

哮喘患者 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞比例与炎症因子的相关性

高 炜

(北京市仁和医院, 北京 102600)

[摘要] 目的: 探讨哮喘患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞比例与血清中炎症因子的相关性。方法: 110 例哮喘患者均分为哮喘急性发作组和哮喘缓解组, 55 例健康体检者作为对照组; 用流式细胞仪测定哮喘患者外周血中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的比例, 酶联免疫法 (ELISA) 检测被检者血清中白细胞介素 18 (IL-18)、IL-4 及转化生长因子 β (TGF- β) 含量; 用 Spearman 统计方法分析哮喘患者外周血中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的比例与血清中 IL-18、IL-4 和 TGF- β 含量的相关性。结果: 与对照组比较, 哮喘缓解组、哮喘急性发作组患者全血细胞中 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞比例降低, 血清中 IL-18、IL-4 及 TGF- β 含量升高 ($P < 0.05$); 与哮喘缓解组比较, 哮喘急性发作组外周血中 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞的比例降低而血清中 IL-18、IL-4 及 TGF- β 含量升高 ($P < 0.05$); Spearman 相关分析结果显示, 哮喘患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞比例均与血清 IL-18、IL-4 和 TGF- β 含量呈显著负相关关系 ($r = -0.712$ 、 -0.629 、 -0.593 , $P = 0.006$ 、 0.008 、 0.005)。结论: 外周血 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞的比例与哮喘的发生和发展密切相关, 其机制可能与 IL-18、IL-4 和 TGF- β 升高有关。

[关键词] 哮喘; 白细胞介素类; 转化生长因子 β ; CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞; 因素分析, 统计学

[中图分类号] R562.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2016)07-0851-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2016.07.027

Correlation between the CD4⁺ CD25⁺ T Regulatory Cells Proportion and Serum Inflammatory Factors in Peripheral Blood of Asthmatic Patients

GAO Wei

(Beijing Renhe Hospital, Beijing 102600, China)

[Abstract] Objective: To investigate the relationship between the CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells proportion and serum inflammatory factors in peripheral blood of asthmatic patients. **Methods:** 110 cases of patients with asthma were selected as the research subjects, and divided into asthma acute attack group ($n = 55$) and asthma remission group ($n = 55$). Another 55 healthy people were selected as control group. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the content of IL-18, IL-4 and TGF- β , and flow cytometry was used to detect the proportion of CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells in peripheral venous blood. Spearman statistical method was adopted to analyze the correlation between the CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells proportion and serum inflammatory factors in peripheral blood of asthmatic patients. **Results:** Compared with control group, CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells proportion of blood cell in asthma acute attack group and asthma remission group was significantly decreased while the content of IL-18, IL-4 and TGF- β significantly was increased ($P < 0.05$). Compared with asthma remission group, in asthma acute attack group the CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells proportion of blood cell was significantly decreased while the content of IL-18, IL-4 and TGF- β significantly was increased ($P < 0.05$). The correlation analysis showed that the contents of IL-18, IL-4 and TGF- β in asthma patients were negatively correlated with the proportion of CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells ($r = -$

0.712, -0.629, -0.593, $P = 0.006, 0.008, 0.005$). **Conclusions:** The proportion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells is closely related to the occurrence and development of asthma, and its mechanism may be related to content increase of IL-18, IL-4 and TGF- β .

[**Key words**] asthma; interleukins; transforming growth factor β ; CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells; factors analysis, statistics

哮喘是一种与气道高反应性密切相关的慢性炎症疾病,调节性 T 细胞(regulatory T cells)分化异常与哮喘的发病机制中的炎症细胞及炎症介质有关^[1]。尤其是 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞以其独特的作用方式和功能特征,在支气管哮喘的发生发展中发挥着重要作用^[2-4]。本研究通过检测不同哮喘患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞的变化及其与炎症因子水平的关系,探讨 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞在哮喘中的作用机制及其与炎症反应的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

