

· 论 著 ·

先天性心脏病患儿的免疫功能状态

陈光明¹, 王莉佳¹, 杨锡强¹, 陈新民², 蒋利萍¹, 李秋¹, 罗晓菊¹

(1. 重庆医科大学儿童医院免疫室, 重庆 400014; 2. 南京军区福州总医院儿科, 福建 福州 350025)

【摘要】目的 先天性心脏疾病(CHD)患儿易发生感染,有作者认为CHD可能是DiGeorge综合征(DGS)的一部分,CHD患儿对感染的易感性与其存在不同程度的免疫缺陷有关。本文探讨CHD患儿有无免疫功能缺陷,结合文献讨论CHD与DGS的关系。**方法** 通过胸部X片回顾性观察因患肺炎而住院的72例单纯性和34例复杂性CHD新生儿胸腺影的大小,50例同日龄肺炎新生儿作为对照。检测28例学龄前期CHD患儿外周血淋巴细胞亚群、淋巴细胞增殖功能及外周血单个核细胞(PBMC)白细胞介素-4(IL-4)和干扰素- γ (IFN- γ)mRNA表达情况及培养上清中IL-4和IFN- γ 水平,血浆IgG、IgA、IgM及C3水平。20例同年龄健康儿童作为对照。**结果** 所有新生儿胸片均可见到胸腺影,单纯性和复杂性CHD新生儿胸腺影大小与肺炎新生儿比较差异均无显著性($P > 0.05$);学龄前期CHD患儿外周血CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺及CD16⁺CD56⁺T细胞和CD4⁺/CD8⁺与对照组差异无显著性($P > 0.05$);血浆免疫球蛋白及C3水平与对照组比,差异也无显著性($P > 0.05$);PBMC加植物血凝素(PHA)和脂多糖(LPS)刺激后的每分钟脉冲数、PBMC培养上清中IL-4, IFN- γ 水平和mRNA表达与对照组比较差异无显著性(P 均 > 0.05)。**结论** 并非所有CHD患儿均伴有胸腺发育不全或免疫功能缺陷,CHD患儿易感染不一定是先天性免疫功能低下的表现。

[中国当代儿科杂志, 2003, 5(5): 417-420]

【关键词】 先天性心脏病;免疫功能状态;胸腺影;DiGeorge综合征;儿童

【中图分类号】 R541.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1008-8830(2003)05-0417-04

Immunological Function in Children with Congenital Heart Disease

Guang-Ming CHEN, Li-Jia WANG, Xi-Qiang YANG, Xin-Min CHEN, Li-Ping JIANG, Qiu LI, et al. Department of Immunology, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China (Email: chenguangming36@263.net)

Abstract: Objective It was thought that congenital heart disease (CHD) may be part of DiGeorge syndrome (DGS) and that the susceptibility to infection in children with CHD was related to immunodeficiency. This study explores whether immunodeficiency is present in children with CHD and aims to clarify the relationship between CHD and DGS by reviewing published papers. **Methods** The sizes of thymus shadow on chest X ray film were measured in 72 neonates with simple CHD, 34 neonates with complex CHD ($n = 34$) and 50 neonates with pneumonia. The partial immunologic laboratory data, including lymphocyte subsets counts, the peripheral blood mononuclear cell (PBMC) IL-4 and IFN- γ mRNA expressions and production in culture supernatant, the PBMC proliferative response to phytohemagglutinin (PHA) or lipopolysaccharide (LPS), and plasma IgG, IgA, IgM and complement 3 (C3) levels were measured in 28 pre-school children with CHD and 20 age-matched healthy children. **Results** The thymus shadows on chest X-ray films were found in both neonates with CHD and neonates with pneumonia. There was no difference in the sizes of the thymus shadow between them. The peripheral lymphocyte subsets counts in children with CHD did not differ from those in the healthy children. There were also no differences in the plasma IgG, IgA, IgM and C3 levels between them. The counts of per minute impulse (cpm) of PBMC induced by PHA and LPS and the PBMC IL-4 and IFN- γ mRNA expressions in children with CHD did not differ from those in the healthy children. **Conclusions** Not all children with CHD have congenital thymus aplasia or immunodeficiency. It is not certain that primary immunodeficiency is the reason why children with CHD may be prone to infection.

