

哮喘患儿外周血 CD25 与 IFN- γ 的水平变化及其相关性研究

黄花荣, 麦贤弟

(中山大学附属第二医院儿科, 广东 广州 510120)

摘要: 【目的】探讨哮喘患儿外周血分化群(CD)25 与 IFN- γ 的水平变化及其两者在急性发作期的相互关系。【方法】应用流式细胞仪(FCM)检测发作期、缓解期和正常小儿外周血的 CD25⁺ 细胞数, 应用生物素-亲和素双抗体夹心酶联免疫吸附分析术(ABC-ELISA)测定 IFN- γ 水平。【结果】哮喘缓解期 CD25⁺ 细胞数(4.13±2.20)%和正常对照组(4.11±1.82)%比较无显著性差异, $P>0.05$, 哮喘发作期 CD25⁺ 细胞数(8.61±3.30)%显著高于正常对照组和缓解组, $P<0.01$ 。哮喘缓解期 IFN- γ (3.20±1.11)显著低于对照组(7.46±1.92), $P<0.01$, 哮喘发作期 IFN- γ (3.00±1.31)显著低于正常对照组, $P<0.01$, 哮喘缓解期 IFN- γ 与发作期组无显著性差异, $P>0.05$ 。哮喘发作期 CD25⁺ 细胞数与 IFN- γ 有正相关性, $r=0.81$, $P<0.01$ 。【结论】发作期哮喘患儿外周血 CD25⁺ 细胞数升高, 而 IFN- γ 降低, 但 CD25⁺ 细胞数与低水平的 IFN- γ 有正相关性, 在缓解期 CD25⁺ 细胞数基本恢复至正常, 但 IFN- γ 仍处于低水平。

关键词: 哮喘; CD25; 干扰素 γ

中图分类号: R725.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2002)05-0361-03

Changes and Correlation Between Peripheral Blood CD25 and IFN- γ Levels in Asthmatic Children HUANG Hua-rong, MAI Xian-di. (Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract 【Objective】To evaluate the changes and the correlation between peripheral blood CD25 and IFN- γ levels in asthmatic children 【Methods】CD25⁺ cells were assayed by flow cytometric assay (FCM), and IFN- γ levels were assayed by avidin-biotin complex enzyme-linked immunosorbent assay method (ABC-ELISA). 【Results】No significant difference in CD25⁺ cells level was found between the asthmatic subjects in remission stage (4.13±2.20)% and the control individuals (4.11±1.82)% ($P>0.05$), but CD25⁺ cell level (8.61±3.30)% was significantly higher in patients with acute attack than in the control individuals and the subjects in remission stage ($P<0.01$). IFN- γ level of asthmatic children in acute attack (3.00±1.31) or in remission stage (3.20±1.11) was significantly lower than that of the control group (7.46±1.92). No significant difference in IFN- γ existed between children in remission stage and in acute attack ($P>0.05$). Positive correlation between CD25⁺ cells and IFN- γ level in acute attack was observed, $r=0.81$, $P<0.01$. 【Conclusion】CD25⁺ cells level in peripheral blood of asthmatic children with acute attack is higher while IFN- γ level is lower, but positive correlation between CD25⁺ cells and IFN- γ level is observed. In remission stage, CD25⁺ cells are normal, but IFN- γ level is low.

Key words: asthma; CD25; interferon gamma

支气管哮喘的病因及发病机制尚未完全阐明。研究资料表明, 机体的免疫功能紊乱与哮喘的发病有关, 白细胞介素(IL)-2、干扰素均具有重要的免疫调节作用。为此, 我们通过检测哮喘患儿外周血 CD25⁺[膜表面白细胞介素 2 受体(mIL-2R)] 细胞数与干扰素的水平变化, 以探讨哮喘患儿 CD25⁺ 与干扰素的水平变化及其相互关系。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

35 例哮喘患儿均来自自我科哮喘专科门诊。参照 1992 年第三届全国小儿呼吸道疾病学术会议制定的儿童哮喘诊断标准进行诊断^[1]。正常对照组 26 例, 男 15 例, 女 11 例, 年龄为 1.2~8 岁, 平均(3.9±2.1)岁; 哮喘发作组 35 例, 男 20 例, 女 15 例, 年龄 0.8~10 岁, 平均(4.5±2.6)岁; 缓解组 25 例, 男 15 例, 女 10 例, 年龄 0.8~9 岁, 平均(3.8±2.5)岁, 3 组间的年龄无显著性差异, $P>0.05$ 。对照组为健康小儿, 均排除个人及家族性变态反应

收稿日期: 2001-12-24

基金项目: 广东省卫生厅基金资助的部分课题(39570728)

