

支气管哮喘患儿外周血 T 细胞亚群和血清趋化因子及酶类多肽水平^{*}

武莉芳¹, 李风峰², 李 芳³, 杨敬芳¹

(1. 河北北方学院附属第二医院 检验科, 河北 宣化 075100; 2. 河北北方学院附属第二医院 儿科, 河北 宣化 075100; 3. 河北北方学院附属第二医院 血液科, 河北 宣化 075100)

[摘 要] 目的: 探讨支气管哮喘患儿外周血 T 细胞亚群、血清趋化因子及酶类多肽水平变化及意义。方法: 60 例支气管哮喘患儿为研究组, 另选取同期体检健康儿童 50 例为对照组, 采集 2 组受试者清晨空腹静脉血 3 mL, 使用流式细胞仪检测外周血 CD₄⁺ T 细胞亚群中辅助性 T 淋巴细胞 (Th1、Th2、Th17) 及调节性 T 细胞 (Treg), 计算 Th1/Th2、Th17/Treg 比值; 另采集清晨空腹静脉血 3 mL, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清白细胞介素-2 (IL-2)、IL-4、IL-6、IL-17、干扰素- γ (IFN- γ)、嗜酸性粒细胞趋化因子 (Eotaxin)、巨噬细胞衍生趋化因子 (MDC)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、单核细胞趋化蛋白-4 (MCP-4)、基质金属蛋白酶-1 (MMP-1)、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、组织蛋白酶 K (Cat K)、组织金属蛋白酶抑制因子-1 (TIMP-1) 水平。结果: 研究组外周血 Th1、Treg、Th1/Th2 低于对照组, Th2、Th17、Th17/Treg 高于对照组 ($P < 0.05$); 研究组血清 IL-2、IFN- γ 水平低于对照组, IL-4、IL-6、IL-17 水平高于对照组 ($P < 0.05$); 研究组血清 Eotaxin、MDC、MCP-1、MCP-4 水平高于对照组 ($P < 0.05$), 研究组血清 MMP-1、MMP-2、MMP-9、Cat K 水平高于对照组、TIMP-1 水平低于对照组 ($P < 0.05$)。结论: 支气管哮喘患儿发病与外周血 T 淋巴细胞亚群、酶类多肽、趋化因子异常表达有关。

[关键词] 哮喘; 支气管; 外周血; T 细胞亚群; 趋化因子; 酶类多肽

[中图分类号] R562.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)01-0086-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.01.017

Detection of T Cell Subsets in Peripheral Blood, Serum Chemokines and Enzyme Peptides in Children with Bronchial Asthma

WU Lifang¹, LI Fengfeng², LI Fang³, YANG Jingfang¹

(1. Clinical Lab, Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Xuanhua 075100, Hebei, China; 2. Pediatric Department, Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Xuanhua 075100, Hebei, China; 3. Hematology Department, Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Xuanhua 075100, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the changes and significance of T cell subsets in peripheral blood, serum chemokines and enzyme peptides in children with bronchial asthma. **Methods:** 60 children with bronchial asthma were selected as study group and 50 healthy children as control group. Fasting venous blood was collected from two groups for 3 mL in the morning. Auxiliary T lymphocytes (Th1、Th2、Th17) and regulatory T cells (Treg) in Peripheral Blood CD₄⁺ T Cell subsets were detected by flow Cytometry to calculate the ratio of Th1/Th2 and Th17/Treg. After 3 mL of fasting venous blood was collected in the morning, serum Interleukin (IL)-2 (IL-2), IL-4, IL-6, IL-17, IFN- γ , Eotaxin, MDC, MCP-1, MCP-4, MMP-1, MMP-2, MMP-9, Cat K and TIMP-1 were detected by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). **Results:** Th1, Treg, and Th1/Th2 in the study group were significantly

^{*}[基金项目] 河北省科学技术研究与发展指导计划项目 (NO:1521106D)