[Chin J Contemp Pediatr, 2003, 5(5): 417-420]

Key words: Congenital heart disease; Thymus shadow; Immunological function; DiGeorge syndrome; Child

[收稿日期] 2003-01-28; [修回日期] 2003-05-06

[作者简介] 陈光明(1965-),男,博士,主治医师。现在南京军区福州总医院儿科。主攻方向:小儿临床免疫。

[通讯作者] 陈光明,南京军区福州总医院儿科,邮编:350025。

先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)患儿易发生感染,近期有作者认为 CHD 可能是 DiGeorge 综合征(DiGeorge syndrome, DGS)的一部分, CHD 患儿对感染的易感性与其存在不同程度的免疫功能缺陷有关^[1]。本研究观察了学龄前期 CHD 患儿外周血部分免疫学指标,回顾性观察了患肺炎的 CHD 新生儿胸部 X 片上胸腺影的大小,以探讨 CHD 患儿有无免疫功能缺陷,并结合文献讨论 CHD 与 DGS 的关系。

1 对象和方法

1.1 研究对象

1.1.1 患肺炎的 CHD 新生儿 共 106 例,男 61 例,女 45 例,日龄 1~25 d,平均(8.5±3.5) d;分为先心 I 组(单纯性心脏畸形)72 例(房间隔缺损 30 例,室间隔缺损 22 例和动脉导管未闭 20 例),先心 II 组(复杂性心脏畸形)34 例(法洛四联症 22 例,永存动脉干 5 例,大血管转位 5 例,大血管转位伴右旋心 2 例)。50 例同期住院的肺炎新生儿作为对照,男 27 例,女 23 例,日龄 1~27 d,平均(8.7±4.1) d。

1.1.2 学龄前期 CHD 患儿 28 例,男 18 例,女 10 例,年龄 3 岁~11 例、4 岁~10 例、5~6 岁 7 例,平均(4.5±1.1)岁。包括房间隔缺损 9 例,室间隔缺损 11 例和动脉导管未闭 5 例,房间隔缺损并室间隔缺损 2 例,房间隔缺损并动脉导管未闭 1 例。近期无感染、无惊厥、无唇腭裂及颌面畸形,无血液制品、免疫抑制剂或增强剂用药史。20 例门诊体检的健康儿童作为对照,男 12 例,女 8 例,年龄 3 岁~8 例、4 岁~7 例、5~6 岁 5 例,平均(4.6±1.2)岁。

1.2 实验方法

1.2.1 新生儿胸腺影大小的测量^[2] ①测量心-胸腺-胸廓比值(cardiothymic thoracic ratio, CT/T)及分度:在患儿胸部正位 X 光片上于气管分叉水平测量该处纵隔(包括胸腺和大血管影)的宽度 ab,再于横膈顶部水平测量两侧胸廓内缘之间的宽度 AB,两处宽度的比值即为 CT/T 值。CT/T<0.35 为 I 度,0.35~0.45 为 II 度,>0.45 为 III 度。②胸腺影在水平方向的大小分度(size classification of thymus shadow transversely, TSC):沿第 3 肋间两侧胸廓内缘之间作水平线 ab,沿横膈顶部两侧胸廓内缘之间作水平线 AB,于胸廓正中两平行线之间作垂直线 CD,将半边 ab 和 AB 分成 3 等份并作 3 等分纵线,将半侧胸廓分成纵形 3 部分,胸腺影在胸廓的内