作者简介: 黄花荣(1966-), 女, 河南长葛人, 硕士, 主治医师

性疾病,近2周内无感染及预防接种史。哮喘发作组均为轻中度发作,抽血前2周内未予糖皮质激素、免疫抑制药等治疗。

1.2 实验方法

1.2.1 标本收集及处理 抽取患儿及正常对照小儿的乙二胺四乙醇(EDTA)抗凝血1 mL,用标记异硫氰基荧光素(FITC)标记鼠抗CD25单抗(美国 Immunotech 公司),按试剂说明方法标记,应用 EPICS ELITE 流式细胞仪(美国 Coulter 公司)进行检测。肝素抗凝血5 mL,在无菌条件下用常规 Ficoll 梯度离心收集 PBMC, Hank's 液洗涤3次后,用含100 mL/L 小牛血清的 RPMI1640 培养液将细胞浓度调为 1×10^6 /mL(IFN- γ 诱生)备用。

1.2.2 IFN- γ 的诱生和细胞培养 将调好的细胞悬液(1×10^6 /mL)加至24孔细胞培养板中,每孔0.5 mL,加入植物血凝素(PHA)使终浓度为100 mg/L。置37℃,体积分数为5%CO₂培养箱中培养72 h,离心收集上清液,分装后-20℃保存待测。

1.2.3 IFN- γ 水平测定 采用生物素-亲和素双抗体夹心酶联免疫测定(ABC-ELISA)^[2](第二军医大学微生物教研室),稍加以改良。终止反应后在酶联免疫检测仪490 nm处读取各孔光密度值,IFN- γ 含量从标准曲线上查得。

1.3 统计学方法

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,3组间均数比较应用方差分析,采用 SNK-*q* 方法进行多重两两比较。两变量的相关分析应用 Pearson 相关系数进行分析。所有数据处理均在计算机 SPSS8.0 软件包进行。

2 结果

2.1 哮喘患儿外周血 CD25 水平和 IFN- γ 水平的变化

急性发作期患儿外周血的 CD25⁺ 细胞数明显高于缓解期和正常对照组,有显著性差异, $P < 0.01$ 。但缓解期患儿外周血的 CD25⁺ 细胞数和正常对照组无显著性差异, $P > 0.05$ 。哮喘发作期与缓解期患儿外周血的 IFN- γ 水平明显低于正常对照组,有显著性差异, $P < 0.01$ 。但缓解期患儿外周血的 IFN- γ 水平和缓解期组无显著性差异, $P > 0.05$ 。具体见表1。

2.2 哮喘患儿外周血 CD25 与 IFN- γ 的关系

表1 哮喘患儿外周血 CD25⁺ 细胞数和 IFN- γ 水平变化
Table 1 Peripheral blood CD25⁺ cells and IFN- γ levels in asthmatic children

Group	<i>n</i>	CD25 ⁺ cells(%)	IFN- γ (μ g/L)
Control	26	4.11 \pm 1.82	7.46 \pm 1.92
Acute attack	35	8.61 \pm 3.30 ¹⁾	3.00 \pm 1.31 ¹⁾
Remission stage	25	4.13 \pm 2.20	3.20 \pm 1.11 ¹⁾

1) Compared with the control group, $P < 0.01$

发作期哮喘患儿外周血 CD25⁺ 细胞数与 IFN- γ 水平的关系经 Pearson 相关分析,相关系数 $r = 0.81$,有显著性差异, $P < 0.01$ 。在缓解期,哮喘患儿外周血的 CD25⁺ 细胞数基本恢复至正常,但 IFN- γ 仍处于低水平。

3 讨论

哮喘的本质是一种气道慢性炎症,免疫反应在气道炎症的发生发展过程中起重要作用。近年来发现 T 细胞尤其是 Th 细胞紊乱在哮喘免疫发病中起重要作用。人类 Th 细胞分为 Th1 细胞和 Th2 细胞两个亚群, Th1 细胞主要分泌 IL-2、IFN- γ 。Th1 型反应被认为与机体的保护性反应有关,可上调细胞免疫作用。而较多的研究表明:哮喘患儿存在着严重的 Th1/Th2 失衡现象,发作期 IL-2、IFN- γ 明显低于正常组,而 IL-2 在哮喘中的作用不十分清楚^[3]。CD25 是 IL-2 的膜表面受体,是由活化的 T 细胞表达。

淋巴细胞活化后方表达 IL-2R,故 IL-2R 被认为是活化 T 细胞的标志。Park 等^[4] 研究发现哮喘发作期患者支气管肺泡灌洗液(BAL)中 CD3⁺ 细胞表达的 IL-2、可溶性 IL-2R(SIL-2R)及 mIL-2R 均明显高于正常对照组及哮喘缓解期患者。本研究表明,哮喘发作期 CD25⁺ 细胞数明显多于正常对照组及缓解期,这可能是由于诱发哮喘的抗原刺激, T 淋巴细胞被激活, IL-2R 表达增强, CD25⁺ 细胞数也明显增多。在缓解期, CD25⁺ 细胞数恢复至正常水平,表明机体免疫紊乱得到纠正, T 细胞处于相对静止状态。因此, CD25⁺ 细胞数变化可作为哮喘病情转归的指标之一。

哮喘多是由于 IgE 介导的 I 型变态反应性呼吸道疾病,患者体内 IgE 明显升高。近年研究发现, Th1 细胞分泌 IFN- γ 抑制 IgE 合成, Th2 细胞则分泌 IL-4 诱导 B 细胞合成 IgE^[5]。本文研究结果提示:哮喘患儿在发作期和缓解期,其 PBMC