网络出版时间: 2019-01-18 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190118.1118.017.html>

lower than that in the control group, while Th2, Th17, and Th17/Treg were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). IL-2 and IFN- γ in the study group were significantly lower than that in the control group, while IL-4, IL-6, and IL-17 were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). Eotaxin, MDC, MCP-1, and MCP-4 in the study group were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). MMP-1, MMP-2, MMP-9, and Cat K in the study group were significantly higher than that in the control group, while TIMP-1 was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The pathogenesis of bronchial asthma is related to the abnormal expression of T lymphocyte subsets, enzyme peptides and chemokines in peripheral blood. [**Key words**] asthma, bronchial; peripheral blood; T cell subsets; chemokine; enzymatic peptides

支气管哮喘是由多种细胞及细胞成分参与的气道慢性炎症反应性疾病,其发病机制尚未完全明确^[1]。研究表明,辅助性 T 细胞 1(Th1)/辅助性 T 细胞 2(Th2) 功能失衡、Th2 介导的嗜酸性粒细胞浸润,导致气道慢性炎症及气道高反应性,是支气管哮喘发病的关键机制^[2],提示在疾病的发生发展过程中,炎性细胞浸润、气道重塑是该病的重要环节,多种细胞因子、趋化因子及蛋白酶类参与其中。本研究旨在探讨支气管哮喘患儿外周血 T 细胞亚群及血清趋化因子、酶类多肽的水平变化及意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2016 年 11 月~2017 年 10 月收治的 60 例支气管哮喘患儿为研究组,符合儿童支气管哮喘相关诊断标准^[3],处于急性发作期;患儿无明显感染、心肺疾病、自身免疫性疾病、恶性肿瘤等;近 2 周内未使用糖皮质激素、支气管舒张剂等药物;男 35 例、女 25 例,3~11 岁、平均(7.57 ± 3.84)岁。另选取同期体检健康儿童 50 例为对照组,男 29 例、女 21 例,3~11 岁、平均(7.62 ± 4.15)岁。2 组受试儿童家属均知情,并签署知情同意书,两组儿童年龄、性别比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法

采集 2 组受试者清晨空腹静脉血 3 mL,使用流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司)检测外周血 CD₄⁺T 细胞亚群中辅助性 T 淋巴细胞(Th1、Th2、Th17)及调节性 T 细胞(Treg)水平,计算 Th1/Th2、Th17/Treg 比值;另采集清晨空腹静脉血 3 mL,3 000 r/min 离心提取上清液,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清白细胞介素-2(IL-2)、IL-4、IL-6、IL-17、干扰素- γ (IFN- γ)、嗜酸性粒细胞趋化因

子(Eotaxin)、巨噬细胞衍生趋化因子(MDC)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、单核细胞趋化蛋白-4(MCP-4)、基质金属蛋白酶-1(MMP-1)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、组织蛋白酶 K(Cat K)、组织金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)水平,试剂盒由深圳晶美生物工程有限公司提供。

1.3 统计学分析

计数资料以率(%)表示,数据比较,采用 χ^2 检验;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,数据比较采用 t 检验(方差齐)或 t' 检验(方差不齐),数据采用 SPSS 19.0 软件分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血 T 细胞亚群

研究组外周血 Th1、Treg、Th1/Th2 低于对照组,Th2、Th17、Th17/Treg 高于对照组,2 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组被检儿童外周血 T 细胞亚群比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of T cell subsets in peripheral blood between the two groups		
指标	对照组($n=50$)	研究组($n=60$)
Th1(%)	8.06 ± 2.75	$5.28 \pm 2.41^{(1)}$
Th2(%)	2.26 ± 0.87	$4.47 \pm 2.16^{(1)}$
Th1/Th2	2.35 ± 1.07	$1.23 \pm 0.77^{(1)}$
Th17(%)	0.96 ± 0.56	$1.95 \pm 1.11^{(1)}$
Treg(%)	7.53 ± 2.28	$5.79 \pm 1.84^{(1)}$
Th17/Treg	0.14 ± 0.12	$0.29 \pm 0.15^{(1)}$

