

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2015.02.009

论著·临床研究

毛细支气管炎患儿外周血淋巴细胞 CXCR3 及 IP-10 的表达及意义

邹丽萍 许秀娟 张艳 王伟

(郑州大学第三附属医院儿内科, 河南 郑州 450052)

【摘要】 **目的** 探讨趋化因子受体3 (CXCR3) 及 γ 干扰素诱导蛋白-10 (IP-10) 在毛细支气管炎(简称毛支)患儿外周血中的表达及临床意义。**方法** 随机选取毛支住院患儿55例,按有无过敏因素分为毛支I组(有过敏因素)和毛支II组(无过敏因素);同期住院的外科非感染患儿28例作为对照组。采用流式细胞术检测3组患儿外周血CD4⁺、CD8⁺淋巴细胞表面CXCR3(表面分子标记为CD183)的表达,ELISA法测定血清中其配体IP-10的水平。**结果** 毛支I组和毛支II组外周血CD4⁺T细胞表面CD183⁺细胞的表达及CD8⁺T细胞表面CD183⁺细胞的表达均高于对照组($P<0.05$),且毛支I组高于毛支II组($P<0.05$);毛支I组及毛支II组患儿血清IP-10的浓度高于对照组($P<0.05$),毛支I组与毛支II组比较差异无统计学意义。**结论** CXCR3及IP-10参与了毛支的发病过程,且CXCR3与过敏因素有关。 [中国当代儿科杂志, 2015, 17(2): 155-158]

【关键词】 毛细支气管炎;趋化因子受体3; γ 干扰素诱导蛋白-10;儿童

Roles of CXCR3 on lymphocytes and IP-10 of peripheral blood in infants with bronchiolitis

ZOU LI-Ping, XU Xiu-Juan, ZHANG Yan, WANG Wei. Department of Pediatrics, Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China (Email: zlpzlpzyz@163.com)

Abstract: Objective To study the roles of chemokine receptor 3 (CXCR3) on lymphocytes and interferon- γ -inducible protein-10 (IP-10) of peripheral blood in childhood bronchiolitis. **Methods** Fifty-five children with bronchiolitis were classified into Group I (with allergic factors) and Group II (without allergic factors). Twenty-eight children with noninfectious diseases were enrolled randomly as the control group. The expression of CXCR3 (CD183 as its molecular marker) on lymphocytes of peripheral blood was detected by flow cytometry. Serum IP-10 level was measured using ELISA. **Results** The expression of CD183⁺ cells on CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes in peripheral blood in children with bronchiolitis from both Group I and Group II was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$), and Group I had higher expression of CD183⁺ cells on CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes than Group II ($P<0.05$). Serum IP-10 levels in Group I and Group II were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). However, there was no significant difference in serum IP-10 levels between Group I and Group II. **Conclusions** CXCR3 and IP-10 are involved in the pathogenesis of bronchiolitis, and CXCR3 is associated with allergic factors.

[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(2): 155-158]

Key words: Bronchiolitis; Chemokine receptor 3; Interferon- γ -inducible protein-10; Child

毛细支气管炎(以下简称毛支)是2岁以下婴幼儿特有的呼吸道感染性疾病,以气促、三凹征和喘鸣为主要临床表现,50%以上为呼吸道合胞病毒(RSV)感染^[1]。随访毛支患儿发现33.9%发生哮喘^[2],其发病机制有待进一步研究。CXCR3

及其配体IP-10是重要的生物活性分子,在多种病毒感染中参与免疫应答。近年来关于其研究多集中在肿瘤^[3]、肝炎^[4]、移植排斥反应^[5]、自身免疫性疾病^[6]等方面,在哮喘小鼠^[7]中也有研究,在毛支患儿中鲜有报道。毛支是一种常见的病毒感

[收稿日期] 2014-07-29; [接受日期] 2014-09-20

[作者简介] 邹丽萍,女,学士,主任医师,教授。

染性疾病，本研究旨在检测该疾病患儿外周血淋巴细胞表面CXCR3的表达及血清中IP-10的水平，以探讨其在毛支发病机制中的作用及意义，以期作为毛支的临床诊断和治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

