

·专家讲座·

小儿哮喘的免疫学发病机制及其对策

杨锡强

(重庆医科大学儿童医院,重庆 400014)

[中图分类号] R562.2⁺5;R392 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2001)05-0487-04

哮喘是气道的慢性炎症性疾病伴有气道高反应性(BHR),异常免疫反应在发病中起着重要作用。各国报道的发病率不完全一致,但均证实儿童哮喘发病率在近二十年来呈明显上升趋势。一些发达国家发病率高达20%~30%,我国儿童哮喘总发病率为0.9%~1.1%,南方地区12岁以下儿童约为2%,个别地区高达5%,是严重影响小儿健康的常见病。

小儿哮喘的发病机制还不清楚,遗传、呼吸道感染、神经和精神因素、不良的环境、运动、药物和异常的免疫反应均与哮喘发病有关。

1 遗传学背景

哮喘为多基因遗传病,遗传度高达77%,环境因素仅为23%。采用DNA芯片技术结合临床表型关联和连锁分析,进行大量哮喘候选基因的筛选已成为当今的热门课题。目前已发现11q与过敏体质(atopy)有关。控制总IgE和气道高反应性的基因位点在染色体5q31成簇的细胞因子(IL-4,IL-13和IL-4受体)基因簇中,这些基因的突变或多态性可导致细胞内“信息传递因子信息传感和转化活化剂”(signal transducer and activator of transcription, STAT6)活化,形成atopy和哮喘的发生。₂受体的突变和哮喘密切相关,位于14q的T细胞抗原受体(TCR)和特异性IgE反应连锁。由此可见,哮喘的发病和atopy的形成均具有显著的遗传背景。

但是,在不到半世纪的时间内,哮喘的发病率成倍的上升,这显然不可能是候选基因发生突变的结果,环境因素变化应是主要原因。此外,从已知的哮喘候选基因来看,均属免疫因子的基因位点,这些基因多态性的表型(临床表现)必然关系到免疫学改变。

2 病毒性呼吸道感染是病因,抑或是诱因

长期以来都认为呼吸道感染是发生哮喘的重要原因,鼻病毒、呼吸道合胞病毒(RSV)、腺病毒、其它病毒、支原体和衣原体等均被认为是能引起哮喘发作的感染原。其中鼻病毒和呼吸道合胞病毒与哮喘的发病最为密切。文献报道1岁内患RSV毛细支气管炎的婴儿日后极易发生哮喘。在发生RSV毛细支气管炎7.5年后,RSV特异性产生IL-4的细胞数量明显高于未发生过RSV毛细支气管炎者。这表明RSV毛细支气管炎患儿的Th₂类记忆性细胞克隆扩增,也可能在遗传背景的影响下,RSV毛细支气管炎患儿的Th₀淋巴细胞易于向Th₂淋巴细胞极化,从而形成atopy和发生哮喘。

但是,有人提出这样的问题:为什么一些婴儿感染RSV后只表现为上呼吸道感染,而另一些婴儿却表现为毛细支气管炎?他们的解答如下:发生毛细支气管炎者本身可能就是atopy,RSV感染仅是发生哮喘的诱因。Th₁细胞因子功能不足和Th₂细胞因子功能亢进是atopy的基础(详见后),新生儿时期由于存在生理性Th₁细胞功能抑制,使Th₂细胞功能亢进,导致出生头3~4个月内处于atopy状态。在此时期若接触哪怕是非常低浓度的过敏原(如宠物皮毛、烟尘和尘螨等),亦易于发展为持续性atopy。这些婴儿如再感染病毒,特别是RSV,将发生毛细支气管炎和日后发展为哮喘。

更有人提出Th₁细胞的分化成熟依赖于蛋白质抗原的刺激诱导,在宿主细胞内繁殖的病毒的刺激,更有利于Th₁细胞的发育。如果出生后不久即发生病毒感染,而非接触过敏原,则有利于Th₁细

[收稿日期] 2001-08-20

[作者简介] 杨锡强,男,教授,中国当代儿科杂志名誉主编。

胞的发展,抑制向 Th2 细胞极化。因此,哮喘的发生非但不是病毒性呼吸道感染所引起,正是由于生命早期未发生病毒感染,而易形成过敏性体质或哮喘病。他们称这种现象为“过分清洁卫生假说”(hygiene hypothesis)。

