CD30⁺细胞及 TH2 类细胞因子研究

李永柏¹, 王莉佳¹, 肖玲莉², 李秋¹, 刘恩梅¹, 杨锡强¹

(1. 重庆医科大学附属儿童医院内科, 重庆 400014; 2. 重庆渝北区人民医院儿科, 重庆 400014)

[摘要] 目的 了解糖皮质激素敏感性肾病综合征(SSNS)患儿 CD30 阳性细胞及分泌白细胞介素 4(IL-4), 5, 6 的 TH2 细胞活化状态, 进一步证实 SSNS 免疫异常模式。方法 流式细胞仪(FACS)检测 SSNS 与健康儿童 CD30 阳性细胞百分率、ELISA 检测外周血单个核细胞(PBMC)培养上清中 IL-4, 5, 6 及血清 IgE 浓度; 用 SSNS 患儿 CD30 细胞百分率与 PBMC 培养上清中 IL-4, 5, 6 及血清 IgE 作直线相关分析。结果 SSNS 患儿 CD30 阳性细胞率、IL-4 及血 IgE(11.96% lg 2.11 pg/ml, 299 IU/ml)显著高于健康儿童(2.81% lg 1.37 pg/ml, 110 IU/ml) ($P < 0.01$), 但 IL-5, 6 水平与健康儿童比较则未见显著性差异 ($P > 0.05$); SSNS 患儿 CD30 阳性细胞百分率与 IL-4 及血 IgE 水平相关有显著性($r = 0.94$, $P < 0.01$, $r = 0.74$, $P < 0.01$); 与 IL-5、IL-6 水平无显著性相关 ($P < 0.05$)。结论 SSNS 患儿 CD30 阳性细胞增加并不意味着存在 TH2 类细胞全面活化, SSNS 患儿既有某些 TH2 类细胞因子(IL-4)升高, 又有一些 TH2 细胞因子的降低(IL-5)或无变化(IL-6), 本文资料不能证明 SSNS 发病与 TH1/TH2 失衡有直接关联。

[关键词] 肾病综合征; CD30 细胞; 白细胞介素; IgE; 儿童

[中图分类号] R692 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2001)02-0132-04

State of CD30⁺ Cells and TH2 Cytokines in Children with the Steroid Sensitive Nephrotic Syndrome

LI Yong-Bai, WANG Li-Jia, XIAO Ling-Li, et al.

Department of Internal Medicine, Affiliated Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China

Abstract: **Objective** To study the TH2 state as represented by the percentage of CD30⁺ cells, levels of IL-4, IL-5, and IL-6 in PBMC, and serum IgE levels in children with the steroid sensitive nephrotic syndrome (SSNS). **Methods** CD30⁺ cells were assayed using FACS. IL-4, 5, 6 and serum IgE were determined using ELISA. **Results** There was a higher percentage of CD30⁺ cells (11.96%) and higher levels of IL-4 (lg 2.11 pg/ml) and serum IgE (299 IU/ml) in children with SSNS compared to the healthy control group (2.81%, lg 1.37 pg/ml, 110 IU/ml, respectively) ($P < 0.01$). No significant difference was found in the levels of IL-5 and IL-6 in the two groups. There was a significant correlation between the percentage of CD30⁺ cells and IL-4 ($r = 0.94$, $P < 0.01$) and between CD30⁺ cells and serum IgE ($r = 0.74$, $P < 0.01$). NO correlation was noted with IL-5 ($r = -0.39$, $P > 0.05$) or with IL-6 levels ($r = 0.08$, $P > 0.05$). **Conclusions** The abnormal increase of CD30⁺ cells does not mean that all TH2 cells are activated. The TH1/TH2 imbalance in children with SSNS is not proved in this study.

