

· 临床研究 ·

慢性扁桃腺炎患儿 T 淋巴细胞表型及功能分析

陈宗波¹, 曹永献², 孙秀芳¹, 万顺兰¹

(青岛大学医学院附属医院 1. 儿内科; 2. 检验中心, 山东 青岛 266003)

[摘要] 目的 探讨慢性扁桃腺炎患儿 T 淋巴细胞表型和功能障碍情况, 为分析其病因和发病机制提供临床和理论依据。方法 采用免疫荧光标记和流式细胞仪技术检测了 27 例慢性扁桃腺炎患儿和 21 例健康儿童外周血 T 细胞亚群、B 细胞及 NK 细胞的表面标记和 T 细胞活化后表面分子 (CD3⁺/HLA-DR⁺ T 和 CD3⁺/CD25⁺) 的表达; 同时采用 ELISA 方法检测了患儿和对照组血清中 Th1 型细胞因子 IL-2 和 IFN- γ 的水平。结果 与对照组比较, 慢性扁桃腺炎患儿 CD4⁺ T 细胞和 CD3⁺/HLA-DR⁺ T 活化细胞的阳性率显著降低 ($28.6\% \pm 4.4\%$ vs $25.4\% \pm 4.5\%$, $P < 0.05$; $5.7\% \pm 1.9\%$ vs $3.9\% \pm 1.6\%$, $P < 0.01$), CD4⁺/CD8⁺ 比值降低 (1.17 ± 0.30 vs 0.92 ± 0.18 , $P < 0.01$); 但患儿 CD3⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞和 CD3⁺/CD25⁺ 阳性的 T 细胞与对照组比较差异均无显著意义。患儿 CD19⁺ B 细胞阳性率、与 Th1 细胞功能有关的 IL-2 和 IFN- γ 表达水平也较对照组显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.05$); 而两组 CD3⁺/CD(16+56)⁺ NK 细胞的阳性率无显著差异。结论 慢性扁桃腺炎患儿存在 CD4⁺ T 细胞减少, T 细胞活化障碍, Th1 细胞功能异常及 B 细胞减少, 这可能是患儿反复感染和病程迁延的主要原因之一。

[中国当代儿科杂志, 2005, 7(1): 51-53]

[关键词] T 细胞; 功能障碍; 扁桃腺炎; 儿童

[中图分类号] R725.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2005)01-0051-03

T lymphocyte phenotype and function in children with chronic tonsillitis

Zong-Bo CHEN, Yong-Xian CAO, Xiu-Fang SUN, Shun-Lan WAN. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266003, China (Email: drchen@public.qd.sd.cn)

Abstract: Objective This study examined T lymphocyte phenotype and function in the peripheral blood of children with chronic tonsillitis in order to provide a basis for uncovering the pathogenesis of chronic tonsillitis. **Methods** The expressions of surface markers of T cell subsets, B cells and NK cells and expressions of membrane molecule of activated T cells (CD3⁺/HLA-DR⁺ T and CD3⁺/CD25⁺) were assayed by immunofluorescence and flow cytometry in 27 children with chronic tonsillitis (Study group) and 21 healthy children (Control group). Meanwhile, the levels of IL-2 and IFN- γ were detected using ELISA. **Results** CD4⁺ cells and CD3⁺/HLA-DR⁺ activated T cells were expressed in $25.4\% \pm 4.5\%$ and $3.9\% \pm 1.6\%$ in the Study group but $28.6\% \pm 4.4\%$ and $5.7\% \pm 1.9\%$ in the Control group ($P < 0.05$ and < 0.01 , respectively). The ratio of CD4⁺/CD8⁺ of T cells in the Study group was significantly decreased compared with the Control group (0.92 ± 0.18 vs 1.17 ± 0.30 , $P < 0.01$). CD19⁺ B cells were expressed at a lower level in the Study group ($9.9\% \pm 3.0\%$ vs $13.1\% \pm 5.6\%$, $P < 0.05$). The levels of IL-2 and IFN- γ related to Th1 cells function were also significantly lower in the Study group than those in the Control group ($P < 0.01$). There were no significant differences in the number of CD3⁺ T cells, CD8⁺ T cells, CD3⁺/CD25⁺ T cells and CD3⁺/CD(16+56)⁺ NK cells between the two groups. **Conclusions** There are lower CD4⁺ cell expression and B cell expression, and T cell dysfunction and Th1 cell dysfunction may be present in children with chronic tonsillitis, which may contribute to the pathogenesis of recurrent tonsillitis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2005, 7(1): 51-53]

Key words: T cell; Dysfunction; Tonsillitis; Child

慢性扁桃腺炎 (chronic tonsillitis, CT) 为儿童时期的常见病^[1], 其特点是扁桃腺反复感染, 或迁延不愈。导致患儿反复扁桃腺感染的原因和机制是目前研究的热点^[2~6]。正常机体对抗原的免疫应答依