3 引起哮喘的其他诱因

除了病毒性呼吸道感染是小儿哮喘最重要的诱因外,其他以往认为与哮喘有关的因素,现在看来可能都是哮喘发作的诱因,包括神经和精神因素、运动、药物和气温变化等。这些因素作用于那些遗传学背景倾向于 Th2 细胞占优势的个体,使 Th2 细胞克隆活化、增殖和分化,导致哮喘的发生。

4 哮喘的免疫学发病机制

正如哮喘的定义“哮喘是由于免疫学异常所致的气道慢性炎症性疾病”所提示,哮喘是一种免疫性疾病。无论遗传学背景、病毒性呼吸道感染或其他诱因诱导的哮喘发作,其主要病理过程均为气道粘膜水肿,嗜酸细胞、淋巴细胞和中性粒细胞浸润,气道内分泌物增多,含有大量上述炎症细胞。在气道炎症的基础上,出现 BHR,发生广泛性细小支气管腔狭窄或闭塞。血清和气道分泌物中总 IgE 和过敏原特异性 IgE 明显增高。这些病理改变的本质为异常的免疫反应。

4.1 Th1/Th2 细胞功能失衡

Th1 细胞的生物学功能为分泌 IL-2 和 IFN- γ ,诱导自然杀伤细胞(NK)和细胞毒性 T 细胞(CTL)活化,发挥细胞免疫功能效应。Th1 细胞免疫反应在早期抗感染免疫中具有非常重要的作用。Th2 细胞的功能是分泌 IL-4,IL-5,IL-6,IL-8,IL-10,IL-13 等,辅助 B 细胞合成转化免疫球蛋白,在后期抗感染免疫中发挥作用。Th2 细胞分泌的 IL-4 促进 IgE 合成,IL-5 和 IL-8 是嗜酸细胞和中性粒细胞的趋化因子,并延长嗜酸细胞在气道内的存活时间。因此, Th2 细胞功能亢进是形成 atopy 的基础。

Th1/Th2 细胞之间处于相互抑制状态, Th1 类细胞因子 IFN- γ 拮抗 IL-10 和 IL-4,从而抑制 Th2 细胞的活性。反之, Th2 类细胞因子 IL-10 和 IL-4 通过拮抗 IL-12 和 IFN- γ ,而抑制 Th1 细胞活性。正常情况下, Th1/Th2 细胞处于恒定状态,哮喘患者 Th1 细胞功能下降, Th2 细胞功能异常增高,导致大量炎症因子生成,包括细胞因子分泌紊乱,如

IFN- γ 生成不足, IL-4, IL-5 分泌增多, IgE, IgG4 重链同种型转换,促进肥大细胞、嗜酸细胞生长和分化。最终形成以 IgE 依赖为特征的速发型变态反应及以嗜酸细胞浸润为主的慢性气道炎症(迟发性哮喘反应, late asthma reaction, LAR)。

4.2 肺泡内巨噬细胞

肺泡内巨噬细胞包括职业性抗原提呈细胞,即树突状细胞(DC)在哮喘发病机制中具有重要作用。DC 可分为两个类型:DC I 和 DC II, DC I 分泌 IL-12 和 IL-18,优势诱导 Th1 细胞;而 DC II 不分泌 IL-12 和 IL-18,则优势诱导 Th2 细胞。DC I 的功能不足,使 Th1 类细胞因子如 IL-12, IL-18 和 IFN- γ 活性下降是 Th1/Th2 细胞失衡的关键之处。

影响 DC I/DC II 和 Th1/Th2 分化失衡的因素有遗传、抗原特性和剂量、机体首次接触抗原的性质等。若机体首次接触的抗原为过敏原或多次反复接触抗原,则易于向 DC I/Th2 细胞极化(polarization);若首先接触的是病毒蛋白质抗原,则有利于 Th1 细胞的优势发育。

Th1 细胞活化分泌的 IFN- γ 还能正反馈性刺激 DC I,使之进一步分泌更大数量 IL-12,继续增强 Th1 细胞功能,而限制 Th2 类细胞因子。同样, Th2 细胞活化,分泌的 IL-4 和 IL-10 能抑制 DC I 产生 IL-12,从而拮抗 Th1 细胞功能。