Key words: Nephrotic syndrome; CD30 cell; Interleukin; IgE; Child

国内外文献已有报道, 儿童激素敏感性肾病(SSNS)与 TH2 类细胞活性异常有关^[1,2], 但 SSNS 病人是 TH2 细胞多克隆活化, 或是部分克隆活化,

尚无结论。近年研究证明 CD30 分子是 TH2 细胞表面标志, IL-4, 5, 6 是较有代表性的 TH2 类细胞因子^[3], 本研究试图通过检测 SSNS 病人 CD30 阳性

细胞百分率和外周血单个核细胞(PBMC)培养上清中 IL-4, 5, 6 以及血清中 IgE 水平,进一步了解 SSNS 病人 T 细胞亚群紊乱状态。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 肾病组 16 例儿童肾病综合征患儿均为重庆医科大学儿童医院 1998 年 1 至 1999 年 12 月间肾内科住院患儿,诊断符合全国儿科肾脏病协作组 1981 年制定的原发性单纯性肾病标准,经糖皮质激素标准剂量每日 $1.5 \sim 2.0 \text{ mg/kg}$ 治疗后均在 2 周内尿蛋白转阴,符合 SSNS 判断标准。16 例患儿中男 12 例,女 4 例,最小年龄 $1\frac{1}{12}$ 岁,最大年龄 8 岁,平均 $3\frac{3}{12}$ 岁,采血前平均病程 16 d。

1.1.2 对照组 16 例健康儿童均为入托、入学或其他原因健康体检采血,均无肾脏病史及其他急慢性病史记录,其中男 11 例,女 5 例,年龄 $1\frac{6}{12} \sim 7\frac{8}{12}$ 岁,平均 $3\frac{5}{12}$ 岁。肾病组与对照组之间性别及年龄构成无显著性差异。

1.2 实验方法

1.2.1 PBMC 培养 肾病患儿(用糖皮质激素前)及健康体检儿童采静脉血 4 ml,立即用淋巴细胞分离液分离 PBMC, RPMI1640 (Gibco 公司)调细胞浓度为 $2 \times 10^6/\text{ml}$,加 PHA 至终浓度 100 ug/ml ,置 37°C , $5\% \text{ CO}_2$ 孵箱培养 48 h,收集细胞检测 CD30 阳性细胞,上清检测 IL-4, 5, 6 浓度。

1.2.2 流式细胞仪(FACS)检测 CD30 阳性细胞 将培养 48 h 的 PBMC 用 $0.01\% \text{ PBS}$ 洗涤 2 次,加 $200 \mu\text{l}$ PBS 重悬细胞,取 $100 \mu\text{l}$ 细胞悬液,加鼠抗人 CD30-PE $80 \mu\text{l}$ (美国 Ancell 公司) $1:50$ 混匀直接染色,另取 $100 \mu\text{l}$ 细胞悬液加鼠抗人 IgG_1 -PE $60 \mu\text{l}$ (BD 公司) $1:50$ 混匀,作阴性对照。置 4°C 避光 30 min, PBS 洗去未结合抗体, $400 \mu\text{l}$ PBS 重悬细胞,上机检测,确定 CD30 阳性细胞百分率。

1.2.3 IL-4, IL-5, IL-6 检测 PBMC 培养上清 $100 \mu\text{l}$, ELISA 法,按试剂说明书进行 (Genzyme 美国)。

1.2.4 血清 IgE 检测 ELISA 法(试剂来自天津新传生物技术有限公司),按试剂说明书进行。

1.3 统计学处理

计量资料两组间比较用“t”检验;相关系数(r)表示 CD30 细胞分别与 IL-4, 5, 6 及血 IgE 水平之

间相关程度;查相关系数界值表确定其相关系数有无显著性意义;IL-4 测定值经对数转换后计算。

2 结果

2.1 CD30 阳性细胞及 PBMC 培养上清中细胞因子检测

SSNS 患儿 PBMC 中 CD30 阳性细胞百分率及 PBMC 培养上清中 IL-4 水平均显著高于同龄健康对照组(均 $P < 0.01$);但 PBMC 培养上清中 IL-5, IL-6 浓度两组间比较未见显著性差异($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 血清 IgE 检测