赖 T 细胞和特异性抗原递呈细胞之间协调的相互作用。如果病原体入侵时, T 细胞不能及时被活化或活化能力降低, 机体将不能有效地制止感染的发生。本研究通过分析慢性扁桃腺炎患儿 T 淋巴细

[收稿日期] 2004-02-28; [修回日期] 2004-07-06

[作者简介] 陈宗波 (1957-), 女, 博士, 主任医师。主攻方向: 儿科感染性疾病。

[通讯作者] 陈宗波, 青岛市青岛大学医学院附属医院儿科, 邮编: 266003。

胞的表型及与 T 细胞活化有关的 CD3⁺/HLA-DR⁺ 和 CD3⁺/CD25⁺ 等表面分子的表达和 Th1 型细胞因子 IL-2 和 IFN- γ 的水平,观察患儿 T 细胞功能情况,探讨慢性扁桃腺炎的病因和发病机制。

1 材料与方法

1.1 研究对象

27 例慢性扁桃腺炎患儿为本院儿科门诊和住院患儿,均符合慢性扁桃腺炎的诊断标准^[7],排除其他各种类型的上下呼吸道感染和各种先天性和慢性心肺疾患。男 17 例,女 10 例。年龄从 2 岁 3 个月至 14 岁,平均 4 岁 11 个月。所选病例均病程 1 年以上,最长达 9 年。对照组为 21 例同期健康体检患儿,男 14 例,女 7 例,年龄 3 岁至 14 岁,平均 4 岁 5 个月。对照组患儿均无反复扁桃腺炎。

1.2 标本采集

收集患儿非感染期和对照组患儿肝素抗凝外周血 2 mL 及血清标本 1 mL 待测。

1.3 流式细胞仪分析

采用免疫荧光双标记单克隆抗体和流式细胞仪技术,分析病人及对照组外周血单个核细胞中 T 淋巴细胞、B 细胞和 NK 细胞表面标志和活化 T 细胞表面分子的表达。于各测试管中加入 100 μ L 肝素抗凝血,再分别加入 20 μ L FITC/PE 双标记单克隆抗体 CD4/CD8、CD3/CD25、CD3/CD19、CD3/CD(16+56)、CD3/HLA-DR,室温孵育 20 min 后,Q-Prep 系统溶解红细胞,2 000 r/min 离心 5 min,去除上清液后以 PBS 漂洗 2 次。以标准微球调整流式细胞仪,使变异系数在 2% 以内。上机检测 5 000 个细

胞,荧光强度以对数放大。实验中所使用的 FITC/PE 双标记单克隆抗体为法国 Immunotech 公司生产,EPICS XL 型流式细胞仪为美国 Coulter 公司生产。

1.4 IFN- γ 的检测

ELISA 方法检测血清中 IFN- γ 的水平,操作按试剂盒说明进行。IFN- γ ELISA 试剂盒购于深圳晶美生物工程有限公司。

1.5 血清中 IL-2 活性的测定

采用 MTT 比色法。标准 IL-2 由美国 Sigma 公司生产。

1.6 统计学处理

数据以均数 $\pm$ 标准差表示,组间差异分析采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 T 细胞表面分子的检测

患儿组和对照组比较,T 细胞表面 CD3⁺抗原阳性细胞差异无显著性,而 CD4⁺抗原表达率均明显降低;CD8⁺抗原表达率在 CT 组略有增高,但两组间差异无显著意义;CD4⁺/CD8⁺的比值患儿较对照组显著降低,差异有显著性($P < 0.01$)。CD3⁺/HLA-DR⁺为 T 细胞受抗原刺激后活化的标志,患儿较对照组降低。CD3⁺/CD25⁺为 T 细胞活化后 IL-2R 表达阳性的细胞,其表达率患儿与对照组比较差异无显著性。见表 1。上述研究结果表明患儿 T 细胞数量无显著降低,但 CD4⁺细胞明显减少,CD4⁺/CD8⁺比值失调;T 细胞活化功能障碍。

表 1 T 淋巴细胞表型检测结果

Table 1 Detection of T lymphocyte phenotypes

($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	T 细胞抗原表型				活化 T 细胞抗原表型	
		CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD3 ⁺ /HLA-DR ⁺ (%)	CD3 ⁺ /CD25 ⁺
对照组	21	65.2 $\pm$ 5.5	28.6 $\pm$ 4.4	25.4 $\pm$ 4.9	1.17 $\pm$ 0.30	5.7 $\pm$ 1.9	4.4 $\pm$ 1.2
反复扁桃腺炎组	27	63.0 $\pm$ 5.2	25.4 $\pm$ 4.5	27.9 $\pm$ 5.1	0.92 $\pm$ 0.18	3.9 $\pm$ 1.6	3.8 $\pm$ 1.2
<i>t</i>		1.43	2.44	1.72	3.52	3.48	1.87
<i>P</i>		0.20	0.02	0.10	0.002	0.002	0.10