4.3 嗜酸细胞

局部活检和支气管肺泡灌洗液(BALF)分析证实哮喘慢性气道炎症最显著的特征是嗜酸细胞浸润。哮喘发作时血及痰中嗜酸细胞增多,外周血嗜酸细胞超过 $300 \times 10^6/L$;痰呈白色粘性或胶冻状,可见大量嗜酸细胞。

哮喘发作时大量嗜酸细胞在气道全层及肺泡内聚集并释放大量颗粒及介质,参与慢性气道炎症,对气道上皮产生破坏作用。这些介质包括蛋白类(主要碱基蛋白、嗜酸细胞阳离子蛋白、嗜酸细胞神经毒蛋白、嗜酸细胞过氧化物酶、胶原酶),脂质类(前列腺素-E $_2$ 、-D $_2$ 、-F $_2$,血栓素 A $_2$ 、白三烯、血小板激活因子)、一氧化氮(NO)及氧自由基。炎症介质导致气道粘膜炎症性损伤和 BHR。当存在 BHR 时,各种对正常人无影响的刺激都可引起气道强烈收缩,引起哮喘发作。哮喘病人对各种刺激物的敏感性约为正常人气道的 100~1 000 倍。

Th2 细胞产生的 IL-5 和 IL-13 是强有力的嗜酸细胞趋化因子,被认为是动员边缘池和外周血嗜酸细胞向气道转移的主要因子,也促进嗜酸细胞脱颗粒和释放炎症介质。因此,可以认为:没有 Th2

细胞极化,也就不会发生气道内嗜酸细胞的浸润和哮喘的发作。

4.4 IgE

IgE与肥大细胞、嗜酸细胞、嗜碱性细胞或血小板上的特异性受体(CD23)结合,一旦再次暴露于同种抗原,抗原与细胞表面特异性IgE交联从而导致炎性介质释放的链式反应。如组胺、白三烯、激肽等能引起支气管平滑肌痉挛,毛细血管通透性增加,粘膜肿胀,腺体分泌亢进,导致气道狭窄,通气功能下降,出现哮喘等速发变态反应。

Th2细胞分泌的IL-4调控B细胞合成转化和分泌IgE,Th细胞表面分子CD40配体(CD40L)和B细胞表面分子CD40连接,是B细胞IgE合成的必要条件。肥大细胞和嗜碱性粒细胞也能释放IL-4,但肥大细胞和嗜碱性粒细胞的活化依赖于Th2类细胞因子的诱导。因此,如若没有Th2细胞优势状态的存在,将不可能发生IgE引发的速发性变态反应和哮喘。

4.5 粘附分子和趋化因子

炎症细胞包括淋巴细胞、嗜酸细胞和中性粒细胞在气道的聚集是一个复杂的过程,首先外周血炎症细胞通过不同的粘附分子与毛细血管静脉端内皮细胞上相应的粘附分子配体结合,炎症细胞沿血管内皮滚动,继而与内皮细胞发生粘附而附壁,最后穿过静脉端毛细血管壁,并迁移至气道粘膜。参与哮喘病儿气道炎症细胞聚集的粘附分子为E-选择素(E-selectin)、细胞间粘附分子1(ICAM-1)、血管细胞粘附分子1(VCAM-1)及内皮-白细胞粘附分子1(ELAM-1)。这些分子的激活需要得到TH2类细胞因子IL-6和巨噬细胞因子IL-1、肿瘤坏死因子(TNF α)的刺激。

嗜酸细胞在气道粘膜内聚集与多种趋化因子及其配体(CCL)有关,主要有活化调节与正常T细胞表达和分泌因子(regulated on activation,normal T-cell expressed and secreted,RANTES)、单核细胞趋化蛋白(monocyte chemotactic proteins,MCPs)和嗜酸细胞活化趋化因子(eotaxins)。这些趋化因子由气道上皮细胞、单核细胞、淋巴细胞和成纤维细胞分泌,功能为促进嗜酸细胞从外周血管进入组织、移行至气道粘膜,并渗入气道粘液。Th2细胞分泌的IL-4促进eotaxins分泌,TNF α 同时诱导RANTES和eotaxins的释放,IFN γ 主要刺激RANTES的产生。CCL对嗜酸细胞在气道内的聚集具有重要意义,但CCL的产生也依赖于TH细胞及其亚群的辅助。