随机选取2013年12月至2014年5月于我院儿内科住院的毛支患儿55例作为毛支组，按有无过敏因素分为毛支I组和毛支II组。毛支I组：有过敏因素，如湿疹、过敏性鼻炎等，共30例，其中男19例，女11例，年龄2~24个月，平均 7 ± 3 个月；毛支II组：无过敏因素，共25例，其中男15例，女10例，年龄2~24个月，平均 6 ± 4 个月。两组患儿均为首次喘息发作的初治患儿，有气促及咳嗽症状，肺部听诊可闻及哮鸣音，胸部影像学检查征象为全肺不同程度的肺气肿或肺纹理增粗，符合毛支诊断标准^[1]。同期同年龄段外科疝气、肾结石等非感染患儿28例作为对照组，其中男16例，女12例，年龄2~36个月，平均 9 ± 5 个月。纳入本试验的所有儿童采血前1个月均无免疫药物治疗史；对照组无毛支史，毛支II组及对照组均非过敏体质。3组儿童年龄、性别差异无统计学意义($P > 0.05$)。该研究已通过我院伦理委员会同意和批准，并获患儿家长知情同意。

1.2 外周血淋巴细胞表面CXCR3表达的检测

CXCR3在活化的T细胞上高度表达，其表面分子标志为CD183，本研究通过检测CD4⁺CD183⁺T细胞占CD4⁺T细胞百分比、CD8⁺CD183⁺T细胞占CD8⁺T细胞百分比来反映外周血淋巴细胞表面CXCR3的表达。

3组儿童均于入院当天采集静脉血4 mL，其中2 mL新鲜全血经EDTA-Na₂抗凝后用于检测外周血淋巴细胞表面CXCR3的表达。取流式专用管6支，在各管中分别加入100 μL抗凝混匀全血；在各管中顺序加入CD4-FITC 20 μL、CD183-PE 20 μL；CD8-FITC 20 μL、CD183-PE 20 μL；CD4-FITC 20 μL、IgG1-PE 20 μL；CD8-FITC 20 μL、IgG1-PE 20 μL；CD183-PE 20 μL、IgG1-FITC 20 μL；IgG1-FITC 20 μL、IgG1-PE 20 μL。

混匀，室温避光30 min。各管中加入红细胞裂解液1 mL，室温避光10 min，离心5 min(1500转/min)，弃上清，重复3次。再加入1 mL PBS液，混匀，采用流式细胞术分析其外周血中CD4⁺CD183⁺T细胞、CD8⁺CD183⁺T细胞的数量，分别以CD4⁺CD183⁺T细胞占CD4⁺T细胞百分比及CD8⁺CD183⁺T细胞占CD8⁺T细胞百分比表示。鼠抗人CD4-FITC、CD8-FITC、CD183-PE和同型对照鼠抗人IgG1单克隆抗体购自美国BD公司；流式细胞仪为FACS Calibur型，购自美国BD公司。

1.3 血清中IP-10水平的检测

2 mL静脉血3000转/min离心15 min，分离上层血清，-80℃冻存。血清IP-10浓度的检测采用ELISA法，按照试剂说明书操作。IP-10试剂盒购自上海森雄科技实业有限公司(进口分装)。

1.4 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件分析，数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用SNK检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

毛支I组和毛支II组外周血CD4⁺T细胞表面CD183⁺细胞的表达及CD8⁺T细胞表面CD183⁺细胞的表达均高于对照组，差异有统计学意义($P < 0.05$)，且毛支I组高于毛支II组($P < 0.05$)；毛支I组及毛支II组患儿血清IP-10的浓度高于对照组，差异有统计学意义($P < 0.05$)，但毛支I组与毛支II组比较差异无统计学意义(表1、图1)。

表1 3组患儿外周血CD4⁺、CD8⁺淋巴细胞CD183⁺的表达率及血清IP-10浓度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | CD4 ⁺ CD183 ⁺ / CD4 ⁺ (%) | CD8 ⁺ CD183 ⁺ / CD8 ⁺ (%) | IP-10 (ng/L) |
|-------|----|---|---|-----------------------|
| 对照组 | 28 | 11 ± 3 | 51 ± 7 | 150 ± 40 |
| 毛支I组 | 30 | 16 ± 4 ^a | 67 ± 11 ^a | 184 ± 37 ^a |
| 毛支II组 | 25 | 14 ± 4 ^{ab} | 61 ± 11 ^{ab} | 164 ± 45 ^a |
| F值 | | 14.077 | 19.673 | 4.939 |
| P值 | | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