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$

2.2 T 细胞亚群相关细胞因子

研究组血清 IL-2、IFN- γ 水平低于对照组,IL-

4、IL-6 及 IL-17 水平高于对照组,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组被检儿童外周血 T 细胞亚群
相关细胞因子比较($\bar{x} \pm s$)

指标	对照组($n=50$)	研究组($n=60$)
IL-2(ng/L)	39.17 \pm 5.63	13.76 \pm 2.08 ⁽¹⁾
IL-4(ng/L)	64.85 \pm 7.56	147.27 \pm 17.63 ⁽¹⁾
IL-6(mg/L)	48.38 \pm 4.19	77.65 \pm 5.28 ⁽¹⁾
IL-17(ng/L)	5.47 \pm 2.56	2.84 \pm 1.73 ⁽¹⁾
IFN- γ (ng/L)	53.17 \pm 5.61	31.42 \pm 5.12 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与对照组比较, $P<0.05$

2.3 血清趋化因子

研究组血清 Eotaxin、MDC、MCP-1 及 MCP-4 水平高于对照组,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 两组被检儿童外周血血清趋化
因子比较($\bar{x} \pm s$)

指标	对照组($n=50$)	研究组($n=60$)
Eotaxin(ng/L)	45.48 \pm 7.23	161.47 \pm 22.56 ⁽¹⁾
MDC(μ g/L)	431.76 \pm 57.58	947.38 \pm 115.26 ⁽¹⁾
MCP-1(μ g/L)	1.05 \pm 0.16	4.06 \pm 0.61 ⁽¹⁾
MCP-4(μ g/L)	34.18 \pm 4.76	112.27 \pm 15.43 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与对照组比较, $P<0.05$

2.4 血清酶类多肽

研究组血清 MMP-1、MMP-2、MMP-9 及 Cat K 水平高于对照组,TIMP-1 水平低于对照组,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 4 两组被检儿童外周血血清酶类
多肽比较($\bar{x} \pm s$)

组别	对照组($n=50$)	研究组($n=60$)
MMP-1(μ g/L)	3.31 \pm 0.56	12.47 \pm 1.72 ⁽¹⁾
MMP-2(μ g/L)	78.52 \pm 10.74	198.69 \pm 21.37 ⁽¹⁾
MMP-9(μ g/L)	175.24 \pm 23.61	412.69 \pm 67.33 ⁽¹⁾
Cat K(ng/L)	6.84 \pm 1.12	23.57 \pm 3.81 ⁽¹⁾
TIMP-1(μ g/L)	59.84 \pm 7.30	27.45 \pm 4.36 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与对照组比较, $P<0.05$