4.6 内皮素的作用

气道上皮细胞及血管内皮细胞产生的内皮素(ETs)是引起气道收缩及重建的重要介质(特别是ET1)。ET1是迄今所知最强的支气管平滑肌收缩剂,其收缩强度是乙酰胆碱的1000倍、白三烯D4和神经激肽的100倍,ET1还有促进粘膜下腺体分泌和促平滑肌和成纤维细胞增殖的效应。哮喘患者肺内及BALF中ET1活性明显增高。气道平滑肌细胞在炎性细胞因子诱导下发生ET1的自分泌,加剧了平滑肌的收缩,并可导致由气道细胞异常增殖引起的气道重建,这些均进一步促进了气道的高反应,而ET炎性细胞因子在局部气道形成的恶性循环,更可能是慢性顽固性哮喘难以控制症状的重要原因。

内皮素的mRNA表达和蛋白质分子合成主要受巨噬细胞原炎症因子IL-1,IL-6和TNF α 的直接诱导,也可能通过这些原炎症因子作用于其他细胞,导致这些细胞产生更为强烈和更大量的炎症因子,再促使上皮细胞和内皮细胞分泌内皮素。

5 哮喘的免疫学治疗原则

虽然哮喘的发病机制复杂,但最终引起临床疾病过程的关键是免疫反应异常。原则上说,几乎所有疾病均有其遗传性背景,但作为临床医生,目前尚不能改变遗传背景来对哮喘个体患者进行有效治疗。一旦确诊哮喘应尽量避免接触各种诱发因素,包括病毒性呼吸道感染和过敏原,但在实际工作中常很困难。因此,治疗和预防哮喘发作的最实际的方法是防止和阻断引起哮喘发生的瀑布式异常免疫反应。

从上述哮喘的连锁式异常免疫反应中,可发现众多的炎症细胞和炎症因子参与了哮喘的发病。只有针对最关键的、对疾病发生具有起始作用的炎症细胞和炎症因子进行治疗,才能起到最满意的效果。不难看出DC II/Th2/DC FTh1细胞功能失衡,即DC I功能不足和Th2功能亢进是矛盾的关键。可以举一个通俗的例子来说明:如果要想消除一把折叠扇发出的风,最简而易行的方法是手握着扇柄,将折叠扇子合拢来。如果有人执意不愿合拢扇子的手柄,而选择将周边扇叶一点点撕掉来消除扇子发出的风,可以想象是即费时、费事,而效果也不会好。如果将哮喘发作比喻为扇子发出的“风”,要想阻止和预防哮喘发作的最好方法就是‘合拢扇子’,即矫正DC FTh1/DC IFTh2失衡(对抗亢进的DCIFTh2细胞)。若未能矫正DC FTh1/DC IFTh2失衡,则必将发生由此引起的连锁性炎症细胞和炎症因子的产生,发生速发性变态反应和慢性气道炎症。

此时采用各种对抗炎症细胞和炎症因子的单克隆抗体或特异性拮抗剂虽也有一定作用,但由于需要拮抗的靶标太多,缺乏实用价值。目前市场上已有一些这类产品,如白三烯受体拮抗剂(zaprinast),由于它的抗炎覆盖面太窄,临床作用缓慢,且价格高昂而使其应用受到限制。因此,防治哮喘的重点仍然应放在调节 DC F Th1/DC IF Th2 的水平上。

5.1 出生早期避免接触过敏原和呼吸道刺激物

由于新生儿期存在生理性 Th2 优势,处于暂时性 atopy,只需年长儿诱发哮喘发作的过敏原浓度的 1/1 000 ~ 10 000,即可发病。因此,应尽量避免接触过敏原和污染的空气,包括定期清洁居室,消除尘螨,适当开窗,避免长期使用空调,营造无烟环境。生后 3 ~ 4 月由于不断接受抗原刺激,Th1 细胞逐渐发育,大多数婴儿的 atopy 状态也随之消失。