注：a示与对照组比较， $P < 0.05$ ；b示与毛支I组比较， $P < 0.05$ 。

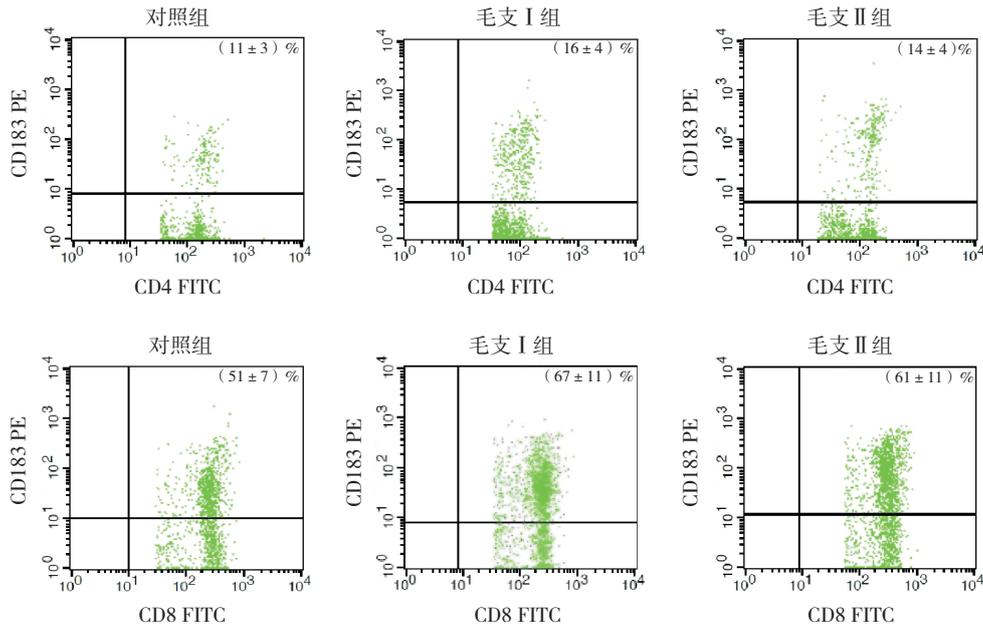


图1 3组患儿外周血CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞中CD183⁺的表达

3 讨论

毛细支气管炎是由多种细胞因子参与的气道炎症性疾病，并伴有气道高反应性，尤其好发于1~6个月的小婴儿^[8]，其与哮喘的发生发展关系密切，但发病机制尚不完全清楚。目前研究认为是多种细胞组分参与的感染后继发的免疫功能异常性疾病^[9]，而对这些炎症细胞的活化和向气道迁移的过程中，趋化因子及其受体发挥重要作用^[10]。CXCR3为CXC型趋化因子受体，在活化的T细胞上高度表达，其配体与T细胞的活化和迁移关系密切并高选择性作用于CXCR3^[11]。IP-10主要来源于活化的成纤维细胞、单核巨噬细胞、内皮细胞和各种淋巴细胞等多种细胞^[12]。CXCR3与IP-10相互作用，可募集T细胞到免疫攻击部位，增强局部的抗感染免疫，引导炎症反应，在呼吸道上皮细胞的损伤和炎症过程中具有重要作用^[7]。

CD4⁺/CD8⁺是反映免疫系统内环境稳定的重要指标，研究表明毛细支气管炎患儿存在T细胞亚群变化^[13]。本研究在此基础上进一步探讨CXCR3在CD4⁺、CD8⁺T细胞亚群的百分率，结果显示有无过敏因素的毛细支气管炎患儿CXCR3在CD4⁺、CD8⁺T细胞的百分率均显著高于对照组，且血清IP-10的水平亦显著高于对照组，提示CXCR3通过与其配体结合及其相互作用，引导炎症细胞在呼吸道募集粘附，

参与了呼吸道的炎症过程。趋化因子以配体-受体结合的形式发挥生物学效应。CXCR3与IP-10结合，促进循环中炎症细胞募集，引导炎症细胞粘附及转移至炎症部位，在炎症反应中发挥重要作用。