110 例哮喘患者分为哮喘急性发作组和哮喘缓解组,每组 55 例。所有患者均符合中华医学会呼吸病学分会制定的支气管哮喘防治指南对哮喘的诊断标准及分级标准^[5],近 1 月内未使用过其它哮喘治疗类的药物。排除合并心脑血管疾病、慢性支气管炎、支气管扩张、肺结核等其他肺部疾病的患者,排除近 1 月内有呼吸道感染者,或近期口服或吸入糖皮质激素的患者。哮喘急性发作组男 31 例,女 24 例,年龄 41~72 岁,平均(53.2±8.3)岁;哮喘缓解组男 34 例,女 21 例,年龄 39~76 岁,平均(51.9±6.8)岁。本研究得到医院伦理委员会的批准,全部受试者均知情同意。另选取同期门诊健康体检者 55 例作为对照组,男 34 例,女 21 例,年龄 39~76 岁,平均(51.9±6.8)岁。对照组均无各器官系统急慢性疾病及过敏性疾病史。

1.2 方法

全部受检者均于清晨采集空腹静脉血 5 mL,其中 2.5 mL 3 000 r/min 离心 3 min 分离血清,置于 -20 ℃ 保存,用于检测白细胞介素 18(IL-18)、IL-4 及转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)含量,采用酶联免疫法(ELISA)检测,试剂盒购自 Biosource 公司;另 2.5 mL 血液抗凝后,采用流式细胞仪(Beckman-CoulterXL100)测定 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞数,计算外周血中 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞比例。

1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 17.0 统计软件处理,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用 *t* 检验。用 Spearman 统计方法分析哮喘患者外周血中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞比例与血清中 IL-18、IL-4 和 TGF- β 含量的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞比例

与对照组比较,哮喘急性发作组、哮喘缓解组患者外周血中 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞比例降低,哮喘急性发作组最低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组受检者外周血中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞比例

Tab. 1 Proportion of CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells in the three group of patients with asthma

组别	<i>n</i>	CD4 ⁺ CD25 ⁺ 调节性 T 细胞(%)
对照组	55	8.21 ± 2.03
哮喘缓解组	55	4.97 ± 1.06 ⁽¹⁾
哮喘急性发作组	55	3.11 ± 0.38 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与哮喘缓解组比较, $P < 0.05$

2.2 IL-18、IL-4 及 TGF- β 含量

哮喘急性发作组和哮喘缓解组血清中 IL-18、IL-4 及 TGF- β 含量高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);哮喘急性发作组的 IL-18、IL-4 和 TGF- β 含量高于哮喘缓解组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞比例与血清炎症因子含量相关性分析

Spearman 相关分析结果显示,哮喘患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞比例均与哮喘患者血清 IL-18、IL-4 和 TGF- β 含量呈显著负相关关系($r = -0.712, -0.629, -0.593, P = 0.006, 0.008, 0.005$)。

表 2 3 组受检者血清 IL-18、IL-4 及 TGF-β 水平

Tab. 2 The contents of IL-18, IL-4 and TGF-β in the three group of patients with asthma

组别	n	血清(μg/L)		
		IL-18	IL-4	TGF-β
对照组	55	8.67 ± 2.16	9.86 ± 4.15	105.96 ± 17.88
哮喘缓解组	55	13.76 ± 5.23 ⁽¹⁾	18.65 ± 5.72 ⁽¹⁾	236.81 ± 26.35 ⁽¹⁾
哮喘急性发作组	55	24.69 ± 9.37 ⁽¹⁾⁽²⁾	41.37 ± 11.51 ⁽¹⁾⁽²⁾	372.66 ± 29.73 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与哮喘缓解组比较, $P < 0.05$

3 讨论

哮喘是一种由多种细胞及细胞因子参与的慢性变态反应性气道炎症疾病,患者可因炎症反应导致可逆性气流受限,气道缩窄及气道重塑。1995年首次报道 CD4⁺CD25⁺T 细胞以来,近年来 CD4⁺CD25⁺T 细胞在哮喘机制中的作用逐渐引起业内学者的关注^[6-7]。调节性 T 细胞可强烈抑制效应性 T 细胞,属于可能抑制其它细胞功能的 T 细胞群体,CD4⁺CD25⁺T 细胞可通过细胞毒 T 淋巴细胞抗原-4 和糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR)与靶细胞相应受体的结合,从而抑制效应性 T 细胞的增殖,还可通过与树突状细胞等抗原提呈细胞作用来调节机体免疫^[8-9]。近年来多项研究表明,炎症状态下多种细胞如 T 细胞、巨噬细胞等炎性细胞均能分泌 IL-18,使其水平显著升高,而升高的 IL-18 能刺激 NK 细胞和 T 细胞产生更多 Th1 型细胞因子和 Th2 型细胞因子,促进 IL-4 分泌增加,加重炎症反应^[10-11]。TGF-β 对维持外周 CD4⁺CD25⁺T 细胞的数量、功能至关重要,研究证实 TGF-β 能使 CD4⁺CD25⁻T 细胞转变为具有调节功能的 CD4⁺CD25⁺T 细胞,减低 Th1 型和 Th2 型细胞因子的产生,在哮喘慢性气道炎症中发挥重要作用^[12-13]。