3 讨论

支气管哮喘是由多种炎症细胞共同参与的气道慢性炎症性疾病,气道局部炎症细胞聚集与炎症介质释放,是引起组织损伤、气道功能障碍的重要原因^[4]。T 淋巴细胞是调节细胞免疫应答的重要细胞群,CD₄⁺ 辅助性 T 细胞亚群的表达和功能紊乱是支气管哮喘患儿的重要特征,在气道炎症中发挥重要作用^[5]。研究表明,T 细胞亚群在支气管哮喘发病中起重要作用,表现为 Th1 亚群表达降低及 Th2 表达升高,患者 Th2 细胞功能亢进,Th1 细胞功能减弱,导致 Th1/Th2 失衡,诱导炎症因子过量表达,引起哮喘的发作^[6]。Th1 辅助细胞主要对抗细胞内细菌及原虫的免疫反应,参与调节细胞免疫反应,辅助细胞毒性 T 细胞分化,维持机体免疫平衡^[7]。Th1 细胞主要分泌 IL-2、IFN- γ 等细胞因子,IFN- γ 可增强吞噬细胞介导的抗感染免疫,活化巨噬细胞,增强杀伤病原体能力,促进 IgG 生成,还可诱导 Th0 细胞向 Th1 细胞分化,通过促进肥大细胞或嗜酸性粒细胞释放白三烯,促进 IL-2 和抑制 IL-4 分泌,对抗 Th2 细胞功能,维持 Th1/Th2 平衡,减少炎性细胞浸润,减轻气道炎症反应^[8]。Th2 辅助细胞主要对抗细胞外多细胞寄生虫的免疫反应,分泌 IL-4、IL-5 等细胞因子,而支气管哮喘主要是 IgE 介导的 I 型超敏反应,IL-4 可诱导 IgG、IgM 向 IgE 转化,加强嗜酸性粒细胞的募集、浸润,还可通过促进 B 细胞增殖产生特异性 IgE,加重气道炎症反应,参与支气管哮喘的发病过程^[9]。本研究结果显示,研究组 Th1、Th1/Th2、IL-2、IFN- γ 低于对照组,Th2、IL-4、IL-6 高于对照组($P<0.05$),与文献报道相符^[10],亦证实 Th1/Th2 比例失衡现在,表现为 Th1/Th2 平衡向 Th2 偏移。Th17、Treg 是新发现的 CD₄⁺ 辅助性 T 细胞亚群,Th17 活化后主要分泌 IL-17,具有强大的促炎作用,刺激中性粒细胞募集、诱导多种细胞产生炎症因子,其表达异常与气道炎症性疾病密切相关,^[11-12]。Treg 亚群细胞抑制炎症,维持免疫耐受,Th17 亚群细胞介导炎症,破坏免疫平衡,在支气管哮喘发病过程中,Th17 数目增多功能增强,Treg 数目减少功能减弱,而 Treg 对 Th17 抑制作用减弱,造成 Th17 介导的炎症反应增强,从而加重气道炎症反应^[13]。本研究结果显示,研究组 Treg 低于对照组,Th17、IL-17、Th17/Treg 高于对照组($P<0.05$),提示支气管哮喘患者

机体内 Treg 与 Th17 处于相互抑制状态,而 IL-17 水平与哮喘的发作呈正相关,亦证实 Th17/Treg 平衡失调参与支气管哮喘的发生发展。本研究中,研究组 Eotaxin、MDC、MCP-1、MCP-4 水平均高于对照组 ($P < 0.05$);而 Eotaxin、MDC、MCP-1、MCP-4 能够直接介导单核巨噬细胞在气道的聚集,进而加重支气管患儿气道炎性反应^[14-15]。另外,研究组 MMP-1、MMP-2、MMP-9、Cat K 高于对照组,TIMP-1 低于对照组 ($P < 0.05$)。而 MMPs 及 Cat 可直接参与细胞外基质 (ECM) 的降解,造成气道平滑肌发生重塑;Cat 分子对 ECM 的降解则有利于炎性细胞在气道局部移行、黏附及浸润,加速气道炎症反应进程^[17]。TIMPs 为特异性抑制因子,可抑制 MMPs、Cat 对 ECM 的降解,阻断炎性细胞浸润及气道重塑^[18]。本研究结果亦证实血清酶类多肽异常表达介导支气管哮喘患儿炎性细胞浸润及气道重塑过程。

综上所述,支气管哮喘患儿的发病与 T 淋巴细胞亚群的异常表达密切相关,酶类多肽、趋化因子介导气道炎性细胞浸润,临床检测外周血 T 细胞亚群及酶类多肽、趋化因子的表达,对了解支气管哮喘的发病状态有重要意义。