毛细支气管炎中气道高反应性主要与T细胞浸润和嗜酸性粒细胞聚集活化有关^[14]，毛细支气管炎中有过敏因素的患儿更易发生反复喘息，湿疹等特异性体质是影响毛细支气管炎继发哮喘的重要因素^[15]。CXCR3与IP-10结合，可能通过趋化嗜酸性粒细胞的聚集、诱导肥大细胞脱颗粒^[13]和加速肥大细胞向平滑肌趋化^[7]等引起炎症部位呼吸道损伤，在变应性炎症改变中起重要作用。本研究表明有过敏因素的毛细支气管炎I组CXCR3在CD4⁺、CD8⁺T细胞亚群的百分率均高于无过敏因素的毛细支气管炎II组，提示CXCR3在毛细支气管炎的致病过程中可能与过敏因素有关。是否可通过检测毛细支气管炎患儿CXCR3预测哮喘的发病有待进一步研究。

总之，本研究表明，CXCR3及IP-10参与了毛细支气管炎的发病，CXCR3可能与过敏因素有关。在哮喘中亦存在CXCR3、IP-10的高表达^[7]，提示毛细支气管炎和哮喘可能存在相同或相似的发病机制。理论上认为应用CXCR3、IP-10的抗体治疗毛细支气管炎以减轻临床症状或阻止其向哮喘进一步发展具有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学 [M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1175-1201.
- [2] 邓华, 符州. 毛细支气管炎后支气管哮喘发生的相关因素 [J]. 实用儿科临床杂志, 2009, 24(4): 274-276.
- [3] 朱鸿玲, 赵泽飞, 方瑾, 等. CXC 趋化因子受体 3 在甲状腺乳头状癌的表达及临床意义 [J]. 上海医学, 2012, 35(1): 41-43.
- [4] 祝先进, 宋艳芳, 曹颖平, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血趋化因子 CXCL10 和 CXCL11 的表达及意义 [J]. 临床肝胆病杂志, 2011, 27(8): 804-806.
- [5] 王海梁. 趋化因子 CXC 亚族及其受体 CXCR3 在肝移植急性排斥反应中的作用 [D]. 第二军医大学学位论文, 2008.
- [6] 赵之, 李芳. 趋化因子及趋化因子受体 3 在自身免疫疾病中的作用 [J]. 中国微生态学杂志, 2010, 22(10): 958-960.
- [7] 吴良霞, 吴珉, 林晓亮, 等. 哮喘小鼠肺组织中 CXC 趋化因子受体 3 和其配体干扰素- γ 诱导蛋白 10 的表达及意义 [J]. 实用儿科临床杂志, 2009, 24(16): 1238-1240.
- [8] 邹丽萍, 张松林. 毛细支气管炎患儿 ICAM-1 和 RANTES 检测的意义 [J]. 中国当代儿科杂志, 2010, 12(3): 181-183.
- [9] Kim HH, Lee MH, Lee JS. Eosinophil cationic protein and chemokines in nasopharyngeal secretions of infants with respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis and non-RSV bronchiolitis [J]. J Korean Med Sci, 2007, 22(1): 372-376.
- [10] 郭宇, 李燕, 陈庄. 趋化因子在哮喘中的作用及研究进展 [J]. 现代预防医学, 2012, 39(7): 1764-1767.
- [11] 张翔, 李文倩, 李建平, 等. CXCR3 及其相关配体的研究进展 [J]. 免疫学杂志, 2013, 29(4): 365-368.
- [12] Sauty A, Dziejman M, Taha RA, et al. The T cell-specific CXC chemokines IP-10, Mig, and I-TAC are expressed by activated human bronchial epithelial cells [J]. J Immunol, 1999, 162(6): 3549-3558.
- [13] 张松林. 毛细支气管炎患儿 T 淋巴细胞亚群、ICAM-1 及 RANTES 检测意义的研究 [D]. 郑州大学学位论文, 2010.
- [14] 袁瑞, 邹丽萍. 婴幼儿喘息性疾病外周血单个核细胞 LFA-1 及 Mac-1 检测意义的研究 [D]. 郑州大学学位论文, 2012.
- [15] 李礼. 毛细支气管炎后继发支气管哮喘相关因素分析 [J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(22): 3483-3487.

(本文编辑: 邓芳明)

· 消息 ·

2015 年《中国当代儿科杂志》征稿征订启事

《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)、荷兰《医学文摘》(EM)及世界卫生组织西太平洋地区医学索引(WPRIM)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。辟有国内外儿科研究及动态、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。2014 年起本刊已改为全彩版, 版面编排、设计更加美观。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, 免审稿费, 审稿周期 3~6 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。

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.ejcp.org>