本研究结果显示哮喘急性发作组、哮喘缓解组患者全血细胞中 CD4⁺CD25⁺T 细胞比例低于对照组,且哮喘急性发作组最明显($P < 0.05$);推测 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞参与介导机体对过敏原耐受的形成过程,通过抑制气道的嗜酸性粒细胞炎症反应,控制哮喘恶化,哮喘患者外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞比例降低是哮喘的发病机制之一。本研究还发现,哮喘急性发作组、哮喘缓解组患者血清 IL-18、IL-4 和 TGF-β 含量高于对照组,哮喘急性发作组最高($P < 0.05$)。提示哮喘患者处于缓解期时,虽无任何临床症状,但支气管仍存在持

续炎症状态,因此致使体内血清炎症因子的表达增加。此外,本研究将哮喘患者 CD4⁺CD25⁺T 细胞比例与患者外周血 IL-18、IL-4 和 TGF-β 含量进行相关性分析,结果发现哮喘患者外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞比例与患者血清 IL-18、IL-4 和 TGF-β 含量呈显著负相关,提示随着哮喘患者 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞比例降低,哮喘患者免疫抑制功能下降,减弱了对 Th2 细胞的抑制作用,使 Th2 型免疫反应增强,造成患者血清中 IL-18、IL-4 及 TGF-β 等细胞炎症因子的生成增加,患者机体全身和局部免疫功能紊乱,加重了哮喘气道炎症症状^[14-15]。

综上所述,IL-18、IL-4 和 TGF-β 炎性细胞因子参与哮喘的发病机制,且在炎症发生时和调节性 T 细胞共同发挥抗炎致炎双重作用,调控哮喘病情进展。

4 参考文献

- [1] Lloyd CM, Hawrylowicz CM. Regulatory T cells in asthma [J]. *Immunity*, 2009 (3): 438 - 449.
- [2] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory T cells [J]. *Nature*, 2006 (7090): 235 - 238.
- [3] Whitehead GS, Wilson RH, Nakano K, et al. IL-35 production by inducible costimulator (ICOS)-positive regulatory T cells reverses established IL-17-dependent allergic airways disease [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012 (1): 207 - 215.
- [4] Chow JY, Wong CK, Cheung PF, et al. Intracellular signaling mechanisms regulating the activation of human eosinophils by the novel Th2 cytokine IL-33: implications for allergic inflammation [J]. *Cell Mol Immunol*, 2010 (1): 26 - 34.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(支气管哮喘的定义、诊断、治疗和管理方案) [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2008 (3): 177 - 185.