SSNS 患儿血清 IgE 水平与 PBMC 培养上清中 IL-4 一样,均显著高于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

2.3 CD30 阳性细胞百分率与 IL-4, 5, 6 及血 IgE 相关分析

直线相关分析表明 SSNS 患儿 CD30 阳性细胞百分率与 PBMC 培养上清中 IL-4 及血 IgE 水平为正相关(图 1, 图 2),其相关系数有极显著性意义($r = 0.94, 0.74$; P 均 < 0.01);而 CD30 阳性细胞百分率与 PBMC 培养上清中 IL-5, IL-6 无显著性相关($r = -0.39, 0.08$; P 均 > 0.05) (图 3, 图 4)。

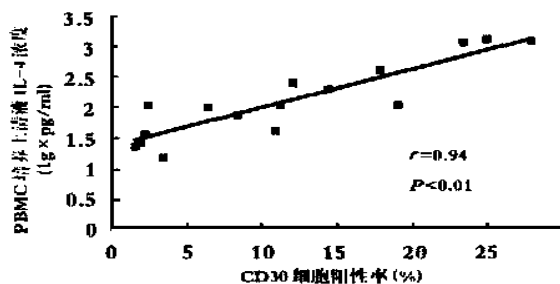


图1 SSNS CD30 细胞阳性率与 IL-4 相关性分析

Figure 1 Correlation between the percentage of CD30⁺ cells and the concentration of IL-4 in children with SSNS

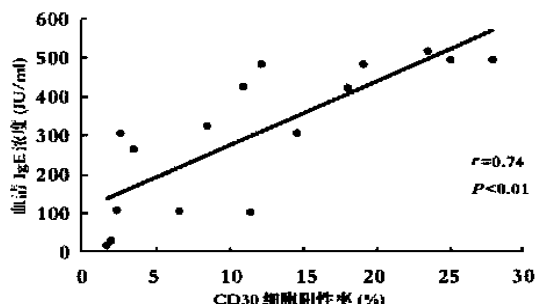


图2 SSNS CD30 细胞阳性率与血清 IgE 相关性分析

Figure 2 Correlation between the percentage of CD30⁺ cells and the serum IgE levels in children with SSNS

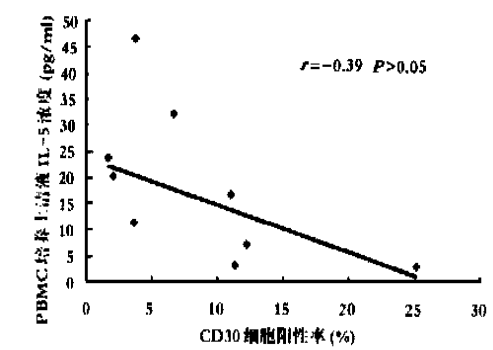


图3 SSNS CO30 细胞阳性率与 IL-5 相关性分析
Figure 3 Correlation between the percentage of CD30⁺ cells and the concentration of IL-5 in children with SSNS

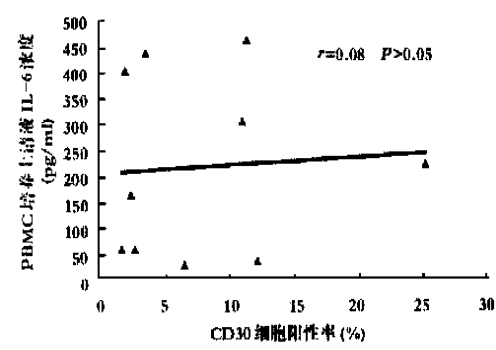


图4 SSNS CO30 细胞阳性率与 IL-6 相关性分析
Figure 4 Correlation between the percentage of CD30⁺ cells and the concentration of IL-6 in children with SSNS