1/3 为 I 度、中 1/3 为 II 度、达外 1/3 为 III 度,以此观察胸腺影在水平方向的大小。③胸腺影在垂直方向的大小分度(size classification of thymus shadow vertically, VSC):沿第 3 肋间两侧胸廓内缘之间作水平线 ab,沿横膈顶部两侧胸廓内缘之间作水平线 AB,于胸廓正中两平行线之间作垂直线 CD,将正中垂直线 CD 分成 3 等份,并作水平线将胸廓分成水平 3 部分,胸腺影在胸廓的上 1/3 为 I 度、中 1/3 为 II 度、达下 1/3 为 III 度,以此观察胸腺影在垂直方向的大小。

1.2.2 CHD 患儿外周血免疫学指标观察 ①淋巴细胞亚群:流式细胞仪检测,试剂盒购于美国 BD 公司。②血浆免疫球蛋白和 C3 测定:免疫散射比浊法,试剂盒购于英国 The Binding Site Limited。③外周血单个核细胞(PBMC)培养上清白细胞介素-4(IL-4)和干扰素- γ (IFN- γ)含量的测定:无菌分离 PBMC(密度梯度离心法),用 RPMI-1640 完全细胞培养液将细胞调至 1×10^6 /ml,取 1 ml 1×10^6 /ml PBMC 加入植物血凝素(PHA,终浓度为 100 μ g/ml),置 37℃,5% CO₂ 培养箱中培养 48 h。离心后吸取上清液,贮于 -20℃ 冰箱,用单克隆抗体酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 IL-4 和 IFN- γ 浓度。④PBMC IL-4 和 IFN- γ mRNA 表达:取 5 ml 1×10^6 /ml PBMC 加入 PHA(终浓度为 50 μ g/ml),置 37℃,5% CO₂ 培养箱中培养 12 h,离心后去掉上清液,取管底沉淀细胞,用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)半定量 IL-4 和 IFN- γ mRNA 表达,以 β -actin 作为内参,引物由中国科学院上海细胞生物所合成。⑤淋巴细胞增殖试验:取 1 ml 1×10^6 /ml PBMC,用 ³H-TdR 掺入法测定 PBMC 经 PHA 或脂多糖(LPS)诱导的增殖功能。计数每分钟脉冲数(cpm 值)。

1.3 统计学处理

所有计量资料以均数±标准差表示,采用 SPSS 10.0 统计分析软件包,均数间比较采用独立样本 T 检验。计数资料采用多个样本率比较的 χ^2 检验和列联表资料的 χ^2 检验。

2 结果

2.1 CHD 新生儿胸腺影大小

所有新生儿的 X 光片上均可见到胸腺影,对照组、先心 I 组、先心 II 组的 CT/T 分别为 0.342±0.082,0.346±0.076 和 0.367±0.082,3 组之间两两比较差异均无显著性($P>0.05$)。经 χ^2 检验,

CT/T, TSC 和 VSC 分度构成比在对照组、先心 I 组、先心 II 组之间差异均无显著性 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 CHD 新生儿和对照组胸腺影大小分度构成比比较

Table 1 Comparison of the ratio of size classification for thymus shadow in neonates with CHD and control group										例(%)
组别	例数	CT/T			TSC			VSC		
		I度	II度	III度	I度	II度	III度	I度	II度	III度
对照组	50	31(62.0)	14(28.0)	5(10.0)	29(58.0)	13(26.0)	8(16.0)	32(64.0)	11(22.0)	7(14.0)
先心 I 组	72	42(58.3)	22(30.6)	8(11.1)	40(55.6)	21(29.2)	11(15.3)	43(59.7)	21(29.2)	8(11.1)
先心 II 组	34	21(61.8)	10(29.4)	3(8.8)	19(55.9)	9(26.5)	6(17.7)	22(64.7)	7(64.7)	5(14.8)

2.2 CHD 患儿外周血淋巴细胞亚群的变化

CHD 患儿外周血总 T 细胞 ($CD3^+$)、 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞、 $CD4^+/CD8^+$ 、NK 细胞 ($CD16^+$)