- [6] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases[J]. *Immunol*, 1995 (3):1151 - 1164.
- [7] Kim YC, Kim KK, Shevach EM. Simvastatin induces Foxp3 + T regulatory cells by modulation of transforming growth factor-beta signal transduction[J]. *Immunology*, 2010 (4): 484 - 493.
- [8] McGuik P, Higgins SC, Mills KH. The role of regulatory T cells in respiratory infections and asthma[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2010 (1): 21 - 28.
- [9] McGee HS, Agrawal DK. Naturally occurring and inducible T-regulatory cells modulating immune response in allergic asthma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009 (3): 211 - 225.
- [10] 邓晓杰, 朱洪志, 吴尚洁. 哮喘患者外周血 Rho 激酶及 CD4 + CD25 + 调节性 T 细胞测定[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2014 (6): 577 - 581.
- [11] Ryba-Stanisławowska M, Rybarczyk-Kapturska K, Mysłiwiec M, et al. Elevated levels of serum IL-12 and IL-18 are associated with lower frequencies of CD4 + CD25^{high}FOXP3 + regulatory T cells in young patients with type 1 diabetes[J]. *Inflammation*, 2014 (5): 1513 - 1520.
- [12] Schenten D, Nish SA, Yu S, et al. Signaling through the adaptor molecule MyD88 in CD4 + T cells is required to overcome suppression by regulatory T cells[J]. *Immunity*, 2014 (1): 78 - 90.
- [13] Leong JW, Chase JM, Romee R, et al. Preactivation with IL-12, IL-15, and IL-18 induces CD25 and a functional high-affinity IL-2 receptor on human cytokine-induced memory-like natural killer cells[J]. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2014 (4): 463 - 473.
- [14] Worthington JJ, Kelly A, Smedley C, et al. Integrin $\alpha\text{v}\beta 8$ -Mediated TGF- β activation by effector regulatory T cells is essential for suppression of T-Cell-Mediated inflammation[J]. *Immunity*, 2015 (5): 903 - 915.
- [15] McHugh MD, Park J, Uhrich R, et al. Paracrine co-delivery of TGF- β and IL-2 using CD4-targeted nanoparticles for induction and maintenance of regulatory T cells[J]. *Biomaterials*, 2015(59): 172 - 181.

(2016-05-15 收稿, 2016-06-20 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘 华

(上接第 850 页)

4 参考文献

- [1] 高丽君, 齐晓勇, 王秀萍, 等. 瑞舒伐他汀对颈动脉粥样硬化患者血脂和颈动脉斑块的影响[J]. *中国全科医学*, 2011(36): 4153 - 4156.
- [2] 王树青, 吴钱红. 瑞舒伐他汀钙对脑梗死并颈动脉粥样硬化血管内皮功能的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2012(31): 3459 - 3460.
- [3] 陈斌. 瑞舒伐他汀对脑梗死合并颈动脉粥样硬化斑块患者的疗效观察[J]. *中国医药导报*, 2011(29): 61 - 62.
- [4] 马会军, 牛芳桥. 瑞舒伐他汀治疗高脂血症的疗效及其对颈动脉粥样硬化斑块的影响[J]. *实用临床医药杂志*, 2013(14): 5 - 7.
- [5] 蒋中平, 陈慧君. 普罗布考联合阿托伐他汀治疗狭窄性颈动脉粥样硬化斑块的临床研究[J]. *中国医师进修杂志*, 2011(33): 8 - 10.
- [6] 杜大勇, 薛峰, 李运田, 等. 不同剂量瑞舒伐他汀对兔颈动脉粥样硬化斑块内 CD147 表达的影响[J]. *中华临床医师杂志*, 2014 (3): 471 - 475.
- [7] 尤丽玲. 瑞舒伐他汀强化降脂治疗缺血性脑卒中的疗效[J]. *中国现代医生*, 2012(5): 56 - 57.
- [8] 劳金伟, 钱见楚, 田毅, 等. 瑞舒伐他汀对急性冠状动脉综合征患者超敏 C 反应蛋白和颈动脉粥样硬化斑块的影响[J]. *中国药物与临床*, 2011(9): 1062 - 1064.
- [9] 严俊, 王建生, 金梅芳, 等. 瑞舒伐他汀对急性缺血性卒中患者炎性因子及颈动脉粥样硬化斑块的影响[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2013(10): 886 - 889.
- [10] 颜志钦, 易兴阳, 虞君儒, 等. 瑞舒伐他汀强化降脂对缺血性脑卒中血脂及颈动脉粥样硬化斑块的影响[J]. *中国药物与临床*, 2013(11): 1408 - 1410.
- [11] 陈锦. 阿托伐他汀联合普罗布考治疗颈动脉粥样硬化斑块患者的疗效分析[J]. *中国医师进修杂志*, 2012 (13): 38 - 40.
- [12] 苗嵩, 宗宇平, 张仲君, 等. 普罗布考对老年患者颈动脉粥样硬化斑块的消退作用[J]. *中国老年学杂志*, 2013(19): 4844 - 4845.

(2016-04-25 收稿, 2016-06-10 修回)
中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 刘 华