表1 SSNS 患儿 CD30 阳性细胞与 Th2 类细胞因子及 IgE 检测(X ±SD)
Table 1 Determination of CD30⁺ cells, Th2 cytokines and IgE levels in children with SSNS

分组	n	CD30 ⁺ 细胞 (%)	n	IL-4 (lg pg/ ml)	n	IL-5 (pg/ ml)	n	IL-6 (pg/ ml)	n	IgE (IU/ ml)
对照组	16	2.81 ±2.35	16	1.37 ±0.29	10	23.3 ±9.2	10	320 ±254	16	110 ±108
肾病组	16	11.96 ±8.76	16	2.11 ±0.62	10	16.6 ±4.6	10	186 ±165	16	299 ±180
t		4.340		4.350		0.870		1.370		3.579
P		<0.01		<0.01		>0.05		>0.05		<0.01

3 讨论

1990 年 Romagnani 等发现人 CD4 阳性 T 细胞中有相当一部分亚群活化后仅分泌 IL-4,IL-5,而不分泌 IL-2 和 INF- γ ,研究者把这类细胞归类为 Th2 类细胞。因此当人们发现 SSNS 病人有 IL-4 及 IgE 分泌异常时,推论 SSNS 发病与 Th2 亢进有关。但进一步研究发现 SSNS 患儿不仅有 IL-4 异常升高,而且有 IL-2,INF- γ 分泌异常时,让人感到困惑^[4,5]。有人认为这是因为人类 Th 细胞分类不同于小鼠 Th 细胞分类之故,而另一些人通过实验发现在健康人群中用不同的抗原,在不同的条件下可激活不同的 Th 细胞优势克隆,因而推论 SSNS 患儿在发病早期、急期和缓解期等不同时期,不同条件下,可以被不同抗原激活不同的 Th 细胞克隆,即不同病程阶段,有可能存在不同的免疫学异常模式。Daniel 等人的实验证实,儿童原发性肾病在发病期是以 Th1 细胞活化,而长期缓解期是以 Th2 细胞活化,Th1 功能下调为其特征的^[6]。

近年资料表明,CD30 分子是 Th2 类细胞活化

标志^[3],SSNS 患儿发作期有无 Th2 亢进,是否与 T 细胞表达 CD30 有关,CD30 表达增加是否表明 Th2 细胞多克隆活化,抑或部分 Th2 细胞克隆活化也可以引起一定程度上 CD30 表达增加是 SSNS 患儿需要观察研究的问题。本文资料表明:SSNS 患儿活动期有 CD30 阳性细胞增加,与健康儿童比较有显著性差异($P < 0.01$),但个体差异很大,阳性率变异大(1.6 %~28.1 %),提示因个体差异不同的患儿 CD30 阳性细胞率存在差异;SSNS 患儿 PBMC 培养上清中 IL-4 及血清 IgE 显著增高表明 SSNS 患儿有分泌 IL-4 的 Th 细胞活化及它诱导的 B 细胞分泌 IgE 的增加;CD30 阳性细胞增加与 PBMC 培养上清中 IL-4 及血清 IgE 水平呈正相关($r = 0.94, 0.74, P$ 均 < 0.01),SSNS 患儿增加的 CD30 阳性细胞可能主要含分泌 IL-4 的 Th2 细胞克隆;SSNS 患儿增加的 CD30 阳性细胞与分泌 IL-5,IL-6 的 Th2 类细胞变化无显著相关($r = -0.39, 0.08, P > 0.05$)。

根据以上数量有限的资料分析提示:SSNS 患儿急期 CD30 阳性细胞增加,并非均一的 Th2 多克隆活化,而仅可能与部分 Th2 细胞克隆活化、增殖

有关;分泌 IL-4 的 T_H2 类细胞克隆活化、增殖可能是 SSNS 活化、增殖的 CD30 阳性细胞主要克隆之一,且可能参与 SSNS 发病;CD30 阳性细胞增加与 IL-4,血 IgE 变化呈显著正相关,与 IL-5,IL-6 变化无显著相关的现象表明,SSNS 患儿 CD30 阳性细胞增加可能缘自分泌 IL-4 的 T_H2 细胞增加,且分泌 IL-4 的 T_H2 细胞增加又可能是 B 细胞分泌 IgE 增加的重要原因,相反 SSNS 急期患儿 CD30 阳性细胞增加可能与分泌 IL-5,6 的 T_H2 细胞变化无关。