2.2 B 细胞和 NK 细胞表型及 IL-2 和 IFN- γ 细胞因子水平的检测

患儿与对照组比较,B 细胞 CD19⁺抗原表达均减低。NK 细胞 CD3⁺/CD(16+56)⁺的表达率在两

组间的差异无显著性意义。患儿血清中 IL-2 和 IFN- γ 细胞因子表达水平较对照组均显著降低,差异有显著性($P < 0.01$)。说明 CT 患儿 Th1 细胞产生细胞因子水平降低。见表 2。

表 2 B 细胞、NK 细胞表型和血清 IL-2、IFN- γ 结果

Table 2 Detections of B lymphocyte and NK cell phenotypes and serum levels of IL-2 and INF- γ

($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD19 ⁺ B 细胞(%)	CD3 ⁺ /CD(16+56) ⁺ NK 细胞(%)	IL-2(U/L)	IFN- γ (μ g/L)
对照组	21	13.1 $\pm$ 5.6	13.8 $\pm$ 4.0	119 $\pm$ 18	1.16 $\pm$ 0.25
反复扁桃腺炎组	27	9.9 $\pm$ 3.0	13.0 $\pm$ 4.4	104 $\pm$ 17	0.99 $\pm$ 0.18
<i>t</i>		2.50	0.66	2.83	2.71
<i>P</i>		0.02	0.50	0.01	0.01

3 讨论

本研究检测了 27 例慢性扁桃腺炎患儿非感染期外周血 T 细胞抗原表达情况,结果显示,患儿主要表现为 CD4⁺ 细胞数减少、CD4⁺/CD8⁺ 比值失调和 T 细胞活化功能障碍。考虑导致患儿反复扁桃腺感染的可能机制为 Th 细胞数量降低或功能障碍和 T 细胞活化的信号传递障碍。

IL-2 和 IFN- γ 主要由 Th1 细胞产生,介导细胞免疫反应,同时参与多种免疫反应的调节。Th1 细胞通过分泌细胞因子刺激 T、B 细胞分化和细胞毒性 T 淋巴细胞成熟,在机体清除病原微生物过程中有效的 Th1 反应是不可缺少的。本研究的病例 IL-2 和 IFN- γ 的分泌均较对照组明显降低。这可能是由于 Th1 细胞数量不足及功能障碍造成的。

抗原诱导的 T 细胞活化功能障碍及导致的细胞因子减少也可引起 B 细胞的功能障碍。T 细胞通过 CD40 及分子转换机制在 DNA 水平对同种未定向 B 细胞起作用,并能够支持定向 B 细胞抗体同种型转换。IL-2 是人类 B 细胞增殖和分化潜在的诱导剂,抗原刺激后 IL-2 产生降低能使患者 B 细胞功能异常。另外,IFN- γ 产生降低也可累及到 B 细胞的分化功能。因此,慢性扁桃腺炎患儿外周血中 B 细胞 CD19⁺ 抗原表达率降低可能与 CD4⁺ T 细胞数量减少及 T 细胞活化功能障碍有关。

慢性扁桃腺炎患儿存在 CD4⁺ T 细胞减少,T 细胞活化障碍,Th1 细胞功能异常及 B 细胞减少,这可能是患儿反复感染和病程迁延的主要原因之一。

[参 考 文 献]

[1] Ebenfelt A. Neutrophils are hyperactive in recurrent tonsillitis[J]. Acta Otolaryngol, 2002, 122(2): 206-209.

[2] Vries E, Noordzij JG, Kuijpers TW, van Dongen JJ. Flow cytometric immunophenotyping in the diagnosis and follow-up of immunodeficient children [J]. Eur J Pediatr, 2001, 160(10): 583-591.

[3] Pitkaranta A, Nokso-Koivisto J, Jantti V, Takala A, Kilpi T, Hovi T. Lowered yields of virus-induced interferon production in leukocyte cultures and risk of recurrent respiratory infections in children [J]. J Clin Virol, 1999, 14(3): 199-205.

[4] Ianni A, Majore S, Arzani D, Carboni I, Corbo GM, Romano-Spica V. CCR2 and CCR5 gene polymorphisms in children with recurrent respiratory infections [J]. Respir Med, 2001, 95(5): 430-432.

[5] Lopez-Yap A, Abdelnour A, Lomonte B, Porras O. Serum antibody response to polysaccharides in children with recurrent respiratory tract infections [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2001, 8(5): 1012-1014.

[6] Chernyshov V, Omelchenko L, Treusch G, Vodyanik M, Pochinok T, Gumenyuk M, et al. Disorders in mononuclear phagocytes and reduced glutathione and their correction in Chernobyl children with recurrent respiratory infections and chronic inflammatory focal lesions [J]. Adv Exp Med Biol, 2001, 495(8): 265-268.

[7] Chronic Tonsillitis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, eds. Nelson Textbook of Pediatrics[M]. 16th ed. Singapore: Harcourt Asia, 2000, 1267-1268.

(本文编辑:吉耕中)