4 参考文献

- [1] 屈蕾蕾,达春和,刘丽君,等. 支气管激发试验预测支气管哮喘患者治疗的远期预后分级[J]. 中国全科医学, 2015,18(8):960-962.
- [2] 肖天赐. 定喘汤联合西医常规治疗对过敏性支气管哮喘患者外周血单个核细胞 Th1/Th2 及黏膜免疫功能的影响[J]. 河北中医, 2017,39(7):1048-1052.
- [3] 中华医学会儿科学分会呼吸学组《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 版)[J]. 中华儿科杂志, 2016,54(3):167-181.
- [4] 高志刚,袁永红,詹建华. 沙丁胺醇气雾剂联合硫酸镁对小儿哮喘 IL-2、IL-4、IL-5、IFN- γ 及 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2015,38(8):110-112.
- [5] 黄伟强,李惠,袁梅,等. 支气管哮喘患者外周血 T 细胞亚群 Th1、Th2 及其相关细胞因子水平变化及意义[J]. 山东医药, 2015,12(20):40-41.
- [6] 袁颖志,贺宇彤,吴成,等. Th1/Th2/Th17/Treg 对鉴别

- 儿童支气管哮喘与单纯性肺炎的意义[J]. 河北医药, 2016,38(9):1285-1288.
- [7] 孟珊珊,于金燕,闫冰迪,等. 哮喘患者调节性 T 细胞对 Th1 和 Th2 细胞的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015,29(8):742-744.
- [8] 郭惠环,林少玲. 孟鲁司特对儿童支气管哮喘患者 T 淋巴细胞亚群检测的影响[J]. 黑龙江医学, 2015,39(8):935-936.
- [9] BIELINSKA A U,O'KONEK J J,JANCZAK K W,et al. immunomodulation of TH2 biased immunity with mucosal administration of nanoemulsion adjuvant[J]. Vaccine, 2016,34(34):4017-4024.
- [10] 缪华,刘晓蓉. 不同呼吸道病毒感染与小儿哮喘发病及细胞因子! 淋巴细胞亚群含量的关系[J]. 海南医学院学报, 2017,23(8):1088-1091.
- [11] 袁颖志,贺宇彤,吴成,等. Th1/Th2/Th17/Treg 对鉴别儿童支气管哮喘与单纯性肺炎的意义[J]. 河北医药, 2016,38(9):1285-1288.
- [12] 郝珉,宋文,路苓. 孟鲁司特钠对支气管哮喘患儿 Th17/Treg 细胞平衡及肺功能的影响[J]. 当代医学, 2017,23(21):11-14.
- [13] 邵美琪,吴世满,刘娟,等. 骨化三醇对支气管哮喘患者外周血 Th17/Treg 表达的调节作用[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2015,9(19):34-38.
- [14] 兰芙蓉,陈文燕,王明章. 儿童支气管哮喘患者血清骨桥蛋白和嗜酸细胞趋化因子表达及临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2017,22(5):877-879.
- [15] 吴丽梅,黄丽素,徐兰飞. 寒喘祖帕颗粒联合沙丁胺醇雾化吸入治疗小儿支气管哮喘的疗效及对血清 MPO、PMN、MCP-4 的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2017,37(4):87-90.
- [16] 谢中勇,陈伟明,张伟忠,等. 支气管哮喘患儿血清中酶类多肽、趋化因子水平及外周血免疫细胞含量的评估[J]. 海南医学院学报, 2015,21(8):1103-1105.
- [17] 杨振明,吴丙美,寇永妹,等. 舒利迭对儿童哮喘的治疗作用及对血清中 MMP-2、MMP-3 和 MMP-9 的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2015,24(11):1187-1188.
- [18] 谢泽周. 学龄期哮喘患儿治疗前后血清 TIMP-1、IL-10、hs-CRP 及 TH 的变化[J]. 罕少疾病杂志, 2016,23(5):23-25.

(2018-11-20 收稿,2019-01-03 修回)

中文编辑: 文箴颖, 潘 娅; 英文编辑: 乐 萍