5.2 早期疫苗接种

按照“过分清洁卫生假说”,出生后即刻接种细菌或病毒疫苗,以刺激 Th1 发育,可能是预防哮喘的有效方法。文献报道接种卡介苗后,结核菌素试验(PPD)呈阳性反应者(提示其 Th1 细胞功能正常),其哮喘发病率明显低于阴性反应者(Th1 细胞功能下降)。PPD 皮试阴性者,可反复接种卡介苗,若 PPD 阳转,则哮喘的病程较轻,预后较好。实验室研究证实卡介苗确有将 Th0 向 Th1 极化的功能。但不同卡介苗制剂(如法国、澳大利亚或中国制剂)的这种功能并不一致。表明卡介苗诱导 Th1 细胞分化的机制还不清楚,其中哪些成分或结构是有效的表位尚需进一步研究。一般而言,卡介苗中的蛋白质成分可能是诱导 Th1 的有效成分。并不是所有的疫苗接种均有预防哮喘的作用,有人发现 1 岁内接种过百日咳疫苗者,发生哮喘的危险度较未接种者高得多。多数作者认为接种生长于宿主细胞内的微生物如病毒和卡介苗效果较好。

5.3 其它生物学制剂

基于同样的理论,目前已有许多细菌提取物用于调节免疫反应,如乌体林斯、斯奇康、卡介苗素、多抗甲素和必思添。这类制剂在临床应用中似乎有一定疗效,但缺乏严格的双盲观察,还需作大量多中心分析(meta analysis),才能得出较确切的结论。这些制剂防治哮喘的理论基础研究也还有待进一步阐明,目前还未见到有关它们调节 Th1/Th2 平衡的报道。

从理论上讲,IFN- γ 是诱导 DC F Th1 系统最有力的细胞因子,可介导 Th1 优势发育,但尚未进行临床系列的研究。静脉注射大剂量丙种球蛋白(IVIG)治疗哮喘急性发作的疗效已得到肯定,但不

能阻止复发,且费用昂贵,不宜常规使用。IVIG 治疗哮喘的机制也不明了,可能包括中和炎症因子、抗独特型抗体的负反馈效应、竞争细胞表面受体等。IVIG 似乎并无直接对 DC F Th1/DC IF Th2 平衡有调节作用,这可能是其不能阻断哮喘复发的原因。

5.4 脱敏疗法(immunotherapy)

使用已知的过敏原小剂量多次皮下注射,使 Th2 细胞免疫反应无能,达到阻止哮喘复发的效果。这一疗法已被广泛用于临床,特别在国内用得很多,其疗效也是成功与无效各半。约 50% 的国外学者认为脱敏疗法无效,有待继续观察。

5.5 糖皮质激素(GCS)

GCS 被公认为控制哮喘急性发作和预防复发最有效的药物,长期局部气道吸入倍氯米松(beclo-methasone)或布地缩松(budesonide)使许多患者的生活质量得到改善;大剂量 GCS 冲击疗法在拯救严重哮喘病人的生命时,也是非常重要的措施。糖皮质激素的生物学功能是抑制 DC 提呈抗原,广泛抑制淋巴细胞功能,阻止炎症细胞脱颗粒和释放介质。近来发现 GCS 抑制 Th2 细胞的作用强于抑制 Th1 细胞,这可能是其治疗哮喘的主要机制。但最近有人在体外实验证实调节 Th1/Th2 细胞平衡中,并非各种 GCS 均有一样的结果,地塞米松通过刺激分子 CD28-B7 通道,促进 Th2 细胞极化,与估计应得到的结果相反。此与临床上地塞米松治疗毛细支气管炎和哮喘的疗效常不够满意是一致的。对各种不同 GCS 进行体外对 Th1/Th2 平衡影响的研究,对照观察临床效果,将是一个非常有益的课题。

此外,对那些 GCS 效果不好的哮喘病例,还应进行 GCS 受体表达的研究。

5.6 其他药物

氨茶碱是一个古老的药物,用于治疗哮喘时,是使用它的支气管解痉作用。近来体外实验发现氨茶碱具有抑制 Th2 细胞的功能,因而主张长期用药(缓解期也不停药)以预防哮喘的复发。体外实验还发现中药黄芪在普遍提高免疫功能的基础上,有促进 Th1 细胞优势的作用。临床观察黄芪也有一定程度抗哮喘的疗效。

6 小结

哮喘的免疫学治疗已经取得了长足的成绩,但是仍然还有许多问题有待进一步解决。为此,更加深入研究哮喘的免疫学发病机制就显得尤其重要。

(本文编辑:俞燕)