结合 Daniel 的报告,我们怀疑与 CD30 呈负相关的 IL-5 可能与 SSNS 缓解有关;SSNS 患儿急期低 IgG 血症及缓解期低 IgG 血症的恢复与 IL-5 变化也可能有直接关系。根据我们以前的研究及本文资料推论 SSNS 发病与 T_H1/T_H2 失衡无直接关系,而可能与某些致病性 T 细胞克隆有关,而分泌 IL-4 的 T 细胞克隆与致病性 T 克隆是直接关系还是伴随关系尚待证实。进一步研究 SSNS 发病期分泌 IL-4 的 T_H2 细胞克隆或分泌 IL-2, γ INF 的 T_H1 细胞克隆,有望发现与 SSNS 致病直接相关 T 细胞株。

[参 考 文 献]

- [1] Kang J, Bai KM, Wang BL, et al. Increased production of interleukin 4 in children with simple idiopathic nephrotic syndrome [J]. Clin Med J (Engl), 1994, 107(5): 347 - 350.
- [2] Cho BS, Lee CE, Pyun KH. Studies on the role of IL-4 and Fc ϵ R II in the pathogenesis of minimal change nephrotic syndrome [J]. J Korean Med Sci, 1992, 7(4): 343 - 347.
- [3] 王越. 人类 T_H 亚群研究进展 [J]. 国外医学免疫学分册, 1999, 22(4): 188 - 190.
- [4] Neuhaus TJ, Wadhwa M, Callard R, et al. Increased IL-2, IL-4 and interferon-gamma (IFN-gamma) in steroid-sensitive nephrotic syndrome [J]. Clin Exp Immunol, 1995, 100(3): 475 - 479.
- [5] 李成荣,杨锡强,王莉佳,等. 小儿激素敏感型肾病综合征辅助性 T 细胞亚群研究[J]. 中华肾脏病杂志, 1998, 14(4): 237 - 239.
- [6] Daniel V, Trautmann Y, Konrad M, et al. T-lymphocyte population, cytokines and other growth factors in serum and urine of children with idiopathic nephrotic syndrome [J]. Clin Nephrol, 1997, 47(5): 289 - 297.

(本文编辑:曹励之)

· 消息 ·

2001 年全国儿科新进展新技术学术会议征文通知

由中国当代儿科杂志和中华医学会陕西分会联合举办的“全国儿科新进展新技术学术会议”定于 2001 年 10 月 10 日在西安召开,本次大会的主题是儿科及新生儿疾病的诊断与治疗进展,届时邀请国内外知名专家进行讲座。为配合本大会的召开,现征集会议论文:①内容:儿科感染性疾病、新生儿疾病的基础与临床研究及抗生素的临床应用;其它儿科疾病的临床诊断与治疗体会、经验交流等。②要求:文章内容要具有科学性和实用性,字迹工整、语句通顺、书写规范,为未公开发表过的学术论文,600 字摘要 1 份(包括目的、方法、结果、结论四部分)、全文 1 份并请加盖单位公盖或附单位介绍信。请注明作者姓名、单位、邮编、电话、传真等。③来稿请在信封上注明“会议征文”,以免与本刊稿件混淆,请自留底稿,恕不退稿。截止日期 2001 年 9 月 15 日。④联系及投稿地址:湖南长沙湘雅路 141 号中国当代儿科杂志编辑部,邮编:410008,电话:0731 - 4327402, E-mail: xyped@public.cs.hn.cn

中国当代儿科杂志编辑部
中华医学会陕西分会