和 B 细胞 ($CD19^+$) 与对照组比较差异均无显著性 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 对照组和 CHD 患儿外周血淋巴细胞分类结果

Table 2 Peripheral lymphocyte subsets counts in children with CHD and control group ($\bar{x} \pm s$)						
组别 例数	$CD3^+$ (%)	$CD4^+$ (%)	$CD8^+$ (%)	$CD4^+/CD8^+$	$CD19^+$ (%)	$CD16^+ CD56^+$ (%)
对照组 20	67.3 ± 6.4	33.3 ± 6.0	27.9 ± 4.4	1.3 ± 0.3	17.6 ± 3.8	13.6 ± 4.5
CHD 组 28	69.1 ± 4.1	33.1 ± 7.0	29.9 ± 7.2	1.2 ± 0.5	17.1 ± 2.3	12.5 ± 3.9

2.3 淋巴细胞增殖试验

CHD 患儿 PBMC 经 PHA 或 LPS 刺激后的 cpm 值与对照组比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。见表 3。

2.4 PBMC IL-4 和 IFN- γ mRNA 表达及培养上清中 IL-4 和 IFN- γ 水平

CHD 患儿 PBMC IL-4 和 IFN- γ mRNA 表达及培养上清中 IL-4 和 IFN- γ 水平与对照组比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。见表 4。

2.5 血浆免疫球蛋白及 C3 水平

CHD 患儿血浆 IgG, IgA, IgM 和 C3 与对照组比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。见表 5。

表 3 先天性心脏病患儿和对照组的淋巴细胞增殖试验结果

Table 3 Results of lymphocyte proliferative test in children with CHD and control group ($\bar{x} \pm s$, cpm)				
组别	例数	刺激剂		
		空白	PHA	LPS
对照组	20	291 ± 50	11456 ± 5596	1185 ± 456
先心组	28	286 ± 61	12490 ± 8567	1118 ± 336

表 4 PBMC IL-4 和 IFN- γ mRNA 表达及培养上清中 IL-4 和 IFN- γ 水平

Table 4 Expression of IL-4 and IFN- γ mRNA in PBMC and the levels of IL-4 and IFN- γ in PBMC supernatants ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-4 (ng/L)	IFN- γ (ng/L)	IL-4 mRNA	IFN- γ mRNA
对照组	18	30.4 ± 15.6	2024 ± 680	0.83 ± 0.13	0.88 ± 0.20
先心组	21	27.3 ± 14.6	2145 ± 814	0.81 ± 0.12	0.91 ± 0.11

表 5 CHD 患儿和对照组血浆免疫球蛋白及 C3 水平

Table 5 Serum levels of immunoglobulin and complement 3 in children with CHD and control group ($\bar{x} \pm s$, g/L)

组别	例数	IgG	IgA	IgM	C3
对照组	18	8.55 ± 1.53	1.25 ± 0.56	1.59 ± 0.79	1.24 ± 0.39
先心组	21	8.94 ± 2.19	1.36 ± 0.73	1.44 ± 0.71	1.13 ± 0.38

3 讨论

DGS是由染色体22q11缺失所导致,然而有学者发现^[3]部分CHD患儿也存在22q11缺失,认为CHD是DGS的一部分,CHD患儿对感染的易感性与其存在不同程度的免疫功能缺陷有关。

Henriques等^[4]曾发现部分CHD患儿(13/27例)有胸腺组织结构异常。由于胸腺的病理资料难以获得,本文使用患儿胸部X片筛查CHD新生儿是否存在DGS可能。结果表明无论是单纯性还是复杂性先天性心脏病CT/T, TSC和VSC 3项指标与同日龄肺炎新生儿比较差异均无显著性,提示本组CHD患儿胸腺至少在大体上没有明显的发育异常。徐赛英^[5]认为婴幼儿纵隔宽度于第3胸椎水平<2 cm,且侧位胸片于胸骨后大血管前区存在异常透光区,提示胸腺影小或缺如,本组新生儿均未见上述X线特征,进一步说明其没有明显的先天性胸腺发育缺陷。