诱生 IFN- γ 水平明显低于正常对照组。这表明哮喘患儿可能存在 IFN- γ 诱生障碍,结合报道哮喘患儿 IL-4 水平升高与 IgE 水平呈正相关^[6],推测哮喘患儿可能存在 Th1 功能低下, Th2 功能亢进。目前认为小儿哮喘发病诱因中呼吸道感染(主要是呼吸道合胞病毒和副流感病毒等)占 58.4% ~ 99.0%,这些患者对病毒易感,提示存在某种抗病毒有关的免疫缺陷。本文提示哮喘患儿 PBMNC 诱生 IFN- γ 水平低下,表明患儿在病毒侵袭下,不能诱生足量的 IFN- γ 以抗病毒,这可能是小儿感染性哮喘中病毒变应性哮喘的主要原因。

在正常情况下,作为 Th 亚类的细胞因子,可通过抑制另一亚类细胞因子的合成和诱导同类因子的产生,这对于维持 Th1/Th2 类因子的平衡起重要作用^[7]。有研究发现 IL-2 可明显增加骨髓中 NK 细胞和细胞因子激活的杀伤细胞的活性, IL-2 与 IFN- α 联合应用后, CD25⁺ 细胞明显增加^[8],且 IFN- γ 的免疫调节功能比 IFN- α 强 100 ~ 1 000 倍^[9],这提示 IL-2、IFN- γ 和 CD25 可能存在着一一定的关系。

参考文献:

[1] 陈育智,华云汉,文照明,等. 儿童哮喘诊断标准[J]. 中华儿科

杂志, 1993, 31(4): 222.

- [2] 黄花荣,黄绍良,麦贤弟. 哮喘患儿自然杀伤细胞及(-干扰素水平的变化[J]. 中山医科大学学报, 1998, 19(3): 187.
- [3] 鲁继荣,姚丽萍,宋丽君,等. 哮喘患儿 T 细胞亚群及细胞因子的变化[J]. 中华儿科杂志, 2000, 38(2): 118.
- [4] Park C S, Lee D M, Uh S, *et al.* Interleukin-2 and soluble interleukin-2 receptor in bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchial asthma[J]. Chest, 1994, 106(2): 400.
- [5] Del Prete Maggi E, Parronchi P, *et al.* IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants[J]. J Immunol, 1988, 140(12): 4193.
- [6] Akcakaya N, Sozer V, Cokugras H, *et al.* A preliminary study on IL-4 levels in extrinsic atopic asthmatic children[J]. Turk J Pediatr, 1994, 36(2): 105.
- [7] Constant S L, Bottomly K. Induction of Th1 and Th2 CD+ T cell response: the alternative approaches[J]. Ann Rev Immunol, 1997, 15(1): 297.
- [8] Dickinson A M, Middleton S L, Latham J, *et al.* Cytokines treatment of human bone marrow activates anti-leukemia effector cells: monitoring of purging by polymerase chain and DNA analysis[J]. Leukemia, 1995, 9(4): 444.
- [9] Murray H W. Current and future clinical applications of interferon-gamma in host antimicrobial defense[J]. Intensive Care Med, 1996, 22(4): S456.

(编辑 张恩健)

(上接第 360 页 from page 360)

度,既可减少夹层的进一步剥离,也可防止或减少瘤体破裂。

本文提示,AD 的临床表现多样、复杂,为减少误诊和漏诊,减少病死率,临床医师必须对 AD 的临床表现及发病机制要有清楚的认识并保持高度警惕。及早选择或联合应用 CT、MRI、TTE 等辅助检查是十分有必要的。

参考文献:

- [1] Cheng T. International Textbook of Cardiology[M]. New York: Pergamon Press, 1986. 841 ~ 845.
- [2] 李茂亭,翁心植,胡旭东. 主动脉夹层动脉瘤临床研究[J]. 中华内科杂志, 1994, 33(6): 385.
- [3] Braunwald E 主编,陈灏珠主译. 心脏病学[M]. 第 3 版,北

京:人民卫生出版社, 2000. 1401 ~ 1412.

- [4] 刘坤申,夏岳. 主动脉夹层[J]. 中国实用内科杂志, 2000, 20(9): 522.
- [5] Kurosaki k, Fushimi Y, Hara S, *et al.* Sudden death caused by tension pneumothorax after rupture of a thoracic aortic aneurysm [J]. Case report. Am J Forensic Med Pathol, 2001, 22(3): 250.
- [6] 从日照. 以亚急性心包积血为主要表现的主动脉夹层一例[J]. 临床心血管杂志, 1995, 11(6): 372.
- [7] 张建青. 主动脉夹层诊治进展[J]. 心血管病学进展, 1999, 20(5): 300.
- [8] 李坤成,孙泽民,赵世华,等. 心血管磁共振成像诊断学[M]. 北京:人民出版社, 1997. 207 ~ 210.
- [9] 吴焱贤,郭新友,吴赛珠,等. 主动脉夹层动脉瘤的超声心动图诊断[J]. 中国实用内科杂志, 2000, 20(5): 296.

(编辑 张恩健)