大多数学者均认为^[6,7]CHD患儿存在T细胞亚群的比例失衡,且是易感性的原因之一。本研究未发现CHD患儿存在T细胞亚群比例失衡。T细胞对促丝裂原的增殖反应缺陷是区分完全性DiGeorge综合征(cDGS)和部分性DiGeorge综合征(pDGS)的一个重要免疫学指标^[1]。本文发现CHD患儿PBMC经PHA刺激后的cpm值与正常对照组比较差异无显著性,说明CHD患儿T细胞增殖功能正常。

有作者^[8]曾观察到非紫绀性CHD患儿术前血清中IL-2和IFN- γ 水平下降。本文发现CHD患儿IL-4和IFN- γ 水平及其mRNA表达与对照组之间差异无显著性。IFN- γ 主要由I型辅助细胞(T_H1)分泌,IL-4主要由II型辅助细胞(T_H2)分泌,因此提示CHD患儿不存在 T_H1 和 T_H2 功能失衡。

Khalil^[7]曾报道青紫型CHD患儿外周血B细胞数升高,饶智国等^[6]却发现无论是青紫型或非青紫型CHD患儿,其B细胞的阳性率与对照组比较均无差异。本组CHD患儿外周血B细胞与对照组

比较差异无显著性,与后者报道一致。本组CHD患儿PBMC经LPS刺激后的cpm值与同龄对照组儿童比较差异无显著性,提示其B细胞的增殖功能正常。大多数学者认为CHD患儿的血清IgG和IgA水平降低,IgM正常或升高,也有学者发现CHD患儿血清IgG,IgA和IgM均升高,也有学者认为CHD患儿血清免疫球蛋白无明显异常^[6,7]。本组CHD患儿血浆IgG,IgA和IgM与对照组差异无显著性,支持CHD患儿免疫球蛋白无异常的结论。

由于大多数DGS为pDGS,有人^[9]认为pDGS的免疫功能不一定受到损害。由于未进行分子遗传学分析,本组病例尚不能完全排除pDGS的可能性,但至少说明并非所有CHD患儿均有明显的免疫功能紊乱,该类患儿易感染不一定是原发性免疫缺陷所导致。

【参考文献】

- [1] 杨锡强. 儿童免疫学 [M]. 北京:人民卫生出版社,2001, 327.
- [2] 黄开伟,董宗祈. 胸腺肥大婴幼儿的诊断、伴发畸形、神经功能障碍和预防接种 [J]. 临床儿科杂志,1992, 10(6): 422-423.
- [3] Martin Mateos MA, Perez Duenas BP, Iriando M, Krauel J, Gean Molins E. Clinical and immunological spectrum of partial DiGeorge syndrome [J]. J Invest Allergol Clin Immunol, 2000, 10(6): 352-360.
- [4] HenriquesUV, Dybdahl H. The thymus in congenital heart disease [J]. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand, 1985, 93(2): 89-92.
- [5] 徐赛英. 实用儿科放射诊断学 [M]. 北京:北京出版社,1998, 338.
- [6] 饶智国,黄显湘,李佩玲,沈关心,朱慧芬. 33例先天性心脏病患儿T细胞亚群、B细胞和免疫球蛋白的检测 [J]. 新医学, 2000, 31(1): 28-29.
- [7] Khalil A, Trehan R, Tiwari A, Malik R, Arora R. Immunological profile in congenital heart disease [J]. Indian Pediatr, 1994, 31(3): 295-300.
- [8] 孙鹏,刘雅明. 先天性心脏病患儿细胞因子水平的变化 [J]. 浙江医学,1999, 21(6): 326-327.
- [9] Junker AK, Driscoll DA. Humoral immunity in DiGeorge syndrome [J]. J Pediatr, 1995, 127(2): 231-237.

(本文编辑:俞燕)